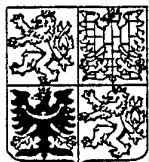


ČESKÁ  
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD  
PRŮMYSLVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **5957-88**

(22) Přihlášeno: 06. 09. 88

(40) Zveřejněno: 18. 11. 92

(47) Uděleno: 24. 11. 93

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 19. 01. 94

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.<sup>5</sup>:

**A 61 K 31/135**

**A 61 K 31/725**

(73) Majitel patentu:

Výzkumný ústav organických syntéz, s. p.,  
Pardubice, CZ;

(72) Původce vynálezu:

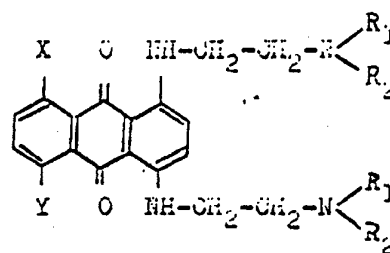
Briestenský Jiří ing., Černilov, CZ;  
Havlíčková Libuše ing. CSc., Pardubice, CZ;  
Kašpar Miroslav MUDr., Jičín, CZ;  
Křepelka Jiří ing. CSc., Praha, CZ;  
Koloničný Alois ing., Pardubice, CZ;

(54) Název vynálezu:

**Polymerní léčivo s cytostatickým a  
antivirózním účinkem a způsob jeho  
přípravy**

(57) Anotace:

Polymerní léčivo je tvořeno farmakologicky účinným derivátem 1,4-diaminoanthrachinonu, vzorce I, kde R<sub>1</sub> a R<sub>2</sub> mohou být stejné nebo různé a představují atom vodíku nebo C<sub>1</sub> až C<sub>4</sub> alkyl, případně substituovaný hydroxylem, X a Y mohou být stejné nebo různé a znamenají vodík, chlor nebo hydroxyl, který je vázán chemisorpcí na uronový řetězec polymerního nebo oligomerního sacharidu. Ionogenní skupiny řetězce mohou být farmakologicky účinným derivátem 1,4-diaminoanthrachinonu satureovány zčásti nebo zcela. Množstevní poměr mezi účinnou složkou a složkou sacharidovou je 1:5 až 1:100.



(I)

Vynález se týká polymerního léčiva s cytostatickým a antivirálním účinkem, obsahujícího jako účinnou složku deriváty 1,4-diaminoanthrachinonu, které jsou vázány chemisorpcí na uronový řetězec polysacharidu nebo oligosacharidu.

Účinnost léčby nádorů byla v posledních letech značně zvýšena objevem nových účinných cytostatik, zejména biologicky aktivních komplexů platiny a antibiotických antracyklinových sloučenin, což umožnilo zvýšení účinků chemoterapie a její širší aplikace. Základním předpokladem cytostatického účinku každé aplikované látky je její optimální koncentrace v cílové tkáni. Je známo, že nízkomolekulární cytostatika jsou v organismu rychle metabolizována a vylučována s relativně krátkými hodnotami poločasů. Snadno pronikají buněčnými membránami náhodnou difuzí jak do zdravých, tak i do nádorových buněk. Proto lze většinou zajistit jen krátkodobý účinek cytostatika na poměrně malou frakci nádorové populace. Protože účinná koncentrace léčiva v cílové tkáni rychle klesá, je nutno v přiměřených časových intervalech aplikaci opakovat, čímž vzrůstá celkové zatížení organismu. Mnohdy se však účinná koncentrace cytostatika v cílové tkáni blíží hodnotě systémové toxické dávky, protože většinou dochází k zaplavení celého organismu léčivem. I když lze v některých případech tyto vysoké koncentrace cytostatik použít, vyžaduje to současně podávání antidota. Snahou je tedy maximální zvýšení účinku v cílové nádorové tkáni a zároveň snížení účinku aplikovaného léčiva ve tkáních zdravých. V některých případech lze dosáhnout i úpravou léčebného režimu, aby docházelo k podstatnému zvýšení koncentrace léčiva v nádorové tkáni a zároveň se omezilo zasažení tkání zdravých, např. se používá metoda intraarteriální aplikace cytostatik do nádorové tepny, nebo se účinná látka aplikuje do regionálních oblastí, např. intrathekálně nebo intraperitoneálně u ascitických nádorů, kdy lze zvýšit místní koncentraci cytostatika až stokrát v poměru k plasmatické koncentraci, ale tyto metody jsou vhodné právě pouze pro speciální případy.

Snaha o zvýšení terapeutického indexu a zvýšení koncentrace v cílové tkáni vedla k omezování prostupu nízkomolekulárního cytostatika biologickými membránami tím, že tyto bioaktivní molekuly byly vázány na řetězce polymeru, čímž lze zamezit neřízené difuzi, a takovéto polymerní léčivo je pak zachyceno příslušnou buňkou pomocí pinocytózy. K uvolňování aktivní složky dochází enzymatickým odbouráváním v příslušném kompartmentu. Pokud se léčivo z polymerní matrice uvolňuje difuzí (např. dle Higuschioho vztahu), znamená to, že účinná bioaktivní molekula není vázána na polymer kovalentní vazbou. V případě elektrovalentní vazby může být vytěsněno z polymeru látkou, mající vyšší chemisorpční afinitu k ionogennímu polymeru.

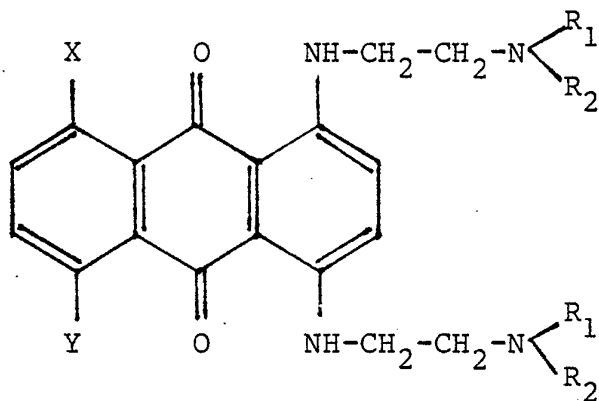
Jsou známy postupy, kdy je účinná látka pouze fixována v polymerní síťované nebo nesíťované matrici bez vlastní vazby na polymer. Např. 1-(2-chlorethyl)-3-cyklohexyl-1-močovina (CCNU) byla fixována do matrice albuminu síťované chloridem kyseliny (Actuallité de chimie thérapeutique 1985, 12, 141 - 67) nebo např. cis-diamindichlorplatnatý komplex (DDP) byl fixován do matrice etylcelulózy (Br.J.Cancer 1986, 53, 369 - 75). Nevýhodou těchto postupů je použití nevstřebatelných nebo částečně vstřebatelných polymerů a zejména pak zanášení síťovacích látek, ať již chloridů kyselin nebo aldehydů apod., jejichž zbytky se z produktů jen

obtížně odstraňují a mohou být příčinou negativní reakce organismu na polymerní léčivo. Jsou studovány možnosti vazby cytostatik na liposomy, takto připravená léčiva však doposud v praxi poskytla pouze málo přesvědčivé výsledky. V současnosti je prověřována schopnost tzv. induktorů tvorby interferonů plnit funkci nosičů aktivních substancí.

Soubor účinných látek byl v poslední době rozšířen o skupinu léčiv s výraznými cytostatickými a antivirózními účinky, podobných antibiotickým tetracyklinům, která jsou však připravována syntetickou cestou. U těchto derivátů 1,4-diaminoanthrachinonu, které jsou příbuzné anthrachinonovým barvivům, je zachována schopnost barviv pevně se fixovat na vhodném typu povrchu. U těchto přípravků ve srovnání s antibiotickými cytostatiky vystačí nižší terapeutické dávky, jsou potlačeny některé vedlejší účinky a účinné látky jsou dobře dostupné syntetickou cestou. Vykazují dále účinnější inhibici syntézy DNA i RNA, rychleji se vážou ve tkáních a vykazují u experimentálních nádorů vyšší protinádorovou účinnost. V některých případech byla zaznamenána nižší kardiotoxicita. Nicméně i tyto relativně nízkomolekulární látky jsou ještě poměrně rychle v organismu deaktivovány a vylučovány zejména játry, proto i v těchto případech je snaha o jejich fixování na polymer. Byla popsána syntéza polymerního léčiva, jehož aktivní složka, derivát 1,4-diaminoanthrachinonu, je vázána na syntetickou DNA, tj. polyribonukleotidovou kyselinu (Cancer Chemotherapy and Pharmacology 1987, 20 : 81-82). Nevýhodou kombinace jsou ovšem známé poměrně rozsáhlé negativní účinky uvedeného polymeru na organismus, které se projevily při klinických zkouškách, i když na druhé straně je schopen např. zvyšovat fagocytární schopnosti buněk a již při koncentracích  $10 \text{ g.kg}^{-1}$  vykazuje účinky jako induktor tvorby interferonu. (B.Melichar: Chemická léčiva, Avicenum, Praha 1987, str. 728).

Nyní bylo zjištěno, že skupina cytostatik na bázi 1,4-diaminoanthrachinonu, která si zachovala některé vlastnosti barviv, má vysokou afinitu k polysacharidům ionogenního typu, které jsou buď přírodního nebo syntetického způsobu, ale jsou vždy kompatibilní s organismem a v organismu odbouratelné.

Polymerní léčivo s cytostatickými a antivirózními účinky podle tohoto vynálezu je tvořeno farmakologicky účinným derivátem 1,4-diaminoanthrachinonu obecného vzorce I



(I)

kde  $R_1$  a  $R_2$  mohou být stejné nebo různé a představují atom vodíku nebo alkyl s počtem uhlíků 1- 4 s přímým nebo rozvětveným řetězcem, který může být substituován skupinou hydroxylovou. Substituenty X a Y mohou být stejné nebo různé a představují atom vodíku, chloru nebo skupinu hydroxylovou. Tento derivát 1,4-diaminoanthrachinonu je vázán chemisorpcí na uronový řetězec polymerního nebo oligomerního sacharidu. Jeho jednotlivé pyranozové jednotky jsou vzájemně vázány 1,4- nebo 1,3- glykozidickými vazbami nebo střídavě 1,4- a 1,3- s možností větvení v polohách 1,6, přičemž volné hydroxylové skupiny sacharidového řetězce mohou být zcela nebo zčásti substituovány skupinami  $-\text{OSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NHSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHCOCH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ , obsah uronových karboxylových skupin leží v rozmezí 1- 25,5 % hmotnostních a molární hmotnost sacharidového derivátu činí  $700 - 5 \cdot 10^6$  D, s výhodou  $700 - 10^5$  D. Ionogenní skupiny řetězce mohou být farmakologicky účinnými deriváty 1,4-diaminoanthrachinonu vzorce I satureovány zcela nebo zčásti. Hmotnostní poměr účinné složky a složky polysacharidové je 1 : 5 až 1 : 100, s výhodou 1 : 5 až 1 : 60. Volné ionogenní skupiny mohou být případně obsazeny dalšími organickými nebo anorganickými fyziologicky snášenlivými nebo i účinnými kationty, kationty kovů, např. Na, K, Mg, Ca, Al, Fe, Ga, Zn, dále  $\text{NH}_3$ , mono-, di- a trietylaminu, mono-, di- a trietanolaminu, hystaminu, argininu, cholinu, nebo komplexy Pt, Pd a Sn.

Způsob výroby polymerního léčiva dle tohoto vynálezu spočívá v tom, že se polymerní nebo oligomerní sacharid, jehož jednotlivé pyranozové jednotky jsou vzájemně vázány 1,4- nebo 1,3-glykozidickými vazbami nebo střídavě 1,4 a 1,3 s možností větvení v polohách 1,6-, přičemž volné hydroxylové skupiny sacharidového řetězce mohou být zcela nebo zčásti substituovány skupinami  $-\text{OSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NHSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHCOCH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ , obsah uronových karboxylových skupin leží v rozmezí 1- 25,5 % hmotnostních a molární hmotnost sacharidového derivátu činí  $700 - 5 \cdot 10^6$  D, s výhodou  $700 - 10^5$  D, uvede do styku s farmakologicky účinným derivátem 1,4-diaminoanthrachinonu obecného vzorce I, kde substituenty  $R_1$ ,  $R_2$ , X a Y mají výše uvedený význam, ve vodně organickém systému, obsahujícím 0,1 - 99,9 % hmotnostních organického rozpouštědla ze skupiny nižších alkoholů s alkylem  $\text{C}_1 - \text{C}_4$ , nízkovroucích ketonů jako aceton nebo methylethylketon, vícesytných alkoholů a jejich eterů, polyglykolů, dimethylformamidů, níževroucích alifatických halogenovaných uhlovodíků nebo směsi těchto rozpouštědel, při teplotě udržované na zvolené hodnotě z intervalu - 30 až + 50 °C po dobu 0,1 až 48 hodin. Vzniklý produkt se isoluje.

Polymerní ionogenní uronové deriváty, které pricházejí v úvahu pro syntézu polymerních léčiv dle vynálezu, lze rozdělit v zásadě na

- a) přírodní uronové deriváty, kam patří zejména deriváty kyseliny galakturonové - pektiny a kyselina alginová. Oba polymery se získají běžně známými postupy z ovocných šťáv nebo hnědých řas,
- b) mukopolysacharidy, zejména životně důležité polyanionty heparinu jako heterogenní kopolymery s alternujícími zbytky idurono-

vé, glukuronové kyseliny a glukosaminu, dále pak sem patří kyselina hyaluronová a její sulfát, mukoitinsulfát nebo chondroitin 4- nebo 6- sulfát a pod. Získávají se známými postupy např. dle publikace D.A. Hall: "The Methodology of Connective Tissue Research", Joynson-Bruvvers Ltd., Oxford 1976, str. 129-151,

c) polysacharidy, oxidované speciální postupy na C6 pyranozové jednotky za vzniku glukuronoglukanů. Z polysacharidů schopných oxidace lze jmenovat zejména celulózu, amylozu, amylopektin, glykogen, dextran, fungální polysacharidy, skleroglukan, chitin. Specifickou oxidací na C6 lze provést podle některého ze známých postupů, např. dle US pat. 4 100 341, SSSR A.O. 1 109 171, nebo postupy dle publikací Carbohydr. Res. 55, 95 - 103 (1977); Chim.Oggi. (7-8), 11-15, 1986,

d) sulfatované uronové deriváty, získané sulfatací polysacharidů, které jako stavební jednotky obsahují uronové kyseliny. Sem lze zahrnout např. sulfatovanou kyselinu alginovou, pektin, polyanhydroglukuronovou kyselinu, hyaluronovou kyselinu, oxidovaný chitin apod. Zavedení  $-OSO_3H$  a  $-NHSO_3H$  skupin lze provést známými postupy, popsány např. v US pat. 2 755 275, SSSR A.O. 981 322 nebo v publikaci Cellul. Chem. Technol. 1981, 15 (S), 487 - 504.

Před postupem dle tohoto vynálezu se ionogenní polysacharidy výše jmenovaných skupin, obsahující jako stavební jednotky uronové kyseliny, podrobí řízené hydrolýze s výhodou např. dle čs. A.O. 242 920, přičemž se získají přímo vhodné typy solí pro syntézu léčiv dle vynálezu, nebo se polymery podrobí řízenému odbourávání radikálově iniciovanou depolymerací např. dle WO 8 606 729. Výhodou zařazení těchto operací je, že se jednak odstraní nežádoucí látky z uronového polymeru, ve kterém jsou obsaženy např. po izolaci z přírodního zdroje nebo např. po oxidačním procesu, a které nelze např. praním úplně odstranit, a jednak se těmito procesy upraví vlastnosti výsledného polymerního nebo oligomerního uronového sacharidu dle požadavků, zejména co do obsahu ionogenních skupin, velikosti polymeračního stupně a jeho distribuce, zastoupení krystalické fáze, event. tvaru a velikosti částic, velikosti specifického povrchu apod. Tyto parametry mohou v organismu výrazně ovlivnit rychlost odbourávání a tím i účinky polymerního léčiva.

Představitelem farmakologicky účinných derivátů 1,4-diaminoantrachinonu, vázaných v polymerních léčivech dle vynálezu jsou zejména 1,4-bis/2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino/antrachinon; 1,4-bis/2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino/-5,8-dihydroxyantrachinon; 1,4-bis/2-(dimethylamino)ethylamino/-5,8-dihydroxyantrachinon; 1,4-bis/2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino/-5-chlorantrachinon. Tyto farmakologicky účinné látky lze s výhodou připravit např. dle CS A.O. 264 757. Deriváty 1,4-diaminoantrachinonu lze podle vynálezu vázat na uronový nosič ve vodně organickém systému, přičemž nižší obsah organické fáze z výše uvedeného rozmezí (do 5 %) lze s výhodou použít při sorpci nižších koncentrací účinné složky většinou v rozmezí 1:50 až 1:10 (hmot. poměr účinná složka : uronový nosič) a pro vlastní práci lze využít techniku dialýzy.

Prováděnými zkouškami bylo zjištěno, že množství fyziologicky aktivního derivátu, které se sorbuje na uronový nosič, je odvislé od polaritý tohoto derivátu a obsahu ionogenních skupin

nosiče. Jak prokázaly prováděné testy a IČ spektra vzorků léčiv, připravených dle vynálezu, s poklesem polarizability molekul derivátů 1,4-diaminoantrachinonu se zvýrazňuje tvorba H-můstek s OH-skupinami uronového řetězce.

Velkou výhodou léčiv dle vynálezu na bázi derivátů 1,4-diaminoantrachinonu na uronovém nosiči je skutečnost, že v případě použití vyšší koncentrace účinné složky dochází k vytvoření prostorové sítě, což lze využít pro přípravu mikrosfér pro mikroembolizační techniku léčby nádorů, bez nutnosti použití dalších síťujících látek pro uronový nosič. Při nižších koncentracích účinné složky (tj. vyšším poměru účinné složky k uronovému nosiči než 1:10) se získají rozpustné produkty stabilní např. ve fyziologickém roztoku při hodnotách pH menších než 7,0, což je důležité pro stabilitu příslušného derivátu 1,4-diaminoantrachinonu.

Při rozsáhlém testování vzorků byla ze srovnání křivek DSC a TG patrná zvýšená termooxidační stabilita těchto komplexů derivátů 1,4-diaminoantrachinonu s uronovými nosiči ve srovnání se samotnými deriváty 1,4-diaminoantrachinonu. Je to další výhoda polymerních léčiv dle vynálezu, protože je známa nízká oxidační stabilita nízkomolekulárních biologicky aktivních derivátů 1,4-diaminoantrachinonu.

K významným výhodám patří to, že hydrolyzované nebo radikálově odbourané nosiče nevyvolávají imunitní odezvu, jsou organismem dobře snášeny a jsou dále odbouratelné. Produkty biologického odbourání jsou v podstatě organismu vlastní, neboť se jedná zejména o jednoduché cukry a jejich deriváty. U nosičů obsahujících kyselinu glukuronovou lze vždy předpokládat sníženou toxicitu léčiva dle vynálezu, neboť je známa detoxikační funkce glukuronové kyseliny v organismu.

K výhodám léčiv dle vynálezu lze započít i skutečnost, že byly zjištěny vlastní protinádorové účinky u některých typů uronových polysacharidů, jichž dle vynálezu lze použít jako nosičů aktivní složky, čímž lze využít synergické působení obou složek léčiv dle vynálezu. Tyto účinky byly zjištěny například u heparinů (J. Folkman et. al.: Science 221, 719, 1983; R. Crum et. al.: Science 230, 1375, 1985), nebo u kyseliny alginové (M. Fujihara et. al.: Carbohydr. Res., 125, 97, 1984; M. Fujihara et. al.: Chemotherapy (Tokyo), 32, 1004, 1984). U nosiče připraveného specifickou oxidací celulózy s následnou hydrolýzou dle AO 242 920 na požadované parametry a ve formě amorfni mikrosisperzní vápenaté, sodné nebo směsné soli bylo po intraarteriální aplikaci do nádorové tepny při mikroembolizační technice zjištěno dvojí působení: jednak separační účinky na nádory kolorekta, jednak protektivní účinky na zdravou tkáň vůči působení cytostatik (Symposium "Brněnské onkologické dny", duben 1988 P. Fencel a kol.: Intraarteriální aplikace cytostatik s mikroemboly v adjuventní a neo-adjuventní terapii kolorektálního karcinomu).

K dalším výhodám polymerních léčiv dle vynálezu patří to, že nekovalentní vazba mezi uronovým nosičem a účinnou složkou je stejného charakteru, jako vazby bioaktivních kationtů, jako například bílkoviny histaminu, adrenalinu, např. s heparínem v organismu. Konečně k největším výhodám lze zařadit prakticky neomezenou variabilitu vlastností léčiv dle vynálezu co do rych-

losti účinku a jeho rozsahu, degradability léčiva, formy a způsobu aplikace apod., což dává možnost širokého výběru vhodného typu uronového nosiče a jeho úprav na požadované parametry pro přípravu polymerního léčiva způsobem dle vynálezu, jakož i možnost výběru vhodné účinné složky, tj. derivátu 1,4-diaminoantrachinonu, event. možnost doplňkové vazby dalších účinných látek schopných vazby na případně volné ionogenní skupiny uronového nosiče; tak lze synergicky zvyšovat vlastní účinek derivátů dle vynálezu v nádorové tkáni nebo vhodně upravovat vlastnosti polymerního léčiva dle vynálezu, jako např. dodávat vlastnosti antikoagulační nebo naopak antifibrinolytické. Tyto další látky lze ve formě kationtů nebo komplexů vázat na volné ionogenní skupiny již před vlastní vazbou derivátů 1,4-diaminoantrachinonu např. při hydrolýze nebo až po reakci uronového nosiče s tímto derivátem.

Princip vynálezu je vysvětlen v následujících příkladech.

#### Příklad 1

Pro syntézu byla použita sodnovápenatá sůl hydrolyzované polyanhydroglukuronové kyseliny /1/ o velikosti částic 1-3  $\mu\text{m}$ , hodnotě specifického povrchu  $138 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , obsahu karboxylových skupin 21,5 % hmot., Ca 3,2 %, Na 4,0 %, o mol. hmotnosti 6120 D. Tento uronový polymer byl dispergován do objemu 600 ml.

V další baňce byl připraven roztok hydrochloridu 1,4-bis/2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino/-5,8-dihydroxyantrachinonu /2/ : 1 g látky /2/, 5 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , 300 ml 96% ethanolu. Roztok /2/ byl převeden do dávkovače a za intenzivního míchání suspenze /1/ v  $\text{CCl}_4$  byl přidán k této suspenzi během 60 min při teplotě 5 °C. Pak byla suspenze ještě po dobu dalších 120 min za pomalého míchání udržována při této teplotě. Částice /1/ s vázanou účinnou složkou /2/ byly odfiltrovány na fritě  $\text{S}_3$ , produkt byl promyt isopropanolem, ostře odsát a sušen při teplotě do 400 °C.

#### Příklad 2

Pro syntézu byl použit heparin o mol. hmotnosti 5300 D, radikálově odbouraný v redox systému  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8\text{-Fe}^{2+}$ .

Množství 0,1 g takto odbouraného heparinu bylo rozpuštěno ve 30 ml acetátového pufru o pH 4,84, roztok byl převeden do dialyzačního vaku, který byl ponořen do 100 ml stejného pufru, obsahujícího 0,004 g hydrochloridu 1,4-bis/2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino/antrachinonu a 1 g 1,2-propandiolu. Dialýza byla prováděna za občasného míchání 24 hod při 20 °C. Pak byl obsah dialyzačního vaku převeden do uzavřené baňky pro další úpravu na injekční nebo infusní roztok.

## Příklad 3

Množství 0,1 g hydrolyzované kyseliny alginové o mol. hmotnosti 45 000 D ve formě Na soli bylo rozpuštěno ve 100 ml fosfatového pufru o hodnotě pH 6,5. Roztok byl připraven do dialyzačního vaku, který byl vložen do roztoku 0,01 g 1,4-bis/2-(dimethylamino)ethylamino/-5,8-dihydroxyantrachinonu. 2 HCl v 1000 ml stejného pufru, obsahujícího 20 g 1,2-propandiolu. Dialýza byla prováděna 24 h při 20 °C. Po této době byl obsah dialyzačního vaku převeden do uzavřené baňky k další úpravě na injekční nebo infusní roztok.

## Příklad 4

Hydrolyzovaný kopolymer anhydroglukozy a anhydroglukuronové kyseliny, obsahující 12,6 % karboxylových skupin uronového typu, byl sulfatován v systému dimethylformamid-chlorsulfonová kyselina na obsah vázané síry 9 %.

Množství 1,6 g čistého izolovaného sulfatovaného kopolymeru bylo rozpuštěno v 50 ml 1,0 % roztoku NaHCO<sub>3</sub>. Roztok byl sedimentován na odstředivce. Čirý roztok byl převeden do baňky obsahu 250 ml, opatřené míchadlem. Do 4 ml H<sub>2</sub>O bylo suspendováno cis DDP spolu s 0,32 g AgNO<sub>3</sub> a ponecháno za míchání bez přístupu světla 18 h. Potom byl vzniklý AgCl a nezreagovaný DDP odfiltrován. Filtrát byl upraven redestilovanou vodou na objem 6 ml. Tento roztok dinitrodiamu Pt komplexu byl 15 min za míchání přidáván do baňky obsahu 250 ml, obsahující roztok sulfatovaného kopolymeru, pak byl systém 15 min míchán a během 10 min bylo přidáno 50 ml 96 % ethanolu. Reakční směs byla ponechána bez přístupu světla 12 h při teplotě 5 °C, sraženina byla odfiltrována na fritě S<sub>3</sub>, promyta 40 % ethylakoholem do vymizení reakce NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a pak dále promyta 100 ml isopropanolu a ostře odsáta. Vzniklý komplex nízkomolekulárního uronového polymeru s ionogenními skupinami, částečně blokoványými cis derivátem Pt, byl dispergován do 100 ml CCl<sub>4</sub>.

Množství 0,04 g 1,4-bis/2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino/-5-chloranthrachinonu bylo převrstveno 0,5 ml redestilované H<sub>2</sub>O. Po 60 min stání bylo přidáno 80 ml 96 % ethanolu, ve kterém byla látka za míchání rozpuštěna. Tento roztok byl pak za intenzivního míchání přikapán za dobu 60 min a při teplotě 0 °C do suspenze uronového polymeru v CCl<sub>4</sub>. Suspenze byla ještě za pomalého míchání udržována dalších 120 min při této teplotě, po následné filtraci přes fritu S<sub>3</sub> byl produkt okamžitě převrstven 30 ml isopropanolu. Po 30 min stání byl isopropanol odfiltrován a produkt byl dispergován do 50 ml isopropanolu. Po 24 h stání byla suspenze odfiltrována a produkt sušen při teplotě 40 °C. Byl získán materiál o velikosti částic /průměr/ 10 μm, vhodný pro mikroembolizační techniku léčby.

## Příklad 5

Mikrodisperzní polyanhydroglukuronová kyselina ve formě Ca, Na soli o vysoké viskozitě byla připravena dle CS AO 242 920. Byl získán amorfni polymer o obsahu uronových karboxylových skupin 20,6 % hm., velikosti částic 0,1-0,5  $\mu\text{m}$ , molekulové hmotnosti 5400 D, obsahu zbytkového dusíku 0,03 % hm., velikosti specifického povrchu 196  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ .

K 13,4 ml fyziologického roztoku bylo přidáno 1,34 g čistého glycerinu /dle ČsL4/ a v tomto systému bylo rozpuštěno 0,01 g 1,4-bis/2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino/-5,8-dihydroxyanthrachinonu, připraveného dle CS AO 264 757. Do získaného roztoku účinné složky byly během 4 h při teplotě 20 °C zaneseny 3 g výše uvedené soli polyanhydroglukuronové kyseliny. Vznikl homogenní gel o vysoké viskozitě.

## Příklad 6

Mikrodisperzní polyanhydroglukuronová kyselina ve formě Ca soli byla připravena dle CS AO 242 920 s následujícím parametrem: velikost sférických částí 2,5-5  $\mu\text{m}$ .

Komplex uronového polymeru a 1,4-bis/2-(2-hydroxyethylamino)-ethylamino/-5,8-dihydroxyanthrachinonu. 2HCl byl připraven ze stejného polymeru a stejným postupem jako v příkl. 1, avšak s poměrem 1 d aktivní složky : 60 d uronového polymeru.

## Příklady aplikační

## Příklad 7

Polymerní léčivo, připravené způsobem dle příkladu 5, bylo testováno na albinotických myších se solidní formou nádoru L 1210. Aplikované dávky jsou přepočteny na obsah účinné látky, potvrzené hodnoty byly statisticky významné (p 0,05). Snížení hmotnosti nádoru neudáno.

Albinotické myši - solidní forma L 1210

| aplikovaná dávka<br>mg/kg | úbytek hmotnosti<br>nádoru | přežití<br>% kontroly     |
|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 6,0                       | -                          | <u>198</u>                |
| 3,0                       | -                          | <u>133</u> , > <u>158</u> |
| 1,5                       | -                          | - , > <u>153</u>          |

## Příklad 8

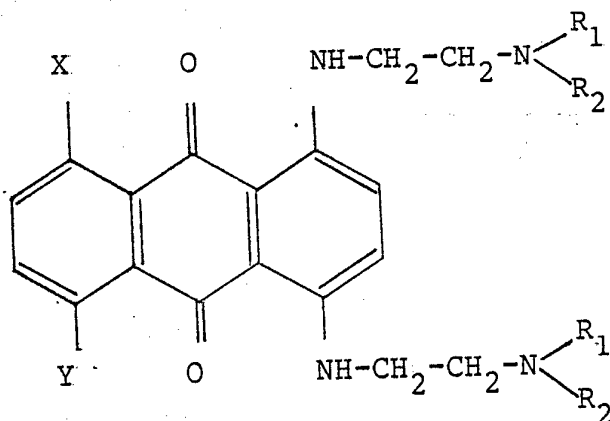
Polymerní léčivo, připravené způsobem dle příkladu 6, bylo hodnoceno na albinotických myších s nádorem HK. Bylo prokázáno snížení hmotnosti nádoru stejné úrovně, jako při aplikaci samotné složky. Podtržené hodnoty byly statisticky vysoce významné (p 0,01).

## Albinotické myši - HK nádor

| aplikovaná dávka<br>mg/kg | Poměr úbytku hmotnosti nádoru<br>k přežití v % kontroly |                |
|---------------------------|---------------------------------------------------------|----------------|
| 5,0                       | <u>69</u> /102                                          | <u>48</u> /114 |
| 1,5                       | <u>78</u> /109                                          | <u>74</u> /114 |

## P A T E N T O V É    N Á R O K Y

1. Polymerní léčivo s cytostatickým a antivirózním účinkem, tvořené farmakologicky účinným derivátem 1,4-diaminoanthrachinonu obecného vzorce I



kde substituenty X a Y mohou být stejné nebo různé a představují atom vodíku, chloru nebo skupinu hydroxylovou,  $R_1$  a  $R_2$  mohou být stejné nebo různé a představují atom vodíku nebo alkyl s počtem uhlíků 1-4 s přímým nebo rozvětveným řetězcem, který může být substituován hydroxylovou skupinou, vázaným chemisorpcí na uronový řetězec polymerního nebo oligomerního sacharidu, jehož jednotlivé pyranozové jednotky jsou vzájemně vázány 1,4- nebo 1,3-glykozidickými vazbami nebo střídavě 1,4- a 1,3- s možností větvení v polohách 1,6, přičemž volné hydroxylové skupiny sacharidového řetězce mohou být zcela nebo zčásti substituovány skupinami  $-\text{OSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NHSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHCOCH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ , obsah uronových karboxylových skupin leží v rozmezí 1- 25 % hmotnostních a molární hmotnost sacharidového derivátu činí 700 -  $5 \cdot 10^6$  D, ionogenní skupiny řetězce mohou být farmakologicky účinnými deriváty 1,4-diaminoanthrachinonu vzorce I satureovány zcela nebo zčásti, přičemž hmotnostní poměr účinné složky a složky polysacharidové je 1:5 až 1:100, s výhodou 1:5 až 1:60.

2. Způsob přípravy polymerního léčiva podle bodu 1, vyznačený tím, že se polymerní nebo oligomerní sacharid, jehož jednotlivé pyranozové jednotky jsou vzájemně vázány 1,4- nebo 1,3-glykozidickými vazbami nebo střídavě 1,4- a 1,3- s možností větvení v polohách 1,6, přičemž volné hydroxylové skupiny sacharidového řetězce mohou být zcela nebo zčásti substituovány skupinami  $-\text{OSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NHSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHCOCH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ , obsah uronových karboxylových skupin leží v rozmezí 1- 25,5 % hmotnostních a molární hmotnost sacharidového derivátu činí 700 -  $5 \cdot 10^6$  D, s výhodou 700 -  $10^5$  D, uvede do styku s farmakologicky účinným derivátem 1,4-diaminoanthrachinonu obecného vzorce I, kde substituenty  $R_1$ ,  $R_2$ , X a Y mají výše uvedený význam, ve vodně organickém systému, obsahujícím 0,1-99,9 %

hmotnostních organického rozpouštědla ze skupiny nižších alkoholů a alkylem  $C_1 - C_4$ , níže vroucích ketonů jako aceton nebo methylethylketon, vícesytných alkoholů a jejich etherů, polyglykolů, dimethylformamidu, níže vroucích alifatických halogenovaných uhlovodíků nebo směsi těchto rozpouštědel, při teplotě udržované na hodnotě z intervalu  $-30$  až  $+50$  °C po dobu 0,1 až 48 hodin a vzniklý produkt se izoluje.

---

Konec dokumentu

---