



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42244 (13) A

(51) 7 A61K31/185, A61K33/06

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЗАСІБ СУСЛОВА-ПІДГАЄВСЬКОЇ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН

(21) 2000126918

(22) 04.12.2000

(24) 15.10.2001

(33) UA

(46) 15.10.2001, Бюл. № 9, 2001 р.

(72) Суслов Євгеній Іванович, Підгаєвська Тетяна
Петрівна(73) ІНСТИТУТ ФІЗИАТРІЇ І ПУЛЬМОНОЛОГІЇ ІМ.
Ф.Г. ЯНОВСЬКОГО АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК
УКРАЇНИ, UA

(57) Засіб для лікування злоякісних пухлин, що містить комплексну сполуку металу, який відрізняється тим, що вміщує суміш кальцію глюконату і трипону Б.

Винахід відноситься до медицини, а саме, до експериментальної онкології, і може бути застосований у клінічній практиці для лікування неякісних пухлин.

Відомі протипухлинні засоби з алкіліруючою дією, зокрема, циклофосфан, який вводять щоденно по 100-150 мг/м² курсами через кожні 3-5 тижнів (див. Н.И. Переводчикова. Противоопухолевая терапия - М. Медицина, 1986 - 204 с.). Для циклофосфану спрямована на пригнічення проліферації клітин злоякісної пухлини шляхом блокування функціональної активності хімічних груп у ДНК клітин пухлини, при цьому, атомарні водородні «мостики» у ДНК замінюються на алкілну групу. Засоби вказаної групи відносяться до класу цитостатиків.

Однак, цьому засобу притаманні наступні недоліки:

- мала вибірковість відносно клітин пухлини (при його застосуванні ушкоджуються та гинуть здорові клітини у різних органах),

- високу ступінь токсичності,

- не «переводить» клітинний цикл у напрямку апоптозу - у програму природної смерті клітини.

Найбільш близьким по суті до засобу, є синтетичний препарат цисплатин, який застосовують внутрішньовенно в дозі 80-120 мг/м² кожні 3-5 тижнів (див. Д.А. Харкевич. Фармакологія Противоопухолевых средств - М. Геотар Медицина, 1999 - С. 580-596). Даний препарат є комплексною сполукою платини. Вважають, що цисплатин створює шийки молекул ДНК.

Однак, цей препарат має наступні недоліки:

- малу вибірковість відносно клітин пухлини (при його застосуванні пошкоджуються здорові клітини, так як до структури ДНК вноситься чужорідний хімічний елемент - платина),

- відсутність репаративних процесів у неопластичних клітинах, та неспроможність переключення їх клітинного циклу на апоптоз,

- антиметастатична дія при застосуванні засобу не виражена,

- не відновлюється нормальна міцність міжнуклеосомних зв'язків у макромолекулах ДНК.

В основу винаходу поставлено завдання створення такого протипухлинного засобу для лікування злоякісних пухлин, який дозволяв би підвищити антиметастатичний ефект, репаративні процеси у ядерному хроматині, або «переключення» неопластичної трансформації на апоптоз, нормалізувати міжнуклеосомальні та міжмолекулярні зв'язки у макромолекулах ДНК.

Поставлене завдання вирішується тим, що відомий засіб для лікування злоякісних пухлин, який містить комплексну сполуку металу, згідно винаходу вміщує суміш кальцію глюконату і трипону Б.

Передумовою для створення засобу стала раніш запропонована концепція, згідно якій у процесах ініціації злоякісного росту важливу роль відіграють порушення міжнуклеосомальних та міжмолекулярних зв'язків у ДНК, стабільність яких контролюється гістоновими і негістоновими ядерними білками, що пов'язані із кальцієм, дефіцит котрого з'являється у ядрах клітин пухлин (див. Е.И. Суслов і соавт. Роль ДНК-протеин-Са²⁺ комплексів в канцерогенезі - Журн. АМН України - 1997 - Т. 3 - № 2 - С. 282-291). Крім того, одною з передумов створення засобу стало припущення про те, що «міцність» міжмолекулярних зв'язків у макромолекулах ДНК запечить від включення її основ у комплексні сполуки із іонами металів.

Кальцій глюконат являє собою сіль глюконової кислоти. В медицині він застосовується внутрішньовенно у вигляді 10 % розчину у ампулах по

(19) UA (11) 42244 (13) A

10 мл. Цей засіб використовують у заміщувальній терапії при дефіциті кальцію в організмі (див. И.С. Чекман и др. Справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии - 1986 - С - 460).

Трипон Б являє собою дінамічну сіль етілендіамінтерауксунової кислоти. Застосовується внутрішньовенно по 2-4 г в 500 мл 5 % розчину глюкози при ектопічній аритмії, патологічних закістостеніннях скелету, склеродермії, відкладанні солей кальцію у м'язах, нирках, суглобах (БМЭ Комплексоны - М. Москва И-во Сов. Энциклопедия, 1979 - С 278).

Засіб Суслова-Підгаєвської отримують наступним чином: 10 мл 10 % розчину кальцію глюканату імітують із 10 мл 10 % розчину трипону Б. Для лікування злоякісних пухлин використовують 0,2 мл цієї суміші на 1 кг ваги тварини.

Дослідним шляхом встановлено, що при зниженні дози засобу менш ніж 0,2 мл зникає протипухлинна дія, спостерігається прогресуючий ріст злоякісної пухлини. При збільшенні дози засобу понад 0,2 мл проявляється токсична дія, що супроводжується дистрофічними змінами у внутрішніх органах.

Засіб застосовують наступним чином: Мишам-самкам лінії C57BL/6 з перевитою карциномою Льюїс (3LL) масою 180-200 г, віком 2,5 місяці щоденно, починаючи із 7-ї доби після перевиття клітин пухлини аж до 31-ї доби, вводять у ретробульбарне венозне сплетіння засіб Суслова-Підгаєвської по 0,2 мл на 1 кг ваги тварини. Забиття тварин проводили шляхом цервікальної дислокації під ефірним наркозом. В легенях підраховували кількість метастазів і вагу легень з метастазами. Дані дослідження проводили як на тваринах, що лікували, так і на тваринах не лікуваних (група контролю). Тканини легень вивчали гістологічно і гістохімічно. При цьому, визначали інтенсивність проліферації і наявність ознак апоптозу у клітинах органу "міцність" міжмолекулярних зв'язків у хроматині оцінювали по розробленій раніше методиці гістохімічної реакції на виявлення кальційпротеїнових сполук (КПС) на гістологічному препараті (див. Patent number 5,795,786 US Int. Cl.⁶ G01N33/574 U.S. Cl. 436/64, Method for the diagnosis of human malignant tumors / Suslov E I / UA, № 454,208, Mar 12, 1993 Aug 18, 1998 Dec 10, 1992 (RU) - № 93030251).

Винахід проілюстрований наступними прикладами дослідження тканин легень у зв'язку з переважним метастазуванням пухлини саме у легень.

Приклад 1. Випробування засобу проводилося за вищеописаною методикою. Термін спостереження - 7 діб (протокол № 10), без лікування. При макроскопічному дослідженні встановлено, що патологічних змін в легенях не виявлено. При мікроскопії тканин с. легень визначаються окремі екстравазати клітин пухлини, у ядрах котрих можна виявити продукти гістохімічної реакції на КПС, які інтенсивно забарвлені у чорно-коричневий колір.

Приклад 2. Випробування засобу проводилося за вищеописаною методикою.

Термін спостереження - 7 діб (протокол № 11), лікування даним засобом. При макроско-

пічному дослідженні тканин легень метастазів не виявлено. Мікроскопія екстравазати клітин карциноми Льюїс в легенях заблоковані. Відсутні умови для метастазування.

Приклад 3. Випробування засобу проводилося за вищеописаною методикою. Термін спостереження - 11 діб (протокол № 19), без лікування. При макроскопічному обстеженні в тканинах легень виявлено 20 метастазів (пухлинних вузлів). Вага легень разом із метастазами - 480 г. Мікроскопічно всі пухлинні клітини інтенсивно маркіровані на КПС. Така ж маркіровка спостерігається у епітелії бронхів і у клітинах альвеолярного епітелію, що може розглядатися як ознака починаючої непластичної трансформації, тобто визначається виражене прогресування росту злоякісної пухлини з інтенсивною проліферацією її клітин. Апоптоз у них відсутній. Чітка маркіровка ядер пухлинних клітин продуктами гістохімічної реакції на КПС свідчить про послаблення міжмолекулярних зв'язків у макромолекулах ДНК.

Приклад 4. Випробування засобу проводилося за вищеописаною методикою. Термін спостереження - 11 діб (протокол № 20), лікування даним засобом. При макроскопічному обстеженні тканин легень патологічних змін не виявлено. Вага легень - 420 г. Відмічається чітко виражена вибірка для протипухлинного засобу Суслова-Підгаєвської: проліферація пухлинних клітин різко обмежена. Виявляються поодинокі екстравазати пухлинних клітин, в ядрах яких дуже слабка маркіровка на КПС, що свідчить про репаративні процеси відновлення "міцності" міжмолекулярних зв'язків у ДНК. Визначається чітка фрагментація ядер. Це вказує на посилення апоптозу в пухлинних клітинах. У поруч розташованих нормальних клітинних елементах аерогематичного бар'єру проліферація та апоптоз не посилюються.

Приклад 5. Випробування засобу проводилося за вищеописаною методикою. Термін спостереження - 31 доба (протокол № 25), без лікування. При макроскопічному дослідженні тканини легень виявлено 61 метастаз. Вага легень разом із останніми 525,0 г. Мікроскопічна діагностика показала, що у тканинах легень має місце термінальна стадія раку - інтенсивна проліферація злоякіснопухлинних клітин (багато митозів, поліплоїдія, атипія), некроз та розпад легеневої тканини. Апоптоз відсутній. Усі ядра пухлинних клітин інтенсивно маркіровані продуктами гістохімічної реакції на КПС, що свідчить про крайню ступінь послаблення міжмолекулярних зв'язків у макромолекулах ДНК. Така ж маркіровка спостерігається як у епітелії бронхів, так і у клітинах альвеолярного епітелію.

Приклад 6. Випробування засобу проводилося за вищеописаною методикою. Термін спостереження 31 доба (протокол № 29), лікування даним засобом. При макроскопічному дослідженні легень патологічних змін не виявлено. Вага легень 500,0 г. Відмічається чітко виражена вибірка для протипухлинного засобу Суслова-Підгаєвської: ділянки метастазування чітко відгалужені молоді сполучною тканиною. У ядрах клітин виражені апоптичні зміни: каріопікноз, конденсація та фрагментація хроматина та цитоплазми.

Ядра клітин пухлини слабо маркіровані продуктами пістохімічної реакції на КПС, що свідчить про "зміцнення" міжмолекулярних зв'язків у ДНК клітин паренхіми легень і про блокування їх проліферації з одночасним переходом у апоптоз недиференційованих ракових клітин. У поруч розташованих нормальних клітинних елементах паренхіми ознак проліферації та апоптозу не спостерігається.

У всіх інших паренхіматозних органах спостерігалися однотипні зміни, що були подібні змінам у тканинах легень.

Засіб, був застосований на 30 мишах-самках лінії С57BL/6 із перевитою карциномою Льюїс (3LL). Контроль - 10 тварин, що не приймали лікування. Термін спостереження - 31 доба.

В результаті проведених досліджень встановлено, що у порівнянні із прототипом засіб, який пропонується, завдяки його специфічній фармакокінетиці (доставка суміші кальцію глюконату з трилоном Б у ядерний хроматин клітин, де спостерігаються порушення міжмолекулярних зв'язків у макромолекулах ДНК) має більш виражену хімотерапевтичну ефективність, високу вибірковість відносно пухлинних клітин, виражений антиметастатичний ефект, що перевищує цей показник у прототипа у середньому в 15 разів (табл.), стимулює репаративні процеси у ДНК клітин паренхіми легень шляхом зміцнення у них міжмолекулярних зв'язків, а також сприяє апоптозу проліферуючих недиференційованих ракових клітин.

Таблиця

Порівняльна характеристика кількості метастазів і ваги легень з метастазами у тварин с карциномою Льюїс 3LL, що приймали і не приймали протипухлинну терапію засобом, що пропонується

Групи тварин (доби)	Тварини, що приймали лікування		Контроль (тварини, що не приймали лікування)	
	Кількість метастазів у легенях	Вага легень із метастазами (г)	Кількість метастазів у легенях	Вага легень із метастазами (г)
1-я гр(7)	-	-	Окремі екстравазати клітин	-
2-я гр(11)	1,0±0,7	427,0±8,0	18,0±8,3*	473,0±6,0**
3-я гр(31)	15,0±0,4	486,0±8,0	58,0±8,3*	520,0±6,0**

Примітки * - $P_1 < 0,05$ - достовірність різниці між кількістю метастазів пухлини у легенях тварин, що приймали лікування і тварин, що не приймали лікування

** - $P_2 < 0,05$ - достовірність різниці між вагою легень із метастазами

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60х84 1/8
Обсяг _____ обл.-вид арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180
(044) 268-25-22