



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46812 (13) C2

(51) B A61N5/02, A61K33/42

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

## (54) СПОСІБ ЛОКАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ

1

2

(21) 98073589

(22) 07 07 1998

(24) 17 06 2002

(46) 17 06 2002, Бюл. № 6, 2002 р

(72) Осинський Сергій Петрович, Бубновська Лариса Микитівна, Ганусевич Ірина Іванівна, Пасько Сергій Олексійович, Максимов Юрій Миколайович

(73) Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького Національної академії наук України

(56) RU 2123827, 27 12 1998

RU 2048824, 27 11 1995

RU 2099029, 20 12 1997

RU 2090206, 20 09 1997

US 4569836, 11 02 1986

US 4975423, 04 12 1990

(57) Спосіб локальної гіпертермії, що включає застосування штучної гіперглікемії шляхом внутрішньовенного введення 20%-го розчину глюкози в дозі 60-80 мг/кг маси за хвилину, який відрізняється тим, що одночасно з глюкозою впродовж 60 хвилин вводять 0,07-0,15 М розчин неорганічного фосфату в дозі 0,4 мл/кг маси за хвилину, а локальну гіпертермію проводять безпосередньо після гіперглікемії впродовж 60 хвилин при температурі 41-43°C

Винахід стосується галузі медицини, а саме онкології і може бути застосований при лікуванні злоякісних пухлин.

Підвищення ефективності лікування онкологічних хворих має велике соціальне та економічне значення, тому що дозволяє збільшити кількість людей, що повернулись до суспільно - корисної праці.

Одним із методів підвищення ефективності лікування онкологічних хворих є метод локальної гіпертермії. Суть методу полягає в нагріванні пухлини до 42-43°C та утриманні цієї температури у пухлині на протязі 45-60 хвилин за допомогою електромагнітних хвиль надвисокої частоти, що підвищує чутливість пухлинних клітин до хіміо- та радіаційної терапії. Використання цього методу дозволяє підвищити кількість повних регресій певних видів злоякісних пухлин у 1,5-2 рази, 5-річне виживання - у 1,5 рази. У той же час є певні проблеми у використанні гіпертермії, одна з яких є головною і вельми складною для вирішення - це одержання гомогенного розподілу тепла та підтримання необхідної температури (42-43°C) по усьому об'єму пухлини. У зв'язку з тим, що пухлина має гетерогенний розподіл кровообігу, нагріти її гомогенно та підтримати задану температуру не завжди вдається, що, призводячи до вельми високих перепадів температури, може знижувати ефективність використання гіпертермії. Технічне вирішення проблеми поки що далеке від свого

завершення, що зумовлює актуальність пошуку агентів, які змогли б підсилити ефекти гіпертермії на пухлинну тканину та призвести до посилення її лікувальної дії.

Відомі різні засоби підвищення протипухлинної та модифікуючої дії локальної гіпертермії, а саме

1 Хлорпромазин (у фізіологічному розчині), що вводиться в пухлину за 5 хвилин до гіпертермічного впливу (42°C, 60 хвилин). Згадана речовина впливає на клітинну мембрану, розріджуючи її ліпідний шар, що підсилює термочутливість клітини. Але хлорпромазин не має вибіркової дії відносно пухлини, у великих дозах він токсичний (George K C, Singh B B Synergism of chlorpromazine and hyperthermia in 2 mouse solid tumors Br J Cancer, 1982, 45, n2, 309-311).

2 Прометазин, прохлорперазин та трипрепазин (внутрішньовенні ін'єкції) за 5-10 хвилин до гіпертермії (42-43°C, 60 хвилин), що підвищують протипухлинний ефект нагрівання у 3-4 рази, але ці речовини за рахунок невибіркового впливу на пухлину можуть викликати побічні ефекти на нервову систему, крім того існує небезпека їхнього передозування.

(George K C, Singh B B Hyperthermia response of a mouse fibrosarcoma as modified by phenothiazine drugs Br J Cancer, 1985, 51, 737-738)

3 Ізопреналін, який вводиться під шкіру за 5 хвилин до проведення гіпертермії (45°C, 60 хвилин). Даний препарат зменшує швидкість крово-

(13) C2

(11) 46812

(19) UA

обігу в пухлині, призводячи тим самим до затримки тепла у пухлині та підвищення ефективності протипухлинної та модифікуючої дії гіпертермії. Ізопреналін не має вибіркової дії відносно пухлини, крім того, ізопреналін відноситься до групи бета-симпатоміметиків, тому існує небезпека його передозування.

(Volenec K, Vodicka J, Kuma P. The use of isoprenaline in experimental hyperthermia. *Neoplasma*, 1984, 31, n5, 591-595)

4 Лідокан, який вводиться в пухлину або внутрішньочеревно безпосередньо перед локальною гіпертермією (43,5°C, 60 хвилин) або за 60 хвилин до її початку (той же режим), що дозволяє посилити протипухлинний ефект нагрівання за рахунок підвищення текучості мембрани клітини. Перебільшення дози лідокану призводить до зниження артеріального тиску і низки небажаних розладів кровообігу (Robins H I, Dennis W H, Vorpahl J W et al. Systemic lidocaine enhancement of tumor regression after hyperthermia. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, 1982, 61, 243-245)

5 Лонідамін, новий протипухлинний препарат, виявляє термосенсибілізуючу дію на низку клітинних ліній та деякі експериментальні пухлини (у дозах 0,01-0,04 ммоль). Лонідамін є цитостатичним препаратом, який гальмує активність гексокінази, що зв'язана з мітохондріями. При нормотермії він виявляє певну протипухлинну дію, що посилюється в 1,5-2 рази за умов гіпертермії. Це не дозволяє чітко говорити про його здатність підвищувати протипухлинний ефект гіпертермії, тому що важко розмежувати термосенсибілізуючу дію лонідаміну від цитостатичної, що посилюється за умов підвищення температури. Крім того, лонідамін може виявляти цитостатичну дію і на нормальні клітини, що не дозволяє використовувати його у схемах термотерапії або терморадіотерапії без певного ризику отримати небажані ефекти на нормальні тканини навіть в умовах локального нагрівання.

(Silvestrini B, Hahn G M, Cioli V, DeMartino C. Effects of lonidamine alone or combined with hyperthermia in some experimental cell and tumor system. *Br. J. Cancer*, 1983, 47, n2, 221-231)

6 Дієта, збагачена лінолевою кислотою, якою годують мишей за 15 діб до перещеплювання ім пухлини. У цьому випадку посилюється ефект гіпертермії (43,5°C, 60 хвилин) за рахунок зміни ліпідних компонент клітинної мембрани, але застосування такої дієти в клініці є досить проблематичним.

(Yatvin M B, Abuirmelen N H, Vorpahl J W, Elson C E. Biological optimisation of hyperthermia modification of tumor membrane lipids. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 1983, 19, n5, 657-663)

7 5-Гідрокситриптамін, який вводиться тваринам з експериментальними пухлинами безпосередньо перед нагріванням та спричиняє зниження швидкості кровообігу, величини pH та рівню оксигенації, що призводить до підсилення дії гіпертермії. Але ефективність препарату дуже незначна, а дія неселективна.

(Chaplin D J, Trotter M J. Chemical modifiers of tumor blood flow. In: *Tumor Blood Supply and Metabolic Microenvironment*. Ed. by P. Vaupel and R. K.

Jain - Stuttgart, New York, Gustav Fischer Verlag, 1991, (Funktionsanalyse biologischer Systeme v 20), pp 65-85)

8 Гідралазін, який вводиться за 30 хвилин до нагрівання (43,5°C, 30, 60 або 90 хвилин) та викликає гальмування швидкості кровообігу, зниження величини pH та рівню оксигенації, що підсилювало ефект гіпертермії. Але вплив гідралазіну на кровообіг пухлини неселективний, ефективність його дії незначна, крім того гідралазін може викликати порушення кровообігу, загострення стенокардії, появу перикардита (Horsman M R, Kent L C, Overgaard J. Hydralazine-induced enhancement of hyperthermic damage in a C3H mammary carcinoma in vivo. *Int. J. Hyperthermia*, 1989, 5, n2, 123-136)

9 Амілорид (діуретик), який гальмує  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -антипорт, що спричиняє зниження внутрішньоклітинного pH, підсилюючи тим самим ефект гіпертермії. Амілорид викликає гіперкаліємію, може зумовити розвиток мегалобластної анемії (Miyakoshi J, Oda W, Hirata M, et al. Effects of amiloride on thermosensitivity of Chinese hamster cells under neutral and alkaline pH. *Cancer Res.*, 1986, 46, 1840-1843; Kim G E, Lyons J C, Song C W. Effects of amiloride on intracellular pH and thermosensitivity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1992, 20, 541-549)

10 Комплекс кобальту (III) з похідними алкілюючих агентів, який значно посилював протипухлинну дію гіпертермії за умов *in vitro*. У той же час токсичність цієї речовини диктує необхідність більш ретельного її вивчення з метою використання на тваринах.

(Teicher B A, Abrams M J, Rosbe K W, Herman T S. Cytotoxicity, radiosensitization, antitumor activity and interaction with hyperthermia of a Co(III)mustard complex. *Cancer Res.*, 1990, 50, 6971-6975)

11 Гіпоксичний радіосенсибілізатор AK-2123 (похідне 3-нітротріазолу), що вводиться за 20 хвилин до початку гіпертермії та суттєво посилює протипухлинну дію. Але AK 2123 може викликати затяжну гіпотензію (Osinsky S, Bubnovskaya L, Ganusevich I. In vivo thermochemosensitizing activity and pathophysiological effects of hypoxic radiosensitizer AK-2123. *Exp. Oncol.*, 1994, 16, n1, 61-66)

12 2,2'-азобіс (2-амінопропан) дигідрохлорид (AAPH), який виявляє значну посилюючу дію на протипухлинний ефект гіпертермії за умов *in vitro*. В той же час є дані про те, що AAPH при введенні його тваринам призводить до руйнування ендотеліальних клітин у капілярах, загибелі лімфоцитів та жировій дегенерації печінки та нирок. Це зумовлює необхідність продовження робіт по зниженню токсичності цієї речовини (Krishna M C, Dewhirst M W, Friedman H S et al. Hyperthermic sensitization by the radical initiator 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH). I. In vitro studies. *Int. J. Hyperthermia*, 1994, 10, n2, 271-281)

14 Ізопропільний та деякі інші комплекси кобальту(III), що вводяться тваринам з пухлинами за 60-90 хвилин до початку гіпертермії, посилюючи протипухлинний та модифікуючий ефекти останньої. Але ці речовини виявились токсичними, що зумовило необхідність продовження робіт, спрямованих на зниження їх побічних ефектів без зниження термосенсибілізуючого

(Osinsky S, Levitin L, Bubnovskaya L et al. Modifying effect of organocobalt complexes on the tumor response to anticancer treatments. *Anticancer Res*, 1997, 17, n5A, 3457-3462)

Відсутність селективності, різні прояви токсичності або недостатня ефективність вищенаведених існуючих засобів посилення протипухлинної дії гіпертермії дає поштовх до пошуку нових, більш ефективних і нетоксичних методів підсилення дії гіпертермії на пухлинні клітини, що дають селективний протипухлинний та хіміо- і радіосенсибілізуючий ефекти. При цьому слід зазначити, що на звання "ідеального" термосенсибілізатора може претендувати агент, максимально активний по відношенню до пухлини, який виявляє свою біологічну дію лише за умов або підвищеної температури у пухлині, або її характерних рис - низьких величин рН та/або  $pO_2$ .

Задачею даного винаходу, що заявляється, є посилення протипухлинної дії гіпертермії.

Як прототип нами обраний метод підсилення протипухлинної дії гіпертермії шляхом внутрішньовенної інфузії розчину глюкози безпосередньо перед гіпертермією (43°C, 60 хвилин). Сторонньої дії на організм розчин глюкози не дає, ефект її на пухлину є високо селективним, але застосування глюкози не завжди дозволяє отримати бажаний результат за рахунок різної активності гліколізу у різних пухлинах та інгібіції його реакцій за умов введення глюкози, динаміка якої також різна у різних пухлинах.

Вказана задача вирішується шляхом введення одночасно з розчином глюкози 0,07-0,15М розчину неорганічного фосфату (калійдигідроортофосфат) впродовж 60 хвилин в дозі 0,4мл/кг маси за хвилину. Локальну гіпертермію при цьому проводять безпосередньо після гіперглікемії впродовж 60 хвилин при температурі 41-43°C.

Суть способу, що заявляється, полягає в тому, що пухлиноносію внутрішньовенно вводять 20%-ний розчин глюкози (у дозі 60-80мг/кг маси тіла за хвилину), що містить 0,07-0,15 М розчин неорганічного фосфату (у дозі 0,4мл/кг маси за хвилину). Тривалість інфузії 60 хвилин. На 50-й хвилині інфузії зазначеного розчину починають локальне нагрівання пухлини за допомогою електромагнітних полів НВЧ- та ВЧ-діапазону (2450, 915, 460, 27,12 або 13,56 МГц). Через 10 хвилин температура пухлини досягає 41-43°C, інфузію розчину неорганічного фосфату в глюкозі припиняють, а нагрівання пухлини продовжують ще впродовж 60 хвилин.

В основу винаходу покладено той факт, що неорганічний фосфат у значних кількостях споживається в реакціях гліколізу і сприяє підвищенню утилізації глюкози, активації гліколітичних реакцій, а через це - до накопичення лактату і зниження рН пухлинної тканини. Низький рН пухлинної тканини є тим фактором, що визначає її високу термочутливість. Таким чином, введення розчину неорганічного фосфату одночасно з глюкозою перед нагріванням дозволяє досягти більшого підкислення пухлинної тканини, ніж за умов введення самої лише глюкози, та більш значного ефекта гіпертермії.

Застосування винаходу не пов'язане з техніч-

ними складностями. В клінічних умовах введення неорганічного фосфату повинно проводитися внутрішньовенно, звичайним капельним способом. Виробництво препаратів неорганічного фосфату низьковартісне сировина (фосфатні солі) доступна і дешева і вже виробляється в Україні. Все вищенаведене підтверджує реальну можливість використання даного винаходу в клініці.

Суть способу розкривають такі приклади.

#### Приклад 1

Щуру з перещепленою карциномою Герена внутрішньовенно вводили 20%-ний розчин глюкози (у дозі 60-80мг/кг маси тіла), що мав у своєму складі 0,15М розчин двозаміщеної капіевої солі ортофосфорної кислоти ( $KH_2PO_4$ ). Інфузію розчину проводили впродовж 60 хвилин із швидкістю 0,4 мл/кг маси за хвилину. На 50-й хвилині інфузії починали локальне нагрівання пухлини за допомогою НВЧ-апарату "Парус" (2450МГц). Через 10 хвилин температура пухлини сягала 42,5°C. В цю мить інфузію розчину неорганічного фосфату припиняли, а нагрівання пухлини продовжували ще на протязі 60 хвилин.

Тривалість росту пухлини (ТРП) склала 52 дні, час затримки росту пухлини (ЧЗРП) - 41,5 дні.

#### Приклад 2

Щуру з перещепленою під шкіру карциномою Герена внутрішньовенно вводили 0,07М розчин  $KH_2PO_4$  в 20%-му розчині глюкози (у дозі 60-80мг/кг маси тіла) впродовж 60 хвилин із швидкістю 0,4мл/кг маси за хвилину. На 50-й хвилині інфузії починали локальне нагрівання пухлини за допомогою НВЧ-апарату "Парус" (2450 МГц). Через 10 хвилин температура пухлини сягала 43°C. У цей час інфузію розчину неорганічного фосфату в глюкозі припиняли, а нагрівання пухлини продовжували ще на протязі 60 хвилин. ТРП - 71 день, ЧЗРП - 60,5 дні.

#### Приклад 3

Щуру з перещепленою під шкіру карциномою Герена внутрішньовенно вводили 0,15М розчин  $KH_2PO_4$  в 20%-му розчині глюкози (у дозі 60-80 мг/кг маси тіла) впродовж 60 хвилин із швидкістю 0,4мл/кг маси за хвилину. Після припинення інфузії пухлину нагрівали за допомогою НЧ - апарату "Парус" (2450МГц) впродовж 60 хвилин при температурі 42,5°C.

Вихідний об'єм пухлини складав 6,4см, на 3-й день після процедури - 5,1см, на 7-й день - 3,7см, на 10 -й день пухлина почала розпадатися і на 14-ту добу практично зникла.

#### Приклад 4

Щуру з перещепленою під шкіру карциномою Герена внутрішньовенно вводили 20%-ий розчин глюкози (у дозі 60-80мг/кг маси тіла) впродовж 90 хвилин із швидкістю 0,4мл/кг маси за хвилину. На 80-й хвилині інфузії починали локальне нагрівання пухлини за допомогою апарату "Парус" (2450 МГц). Через 10 хвилин, коли температура в пухлині сягала 42,5°C, інфузію припиняли, а гіпертермію проводили ще впродовж 60 хвилин. ТРП - 29 днів, ЧЗРП - 18,5 днів.

#### Приклад 5

Щуру з перещепленою під шкіру карциномою Герена внутрішньовенно вводили 20%-ий розчин

глюкози (у дозі 60-80мг/кг маси тіла) впродовж 90 хвилин із швидкістю 0,4мл/кг маси за хвилину. Гіпертермію починали одразу ж після закінчення інфузії розчину глюкози і проводили при температурі 43°C впродовж 60 хвилин. ТРП - 32 дні, ЧЗРП - 21 5 дні.

#### Приклад 6

У щура з перещепленою під шкіру карциномою Герена проводили локальну гіпертермію пухлини за допомогою НВЧ-апарату "Парус" (2450 МГц) при температурі 43°C впродовж 60 хвилин. ТРП - 23 дні, ЧЗРП - 12 5 дні.

#### Приклад 7

Щуру з перещепленою карциномою Герена проводили локальну гіпертермію пухлини при температурі 43°C впродовж 60 хвилин.

ТРП - 19 днів, ЧЗРП - 8 5 дні.

#### Приклад 8

Щуру з перещепленою карциномою Герена проводять локальну гіпертермію пухлини за допомогою апарату "Парус" (2450МГц) впродовж 60 хвилин при температурі пухлини 41°C. ТРП - 12 днів, ЧЗРП - 1 5 дні.

#### Приклад 9

Щуру з перещепленою під шкіру карциномою Герена внутрішньовенно вводили 20%-ий розчин глюкози (у дозі 60-80мг/кг маси тіла за хвилину).

впродовж 90 хвилин із швидкістю 0,4мл/кг маси за хвилину. На 80-й хвилині інфузії починали локальне нагрівання пухлини за допомогою НВЧ-апарату "Парус" (2450 МГц). Через 10 хвилин, коли температура пухлини досягала 41°C, інфузію припиняли, а нагрівання продовжували ще впродовж 60 хвилин. ТРП - 22 дні, ЧЗРП - 11 5 дні.

#### Приклад 10

Щуру з перещепленою під шкіру карциномою Герена внутрішньовенно вводили 0,5М розчин  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  у 20%-му розчині глюкози (у дозі 60-80мг/кг маси тіла) протягом 60 хвилин із швидкістю 0,4мл/кг маси за хвилину. На 50-й хвилині інфузії починали локальне нагрівання пухлини, яке після припинення інфузії продовжували ще протягом 60 хвилин при температурі 41°C. ТРП - 24 дні, ЧЗРП - 13 5 дні.

Наведені приклади чітко демонструють значне підвищення протипухлинного ефекту гіпертермії, що використовувалась як самостійно, так і у комбінації з гіперглікемією, за умов поєднання цих двох агентів з інфузією розчину неорганічного фосфату. Вивчення протипухлинної дії гіпертермії проводили на 7 групах тварин. Вище подано типові приклади для кожної з цих груп. Узагальнені дані, отримані в результаті проведених експериментів, зведено в таблицю 1 подано нижче.

Таблиця

Показники росту карциноми Герена в контролі та після різноманітних впливів (ГТ - гіпертермія, ГГ - гіперглікемія,  $\text{Ф}_\text{H}$  - неорганічний фосфат)

№ №	Групи тварин	ТРП (дні)	ЧЗШ (дні)
1	контроль	10 5 ± 0 7	
2	ГТ, 41°C	13 0 ± 1 0	2 5
3	ГТ, 43°C	18 2 ± 1 5	7 7
4	ГТ, 41°C+ГГ	20 6 ± 1 7	10 1
5	ГТ, 43°C+ГГ	24 5 ± 2 0	14 0
6	ГТ, 41°C+ГГ+ $\text{Ф}_\text{H}$	25 0 ± 2 3	14 5
7	ГТ, 43°C+ГГ+ $\text{Ф}_\text{H}$	34 4 ± 3 2	23 9

#### Примітка

ТРП - тривалість росту пухлини (час за який пухлина від розміру у день проведення гіпертермії (0 7-1 0 см<sup>3</sup>) досягла розміру 25 0 см<sup>3</sup>), ЧЗРП - час затримки росту пухлини (різниця між ТРП у дослідних групах та у контрольній групі), достовірність -  $p_{7,5}$ ,  $p_{5,3}$ ,  $p_{7,3} < 0,05$ .

З таблиці видно, що проведення локальної гіпертермії при температурі 41-43°C після внутрішньовенної інфузії 0,07-0,15М розчину  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  в 20%-му розчині глюкози суттєво посилює протипухлинну дію гіпертермії. Додавання фосфату до розчину глюкози дозволяє скоротити тривалість інфузії глюкози з 90 до 60 хвилин. Проведення гіпертермії при температурі 41°C після інфузії розчину фосфату з глюкозою дозволяє отримати ефект кращий, ніж при проведенні однієї лише гіпертермії при 43°C, і такий же самий, як при проведенні гіпертермії при 43°C після інфузії самої лише глюкози. Це дає можливість сподіватись на

терапевтичний ефект гіпертермії за реальних клінічних умов, коли не завжди і не всю масу пухлини вдається нагріти до 43°C.

Після внутрішньовенної інфузії щурам масою 150-200г 0,07-0,15М розчину  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  в дозі 0,4мл/кг маси за хвилину впродовж 60 хвилин загиблих тварин не було.

Після інфузії 0,25-0,3М розчину  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  в тому самому режимі 25% щурів загинули протягом 10-12 годин після закінчення інфузії.

При заміні 0 07-0 15М розчину  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  на 0 07-0 15М розчин  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  були одержані практично такі ж самі результати, тобто головним чинником вищенаведеного термосенсибілізуючого ефекту є група  $\text{H}_2\text{PO}_4$ , тобто неорганічний фосфат.

Протягом останнього часу автори винаходять, що заявляється, плідно працюють над створенням лікарської форми розчину неорганічного фосфату, що дозволяє сподіватись на найкраще використання методу, що заявляється, у клінічну практику.

---

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)  
вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна  
(044) 456 – 20 – 90

---

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»  
вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна  
(044) 216 – 32 – 71