



Сборник материалов третьей международной научно-практической конференции, посвященной, в честь 60-летия со дня основания Академии наук китайской традиционной медицины и 85-летия со дня рождения выдающегося кыргызского фармаколога, академика А.А. Алтымышева:

«Охрана и устойчивое использование ресурсов лекарственных растений»

(15-18 октября 2015 г., центр отдыха
«Ах-Марал», с. Бает Иссык-Кульской
области Кыргызской Республики)

Организаторы конференции: *Мировая федерация общества Традиционной китайской медицины "Применение лекарственных средств растительного происхождения", международный комитет по обороту лекарственных средств растительного происхождения и Инновационный центр фитотехнологий НАН КР.*



Создание нового противоопухолевого лекарственного препарата КДЗ

С.н.с., к.м.н. Камчибекова Ч.

ИЦФ НАН КР лаб. Биокмползитов

Разработка антибластомных средств в мире против злокачественных заболеваний остается актуальной проблемой. В связи с повсеместным ростом онкологических заболеваний во всех странах уделяют пристальное внимание созданию эффективных и безопасных противоопухолевых лекарственных средств. Обостренный интерес к данной проблеме объясняется и расширением сферы побочных действий противоопухолевых препаратов. Например, некоторые противоопухолевые средства вызывают изменения в эндокринной системе, проявляют иммунодепрессивное действие, нейротоксичность [2].

В связи с этим в современной медицине наряду с достижениями научно-технического прогресса особое внимание уделяется созданию новых противоопухолевых средств близких к метаболитам организма, они могут обладать малой токсичностью на основании фармакологических исследований, хорошей растворимостью, избирательностью действия по физико-химическим свойствам, которые регулируются процессом абсорбции через клеточные мембраны в зависимости от природы носителя и его активности и проникающей способностью через гематоэнцефалические барьеры в организме [6].

Лечение опухолевых заболеваний противоопухолевыми препаратами является перспективным направлением в онкологической практике, где определенное место принадлежит алкилирующим агентам, нитрогенным мустардам, нитрозомочевинам, производным нитрозоалкилмочевин, такие как нитрозометилмочевина, стрептозотоцин, араноза и др. В качестве продуктов синтеза производных нитрозоалкилмочевин можно использовать N-гликозиды, моносахариды [3].

В современной медицине в области химиотерапии опухолей значительную роль играют, кроме разработки противоопухолевых средств, такие как профилактика, диагностика и методы лечения [1]. В профилактической химиотерапии последнего поколения назначаются комбинации производных нитрозоалкилмочевин для полного блокирования злокачественных новообразований и снятия болевых синдромов при метастазах рака. Производные нитрозоалкилмочевин применяются в монотерапии и комбинации с другими противоопухолевыми препаратами.

Проводятся исследования по созданию более совершенных методов химиотерапии почти при всех видах злокачественных новообразований. Положительные результаты получены по разработке эффективных способов химиотерапии в сочетании с другими видами лечения, нацеленными на излечение или продление жизни больного.

Современная высокотехнологичная диагностика оборудована аппаратурой последнего поколения, которая определяет индивидуальную и мультидисциплинарную программу лечения, например, при раке органов желудочно-кишечного тракта в детском и взрослом отделениях гастроэнтерологии проводятся методы диагностики рака пищевода, желудка, кишечника, поджелудочной железы, желчного пузыря и др.; начиная с анализа и биохимических показателей крови используются онкомаркеры; гастроскопия, колоноскопия, эндоскопическое, трансректальное ультразвуковое исследование и УЗИ брюшной полости, видеокапсула, хромоэндоскопия, технологии HD; pH пищевода; КТ. Диагностика рака желудка проводится с помощью радиологического исследования с использованием ПЭТ, МРТ, лапароскопии и эзофагоскопии. При пищеводе Барретта также проводится хромокопия, ZOOM, прицельная биопсия, манометрия пищевода, импедансометрия. При раке толстого кишечника: энтерография с контрастным веществом, генетическая иммуногистохимия, мутации K-RAS и др.; при раке прямого кишечника: ректороманоскопия, фиброколоноскопия, рентгенирригография, обзорное рентген исследование и др.

Важное значение имеют современные методы лечения опухолей: лекарственные, хирургические, лучевая терапия, комбинированные, комплексные и др., которые являются эффективными при злокачественных формах раковой опухоли, такие как солидные раковые опухоли, заболевания кроветворных и лимфоидных тканей и др. Разработаны эффективные комбинации с разными механизмами действия: усиленные, малотоксичные и оптимальные. Актуальны рациональные режимы ХТ, синергизм лекарств в зависимости от лечебной задачи и целей применения. Внедрены в практику производные НАМ - препараты I ряда, которые обладают радиомиметическими и карбамоилирующими свойствами и другие, например, таксаны, ингибиторы топоизомеразы и т.д. с разными механизмами действия, широтой терапевтического спектра действия и высокой противоопухолевой активностью. На современном этапе химиотерапия опухолей оформилась как перспективный метод общего воздействия на опухоль.

Однако, арсенал препаратов для лечения раковых опухолей недостаточен, поскольку их практическое применение со временем может вызвать утрату эффективности. С внедрением в практику новых противоопухолевых средств появится возможность успешного лечения солидных форм опухолей, заболеваний кроветворных и лимфоидных тканей, считавшихся неизлечимыми. Следовательно, вопрос о

необходимости дополнения ряда средств, обладающих противоопухолевой активностью и достаточной терапевтической широтой своевременен и общепризнан. Надо отметить, что при всем многообразии проведенных исследований среди них не нашел достаточного выражения аспект производных нитрозоалкилмочевин [7].

В связи с этим нами приложено усилие по созданию более нового эффективного и безопасного противоопухолевого лекарственного препарата КДЗ (гликозил-НММ-1), синтезированного в Институте химии и химической технологии Национальной Академии наук Кыргызской Республики, который основывается на проведении физико-химических, аналитических, фармацевтических, фармакологических, морфологических и клинических исследованиях и др. по Инструкциям Фармакопейного и Фармакологического комитетов Министерства Здравоохранения Российской Федерации и Департамента лекарственного обеспечения и медицинской техники МЗ КР.

С целью решения предстоящей задачи нами проводилось изучение острой токсичности соединения КДЗ на подопытных животных в сравнении с циклофосфамидом [4]. Для проведения опыта по токсичности КДЗ руководствовались Временными методическими рекомендациями МЗ РФ, требованиями к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ, методическими указаниями по доклиническому изучению фармакологических веществ и руководством по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ» (М., 1998).

Эксперименты проводились на 120 белых беспородных мышах и крысах, содержащихся в условиях вивария. Исследуемое соединение КДЗ и циклофосфамид вводились внутрибрюшинно и внутривенно по 1 мл в различных дозах. Оценка результатов опыта проводилась через сутки после введения. Учитывалось состояние и процент погибших животных. Наблюдение за животными проводилось в течение недели. Определялась летальная доза, вызывающая гибель 50 % животных.

I серия опыта проводилась на белых беспородных мышах после внутрибрюшинного введения субстанции в дозах: 1800 и 1900 мг/кг. Клиническая картина проявлялась в кратковременном беспокойстве, умеренной бледности мордочек, ушей, передних и задних конечностей, хвоста. Животные были активными, принимали корм и адекватно реагировали на внешние раздражители. При повышении дозы до 2100 мг/кг интенсивность вышеуказанных признаков увеличивалась, держалась длительно, животные становились пассивными. После увеличения дозы до

2200 мг/кг на фоне общей бледности, акроцианоза наблюдались вялость, влажность шерстного покрова, учащение дыхания, адинамия. В дозе 2400 мг/кг в течение 2,5-3 часов животные погибали при клинической картине интоксикации ($LD_{50} = 1950$ мг/кг; $LD_{50} = 1950 (1695 \div 2321)$ мг/кг) (табл.).

Как известно, циклофосамид обладает невысокой токсичностью. LD_{50} равняется 100 мг/кг при внутрибрюшинном и внутривенном введениях. Токсическое влияние высокой дозы выражается в ухудшении состояния животных, снижения массы тела, сонливости, вялости, появлении цистита, нарушения функции желудочно-кишечного тракта и угнетения гемопоэза. Возникают конъюнктивиты с мелкими кровоизлияниями, иногда некрозы на коже. Обладает слабой обратимостью токсического действия. Гибель животных наступает через 1-1,5 часов [169].

II серия эксперимента проведена на белых беспородных крысах. После внутривенного введения соединения КДЗ в дозах: 600 и 700 мг/кг клиническая картина выражалась в кратковременном беспокойстве, гиперсаливации, учащении дыхания, появлении икотных движений, бледности мордочек, ушей, передних и задних конечностей, хвоста. Животные принимали корм, были подвижны и реагировали на внешние раздражители. При повышении дозы до 800 мг/кг интенсивность, указанной клинической картины усилилась.

Таблица - Определение острой токсичности соединения КДЗ на белых беспородных мышцах путем внутрибрюшинного введения

№ пп	Показатели	Доза соединения, мг/кг				
		1800	1900	2100	2200	2400
1	Наблюдающийся эффект	0/6	2/6	4/6	5/6	6/6
	в пробитах	3,76	4,20	5,43	5,97	6,20
2	в процентах	29,79	33,3	66,6	83,3	88,4
3	Ожидаемый эффект					
	в пробитах	4,88	5,45	5,55	5,70	5,80
4	в процентах	45,2	50,52	70,8	75,8	78,8
5	Разность между эффектами					
	в процентах	34,4	38,47	4,2	7,5	9,6
6	χ^2	0,48	0,54	0,009	0,03	0,05

Животные стали бездейственными. При увеличении дозы до 900 мг/кг на фоне общей бледности и акроцианоза наблюдалась апатичность, влажность шерстного покрова, учащенное дыхание, адинамия. В дозе 1000 мг/кг в течение 2,5-3 часов погибли все животные при клинической картине интоксикации ($LD_{50} = 717$ мг/кг; $LD_{50} = 717 (623 \div 853)$ мг/кг).

Таким образом, опыты проведенные на животных по изучению острой токсичности КДЗ и циклофосамида показали, что КДЗ является малотоксичным соединением, ЛД₅₀ при внутрибрюшинном введении равняется 1950 мг/кг, внутривенном - 717 мг/кг, по степени токсичности относится к IV классу. Циклофосамид обладает невысокой токсичностью, ЛД₅₀ равна 100 мг/кг. КДЗ при внутрибрюшинном введении в 19-20 раз, внутривенном - 7 раз менее токсична, чем препарат сравнения.

С целью выявления возможного токсического резорбтивного действия проведено анатомо-морфологическое изучение органов и тканей подопытных животных в соответствии с Методическими рекомендациями ФК РФ, ДЛО и МТ МЗ КР в сопоставлении с препаратом сравнения [8].

При морфологическом исследовании острой токсичности погибшие животные вскрывались согласно общепринятым методикам. Животные забивались под эфирным наркозом. Внутренние органы (кожа с подлежащей мышечной тканью, почки, надпочечники и др.) забирались для гистологического исследования. Образцы ткани фиксировались в нейтральном формалине, обрабатывались и окрашивались общепринятыми способами. Микроскопия проводилась на микроскопе МБИ-15.

Результаты морфологического изучения внутренних органов показали, что после введения КДЗ у опытных групп животных признаков патологических изменений в коже, подлежащей мышечной ткани, в микроструктуре головного мозга, почек, надпочечников, печени, селезенки, сердца, легких, лимфатических узлов не выявлено. Микроскопически в подслизистой оболочке желудка наблюдается лимфо-лейкоцитарная инфильтрация. Структура эпителия, желез, слизистой, стромы и подслизистого слоя тонкого и толстого кишечника не изменены. На основании результатов морфологического изучения внутренних органов под влиянием КДЗ можно сделать вывод о том, что на аутопсии у погибших животных признаков токсического резорбтивного действия не выявлено. Таким образом, изучение микроструктуры внутренних органов показало отсутствие видимых изменений в морфологии у животных.

Проведено морфологическое изучение токсического резорбтивного действия циклофосамида по III-IV сериям опытов на внутренние органы животных. В микроструктуре печени у животных выявлена жировая дистрофия, некроз печени; в почках отмечалось набухание стенок артериол и дегенерация эпителия канальцев; в щитовидной железе наблюдается накопление клеточных элементов соединительной ткани и макрофаги; в костном мозге увеличено число незрелых клеток миелоидного ряда с

повышенной базофилией цитоплазмы и уменьшено количество элементов эритропоэза.

Таким образом, при морфологическом изучении внутренних органов под действием циклофосамида в коже, подлежащей мышечной ткани, в структуре легких, сердца, надпочечников изменений не наблюдалось. В структуре почек отмечается набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев; развитие жировой дистрофии печени. В структуре селезенки, лимфатических узлов наблюдается уменьшение лимфоидных элементов. В слизистой оболочке желудка, кишечника отмечаются атрофические, дистрофические изменения, воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя.

Литература

1. Аткинсон А. Дж. Принципы клинической фармакологии / моногр. – М.: Прак. мед. 2013. - 556 с.
2. Афанасьев В. А. Строение и реакционная способность N-гликозидов. – Фрунзе, 1976. - 221 с.
3. Агеенко А. И. Новая диагностика рака: теория, диагностика, лечение, реабилитация / Росс. акад. естеств. наук. Секция биомед.: мет. пособ. для врачей. - М.: Мед. XXI, 2004. - 408 с.
4. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. - Л.: Медгиз, 1972. - 151 с.
5. Камчибекова Ч. К. Разработка методов синтеза эффективных противоопухолевых препаратов // Вестн. Оренб. госуд. ун-та. Экспер. биол. и медиц. - 2005. - № 12. - С. 76-80.
6. Корман Д. Б. Основы противоопухолевой химиотерапии / моногр. - М.: Прак. мед., 2006. - 512 с.
7. Машковский М. Д. Лекарственные средства / пособ. для врач. - перераб., испр. и доп. - М.: Новая волна, 2008. – Изд. 15. - 1206 с.
8. Меликсетян И. Б. Новые подходы к гистохимическому изучению клеточных структур различных тканей организма в условиях нормы и патологии: автореф. дис. ...д-ра биол. наук: 03.00.09. - Ереван, 2008. - 44 с.