

Винахід відноситься до фармакології, а саме до лікарських форм протипухлинних препаратів, що містять похідну платини з дезоксирибонуклеїновою кислотою, а також фторурацил, та способам їх одержання. Такі препарати можуть бути використані для лікування злоякісних новоутворень в термінальних стадіях у формі розчину для внутрішньовенного та внутрішньоартеріального введення.

Відома лікарська форма (ЛФ) протипухлинного препарату похідної платини з поліаніоном дезоксирибонуклеїнової кислоти *in situ* (Pt-ДНК), яка включає також натрій хлористий, натрій лимоннокислий, амоній хлористий та фторурацил у вигляді натрієвої солі при співвідношенні компонентів в водному розчині, мас. %:

Pt-ДНК	0,130-0,153
натрій хлористий	0,080-0,090
натрій лимоннокислий	0,040-0,053
амоній хлористий	0,015-0,018
натрієва сіль фторурацилу	0,025-0,370
[пат. України №23676 А].	

Як показали дослідження відомої ЛФ, молекули активної субстанції Pt-ДНК в ній мають таку просторову структуру, яка сприяє взаємодії молекул Pt-ДНК в більшій мірі між собою, ніж їх взаємодія з молекулами розчину, і тому молекули Pt-ДНК в розчині утворюють значні асоціати розміром 0,5-1,0 мкм в найбільшому вимірі. Таке асоціювання активно діючої речовини викликає зменшення її істинної концентрації і призводить до зменшення протипухлинної активності препарату та зниження його ефективності. Крім того, асоціювання молекул препарату обмежує його використання тільки внутрішньоочеревинним введенням, виключаючи внутрішньовенне та внутрішньоартеріальне, із-за гематотоксичності препарату, яка виникає в результаті адсорбції асоціатів Pt-ДНК еритроцитами крові та стінками кровоносних судин. Слідством такої адсорбції є руйнування еритроцитів та гемоліз. Дрібні капіляри периферичної крові емболізуються і порушується гемодинаміка органів з наступним порушенням їх структури та функцій.

Відомий спосіб одержання лікарської форми протипухлинного препарату платини для інфузій шляхом розчинення волокон ДНК в цитратно-сольовому розчині, який містить натрій хлористий, натрій лимоннокислий, шляхом механічного перемішування, наступного нагрівання розчину ДНК до 70-90°C, змішування нагрітого розчину ДНК з нагрітим до такої ж температури цитратно-сольовим розчином цис-дихлорودیаммінплатини (ДДП) та термостатування суміші розчинів ДНК та ДДП при 70-90°C протягом 15-20 хвилин з наступним додаванням до суміші термостатованих розчинів водного розчину натрієвої солі фторурацилу (пат. України №23676А).

Розчинення волокон ДНК в цитратно-сольовому розчині без застосування технологічної операції, яка забезпечує повне розділення волокон ДНК, і послідовність проведення операцій приготування препарату не запобігають асоціації молекул Pt-ДНК в розчині.

Задача винаходу полягає у створенні лікарської форми протипухлинного препарату для інфузій з підвищеною ефективністю та розширеним діапазоном застосування за рахунок використання Pt-ДНК з неасоційованими молекулами.

Задача вирішується лікарською формою протипухлинного препарату для інфузій на основі водного розчину похідної платини з поліаніоном дезоксирибонуклеїнової кислоти *in situ*, яка містить натрій хлористий, натрій лимоннокислий, амоній хлористий та фторурацил у вигляді натрієвої солі при співвідношенні компонентів в водному розчині, мас. %:

Pt-ДНК	0,130-0,153
натрій хлористий	0,080-0,090
натрій лимоннокислий	0,040-0,053
амоній хлористий	0,015-0,018
натрієва сіль фторурацилу	0,025-0,370

в якій, відповідно до винаходу, використовують Pt-ДНК з неасоційованими молекулами розміром 0,05-0,15 мкм в найбільшому вимірі.

Ефективні інтервали концентрацій та співвідношення компонентів водного розчину ЛФ, що заявляється, відповідають співвідношенням, встановленим при розробці відомої ЛФ для інфузій внутрішньоочеревинного введення. Розміри молекулярних структур Pt-ДНК у відомій ЛФ та у ЛФ, що заявляється, визначались методом електронної мікроскопії.

Задача винаходу також полягає у розробці способу одержання ЛФ для інфузій, який шляхом застосування додаткової операції по розділенню волокон ДНК та зміни послідовності операцій приготування ЛФ, забезпечує одержання ЛФ з неасоційованими макромолекулами Pt-ДНК розміром 0,05-0,15 в найбільшому вимірі, а також забезпечує попередження асоціації молекул Pt-ДНК в ЛФ.

Винахід також полягає у способі одержання лікарської форми протипухлинного препарату для інфузій шляхом розчинення волокон ДНК в цитратно-сольовому розчині, який містить натрій хлористий, натрій лимоннокислий, шляхом механічного їх перемішування, нагрівання розчину ДНК до 70-90°C, змішування нагрітого розчину ДНК з нагрітим до такої ж температури цитратно-сольовим розчином цис-дихлорودیаммінплатини (ДДП), термостатування суміші розчинів ДНК та ДДП при 70-90°C протягом 15-20 хвилин та додавання до суміші розчинів водного розчину натрієвої солі фторурацилу, в якому, відповідно до винаходу, волокна ДНК перед перемішуванням витримують в цитратно-сольовому розчині протягом 16-26 годин, змішування приготованих розчинів ДНК та ДДП проводять шляхом поступового додавання розчину ДДП до розчину ДНК, а додавання водного розчину натрієвої солі фторурацилу проводять перед термостатуванням суміші.

Приклади одержання ЛФ, що заявляється, та її характеристики в залежності від умов одержання наведені в таблиці 1 у порівнянні з прикладом одержання відомої ЛФ та її характеристиками.

Таблиця 1.

№ прикладу	Умови одержання ЛФ							Характеристика одержаної ЛФ					
	Кількість вихідних компонентів, г/л					Втримування ДНК, год.	Температура нагрівання і термостатування, °С	Склад ЛФ, мас. %					Розмір молекулярних структур Рт-ДНК, мкм
	ДНК	ДДП	NaCl	Na ₃ Cyt	ФУ			ДНК	ДДП	NaCl	Na ₃ Cyt	ФУ	
1	0,65	0,85	0,87	0,43	4,00	16	70	0,630	0,080	0,040	0,015	0,370	0,05-0,12
2	0,67	0,88	0,92	0,47	2,00	22	78	0,142	0,089	0,046	0,016	0,192	0,05-0,13
3	0,72	0,94	0,97	0,53	0,25	26	90	0,153	0,093	0,053	0,018	0,370	0,05-0,15
4	0,72	0,94	0,97	0,53	4,00	0	80	0,153	0,093	0,053	0,018	0,370	0,5-1,0

Різниця просторової структури Рт-ДНК у відомій та ЛФ, що заявляється, підтверджується різним розміром їх молекулярних структур, який відрізняється один від одного на порядок. Розмір молекулярних структур у ЛФ, що заявляється, відповідає розміру індивідуальних макромолекул речовини, що підтверджує неасоційованість молекул Рт-ДНК у ЛФ.

Гематотоксичність ЛФ, що заявляється, досліджували у порівнянні з прототипом та з контролем - фізіологічним розчином (0,9% розчин NaCl). Дослідження проводили на семи групах білих безпородних щурів - самців вагою 200±20г (по 12 тварин в кожній групі). Тваринам внутрішньовенне, через день, тричі вводили досліджувані препарати, після чого методом кислотних еритрограм аналізували їх периферичну кров. Геметотоксичність оцінювали за кількістю зруйнованих молодих еритроцитів, що виражена у відсотках, через 1 добу та 14 діб після закінчення введення препаратів.

Результати досліджень наведені в таблиці 2.

Таблиця 2.

Група тварин	Препарат, що введений	Доза Рт-ДНК, мг/кг	Кількість зруйнованих еритроцитів, після введення препаратів, %	
			через 1 добу	через 14 діб
I (контроль)	Фізіологічний розчин		2-5	2-3
II	ЛФ за прикладом №1	5,0	2-3	2-3
III		30,0	4-5	2-3
IV	ЛФ за прикладом №2	30,0	2-3	2-3
V	ЛФ за прикладом №3	30,0	2-3	1-2
VI	ЛФ за прикладом №4	5,0	100	16-18
VII		30,0	100	38-43

Аналіз даних таблиці 2 показує, що нова ЛФ не має гематотоксичності, тоді як у відомої ЛФ вона виражена суттєво.

В крові тварин II-V груп, яким вводили ЛФ, одержану за прикладами №№1-3, кількість зруйнованих еритроцитів, як в близькі, так і в віддалені строки після ін'єкцій, незалежно від дози Рт-ДНК не відрізняється від контролю та складає тільки 1-5%, що відповідає фізіологічній нормі. У тварин VI та VII груп, яким вводили відому ЛФ (приклад №4), через добу руйнуються усі молоді еритроцити. Через 14 діб ступінь вираженості гематотоксичності падає, але залишається на досить високому рівні. Кількість зруйнованих еритроцитів нової генерації залишається вищою за норму і зі збільшенням дози Рт-ДНК збільшується.

Протипухлинну активність відомої та ЛФ, що заявляється, оцінювали на основі експериментів, які були проведені на моделі короткострокове культивованих клітин, одержаних у хворого на ангіосаркому головного мозку безпосередньо під час операції. Для культивування використовували поживну суміш стандартного складу: середовище Ігла (40%), ембріональна теляча сироватка (30-40%), глюкоза (800мг.%), інсулін (0,2од/мл). Культури клітин витримували в інкубаторі з постійним режимом газового складу та вологості при 36,7°С. Через 4-5 діб після висівання частину клітин залишали для контролю, а інші обробляли ЛФ, що заявляється, відомою ЛФ та фізіологічним розчином. Термін інкубації культур з кожним препаратом складав 24 години. Протипухлинну активність оцінювали за цитотоксичністю, яку характеризували кількістю загиблих клітин, виражену у відсотках.

Результати підрахунків кількості загиблих клітин у культурах наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Культура клітин	Препарат	Концентрація Рт-ДНК у культурі, мкг/мл	Кількість загиблих клітин, %
I(контроль)	фізрозчин		0,3
II	ЛФ за прикладом №1	5,0	30
III		15,0	61
IV		30,0	80
V	ЛФ за прикладом №2	30,0	78
VI	ЛФ за прикладом №3	30,0	83
VII	ЛФ за прикладом №4	30,0	38

	(відома)		
--	----------	--	--

Дані таблиці 3 свідчать, що при порівняльній кількісній оцінці протипухлинної активності за тестом цитотоксичності, ЛФ, що заявляється, суттєво перевищує відому. При однакових концентраціях похідної платини в культурі - 30мкг/мл, відома ЛФ викликає загибель тільки 38% клітин, в той час як ЛФ, що заявляється, - 80%.

ЛФ, що заявляється, була клінічне випробувана на 3-х групах з 37 хворих: I група - 11 хворих з канцероматозом черевної порожнини та асцитом, II група - 7 хворих з метастатичним пухлинним ураженням печінки з частковою резекцією органу, III група - 19 хворих з неоперабельним метастатичним пухлинним ураженням печінки. Хворим усіх трьох груп ЛФ препарату, одержану, як описано у прикладах №1-3, вводили тричі рівними об'ємами по 250мл в сумарній дозі діючої речовини в розрахунку на Рf-ДНК 1,00-1,15г на людину вагою 70кг. Хворим I групи ЛФ вводили внутрішньоочеревинно, II групи - внутрішньовенно, III групи - внутрішньоартеріально (у печінкову артерію або її окремі гілки).

Проведені клінічні дослідження показали, що, як внутрішньоочеревинне так і внутрішньовенне та внутрішньоартеріальне застосування ЛФ, що заявляється, підвищує ефективність хіміотерапії, яка виражається у стабілізації та частковій регресії пухлинного процесу, подовженні мікрорецидивного періоду. При цьому у хворих не зафіксовані клінічні та лабораторні проявлення гематотоксичності або будь-які інші побічні явища. У всіх хворих підвищилась активність та поліпшилась якість життя.