

Винахід відноситься до аплікаційних протипухлинних препаратів на основі похідних платини та до способу їх застосування у поєднанні з радіотерапією.

Відомий аплікаційний протипухлинний препарат, який включає цисплатину та моноклональні антитіла антигену CD95 (анти-СР95 МКАТ ІПО-4) в якості речовини, що підвищує чутливість клітин пухлини до цисплатину і тим самим підвищує ефективність його впливу на неї [пат. України 46551 А].

Відомий препарат має форму водного розчину цисплатину та моноклональних антитіл з концентрацією відповідно 5мкг/мл та 1мкг/мл. Препарат ефективний при лікуванні хворих на плоскоклітинний рак ротової частини глотки, клітини якого експресують антиген CD95, та не ефективний при лікуванні раку, клітини якого не експресують антиген CD95. Здатність анти-CD95 МКАТ ІПО-4 підвищувати чутливість клітин пухлини до цисплатину з синергічним ефектом дозволяє використовувати для лікування низькі концентрації цисплатину, що в свою чергу усуває прояви його токсичності. Неспроможність анти-CD95 МКАТ ІПО-4 підвищувати чутливість клітин пухлини, що не продукують антиген CD95, до цисплатину, обумовлює обмеження використання препарату для лікування раку, клітини якого експресують антиген CD95.

Спосіб лікування хворих на плоскоклітинний рак ротової частини глотки включає опромінення в комбінації з хіміотерапією, яку здійснюють шляхом аплікаційного нанесення на пухлину цисплатину та анти-CD95 МКАТ ІПО-4 через день протягом 20 хвилин під час опромінення [пат. України 46551 А].

Оскільки протипухлинна ефективність цисплатину залежить від його кількості в препараті, то низька концентрація цисплатину спричиняє недостатню ефективність і способу його застосування.

Задача винаходу полягає в розширенні можливості застосування та підвищення ефективності протипухлинного препарату платини для лікування раку ротової частини глотки та способу лікування ним шляхом використання іншої сполуки платини у поєднанні з іншим препаратом, що підвищує його ефективність при збереженні низької токсичності препарату.

Задача вирішується протипухлинним препаратом для лікування раку ротової частини глотки у вигляді водного розчину похідної платини та речовини, що підвищує ефективність похідної платини, в якій, відповідно до винаходу, використовується водний розчин похідної платини з поліаніоном дезоксирибонуклеїнової кислоти *in situ* (Рt-ДНК), який додатково містить натрій хлористий, натрій лимоннокислий (Na₃cyt), амоній хлористий, а як речовину, що підвищує ефективність похідної платини, натрієву сіль фторурацилу (ФУ), при їх співвідношенні в мкг на 1мл водного розчину:

Рt-ДНК	50,0-225,0
NaCl	7785,0-8730,0
Na ₃ cyt	16,7-75,0
NH ₄ Cl	6,0-27,0
ФУ	90,0-135,0.

Використаний якісний та кількісний склад сольових компонентів обумовлений наявністю їх в вихідних продуктах, де вони забезпечують підвищення розчинності активних компонентів у воді та стабілізацію їх розчину в часі. Якісний та кількісний склад сольових компонентів, що містяться в розчині, забезпечує стабільність в часі також і препарату, що заявляється.

Кількісний склад активних речовин обмежений з одного боку ефективністю їх терапевтичної дії, а з другого - підвищенням токсичності препарату при концентраціях, що перевищують 225мкг/мл Рt-ДНК та 135мкг/мл ФУ.

Задача також вирішується способом лікування хворих раком ротової частини глотки, який включає опромінення в комбінації з хіміотерапією, яку проводять шляхом аплікаційного нанесення на пухлину водного розчину похідної платини та сполуки, що підвищує чутливість клітин пухлини до дії платинового препарату, під час опромінення, через день, протягом 20 хвилин, в якому, відповідно до винаходу, в якості водного розчину активних компонентів використовують водно-сольовий розчин Рt-ДНК та натрієвої солі фторурацилу, в якому присутні хлорид та цитрат натрію і хлорид амонію при їх співвідношенні, мкг/мл:

Рt-ДНК	50,0-225,0
NaCl	7785,0-8730,0
Na ₃ cyt	16,7-75,0
NH ₄ Cl	6,0-27,0
ФУ	90,0-135,0.

Для одержання протипухлинного препарату використовували відомий протипухлинний препарат платини (пат. України №22221 А), який містить у водному розчині на 1500мкг/мл Рt-ДНК 900мкг/мл NaCl, 500мкг/мл Na₃cyt та 180мкг/мл NH₄Cl (препарат ПП) та відомий протипухлинний препарат для інфузій (пат. України №23676 А) у вигляді водного розчину, що містить на 1500мкг/мл Рt-ДНК 900мкг/мл NaCl, 500мкг/мл Na₃cyt, 180мкг/мл NH₄Cl і 2700мкг/мл натрієвої солі фторурацилу (препарат ППФ), а також фізіологічний розчин для інфузій, що містить 9000мкг/мл NaCl.

Для приготування препарату, що заявляється, названі препарати змішували у відповідних об'ємах.

Дані, що характеризують вміст компонентів в розчині, що заявляється, в залежності від об'ємів вихідних розчинів надаються в табл.1.

Таблиця 1

№ при-кладу	Об'єм вихідних розчинів, мл			Вихідна кількість компонентів в суміші препаратів, мкг					Вміст компонентів в розчині, що одержаний, мкг/мл				
	ППФ	ПП	Фізіологічний розчин	Рt-ДНК	NaCl	Na ₃ cyt	NH ₄ Cl	ФУ	Рt-ДНК	NaCl	Na ₃ cyt	NH ₄ Cl	ФУ
1	1,0		29	1500	261900	500	180	2700	50	8730	16,7	6,0	90
2	1,0	1,0	28	300	253800	1000	360	2700	100	8460	33,4	12,0	90

3	0,5	1,0	8,5	2250	77850	750	270	1350	225	7785	75,0	27,0	135
4	1,0	2,0	15	4500	137700	1500	540	2700	250	7650	83,5	30,0	150
5	1,0	2,0	6	4500	55800	1500	540	2700	500	6200	167	60,0	3000

Токсичність препарату, що заявляється, досліджували у порівнянні з токсичністю відомого препарату та фізіологічним розчином (контроль) на семи групах білих непородних щурів (по десять тварин у кожній групі) вагою 200±20г. Тваринам кожний день на протязі 25 діб в роту порожнину вводили апікаційно за допомогою стерильної марлевої турунди 0,1мл одного з препаратів, що досліджувались, та витримували 25-30 хвилин. Перед введенням препаратів тварин наркотизували. Результати, що характеризують реакцію тварин на апікації, наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Група тварин	№ прикладу	Вміст компонентів в препараті, мкг/мл	Період до початку проявлення інтоксикації, доби	Частота проявлення інтоксикацій, %				
				Епітеліит	Стоматит	Порушення		
						солівації	ковтання	дихання
I	контроль	NaCl-9000	0	0	0	0	0	0
II	1	Pt-ДНК-50 NaCl-8730 Na ₃ cyt-16,7 NH ₄ Cl-6,0 ФУ-90,0	0	0	0	0	0	0
III	2	Pt-ДНК-100 NaCl-8460 Na ₃ cyt-33,4 NH ₄ Cl-12,0 ФУ-90,0	0	0	0	0	0	0
IV	3	Pt-ДНК-225 NaCl-7785 Na ₃ cyt-75,0 NH ₄ Cl-27,0 ФУ-135	0	0	0	0	0	0
V	4	Pt-ДНК-250 NaCl-7650 Na ₃ cyt-83,5 NH ₄ Cl-30,0 ФУ-150	18	100	0	0	0	0
VI	5	Pt-ДНК-500 NaCl-6200 Na ₃ cyt-167 NH ₄ Cl-60,0 ФУ-300	7	100	100	0	0	0
VII	відомий	Цисплатин-5 анти-CD95 МКАТ ІПО-4-1	0	0	0	0	0	0

Аналіз даних таблиці 2 показує, що у тварин I-IV груп, яким апікаційно вводили, відповідно, фізіологічний розчин та препарати, приготовлені за прикладами №1, №2 та №3, не виявлено будь-яких проявлень інтоксикації, так само, як і при введенні відомого препарату VTI групи тварин. У тварин V та VI груп, яким вводили, відповідно, препарати, приготовлені за прикладами №4 та №5, ознаки інтоксикації з'явилися. Таким чином, можна зробити висновок, що препарат, що заявляється, який має значно більший вміст активних компонентів ніж, у відомого препарату, в визначеному діапазоні концентрацій не має токсичних проявів.

Протипухлинну активність препарату, що заявляється, досліджували у порівнянні з відомим препаратом на клітинній культурі лінії епідермальної карциноми ротової порожнини людини HEP-2, яка не експресує антиген CD95. Клітини культивували у атмосфері 5% CO₂ при 37°C в ростовому середовищі Ігла з додаванням 10% телячої сироватки. Через 24 години після висівання частину клітин виділили для контролю, а ті, що залишилися, розділили на культури, які інкубували у присутності препарату, що заявляється, протягом 24 та 72 годин, після чого визначали цитотоксичність препаратів, яку встановлювали по кількості загинувших пухлинних клітин та відображали у відсотках по відношенню до контролю.

Дані, що характеризують цитотоксичність відомого протипухлинного та препарату, що заявляється, наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Склад препарату в культурі клітин		Відсоток загинувших клітин в культурі через	
№	Вміст, мкг/мл	24 години після інкубації	72 години після інкубації

прикладу			
1	Pt-ДНК-50 NaCl-8730 Na ₃ cyt-16,7 NH ₄ Cl-6,0 ФУ-90,0	45	84
2	Pt-ДНК-100 NaCl-8460 Na ₃ cyt-33,4 NH ₄ Cl-12,0 ФУ-90,0	60	90
3	Pt-ДНК-225 NaCl-7785 Na ₃ cyt-75,0 NH ₄ Cl-27,0 ФУ-135	80	100
відомий	Цисплатин-5 анти-СВ95 МКАТ ИПО-4-1	14	22

З аналізу таблиці 3 видно, що препарат, що заявляється, проявляє агресію до клітин пухлини НЕР-2 тим більшу, чим більша концентрація Pt-ДНК та час впливу препарату, у той час як агресія відомого препарату до клітин НЕР-2, які не продукують антиген CD95, значно нижча.

Наявність в складі протипухлинного препарату похідного платини з поліаніоном дезоксирибонуклеїнової кислоти *in situ* (Pt-ДНК) та сполуки, що підвищує чутливість клітин пухлини до дії платинового препарату - натрієвої солі фторурацилу, які при сумісному використанні не токсичні у відношенні до епідермісу ротової порожнини, але мають підвищену цитотоксичність по відношенню до клітин пухлини епітеліальної природи, забезпечує розширення можливості і підвищення ефективності лікування раку ротової частини глотки апікаційним препаратом, що заявляється, незалежно від того експресує пухлина антиген CD95 чи ні. Лікування характеризується відсутністю проявлення побічних ефектів у хворих.

Лікування проводили наступним чином.

Онкохворим проводили фракційне опромінення дрібними дозами по 2Гр на день протягом 25 днів. Під час опромінення через день на уражені ділянки ротової порожнини апікаційно за допомогою біопсійних щипців стерильною марлевою турундою наносили 1мл препарату за прикладом №1 та залишали препарат у контакт з пухлиною на 20-25 хвилин. За 30 хвилин до апікаційного введення препарату хворому підшкірно вводили 0,5мл 1% розчину атропіну для зменшення солівації в глотці.

Спосіб лікування, що заявляється, був апробований в клініці на 10 пацієнтах з діагнозом: рак правого піднебінного мигдалика з розповсюдженням на піднебінні дужки та м'яке піднебо - 7 хворих, з розповсюдженням на піднебінні дужки - 3 хворих. Ефективність лікування оцінювали у порівнянні з відомим способом за показниками, які характеризують кількість хворих, які реагували на лікування, у відсотках, необхідність відбору хворих за ознакою наявності в їх пухлинах антигену CD95, частоту повних та часткових регресій, у відсотках, а також частоту проявлення ознак променевого епітеліту та покращення якості життя.

Результати порівняння зведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Показники		Відомий спосіб	Спосіб, що заявляється
Відсоток хворих, що реагували на лікування з позитивним ефектом		60	100
Частота випадків, %	повні регресії	42	80
	часткові регресії	12	10
	без проявлення ознак променевого епітеліту	30	100
	покращення якості життя	30	90
Відбір пацієнтів за ознакою наявності в пухлині антигену CD95		Необхідно	Не потрібно
Відсоток хворих, які обстежені за методом імуноцитохімії		100	0

При лікуванні хворих відомим способом позитивний ефект спостерігався у 60% хворих із 100%, які попередньо були відібрані за проведеними обстеженнями методом імуноцитохімії за ознакою наявності в біопсійному матеріалі їх пухлини антигену CD95. При лікуванні способом, що заявляється, обстеження методом імуноцитохімії не проводилося, а позитивний ефект спостерігався у 100% хворих незалежно від наявності або відсутності у них антигену CD95. Крім того, спосіб, що заявляється, також має більш високі інші показники ефективності лікування: частоту випадків повних регресій, частоту випадків безпроменевого епітеліту, частоту випадків покращення якості життя.