



ISSN 1726-9784



Российский Биотерапевтический Журнал

Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal



Russian Journal
of Biotherapy

1/2014

ISSN 1726-9784

РОССИЙСКИЙ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№1 Том 13 2014 г.

УДК 616-085.2/.3

Учредители

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН; НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

Главный редактор

А.Ю. Барышников, д-р мед. наук, проф.

Заместители главного редактора

А.В. Караулов, чл.-корр. РАМН, д-р мед. наук, проф.; Н.А. Оборотова, д-р фарм. наук, проф.

Редколлегия

М.А. Барышникова, канд. фарм. наук (отв. секретарь),
О.А. Бочарова, д-р биол. наук, проф. (Москва),
А.К. Голенков, д-р мед. наук, проф. (Москва), Л.В. Демидов, д-р мед. наук, проф. (Москва),
И.В. Евсегнеева, д-р мед. наук, проф. (Москва), П.К. Иванов, д-р мед. наук (Москва),
З.Г. Кадагидзе, д-р мед. наук, проф. (Москва), И.Ю. Кубасова, канд. мед. наук (Москва),
В.В. Новиков, д-р биол. наук, проф. (Нижний Новгород),
Н.С. Сергеева, д-р мед. наук, проф. (Москва), Е.В. Степанова, д-р мед. наук (Москва),
Н.Н. Тупицын, д-р мед. наук, проф. (Москва), Е.Г. Турнянская, канд. мед. наук (Москва),
Ю.В. Шишкин, д-р мед. наук, проф. (Москва),
И.Ж. Шубина, канд. биол. наук (Москва), Р.И. Якубовская, д-р мед. наук, проф. (Москва)

«Российский биотерапевтический журнал» является рецензируемым изданием

Зарегистрировано в Государственном Комитете Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций

Регистрационный номер:
ПИ №77-11695 от 21.01.2002 г.

Почтовый адрес:

115478 Москва, Каширское ш., 24
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей
Тел.: +7 (499) 323 57 00, +7 (499) 324 10 65; факс: +7 (499) 324 22 74;
E-mail: biotherapy_rbi@mail.ru
Интернет-версия: www.ronc.ru/1915

Подписной индекс 81679

Объем 6 усл.-печ. листов,
подписано в печать 20.02.2014
Тираж 1000 экз.

Издательская группа РОНЦ:

115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24.
Тел. +7 (499) 324 24 70; ronc@list.ru
Координаторы: Е.Г. Турнянская, Б.Б. Крюков (макет)

Принт-менеджмент:

«Практическая медицина»
Тел.: +7 (495) 981-91-03
www.medprint.ru

УДК 547.227:615.277.2.012.1:616-092.9

Г.К. Герасимова¹, Н.П. Маркова¹, И.С. Голубева¹, Г.Н. Апрышко¹, Ю.Ю. Солодунов², Б.В. Страдомский²

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА СТЕЛЛАНИН®

НА ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЯХ МЫШЕЙ

¹ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва²ООО «Фармпрепарат», Ростов-на-Дону

Контактная информация

Маркова Надя Петровна, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей

адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24; тел. +7(499)324-10-65

e-mail: baryshnikov_anat@mail.ru

Статья поступила 06.05.2013, принята к печати 27.01.2014.

Резюме

Изучена противоопухолевая активность препарата Стелланин® в лекарственной форме «капли для приема внутрь», его активной субстанции ДЭБИ-Т и метаболита ДЭБИ-М на мышинных перевиваемых опухолях: лимфоцитарном лейкозе P388, меланоме B16 и раке толстой кишки АКАТОЛ. Субстанции ДЭБИ-Т и ДЭБИ-М не проявили противоопухолевого эффекта на лейкозе мышей P388. Стелланин® в лекарственной форме и в виде субстанции при пероральном применении у мышей с меланомой B16 и раком толстой кишки АКАТОЛ проявил зависимый от дозы стабильный противоопухолевый эффект (70–50 % ТРО) в течение двух недель после окончания лечения. Установлены оптимальные режимы применения Стелланина® при пероральном введении: при разовых дозах 15–30 мг/кг 2–3 раза в сутки в течение 10 дней или в дозе 10 мг/кг один раз в сутки в течение 20 дней. У ДЭБИ-М в исследованном диапазоне доз не выявлено противоопухолевой активности.

Ключевые слова: Стелланин®, 1,3-диэтилбензимидазолия трийодид, 1,3-диэтилбензимидазолия моноидид, противоопухолевая активность *in vivo*, мышинные опухоли.

G.K. Gerasimova¹, N.P. Markova¹, I.S. Golubeva¹, G.N. Apryshko¹, Yu. Yu. Solodunov², B.V. Stradomskiy²

ANTITUMOR ACTIVITY OF THE DRUG STELLANIN®

ON TRANSPLANTABLE MICE TUMORS

¹FSBI «N.N. Blokhin RCRC» RAMS, Moscow²«Pharmpreparat», Rostov-on-Don

Abstract

Antineoplastic activity of Stellanin® as drug “drops for per os intake”, its active substance 1,3-diethylbenzimidazolium triiodide and its methabolite 1,3-diethylbenzimidazolium monoiodide was studied on mouse transplantable tumors: lymphocytic leukemia P388, melanoma B16 and colon cancer AKATOL. Substances 1,3-diethylbenzimidazolium triiodide and its methabolite 1,3-diethylbenzimidazolium monoiodide didn't reveal antineoplastic effect on mouse leukemia P388. Stellanin® both as drug and as substance administered per os to mice with melanoma B16 and colon cancer AKATOL showed dose-dependent stable antitumor effect (70-50% tumor growth inhibition) during 2 weeks after treatment completion. The optimal schedules of Stellanin® treatment were determined: single dose of 15-30 mg/kg 2-3 times a day during 10 days or dose of 10 mg/kg one time a day during 20 days. 1,3-diethylbenzimidazolium monoiodide with explored dose range didn't show any antineoplastic activity.

Key words: Stellanin®, 1,3-diethylbenzimidazolium triiodide, 1,3-diethylbenzimidazolium monoiodide, antitumor activity *in vivo*, mice tumors.

Введение

Несмотря на большое количество противоопухолевых препаратов разных классов, постоянно идет поиск новых веществ с противоопухолевой активностью и совершенствование лекарственной формы уже известных хорошо зарекомендовавших себя лекарственных средств [1; 2; 4; 9–19; 21; 25; 26].

В настоящее время, по данным базы Thomson Reuters Integrity, на экспериментальных и клинических исследованиях в разных странах находится около 20 йодсодержащих противоопухолевых препаратов, из которых два (йодсодержащий аналог адриамицина и производное аденозина RPR-113090) проходят II фазу клинического изучения [27].

В России фирмой «Фармпрепарат» разработан и разрешен для практического применения йодсодержащий антибактериальный препарат СТ.

Активным веществом СТ является комплексное гетероциклическое йодсодержащее соединение – ДЭБИ-Т. Компоненты препарата образуют прочный комплекс – молекулу СТ, из которой происходит постепенное медленное высвобождение молекулярного йода [20]. Вследствие этого вещество является нетоксичным: ЛД₅₀ для крыс составляет более 10000 мг/кг [8]. К особенностям СТ следует отнести тот факт, что это комплексное соединение объединяет в себе биологическую активность молекулярного йода и органической составляющей – катиона 1,3-диэтилбензимидазолия. В отличие от изучаемых за рубежом препаратов, йод в структуре молекулы СТ присоединен ионной связью, а не ковалентно, что обуславливает особенности его физико-химических свойств и, как следствие, биологических и фармакологических эффектов. СТ обладает широким спектром местной и системной антибактериальной ак-

тивности, противовоспалительным и регенерирующим действием [20].

В водных безбелковых растворах происходит гидролиз ДЭБИ-Т, и через 30 мин его концентрация снижается на 50 % вследствие образования ДЭБИ-М, а в присутствии белков процесс гидролиза значительно ускоряется. Таким образом, ДЭБИ-М является метаболитом ДЭБИ-Т. Как показали экспериментальные исследования, ДЭБИ-М обладает собственной фармакологической активностью.

Недавно показано, что СТ обладает цитотоксической активностью в отношении двух клеточных культур солидных опухолей человека: рака толстой кишки линии LS174T ($IC_{50} = 25$ мкМ) и гормонезависимого рака предстательной железы линии DU145 ($IC_{50} = 330$ мкМ) [3].

Цитотоксическая активность ДЭБИ-М была оценена на трех видах клеточных культур солидных опухолей человека: карциноме толстой кишки линии LS174T, раке предстательной железы линии DU145 и немелкоклеточном раке легкого линии A549. К ДЭБИ-М умеренно чувствительными оказались только клетки рака толстой кишки линии LS174T ($IC_{50} = 330$ мкМ). Клетки линий DU145 и A549 к ДЭБИ-М не чувствительны [3].

Исследования молекулярного механизма действия ДЭБИ-М показали, что он в высоких концентрациях вызывает значимое увеличение экспрессии митохондриальной ДНК и гибель клеток по митохондриальному пути апоптоза [5; 6].

В настоящее время доказано, что стимуляция функциональной активности митохондрий, находящихся во многих опухолевых клетках в неактивном состоянии, приводит к апоптозу и гибели раковых клеток [24].

Анализ выявленных разных видов фармакологической активности СТ и, особенно, его цитотоксической активности в отношении опухолевых клеток человека *in vitro* дают основание для изучения его противоопухолевой активности на перевиваемых опухолях животных.

Цель настоящего исследования – сравнительная оценка противоопухолевого действия СТ, ДЭБИ-Т и его метаболита ДЭБИ-М на перевиваемых на мышах моделях опухолевого роста: лейкозе P388 и двух штаммах солидных опухолей (меланоме В16 и раке толстой кишки АКАТОЛ).

Материалы и методы

Исследования выполнены в соответствии с нормативными документами по стандартным методикам [22] на мышинных перевиваемых моделях опухолевого роста: асцитной форме лимфоцитарного лейкоза P388 и солидных опухолях меланоме В16 и аденокарциноме толстой кишки АКАТОЛ [7].

Использованы мыши гибриды первого поколения BDF1 (C57Bl/6 x DBA2) (самки) и мыши линии Balb/C (самки) в возрасте 1,5–2 мес с начальной массой тела 19–23 г. Мышей содержали в виварии отдела лабораторных животных ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН в соответствии с санитарными правилами содержания лабораторных животных на брикетированном корме и при постоянном доступе к воде, в помещении с дневным освещением и контролируемой температурой и влажностью воздуха.

Число животных в контрольной группе составляло 12 мышей, в опытных группах по 6–7 мышей. Наблюдение за животными продолжалось до их гибели.

Штаммы перевиваемых опухолей получены из банка опухолевых штаммов ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН и поддерживались *in vivo* на линейных животных. В опытах использовались 2–10 пассажи. Опухоли перевивали лабораторным животным по стандартным методикам [23].

Препарат СТ (ДЭБИ-Т в комплексе с ПВП) в виде готового лекарственного средства «Стеллантин® капли для местного применения и приема внутрь 40 мг/мл» и субстанции ДЭБИ-Т (в комплексе с ПВП) в виде порошка, а также субстанция ДЭБИ-М в виде порошка получены от ООО «Фармпрепарат».

Водные растворы ДЭБИ-Т и ДЭБИ-М готовили *ex tempore* и вводили мышам *per os* с помощью зонда. Лечение начинали через 24 ч после внутрибрюшинной прививки лейкоза P388 и через 48 ч после подкожной прививки солидных опухолей В16 и АКАТОЛ.

Мышам с лимфолейкозом P388 и меланомой В16 ДЭБИ-Т и ДЭБИ-М вводили *per os* в режиме однократного или трехкратного введения в сутки с интервалом 3 ч между введениями. Курс лечения 10 дней. При лечении мышей с лимфолейкозом P388 вводили животным субстанцию СТ (ДЭБИ-Т) в виде сухого порошка, при лечении меланомы В16 в зарегистрированной лекарственной форме – капли для приема внутрь (40 мг/мл).

На перевиваемой модели рака толстой кишки АКАТОЛ лечение СТ в виде готовой лекарственной формы (капли 40 мг/мл) проводили в нескольких режимах: 3 р в сутки с интервалом 3 ч между введениями в дозах 5; 10 и 20 мг/кг и в режиме 2 р в сутки с интервалом 6 ч между введениями в дозах 7,5; 15 и 30 мг/кг ДЭБИ-Т. Курс лечения 10 дней. Кроме того, СТ вводили в дозе 10 мг/кг 1 раз в сутки в течение 10 дней, а также 2 и 10 мг/кг с интервалом 24 часа между введениями в течение 20 дней. Мыши контрольных групп не получали лечения.

Оценка результатов лечения проведена по показателям ТРО и УПЖ [22].

ТРО вычислялось по формуле:

$$TPO, \% = \frac{(V_k - V_o)}{V_k} \times 100\%, \text{ где}$$

V_k и V_o – средний объем опухолей (mm^3) в контрольной и опытной группах, который для каждой солидной опухоли определялся как произведение размеров трех перпендикулярных диаметров опухолевого узла. Измерение объема опухолей проводили на разные сроки после окончания лечения.

УПЖ, % леченых животных по сравнению с контролем вычисляли по формуле:

$$UPJ, \% = \frac{(СПЖ_o - СПЖ_k)}{СПЖ_k} \times 100\%, \text{ где}$$

СПЖ_o и СПЖ_k – средняя продолжительность жизни (сутки) в опытных и контрольных группах животных.

Показатели эффективности изучаемых препаратов определяли в сравнении с контрольными группами. Активными в противоопухолевом отношении считали дозы препаратов, вызывающие ТРО ≥ 70 –50% не менее 10 дней после окончания лечения или УПЖ животных ≥ 25 %. Токсичность изученных режимов и доз препаратов оценивали по

срокам гибели леченных животных в сравнении с гибелью животных в контрольной группе. Для выполнения экспериментов составляли группы численностью, достаточной для проведения статистического анализа и расчета показателей достоверности. Для всех количественных данных вычислено групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m, SEM). Различия между контрольными и опытными группами считали достоверными при 95 %-ном уровне значимости ($p \leq 0,05$.) Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы Statistica.

Результаты

Результаты оценки противоопухолевой активности субстанций ДЭБИ-Т и ДЭБИ-М на лимфолейкозе P388 представлены в табл. 1. Из приведенных данных видно, что продолжительность жизни леченых животных не отличается от продолжительности жизни животных контрольной группы. Таким образом, обе тестируемые субстанции в исследованном диапазоне доз не оказывают лечебного эффекта на развитие лимфолейкоза P388.

Противоопухолевая активность СТ в отношении перевиваемой опухоли мышей меланомы B16 исследована в широком диапазоне доз и при разных режимах применения. Результаты представлены в табл. 2 и 3. В табл. 2 представлены данные по применению препаратов в следующих дозах: СТ – 0,2 мг/кг, ДЭБИ-М – 1 и 5 мг/кг в режиме 3 раза в сутки. В таких дозах оба вещества не проявили противоопухолевого эффекта ни по одному из оцениваемых показателей (ТРО <70%, УПЖ <25%).

Применение СТ в более высоких дозах (2; 5 и 10 мг/кг) в течение 10 дней в двух режимах (одноразового и трехразового в сутки) показало, что непосредственно после окончания лечения наблюдается зависимое от дозы и режима лечения достоверное торможение роста опухоли по сравнению с контрольной группой животных (табл. 3). Максимальный эффект (ТРО 80% непосредственно после окончания лечения) получен при дозе СТ 10 мг/кг при ежедневном трехразовом в течение 10 дней пероральном введении мышам и достоверное сохранение ТРО > 50% в течение 10 дней. На 13 сутки после окончания лечения различия с контрольной группой достоверны.

Зависимость противоопухолевого эффекта СТ от дозы и режима его применения изучена также на модели опухолевого роста – рак толстой кишки мышей штамм АКАТОЛ. Исследованы режимы перорального ежедневного применения препарата однократно, двукратно и трехкратно в течение 10 или 20 дней.

Результаты противоопухолевой активности СТ на модели АКАТОЛ представлены в табл. 4 и свидетельствуют о том, что СТ в разовых дозах 15 и 30 мг/кг (суммарная суточная доза 30 и 60 мг/кг) вызывает умеренное торможение роста опухоли непосредственно после окончания лечения на 61 и 70 %, которое сохраняется до 12 дня на уровне 50–52 % ТРО, соответственно.

Такой же непосредственный эффект после окончания лечения наблюдается при действии СТ в дозе 10 мг/кг однократно в сутки, но при применении препарата в течение 20 дней.

Средняя продолжительность жизни животных составляет 72 дня, т.е. такая же, как при дозе 30 мг/кг×2 раза в сутки с интервалом между введениями 6 ч в течение 10 дней.

Анализ результатов противоопухолевой активности СТ в отношении перевиваемых солидных моделей опухолевого роста мышей выявляет зависимое от дозы и режима лечения умеренное торможение роста опухоли по сравнению с контрольной группой животных.

Максимальный эффект получен на мышках с меланомой B16 при дозе 10 мг/кг при ежедневном трехразовом введении препарата в течение 10 дней. Отмечено NHJ 80 % непосредственно после окончания лечения с сохранением эффекта более 50 % в течение 13 дней (табл. 3).

Таким образом, на двух солидных опухолях – меланоме B16 и раке толстой кишки АКАТОЛ при пероральном применении СТ выявлен стабильный противоопухолевый эффект (70–50% ТРО) в течение 2 недель после окончания лечения при разовых дозах 15–30 мг/кг в режиме двукратного или трехкратного введения в сутки в течение 10 дней или однократно в дозе 10 мг/кг, но при более длительном курсе применения (20 дней).

Метаболит СТ ДЭБИ-М в исследованном диапазоне доз не проявил противоопухолевого действия на лимфоцитарном лейкозе P388 и меланоме B16. Лейкоз P388 также не чувствителен к СТ.

СТ во всех исследованных дозах и режимах применения не стимулировал рост опухолей и не обладал токсичностью: гибели леченых животных ранее контрольных отмечено не было.

Обсуждение

Препарат СТ (1,3-диэтилбензимидазолия трийодид в комплексе с медицинским поливинилпирролидоном низкомолекулярным) – оригинальная, зарегистрированная в РФ активная фармацевтическая субстанция, разработан ООО «Фармпрепарат» и разрешен для практического применения в лекарственной форме «капли для местного применения и приема внутрь 40 мг/мл.

СТ прошел полное экспериментальное доклиническое изучение безопасности и фармакологической активности, клинические испытания и разрешен для практического применения в качестве противомикробного лекарственного средства.

Действующим началом препарата является комплексное гетероциклическое йодсодержащее соединение 1,3-диэтилбензимидазолия трийодид. В структуре СТ йод находится отчасти в молекулярном виде, отчасти в ионной форме: молекулярный йод (I_2) связан с анионом йода (I^-) и через него координационно с катионом 1,3-иэтилбензимидазолия [8].

Таким образом, в молекуле ДЭБИ-Т присутствует молекулярный йод, но он более защищен в организме, чем просто чистый молекулярный йод, и может перемещаться в крови до клеток-мишеней без преждевременного восстановления.

Препарат при незначительной токсичности ($LD_{50} > 10000$ мг/кг при пероральном введении крысам) обладает широким спектром антибактериальной и противогрибковой активности, а также выраженным противовоспалительным и регенерационным действием.

Если антимикробное действие СТ связывают с молекулярным (активным) йодом, медленно высвобождающимся из молекулы ДЭБИ-Т, то механизм цитотоксического действия пока точно не известен. ДЭБИ-М не обладает антимикробным эффектом, однако проявил умеренную цитотоксическую активность в отношении клеток рака толстой кишки человека [3].

Таблица 1

Противоопухолевая активность Стелланина® (ДЭБИ-Т) и ДЭБИ-М при пероральном введении на модели лимфолейкоза Р 388

Субстанция	Разовая доза, мг/кг	Курсовая доза, мг/кг	ПЖ, сутки	СПЖ, сутки	УПЖ, %
Стелланин® (ДЭБИ-Т)	5	150	9–12	10,86	10,5
	10	300	9–15	11,00	11,9
	20	600	10–16	11,71	19,0
ДЭБИ-М	10	300	9–11	10,14	3,2
	50	1500	9–15	10,83	10,2
Контроль	0	0	9–11	9,83	

Режим лечения: 3 раза в сутки с интервалом 3 часа в течение 10 дней.
Число мышей: в контрольной группе – 12; в опытной группе – 7.

Таблица 2

Противоопухолевая активность Стелланина® (ДЭБИ-Т) и ДЭБИ-М при пероральном введении мышам с меланомой В16

Субстанция	Разовая доза, мг/кг	Курсовая доза, мг/кг	ТРО, %				ПЖ, сутки	СПЖ, сутки	УПЖ, %
			сутки после окончания лечения						
			1	8	12	16			
ДЭБИ-Т	0,2	6	22	23	10	33	21–37	26,3	12
ДЭБИ-М	1	30	35	38	27	45	19–29	24,6	5
	5	150	28	40	56	53	17–28	22,6	–4
Контроль	0	0	–	–	–	–	18–28	23,5	–

Режим лечения: 3 раза в сутки с интервалом 3 часа в течение 10 дней.
Число мышей в контрольной группе – 12; в опытной группе – 7.
Различия с контрольной группой недостоверны ($p > 0,05$).

Таблица 3

Противоопухолевая активность Стелланина® при пероральном введении мышам в течение 10 дней на модели меланомы В16

Режим лечения	Разовая доза, мг/кг	Курсовая доза, мг/кг	ТРО, %				ПЖ, дни	СПЖ, дни	УПЖ, %
			Сутки после окончания лечения						
			2	6	10	13			
1	2	20	50	36	41	42*	21–36	29	17
1	5	50	48	42	39	39*	22–31	25,2	2
1	10	100	63	49	57	51	20–34	27,5	11
2	2	60	61	52	43	48*	17–38	26,8	9
2	5	150	61	34	45	40*	20–34	27,8	13
2	10	300	80	67	66	58	20–34	28,5	15
Контроль	0	0	–	–	–	–	20–40	25,6	–

Число мышей в контрольной группе – 12; в опытной группе – 6.
Лечение проводили в течение 10 дней в двух режимах:
1) три раза в сутки с интервалом 3 часа ежедневно в разовых дозах 2 мг/кг, 5 мг/кг, 10 мг/кг;
2) один раз в сутки в тех же дозах.
*различия с контролем недостоверны ($p > 0,05$)

Это дает основание для предположения, что механизм цитотоксичности СТ более сложный, чем прямое действие молекулярного йода.

Проведенные исследования эффективности СТ и его метаболита в режиме ежедневного трехразового перорального введения в течение 10 дней показали, что как ДЭБИ-Т, так и ДЭБИ-М не влияют на рост лейкоза Р388.

Субстанция ДЭБИ-М оказалась также не эффективна на солидной опухоли мышей меланоме В16.

В то же время, препарат СТ проявил на солидных опухолях меланоме В16 и раке толстой кишки АКАТОЛ зависимый от дозы стабильный противоопухолевый эффект (70–50% ТРО) в течение двух недель после окончания лечения.

Таблица 4

Противоопухолевая активность Стелланина® при пероральном введении мышам с опухолью АКАТОЛ

Режим	РД, мг/кг, (СД, мг/кг)	КД, мг/кг	ТРО %				ПЖ, с	СПЖ, с	УПЖ, %
			дни после окончания лечения						
			1	8	12-13	15-16			
1	10 (10)	100	(47)	(33)	(34)	(25)*	43–100	68	6*
2	7,5 (15)	150	(56)	(36)	(38)	(32)	56–84	69	8*
2	15 (30)	300	(70)	(53)	(50)	(42)	44–92	56,2	–12*
2	30 (60)	600	(61)	(58)	(52)	(38)	37–99	72,9	14*
3	5 (15)	150	(50)	(59)	(52)	(35)	67–106	78,1	2*
3	10 (30)	300	(36)	(36)*	(24)*	(25)*	33–90	67,3	–12*
3	20 (60)	600	(42)	(40)	(36)	(3)*	9–142	81	5,7*
4	2 (2)	40	(52)	(34)	(40)	(31)	50–107	66,6	4,3*
4	10 (10)	200	(64)	(47)	(44)	(26)*	46–100	72	13*
Контроль	–	–	–	–	–	–	44–92 29–101	76,6 64	–

Количество мышей в контрольной группе – 12+12; в опытной группе – 7.

Режимы лечения:

1) 1 раз в сут в течение 10 дн; 2) 2 раза в сут с интервалом 6 ч в течение 10 дн;

3) 3 раза в сут с интервалом 3 ч в течение 10 дн; 4) 1 раз в сут в течение 20 дн.

*различия с контролем недостоверны ($p>0,05$).

Установлены оптимальные режимы применения препарата при пероральном применении: при разовых дозах 15–30 мг/кг 2–3 раза в сутки в течение 10 дней или однократно в дозе 10 мг/кг, но при более длительном курсе (20 дней), т.е. противоопухолевый эффект СТ реализуется при длительных курсах его перорального применения. СТ во всех исследованных дозах и режимах применения не стимулировал рост опухолей и не обладал токсичностью: гибели леченых животных ранее контрольных отмечено не было.

Таким образом, препарат СТ в лекарственной форме «капли для приема внутрь» по результатам изучения цитотоксической активности в отношении клеточных культур опухолей человека [1] и противоопухолевой активности на перевиваемых опухолях мышей, а также в связи с новым механизмом его противоопухолевого действия (активация митохондрий в раковых клетках) [2], можно рекомендовать для проведения клинического изучения его противоопухолевой эффективности у больных раком желудка и раком предстательной железы с исчерпанными возможностями специфического лечения. Целесообразность изучения фармакологической активности СТ при раке желудка определяется обеспечением максимальной биодоступности препарата к опухоли при зарегистрированном пероральном способе его применения.

Литература

1. Барышников А.Ю. Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов // Вестник РАМН. – 2012. – №3. – С. 23–30.
2. Барышников А.Ю., Барышникова М.А. Иммунолипосомы и мишени их действия // Российский химический журнал. Журнал Российского химического общества им. Д.И.Менделеева 2012. – Т.LVI. – № 3–4. – С. 60–7.
3. Герасимова Г.К., Жукова О.С., Фетисова Л.В. и др. Цитотоксическая активность препарата Стелланин® на опухолевых клетках человека in vitro // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, №1. – С. 51–4.
4. Гуревич Д.Г., И.Г. Меерович И.Г., Г.А. Меерович Г.А. и др. Влияние размеров липосом на уровень и селективность накопления тиосенса в опухоли // Российский биотерапевтический журнал. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 45–9.

Выводы

1. Препарат СТ (ДЭБИ-Т) в лекарственной форме «капли для приема внутрь и местного применения» проявил при пероральном применении у мышей с перевиваемыми солидными опухолями меланомой В16 и раком толстой кишки АКАТОЛ зависимый от дозы стабильный противоопухолевый эффект (70–50% ТРО) в течение двух недель после окончания лечения.
2. Установлены оптимальные режимы применения СТ при пероральном введении: при разовых дозах 15–30 мг/кг 2–3 раза в сутки в течение 10 дней или однократно в дозе 10 мг/кг, но при более длительном курсе лечения (20 дней).
3. У метаболита СТ ДЭБИ-М в исследованном диапазоне доз не выявлено противоопухолевого эффекта.
4. Обе тестированные фармакологические субстанции (ДЭБИ-Т и ДЭБИ-М) не проявили противоопухолевого действия у мышей с асцитной формой лимфобластного лейкоза Р388.

5. Двадненко К.В., Водолажский Д.И., Страдомский Б.В. Влияние 1,3-диэтилбензимидазолия йодида на ультраструктуру митохондрий клеток НЕР2 // Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины. Материалы IV Международной конференции. Ростов-на-Дону. – 2011. – С. 17–8.
6. Двадненко К.В., Страдомский Б.В., Водолажский Д.И. и др. Исследование механизмов регенеративной активности препарата «Стелланин®» (1,3-диэтилбензимидазолия трийодид) // Известия Высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2012. – №1. – С. 110–4.
7. Зинзар С.Н., Лейтина Б.И., Туян Б.Г. и др. Злокачественные опухоли, возникшие из сингенных трансплантатов эмбрионального желудочно-кишечного тракта // Вопросы онкологии. – 1972. – Т.18, № 4. – С. 89–92.
8. Ливицкий В.И., Пыщев А.И., Вилков Г.А. и др. Лазин – представитель нового класса йодсодержащих препаратов // Тезисы докладов III Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М. – 1996. – С. 32.
9. Меерович И.Г., Оборотова Н.А. Применение липосом в фотохимиотерапии: 1. Липосомы в ФДТ // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 3–8.
10. Оборотова Н.А. Липосомальные лекарственные формы противоопухолевых препаратов (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. – 2001. – Т. 35, № 5. – С. 30.
11. Оборотова Н.А. Основные проблемы создания лекарственных форм противоопухолевых препаратов для внутривенного введения // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – Т. 2, № 2. – С. 27–31.
12. Оборотова Н.А. Итоги создания отечественных лекарственных форм противоопухолевых препаратов в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН // Вестник РАМН. – 2001. – № 9. – С. 18–23.
13. Оборотова Н.А., Барышников А.Ю. Липосомальные лекарственные формы в клинической онкологии // Успехи современной биологии. – 2009. – Т. 121, № 5. – С. 464.
14. Оборотова Н.А., Лопатин П.В. 30 лет лаборатории разработки лекарственных форм ГУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН // Российский биотерапевтический журнал. – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 3–7.
15. Оборотова Н.А., Лопатин П.В., Барышников А.Ю. Биофармацевтические аспекты создания лекарственных форм противоопухолевых препаратов // Российский онкологический журнал. – 2002. – № 5. – С. 8–11.
16. Оборотова Н.А., Санарова Е.В. Роль новых фармацевтических технологий в повышении избирательности действия противоопухолевых препаратов // Российский химический журнал. – 2012. – № 3–4. – С. 33–40.
17. Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Макарова О.А. и др. Доклиническое изучение липосомальной лекарственной формы фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 40–5.
18. Смирнова З.С., Меерович И.Г., Лукьянец Е.А. и др. Фенилтиозамещенные фталоцианины – новые фотосенсибилизаторы ближнего инфрокрасного диапазона // Российский биотерапевтический журнал. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 54–60.
19. Смирнова З.С., Оборотова Н.А., Макарова О.А. и др. Эффективность и фармакокинетика липосомальной лекарственной формы фотосенсибилизатора «Фотосенс» на основе сульфотфалоцианина алюминия // Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – Т. 39, № 7. – С. 3–7.
20. Страдомский Б.В., Солодунов Ю.Ю., Лыкова Е.О. Экспериментальная и клиническая фармакология мазевых форм Стелланина® (1,3-диэтилбензимидазолия трийодида). Ростов-на-Дону: Изд. НМЦ «Логос», 2009. – 70 с.
21. Толчева Е.В., Оборотова Н.А. Липосомы как транспортное средство для доставки биологически активных молекул // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5. – №1. – С. 54 – 61.
22. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ. // В кн. «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». Под ред. Хабриева Р.У. – 2 изд. переработ. и дополнен. М.: ОАО изд. «Медицина», 2005. – С. 637–51.
23. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. Под ред. З.П. Софьиной, А.Б. Сыркина, А. Голдина и др. М.: Медицина, 1980. – 293 с.
24. Bonnet S., Archer S.L., Allalunis-Turner J. et al. A Mitochondria-K+ Channel Axis Is Suppressed in Cancer and Its Normalization Promotes Apoptosis and Inhibits Cancer Growth // Cancer Cell. – 2007. – 11. – P. 37–51.
25. Derkacheva V.M., Meerovich G.A., Meerovich I.G. et al. Heterooxaluminium tetra-3-phenyl thiophthalocyanin is a new effective photosensitizer for photodynamic therapy and fluorescent diagnosis// Bulletin Experimental Biology and Medicine - 2005. - Vol. 139.- №4.- P. 422–26.
26. Meerovich I.G., Smirnova Z.S., Oborotova N.A. et al. Hydroxaluminium tetra-3-phenylthiophthalocyanine is a new effective photosensitizer for photodynamic therapy and fluorescent diagnosis// Bulletin of experimental biology and medicine. – 139. – № 4. – P. 427–30.
27. http://thomsonreuters.com/products_services/science/training/integrity.

СПИСОК ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДЭБИ-М	– 1,3-диэтилбензимидазолия моноиодида
ДЭБИ-Т	– 1,3-диэтилбензимидазолия трийодида
КД	– курсовая доза
ПВП	– поливинилпирролидон
РД	– разовая доза
ПЖ	– продолжительность жизни
СД	– суточная доза
СПЖ	– средняя продолжительность жизни.
СТ	– Стелланин®
УПЖ	– увеличение продолжительности жизни.
IC ₅₀	– концентрация, вызывающая гибель 50% клеток