



(19) **KG (11) 2130 (13) C1**
(51) **A61K 36/00 (2018.01)**
A61P 35/00 (2018.01)

ГОСУДАРСТВЕННАЯ СЛУЖБА ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ И
ИННОВАЦИЙ ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ к патенту Кыргызской Республики под ответственность заявителя

(21) 20170144.1

(22) 22.12.2017

(46) 29.03.2019, Бюл. № 3

(76) Кудайбергеннова И. О.; Чакеев И. Ш.; Лепшин Б. Н.; Фаизова А. А.; Кылчыкбаев А. К. (KG)

(56) Патент RU № 2508118 C1, кл. A61K 36/23, A61P 39/06, 2014

(54) Способ лечения онкозаболеваний в эксперименте

(57) Изобретение относится к экспериментальной онкологии и может быть использовано для повышения противоопухолевой активности облучения.

Задача изобретения - разработка способа лечения онкозаболеваний в эксперименте, обеспечивающего повышение противоопухолевого эффекта лучевой терапии.

Поставленная задача решается в способе лечения онкозаболеваний в эксперименте, включающем лучевую терапию опухолей и введение лекарственного средства на основе растительного сырья, где в качестве лекарственного средства на основе растительного сырья применяют пектин, полученный из свекольного жома или пектин цитрусовый низкомолекулярный, который вводят интрагастрально в течение семи дней в дозировке 650 мг/кг.

В способе лечения онкозаболеваний в эксперименте с применением комбинации лучевой терапии и пектина достоверно показано, что пектин, полученный из свеклы и подвергнутый механообработке, и пектин, полученный из цитрусовых путем ферментативной модификации, проявляют радиомодифицирующие свойства, то есть и радиосенсибилизирующее, и радиопротекторное, что способствует повышению противоопухолевой активности лучевой терапии и увеличению продолжительности жизни экспериментальных животных.

1 н. п. ф., 1 з. п. ф., 3 пр., 8 табл.

Изобретение относится к экспериментальной медицине, а именно к экспериментальной онкологии, в частности к методам модификации, потенцирования и вследствие этого повышения эффективности лучевой терапии онкозаболеваний, и может быть использовано для усиления непосредственной противоопухолевой активности облучения, снижения повреждающего воздействия облучения на организм и восстановления его нарушенных функций.

Современные методы лечения опухолей носят комплексный характер и включают хирургическое, химиотерапевтическое и лучевое воздействие. Трудности лучевой терапии связаны со значительной радиорезистентностью опухолей, снижающей эффективность лучевого воздействия.

Вопросы радиомодификации обсуждаются на протяжении многих лет и в настоящее время сформулированы как проблема управления радиочувствительностью или более точно - управление тканевыми реакциями на облучение. С точки зрения клинической радиобиологии радиомодификация, включает в себя два понятия - радиосенсибилизацию и радиопротекцию. Радиосенсибилизация, вне зависимости от действия модифицирующего агента (до или после облучения), а также от наличия или отсутствия его собственного цитотоксического эффекта, обладает усилением действия облучения. Напротив, радиопротекция способствует ослаблению лучевого повреждения здоровых тканей. Преимущество препаратов на основе биологически активных веществ растительного происхождения в их безвредности, возможности неограниченно длительного применения, хорошей сочетаемости с другими препаратами, в отсутствии осложнений и нежелательных побочных эффектов. Менее изученными в этом плане остаются полисахариды растительного

происхождения, которые являются перспективными для создания на их основе корректоров химиотерапии злокачественных новообразований, благодаря их широкому спектру фармакологического действия. Пектиновые вещества - это кислые полисахариды растительного происхождения, главным компонентом которых является полигалактуроновая кислота. Известно, что биологически активным соединениям этого класса свойственна сорбция радионуклидов, тяжелых металлов, нормализация липидного обмена при гиперлипидемии различной этиологии, регуляция иммунитета, модуляция эндокринной системы, противовоспалительная, противоопухолевая активность.

Известен способ лечения онкозаболеваний, заключающийся в том, что при проведении традиционного лечения онкозаболеваний, включающего химиотерапию и/или лучевую терапию, дополнительно назначают спиртовые настойки калины обыкновенной, софоры японской, чеснока, черноплодного и бефунгина (патент RU № 2137495, кл. А61К 35/78, 1999). Способ эффективен при заболеваниях раком молочной железы, матки, яичников, желудочно-кишечного тракта, легкого и др. Недостатком способа так же является чрезвычайная трудоемкость составления композиции и сложность ее стандартизации по биологически активным веществам.

Известен способ лечения онкозаболеваний, заключающийся в использовании растительного полисахарида гамма-плант (Патент RU № 2537033 С1, кл. А61К 36/81, А61К 31/715, А61Р 39/00, 2014) в качестве радиопротектора и стимулятора колоний стволовых клеток в селезенках облученных животных. Однако данный препарат применяется больше как радиопротектор и стимулятор колониеобразования стволовых клеток в селезенке.

Наиболее близким аналогом является способ повышения радиационной устойчивости организма мышей, заключающийся в том, что за 20-30 мин до радиационного облучения вводят внутримышечно сок петрушки, разведенный физраствором (патент RU № 2508118 С1, кл. А61К 36/23, А61Р 39/06, 2014). Вышеописанный способ эффективно повышает радиационную устойчивость организма мышей. Однако этот препарат также применяется, больше как радиопротектор.

Задача изобретения - разработка способа лечения онкозаболеваний в эксперименте, обеспечивающего повышение противоопухолевого эффекта лучевой терапии.

Поставленная задача решается в способе лечения онкозаболеваний в эксперименте, включающем лучевую терапию опухолей и введение лекарственного средства на основе растительного сырья, где в качестве лекарственного средства на основе растительного сырья применяют пектин, полученный из свекольного жома, или пектин цитрусовый низкомолекулярный, который вводят интрагастрально в течение семи дней в дозировке 650 мг/кг.

Способ осуществляют следующим образом,

Для разработки противоопухолевых препаратов, в том числе и модификаторов биологических реакций, разрабатывают эффективную систему их исследований, предполагающую проведение на первом этапе экспериментов на мелких лабораторных животных (мышах, крысах) с целью отработки оптимальных доз и режимов применения изучаемых средств.

Средство вводят зондом внутрижелудочно (интрагастрально), в количестве 650 мг/кг один раз в сутки. Дозировку средства подбирают экспериментальным путем. Оптимальная доза для крыс составляет 650 мг/кг.

В качестве параметров оценки противоопухолевого эффекта препаратов используют: торможение роста опухоли и увеличение продолжительности жизни. Динамику опухолевого роста регистрируют, измеряя размеры опухоли штангенциркулем в трех взаимно перпендикулярных плоскостях. Результат выражается в произведении этих величин, деленном на два.

Торможение роста опухоли (ТРО) оценивают по формуле:

$$\text{ТРО} = (V \text{ контроль} - V \text{ опыт}) / V \text{ контроль} \times 100 \%,$$

где V контроль - среднее значение объема опухоли в контрольной группе,

V опыт - среднее значение объема опухоли в опытной группе.

Увеличение продолжительности жизни рассчитывают по формуле:

$$\text{УПЖ} = (\text{ПЖ контроль} - \text{ПЖ опыт}) / \text{ПЖ контроль} \times 100 \%,$$

где ПЖ контроль - средняя продолжительность жизни в контрольной группе,

ПЖ опыт - средняя продолжительность жизни в опытной группе.

О степени выраженности эффекта судят по средней величине опухоли (\bar{x}), среднеквадратическому отклонению s_x и ошибке репрезентативности $s\bar{x}$. Статистическую обработку материала проводят параметрическими и непараметрическими методами.

Полученные данные обрабатывают с применением методов непараметрической статистики.

Были использованы перевиваемые штаммы крысиных опухолей саркома С-45, карциносаркома Уокера-256, лимфосаркома Плисса.

Пример 1.

Оценка противоопухолевой активности, и радиосенсибилизирующих (радиопротекторных) свойств наноразмерного свекловичного пектина на модели карциносаркомы Уокера, показала, что данная опухоль слабо чувствительна к лучевой терапии даже в высоких дозах; наноразмерный свекловичный пектин в сочетании с γ -излучением обладает синергичным противоопухолевым действием. При этом пектин предотвратил падеж экспериментальных животных от такой дозы облучения, существенно увеличивая выживаемость крыс (табл. 1), а максимальное торможение роста опухоли отмечалось в начальный и конечный период эксперимента.

Таблица 1

Результаты облучения карциносаркомы Уокера
при пероральном введении свекловичного пектина

Группа Показатель	Размеры опухоли в см ³ и торможение ее роста в %				Продолжительность жизни в днях
	2 день	5 день	7 день	15 день	
Облучение	4,1±0,2	9,9±0,5	21,7±1,9	*	14,3±1,2
Пектин+облучение	1,9±0,1	6,8±0,3	17,8±0,9	0	90,0±3,2
Торможение роста опухоли	53,7	31,3	18,0	100	
Уровень значимости p	<0,001	<0,01	>0,05	<0,001	
Увеличение продолжи- тельности жизни (%)	429,4				
Уровень значимости p	<0,001				

* все животные контрольной группы пали

Экспериментальной проверке противоопухолевых свойств был подвергнут коммерческий препарат пектина «PectaSol-C®». Относительно этого пектина существует небольшое количество работ, указывающих на его эффективность при злокачественных опухолях предстательной железы [14]. По утверждениям авторов при приеме «PectaSol-C®» время удвоения содержания ПСА существенно увеличивается, что отражается на продолжительности жизни онкологических больных с поражением предстательной железы.

PectaSol-C® обладает выраженной радиомодифицирующей активностью. Торможение роста опухоли на 20-е сутки у животных, получавших PectaSol-C®, достигало почти 92 %, а увеличение продолжительности жизни составило 354 % (табл. 2).

Таблица 2

Результаты облучения карциносаркомы Уокера
при пероральном введении препарата PectaSol-C®

Группа Показатель	Размеры опухоли в см ³ и торможение ее роста в %		Продолжительность жизни в днях
	13 день	20 день	
Облучение	8,3±0,4	6,1±0,3	22,3±1,9
PectaSol-C® + облучение	2,6±0,1	0,5±0,03	79,0±4,1
Торможение роста опухоли	68,7	91,8	

Уровень значимости p	<0,001	<0,001	
Увеличение продолжительности жизни (%)	354,2		
Уровень значимости p	<0,001		

Сравнение радиосенсибилизирующего действия свекловичного пектина и препарата Реста-Sol-C® по торможению роста опухоли на 15-20 сутки показывает, что разница в объемах опухоли не достигает статистически значимой величины. Хотя пектин увеличивал продолжительность жизни на 429 %, а РестаSol-C® на 354 %, разница между этими величинами также недостоверна для данного числа степеней свободы. Таким образом, по радиомодифицирующей способности пектин и препарат РестаSol-C® практически идентичны.

Пример 2.

На лимфосаркоме Плисса (табл. 3) были получены следующие результаты: «РестаSol-C®» достоверно тормозил рост опухоли и на седьмой, и на четырнадцатый день эксперимента. Умеренное торможение отразилось на выживаемости животных. Увеличение продолжительности жизни составило чуть больше 60 %. Однако, эта величина достигала статистически значимого уровня $p < 0,001$.

Таблица 3

Противоопухолевые свойства «РестаSol-C®» на лимфосаркоме Плисса

Группа Показатель	Размеры опухоли в см ³ и торможение ее роста в %		Продолжительность жизни в днях и ее увеличение в %
	7 день	14 день	
Контроль	6,8±0,8	27,4±2,4	18,3±1,0
Пектин	3,1±0,2	15,2±2,1	29,5±1,3
Торможение роста опухоли	54,4	44,5	
Уровень значимости p	<0,01	<0,05	
Увеличение продолжительности жизни	61,2		
Уровень значимости p	<0,001		

Сопоставимые данные были получены на этой же модели при лечении опухоленосителей свекловичным пектином (табл. 4). При этом разница в величинах торможения роста опухоли и увеличения продолжительности жизни между группами животных, получавших пектин или РестаSol-C®, не достигала статистически значимых величин.

Таблица 4

Противоопухолевые свойства пектина на лимфосаркоме Плисса

Группа Показатель	Размеры опухоли в см ³ и торможение ее роста в %		Продолжительность жизни в днях и ее увеличение в %
	7 день	14 день	
Контроль	5,8 ± 0,8	24,6 ± 3,4	17,0 ± 1,0
Пектин	3,1 ± 0,2	19,2 ± 3,3	21,3 ± 1,1
Торможение роста опухоли	46,3	22,0	
Уровень значимости p	< 0,01*	< 0,05*	
Увеличение продолжительности жизни	20,2		
Уровень значимости p	<0,05*		

*Критерий Вилкоксона-Манна-Уитни

Пример 3.

Оценка противоопухолевой активности «РестаSol-C®» на саркоме C-45. Для постановки эксперимента были сформированы 4 группы животных. Животные первых двух групп не подвергались облучению. 1 группа - контрольные животные опухоленосители; 2 группа получала

пектасол внутривенно в течение 7 дней в дозе 650 мг/кг. Оценку результатов проводили на 7, 14 и 17 дни после перевивки опухоли

Таблица 5

Оценка противоопухолевой активности «PectaSol-C®» на саркоме C-45

Группа животных	Размер опухоли после облучения в см ³ на:			Торможение роста опухоли (ТРО) в %		
	10 день	14 день	17 день	10 день	14 день	17 день
Контроль	2,52±0,91	6,79±1,89	6,53±2,05	-	-	-
Пектасол	0,64±0,27	1,02±0,46	3,6±2,72	74,6	85	44,9

Таблица 6

Влияние «PectaSol-C®» на продолжительность жизни животных с саркомой C-45

Группа животных	ПЖ (дни)	УПЖ (в %)	Выжило без опухоли
Контроль	21,5±3,54		
Пектасол	58,15±15,03	270,46	14,3%

Как видно из таблицы 5 и 6, пектасол при самостоятельном применении статистически значимо ингибировал рост опухоли на 10-14 дни после перевивки на 74,6-85 %, соответственно, и увеличивал продолжительность жизни на 270,46 % по сравнению с контролем. Вместе с тем, на 17 день процент торможения снижался до 44,9 %, а на 21 день наблюдения отсутствовал полностью, регрессия опухоли наблюдалась только у 14,3 % животных.

Животные 3 и 4 группы были подвергнуты облучению. 3 группа - облученные животные; 4 группа получала 7 дневный курс пектасола с последующим облучением.

Таблица 7

Результаты облучения саркомы C-45 при пероральном введении препарата PectaSol-C®

Группа животных	Размер опухоли после облучения в см ³ на:		Торможение роста опухоли (ТРО) в %	
	7 день	14 день	7 день	14 день
Контроль (облученные)	0,545±0,27	2,11±0,029	-	-
Пектасол + облучение	0,068±0,02	0,041±0,039	87,5	98,05

Таблица 8

Влияние «PectaSol-C®» на продолжительность жизни облученных животных с саркомой C-45

Группа животных	ПЖ (дни)	УПЖ (в %)	Выжило без опухоли
Контроль+облучение	17,5±1,63	-	-
Пектасол+облучение	62,6±11,47	357,7	87,5%

Как видно из таблицы 7 и 8, при совместном применении локального облучения в 3 грей и пектасола на 7 сутки после облучения зарегистрировано угнетение роста опухолевого узла по критерию его объема на 87,5 %, а на 14 сутки после облучения на 98,05 % по сравнению с контролем. Пектасол снижал тяжесть лучевого поражения и повышал выживаемость облученных животных

на 357,7 %, вплоть до регрессии опухоли у 87,5 % и полной выживаемости животных к концу наблюдения. Для сравнения, при облучении в 3 грей животные в контрольной группе погибали в течение 2-3 недель после перевивки опухоли. Как видно, пектасол способствует существенному повышению выживаемости животных, подвергнутых облучению, по сравнению с контрольной группой.

Преимуществом заявляемого способа лечения онкозаболеваний по сравнению с прототипом является то, что применяемое в способе средство относится к классу малоопасных веществ, не обладает кумулятивным действием, не проявляет эмбриотоксичности и стандартизировано по составу.

Таким образом, в способе лечения онкозаболеваний с применением комбинации лучевой терапии и пектина, достоверно показано, что пектин, полученный из свеклы и подвергнутый механообработке, и пектин, полученный из цитрусовых путем ферментативной модификации, проявляют радиомодифицирующие свойства, то есть и радиосенсибилизирующее, и радиопротекторное, что способствует повышению противоопухолевой активности лучевой терапии и увеличению продолжительности жизни экспериментальных животных. Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что в способе лечения онкозаболеваний средство из свеклы и из цитрусовых в комбинации с лучевой терапией взаимно усиливают противоопухолевую активность друг друга.

Формула изобретения

1. Способ лечения онкозаболеваний в эксперименте, включающий лучевую терапию опухолей и введение лекарственного средства на основе растительного сырья, отличающийся тем, что в качестве лекарственного средства применяют пектин, полученный из свекольного жома или цитрусовый низкомолекулярный пектин.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что пектин вводят интрагастрально в течение 7 дней в дозировке 650 мг/кг.

Выпущено отделом подготовки официальных изданий

Государственная служба интеллектуальной собственности и инноваций при Правительстве Кыргызской Республики,
720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41; факс: (312) 68 17 03