



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **92302** (13) **C2**
(51) **МПК (2009)**
A61K 31/185
A61K 31/191 (2006.01)
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ ДЛЯ ТЕРАПІЇ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ТА СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН З ЙОГО ВИКОРИСТАННЯМ

1

(21) a201007934

(22) 24.06.2010

(24) 11.10.2010

(46) 11.10.2010, Бюл.№ 19, 2010 р.

(72) СУСЛОВ ЄВГЕНІЙ ІВАНОВИЧ

(73) СУСЛОВ ЄВГЕНІЙ ІВАНОВИЧ

(56) UA 77371 C2, 15.11.2006

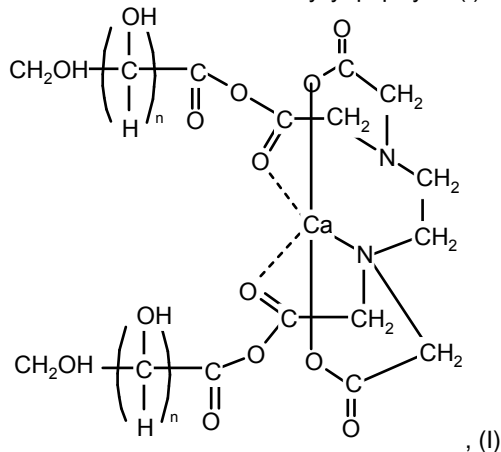
US 6 335 023 B1, 01.01.2002

US 5 037 973 A, 06.08.1991

WO 2004/093722 A3, 04.11.2004

JP 2006070028 A, 16.03.2006

(57) 1. Лікарський засіб для терапії злоякісних пухлин, що містить антипроліферативну речовину у вигляді комплексної солі Са-альдонової та амінокарбонової кислоти, який **відрізняється** тим, що як комплексну сіль Са-альдонової та амінокарбонової кислоти містить сполуку формули (I)

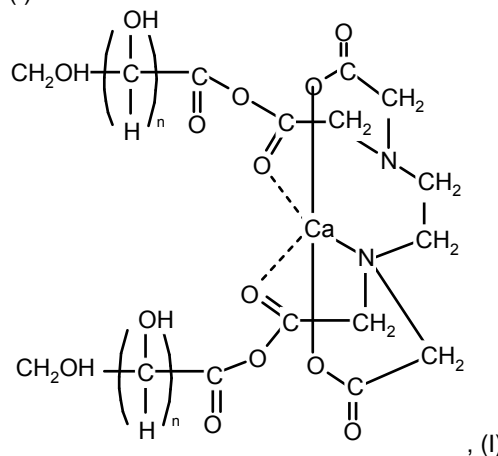


2

де n = 4.

2. Засіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що приготований у вигляді 15 % водного розчину комплексної солі Са-альдонової та амінокарбонової кислоти формули (I).

3. Спосіб лікування злоякісних пухлин, що включає введення пацієнту комплексної солі Са-альдонової та амінокарбонової кислоти, який **відрізняється** тим, що як комплексну сіль Са-альдонової та амінокарбонової кислоти вводять сполуку формули (I):



де n = 4,

у вигляді 15 % водного розчину у дозі 200-300 мг/кг ваги тіла пацієнта.

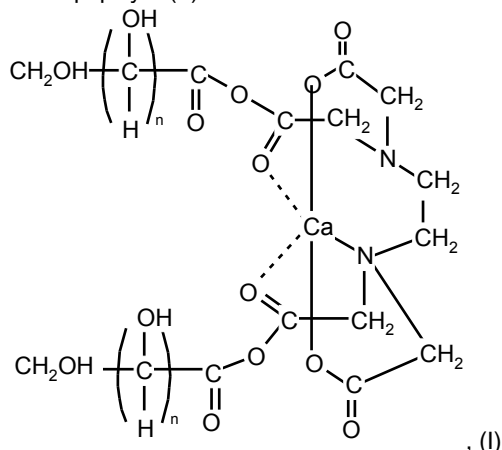
(13) **C2**

(11) **92302**

(19) **UA**

Винахід відноситься до медицини, а саме до онкотерапії, в якості лікарської форми використовується водний розчин комплексної солі Са-альдонової та аміно карбонової кислот.

Його формула(1):



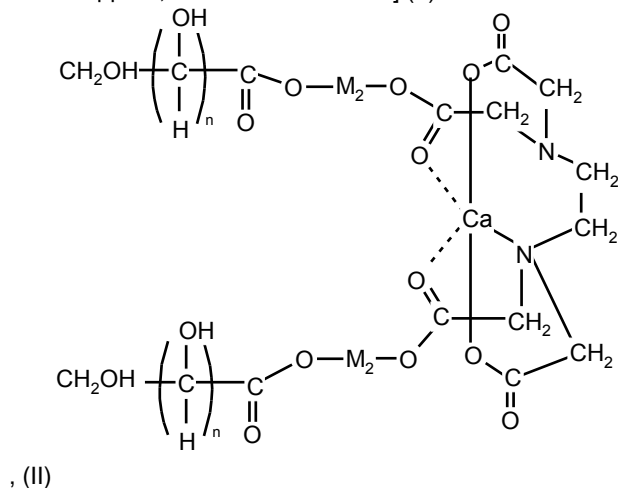
$n = 4$

Хімічна формула: $C_{22}H_{34}N_2CaO_{20}$

Серед відомих протипухлинних засобів для лікування злоякісних пухлин у людей, в патентній літературі знайдено комплексно-хімічне поєднання - оксалиплатина [“Лекарственный препарат оксалиплатина в виде стабильного водного раствора, способ его получения и применение”, патент RU № 2207857]. Однак цьому засобу притаманні наступні недоліки:

- висока токсичність;
- наявність чужорідного металу (платини) у складі препарату;

Найбільш близьким до рішення, що заявляється, є [“СІЛЬ М1М2 АЛЬДОНОВОЇ ТА АМІНОКАРБОНОВОЇ КИСЛОТ, ЩО ВІЯВЛЯЄ ПРОТИПУХЛИННУ ДІЮ», патент UA № 77371] (2)



$n = 4$.

M1 M2 - лужно-земельні метали.

Хімічна формула $C_{22}H_{34}N_2[M_1][M_2]_2O_{20}$

Однак цьому засобу (формула 2) притаманні наступні недоліки:

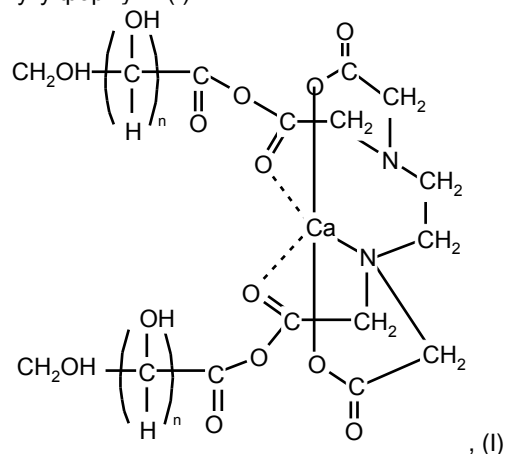
- Складність синтезу, який потребує для його здійснення лужно-земельного металу
- неможливість досягти оптимальної протипухлинної дії.

- Необґрунтована насиченість організму лужноземельним металом.

При ретельному аналізі результатів хімічної речовини згідно прототипу, було встановлено, що лужноземельні метали були використані для синтезу в зв'язку з даними літератури про те, що вони у невеликій кількості, до одної третини відносно кальцію стимулюють протипроліферативну дію кальцію [Чекман І.С. Магній в медицині. - Кишинев, 1992. - 101 с.]. Однак, у результаті остаточного синтезу отримали хімічну речовину із значно більшим вмістом лужноземельного металу, а саме магнію (протокол №25 від 2006 р. аналітичної лабораторії Київського національного університету), що гальмує антипроліферативну дію кальцію (формула 2). Внаслідок цього при синтезі нового препарату лужно-земельний метал магній був вилучений.

Задачею цього винаходу було поставлено створення покращеного засобу для протипухлинного впливу на злоякісні клітини, який би усував вищевказані недоліки засобу-прототипу, та забезпечував би високу ефективність профілактики та лікування онкологічних хвороб на всіх стадіях ракової прогресії.

Поставлена задача вирішується запропонованим лікарським засобом для терапії злоякісних пухлин, що включає антипроліферативну речовину у вигляді комплексної солі Са-альдонової та амінокарбонової кислоти, який як комплексну сіль Са-альдонової та амінокарбонової кислоти містить сполуку формули (I)



де $n = 4$.

Запропонований лікарський засіб виконаний у вигляді 15% водного розчину комплексної солі Са-альдонової та амінокарбонової кислоти формули (I).

Поставлена задача вирішується також запропонованим способом лікування злоякісних пухлин, що включає введення пацієнту комплексної солі Са-альдонової та амінокарбонової кислоти, в якому як комплексну сіль Са-альдонової та амінокарбонової кислоти вводять зазначену сполуку формули (I) у вигляді 15% водного розчину у дозі 200-300мг/кг ваги тіла пацієнта.

Передумовою для його створення стала концепція Суслова Є.І про металобілковозалежну регуляцію детермінації диференціювання клітин, згідно з якою ракова прогресія під впливом канце-

рогенів пов'язана із дестабілізацією молекулярних зв'язків в ДНК та між ДНК та кальцій-зв'язуючими внутрішньоядерними протеїнами, експресією онкогенів, втратою кальцію в ДНП. Для підтримки молекулярної архітектури та стабільності біохімічних мембран особливо важливою є здібність іонів Са наблизити молекули за рахунок сил електростатичного тяжіння.

Для одержання засобу за формулою 1, яка в силу присутності властивостей його окремих складових може бути засобом для лікування злоякісних пухлин, здійснюють синтез комплексної сполуки.

Приклад синтезу комплексної сполуки Солі Са-альдонової та амінокарбонової кислоти. 0,026 моля альдоната та 0,013 моля амінокарбонату змішують при нагріванні, рН суміші доводять до 6,5.

Після висушування сполуки що виділена має наступний кількісний склад (% мас.):

C:H:N:Ca=27:9:12:18.

Індивідуальність нової речовини підтверджена спектроскопічно методами рентгенівського фазового аналізу та інфрачервоної спектроскопії. Склад речовини доведено методом елементного аналізу на основні компоненти.

Розроблена сполука (Геносан) формули (I) є засновником нового класу комплексних препаратів з альдоновою та амінокарбоновою кислотами. Вона є комплексом (лігандом), сіллю Са-альдонової та амінокарбонової кислот. Геносан виявився малотоксичним на здорові клітини. Ними була визначена його молекулярна формула. Встановлено, що це зовсім нова сполука, яка забезпечує протипухлинний (антипроліферативний) ефект на злоякісні клітини в експерименті на культурі клітин недрібноклітинного раку легень шляхом блокування процесу їх проліферації.

Сполука Геносан за фізичними властивостями є білою дрібнокристалічною речовиною у вигляді порошку солоного смаку, без запаху, добре розчиняється у воді при нагріванні, при довгостроковому збереженні не змінює колір. Складові частини геносану є ключовими метаболітами окислювально-відновлювальних внутрішньоклітинних ферментативних реакцій. Так, компонент альдози - альдонова кислота приймає участь у циклі Кребса, є метаболітом багатьох біохімічних реакцій у ядрі та в цитоплазмі клітин; Ca^{+2} входять до структури білків ДНП, зв'язують нуклеотиди ДНК. Здорові клітини не потребують молекулярної корекції. Ракові клітини мають дефіцит Ca^{+2} , обумовлений дисбалансом геному, спрямованого на синтез атипичних злоякісних клітин. Розроблений протипухлинний засіб - геносан є донатором Ca^{+2} в ДНП пухлинних клітин шляхом їхніх носіїв - комплексів, а саме залишків альдонової та амінокарбонової кислот, які сприяють внутрішньоядерній інкорпорації Ca^{+2} , безпосередньо впливаючи на процес гальмування клітинного циклу пухлинних клітин та їхньої проліферації з перепрофілюванням проліферації на апоптоз.

На 100 нелінійних мишах досліджені параметри гострої токсичності геносану. Засіб вводили внутрішньочеревинно в дозі від 1000,0 мг/кг до 10000,0 мг/кг маси тварин. Встановлено, що сере-

дньосмертельна доза геносану (LD-50) дорівнювала 8000 мг/кг.

Вивчення протипухлинної активності геносану проводили на культурі пухлинних клітин А-549, отриманих з недрібноклітинного раку легень людини. Для порівняння використовували 10% розчин препарату-прототипу протипухлинного засобу [за патентом UA № 77371]. Одночасно в одну частину культури пухлинних клітин вносили засіб геносан, в другу - засіб-прототип в розведенні від 10^{-1} до 10^{-4} . Результат реєстрували через 24, 48 і 72 години.

Приклад 1

Засіб-прототип вводили в культуру пухлинних клітин недрібноклітинного раку в розведенні від 10^{-1} до 10^{-4} , і на 24, 48 та 72 години, урахували результат дослідження. Максимальне блокування проліферації ракових клітин спостерігалось на 48 годину і досягало 90,0% від загалу клітин культури.

Приклад 2

Запропонований протипухлинний засіб геносан, вводили у культуру пухлинних клітин недрібноклітинного раку легень в розведенні від 10^{-1} до 10^{-4} . Результат реєстрували через 24, 48 і 72 години. Максимальне блокування проліферації ракових клітин геносаном спостерігалось на 48 годину і досягало до 100,0%

Виражений протипухлинний ефект геносану був підтверджений також шляхом визначенням Z-потенціалу культури пухлинних клітин методом електрофорезу в поліакриламідному гелі. Метод здійснювали при застосуванні дози 200 мг/кг. Під впливом засобу в пухлинних клітинах А-549 визначено зменшення від'ємного та збільшення позитивного потенціалу відносно контролю.

Протипухлинна дія розробленого засобу була перевірена в експерименті на 100 мишах лінії С57BL з моделями карциноми Л'юїс і меланоми В-16, які метастазують в легень. 20 тварин були контрольними (не лікованими). 80 мишей були проліковані розробленим засобом прототипу і Геносан в дозах 200 мг/кг маси тварини, який вводився внутрішньочеревно.

Приклад 3. При лікуванні мишей препаратом згідно прототипу у дозі 200 мг/кг ваги тіла, який вводився 10 разів на протязі 21 доби з перервою на добу після кожного введення засобу, спостерігалось зменшення розмірів первинної пухлини в середньому на 64% в порівнянні з контролем - нелікованими мишами.

Приклад 4. При лікуванні мишей геносаном в дозі 200 мг/кг, який вводився 10 разів на протязі 21 доби з перервою на одну добу після кожного введення засобу. Спостерігалось зменшення первинної пухлини в середньому на 95% в порівнянні з контролем - нелікованими мишами.

Приклад 5. При лікуванні мишей препаратом згідно з прототипом у дозі 200 мг/кг ваги тіла, який вводили 10 разів протягом 21 доби з перервою на добу після кожного введення засобу. Апоптичний індекс дорівнював 16,5%.

Приклад 6. При лікуванні мишей препаратом Геносан у дозі 200 мг/кг ваги тіла, який вводили 10 разів протягом 21 доби з перервою на добу після кожного введення засобу. Апоптичний індекс дорівнював 35,5%.

При аналітичному порівнянні антипроліферативних (протипухлинних) можливостей запропонованого та засобу-прототипу встановлено: у геносану антипроліферативна дія відносно ракових клітин на 10,0% ефективніша. Дія нового запропонованого препарату ще більш значна на зменшення розмірів первинної пухлини і досягає 31,1% приросту протипухлинного ефекту відносно прототипу. При цьому активність апоптозу зростала в два рази.

Крім того запропонований новий засіб був випробуваний на хворих волонтерах

Приклад 7 Хворий волонтер Д-й 70 років. Діагноз не дрібноклітинний рак легенів, звернувся для лікування до Національного Інституту раку. При пункційній біопсії був отриманий діагноз - аденокарцинома легенів та бронху, в зв'язку зі значним розпадом легенів та кровотечею, хворий був визнаний неоперабельним і в лікуванні йому було відмовлено. За його згодою, йому був проведений курс лікування 15% розчином препарату геносан в дозі 300мг/кг. Наступне обстеження (комп'ютерна томограма) показала зникнення пухлини.

Приклад 8

Хворий волонтер М-а 60 років. Діагноз аденокарцинома товстої кишки з метастазами в печінку (6 штук за даними КТ). Пройшов 3 курси лікування препаратом 15% розчину препарату геносан в дозі 200мг/кг. По закінченню курсів лікування, на комп'ютерній томограмі печінки, 5 метастазів не виявлено, один зарубцювався. Спостерігався протягом 5 років, рецидивів не виявлено, працездатний.

Приклад 9

Хворий волонтер Ц-ч 59 років. Діагноз рак прямої кишки з метастазами у печінку (7 штук) та з великим метастазом у сальник. Хворому, в одному з державних закладів, була проведена хімотерапія, в тому числі оксоплатиною, але позитивних результатів не було досягнуто. Після першого курсу лікування 15% розчином препарату геносан в дозі 250мг/кг, було проведене обстеження УЗД та КТ які виявили зникнення 4-ох метастазів у печінці та великого метастазу у сальнику. Разом з тим, зменшилось кровопостачання метастазів, що залишилися. Показник СОЕ зменшився із 80мм/г до 9мм/г.

Приклад 10

Хвора волонтер Г-ц 80 років. Діагноз рак легенів з метастазами у хребет, ребра, печінку. Гістологічно була встановлена аденокарцинома леге-

нів. Тривалий час безрезультатно лікувалась у обласному онкодиспансері як вітчизняними, так і закордонними сильнодіючими хіміопрепаратами. Прийняла 3 курси препарату 15% розчину геносан в дозі 250мг/кг. Після проведення 3-х курсів лікування, на рентгенограмах легень пухлина зникла, виражене рубцювання. Рубцювання метастазу у хребті призвело до відновлення опорно-рушійної функції.

Після лікування, хвора протягом п'ятирічного спостереження залишалась працездатною.

Приклад 11

Хвора волонтер Т-о 40 років. Діагноз рак молочної залози, якій підтверджений при пункційній біопсії, після операції виникли метастази, які не піддавалися лікуванню сучасними хіміопрепаратами. Пройшла 5 курсів лікування 15% розчину препарату геносан у дозі 200мг/кг. Після лікування, контрольне обстеження метастазів не виявило.

Таким чином, при аналітичному порівнянні антипроліферативних (протипухлинних) можливостей запропонованого засобу-прототипу встановлено: у геносану антипроліферативна дія відносно ракових клітин на 10,0% ефективніша, ще більш значна дія геносану на первинну пухлину в порівнянні з прототипом, розміри якої на 31,0% ефективніше зменшуються, що пов'язано із зростанням активності апоптозу при дії Геносана у два рази. Разом з цим, спрощена процедура синтезу препарату, що в свою чергу зменшує собівартість готового препарату геносан. Це свідчить про велику перспективу розробленого протипухлинного засобу для лікування недрібноклітинного раку легень людини, для терапії якого до теперішнього часу немає надійних хімотерапевтичних препаратів. Застосування 15% розчину препарату геносан у дозі 200-300мг/кг, у порівнянні із існуючими вітчизняними та закордонними хіміопрепаратами, більш ефективно припиняла ріст злоякісних пухлин (легенів, молочної залози, печінки та кишківника), крім того препарат геносан майже при всіх різновидах раку призводить до апоптозу ракових клітин у метастазах (особливо на метастази у кістках). Разом з тим препарат геносан не є токсичним у порівнянні із існуючими вітчизняними та закордонними хіміопрепаратами. Механізм дії препарату полягає не в некротичному знищенні ракової клітини, а ліквідації її шляхом апоптозу (фізіологічної смерті) в наслідок дії на її генетичний апарат, не пошкоджуючи при цьому здорові клітини.