



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

265 492

(11) (B1)
(13)

(51) Int. Cl.⁴
A 61 K 31/74

(22) Přihlášeno 12 06 87
(21) PV 4336-87.K

(40) Zveřejněno 10 02 89
(45) Vydáno 15 12 89

(75)
Autor vynálezu

KÁLAL JAROSLAV prof. ing. DrSc., VACÍK JIŘÍ ing. CSc.,
KOPEČEK JINDŘICH ing. CSc., PRAHA, MALÝ ZDENĚK MUDr. CSc.,
ŠANC PETR MUDr., ÚSTÍ nad Labem (CS)
PCHAKADZE GEORGIJ ALEXANDROVIČ MUDr. DrSc.,
KONOPLICKAJA XENIJA LEONTOVNA ing. CSc., KYJEV (SU)

(54) Polymerní léčivý přípravek s protražovaným cytostatickým účinkem
a způsob jeho přípravy

(57) Řešení se týká polymerního léčivého přípravku s protražovaným cytostatickým účinkem a způsob jeho výroby. Polymerní léčivý přípravek s protražovaným cytostatickým účinkem sestává z nízkomolekulárního cytostatika například methotrexátu enkapsulovaného případně immobilizovaného na polyuretanovém nosiči na bázi polyoxypropylenglykolu o mol. hmotnosti 1 500 až 2 000 a směsi izomerů 2,4 a 2,6 - toluendiisokyanátu (35:65 %) v molárním poměru 3:1. Způsob jeho výroby spočívá v tom, že se předpolymer sestávající s polyoxypropylenglykolu o mol. hmotnosti 1 500 až 2 000 a toluendiisokyanátu zahřívá s cytostatikem, například methotrexátem, na teplotu 30 až 40 °C v přítomnosti destilované vody a 2,4,6-tris-(dimethylaminomethyl)fenolu jako urychlovače.

Vynález se týká polymerního léčivého přípravku s protrahovaným cytostatickým účinkem a způsobu jeho přípravy.

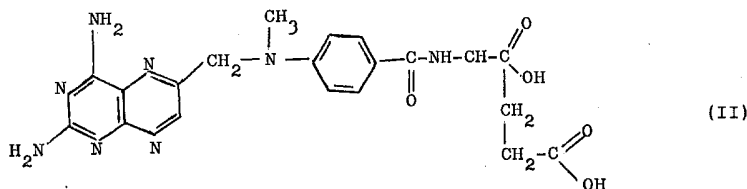
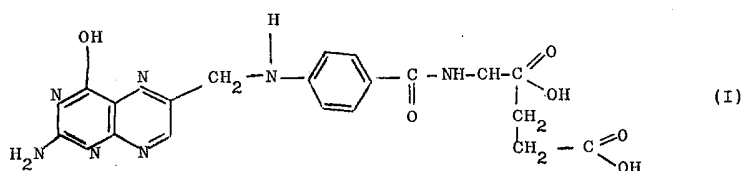
V medicíně stále většího uplatnění nacházejí biologicky (farmakologicky) aktivní sloučeniny imobilizované na polymerním nosiči.

Jsou známy způsoby imobilizace biologicky aktivních sloučenin pomocí syntézy jejich derivátů, které nejsou rozpustné ve vodě, za účelem prolongace biologického účinku nebo pro dosažení místního účinku těchto sloučenin. Tak byly připraveny polyurethanové kompozice obsahující proteolytický ferment (AO SSSR č. 1 036 027) a antibiotikum (AO SSSR č. 1 005 431).

I když se biologicky aktivní sloučeniny široce používají jako cytostatika, způsoby jejich imobilizace na polyurethanových nosičích nejsou známy.

Cílem tohoto vynálezu bylo připravit ve vodě nerozpustné deriváty cytostatika imobilizovaného na polymerním nosiči, které by mimo jiné vykazovaly léčivé vlastnosti ve vztahu k glioblastomu mozku. Tyto polymery mohou dosáhnout širokého využití v experimentální biologii a lékařství (neurochirurgie) tím, že vytvoří vysokou koncentraci léčiva bezprostředně v zóně, kde se nachází nádor, a tím umožní dosažení mohutného místního cytostatického účinku.

Jako cytostatikum lze s výhodou použít metotrexát - strukturní analog a antagonistu kyseliny listové. Účinek metotrexátu brzdí aktivitu enzymu folátoreduktázy a porušuje přeměnu kyseliny listové na kyselinu tetrahydrolistovou, která se účastní výměny purinů a reprodukce buněk. (Vzorec I znázorňuje kyselinu listovou, vzorec II metotrexát).



Metotrexát se široce používá v neurochirurgii k léčení glioblastomu. Avšak k dosažení protinádorového účinku je třeba jej zavádět intravenózně ve značném množství, protože hemato-encefalická bariéra velice znesnadňuje dopravu tohoto cytostatika k místu zhoubného útvaru. To vyvolává řadu těžkých komplikací v případě použití daného léčiva. (Progress in Experimental Tumor Research, Vol. 27 až 28, Brain Tumor Biology, Brain Tumor Therapy, Carger, 1984).

Metoda komplexní terapie maligních nádorů CNS zahrnuje co nejradikálnější chirurgický výkon v závislosti na lokalizaci tumoru, peroperační lokální a celkovou chemoterapii, postoperační chemoterapii, dle možnosti imunoterapii a ozáření. Při peroperační lokální chemoterapii se nejprve aplikoval Methotrexat (MTX) v gelasponovém smotku do resekční dutiny. Tento způsob má však nevýhodu poměrně rychlého vymizení MTX z místa podání. Hledali jsme proto možnost navázání MTX na organismu neškodnou látku, ze které by bylo postupně cytostatikum uvolňováno a tak zajištěna jeho dostatečná koncentrace v resekční oblasti po dobu alespoň dvou zdvojeňovacích fází.

Zjistili jsme, že k přípravě přípravku se stálým a protrahovaným cytostatickým účinkem lze použít polyuretanový nosič v jehož struktuře se cytostatikum nachází jednak vázáno chemicky, jednak jako plnivo.

Předmětem vynálezu je polymerní léčivý přípravek s protrahovaným cytostatickým účinkem, sestávající z nízkomolekulárního cytostatika například methotrexátu enkapsulovaného případně immobilizovaného na polyuretanovém nosiči na bázi polyoxypropylenglykolu o mol. hmotnosti 1 500 až 2 000 a směsi izomerů 2,4 a 2,6 -toluendiisokyanátu (35:65 %) v molárním poměru 3:1.

Způsob přípravy polymerního léčivého přípravku podle vynálezu spočívá v tom, že se předpolymer sestávající z polyoxypropylenglykolu o mol. hmotnosti 1 500 až 2 000 a toluendiisokyanátu zahřívá s cytostatikem, například methotrexatem, na teplotu 30 až 40 °C v přítomnosti destilované vody a 2,4,6-tris(dimethylaminomethyl)fenolu jako urychlovače.

Polymerní přípravek podle vynálezu lze použít v různé formě, podle druhu aplikace. Ve zpolymerovaném stavu má konsistenci tvrdší gumy, nevytváří ostré hrany, což je zvláště výhodné pro neurochirurgii. V tkáni se odbourává cestou fermentativní hydrolýzy a buněčné aktivity, prorůstá fibrosní tkáň. Důležitým faktorem je, že nedochází ke kumulování rozpadových produktů polyuretanu organismu - tyto produkty nejsou ostatně toxické. Nepůsobí agresivně na neurony, ani na mozkové cévy. Další výhodou je autosterilita a schopnost haemostasy.

Vynález je dále objasněn na příkladech, aniž je nimi omezován.

V příkladech byl použit předpolymer sestávající z 15 hmot. dílu polyoxypropylenglykolu o mol. hmotnosti 1 500 a 5 hmot. dílu toluendiisokyanátu (směs 2,4 a 2,6 izomeru v poměru 35:65 %).

P ř í k l a d 1 až 6

Do skleněné nádoby se umístí navážka předpolymeru, k níž se přidá metotrexát, rozpuštěný v minimálním množství destilované vody. Směs se pečlivě míchá 10 minut při 30 až 40 °C. Poté se k reakční směsi přidá 2,4,6-tris(dimethylaminomethyl)fenol (UP 606/2), směs se míchá 1 minutu a vylije na teflonovou podložku. Po ztuhnutí se polyurethan suší při 70 °C a tlaku 1 až 2 mm Hg do konstantní váhy.

Údaje jsou shrnuty v tabulce 1

T a b u l k a 1

Příklady	Navážka (g)			Předpolymer
	Metotrexát	Voda	2,4,6-tris(dimethylaminomethyl)fenol	
1	0,1	0,1	0,2	10,0
2	0,2	0,2	0,2	10,0
3	0,3	0,3	0,2	10,0
4	0,5	0,5	0,2	10,0
5	0,7	0,7	0,2	10,0
6	-	0,7	0,2	10,0

P ř í k l a d 7

Příprava polyurethanu jako materiálu pro endoprotézy

Do skleněné nádoby se umístí 10 g předpolymeru a přidá se 0,2 g metotrexátu rozpuštěného v 0,2 ml destilované vody. Reakční směs se pečlivě míchá 10 minut při 30 °C. Poté se přidá 0,2 ml 2,4,6-tris(dimethylaminoethyl)fenol, směs se míchá 1 minutu a vylije se na vyleštěný teflon. Tuhnutí probíhá 3 hodiny. Získá se polyurethan v podobě houbovitě světle-žluté hmoty.

P ř í k l a d 8

Příprava polyurethanu jako výplňové hmoty pro zaplňování patologických dutin.

Do skleněné ampule se umístí 10 g čerstvě připraveného předpolymeru, předpolymer se suší 2 h při 20 až 30 °C a tlaku 1,33 až 2,66 Pa, načež se ampule hermeticky zataví.

Metotrexát v množství 0,2 g se rozpustí 0,2 ml destilované vody a smísí s 0,5 ml 2,4,6-tris(dimethylaminomethyl)fenolu. Směs se umístí do skleněné ampule, která se pak zataví.

Před použitím se obě ampule otevřou a obsah se vylije do injekční stříkačky, opatřené na konci katetrem. Reakční směs se ve stříkačce promíchá, načež se do stříkačky zavede píštěl. Katetr se zavede do dutiny, z níž byl předtím odstraněn exsudát, pokud je přítomen, a reakční směs se pak vylije do dutiny. Potřebné množství reakční směsi, které se zavádí do dutiny za účelem hermetizace, je dáno konkrétními podmínkami. Rychlost tuhnutí reakční směsi v daném příkladě je 3 až 5 minut, v důsledku značné vlhkosti tkání organismu.

P ř í k l a d 9

Příprava polyurethanu jako lékařského lepidla

Do skleněné nádoby se umístí 10 g čerstvě připraveného předpolymeru, předpolymer se suší 2 hodiny při 20 až 30 °C a tlaku 1,33 až 2,66 Pa, načež se ampule hermeticky zataví.

Metotrexát v množství 0,2 se rozpustí v 0,2 ml destilované vody a smísí s 0,5 ml 2,4,6-tris(dimethylaminomethyl)fenolu. Směs se zataví do skleněných ampulí.

V případě nutnosti se ampule otevřou a obsah se vylije do skleněné nádoby. Obsah obou ampulí se spojí, promíchává se skleněnou tyčinkou 1 až 2 minuty a pak nanáší na povrch tkání, které se mají slepit. Povrchy se k sobě přitisknou a nechají se přitisknuté 3 až 5 minut.

P ř í k l a d 10

Sledování polyurethanů vzhledem k rychlosti vymývání methotrexátu

Metoda sledování

Pro stanovení rychlosti uvolňování cytostatika z polyurethanu byly provedeny srovnávací pokusy in vitro. Koncentrace methotrexátu byla stanovována spektrofotometrickou metodou v ultrafialové oblasti na základě vztahu mezi absorbancí a koncentrací

$$A = \epsilon \cdot c \cdot d$$

kde A je absorbance

ϵ specifická absorptivita (extinkční koeficient)

d tloušťka měřené vrstvy (kyvety).

Hodnoty absorbance různě koncentrovaných roztoků methotrexátu byly určovány z výšky

maxima u 310 nm (A_{310}), od které byla odečtena absorbance při 500 nm.

V těchto pokusech byla srovnána rychlost uvolňování methotrexátu z polyuretánu (křivka IV) s třemi různými strukturami poly(2-hydroxyethylmethakrylátu) (křivky I, II, III). Výsledky jsou znázorněny na obr. 1.

Na obr. 2 je znázorněna rychlost uvolňování cytostatika z plochy daného polymeru v závislosti na čase ($Q = \text{mg}/\text{cm}^2$). Při pokusech byly opět použity polyurethan a tři různé struktury poly(2-hydroxyethylmethakrylátu) (HEMA).

- Křivka 1 - 80 % HEMA + rozpouštědlo + MTX
- Křivka 2 - 50 % HEMA + rozpouštědlo + MTX
- Křivka 3 - 70 % HEMA + rozpouštědlo + MTX (houba)
- Křivka 4 - polyurethan

P ř í k l a d 11

Rychlost uvolňování cytostatika z preparátu: Obsah methotrexatu v mozkomíšním moku

Pro stanovení uvolňování cytostatika z plomby v pokusech in vivo byla rovněž použita spektrofotometrická metoda. Pro odstranění bílkovinné složky z mozkomíšního moku byla použita 8% trichloroctová kyselina a následující centrifugace. Vzniklý čirý roztok nad sraženinou byl odsát a měřen v oblasti 500 až 240 nm proti referentnímu vodnému roztoku trichloroctové kyseliny o stejné koncentraci. Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 1.

T a b u l k a 1

Pacient č.	Interval odběru po implantaci (h)	(A_{310} až A_{500}) - A_0	Koncentrace MTX (MTX = methotrexat) (mg/100 ml)
1	40	2,50	14,7
	120	0,007	0
2	48	0,147	0,86
	72	0,031	0,18
	96	0,159	0,94
	120	0,080	0,47
	144	0	0
3	96	0,157	0,92
	120	0,098	0,58
	144	0,195	1,15
	192	0,030	0,15
	288	0,105	0,61
4	24	0,166	0,98
	48	0	0

Z předložené tabulky č. 1 vyplývá, že od prvního odběru koncentrace methotrexatu již minimálně monotoně klesá a ještě po 288 hodinách (nejdelší odběr) je stále detekován MTX v mozkomíšním moku. Samozřejmě, že při stanovení MTX hraje roli vzdálenost uložení plomby od komorového systému, velikost styčné plochy plomby a mozkového systému, rychlost resorpce moku a v neposlední řadě i těžko zjistitelné celkové množství moku u každého jednotlivého pacienta.

Je známo, že při standardním podávání methotrexatu metodou lumbální punkce mizí tento z mozkového systému přibližně za tři dny. Naše výsledky prokazují přítomnost cytostatika v moku ještě za 12 dní.

Polymerní léčivý přípravek ve formě plomby byl aplikován 16x, šlo vždy o glioblastomy verifikované rychlou peroperační biopsií, postoperační histologií, či o jasné recidivy.

P ř í k l a d y užití preparátu:

1 Pacient - Žena, starší 50 let

Intracerebrální hematoma v hloubi pravého frontálního laloku s kolaterální malacií a susp. infiltrativně rostoucím tumorem. Při provedení chirurgického zákroku, odstranění hematomu, zastavení krvácení svorkami, koagulací peroxidem vodíku a 40 % glukosou byl do dutiny vložen Gelaspon s plombou preparátu obsahujícího 50 mg methotrexátu.

2 Žena, starší 40 let

Paraventriculární TU front. a pariet. obl. 1. sin

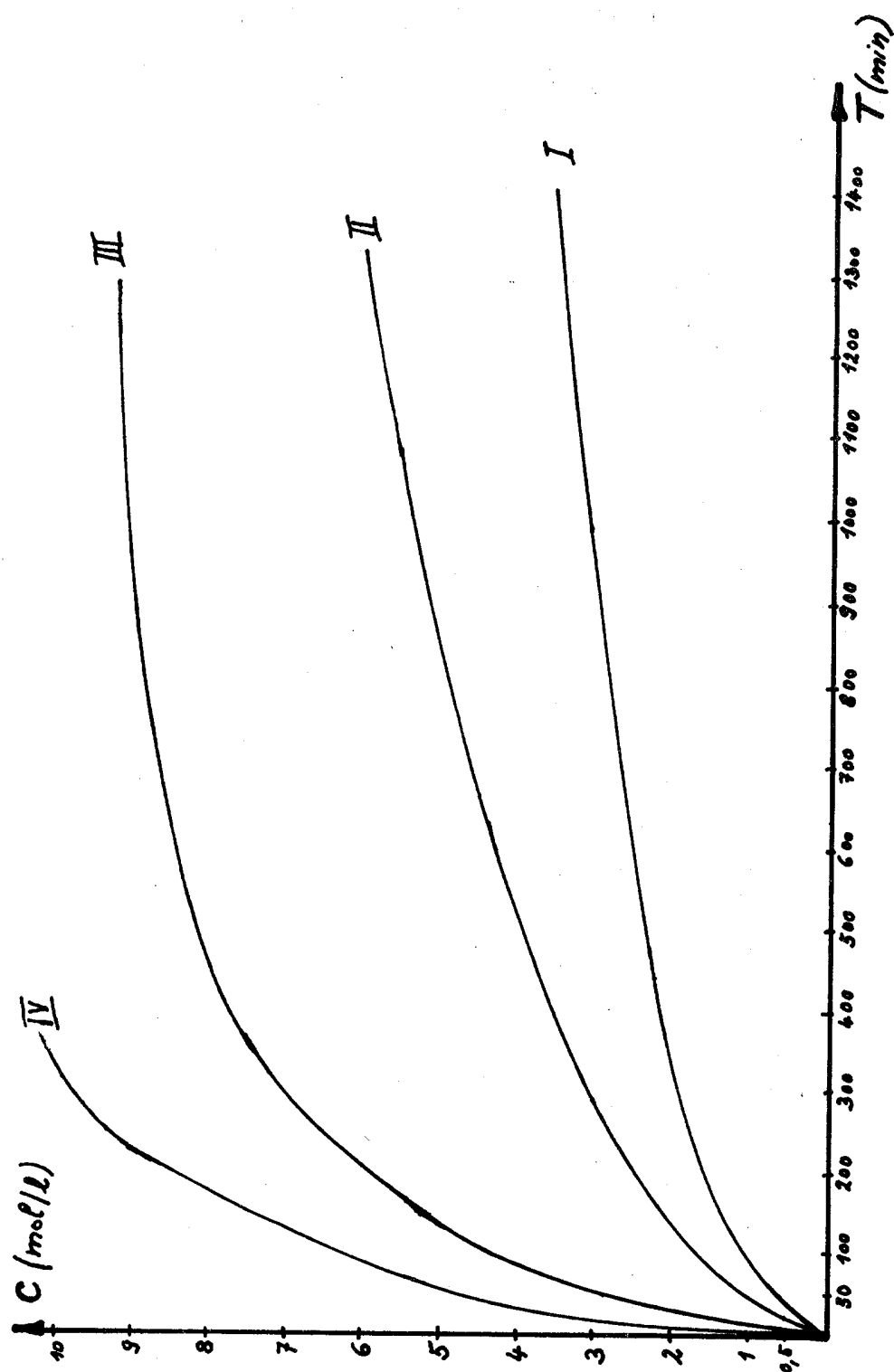
Po částečné resekci nádoru, sahajícího až k bazálním gangliím a corpus callosae, byla do resekční dutiny vložena koule preparátu obsahující 100 mg methotrexátu.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Polymerní léčivý přípravek s protražovaným cytostatickým účinkem sestávající z nízko-molekulárního cytostatika například methotrexátu enkapsulovaného případně immobilizovaného na polyuretanovém nosiči na bázi polyoxypropylenglykolu o mol. hmotnosti 1 500 až 2 000 a směsi v poměru 35:65 izomerů 2,4 a 2,6-toluendiisokyanátu v molárním poměru 3:1.

2. Způsob přípravy polymerního léčivého přípravku podle bodu 1, vyznačený tím, že se předpolymer sestávající z polyoxypropylenglykolu o mol. hmotnosti 1 500 až 2 000 a toluendiisokyanátu zahřívá s cytostatikem, například methotrexátem, na teplotu 30 až 40 °C v přítomnosti destilované vody a 2,4,6-tris(dimethylaminomethyl)fenolu jako urychlovače.

2 výkresy



obr. 2

