



УКРАЇНА

(19) UA (11) 89044 (13) C2  
(51) МПК (2009)  
A61K 31/14  
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

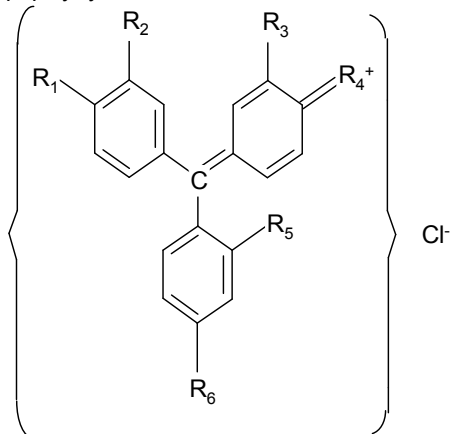
ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

### (54) ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ

1

- (21) а200613028  
(22) 13.07.2004  
(24) 25.12.2009  
(86) PCT/RU2004/000272, 13.07.2004  
(31) 2004114297  
(32) 12.05.2004  
(33) RU  
(46) 25.12.2009, Бюл.№ 24, 2009 р.  
(72) КУТУШОВ МІХАІЛ ВЛАДІМІРОВІЧ, RU  
(73) ГЕРМАНОВ ЄВГЕНІЙ ПАВЛОВІЧ, RU, КУТУШОВ МІХАІЛ ВЛАДІМІРОВІЧ, RU  
(56) Вредные вещества в промышленности: Справочник-4-е изд.-Л.: ГНТИ хим. лит-ры, 1963. - ч.1 Органические вещества. -С 638-639  
(57) 1. Лікарський засіб, що має протипухлинну та імунomodulatory дію, який відрізняється тим, що він містить фармакологічно прийнятні похідні три-п-амінотрифенілхлорметану, що мають структурну формулу:



де, наприклад, позначене  $R_1 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R_5 = \text{H}$ , а  $R_6 = \text{H}$  або  $\text{NH}_2$ , або  $\text{NHCH}_3$ , або  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ .

2. Лікарський засіб за п. 1, який відрізняється тим, що він містить три-п-амінотрифенілхлорметан у вигляді його тетраметильного похідного, у структурній формулі якого  $R_6 = \text{NH}_2$ , а позначення для  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним.  
3. Лікарський засіб за п. 1, який відрізняється тим, що він містить три-п-амінотрифенілхлорметан у вигляді його пентаметильного похідного, у струк-

2

турній формулі якого  $R_6 = \text{NHCH}_3$ , а позначення для  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним.

4. Лікарський засіб за п. 1, який відрізняється тим, що він містить три-п-амінотрифенілхлорметан у вигляді його гексаметильного похідного, у структурній формулі якого  $R_6 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ , а позначення для  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним.

5. Лікарський засіб за будь-яким з пп. 1-3, який відрізняється тим, що він містить три-п-амінотрифенілхлорметан у вигляді суміші його тетраметильного і пентаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: тетраметильне похідне - (2-98); пентаметильне похідне - інше.

6. Лікарський засіб за будь-яким з пп. 1 і 2, 3, який відрізняється тим, що він містить три-п-амінотрифенілхлорметан у вигляді суміші його тетраметильного і гексаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: тетраметильне похідне - (2-98); гексаметильне похідне - інше.

7. Лікарський засіб за будь-яким з пп. 1 і 3, 4, який відрізняється тим, що він містить три-п-амінотрифенілхлорметан у вигляді суміші його пентаметильного і гексаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: пентаметильне похідне - (2-98); гексаметильне похідне - інше.

8. Лікарський засіб за будь-яким з пп. 1-4, який відрізняється тим, що він містить три-п-амінотрифенілхлорметан у вигляді суміші його тетраметильного, пентаметильного і гексаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: тетраметильне похідне - (2-98); пентаметильне похідне - (2-98); гексаметильне похідне - інше.

9. Лікарський засіб, що має протипухлинну та імунomodulatory дію, який відрізняється тим, що він містить суміш декстрини і фармакологічно прийнятних похідних три-п-амінотрифенілхлорметану у вигляді, наприклад, або тетраметильного, або пентаметильного, або гексаметильного похідних, або суміші тетраметильного і пентаметильного похідних, або суміші тетраметильного і гексаметильного похідних, або суміші пентаметильного і гексаметильного похідних, або суміші тетраметильного, пентаметильного і гексаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: відповідне похідне або відповідна суміш відповідних похідних три-п-амінотрифенілхлорметану - (10-95); декстрин - інше.

(13) C2

(11) 89044

(19) UA

10. Лікарський засіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що суміш тетраметильного і пентаметильного похідних три-п-амінотрифенілхлорметану вибрана при співвідношенні складових, об. %: тетраметильне похідне - (2-98); пентаметильне похідне - інше.

11. Лікарський засіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що суміш тетраметильного і гексаметильного похідних три-п-амінотрифенілхлорметану вибрана при співвідношенні складових, об. %: тетраметильне похідне - (2-98); гексаметильне похідне - інше.

12. Лікарський засіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що суміш пентаметильного і гексаметильного похідних три-п-амінотрифенілхлорметану вибрана при співвідношенні складових, об. %: пентаметильне похідне - (2-98); гексаметильне похідне - інше.

13. Лікарський засіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що суміш тетраметильного, пентаметильного і гексаметильного похідних три-п-амінотрифенілхлорметану вибрана при співвідношенні складових, об. %: тетраметильне похідне - (2- 98); пентаметильне похідне - (2-98); гексаметильне похідне - інше.

Передбачуваний винахід відноситься до медицини, а саме, до лікарських протипухлинних препаратів і, в тому числі, до препаратів, що впливають на імунну систему.

Відомий лікарський препарат «Адріаміцин», який представляє собою антибіотик групи антрациклінів і має виражену протипухлинну активність (див., наприклад, М.Д. Машковский. Лекарственные средства. - М.: Медицина, 1985. - Т.2. - С. 460-461).

Препарат застосовують у вигляді розчину гідрохлориду строго внутрішньовенно, тому що при потраплянні розчину під шкіру можливий некроз тканин. Крім того, препарат володіє кардіотоксичною дією, може викликати біль в області серця, серцеву недостатність, зниження артеріального тиску.

Найбільш близьким аналогом-прототипом є лікарський препарат «Циклофосфан», що випускається у вигляді білого кристалічного порошку, розчинного у воді (1:50), легко розчинного в спирті, важко - в ізотонічному розчині натрію хлориду (див., наприклад, М.Д. Машковский. Лекарственные средства.- М.: Медицина, 1985. - Т.2. - С. 433-434).

Цей препарат володіє відносно широким протипухлинним спектром, а при цьому також є імуні-депресивним засобом, однак при його застосуванні можуть спостерігатися побічні явища, наприклад, запаморочення, нудота і блювота, час-то через якийсь час після початку застосування відзначається випадання волосся на голові.

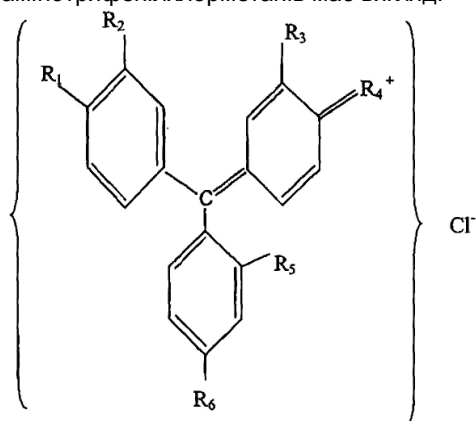
В основу винаходу «лікарський засіб» покладена задача надходження лікарського засобу, який схожий з препаратом-аналогом дії, але володіє широким спектром, без побічних явищ.

Відомий препарат, що відноситься до триамінотрифенілметанових барвників, що представляє собою солі з пофарбованими органічними катіонами (див., наприклад, Краткая химическая энциклопедия. - М.: Советская энциклопедия, 1967. - Т.5. - С. 252-253) метиловий фіолетовий барвник - суміш метильованих по азоті три-амінотрифенілхлорметанів (див., наприклад, А.Н. Несмеянов, Н.А. Несмеянов Начала органической химии. - М.: Химия, 1974. - Кн. 2. - С. 200), що включає тетра-, пента- і гексаметильні похідні

(див., например, StainsFile «Methyl Violet 2B, 6B, 10B

>><http://members.pgonline.com/bryand/StainsFile/dyes/42535.htm>).

Структурна формула три-п-амінотрифенілхлорметанів має вигляд:



де, наприклад, позначено  $R_1 \Rightarrow \dot{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R_2 \Rightarrow \text{H}$ ,  $R_3 \Rightarrow \text{H}$ .

$$R_4 \Rightarrow N(CH_3)_2, R_5 \Rightarrow H, \text{ а } R_6 \text{ або } NH_2, \text{ або } N(CH_3)_2, \text{ або } NHCH_3.$$

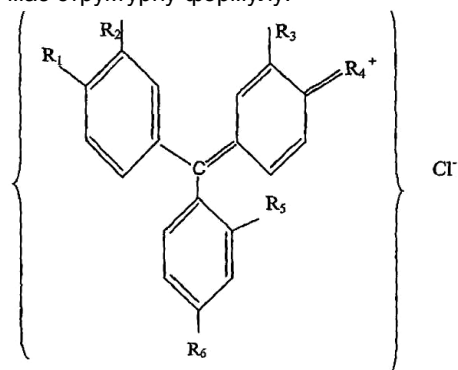
При цьому Methyl Violet 2B (тетраметил парарозаніліну хлорид) - тетраметильна похідна три-*n*-амінотрифенілхлорметану (у структурній формулі  $R_6 \Rightarrow NH_2$ , а позначення для  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним, хімічна формула -  $C_{23}H_{26}N_3Cl$ , мол. вага 379, 94) - розчинний у воді і спирті дрібнозернистий кристалічний бурий порошок із зеленуватим відтінком, Methyl Violet 6B (пентаметил парарозаніліну хлорид) - пентаметильна похідна три-*n*-амінотрифенілхлорметану (у структурній формулі  $R_6 \Rightarrow NHCH_3$ , а позначення для  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним, хімічна формула -  $C_{24}H_{28}N_3Cl$ , мол. вага 393, 97) - однорідний розчинний у воді і спирті дрібнозернистий кристалічний порошок із зеленувато-бронзовим відтінком - відомий також за назвою «Основний фіолетовий К, метилфіолет», а Methyl Violet 10B (гексаметил парарозаніліну хлорид) - гексаметильна похідна три-*n*-амінотрифенілхлорметану (у структурній формулі  $R_6 \Rightarrow N(CH_3)_2$ , а позначення для  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним,

хімічна формула -  $C_{25}H_{30}N_3Cl$ , мол. вага 407,99) - зелений кристалічний розчинний у воді і спирті порошок - відомий під назвами «Кристалічний фіолетовий 3» (див., наприклад, Вредные вещества в промышленности: Справочник. - 4-е изд. - Л.: ГНТИ хим. лит-ры, 1963. - Ч.1: Органические вещества. - С. 638-639; StainsFile «Methyl Violet 2B, 6B, 10B» <http://members.pgonline.com/~bryand/StainsFile/dyes/42535.htm>), а також «Основний фіолетовий 3» (див., наприклад, Вредные вещества в промышленности: Справочник. - 4-е изд. - Л.: ГНТИ хим. лит-ры, 1963. - Ч.1: Органические вещества. - С. 638-639; StainsFile «Methyl Violet 2B, 6B, 10B» <http://members.pgonline.com/~bryand/StainsFile/dyes/42535.htm>).

Відомі барвники суміш метилфіолету з фуксином за назвою «Далія фіолетова» - зелений кристалічний порошок, розчинний у воді і спирті, і суміш метилфіолету з рівною кількістю декстрину, названа «Генціана фіолетова», що представляє собою зелений блискучий розчинний у воді порошок (див., наприклад, Вредные вещества в промышленности: Справочник. - 4-е изд. - Л.: ГНТИ хим. лит-ры, 1963. - Ч.1: Органические вещества. - С.639). Основне застосування цих барвників у промисловості, наприклад, для фарбування тканин, однак відомо також використання Кристалфіолету (гексаметильний похідний три-п-амінотрифенілхлорметану) у гінекології і педіатрії для лікування кандидозів (див., наприклад, <http://www.oncology.com>).

Відомий декстрин, що представляє собою суміш полісахаридів і застосовується при виробленні тканин (див., наприклад, Н.Л. Глинка Общая химия. - М.:Химия, 1978. - С. 494).

Поставлена задача вирішується за рахунок лікарського засобу, що володіє імунотропними властивостями, який характеризується тим, що він містить фармакологічно прийнятні похідні три-п-амінотрифенілхлорметану, що має структурну формулу:



де, наприклад, позначене  $R_1=N(CH_3)_2$ ,  $R_2=H$ ,  $R_3=H$ ,  $R_4=N(CH_3)_2$ ,  $R_5=H$ , а  $R_6=$  або  $NH_2$ , або  $NHCH_3$ , або  $N(CH_3)_2$ .

При цьому лікарський засіб містить три-п-амінотрифенілхлорметан або у вигляді його тетраметильного похідного, у структурній формулі якого  $R_6=NH_2$ , або у вигляді його пентаметильного похідного, у структурній формулі якого

$R_6=NHCH_3$ , або у вигляді його гексаметильного похідного, у структурній формулі якого  $R_6=N(CH_3)_2$ , причому для згаданих похідні позначення для  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним.

Крім того, лікарський засіб містить три-п-амінотрифенілхлорметан або у вигляді суміші його тетраметильного і пентаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: тетраметильне похідне - (2,0-98,0); пентаметильне похідне - інше, або у вигляді суміші його тетраметильного і гексаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: тетраметильне похідне - (2,0-98,0); гексаметильне похідне - інше, або у вигляді суміші його пентаметильного і гексаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: пентаметильне похідне - (2,0-98,0); гексаметильне похідне - інше, або у вигляді суміші його тетраметильного, пентаметильного і гексаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: тетраметильне похідне - (1,5-97,0); пентаметильне похідне - (1,5-97,0); гексаметильне похідне - інше.

Поставлена задача вирішується за рахунок лікарського засобу, що володіє імунотропними властивостями, що характеризується тим, що він містить суміш декстрину і фармакологічно прийнятних похідних три-п-амінотрифенілхлорметану у вигляді, наприклад, або тетраметильного, або пентаметильного, або гексаметильного похідних, або суміші тетраметильного і пентаметильного похідних, або суміші тетраметильного і гексаметильного похідних, або суміші пентаметильного і гексаметильного похідних, або суміші тетраметильного, пентаметильного і гексаметильного похідних, при співвідношенні складових, об. %: відповідна похідна або відповідна суміш відповідних похідних три-п-амінотрифенілхлорметану - (10,0-95,5); декстрин - інше.

При цьому суміш тетраметильного і пентаметильного похідних три-п-амінотрифенілхлорметану обрана при співвідношенні складових (для цієї суміші), об. %: тетраметильне похідне - (2,0-98,0); пентаметильне похідне - інше, суміш тетраметильного і гексаметильного похідних три-п-амінотрифенілхлорметану обрана при співвідношенні складових (для цієї суміші), об. %: тетраметильне похідне - (2,0-98,0); гексаметильне похідне - інше, суміш пентаметильного і гексаметильного похідних три-п-амінотрифенілхлорметану обрана при співвідношенні складових (для цієї суміші), об. %: пентаметильне похідне - (2,0-98,0); гексаметильне похідне - інше, а суміш тетраметильного, пентаметильного і гексаметильного похідних три-п-амінотрифенілхлорметану обрана при співвідношенні складових (для цієї суміші), об. %: тетраметильне похідне - (1,5-97,0); пентаметильне похідне - (1,5-97,0); гексаметильне похідне - інше.

Лікарський засіб, що володіє імунотропними властивостями, містить тетраметильну, або пентаметильну, або гексаметильну фармакологічно прийнятні похідні три-п-амінотрифенілхлорметану, або їхньої суміші, або ці похідні в суміші з декстрином, або суміші цих

похідних три-*n*-аміотрифенілхлорметану з декстрином.

При цьому тетраметильна похідна три-*n*-аміотрифенілхлорметану - Methyl Violet 2B (тетраметил парарозаніліну хлорид, у структурній формулі  $R_6 \Rightarrow NH_2$ , а позначення для  $R_1, R_2, R_3, R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним, хімічна формула -  $C_{23}H_{26}N_3Cl$ , мол. вага 379,94) - розчинний у воді і спирті дрібнозернистий кристалічний бурий порошок із зеленуватим відтінком, пентаметильна похідна три-*n*-аміотрифенілхлорметану - Methyl Violet 6B (пентаметил парарозаніліну хлорид, у структурній формулі  $R_6 \Rightarrow NHCH_3$ , а позначення для  $R_1, R_2, R_3, R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним, хімічна формула -  $C_{24}H_{28}N_3Cl$ , мол. вага 393, 97) - однорідний розчинний у воді і спирті дрібнозернистий кристалічний порошок із зеленувато-бронзовим відтінком, а гексаметильна похідна три-*n*-аміотрифенілхлорметану - Methyl Violet 10B (гексаметил парарозаніліну хлорид, у структурній формулі  $R_6 \Rightarrow N(CH_3)_2$ , а позначення для  $R_1, R_2, R_3, R_4$  і  $R_5$  відповідають вищевказаним, хімічна формула -  $C_{25}H_{30}N_3Cl$ , мол. вага 407, 99) - зелений кристалічний розчинний у воді і спирті порошок.

Суміші похідних три-*n*-аміотрифенілхлорметану у вищевказаних співвідношеннях, а також суміші похідних три-*n*-аміотрифенілхлорметану з декстрином у вищевказаних співвідношеннях являють собою зеленуватий розчинний у воді порошок.

Похідні три-*n*-аміотрифенілхлорметану у вигляді їхньої суміші з наступним виділенням тетраметильних, пентаметильних і гексаметильних похідних одержують метильованням парафуксину йодистим метилом (див., наприклад, А.Н. Несмеянов, Н.А. Несмеянов Начала органической химии. - М.: Химия, 1974. - Кн. 2. - С. 200), причому пентаметильну похідну (основний фіолетовий К) можна одержати також шляхом окислювання диметиланіліну в присутності солей міді (див., наприклад, Вредные вещества в промышленности: Справочник. - 4-е изд. - Л.: ГНТИ хим. лит-ры, 1963. - 4.1. - С.639), а гексаметильну похідну (кристалічний фіолетовий) у чистому вигляді одержують конденсацією ди-(*n*-диметилоаміно)-бензофенону (кетону Михлера) з диметиланіліном і наступним підкисленням (див., наприклад, А.Н. Несмеянов, Н.А. Несмеянов Начала органической химии. - М.: Химия, 1974. - Кн. 2. - С.200).

Цільовий продукт у вигляді придатного для використання лікарського засобу одержують за рахунок проведення відповідного очищення отриманих складів шляхом, наприклад, перекристалізації, а також за допомогою адсорбційного хроматографування шляхом пропущення у відповідному хроматографічному стовпчику водних розчинів цих солей через шар сорбенту, наприклад, через або целюлози для хроматографії, або бентонітових глин.

Декстрин одержують шляхом нагрівання сухого крохмалю до (200-250)°С (див., наприклад, Н.Л. Глинка Общая химия. - М.:Химия, 1978. - С. 494).

Необхідні суміші одержують шляхом вибору відповідних складових у заданих пропорціях.

Лікарські засоби, що містять фармакологічно прийнятні похідні три-*n*-аміотрифенілхлорметану, а також суміш декстрину і цих похідних, чинять протипухлинну дію, що супроводжується, наприклад, встановленим і названим автором дисиметруючим терапевтичним ефектом, що виявляється в розходженні температури, вимірюваної в різних точках тіла, наприклад, на (2-3)°С через (0,5-2) години після прийому даного лікарського засобу і тривалістю (3-4) години (див., наприклад, М.В. Кутушов Рак. Излечение возможно. - СПб.: Нева, 2003), а також володіють анаболічною активністю, стимулюють клітинні і гуморальні фактори захисту організму.

Механізм дії лікарських засобів, що містять фармакологічно прийнятні похідні три-*n*-аміотрифенілхлорметану заснована на здатності їхніх іонів шляхом взаємодії з фосфоліпідами клітинних мембран порушувати рівновагу трансмембранного іонного потенціалу, що призводить до загибелі клітин. Проведені автором дослідження показали також, що лікарський засіб є інгібітором ферментів мітохондрій злоякісних клітин і викликає загибель мітохондрій ракових клітин, наприклад, за рахунок пригнічення їх NADPH-цитохром е-редуктазної активності, що веде до блокування енергії (див., наприклад, Shumyantseva V.V., Uvarov V.Yu., Byakova O.E., Archakov, A.I. Biochem. Molec. Biol. Intern. - 1996. - №38. - P.829-838). При цьому було встановлено, що ефективність дії лікарського засобу тим вище, чим більше зрушення його спектра поглинання убик УФ-діапазону. Крім того, виявилось, що включення у відповідний препарат декстрину істотно знижує токсичність відповідного лікарського засобу і, відповідно, розширює діапазон дозування його прийому.

Це підтверджено лабораторними дослідженнями, а також обстеженнями пацієнтів шляхом проведення аналізу крові з метою перевірки імунологічних показників їх (пацієнтів) лейкоцитарної і лімфоцитарної систем.

Виконане у вигляді відповідної або технічної солі, або хімічно чистої, або особливої чистоти, або медикаментозної хімічно чистої, або медикаментозної особливої чистоти лікарський засіб відповідно до фармакопейних вимог до лікарських засобів (див., наприклад, Федеральний закон РФ від 22.06.98р. №86-ФЗ «О лекарственных средствах», а також Галузевий стандарт ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения», опублікований в «Российской газете» від 28.11.2001 року) може бути введено пацієнтові з урахуванням ступеня очищення препарату внутрішньовенно в ізотонічному розчині натрію хлориду, перорально в капсулах, а також застосовуватися в мазевих складах, у вигляді лікарських клізм або у вигляді відповідних свічок, причому його використання в зазначених випадках не викликає алергічних реакцій і інших побічних явищ, а ефективність (при лікуванні відповідних захворювань) у деяких випадках вище, ніж, наприклад, у препараті, обраного як прототип.

Результати досліджень механізму дії запропонованого лікарського засобу приведені в прикла-

дах 1-3, а можливість його застосування для лікування підтверджується прикладами 4-10.

#### Приклад 1

У пробірки (14 пробірок по 10мол кожна) першої групи з культурою меланоми людини А 375 (human malignant melanoma) у буферному розчині введено лікарський засіб у розведенні  $10^{-7}$  ммоль/л відповідно у вигляді Methyl Violet 2B (тетраметильна похідна три-п-амінотрифенілхлорметану), Methyl Violet 6B (пентаметильна похідна три-п-амінотрифенілхлорметану), Methyl Violet 10B (гексаметильна похідна три-п-амінотрифенілхлорметану), сумішей (у рівному співвідношенні складових) Methyl Violet 2B і Methyl Violet 6B, Methyl Violet 2B і Methyl Violet 10B, Methyl Violet 6B і Methyl Violet 10B, Methyl Violet 2B, Methyl Violet 6B і Methyl Violet 10B, сумішей декстрини і цих солей, сумішей декстрини і зазначених сумішей цих солей (у співвідношенні складових, об. %: декстрин - 50, що відповідає сіль або відповідно суміш (у вищевказаному співвідношенні) солей - інше). Це ж продубльовано (також 14 пробірок по 10мол кожна) для лікарського засобу в розведенні  $10^{-9}$  ммоль/л.

У пробірки другої групи з поміщеними в них фібробластами HFF (human foreskin fibroblast) введено лікарський засіб у тих же варіантах і в такому ж розведенні.

Крім того, була сформована третя (контрольна) група пробірок (6 пробірок) з тим же пулом ракових клітин і з фібробластами, у які введені в такому ж розведенні відповідно препарати адриаміцин і циклофосфан, а також відповідні пробірки, у які введено фізіологічний розчин.

Після термостатування вищеписаних пробірок протягом тижня при температурі 37°C (у темряві) проведений аналіз вмісту цих пробірок.

Розгляд отриманих результатів показав:

У дослідній групі з лікарським засобом у пробірках з розведенням  $10^{-7}$  ммоль/л наявність лікарського засобу пригнічує проліферацію клітин меланоми в порівнянні з результатом проліферації таких же клітин у пробірці з фізіологічним розчином на (86-93)%, а проліферацію фібробластів відповідно на (25-27)%, причому картина приблизно однакова для усіх варіантів використаного лікарського засобу.

При цьому в пробірках контрольної групи з препаратом адриаміцин відзначено зменшення проліферації клітин меланоми на 42%, із препаратом циклофосфан відповідно спостерігається зменшення проліферації клітин меланоми на 55%.

У дослідній групі з лікарським засобом у пробірках з розведенням  $10^{-9}$  ммоль/л наявність лікарського засобу пригнічує проліферацію клітин меланоми в порівнянні з результатом проліферації таких же клітин у пробірці з фізіологічним розчином на (75-90)%, а проліферацію фібробластів відповідно на (5-10)%, при цьому в пробірках контрольної групи з препаратом адриаміцин відзначено зменшення проліферації клітин меланоми на 30%, із препаратом циклофосфан відповідно спостерігається зменшення проліферації клітин меланоми на 35%.

Отримані дані свідчать про те, що запропонований лікарський засіб, далі при надзвичайно великих розведеннях, володіє вираженою протипухлинною дією і більш високою активністю, ніж відомі протипухлинні препарати, але при цьому характеризується слабким цитотоксичним ефектом до фібробластів.

#### Приклад 2

У пробірки (50 пробірок по 10мол) дослідної групи з «гладкими» мікросомами ракових клітин MCF-7 (аденокарцинома молочної залози) у буферному розчині введено лікарський засіб у розведенні  $10^{-5}$  ммоль/л відповідно у вигляді сумішей Methyl Violet 2B (тетраметильна похідна три-п-амінотрифенілхлорметану) і Methyl Violet 6B (пентаметильна похідна три-п-амінотрифенілхлорметану) у двох варіантах співвідношень складових, об. %: 1. Methyl Violet 2B - 98,0; Methyl Violet 6B - інше і 2. Methyl Violet 6B - 98,0; Methyl Violet 2B - інше; Methyl Violet 2B і Methyl Violet 10B (гексаметильна похідна три-п-амінотрифенілхлорметану) у двох варіантах співвідношень складових, об. %: 1. Methyl Violet 2B - 98, інше; Methyl Violet 6B і Methyl Violet 10B також у двох варіантах співвідношень складових, об. %: 1. Methyl Violet 6B - 98,0; Methyl Violet 10B - інше і 2. Methyl Violet 10B - 98,0; Methyl Violet 6B - інше, суміші Methyl Violet 2B, Methyl Violet 6B і Methyl Violet 10B в чотирьох варіантах складових, об. %: 1. Methyl Violet 2B - 2,0; Methyl Violet 6B - 50,0 і Methyl Violet 10B - інше; 2. Methyl Violet 2B - 50,0; Methyl Violet 6B - 2,0 і Methyl Violet 10B - інше; 3. Methyl Violet 6B - 50,0; Methyl Violet 10B - 2,0 і Methyl Violet 2B - інше; 4. Methyl Violet 2B - 20,0; Methyl Violet 6B - 25,0 і Methyl Violet 10B - інше; а також сумішей декстрини і цих солей, і зазначених сумішей цих солей (у варіантах вищевказаного співвідношення складових) у співвідношенні, об. %: декстрин - 10,0; 25,0; 75,0; 90,0; відповідна сіль або відповідно суміш солей - інше). Це ж продубльовано для лікарського засобу в розведенні  $10^{-9}$  ммоль/л.

У пробірки (10мол) другої групи з поміщеними в них мікросомами печінки щура введено лікарський засіб у тих же варіантах і в такому ж розведенні.

Крім того, була сформована третя (контрольна) група пробірок з мікросомами тих же пулів ракових клітин і печінки щура, у які введені в такому ж розведенні відповідно препарати адриаміцин і циклофосфан, а також відповідні пробірки, у які введений фізіологічний розчин.

У пробірках груп визначена концентрація цитохрому-С, що складає 50мкм для ракових мікросом, і 20мкм для мікросом з печінки щура.

Після термостатування вищеписаних пробірок протягом 20хв при температурі 25°C (у темряві) проведено аналіз вмісту пробірок.

Розгляд отриманих результатів показав:

У пробірках дослідної групи концентрація цитохрому-С для пробірок із введеним лікарським засобом у вигляді сумішей солей зазначена концентрація визначена в межах 60мкм, а для пробірок із введеним лікарським засобом у вигляді су-

мишей солей і декстрину зазначена концентрація визначена в межах 65мкм.

У пробірках з адриаміцином і циклофосфаном концентрація цитохрому-С відповідно 40-45мкм. У пробірці з фізіологічним розчином особливих змін концентрації цитохрому-С, не відзначено. На мікросоми печінки щура запропоновані препарати не зробили ніякого впливу, концентрація цитохрому-С у всіх пробірках залишалася в межах 19-20мкм.

Отримані результати дають підстави вважати, що запропонований лікарський засіб сприяє вивільненню з мембран мітохондрій ракових клітин «агресивного» білка цитохрому-С, що, запускаючи механізм руйнування ДНК каспазами, викликає апоптоз цих клітин (див., наприклад, Wilson B.E., Mochon E.A., Boxer L.M. Induction of bcl-2 expression by phosphorylated CREB proteins during B-cell activation and rescue from apoptosis. Mol.CeU.Biol. - 1996. -v.16 - P.5546-5556).

#### Приклад 3

На мишах породи В-57 проведена перевірка реакції організму тварини на введення лікарського засобу у вигляді солей Methyl Violet 2B, Methyl Violet 6B і Methyl Violet 10B, а також сумішей цих солей з декстрином у двох варіантах співвідношень відповідної солі і декстрину, об. %: 1. декстрин - 5,0; відповідна сіль інше і 2, декстрин - 95,0; відповідна сіль - інше.

Досвідна група включала 60 мишей і була розбита на 6 підгруп по 10 мишей у кожній, контрольна група містила 10 мишей, при цьому підгрупі дослідної групи і відповідно контрольна група ізольовані один від одного, а миші кожної підгрупи були пронумеровані відповідно від 1 до 10 шляхом нанесення відповідних номерів барвним складом, у даному випадку брильянтовою зеленню.

Дослідна група мишей протягом 10 днів одержувала лікарський засіб, відповідно, 1-а підгрупа у вигляді суміші Methyl Violet 2B з декстрином у співвідношенні складових, об. %: декстрин - 2,0; Methyl Violet 2B - інше, 2-а підгрупа у виді декстрин - 90,0; Methyl Violet 2B - інше, 3-я підгрупа у виді декстрин - 5,0; Methyl Violet 6B - інше, 4-а підгрупа у вигляді декстрин - 90,0; Methyl Violet 6B - інше, 5-а підгрупа у вигляді декстрин - 5,0; Methyl Violet 10B - інше, а 6-а підгрупа у вигляді декстрин - 90,0; Methyl Violet 10B - інше, причому в кожній підгрупі миші під номерами 1-8 одержували відповідний препарат у вигляді питва (у водному розчині), а миші під номерами 9-10 - у вигляді ін'єкцій в очевину. При цьому в кожній підгрупі миші під номерами 1-2 одержували відповідний препарат у разовій дозі 2мг, миші під номерами 3-4 одержували препарат у разовій дозі 5мг, миші під номерами 5-6 одержували препарат у разовій дозі 10мг, миші під номерами 7-8 одержували препарат у разовій дозі 20мг, а мишам під номерами 9-10 ін'єкції відповідного препарату проводили в разовій дозі 15мг на 1мл води для ін'єкцій.

Миші контрольної групи препарату не одержували.

Результати: Через тиждень після початку прийому лікарського засобу розходжень у поведженні тваринних парних підгруп дослідної групи і контрольної груп не спостерігається. Тварини під номе-

рами 5-6 непарних підгруп дослідної групи малорухомі, тварини під номерами 7-8 непарних підгруп дослідної групи загинули.

Миші з непарними номерами у всіх підгрупах забиті на 10 день, з парними номерами - на 21 день.

Сліди введення відповідного лікарського засобу виявлені в нирках мишей з номерами 3-6 для непарних підгруп дослідної групи, для мишей парних підгруп сліди введення лікарського препарату виявлені в мишей з номерами 5-8.

При гістології мінімальний вплив лікарського засобу виявлено при введенні суміші, що містила Methyl Violet 10B (умовна назва О.Ф.2), найбільше - для суміші, що містила Methyl Violet 2B.

Звідси з урахуванням вагових співвідношень можна припустити, що для організму людини є прийнятної дозування до 2,0мг разового прийому даного лікарського засобу. Однак більш точні дані можуть бути отримані тільки при проведенні відповідних досліджень.

#### Приклад 4

Мишам породи В-57 досвідченої і контрольної груп (по 60 тварин у кожній) щеплена меланома - 16.

У дослідній групі сформовано 6 підгруп, у контрольній групі - три підгрупи по 10 мишей у кожній підгрупі.

Миші кожної підгрупи дослідної групи у виді питва в разовій дозі по 5мг одержували лікарський засіб у вигляді водних розчинів Methyl Violet 2B, Methyl Violet 6B і Methyl Violet 10B, а також сумішей цих солей з декстрином у співвідношенні відповідної солі і декстрину, об. %: 25:75, відповідно.

Миші 1-ї і 2-ї підгруп контрольної групи у виді питва одержували водні розчини відповідно адриаміцину і циклофосфану в разових дозах по 5мг препарату, миші 3-ї підгрупи контрольної групи лікарських препаратів не одержували.

Результати: 3 60 мишей дослідної групи на 36 день експерименту вижили 39. При цьому 11 мишей (4 з 1-ї, по 3 з 2-ї і 3-ї підгруп і 1 з 4 підгрупи) померли на 19 день, 5 мишей (по 2 з 1 і 2-ї підгруп і 1 з 3-ї підгрупи) - на 23 день і 5 мишей (2 з 1-ї підгрупи і по 1 з 2, 4 і 5 підгруп) на 34 день після початку експерименту. Пухлини в 17 (1 з 1-ї, 3 з 2-ї, 1 з 3-ї, по 4 з 4-ї і 5-ї підгруп і 3 з 6-ї підгрупи) мишей, що вижили - розміром приблизно 0,2×0,2мм, в інших мишей пухлини візуально не визначалися. Миші, що вижили, були забиті на 36 день експерименту. При розкритті в 9 мишей (1 з 1-ї, 4 з 4-ї і по 2 з 5-ї і 6-ї підгруп) виявлені одиничні метастази в легенях, у 4 мишей з цих 9 (1 з 1-ї, 2 з 4-ї і 1 з 5-ї підгруп) так само метастази в печінці. В інші метастази не виявлені, внутрішні органи без видимих змін.

Миші 1-ї і 2-ї підгруп контрольної групи. До 36 дня від початку експерименту вижили 2 миші 1-ї і 5 мишей 2-ї підгруп. Пухлини в середньому 1,5×1,5см. При розтині відзначено ураження легень і печінки.

Миші 3-ї підгрупи контрольної групи померли усі на 10-12 - 20-25-й день. При огляді - пухлини, що кровоточать, на спині, у середньому 2,5×2,0см. На гістології тотальний лізис легень.

Висновки: Лікарський засіб володіє протипухлинною активністю, побічних дій не викликає.

Приклад 5

Собака, 3 роки, вага 16кг.

Діагноз: Неходжкінська лімфома.

Стан собаки важкий, задишка, кахексія. В області шиї пухлини – праворуч 7×5см, ліворуч 11×10см.

На рентгенограмі від 20.10.99р. - множинні пухлиноподібні в середостіння.

Лікування лікарським засобом розпочато 30.10.99р.

Внутрішньовенно крапельно введено 500мг Methyl Violet 2B на 500мол фізіологічного розчину. Через 3 дні внутрішньовенне введення суміші Methyl Violet 2B і Methyl Violet 6B (по 250мг кожний) на 500мол фізіологічного розчину, а також початий прийом (per os) по 2 рази на день з їжею в порошок суміш декстрини і Methyl Violet 2B, Methyl Violet 6B і Methyl Violet 10B (у разовій дозі 200мг по 50мг кожної складової). Через тиждень повторне в/в введення суміші Methyl Violet 2B і Methyl Violet 6B, прийом вищевказаної суміші (з декстрином) per os продовжений.

Через двох тижнів після початку лікування відзначено поліпшення загального стану, біохімічних і клінічних показників крові.

Через 3 тижні видимі пухлини зменшилися приблизно в 2,5 рази.

Процедури в/в введення суміші Methyl Violet 2B і Methyl Violet 6B проводилися щотижня протягом 3-х місяців, прийом вищевказаної суміші (з декстрином) per os скорочений до одного на день.

При обстеженні після проведеного курсу лікування стан тварини хороший, вага 19,5кг, пухлини на шиї не визначаються. Аналізи крові без патології.

На рентгенограмі від 02.02.2000 одиничні дрібні метастази в легенях.

Приклад 6

Собака, 6 років, вага 21кг.

Діагноз: Саркома правого передпліччя, метастази в легені. На рентгенограмі від 10.07.2002р. - руйнування окістя і 1-7 ребер праворуч, множинні метастази в обох легень, пухлина 10×15×12см.

Лікування почате 12.07.2002р. Внутрішньовенно через день по 2мол розведеного в 250мол 0,9% розчину NaCl у воді 50мг Methyl Violet 10B (умовна позначка О.Ф.2). Щодня на пухлину накладалися мазеві пов'язки (2% Methyl Violet 10B, дитячий крем - інше).

Через 3 тижні після початку лікування пухлина - 7×7×3см, стан стабільний, ще через 2 тижні стан тварини задовільний, на рентгенограмі капсульована пухлина 2×2,5×1см, у ребрах і легенях сліди метастазів.

Приклад 7

Хвора І., 35 років.

Звернулася в листопаді 2002 року.

У 2001 році проведена екстирпація матки і придатків відповідно до виявленого раку правого яєчника. На комп'ютерній томограмі від 28.08.02 рецидив - пухлина 8,6×9,8×14см із проростанням у сечовий міхур і пряму кишку.

Проведено лікування клізмами в пряму кишку за схемою: протягом перших п'яти днів по 1-му разу щодня, потім через 5 процедур через день, а потім 15 клізм по 1 разу в 3 дні. Разова доза - 20мг даного лікарського засобу (О.Ф.2), попередньо розчиненого в 2-х мол 70° етилового спирту, на 15-20мол води.

Через два тижні після початку лікування за результатами УЗД-пухлина 3,8×4,2×3,1см з рівними контурами, пухлина з боку прямої кишки відійшла від її стінки, деформація стінки сечового міхура незначна.

Після проведеного курсу лікування по УЗД - пухлина 1,3×2,0×1,6см, капсульована, стінки капсули до 0,5см. Скарг немає.

Було рекомендовано продовжити лікування з перервами між курсами (1,0-1,5) місяця.

На контрольному УЗД від 02.03.2004р. пухлина не визначається.

Аналіз крові до початку лікування: Лейкоцити до 10 тисяч, еритроцити - 2,5млн, тромбоцити - 110 тисяч одиниць.

Аналіз крові після закінчення курсу лікування: Лейкоцити - 9 тисяч, еритроцити - 5,5млн, тромбоцити - 300 тисяч одиниць.

Приклад 8

Хворий Р., 62 роки.

Діагноз: Папілярна форма раку щитовидної залози. При звертанні: за результатами УЗД - пухлина в правій частці 5×3×1,7см.

Проведено лікування лікарським засобом (О.Ф.2) протягом 2-х тижнів: 2 рази в день після їжі перорально по 1 капсулі з оболонкою з желатину, що містить 20мг препарату, що щодня лікувальні клізми в разовій дозі до 100мол розчину, що включає 50мг порошку лікарського препарату, розчиненого в 2мол 70° етилового спирту, а потім розведеного в 100мол водного розчину 0,9% NaCl.

Протягом перших 7 днів лікування у хворого через 3 години після прийому препарату відзначався дисиметруючий ефект, що виражався різким ознобом і протягом (1,0-1,5) годин різницею температур правої і лівої половин тіла, відповідно (35,4-36,9)°C і (37,3-38,6)°C. При подальшому прийомі препарату вищевідзначені розходження в температурі практично зникли.

Після проведення курсу за результатами УЗД - первинна пухлина і метастази не визначаються.

При контрольному обстеженні через два місяці стан задовільний, скарг немає.

Приклад 9

Хвора Щ., 18 років.

У вересні 2002 року виявлена пухлина (2×2,5×2)см<sup>3</sup> правої молочної залози.

Мамографія: фіброзно-кістозна мастопатія правої молочної залози.

Біопсія: виявлені атипові клітини.

Призначено змазування 2-3 рази на день області находження пухлини мазевим складом, що включає лікарський засіб (О.Ф.2) - порошок і мазеву основу (дитячий крем) - у співвідношенні складових, об'єм: 10% - лікарського препарату і 90% - дитячого крему.

Через 1,5 місяця лікування повторна біопсія: атипів клітини не виявляються, пухлина практично не прощується.

Приклад 10

Хворий Ю., 48 років.

Діагноз: Аденокарциома прямої кишки з метастазами в печінці.

У квітні 1999 року зроблена колонектомія з виведенням колостоми. Проводилася профілактична хіміотерапія, через неефективність якої (поява болю в області живота, періодична блювота, загальна слабкість) у серпні 2002 року звернувся по допомогу.

При надходженні: на КТ від 21.09.2002 в області селезінкового кута визначається пухлиноподібне утворення 7,0×5,5см з нерівними контурами, а також метастази в правій частці печінки.

Проведено лікування - перорально протягом 10 днів розведена в 100мол води суміш декстрину і Methyl Violet 2B, Methyl Violet 6B і Methyl Violet 10B (у співвідношенні складових, об. %: декстрин - 25,0; Methyl Violet 2B - 30,0; Methyl Violet 6B - 30,0; Methyl Violet 10B (О.Ф.2) - 15,0) по 1,0м по 2 рази в день за 30 хвилин до їжі, а також у колостому вранці і ввечері 0,5м препарату О.Ф.2, розведеного в 50мол води. Крім того, для підвищення ефективності лікування і за згодою пацієнта йому призначено щотижневе в/в введення 500мол 1% розчину препарату О.Ф.2.

Курс лікування продовжувався 3 місяці.

Після проведеного курсу лікування стан пацієнта задовільний, на КТ пухлини в черевній порожнині і метастази в печінці не визначаються, основні показники крові за результатами клінічних і біохімічних аналізів у нормі.

Приклад 11

Хвора Н. 25 років.

Звернулася 23.07.1999р. зі скаргами на тотальне облісіння - втрату волосся на всьому тілі, періодичну слабкість і депресії.

Облісіння почалося після перенесеного грипу, 6 років тому з вій і брів, потім через півроку з'явилися вогнища облісіння на волосистій частині голови.

Протягом 2-х років проводилося лікування гормонами, а також місцеве мазеве лікування.

З анамнезу вдалося з'ясувати, що у віці 7 років перехворіла на ГРЗ і через тиждень ветрянкою, що, очевидно, і послужило початком латентно протікаючого аутоімунного захворювання.

Діагноз: Аутоімунне захворювання, ускладнене тотальною алопецією.

Діагноз підтверджений даними аналізів крові по клітинному і гуморальному імунитеті.

Проведено два курси лікування за допомогою лікарського засобу.

Перший курс - протягом 3-х місяців прийом суміші декстрину з Methyl Violet 2B, Methyl Violet 6B і Methyl Violet 10B у співвідношенні декстрину і відповідної солі, об. %: 25:25:25:25 за схемою: 0,2мол 1% водного розчину 2 рази на добу за 30хв. до їжі.

Через 3 тижні після початку лікування з'явився ниючий біль в проекції нирок. Це було розцінено нами як реакція надниркових залоз на пригнічення препаратом фіксованих гіперактивних макрофагів.

КТ органів черевної порожнини, нирок і надниркових залоз показала, що права і ліва надниркова залози трохи збільшені в розмірах і деформовані.

Лікування було продовжено, і через тиждень біль в проекції нирок зник.

Через 2 місяці після початку лікування з'явилося пушкове волосся на голові і ногах.

Після закінчення першого курсу лікування було зроблено двомісячну перерву, а потім протягом 2-х місяців проведено додатковий курс, що включав прийом Methyl Violet 10B (О.Ф.2) за схемою 0,5мол 1% водного розчину 2 рази на добу за 30хв. до їжі.

Через рік після лікування, волосся на голові досягли нормальної товщини і структури. В даний час випадіння волосся немає.

На контрольній КТ від 12.03.2003р. надниркові залози не збільшені, трикутної форми. Аналізи крові в нормі.

Результата дослідження клітинного і гуморального імунітету приведені в таблиці:

Таблиця

Показники	До лікування	Через 4 тижні	Через 6 міс
Імуноглобулін А	60	170	249
Імуноглобулін М	50	98	190
Імуноглобулін G	800	1400	1750
Т-лімфоцити %	34,0	65,0	74,0
В-лімфоцити %	10,0	14,0	16,0
Фагоцитоз латексу %	43,0	60,0	67,3
TNF	15,6	23,0	32,5
Т-хелпери %	26,0	30,0	38,0
Т-супресори %	12,0	18,0	17,0
Т-кілери %	16,0	19,0	16,0



