



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **111248** (13) **C2**
(51) МПК (2016.01)**A61P 37/02** (2006.01)**A61P 7/00****A61K 31/7008** (2006.01)**C07D 311/30** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21)	Номер заявки:	а 2014 06698	(56)	Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 2006040000 A1, 23.02.2006. Зупанець К.О. Комп'ютерне моделювання взаємодії глюкозаміну гідрохлориду, N-ацетилглюкозаміну та кверцетину при їх сумісному композиційному застосуванні // Клиническая информатика и Телемедицина. - 2010. - Т.6. Вып.7. - 118-124. Ель Аараж Ахмад, Зупанець І.А., Шебеко С.К., Тарасенко О.О. Експериментальне дослідження функціонального стану міокарду під впливом комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну за умов розвитку фуразолідон-ізадринового міокардиту // Український біофармацевтичний журнал. - 2012. - №3(20). - С.65-69. Зупанець К.О., Отрішко І.А. Вплив композиції на основі аміноцукрів – похідних глюкозаміну та флавоноїду кверцетину на альтеративне і проліферативне запалення // Експериментальна фармакологія. - 2010. - №1(61). - С. 69-71. В.Ф.Усенко Вплив препарату "Квертин" на альтеративне та проліферативне запалення в експерименті // Клінічна фармація. - 2011. - Т.15, - №3. - С.36-38. В.О.Туляков, К.О.Зупанець, С.К.Шебеко Протекторні властивості глюкозаміну // Фармакологія та лікарська токсикологія. - 2009. - № 3(10). - С. 3-10. Зупанець І. А., Ветрова К.В., Сахарова Т.С., Торянік Е.Л. Можливості корекції токсичних ефектів протипухлинного антибіотика Доксорубіцина похідними глюкозаміну та їх комбінаціями // Український біофармацевтичний журнал. - 2013. - № 4(27). - С.87-90. Linlin Ma, William A. Rudert., Jo Harnaha at al., Immunosuppressive Effects of Glucosamine // The Journal of Biological Chemistry. - 2002. - Vol.277, - №42. -P. 39344-39349.
(22)	Дата подання заявки:	16.06.2014		
(24)	Дата, з якої є чинними права на винахід:	11.04.2016		
(41)	Публікація відомостей про заявку:	25.12.2015, Бюл.№ 24		
(46)	Публікація відомостей про видачу патенту:	11.04.2016, Бюл.№ 7		
(72)	Винахідник(и): Зупанець Ігор Альбертович (UA), Сахарова Тетяна Семенівна (UA), Ветрова Катерина Вікторівна (UA)			
(73)	Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)			

(54) ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНАЦІЇ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ І N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМІНУ З КВЕРЦЕТИНОМ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ГЕМАТОТОКСИЧНОЇ ТА ІМУНОДЕПРЕСИВНОЇ ДІЇ АЛКІЛУЮЧИХ ПРОТИПУХЛИННИХ ЗАСОБІВ**(57) Реферат:**

Винахід належить до застосування комбінації глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином як засобу, що модифікує гематотоксичну та імунодепресивну дію алкілюючих протипухлинних засобів.

UA 111248 C2

Винахід належить до фармації та медицини, а саме до створення лікарських засобів на основі природних сполук, які можуть бути використані для корекції гематотоксичної та імунодепресивної дії алкілюючих протипухлинних засобів.

На сьогоднішній день удосконалення схем поліхіміотерапії онкологічних захворювань залишається актуальною проблемою практичної онкології. Адже застосування протипухлинних препаратів супроводжується розвитком низки побічних ефектів, які обумовлюються, насамперед, пошкодженням тканин, що подібні з пухлинними за ступенем проліферації - кісткового мозку, органів лімфатичної системи, епітелію шлунково-кишкового тракту тощо. Тому, одним з найбільш поширених побічних ефектів цитостатиків є гематотоксичність з розвитком мієлосупресії [1].

Однак асортимент засобів, які можуть використовуватися як коректори гематотоксичної та імунодепресивної дії протипухлинних засобів, не є достатнім та має свої недоліки. Як препарати для лікування гемодепресії використовують: синтетичні похідні піримідину (метилурацил, пентоксил), колонієстимулюючі фактори (філграстим), еритропоетини (рекормон), вітаміни (ціанокобаламін, фолієва кислота), стероїдні анаболічні засоби (стромбафорт) та інші препарати. Проте ці препарати не позбавлені певних недоліків, які суттєво впливають на якість життя хворих. Так, побічними ефектами лікарських засобів на основі синтетичних похідних піримідину є порушення з боку ЦНС, диспептичні явища, алергічні реакції. Препарати на основі еритропоетину і колонієстимулюючих факторів чинять негативний вплив на ендогенну продукцію власних стимуляторів гемопоезу, до того ж лікування ними повинно здійснюватись переважно в умовах стаціонару, також вони потребують низькотемпературного зберігання. Застосування вітамінних препаратів може призводити до виникнення алергічних реакцій, розладів з боку шлунково-кишкового тракту тощо. Недоліками анаболічних стероїдних засобів є порушення функцій печінки, підвищення рівня холестерину, високий ризик розвитку ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда, гормональні порушення та інше [2, 3, 4].

Перспективним і патогенетично обґрунтованим видається застосування препаратів цитопротекторної та мембраностабілізуючої дії, що забезпечують захист мембран здорових клітин без зниження терапевтичної ефективності основної терапії.

Задачею винаходу є розширення асортименту засобів, що модифікують гематотоксичну та імунодепресивну дію протипухлинних засобів, зокрема алкілюючих цитостатиків. Останні, маючи широкий спектр протипухлинної дії, входять до багатьох схем лікування найбільш поширених злоякісних новоутворень: раку легень, раку молочної залози, сарком, раку яєчників та ін. Але їх недоліком є висока токсичність і пригнічуючий вплив на лейкопоез. Розвиток лейкопенії створює загрозу розвитку кровотеч, зниження імунологічної резистентності та поширення суперінфекції [5].

Поставлена задача вирішується шляхом застосування комбінації аміноцукрів глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином як засобу, що здатен знижувати гематотоксичну та імунодепресивну дію алкілюючих протипухлинних засобів.

Кверцетин - флавоноїд, який має значну фармакологічну політропність, що обумовлюється, насамперед, його антирадикальною, антиоксидантною та мембраностабілізуючою активністю [6, 7]. Глюкозамін та його похідні є складовою частиною біологічних мембран, міжклітинної речовини та інших елементів сполучної тканини організму. Підґрунтям широкого спектра фармакологічної дії глюкозаміну та його похідних є його цитопротекторні властивості. До того ж результати останніх досліджень підтверджують здатність глюкозаміну підвищувати біодоступність кверцетину при пероральному прийомі [8, 9].

Зважаючи на вищерозглянуті фармакологічні властивості аміноцукрів (похідних глюкозаміну) та флавоноїдів (кверцетину), сприятливий профіль безпеки та накопичений досвід застосування в медичній практиці, було доцільним дослідити вплив комбінації аміноцукрів глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином на стан кровотворної системи в умовах ураження щурів циклофосфаном, який є класичним представником групи алкілюючих цитостатиків.

Застосування комбінації аміноцукрів глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином як коректорів цитотоксичної дії в умовах циклофосфанового ураження не відомі з джерел літератури.

Приклад.

У дослідженні використовували 32 білих статевозрілих безпородних щурів масою 200-210 г, яких розподіляли на 4 групи по 8 тварин:

1. Інтактна група.

2. Контрольна група - циклофосфан (ЦФ) по 10 мг/кг щоденно протягом 7 діб (сумарна доза 70 мг/кг)

3. Комбінація глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином (КА+Кв) у співвідношенні 3:1 в перерахунку на глюкозаміну гідрохлорид в дозі 82 мг/кг щоденно протягом 14 діб на тлі циклофосфаної інтоксикації

5 4. Кверцетин (Кв) в дозі 20,5 мг/кг щоденно протягом 14 діб на тлі циклофосфаної інтоксикації

10 Модель циклофосфанового ураження відтворювали згідно з методикою [10]. Для визначення захисного впливу на кровотворну систему використано режим лікувально-профілактичного введення комбінації глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином в дозі 82 мг/кг, яка є ефективною в експерименті [11]. Досліджувану комбінацію вводили внутрішньошлунково щоденно протягом тижня. Далі, з метою відтворення ураження усім групам тварин, за виключенням інтактною, на тлі введення препаратів протягом тижня щоденно вводили внутрішньом'язово циклофосфан у дозі 10 мг/кг (сумарно 70 мг/кг). Групі інтактних тварин в цей період внутрішньошлунково вводили еквівалентний об'єм розчинника. Як препарат порівняння використано кверцетин, який вводили в аналогічному режимі як і комбінацію внутрішньошлунково в дозі 20,5 мг/кг [11]. По завершенні введення досліджуваних сполук (на 15 день експерименту) у щурів збирали кров для клінічного дослідження, виймали кровотворні органи (тимус, селезінку), визначали їх масу для розрахунку коефіцієнтів маси органів та брали зразки тканини для виготовлення зрізів для мікроскопії.

20 Усі втручання та евтаназію тварин здійснювали з дотриманням принципів "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей" (Страсбург, 1986) IV-го Національного конгресу з біоетики (Київ, 2010). Результати експерименту обробляли статистично з використанням параметричних і непараметричних методів за допомогою програми Statistica 6. Результати дослідження наведені у таблиці.

25

Таблиця

Вплив комбінації КА+Кв та препарату порівняння Кв на коефіцієнти маси кровотворних органів та гематологічні показники щурів з циклофосфаною інтоксикацією

№ п/п	Показник	Інтактна група	ЦФ	КА+Кв+ЦФ	Кв+ЦФ
Коефіцієнти маси органів					
1.	Коефіцієнт маси селезінки (КМС)	0,38±0,02	0,35±0,02	0,38±0,02	0,42±0,04
2.	Коефіцієнт маси тимусу (КМТ)	0,124±0,007	0,054±0,003*	0,131±0,007**	0,068±0,004*
Гематологічні показники					
3.	Еритроцити, $\times 10^{12}/л$	5,12±0,07	4,94±0,12	5,03±0,11	4,96±0,07
4.	Гемоглобін, г/л	139,97±2,43	126,98±2,84*	137,97±3,57**	139,79±6,40**
5.	Лейкоцити, $\times 10^9/л$	13,84±1,19	6,69±0,95*	15,87±2,0**	12,69±0,95**

Примітки: * - відхилення достовірне щодо інтактного контролю, $p \leq 0,05$; ** - відхилення достовірне щодо контрольної патології, $p \leq 0,05$; # - відхилення достовірне щодо групи препарату порівняння Кв, $p \leq 0,05$.

30 Аналіз даних таблиці свідчить, що введення комбінації КА+Кв на тлі інтоксикації ЦФ чинило певний коригуючий вплив щодо кровотворних органів (тимуса та селезінки), що підтверджувалося позитивними змінами їх масових коефіцієнтів. На кінець експерименту в групі тварин, які отримували комбінацію КА+Кв, коефіцієнт маси тимуса достовірно зростав в 2,4 разу відносно групи контрольної патології та дещо перевищував значення аналогічного показника групи інтактних тварин, хоча ця розбіжність не мала вірогідного характеру; коефіцієнт маси селезінки у цій групі не відрізнявся від такого в групі інтактних тварин. Введення препарату порівняння Кв в тих же умовах практично не нівелювало токсичної дії цитостатику, що виражалося недостовірними зрушеннями значень коефіцієнтів маси тимуса та селезінки відносно до групи контрольної патології (табл.).

35 Відзначені вище зміни у стані органів кровотворення знайшли відображення у картині периферичної крові щурів. Введення комбінації КА+Кв на тлі інтоксикації ЦФ супроводжувалося відновленням переважно лейкоцитарного ростка кровотворення, що виражалося вірогідним підвищенням рівня лейкоцитів в 2,4 разу відносно групи контрольної патології та відповідністю цього показника групи інтактних тварин. Менш вираженим був вплив комбінації КА+Кв щодо

еритропоезу. Введення комбінації КА+Кв на тлі токсичної дії ЦФ не чинило статистично значущого впливу на кількість еритроцитів відносно групи контрольної патології, але слід зазначити, що на тлі циклофосфанової інтоксикації не спостерігалось значних зрушень у їх кількості відносно групи інтактних тварин. Однак, вміст гемоглобіну в групі тварин, які отримували комбінацію КА+Кв, відновлювався і вірогідно перевищував у 1,1 разу аналогічний показник групи контрольної патології та досягав значення тварин інтактною групи і групи препарату порівняння.

Описані вище позитивні зрушення, які відображають структурно-функціональний стан тимуса та селезінки, підтверджувалися результатами гістологічного дослідження. При застосуванні комбінації КА+Кв спостерігалось певне зменшення виразності реактивних змін тимуса у відповідь на стресове введення цитостатику. У більшості тварин об'єм залозистої тканини тимуса у часточках був трохи збільшений порівняно з контрольною патологією, що узгоджується з попередніми даними (а саме, зростанням масового коефіцієнта тимуса, активацією лейкопоезу) і може свідчити про певну активацію під впливом комбінації КА+Кв компенсаторних процесів. Поряд з цим розмір часточок тканини тимуса залишався зменшеним, мали місце потовщення сполучнотканинних перегородок та капсули, збільшення жирової тканини, як і у групі контрольної патології. Реактивні зміни у різних щурів цієї групи коливалися від розрідження лімфоцитів у корі до інверсії, яка виявлялась "переворотом шарів", тобто мозкова речовина була багатша на лімфоцити, ніж кіркова. Стан нерозбірливості шарів був відносно рідким, виявлялись також кистозоподібні тимічні тільця (рис. 1). В цілому при введенні комбінації КА+Кв мікроскопічна картина відповідала 3-4 фазі акцидентальної трансформації, у той час як циклофосфанова інтоксикація супроводжувалась переважно формуванням 5 (зрідка 4) фази акцидентальної трансформації.

У гістологічній картині селезінки після введення комбінації КА+Кв на тлі циклофосфанової інтоксикації також спостерігалися певні покращення. Введення досліджуваної комбінації зменшувало ознаки гіпоплазії білої пульпи селезінки: декілька збільшилася чисельність сформованих лімфатичних вузликів (але вона не досягала інтактного рівня), зростав розмір вузликів. У частини щурів у вузликах та муфтах була достатньо збільшена маргінальна зона, більш розширені герменативні центри, виявлялась чіткіша межа між білою та червоною пульпою. Зростала щільність лімфоцитів у періартеріальних зонах. У червоній пульпі спостерігалися скупчення лімфоцитів, з яких у подальшому можуть формуватися нові лімфатичні вузлики, що також є свідченням компенсаторної реакції (рис. 2).

Результати гістологічного дослідження показали, що введення комбінації КА+Кв на тлі циклофосфанового ураження, у порівнянні з групою контрольної патології, зменшувало ступінь реактивних змін у тимусі та сприяло більшій повноцінності лімфоїдної тканини селезінки. Треба зазначити, що у групі тварин, що отримували комбінацію КА+Кв, спостерігалась більш позитивна динаміка морфологічних змін як з боку тимуса, так і з боку селезінки порівняно з групою тварин, яким вводили референтний препарат Кв.

Таким чином, за результатами проведеного дослідження можна зробити висновок, що комбінація глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином чинить коригуючий вплив на стан кровотворних органів, зокрема тимуса і селезінки, в умовах ураження щурів циклофосфаном. У порівнянні з референт-препаратом кверцетином за більшістю вивчених показників (коефіцієнтом маси тимуса, кількістю лейкоцитів, вмістом гемоглобіну, морфоструктурою тимуса та селезінки) застосування комбінації глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином виявилось більш ефективним. Тобто, при сумісному застосуванні аміноцукрів з кверцетином досягається взаємопотенціювання фармакологічних ефектів і, як наслідок, посилення вираженості їх терапевтичної дії. Отримані дані експериментально обґрунтовують доцільність подальшого вивчення та використання комбінації глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином як модифікатора гематотоксичної та імунодепресивної дії циклофосфану та інших його аналогів за механізмом дії.

Джерела інформації:

1. Оганова М.А. Динамика изменения общего количества лейкоцитов периферической крови при введении циклофосфида на фоне действия кислоты феруловой / М.А. Оганова, Л.Е. Назарова // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. - 2006. - № 2. - С. 330-331.
2. Патент РФ №2482869 МПК А61К 38/06, А61К 33/24, А61Р 7/00; № 2011154536/15; заявл. 30.12.2011; опубл. 27.05.2013. - Бюл. № 15.
3. Компендиум 2013 - лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко. - К.: МОРИОН, 2013. - 2360 с.

4. Высоцкая В.В. Препараты, обеспечивающие переносимость цитостатиков и улучшающие качество жизни больных в процессе химиотерапии / В.В. Высоцкая, Н.О. Попова, И.О. Недавняя // Сибирский онкологический журнал. - 2004. - № 1. - С. 51-54.

5 28.10.2004; опубл. 20.10.2006.

6. Усенко В.Ф. Вплив препарату "Квертин" на альтеративне та проліферативне запалення в експерименті / В.Ф. Усенко // Клінічна фармація. - 2011. - №3. - С. 36-38.

7. Protective effect of quercetin against paraquat-induced lung injury in rats / H.K. Park, S.J. Kim, D.Y. Kwon et al. // Life Sciences. - 2010. - V. 87, №5/6. - P. 181-186.

10 8. Експериментальне дослідження функціонального стану міокарду під впливом комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну за умов розвитку фуразолідон-ізадринового міокардиту / Е.А. Ахмад, І.А. Зупанець, С.К. Шебеко, О.О. Тарасенко // Український біофармацевтичний журнал. - 2012. - № 3. - С. 65-69.

15 9. Туляков В.О. Протекторні властивості глюкозаміну / В.О. Туляков, К.О. Зупанець, С.К. Шебеко // Фармакологія та лікарська токсикологія. - 2009. - № 3. - С. 3-9.

10 Єрьоменко Р.Ф. Вплив коректора білкового обміну екстракту з трави люцерни посівної на гістоструктуру та функції імунної системи щурів в умовах експериментального імунодефіциту / Р.Ф. Єрьоменко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. Збірник наукових праць. - 2012. - Випуск № 4. - С. 24-36.

20 11. Зупанець К.О. Вплив композиції на основі аміноцукрів - похідних глюкозаміну та флавоноїду кверцетину на альтеративне і проліферативне запалення / К.О. Зупанець, І.А. Отрішко // Вісник фармації. - 2010. - № 1. - С. 69-71.

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

25

Застосування комбінації глюкозаміну гідрохлориду і N-ацетилглюкозаміну з кверцетином як засобу для корекції гематотоксичної та імунодепресивної дії алкілюючих протипухлинних засобів.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601