(19) **RU** (11) **2 113 219** (13) **C1**

(51) МПК[6] **A 61 K 9/10, 31/56, C 07 J 9/00**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 5053147/14, 25.10.1991

(30) Приоритет: 28.01.1991 CH 257/91

(46) Дата публикации: 20.06.1998

(56) Ссылки: FR, 2403079, A1 (Blorex Laboratories Limited), кл. A 61 K 31/56, 18.05.79 .

(71) Заявитель:
Мариген С.А. (CH)

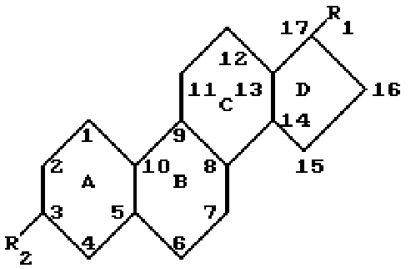
(72) Изобретатель: **Карл Ойгстер (CH), Конрад Ханс Ойгстер (CH), Вальтер Хальдеманн (CH), Джорджо Ривара (IT)**

(73) Патентообладатель:
Мариген С.А. (CH)

(54) СПОНТАННО ДИСПЕРГИРУЕМЫЙ КОНЦЕНТРАТ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ, ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ СИСТЕМНЫЙ ПРЕПАРАТ И СОЕДИНЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение предназначено для приготовления лекарственных препаратов, используемых в онкологии. Спонтанно диспергируемый концентрат для приготовления микроэмульсий, фармацевтический препарат и терапевтический системный препарат содержат в качестве действующего начала стероловые эфиры формулы I



где R_1 - C_1 - C_{10}-алкил, C_2 - C_{10}-алкенил, R_2 - C_4 - C_{32}-алкил, C_4 - C_{32}-алкенил, C_4 - C_{32}-алкаполиен или ретиноилгруппа. Задача изобретения - расширение ассортимента онкологических лекарственных средств. 4 с. и 6 з.п. ф-лы, 6 табл.

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

(19) **RU** (11) **2 113 219** (13) **C1**

(51) Int. Cl.[6] **A 61 K 9/10, 31/56, C 07 J 9/00**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 5053147/14, 25.10.1991

(30) Priority: 28.01.1991 CH 257/91

(46) Date of publication: 20.06.1998

(71) Applicant:
Marigen S.A. (CH)

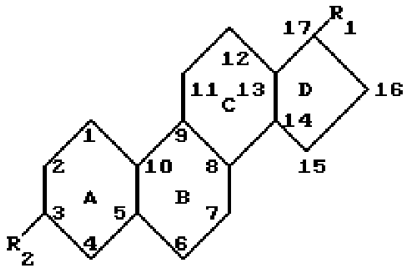
(72) Inventor: Karl Ojgster (CH), Konrad Khans Ojgster (CH), Val'ter Khal'demann (CH), Dzhordzho Rivara (IT)

(73) Proprietor:
Marigen S.A. (CH)

(54) SPONTANEOUSLY DISPERSIBLE CONCENTRATE, PHARMACEUTICAL PREPARATION, THERAPEUTIC SYSTEMIC PREPARATION AND COMPOUNDS

(57) Abstract:

FIELD: organic chemistry, medicine, pharmacy. SUBSTANCE: invention relates to preparing drugs using in oncology. Spontaneously DISPERSIBLE concentrate for preparing microemulsions, pharmaceutical preparation and therapeutic systemic preparation have sterine esters as active component of the formula



where:

R_1 - C_1-C_{10}-alkyl, C_2-C_{10}-alkenyl; R_2 - C_4-C_{32}-alkyl, C_4-C_{32}-alkenyl, C_4-C_{32}-alkapolyene or retinoyl-group. EFFECT: broadened assortment of drugs used in oncology. 10 cl, 6 tbl

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

Изобретение касается спонтанно диспергируемых концентратов, обладающих противоопухолевой активностью, содержащих в качестве активного вещества один или несколько соединений стероловых эфиров, а также их новых соединений.

В патентном описании Швейцарии N 678276-0 описываются стеролы, получаемые из экстрактов семян подсолнечника (Helianthus annuus L.) и определенных сортов тыкв (Cucurbita pepo L. и Cucurbita maxima Duch.), их глюкозиды и эфиры жирных кислот, а также полученные с их использованием препараты для борьбы с опухолями.

Известны препараты противоопухолевого действия, содержащие стероловые эфиры (эфиры глицирретиловой кислоты), которые могут быть изготовлены в различных лекарственных формах, в том числе в виде растворов, эмульсий и суспензий для инъекций (Fr 2403079, Al).

Было обнаружено, что нижеописанные, изготовляемые полусинтетически стероловые эфиры также проявляют полностью выраженное противоопухолевое действие при условии, что они включены согласно изобретению в спонтанно диспергируемые концентраты.

Эти стероловые эфиры обладают следующими основными структурами, приведенными в конце описания на схеме 1, где R_1 - C_1-C_{10}-алкиловая группа или C_2-C_{10}-алкениловая группа и R_2 - C_4-C_{32}-алкиловая группа, C_4-C_{32}-алкениловая группа-, C_4-C_{32}-алкаполиэновая- или ретиноиловая группа.

Особое значение имеют стероловые эфиры, которые изготовлены из следующих исходных соединений, приведенных в конце описания на схеме 2, где R_2 - C_4-C_{32}-алкиловая-, C_4-C_{32}-алкениловая-, C_4-C_{32}-алкаполиэновая- или ретиноиловая группа.

Предметом представленного изобретения является спонтанно диспергируемые концентраты с указанными соединениями стероловых эфиров. Такие концентраты, смешанные с дистиллированной водой, 5%-ым раствором глюкозы или физиологическим раствором поваренной соли, дали водные микроэмульсии с прекрасной фазовой стабильностью и повсюду четко повышенной способностью проникновения и распространения.

Спонтанно диспергируемые концентраты согласно изобретению содержат: 0,5 - 5 мас.% стеролового эфира согласно формуле I, 5-20 мас.% служащего в качестве гидротропа (Co-эмульгатора) фармацевтически приемлемого агента растворения и для остатка до 100 мас.% фармацевтически переносимого тензида или смеси тензидов.

По выбору они могут дополнительно содержать 0 - 10 мас.% витамина или провитамина и/или до 20 мас.% обычных фармацевтических наполнителей и/или разбавителей.

Тензиды и смеси тензидов, участвующие в предлагаемом изобретением процессе, могут быть анионоактивными, катионоактивными или неионогенными. Лучше всего, если они неионогенные и имеют величину ГЛБ (т.е. гидрофилическопофилический баланс) 2 - 18; предпочтительно 2 - 6 с одной стороны и 10 - 15 с другой стороны.

Величина ГЛБ указывает на гидрофильные и липофильные свойства эмульгатора (Paul Becher "Hydrophile - Lypophile Balance: History and recent Developments", Journal of Dispersion Science and Technology. 5(1), 81-96, 1984).

В качестве анионных тензидов могут быть использованы как так называемые водорастворимые мыла, так и водорастворимые синтетические соединения.

В качестве мыл хорошо использовать соли щелочных, щелочно-земельных металлов или замещенные соли аммония высоких жирных кислот (C_{10}-C_{22}), а также, например, натуральные натриевые и калийные соли олеиновой и стеариновой кислот или натуральные смеси жирных кислот, получаемых из кокосовых орехов или топленого животного сала. Кроме того, в качестве тензидов следует упомянуть жирнокислые соли метилтаурина, а также модифицированные и немодифицированные фосфолипиды.

Однако часто используются так называемые синтетические тензиды, особенно жирные сульфонаты, жирные сульфаты, сульфонированные производные бензимидазола или сульфонаты алкиларила.

Жирные сульфонаты и сульфаты имеются обычно в виде солей щелочных, щелочно-земельных металлов или замещенных солей аммония и имеют обычно алкильный остаток с 8-22 С-атомами, причем алкил включает в себя также алкильную часть алкильного остатка. Примером этого служат натриевая соль и соль кальция лигнинсульфоновой кислоты, эфир додециловой серной кислоты и сульфокислоты аддуктов этиленоксидов спирта жирного ряда. Сульфонированные производные бензимидазола содержат преимущественно две группы сульфоновой кислоты и остаток жирной кислоты с 8-22 С-атомами. Сульфонаты алкиларила - это, например, натриевая соль, соль кальция или триэтаноламиновая кислота додецилбензолсульфокислоты, дибутилнафталинсульфонкислоты или продукт конденсации формальдегида нафталинсульфоновой кислоты.

В качестве неионных тензидов прежде всего выбирают полигликольные эфирные производные алифатических или циклоалифатических спиртов, насыщенных или ненасыщенных жирных кислот и алкилфенолов, которые могут содержать 3 - 30 гликольэфирных групп, 8 - 20 С-атомов в (алифатическом) остатке углеводорода и 6 - 18 С-атомов в алкильном остатке. Кроме того, можно использовать в качестве неионных тензидов водорастворимые аддукты полиэтиленоксида, содержащие 20 - 250 групп этиленгликолевых эфиров и 10 - 100 групп пропиленэфиров и присоединенные к полипропиленгликолю и алкиполипропиленгликолю с 1-10 С-атомами в алкильной цепи. Названные соединения обычно содержат на одну единицу пропиленгликоля 1 - 5 единиц этиленгликоля.

В качестве примеров неионных тензидов могут служить: нонилфенолполиэтоксиэтанол, полигликольный эфир касторового масла, аддукты полипропиленполиэтиленоксида, трибутилфеноксиполиэтоксиэтанол,

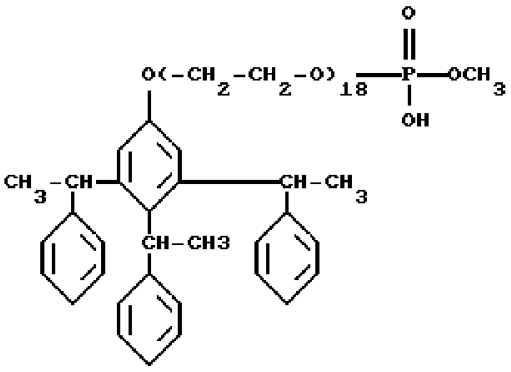
RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

полиэтиленгликоль и октилфеноксиполиэтоксиэтанол. Кроме того, можно использовать эфир жирной кислоты из полиоксиэтиленсорбитана, также как монолаурат или триолеат полиоксиэтиленсорбитана.

Катионные тензиды - это прежде всего четверичные соли аммония, которые в качестве азотных заместителей содержат как минимум один алкильный остаток с 8-22 С-атомами, а в качестве дальнейших заместителей имеют низкие или галогенированные алкильные, бензильные или низкие гидроксиалкильные остатки. Соли присутствуют прежде всего как галогениды, метилсульфаты или этилсульфаты, например стеарилтриметиламмонийхлорид или бензил-ди-(2-хлорэтил)-этиламмонийбромид.

В большей степени для получения спонтанно диспергируемых, представленных в изобретении концентратов предпочтительны тензиды эфира фосфорной кислоты, например

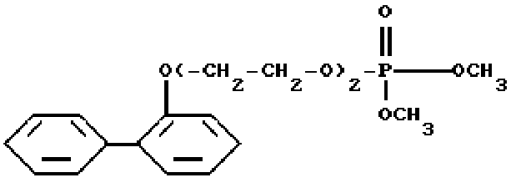


Тристирилфенолполиоксиэтилен-18-эфир фосфорной кислоты, триэтаноламиновая соль

(Soprophor® FL, RHÔNE-POULENC);

Нонилфенол-10-полиоксиэтилен-моно/дим етил эфира фосфорной кислоты

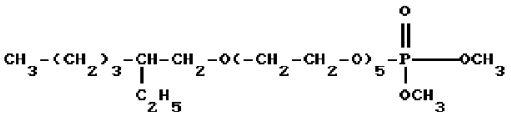
(Diphasol® 3873, CIBA-GEIGY);



(Tensid 508, CIBA-GEIGY);

Tinovetin® JU (CIBA-GEIGY), гидроксибифенил-10-этокси эфир фосфорной кислоты;

Бутил-моно-4-этокси эфир фосфорной кислоты (Zerostat R AT, CIBA-GEIGY) или



(Zerostat® AN, CIBA-GEIGY).

Как гидротроп или как служащие в качестве соэмульгатора фармасовместимые растворители можно использовать: сложный эфир алифатического спирта (C_3-C_{18}) с алифатической карбоновой кислотой (C_{10}-C_{22}), например изопропиллаурат, гексиллаурат, изопропилмиристат, изопропилпальмитат и лаурилмиристат; углеводороды с прямой цепью углерода (C_{12}-C_{32}), замещенный 6-16 метиловыми группами и имеющая 1-6 двойные связи, примером которых могут служить терпены, такие как полиметилбутаны и полиметилутены.

Моноэфир из этиленгликоля или пропиленгликоля с алифатической карбоновой кислотой (C_6-C_{22}) например пропиленгликольмонолауратом и пропиленгликольмономиристатом.

Сложный эфир из алифатического спирта (C_{12}-C_{22}) с молочной кислотой, например миристил- или преимущественно лауриллактатом; моно-, ди- или триэфиром глицерина с карбоновой кислотой (C_{12}-C_{22}), например глицерил-каприлатом или нейтральным маслом Myglyol R 812 (Oleum neutrale).

Сложный эфир из поли-(2-7)-этиленгликольглицеринового эфира с минимум одной свободной гидроксиловой группой с алифатической карбоновой кислотой (C_6-C_{22}), такой как, например, алифатическими спиртами (C_{12}-C_{22}), среди них деканоль, тетрадеканоль, олеиловый спирт, 2-гексилдеканоль и 2-октильдеканол.

Сложный эфир с минимум одной свободной гидроксиловой группой, состоящей из поли-(2-10)-гликоля с алифатической карбоновой кислотой (C_6-C_{22}), моноэфиром из полиэтиленгликоля с алифатическим спиртом (C_{12}-C_{18}), например полиоксиэтилен C_{10}-октиловым эфиром.

Гетероциклические соединения, как например 1-метил-2-пирролидон.

Все технические тензиды перед внесением в спонтанно диспергируемые концентраты путем фильтрации или хроматографии через нейтральную окись алюминия были очищены инертным растворителем, например тетрагидрофураном, этиловым спиртом или метиленхлоридом.

Как добавки в описанные в изобретении спонтанно диспергируемые концентраты рекомендуются витамины и провитамины (например, витамин А, ретинол, каротин, токоферолы), а также свободные жирные кислоты, такие как: валериановая, изовалериановая, сорбиновая, изокапроновая, лауриновая, миристиновая, пальмитиновая, стериновая, арахидовая, бегеновая, гексакозановая, октакозановая, пентадекановая, деценовая, ундеценовая, олеиновая, линолевая, арахидоновая, эруковая и т.д.

Применяемые согласно изобретению ультрамикроэмульсии типа масло в воде содержат: 0,01 - 5 мас.% спонтанно диспергируемого концентрата, как описано выше, 85 - 99,99 мас.% дистиллированной воды, 5%-ый раствор глюкозы и физиологический раствор поваренной соли (раствор Рингера), 0 - 10 мас.% фармацевтических наполнителей или добавок и/или вспомогательных веществ.

Необходимая для фармацевтического применения дневная доза составляет 0,001 - 25 мг/кг массы тела, по возможности распределенная на 2-3 разовые дозы. Для

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

этого новые содержащие стероловые эфиры, стеролофасфатиды или их спонтанно диспергируемые концентраты с их соединениями перерабатываются в фармацевтически обычные формы, такие как драже, таблетки, капсулы, порошки, грануляты, шарики, растворы, ампулы, эмульсии, кремы и свечи вместе с другими наполнителями и/или растворителями и стабилизаторами.

Вещества или смеси веществ, которые в форме спонтанно диспергируемых концентратов или подготовленных из них водных микроэмульсий, могут вводиться людям орально, посредством эмульсии, инъекций (внутривенной, подкожной или внутримышечной) или каким-либо другим образом. Если они имеются в твердой форме, такой как таблетки, гранулят, шарики, порошок или капсулы, то их вводят орально. Эти формы могут содержать дополнительные вещества-носители медицинских препаратов, такие как сахаридные или целлюлозные основы, связующие вещества, такие как крахмальная паста или метилцеллюлоза, наполнитель или размельчающее средство и т. д., причем здесь используются добавки, обычно используемые при изготовлении медицинских и фармацевтических препаратов. Если описанные в изобретении активные вещества и их смеси должны применяться в жидкой форме, но орально, то их изготавливают в виде суспензий, эмульсий и сиропов, кроме того их можно изготовить как сухой препарат, которому перед применением придается форма раствора или эмульсии.

Если соответствующие изобретению спонтанно диспергируемые концентраты подготовлены в виде водных микроэмульсий, они могут быть инъецированы. Растворы для инъекций могут быть изготовлены в ампулах или непосредственно перед использованием, в то время как концентраты суспендированы в жидкой среде, такой как стерильная вода, 5%-ый раствор глюкозы или физиологический раствор поваренной соли.

При необходимости во впрыскиваемый препарат можно добавить обычные растворители, стабилизаторы, консервирующие средства и добавки для получения изотонического раствора. Полученный таким образом впрыскиваемый препарат можно вводить внутривенно, внутримышечно, подкожно или каким-нибудь другим подходящим способом.

Предлагаемое изобретение касается также фармацевтических препаратов, содержащих активные вещества и их смеси и/или описанные спонтанно диспергируемые концентраты, применяемые для подавления роста клеток опухолей. Фармацевтические препараты согласно изобретению - это препараты для внутреннего (орального или ректального), а также парентерального или местного введения в организм теплокровных, содержащие спонтанно диспергируемые концентраты в чистом виде или с фармацевтически применяемыми наполнителями.

Дозировка описанных в изобретении концентратов зависит от вида теплокровных, его возраста и личного состояния, а также от способа применения. Так, например, для достижения эффекта отмирания опухолевых клеток у теплокровных с незначительным весом тела, таких как мышей, крыс и хомяков, применяется при подкожном введении доза в параметрах 0,1 - 50 мг/кг массы тела, а при внутрибрюшинном введении доза в параметрах 0,05 - 5 мг/кг массы тела.

Для орального и ректального применения используются формы фармацевтических препаратов, содержащие 1 - 95%, преимущественно 10 - 95%, особенно 20 - 95% указанного в изобретении спонтанно диспергируемого концентрата. Таким образм можно применять отдельные дозы в стандартных формах драже, маленьких шариков, таблеток, свеч или ампул, а прежде всего - капсул.

Подходящими наполнителями для орального применения являются, в основном, сахар (например, лактоза, сахароза, маннит или сорбит), препараты целлюлозы и/или фосфаты кальция (например, порошковый фосфат трикальция или кальция), связующие средства, такие как крахмальный клей, получаемый с использованием кукурузного, пшеничного, рисового или картофельного крахмала, желатина, траганта, метилцеллюлозы, гидроксилметиловой целлюлозы, гидроксипропиловой метиловой целлюлозы, натриумхлоридной метиловой целлюлозы и/или поливинилпирролидона и/или (если желательно) взрывчатых средств, таких как указанные выше крахмалы, а также карбоксиметиловый крахмал, поливинилпирролидон с поперечно связуемыми цепями, агар, альгиновая кислота или ее соль, как например альгинат натрия.

Как вещества, регулирующие текучесть препарата, могут использоваться, например, полиэтиленгликоли N 200 - 600 и выше.

Предпочитаемые людьми желатиновые капсулы получают соответствующую оболочку, причем для этого используются, кроме прочего, концентрированные сахарные растворы - содержащие при необходимости гуммиарабик, тальк, поливинилпирролидон, полиэтиленгликоль и/или титандиоксид-, а также лаковые растворы (водные или такие, которые могут быть получены применением органических растворителей) или неразрушаемые желудочным соком оболочки из растворов соответствующих препаратов целлюлозы, таких как микрокристаллическая целлюлоза (Avicel^{TM}), ацетилцеллюлозефталат (Metolose ^{TM}), гидропропилметил-целлюлозеацетат-сукцинат (AQOAT^{TM}) или из сополимеризата, например Eudragit® L30D.

На основе изобретения особенно удобна применяемая орально фармацевтическая форма составной капсулы, изготовляемой из желатина и размягчителя, такого как глицерин или сорбитол. Капсулы из мягкого или твердого желатина, а также такие же из AQOAT^{TM} (гидроксилпропил-метилцеллюлозе-ацетатсукцинат) могут содержать в соответствии с изобретением спонтанно диспергируемые концентраты в смеси с тальком или стеаратом магнезии и при необходимости со стабилизаторами и антиоксидантами, такими как, например, α-, β- или γ-токоферол. Рекомендуется использовать соответствующие жидкости, такие как жидкие полиэтиленгликоли N 200- 600 в качестве разбавителя, причем к ним можно добавить

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

соответствующие стабилизаторы и антиоксиданты.

Для парентерального применения концентраты, описанные в изобретении, разбавляются дистиллированной водой. К полученной таким образом водной инъекционной микроэмульсии можно добавить вещества, повышающие вязкость, как например Na-карбоксиметилцеллюлозу, сорбит, маннит и/или декстран, а в случае необходимости также стабилизаторы и антиоксиданты.

Фармацевтические препараты для парентерального применения содержат преимущественно 0,1 - 60%, а обычно 1 - 40% описанного спонтанно диспергируемого концентрата.

Препараты местного применения, особенно рекомендуемые для профилактики и терапии рака кожи, - это крема, мази, пасты, помады, пены, тинктуры и растворы, содержащие 0,01 - 70% описанного спонтанно диспергируемого концентрата.

Для кремов и водно-масляных эмульсий, содержащих более 50% воды, используют в качестве масляной основы прежде всего жирные спирты, например лауриловый, цетиловый или стеариловый спирт, жидкий и твердый воск, например изопропилмиристат, шерстяной и пчелиный воск и/или углеводороды, такие как вазелин (петролатум) или парафиновое масло. Для эмульгирования этих маслянистых основ применяются прежде всего поверхностно-активные, фармацевтически совместимые вещества с преимущественно гидрофильными свойствами, такие как, например, неионогенные эмульгаторы, прежде всего сложные эфиры жирных кислот полимерных спиртов или аддукты этиленоксида (например, эфир полиглицериновой жирной кислоты или полиэтиленсорбитановый эфир жирной кислоты) с ГЛБ ниже 8. Добавки к водной фазе - это, кроме прочего, вещества, предотвращающие высыхание кремов, например полимерные спирты, такие как глицерин, сорбит, пропиленгликоль и/или полиэтиленгликоли N 200-600, а также консервирующие средства, ароматизаторы и т.д.

Мазями являются эмульсии вода в масле, которые содержат до 70%, предпочтительно 20 - 50% воды или водных фаз.

В качестве жировой фазы в первую очередь пригодны углеводороды, например вазелин, парафиновое масло и/или твердые парафины, которые для улучшения водосвязывающей способности содержат подходящие соединения гидроксида, как например спирт жирного рода или сложный эфир, к этому немного цетилового спирта или спирта шерстяного воска.

Выборочно добавляют еще эмульгаторы с HLB-значением 8 - 16, как например сорбитан - сложный эфир жирной кислоты (приблизительно сорбитанизостеарол). Добавками для водной фазы среди прочих являются стабилизатор (регуметор) влажности, как полимерные спирты (глицерин, пропиленгликоль, сорбин и/или полиэтиленгликоль N 200, 400, 600); консервирующее средство, душистые вещества и т.д.

Жирные мази свободны от воды, а в качестве основы содержат в основном углеводороды, например парафин, вазелин и/или жидкие парафины; кроме того, натуральные или парциальные синтетические жиры, такие как например триглицерин кислоты кокосового масла, а также неполный сложный жирнокислотный эфир глицерина, например уже упомянутые в связи с мазями повышающие водоадсорбируемость жирные спирты, эмульгаторы и/или добавки.

Пасты - это крема и мази с секретоадсорбирующими составными частями пудры, например окиси металлов (таких как окись титана или цинка), а также тальк и/или силикаты алюминия, имеющие функцию связывания влаги или секрета.

Пены применяются в баллончиках, находящихся под давлением, и являются водно-масляной эмульсией описанного спонтанно диспергируемого концентрата в аэрозольной форме, причем в качестве вспенивающего вещества используются галогенизированные углеводороды (например, низкие алканы хлорфлуора: дихлордифлуорметан и дихлортетрафлуоретан). В случае необходимости к ним добавляют обычные консервирующие средства и т.д.

Примеры получения патентуемых стероловых эфиров и стеролфосфатидов.

Пример 1. Получение эргоста-5,7,22-триен-3-ол-додеценоата.

2 г додеценилловой кислоты и 1,8 г тионилхлорида кипятят 2 ч на рефлюксе в 300 мл тетрагидрофурана. После чего отгоняют 150 мл тетрагидрофурана и добавляют 3,97 г эргостерола (=эргоста-5,7,22- триен-3-ол) и 0,5 г диметилформамида.

После двухчасового нагрева при 70°C вакуумной перегонкой растворитель удаляется. Остаток перекристаллизовывается в ацетонитрил/ацетон (50/50).

Таким образом получают чистый эргостеролдодеценоат с температурой плавления (т.пл.) в 86,6-91,1°C.

Таким же способом получают соединения, приведенные в табл.1.

Пример 2. Получение стигмастерол-транс (всепереходного) ретината.

К 600 мг трансвсепереходной-ретиновой кислоты и 50 мг диметилформамида в 70 мл толуола при 5°C прикапывают 360 мг оксалилхлорида в 30 мл толуола. Через 4 ч при 20°C половина растворителя отделяется вакуумной перегонкой.

К остатку раствора добавляют 650 мг стигмастерола и 50 мг р-диметиламинопиридина в 30 мл толуола. Реакционный раствор подогревают в течение 2 ч на рефлюксе при 100-110°C. После чего растворитель отделяют вакуумной перегонкой. Остаток хроматографируется на силикагельной кислоте с гексановым/уксусным сложным эфиром (9:1).

Получают чистый стигмастерол-trans-ретинат с температурой плавления 89 °C и ультрафиолетовым поглощением в $\lambda_{макс.}$ 385,5 нм.

Таким же способом получают соединения, имеющие те же свойства кристаллических цепей, т.е. параметр температур плавления в большинстве случаев неопределяем (см. табл.2).

UV-(ультрафиолетовые) спектры

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

измерялись на спектрофотометре Shimadzu UV-160A.

BI (показатель преломления) = RI (показатель рефракции) измерялись на DUR-Refractometer Schmidt + Haensch, Berlin.

IR (инфракрасные) спектры измерялись на спектрофотометре Perkin Elmer 983G.

Коэффициенты Rf патентуемых соединений, полученных по примерам 1 или 2, приведены в табл. 3 и 4 (1%-раствор в CH_2Cl_2, нанесен ленточной формой 2 см/2 μl Линомат III CAMAC 10 см run; UV 366 по 1:1 H_2SO_4/MeOH 2 мин 120°C).

Коэффициенты Rf с нормальной хроматографией гексана/уксусного эфира 90: 10

β-Эстрадиол-ди-10-ундеценоат - 0,37

β-Эстрадиол-диолеат - 0,48

Эргостерол-trans-ретинат - 0,88

Эргостерол-линоленат - 0,82

Эргостерол-линоленат - 0,96

Пластинка Merck Art. N 5715.

Примеры составов спонтанно диспергируемых средств согласно изобретению, содержащих антиопухолевые вещества стерола согласно формулам I - VI:

а) 0,5 - 5 мас.% одного или нескольких стероловых эфиров по формулам I - V, а также имеющие определенное значение значительные составные части:

5 - 20 мас.% изопропилмиристата, изопропилпальмитата или Miglyol® 812 (Dynamit- Nobel);

22,5 - 40 мас.% Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY) для остатка до 100 мас.% Diphasol® 3873 (CIBA-GEIGY) и/или TWEEN®-20.

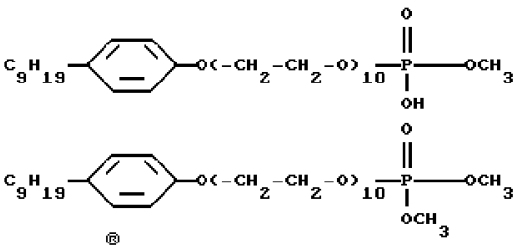
б). 0,5 - 2 мас.% одного или многих стероловых эфиров согласно одной из формул I - VI,

5 - 20 мас.% изопропилмиристата, изопропилпальмитата или Miglyol® 812 (Dynamit-Nobel),

22,5 - 40 мас.% Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY) для остатка до 100 мас.% Soprophor® FL (RHONE-POULENC).

Miglyol® 812- Neutralöl - это нейтральное масло (Oleum neutrale) фирмы Dynamit-Nobel, соответствующее смещеннокислотному триглицерину фракционированных кислот кокосового масла C_8-C_{10}.

Diphasol® 3873 является смещенным эмульгатором, состоящим из 50% каждого из обоих соединений с формулами:

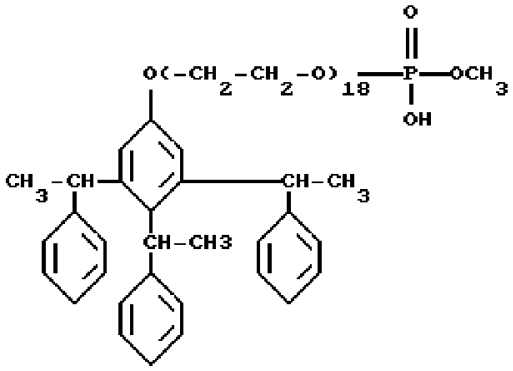


Diphasol® 3873 (CIBA-GEIGY)

Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY) является третичным октилфенил-полиоксиэтиленовым эфиром с 9-10 оксиэтиленовыми группами.

TWEEN®-20 (ATLAS CHEMICALS, или ICI SPECIALITIES) является сорбитанмонолаурат, т. е. т. н. соединение полисорбата в классификации CTFA.

Soprophor® FL (RHONE-POULENC) является эфиром тристирилфенол-полиэтилен-18-эфирфосфорной или -TEA- (триэтаноламиновая)-соль, поверхностно-активное вещество:



Soprophor® FL, RHONE-POULENC).

Результаты биологической проверки.

Противоопухолевое действие спонтанно диспергируемых концентратов с активными веществами, описанными в примерах переработки а) и б) подтверждается результатами следующих проверок.

Пробирочным тестом с соответствующими линиями опухолевых клеток была выработана биологическая система пробирочного анализа, работающая с микротитровыми пластинками и рядами разбавителей. В культурную среду RPMI 1640 выделяются по 10^4/мл опухолевых клеток, инактивированных с 10%-ой сывороткой зародыша теленка (GIBCO); они высеиваются так негусто, что могут расти во время пробирочного анализа в так называемый нестекающий монослой. Добавка проб производится через 6-24 ч с 100 μl на ряд, к которым в первое отверстие примешивается 100 μl культурной среды. Потом оттуда выбирается половина и вводится в следующее отверстие, снова с примесью 100 μl культурной среды. Таким образом получается геометрический ряд разбавления n1/2.

Пробы инкубируются в реакции разеткообразования в течение 3-5 дней при 37°C с 3,5% CO_2. После чего следует окрасить/зафиксировать с 0,1% кристаллического фиолетового (Fluka, Buchs) в растворе, состоящем из 70% метанола, 1% формальдегида, 29% воды. Оценка производится под микроскопом при 300-кратном увеличении. Определяется самое большое цитоксическое разбавление. Количественная оценка проводится сканированием и измерением абсорбции на спектрофотометре.

Проверка действия спонтанно эмульгируемого концентрата с содержанием 2% эргостерол-линолеата (эрго-стероловый эфир $C_{18:2}$) на человеческих лейкоцитах показала результаты, приведенные в табл.6.

Барьер печени. Проверка была проведена на окрашенной, оставленной на месте печени. Вводились патентуемые спонтанно диспергируемые концентраты, содержащие 2% эргостерол-10-ундеценоата или 2%-ый эргостерол-trans-ретинат, разведенные

RU 2113219 C1

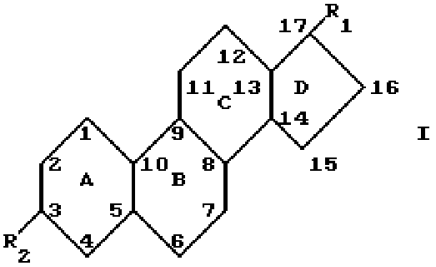
RU 2113219 C1

дистиллированной водой в соотношении 1:10, 1:100 и 1:1000 и инъецированные с раствором Рингера. Работы были любезно проведены Институтом клинической фармакологии Бернского университета (проф. д-р Р.Прайзиг). Были взяты по 15 фракций в течение 20 мин. Аналитическая обработка проводилась зонно-капиллярным электрофорезом (12 кВ постоянно) прибором фирмы Beckman Instruments (P/ACE System 2000, Version 1.50).

Результат: активные вещества преодолевают барьер печени даже в самой высокой испытанной концентрации 1: 10 (=2000 ppm, содержание действующих субстанций), в течение каждых 10-12 мин гепатический барьер полон.

Формула изобретения:

1. Спонтанно диспергируемый концентрат, обладающий противоопухолевой активностью, содержащий активнодействующее вещество и обычные добавки, отличающийся тем, что в качестве активнодействующего вещества он содержит 0,5 - 5 мас.% стеролового эфира основной структуры I



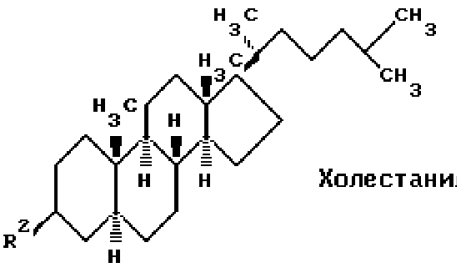
I

где R_1 - C_1 - C_{10}-алкил, C_2 - C_{10}-алкенил;

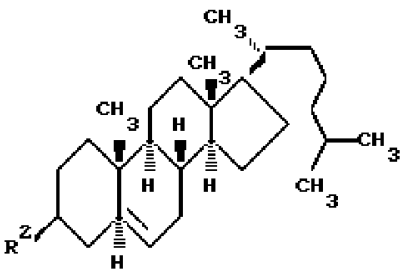
R_2 - C_4 - C_{32}-алкил, C_4 - C_{32}-алкенил, C_4 - C_{32}-алкаполиен или ретиноилгруппа,

5 - 20 мас.% - фармацевтически приемлемого растворителя, одновременно выполняющего функцию гидротопа и соэмульгатора, и остальное до 100 мас.% - фармацевтически переносимого тензида или смеси тензидов.

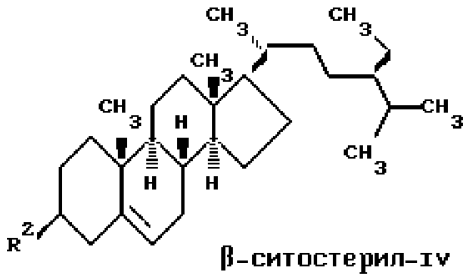
2. Концентрат по п. 1, отличающийся тем, что в качестве активнодействующего вещества он содержит стероловый эфир, выбранный из следующих соединений:



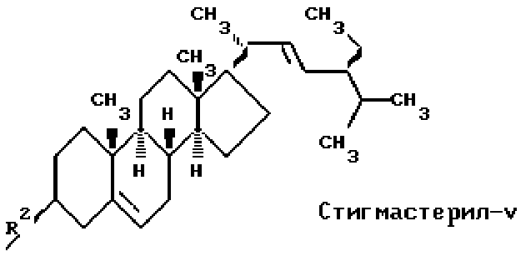
Холестанил-II



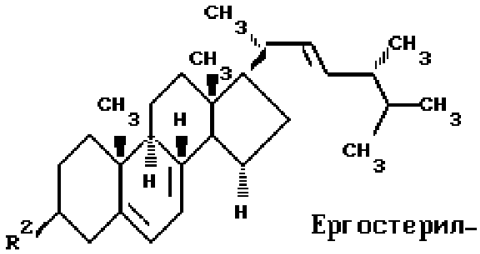
Холестерил -III



β-ситостерил-IV



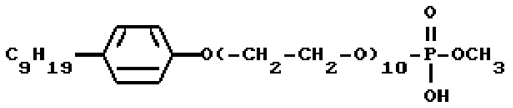
Стигмастерил-V

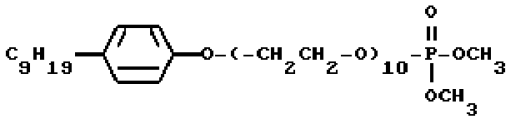


Эргостерил-VI

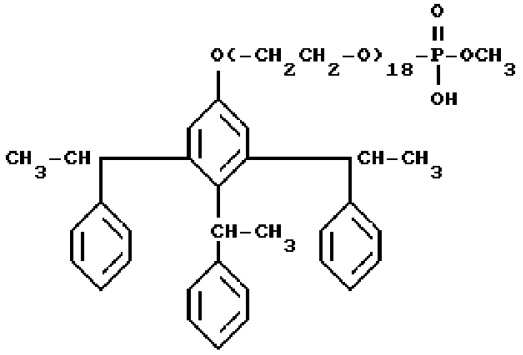
причем R_2 - C_4 - C_{32}-алкил, C_4 - C_{32}-алкенил, C_4 - C_{32}-алкаполиен или ретиноилгруппа.

3. Концентрат по п. 1, отличающийся тем, что он содержит 0,5 - 2 мас.% стеролового эфира формулы I в качестве активнодействующего вещества, 9,5 - 20 мас.% изопропилмиристата, изопропилпальмитата или нейтрального масла, 39 - 45 мас.% безводного четвертичного простого октилфенилполиоксиэтиленового эфира, а также 39 - 45 мас.% смешанного эмульгатора, состоящего из двух соединений формул





при их массовом соотношении 1 : 1, или эмульгатора формулы



4. Фармацевтический препарат,

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

содержащий до 80 мас.% спонтанно диспергируемого концентрата по п. 1 до 10 мас.% витамина или провитамина и/или до 20 мас.% обычного в фармации носителя и/или разбавителя.

5. Концентрат по пп. 1 и 2, отличающийся тем, что в качестве активнодействующего вещества он содержит стероловые эфиры формул II - VI, используемый в качестве лекарственного средства.

6. Спонтанно диспергируемый концентрат по п. 5 для применения в качестве лекарственного средства с противоопухолевой активностью, отличающийся тем, что в качестве активнодействующего вещества он содержит 0,5 - 2 мас.% по меньшей мере одного соединения, выбранного из группы, включающей β-ситостерил-капроилат, β-ситостерил-лаурат, β-ситостерил-пальмитат, β-ситостерил-стеарат, β-ситостерил-арахидат, β-ситостерил-бегенат, β-ситостерил-10-ундеценоат, β-ситостерил-олеат, β-ситостерил-транс-ретинат, стигмастерил-лаурат, стигмастерил-пальмитат, стигмастерил-10-ундеценоат, стигмастерил-линолеат, стигмастерил-линоленат, стигмастерил-транс-ретинат, эргостерил-пальмитат, эргостерил-бегенат, эргостерил-10-ундецеонат, эргостерил-транс-ретинат.

7. Терапевтический системный препарат, содержащий 90 мас.% спонтанно диспергируемого концентрата по п. 2, 10 мас.% - вещества, улучшающего пенетрацию, уловителя радикалов и/или фармацевтических вспомогательных веществ и представленный в дозированной единичной форме приема в виде микрокапсул, гранулята, драже, суппозиториев, ампул или капсул.

8. Препарат по п. 7, содержащий 44 ч материала ядра для получения гранулята или шариков (пелеттов), 25 ч концентрата по п. 2 и 31 ч устойчивого к желудочному соку гидроксилпропилметилцеллюлозоацетат-сукцината.

9. Препарат по п. 7 или 8, содержащий 64 ч материала ядра для образования гранулята или шариков (пеллет), 36 ч спонтанно диспергируемого концентрата и заполняемый в фармацевтически приемлемые капсулы из гидроксилпропилметилцеллюлозоацетат-сукцината.

10. Соединения:
стигмастерил-транс-ретинат,
стигмастерил-13-цис-ретинат,
эргостерил-транс-ретинат,
эргостерил-13-цис-ретинат,
эрогостерилкротонат,
эргостерил-10-ундеценоат,
эргостерил-транс-2-додеценоат.

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

Схема 1

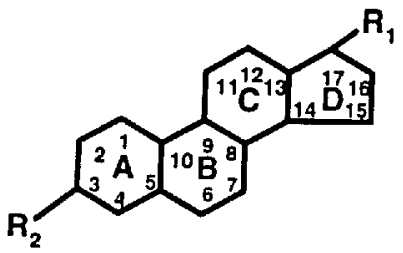


Таблица 1

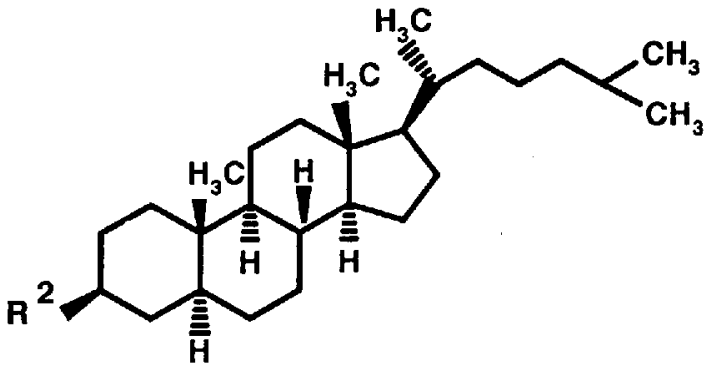
эргостеролкротонат	т.	пл.	150 - 151,6 °C	
эргостеролкаприлоат	т.	пл.	97,9 °C	§)
эргостерол-10-ундеценоат	т.	пл.	75,8 - 76,2 °C	
	IR:		2932 $см^{-1}$	ν (CH)
			2871 "	ν (CH)
			1722 "	ν (C=O) эстер
			1639 "	ν (C=O)
			1457 "	δ (CH)
			1371 "	δ (CH_3)
			1186 "	ν (C=O)
			983 "	δ (CH) }
			914 "	винил }
эргостероллаурат	темп. плавл.		86,5 °C	§)
эргостеролпальмитат	темп. плавл.		99,5 °C	§)
эргостерололеат	темп. плавл.		86,3 - 95,7 °C	§)
эргостероллинолат	BI:		1.50970	§)
	UV:		λмакс.253,0 нм	
эргостероллиноленат	BI:		1.51254	§)

Заметка: соединения с маркировкой §) не требуются.

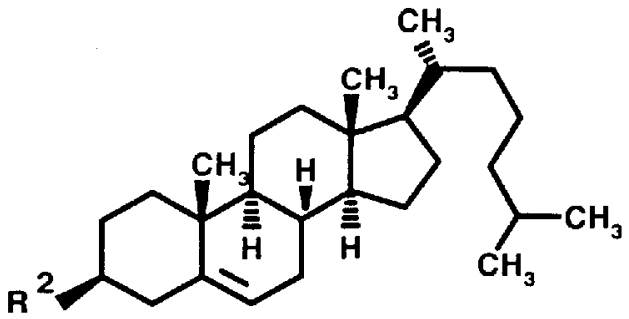
RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

Схема 2



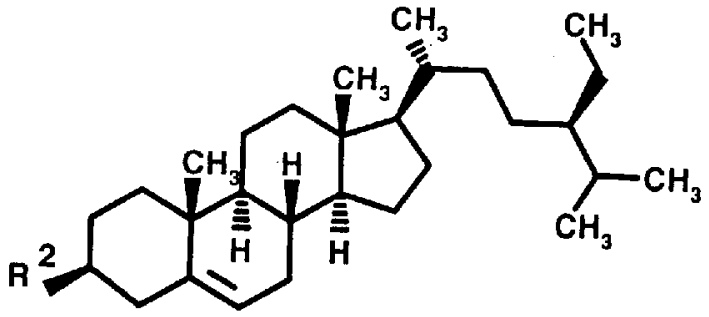
ХОЛЕСТАНОЛ- (II)



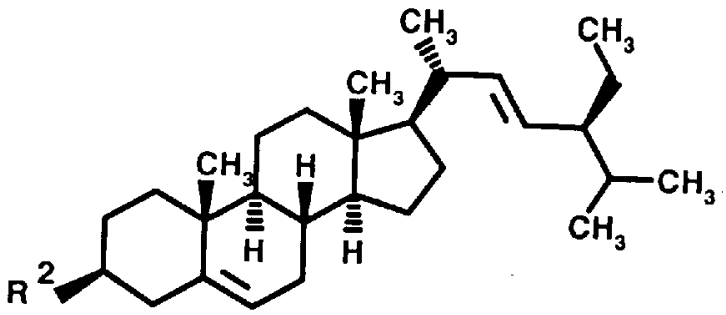
ХОЛЕСТЕРОЛ- (III)

RU 2113219 C1

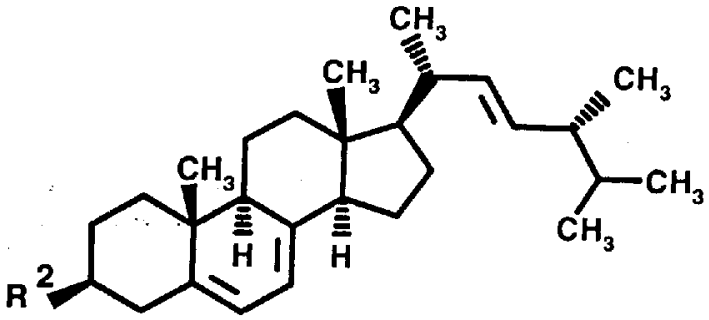
RU 2113219 C1



ß-СИТОСТЕРОЛ- (IV)



СТИГМАСТЕРОЛ- (V)



ЭРГОСТЕРОЛ- (VI),

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

Таблица 2

эргостерол— trans-ретинат	UV:	λмакс. 354,0/264,0 нм	
	IR	2958 $см^{-1}$	ν (CH)
		2871 "	ν (CH)
		1701 "	ν (C=O)
		1608 "	ν (C=C)
		1583 "	ν (C=C)
		1457 $см^{-1}$	δ (CH)
		1239 "	ν (C=O)
		1153 "	ν (C=O)
		1016 "	ν (C=O)
		970 "	trans C=C δ(CH)
ß-систостерол— trans-ретинат	UV:	λмакс. 344,5 нм	
холестерол— trans-ретинат	UV:	λмакс. 354,5 нм	§)
стигмастерол-13-цис-ретинат	UV:	λмакс. 348,0 нм	
эргостерол 13-цис-ретинат	UV:	λмакс. 346,0 нм	
ß-ситостерол-13-цис-ретинат	UV:	λмакс. 368,5 нм	
холестерол-13-цис-ретинат	UV:	λмакс. 345,5 нм	
эргостерол-линоленат	UV:	λмакс. 252,2 нм	§)
стигмастерол-арахидонат	UV:	λмакс. 251,8 нм	§)

BI: 1.51320 / 20 °C

Заметка: соединение с маркировкой §) не требуется.

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

Таблица 3

СИСТЕМА СОЕДИНЕНИЕ		2	3	4	5	6	7
ЭРГОСТЕРОЛ- $C_{8:0}$	--	0.17	0.32	0.77	--	0.81	--
ЭРГОСТЕРОЛ- $C_{12:0}$	0.06	0.14	0.29	0.73	0.89	0.74	0.57
ЭРГОСТЕРОЛ- $C_{16:0}$	0.07	0.16	0.32	0.75	0.92	0.82	0.58
ЭРГОСТЕРОЛ- $C_{18:1}$	0.08	0.18	0.35	0.80	0.92	--	0.63
ЭРГОСТЕРОЛ-all trans-РЕТИНАТ	0.07	0.17	0.42	0.00	0.91	0.87	0.73

Пояснение:

Система 1 Пластинка Merck Art. 5715 Петролейный эфир/диэтиловый эфир 98 : 2

Система 2 " " Петролейный эфир/диэтиловый эфир 97 : 3

Система 3 " Циклогексан/этилацетат 97 : 3

Система 4 Пластинка Macherey Nagel RP 18 Art. 811'071
Петролейный эфир/диэтиловый эфир 95 : 5

Система 5 " n-гексан/третичный бутилметиленовый/ацетон 90 : 5 : 5

Система 6 " Петролейный эфир/циклогексан/этилацетат/H_2O 48 : 48 : 3 : 1

Система 7 " Петролейный эфир/диэтиловый эфир 97 : 3

Коэффициены Rf

Таблица 4

СИСТЕМА СОЕДИНЕНИЕ	1	2	3	4	5
ЭРГОСТЕРОЛ- $C_{18:2}$	0.76	0.39	0.60	0.92	0.79
ЭРГОСТЕРОЛ- $C_{18:3}$	0.78	0.40	0.65	0.92	0.80
b-ЭСТРАДИОЛ-3,17-di-10-УНДЕЦЕНОАТ	0.38	0.10	0.15	0.75	0.30
b-ЭСТРАДИОЛ-3.17-di-ОЛЕАТ	0.42	0.22	0.20	0.83	0.38

Пояснение:

Система 1 Пластинка RP 18 MN Петролейный эфир /циклогексан /этилацетат/H_2O 48 : 48 : 3 : 1

Система 2 Пластинка SM Циклогексан /этилацетат 97 : 3

Система 3 Пластинка SM Петролейный эфир / Диэтиловый эфир 97 : 3

Система 4 Пластинка RP 18w MN Гексан/третичный бутилметиленовый эфир/ ацетонитрил 90 : 5 : 5

Система 5 Пластинка RP 18w MN Петролейный эфир / диэтиловый эфир 95 : 5

Заметка: Пластинка SM Merck Art. № 5715

RP 18 MN(w) Macherey Nagel Art. № 811'071

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1

Таблица 5

ОПУХОЛЕВАЯ ЛИНИЯ ПРЕПАРАТ	TS/A: Рак железы у мыши действует в разбавлении до 1:	
ЭКСПОЗИЦИЯ	16 часов	40 часов
ЭРГОСТЕРОЛ $C_{18:2}$	2'000'000	16'000'000
СТИГМАСТЕРОЛ-АЗАФРИНАТ	28'600'000	28'600'000
ЭРГОСТЕРОЛ- trans-РЕТИНАТ	800'000	1'600'000
СТИГМАСТЕРОЛ-ГЛИЦЕРО-ФОСФАТИД	400'000	1'600'000
СТИГМАСТЕРОЛ-ГЛИЦЕРО-ТИОФОСФАТИД	10'000'000	20'000'000
β-ЭСТРАДИОЛ-3,17-ОЛЕАТ	20'000'000	40'000'000

T S/A : рак железы у мыши (спонтанный рак молочной железы)

Prof. Guido Forni, Istituto di Microbiologia, Universita degli Studi di Torino, Scuola di Medicina.

Таблица 6

РАЗБАВЛЕНИЕ	24 часа	4 дня	5 дней
1 : 20	все клетки погибли	все клетки растворились	----
1 : 80	все клетки погибли	все клетки растворились	----
1 : 200	R B C растворились	R B C растворились	----
1 : 400	R B C растворились лейкоциты в порядке	все клетки ратворились	----
1 : 1'000	все клетки в порядке	все лейкоциты в порядке	все лейкоциты в порядке
1 : 5'000	все клетки в порядке	все лейкоциты в порядке	все лейкоциты в порядке
1 : 20'000	все клетки впорядке	все лейкоциты в порядке	все лейкоциты в порядке

Заметка: RBC стоит для "Red blood cells", эритроцитов, красных кровяных телец разбавления концентрата до водных эмульсий с концентрацией - содержанием как указано.

RU 2113219 C1

RU 2113219 C1