



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **74922** (13) **C2**
(51) МПК (2006)
A61K 31/194 (2006.01)
A61K 33/06
A61P 35/04 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСІБ ДЛЯ АД'ЮВАНТНОЇ ТЕРАПІЇ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН

1

(21) 2004021319
(22) 24.02.2004
(24) 15.02.2006
(46) 15.02.2006, Бюл. № 2, 2006 р.
(72) Суслов Євгеній Іванович, Підгаєвська Тетяна
Петрівна
(73) Суслов Євгеній Іванович, Підгаєвська Тетяна
Петрівна

2

(56) RU C1 2106146 10.03.1998
SU A3 1828401 15.07.1993
JP A 07082286 28.03.1995
UA A 42244 15.10.2001
(57) Засіб для ад'ювантної терапії злоякісних пухлин, що містить розчин комплексної сполуки кальцію альдонату та етилендіаміндіантарної кислоти, взятих у еквімолекулярному співвідношенні.

Винахід відноситься до медицини, галузі онкології, та може бути використаний для ад'ювантної терапії злоякісних пухлин.

Відомі найбільш поширені в галузі хіміотерапії такі протипухлинні засоби алкілюючої дії, як "Циклофосфан" та "Хлофіден" [див.: Противоопухолевая химиотерапия /Под ред. Н.И. Переводчиковой. - М.: Медицина, 1986. - 205 с.; Шарыкина Н.И., Кудрявцева Н.Г., Павловская Г.П. Механизмы действия нового противоопухолевого препарата хлофидена. Влияние на синтез РНК //Укр. біохім. журн. - 2003. - 31. - С. 89-91.].

Однак, цим засобам притаманні наступні недоліки:

- недостатній антиметастатичний ефект в післяопераційному періоді;
- висока ступінь токсичності вказаних хіміотерапевтичних засобів;
- неспроможність переключення процесу проліферації клітин пухлини на апоптоз;
- недостатня тривалість гальмування онкологічного процесу в післяопераційному періоді (ремісії).

Найбільш близькими по суті до протипухлинного засобу, який заявляється, є препарати платини [див.: Противоопухолевая химиотерапия /Под ред. Н.И. Переводчиковой. - М.: Медицина, 1986. - 205 с.; Чианпори А., Деворе Р., Джонсон Д. Новые агенты при лечении немелко клеточного рака лег-

ких /Онкологический дайджест. - 2003. - №1. - С. 35-44], а саме, "Карбоплатин".

Однак, "Карбоплатину" притаманні наступні недоліки;

- недостатній антиметастатичний ефект в післяопераційному періоді;
- висока ступінь токсичності;
- неспроможність переключення процесу проліферації клітин пухлини на апоптоз;
- недостатня тривалість гальмування онкологічного процесу в післяопераційному періоді (ремісії);
- нездатність метаболітів карбоплатину до асиміляції в організмі.

В основу винаходу покладено задачу створення протипухлинного засобу для ад'ювантної терапії злоякісних пухлин, в якому в наслідок поєднання інгредієнтів суміші (кальцію альдонату та комплексону янтарної кислоти) досягається усунення високої токсичності, значне підвищення антиметастатичного ефекту, зростання періоду ремісії в післяопераційному періоді, переключення процесу проліферації клітин пухлини на апоптоз, асиміляція в організмі метаболітів засобу.

Задача, що поставлена вирішується тим, що засіб "Нуклеосан" для ад'ювантної терапії злоякісних пухлин, який вміщує комплексну сполуку металу, згідно з винаходом, комплексна сполука складається із розчину кальцію альдонату та

(13) **C2**

(11) **74922**

(19) **UA**

етилендіамінодіантарної кислоти в еквімолекулярному співвідношенні.

Передумовою для створення засобу "Нуклеосан" стала раніш запропонована нами концепція про металобілковозалежну регуляцію детермінації диференціювання клітин, пов'язану з кальційзалежними ядерними протеїнами, дефіцит котрих з'являється у хроматині клітин пухлин [див.: Суслов Е.И., Подгаевская Т.П. Гистоновые и не-гистоновые белки - основа онкотестирования //Укр. биохим. журн. - 2003. - №.2. - С. 566.].

Засіб "Нуклеосан" отримують наступним чином: 0,2 М водний розчин кальцію альдонату та 0,2 М водний розчин етилендіамінодіантарної кислоти змішують в еквімолекулярних співвідношеннях.

Дослідним шляхом встановлено, що еквімолекулярне співвідношення компонентів дозволяє досягти оптимальний антиметастатичний ефект при низькому ступені токсичності та переключення проліферації клітин пухлин на апоптоз, а також підвищити асиміляцію метаболітів засобу в організмі.

Для хіміотерапії метастазів злоякісної пухлини в органах та тканинах використовують дози засобу "Нуклеосан" в діапазоні від 400 мг/кг маси до 3 000 мг/кг маси тварини. Дослідно-експериментальним шляхом встановлено, що при зниженні терапевтичної дози засобу менш, ніж 400 мг/кг маси зникає антиметастатична дія, спостерігається прогресуючий ріст злоякісної пухлини. При збільшенні терапевтичної дози засобу понад 3000 мг/кг маси тварини з'являються перші ознаки токсичної дії.

Засіб практично не токсичний (експериментальне встановлено, що мінімальна летальна доза, при якій гинуть 50% тварин (LD_{50}) засобу "Нуклеосан" дорівнює 8000 мг/кг маси тіла тварини).

Засіб "Нуклеосан" використовують таким чином: 60 мишам-самкам лінії С 57 BL/6 масою 18-20 г віком 2,5 місяців на 22-у добу після перещеплення карциноми Л'юїс була видалена первинна пухлина шляхом резекції лапки.

Починаючи з 2 доби після цього була розпочата ад'ювантна терапія шляхом внутрішньобрюшинного введення засобу "Нуклеосан".

20 тварин першої групи отримували засіб у дозі 400 мг на кг маси тіла миші через день, 20 мишам другої групи засіб вводили в дозі 3000 мг на кг маси тварини через день, всього 10 введень. Третю - контрольну групу складала 20 не лікованих тварин. Через 25 діб 15 тварин з першої та 15 тварин з другої групи, та всіх тварин з контрольної групи забивали шляхом цервікальної дислокації. По 5 тварин з першої та з другої групи було залишено для спостереження на термін 60 діб після лікування, після чого вони були забиті.

В тканинах паренхіматозних органів кожної миші підраховували кількість метастазів та об'єм метастазів з подальшим розрахунком відсотку гальмування процесу метастазування та гальмування об'єму метастазів у порівнянні з контролем (неліковані тварини), вивчали гістологічні зміни, процеси проліферації та апоптозу в органах. Результати гістологічних досліджень підтвердили

виражений антиметастатичний ефект в паренхіматозних органах тварин, низьку токсичність засобу та активацію апоптозу клітин пухлин.

Наводимо конкретні приклади використання засобу "Нуклеосан".

Приклад 1

Засіб "Нуклеосан" отримують наступним чином: 0,2 М водний розчин кальцію альдонату та 0,2 М водний розчин етилендіамінодіантарної кислоти змішують в еквімолекулярних співвідношеннях.

При лікуванні тварин протягом 24 діб в дозі 400 мг/кг відсоток гальмування кількості метастазів становив 69,97%, а відсоток гальмування об'єму метастазів становив 97,92%.

Токсична дія засобу, судячи по його впливу на структуру нирок та печінки була відсутня. Показник активності апоптозу в клітинах пухлин досягав 12%.

Приклад 2

Засіб "Нуклеосан" отримують таким же чином, як і в першому прикладі.

При лікуванні тварин протягом 24 діб в дозі 3000 мг/кг відсоток гальмування кількості метастазів становив 64,98%, а відсоток гальмування об'єму метастазів становив 99,9%.

Токсична дія засобу, судячи по його впливу на структуру нирок та печінки була відсутня. Показник активності апоптозу в клітинах пухлин досягав 14%.

Приклад 3

Після закінчення лікування 5 тварин першої групи спостерігали протягом 60 діб, потім проводили забиття тварин шляхом цервікальної дислокації, досліджували відсоток гальмування кількості метастазів, який становив 100%, і відсоток гальмування об'єму метастазів, який становив 100%. Всі тварини залишалися живими, тобто їхня виживаємість складала 100%. Гістологічним дослідженням встановлена відсутність клітин пухлин.

Приклад 4

Після закінчення лікування 5 тварин другої групи спостерігали протягом 60 діб, потім проводили забиття тварин шляхом цервікальної дислокації, досліджували відсоток гальмування кількості метастазів, який становив 100%, і відсоток гальмування об'єму метастазів, який становив 100%. Всі тварини залишалися живими, тобто їхня виживаємість складала 100%. Гістологічним дослідженням встановлена відсутність клітин пухлин.

Приклад 5

Всіх нелікованих мишей (третья група) забивали через 24 доби експерименту. Підраховували кількість та обсяг метастазів у легені. Встановлено прогресування кількості та обсягу метастазів, гальмування метастазування не спостерігалось. Показник активності апоптозу дорівнював 0,12%.

Таким чином, використання розробленого протипухлинного засобу "Нуклеосан" для ад'ювантної терапії злоякісних пухлин в дозі 400,0-3000,0 мг/кг маси не виявляло токсичної дії на внутрішні паренхіматозні органи. Був досягнутий високий антиметастатичний ефект, особливо показник

гальмування об'єму метастазів, який дорівнював 97,92% - 100%. Спостерігалось 100% виживання тварин після курсу лікування. Показник активності апоптозу в групі лікованих тварин в 100 разів перевищував аналогічний у групі нелікованих. Виразене покращання антиметастатичної активності та

виживаємості експериментальних тварин в значній мірі пов'язано з використанням у протипухлинному засобі комплексону етилендіамінодіянтранної кислоти, продукти метаболізму якого (амінокислоти) асимілюються організмом.