

029583

НАУЧНО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ОНКОЛОГИИ И
МЕДИЦИНСКОЙ РАДИОЛОГИИ им. Н.Н.АЛЕКСАНДРОВА
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УДК 615.277.3: 616-006.6

КАРАВАЙ Александр Владимирович

**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ И МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ
МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ КОМПОЗИЦИИ ПРОИЗВОДНЫХ
L-ГЛУТАМИНА И L-ФЕНИЛАЛАНИНА
(нового противоопухолевого препарата “деглутам”)**

14.00.14 - онкология

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Минск - 2001г

Работа выполнена на кафедре онкологии с курсом лучевой диагностики и терапии Гродненского государственного медицинского университета МЗ РБ и в лаборатории биохимии аминокислот и их производных
Института биохимии Национальной академии наук Беларусь

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, доцент
К.Н.Углынича

Научный консультант:

доктор медицинских наук, ст. науч. сотр.
М.Г.Величко

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
А.Л.Машевский

доктор медицинских наук, профессор
Ю.Е.Демидчик

Оппонирующая организация:

Российский онкологический научный центр
им. Н.Н. Блохина РАМН

Защита состоится «___» 2001 года в ___ часов на заседании
Совета по защите диссертаций Д 03.12.01 при НИИ онкологии и медицинской
радиологии им.Н.Н. Александрова МЗ РБ (223052 г.Минск, п/о Лесное-2, тел.
269-95-95)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИИ онкологии и ме-
дицинской радиологии им. Н.Н.Александрова.

Автореферат разослан

«___» 2001 г.

Ученый секретарь
Совета по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук

Т.С Касьянова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ*

Актуальность темы диссертации. Известно, что отдельные L-аминокислоты и их дериваты являются эндогенными регуляторами активности процессов пролиферации, дифференциации и апоптоза злокачественных клеток, что позволяет применять эти соединения в качестве средств терапии злокачественных новообразований с "тройным" (канцеростатический, иммунокорректорный, метаболический) механизмом действия [Берёзов Т.Т., -1982, Вретлинд А., Суджян А., 1990, Нефёдов Л.И., 1999].

Фундаментальными исследованиями последнего десятилетия доказано, что к соединениям такого типа относятся L-глутамин, производные L-фенилаланина (фенилацетат), а также их конъюгаты (фенилацетилглутамин и фенилацетилизоглутамин) [Bartlett D.L. et al., 1995, Нефёдов Л.И., 1998, Calder P.C. et al., 1999,]. В клинических испытаниях показано, что при практически полном отсутствии побочных эффектов они обладают относительно высокой противоопухолевой активностью [Burzynski S.R., 1993].

Однако, до настоящего времени практически не исследованы механизмы противоопухолевого действия и метаболические эффекты указанных соединений, а также их комбинаций, на опухоль и макроорганизм.

Стратегия разработок Института биохимии НАН Беларуси в области биохимии и медицинского применения L-аминокислот, технологии получения их высокоочищенных субстанций Института физико-органической химии НАН Беларуси и наличие производственной базы на Гродненском заводе медпрепаратов позволяют создать на основе этих соединений новые противоопухолевые препараты и внедрить их в клиническую практику [Нефёдов Л.И., 2000].

Связь работы с крупными научными программами и темами. Работа выполнена в рамках реализации проекта VI раздела ГНТП 43.01р. «Создать новые эффективные лекарственные препараты» — 06.05. Разработать и внедрить на Гродненском заводе медпрепаратов противоопухолевый препарат на основе L-глутамина (№ ГР 1998697).

Цель и задачи исследования. Целью работы явилось исследование противоопухолевой активности и механизмов реализации метаболических эффектов композиции производных L-глутамина и L-фенилаланина (в дальнейшем — новый противоопухолевый препарат "деглутам"), для достижения которой были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать противоопухолевую активность препарата "деглутам".

* Принятые сокращения: Ala - аланин, ALT - аланинаминотрансфераза, Asn - аспарагин, Asp - аспарагиновая кислота, AST - аспартатаминотрансфераза, в/бр — внутрибрюшинно, в/ж — внутрижелудочно, Val - валин, His - гистидин, НК - гексокиназа, Gl - глюкоза, G6P - глюкозо-6-фосфат, G6PS - глюкозо-6-фосфатаза, Gly - глицин, Gln - глутамин, Glu - глутаминовая кислота, ДГ — "деглутам", IDH - изоцитратдегидрогеназа, Leu - изолейцин, ИЭ — индекс эффективности, Leu - лейцин, Lys - лизин, м - митохондриальная форма, MDH - малатдегидрогеназа, Met - метионин, LA - лактат, PDH - пируватдегидрогеназа, PA - пируват, Pro - пропион, ПЖ - продолжительность жизни, Ser - серин, САК - свободные аминокислоты, Thr - треонин, ТРО + торможение роста опухоли, с - цитоплазматическая форма, Cys - цистин, Ctr - цитруллин

2. Выяснить вероятные механизмы противоопухолевого и метаболического действия препарата “деглутам” на опухоль и организм онкоболеносителя
3. Разработать способ определения индивидуальной чувствительности опухолей к исследуемому препарату.
4. Экспериментально обосновать применение препарата “деглутам” в качестве средства профилактики и лечения конкретных злокачественных новообразований и разработать оптимальные режимы его введения.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования явились крысы линии Wistar CRL:(WI) WU BR с перевитыми пигмами опухолей W 256, S-15, Sa M-1, PC -1, клеточные линии лейкемии L 1210, асцитной карциномы Эрлиха, саркомы 37, гепатомы MG-22^a, карциномы HeLa и операционные биоптаты злокачественных новообразований человека. Предмет исследования — специфическое действие препарата “деглутам” на рост опухолей и клеточных линий, на лимитирующие злокачественный рост метаболические показатели в опухолях, плазме крови и печени опухоленосителей.

Гипотеза. В соответствии с разработанной стратегией использования регуляторного действия эндогенных концентраций L-аминоислот [Нефёдов Л.И., 2000], композиция производных L-глутамина и L-фенилаланина может обладать противоопухолевой активностью, механизм реализации которой включает воздействия на регламентирующие неопластический процесс ключевые реакции обмена веществ в опухоли и направленную коррекцию метаболического дисбаланса в организме опухоленосителя.

Методология и методы проведенного исследования. Основой данного исследования явились оценка противоопухолевой активности препаратов по критериям NCI и методы аналитической биохимии (высокоэффективная ионообменная жидкостная хроматография, энзимологические и радиометрические), а также интерпретация результатов с применением t-статистики и корреляционного анализа.

Научная новизна полученных результатов. Впервые показано, что композиция производных L-глутамина и L-фенилаланина (Na^+ -фенилацетилглутамин и фенилацетат в соотношении 3:7 — препарат “деглутам”) в системе *in vitro* оказывает значимое цитотоксическое действие и обладает выраженной ростингибирующей активностью по отношению к опухолевым клеткам.

Доказано, что “деглутам” вызывает умеренную степень повреждения опухолевых клеток и ингибирует их пролиферативную активность, увеличивает зоны некроза опухолей, а его противоопухолевое действие наиболее выражено у крыс-онкоболеносителей W-256.

Впервые определено, что противоопухолевый эффект “деглутама” практически не зависит от способа введения, наиболее эффективным режимом является его длительное назначение в дозе 250 мг/кг/сут в несколько приемов, его совместное применение с циклофосфаном или платидиамом позволяет повысить эффективность химиотерапии последними.

Впервые продемонстрировано, что наиболее чувствительными *in vitro* к противоопухолевому действию “деглутама” в порядке убывания являются клеточные культуры злокачественных новообразований предстательной, молочной железы, мочевого пузыря, яичников, острого миелобластного лейкоза, сарком мягких тканей. Клеточные культуры рака желудка, толстой кишки и меланомы практически нечувствительны к прямому повреждающему действию препарата в системе *in vitro*.

Впервые продемонстрировано, что “деглутам”, способствуя ликвидации метаболического дисбаланса, формирующегося при злокачественном росте, вызывает изменения в обмене веществ в опухоли и организме хозяина, противоположные по направленности индуцированным неопластическим ростом.

Впервые доказана зависимость реализации противоопухолевого механизма действия “деглутама” от эндогенных концентраций L-глутамина и аминокислот, конкурирующих с ним за общие системы внутриклеточного транспорта.

Практическая значимость результатов исследования. Проведенные исследования послужили основанием для разработки на основе производных L-аминокислот нового противоопухолевого препарата “деглутам” (приоритетная справка а19990937 от 15.10.1999 г.), предназначенного для терапии злокачественных новообразований и профилактики рецидивов онкологических заболеваний после их радикального лечения, и получения разрешения МЗ РБ на проведение клинических испытаний с рекомендацией к производству на Гродненском заводе медпрепаратов.

В системе *in vitro* выявлены наиболее чувствительные к специальному действию препарата злокачественные новообразования человека, определены регламент и вероятные показания для клинических испытаний препарата “деглутам”.

Доказана информативность спектра свободных аминокислот и их производных в плазме крови, печени и опухоли для оценки противоопухолевого действия препаратов, создаваемых на основе аминокислот и родственных соединений. На основе исследования ключевых метаболических процессов, характеризующих злокачественный рост, обоснован новый метод направленной метаболической терапии новообразований препаратом “деглутам”.

Социально-экономическая значимость полученных результатов. Заключается в разработке конкурентоспособного отечественного противоопухолевого препарата, производство которого может быть реализовано в Республике Беларусь.

Основные положения, выносимые для защиты.

1. Новый лекарственный препарат “деглутам” по базовым параметрам специфической активности соответствует основным критериям противоопухолевых средств и способствует ликвидации метаболического дисбаланса, формирующегося при злокачественном росте.

2. Противоопухолевое действие “деглутама” практически не зависит от способа введения, а наиболее эффективным является его длительное назначение в дозе 250 мг/кг/сут в несколько приемов, а его совместное применение с циклофосфаном или цисплатином позволяет повысить эффективность химиотерапии последними.

3. Наиболее чувствительными в системе *in vitro* к противоопухолевому действию “деглутама” в порядке убывания являются клеточные культуры злокачественные новообразований предстательной и молочной желез, мочевого пузыря, яичников, острого миелобластного лейкоза, сарком мягких тканей. Клеточные культуры рака желудка, толстой кишки и меланомы практически нечувствительны к действию препарата в системе *in vitro*.

Личный вклад соискателя. Автором лично выполнена экспериментальная часть работы, статистическая обработка, обобщение и анализ полученных данных. Научные руководители оказывали помощь в обсуждении и трактовке результатов работы. Исследование противоопухолевой активности препарата *in vitro* выполнялось совместно с сотрудниками отделения химиолучевой терапии с экспериментальной группой НИИ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н.Александрова; определение противоопухолевой активности препарата и показателей метаболического контроля произведены совместно с сотрудниками ИБХ НАН Беларусь.

Апробация результатов диссертации. Основные положения работы представлены в материалах и докладывались на международных симпозиумах и конференциях: “Аминокислоты и их производные” (Гродно, 1996), “Национальная политика в области здорового питания в республике Беларусь” (Минск, 1997), посвящённой 40-летию ГГМИ (Гродно 1998), “Биологическая активность и транспорт лекарств” (Гродно, 1999), “Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности” (Минск, 1999), “Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза” (Гродно, 2000); II съезде онкологов стран СНГ (Киев, 2000), а также на республиканской научной конференции “Клинико-лабораторные аспекты метаболической терапии” (Витебск, 1999), съездах фармацевтов (Минск, 1999) и биохимиков Республики Беларусь (Гродно, 2000).

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликована 21 работа, из них: 3 статьи в рецензируемых научных журналах (2 статьи обзорного характера), 9 статей в рецензируемых сборниках научных трудов (из них 1 без соавторов), 6 тезисов докладов на международных симпозиумах и 1 — на республиканской конференции, заявлено 2 патента и получено 2 приоритетных справки на изобретения. Общее количество страниц опубликованных материалов — 52, в том числе написано лично автором — 38.

Структура и объём диссертации. Работа состоит из введения, общей характеристики и 5 глав, включающих литературный обзор, 4 глав собственных исследований и I заключения, а также списка использованных источников. Диссертация изложена на русском языке, на 106 страницах машинописного текста, иллюстрирована 24 таблицами и 22 рисунками. Список использованных источников занимает 14 страниц и включает 212 источников, в том числе 146 работ иностранных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Биологическая активность и клиническое применение L-глутамина и его производных (обзор литературы)

Представлены основные сведения о применении L-аминокислот в онкологии и их месте в патогенезе злокачественных новообразований, метаболизме эндогенных противоопухолевых соединений — производных L-глутамина и L-фенилаланина (антинеогластонов), их специфической активности, предполагаемых механизмах действия и опыте клинического применения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Комплексный препарат “деглутам” (ДГ) разработан в Институте биохимии НАН Беларуси. Субстанции, входящие в состав препарата, синтезированы и представлены для исследований Институтом физико-органической химии НАН Беларуси.

Первичный скрининг ДГ *in vitro* на стабильных клеточных линиях лейкемии L 1210, асцитной карциномы Эрлиха, саркомы 37 и гепатомы МГ-22^a, проведен методом краткосрочных культур в среде RPMI-1640 с определением по включению ¹⁴С-лейцина в структурные и функциональные белки цитотоксического индекса. Ростингибирующее действие ДГ оценивали на монослоевой культуре клеток HeLa [Flicker S.P., Buckley R.G., 1989]. Для осаждения клеток из суспензии использовали фильтры GF/B (Англия) в системе «Домбитол» (ДИА-М, Россия). Подсчет радиоактивности проводили на ЖСС «Mark-II» (Nuclear Chicago, США) с использованием мембранных фильтров HUFS 0,6 мкм.

Все экспериментальные исследования *in vivo* проводились на белых крысах Wistar CRL:(WI) WU BR массой 140–150 г. Карциносаркома Уокера 256 (W-256) перевивалась подкожно (п/к) или внутрибрюшинно (в/бр), саркомы M-1 (Sa M-1) и 45 (S 45), альвеолярный рак печени (PC-1) — п/к (~10⁶ клеток). Лечение начинали через 24 ч (W-256), на 4-5 сут (Sa M-1 и S 45) либо на 7 сут (PC-1) после трансплантации опухолей. Контрольные опухоленосители получали равный объем 0,9% раствора NaCl. Противоопухолевая активность ДГ *in vivo* оценивалась по регламенту NCI [Софьина З.П. и др., 1980] по торможению роста опухоли (ТРО) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ). Животных декапитировали под тиопенталовым наркозом через 24 ч после окончания лечения. В отдельном эксперименте изучалась выживаемость животных. Эффекты воздействия ДГ на опухоль *in vivo* оценивались также по морфологическим критериям: степени выраженности клеточного атипизма, наличию и выраженности вторичных изменений в опухоли, по состоянию сосудистой сети, по развитию очагов некроза в опухоли и митотическому индексу [И.Я.Зитаре, 1984]. Для оценки противоопухолевой активности ДГ его вводили опухоленосителям вышеуказанных выше штаммов (368 животных) в/ж либо в/бр в дозах: 50 мг/кг в течение 18 сут, 250-500 мг/кг в течение 7-10 сут. Для оценки метаболических эффектов препарата (124 крысы) его назначали в/ж в дозе 50 мг/кг в течение 10 сут опухоленосителям (W-256, Sa M-1, PC-1). С целью определения оптимальных путей и способов введения ДГ его вводили указанным опухоленосителям (330 крыс) в/ж, в/в,

в/бр либо п/к в дозах 100-1000 мг/кг в течение 3-10 сут, в зависимости от решаемых задач. Для определения спектра противоопухолевой активности ДГ использовались операционные биоптаты опухолей больных с верифицированными злокачественными новообразованиями, находившихся на лечении в онкологических отделениях Гродненской областной клинической больницы, определение проводили *in vitro* описанным выше методом краткосрочных культур.

Среды для культивирования готовили из реагентов отечественного производства квалификации не ниже хч. Для анализа свободных аминокислот (САК) и их производных использовали реактивы фирмы Lachema, стандартные растворы Calbiochem, Fluka AG, Serva, реагенты отечественного производства квалификации не ниже "хч" и органические растворители "осч" для жидкостной хроматографии". САК и их производные определяли на автоанализаторе аминокислот Т-339М (Чехия). Приём и обработка хроматографических данных осуществлялась с помощью программно-аппаратного комплекса "МультиХром-1" (а/о "МультиХром", г.Москва; версия программного обеспечения – 2.67). Меченные соединения (^{14}C -лейцин, ^{3}H -тимидин, ^{14}C -уридин, ^{14}C -пируват) поставлены ВО "Изотоп". В остальных методах использованы реактивы отечественного производства не ниже "хч"

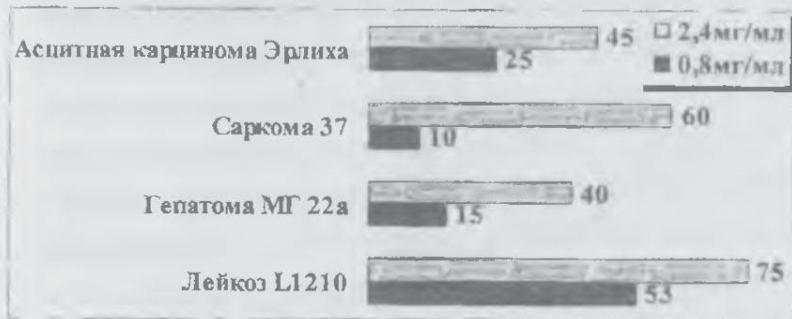
Определение спектра САК и их производных проводили в хлорнокислых экстрактах плазмы крови и тканей, содержащих в качестве внутреннего стандарта нормальный лейцин, высокоэффективной катионаобменной одноколоночной хроматографией по модифицированному [Нефёдов Л.И.,1993] методу [Бенсон Дж.В., Патерсон Дж.А., 1974] в ступенчатом градиенте Li-цитратных буферных растворов с нингидриновым детектированием. Активность пируватдегидрогеназы (PDH) в печени определяли по декарбоксилированию [1^{14}C]-пирувата (РА), лактат-(LDH), малат- (MDH) и изоцитратдегидрогеназы (IDH) – спектрофотометрически по образованию или убыли восстановленных форм никотинамидных коферментов, ферментов цикла трикарбоновых кислот и аминотрансфераз (AST, ALT), а также концентрации РА и лактата (LA) – спектрофотометрически, гексокиназы (НК) и глюкозо-6-фосфатазы (G6PS) – по скорости образования ADP и глюкозы [Островский Ю.М.,1984]. Содержание глюкозы определяли энзиматически по методу, основанному на сочетании гексокиназной реакции и окислении образуемого G6P с помощью G6PDH [Великий Н.Н.,1987]. Белок определяли по Лоури [Lowry O.H. et al.,1951].

Средние значения показателей в группах сравнивали с помощью t -критерия Стьюдента; внутригрупповые значения корреляций оценивали по корреляционным матрицам Пирсона [Афиши А., Эйзен С.,1982]. Перечисленные методы были реализованы по статистическим программам 3d из пакета BMDP (BMDP Statistical Software).

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА "ДЕГЛУТАМ" [4,5,10,11,14,16,17]

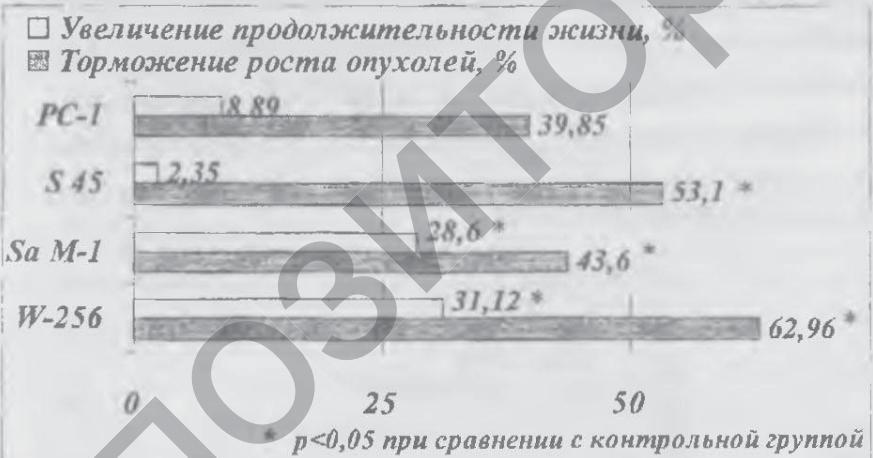
Противоопухолевая активность препарата *in vitro* [4,5,11]. ДГ обладает выраженной ростингибирующей активностью по отношению к клеточной линии HeLa с мак-

симальным (95,1%) эффектом при его содержании в среде инкубации в концентрации 5,0 мг/мл и оказывает значимое цитотоксическое действие на клетки лейкоза L 1210 и саркомы 37, вызывая торможение синтеза их структурных и функциональных белков *in vitro* (рис.1)



Противоопухоловая активность препарата *in vivo* [4,5,10,14,17]. Противоопухоловое действие ДГ при его в/ж или в/бр введении в течение 7–18 дней в дозах 1/100, 1/20 или 1/10 LD₅₀ (50 мг/кг, 250 мг/кг и 500 мг/кг массы тела соответственно [Нефёдов Л.И., 2000]) наиболее выражено у опухоленосителей W-256: ТРО >60% и увеличение ПЖ по сравнению с контрольной группой на 31,12% (рис. 2).

Назначение ДГ опухоленосителям Sa M-1 на протяжении 7 суток в дозах 250 мг/кг или 500 мг/кг вызывало увеличение ПЖ на 28,6% и 27,7% соответственно, не оказывая выраженного действия на рост опухоли, а при в/бр введении в дозе 500 мг/кг в течение 7 суток опухоленосителям S 45 ДГ ингибировало по сравнению с контролем рост опухоли > 50%, значительно не увеличивая ПЖ животных. Препарат был практически неэффективен в отношении альвеолярного рака печени PC-1 (рис. 2).



Морфологическая оценка противоопухоловой активности препарата “деглутам” [16]. При в/ж введении ДГ опухоленосителям W-256, Sa M-1, S-45 ДГ он специфически и дозозависимо вызывает умеренное повреждение опухолевых клеток (индекс К 0,5 ≤ K ≤ 1,9), более, чем в 3 раза ингибируя пролиферативную активность клеток W-256 и достоверно (на 64,6 – 88,6 %) увеличивает зоны некроза опухолей W-256, Sa M-1 и S 45.

Рис. 1. Цитотоксическое действие ДГ на стабильные клеточные линии экспериментальных опухолей (% включения U¹⁴C-лейцина в белки опухолевых клеток по отношению к контролю).

Рис. 2. Торможение роста опухолей и увеличение продолжительности жизни опухоленосителей W-256, Sa M-1, S 45 и PC-1 на фоне назначения ДГ

МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ И МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ ЭФФЕКТОВ ПРЕПАРАТА "ДЕГЛУТАМ" В ОПУХОЛИ И ОРГАНИЗМЕ ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ [3-5,8,9,12,13,16,17]

Действие препарата "деглутам" на метаболические процессы, регламентирующие опухолевый рост [3-5,8,9,12,13,17,18]. ДГ, вызывая изменения в обмене веществ опухоли и организме хозяина, противоположные по направленности, индуцированным неопластическим процессом, способствует ликвидации формирующегося при злокачественном росте метаболического дисбаланса: угнетает гликолиз и активирует глюконеогенез (вызывает увеличение свободной GL в печени опухоленосителей, ингибирует НК и практически нормализует активность G6PS и уровень G6P); снижает в печени активность цитозольной и митохондриальной IDH и активирует цитоплазматическую MDH; ингибирует митохондриальные трансаминазы в печени, вызывая повышение их активности в цитоплазме гепатоцитов и плазме крови опухоленосителей W-256 (рис. 3), практически не влияя на перечисленные показатели у низкочувствительных к противоопухолевым эффектам ДГ опухоленосителей Sa M-1 и PC-1.

В опухолях W-256 по сравнению с PC-1 на фоне более низкого содержания незаменимых САК, внутриклеточный фонд САК был обогащён на 40% за счёт высоких концентраций заменимых, в особенности —Gln и Glu. При этом суммарное содержание САК, внутриклеточный транспорт которых, подобно Glu и Gln, осуществляется А-системой (Ala, Ser, Thr, Val, Leu, Ile, Phe, Тир, His, Met, Gly), в клетках W-256 был на 30% ниже, чем в канцероцитах PC-1.

Чувствительность опухолей к ДГ положительно коррелирует с концентрацией САК группы Glu (Gln, Glu, Pro, Orn, Ctr), в том числе с уровнем самого Gln: назначение ДГ вызывает в чувствительной к нему опухоли W-256 повышение уровней САК, синтезирующихся из Glu, снижение — эндогенного Gln, а также САК, транспортируемых в опухоль специфичной для него системой, в то время как в низкочувствительной к препарату опухоли PC-1 перечисленные эффекты ДГ были диаметрально противоположными (рис. 4).

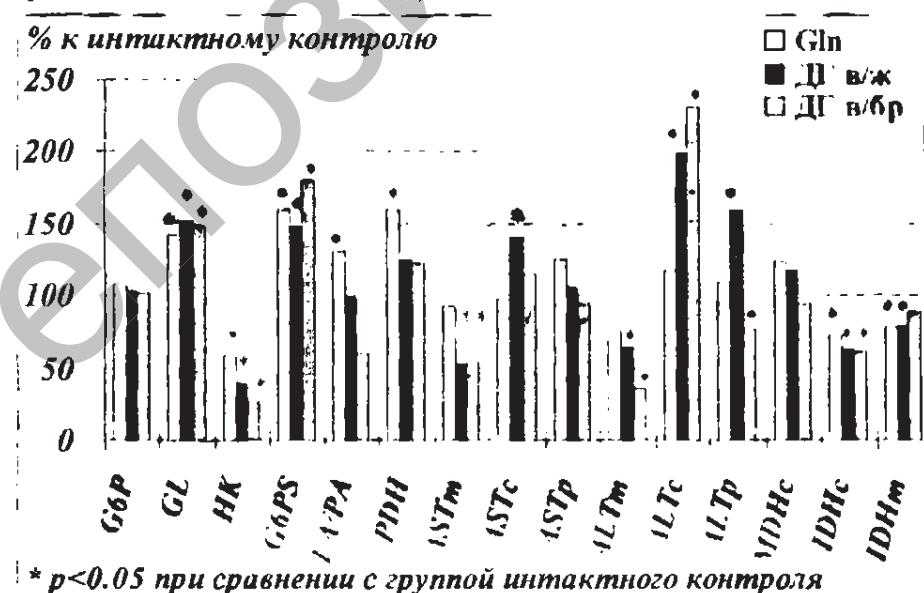


Рис. 3. Активность ферментов и уровни субстратов в печени крыс-опухоленосителей W-256 на фоне воздействия ДГ или L-Gln.

ДГ не устраняет сформировавшуюся при злокачественном процессе дисаминоацидемию и аминокислотный дисбаланс в печени опухленосителей, значимо не изменяя в ней содержание Gln.

Механизмы специфической метаболической и противоопухолевой активности препарата "деглутам" [4,9,18]. L-Gln при его в/ж назначении опухленосителям W-256, вызывая обеднение фонда САК, угнетал гликолиз и активировал глюконеогенез в печени, оказывая одностороннее действие с ДГ, но менее выраженное, действие. При этом на фоне введения Gln или ДГ концентрация Gln у опухленосителей W-256 снижается в печени, плазме крови и опухлевой ткани, а у опухленосителей Sa M-1 и PC-1 только в опухоли.

Одновременно, в плазме крови и печени опухленосителей W-256 при назначении ДГ суммарное содержание САК, конкурирующих с Gln за общую систему трансмембранных переноса снижается и не меняется в опухоли, а у опухленосителей Sa M-1 и PC-1 перечисленные сдвиги диаметрально противоположны.

Изменения концентраций САК на фоне в/ж введения Gln сопровождаются исчезновением существующей у контрольных опухленосителей W-256 высокодостоверной отрицательной коррелятивной связи ($r = -0,98$) между уровнями Gln в печени и опухоли и подтверждает его избирательное накопление опухолью. В свою очередь, при в/ж введении ДГ такая зависимость сохраняется между уровнями Gln в плазме крови и печени, но не в ткани опухоли, что указывает на зависимость реализации "антителатаминового" механизма действия ДГ от эндогенной концентрации Gln и САК, конкурирующих с ним за общие системы внутриклеточного транспорта.

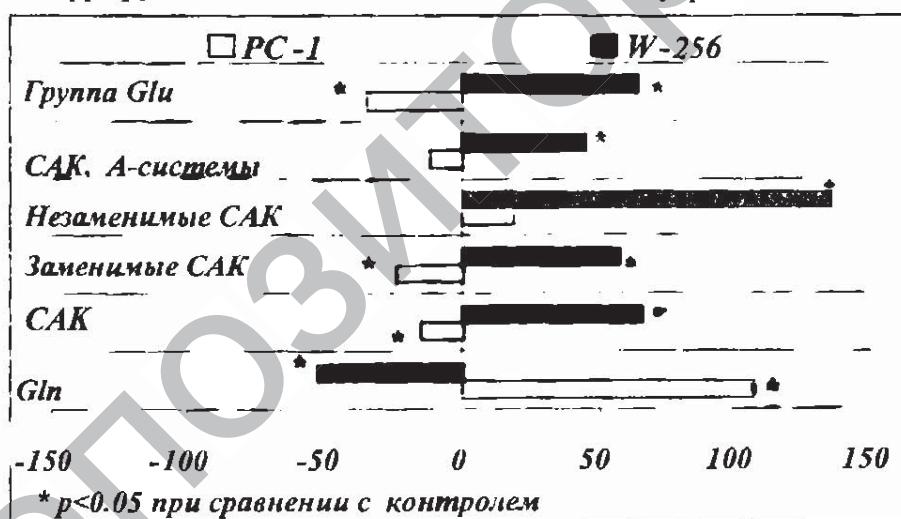


Рис. 4. Изменения (% к контролю) в содержании САК в чувствительной (W-256) и нечувствительной (PC-1) к действию ДГ опухолях на фоне его введения

Начало проявления противоопухолового действия ДГ по времени совпадает с максимальным увеличением массы тимуса: $0,18 \pm 0,04$ г у контрольных опухленосителей W-256 против $0,39 \pm 0,05$ г и $0,47 \pm 0,05$ г ($p < 0,05$) соответственно у животных получавших ДГ в/ж и в/бр в дозе 250 мг/кг/сут, в течение 12 дней, начиная с 7 сут после перевивки опухоли), что предполагает наличие у препарата иммуномодулирующего эффекта и "тройного" (противоопухолового, метаболического и иммуномодулирующего) механизма действия (рис. 5).



Рис. 5. Специфические эффекты и механизмы реализации противоопухолевого действия препарата "деглутам"

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА “ДЕГЛУТАМ” В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА [10,11]

Обоснование эффективных доз и способов введения препарата "деглутам" в качестве средства профилактики и лечения злокачественных новообразований [10]. При ежедневном в/в введении ДГ опухоленосителям W-256 (в/бр имплантация опухоли) через 24 ч после перевивки опухоли, судя по увеличению их ПЖ (на 39,7% и 28,0%), его наиболее эффективными терапевтическими дозами оказались соответственно 100 или 250 мг/кг в течение 5 сут; в случае начала лечения через 72 ч после перевивки - 500 мг/кг на протяжении 5 сут (на 31,7%) или 1000 мг/кг (на 39,7%) при его назначении через день (3 инъекции ДГ). При в/бр способе введения через 24 ч после перевивки опухоли W-256 в течение 8 суток наиболее оптимальной оказалась доза ДГ 250 мг/кг (ТРО через 1 или 5 сут после отмены ДГ 40,7% и 39,2% соответственно), а для получения лечебного эффекта при развившихся ($0,95 \pm 0,16$ г) опухолях – 500 мг/кг/сут (8 сут), вызывающая ТРО на 1 и 5 сут после отмены ДГ соответственно на 32,8% и 26,4%. При в/ж способе назначения ДГ наиболее эффективным оказалось

его введение в дозах 250 мг/кг или 500 мг/кг в течение 10 сут, вызывающее ТРО на 1 сут после отмены препарата соответственно на 78,6% и 80,8%.

Назначение ДГ опухоленосителям Sa M-1 в/бр в дозе 250 мг/кг или в/ж 500 мг/кг (10 сут) вызывает ТРО соответственно на 56,63 и 62,04%, а его в/ж введение в вышеуказанных дозах увеличивает ПЖ животных более, чем на 25%.

Кроме того, судя по базовым критериям противоопухолевой активности ДГ, его назначение дважды в сут в дозе 125 мг/кг является более предпочтительным по сравнению с однократным ежедневным введением в дозе 250 мг/кг (ИЭ соответственно 3,42 и 2,05, срок введения 5 – 10 сут), а наиболее эффективным является длительное назначение ДГ: при ежедневном его введении в течение 5 или 10 сут в дозе 250 мг/кг/сут ИЭ на 11 сут после перевивки опухолей составляет соответственно 1,33 и 2,01. При описанных схемах назначения ДГ его противоопухолевое действие практически не зависит от способа введения, поскольку ИЭ при в/ж и в/бр введении соответственно равны 2,22 и 2,51.

Сравнение противоопухолевой активности ДГ, вводимого в дозе 125 мг/кг дважды в сут в/бр, в/ж или п/к опухоленосителям W-256 в течение 7 сут начиная с 1 сут после перевивки опухолей показало, что ТРО, оцениваемое через 24 ч после его отмены, было незначительным (от 5,84% при в/ж до 12,57% при п/к введении). Однако, на 5 сут после отмены ДГ при его в/ж введении ТРО составило 48,13%, а в случае с в/бр и п/к способами – 68,23% и 74,73% соответственно.

- При назначении ДГ в течение 4 месяцев в качестве единственного источника питья опухоленосителей W-256 в виде его 1% водного раствора в первые 15 дней эксперимента наблюдается выраженный противоопухолевый эффект, проявляющийся полной регрессией опухолей у 60% животных. При этом все животные контрольной группы с развившимися до $63,25 \pm 5,3$ см³ опухолями погибли уже к 27 суткам, а рецидивов опухолей у опытных не отмечено и на 67 сутки эксперимента (рис. 6).

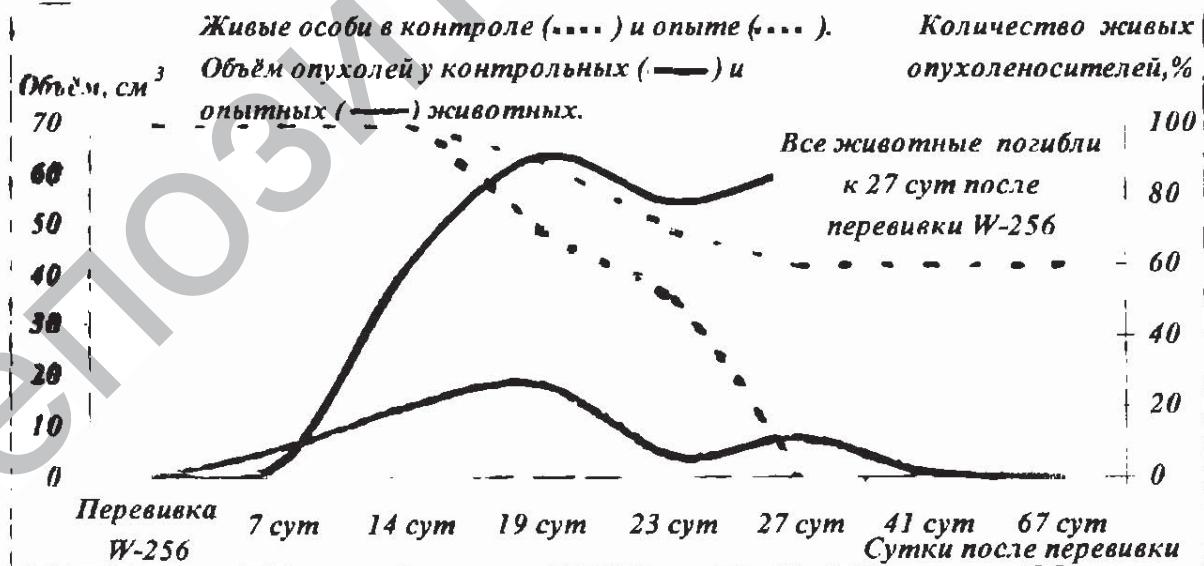


Рис. 6. Количество живых крыс-опухоленосителей W-256 (%) и изменение среднестатистического объема (см³) опухолей при замене питьевой воды 1% раствором препарата “деглутам”

Ежедневное назначение ДГ (в/бр, 125 мг/кг, в течение 10 сут), на фоне введения на 1 и 5 сут после перевивки опухолей циклофосфана (20 мг/кг), повышало эффективность химиотерапии, вызывая ТРО от 29,0% (PC-1) до 53,9% (Sa M-1) и 57,0% (W-256) по сравнению с опухоленосителями получавших только циклофосфан: PC-1 (ТРО 4%), Sa M-1 (ТРО 25,3%) и W-256 (ТРО 22,7%). В случае же аналогичного применения ДГ и платидиама (2 мг/кг/сут) их комбинация оказалось эффективной лишь у опухоленосителей W-256 (ТРО 66,9%) по сравнению с животными, получавшими лишь платидиам (ТРО 6,7%).

Апробация препарата "деглутам" в качестве противоопухолевого средства на биоптатах злокачественных новообразований человека [11]. При сравнительном исследовании включения ^{14}C -тимидина, ^{14}C -уридина или ^{14}C -лейцина в переживающие культуры биоптатов adenокарциномы молочной железы максимальное торможение включения зарегистрировано для ^{14}C -лейцина (61,3%), на основании чего он использован для проведения дальнейших исследований. Такое сравнение в зависимости от концентрации ДГ (0,2 - 8,0 мг/мл) в среде инкубации переживающей культуры биоптатов adenокарциномы молочной железы показало, что прямое повреждающее действие ДГ наиболее (55,85-70,35%) выражено при его концентрациях 0,8 - 2,4 мг/мл, а наиболее чувствительными из исследованных к его противоопухолевому действию *in vitro* оказались гормонозависимые опухоли человека: рак предстательной железы, рак молочной железы и рак яичников (торможение включения метки соответственно 87, 80 и 60%). В случае рака предстательной железы чувствительность к ДГ положительно коррелировала со степенью дифференцировки опухоли. Выраженное цитотоксическое действие ДГ отмечено также для клеток рака мочевого пузыря (72%), острого миелобластного лейкоза (75%), сарком мягких тканей (70%), а нечувствительными к препарату оказались опухоли желудочно-кишечного тракта и меланома (табл. 1).

Таблица 1

Цитотоксическое действие (%) по отношению к контролю) препарата "деглутам" на переживающие культуры основных злокачественных новообразований человека

Локализация	Количество наблюдений	% включения ^{14}C -Leu в белки опухолевых клеток по отношению к контролю
Рак предстательной железы	9	58-87
Рак мочевого пузыря	6	46-72
Рак молочной железы	7	65-80
Рак яичника	4	40-60
Рак желудка	5	3-15
Рак толстой кишки	5	7-11
Рак прямой кишки	5	9-13
Меланома	5	6-10
Острый миелобластный лейкоз	6	43-75
Саркомы мягких тканей	4	63-75

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Новый лекарственный препарат “деглутам” при оценке по базовым параметрам специфической активности соответствует критериям противоопухолевых средств, поскольку:

1.1. *in vitro* обладает выраженным ростингибирующей активностью по отношению к опухолевым клеткам HeLa, индуцируя в интервале концентраций 2,5 - 5,0 мг/мл торможение их роста на 95% и 95,1% соответственно, а в концентрациях 0,8 - 2,4 мг/мл оказывает значимое цитотоксическое действие на клетки лейкоза L 1210 и саркомы 37, вызывая торможение включения меченого предшественника ($U^{14}C$ -лейцина) синтеза их белков на 53-75% и 60% соответственно. Клетки асцитной карциномы Эрлиха и гепатомы МГ 22а оказались практически нечувствительны к действию препарата [4,5,11,12];

1.2. при назначении препарата “деглутам” в интервале доз 50 - 500 мг/кг массы тела опухоленосителей крысам с подкожно перевитыми штаммами экспериментальных опухолей (W-256, Sa M-1, S-45, PC-1) в течение 7 – 18 суток оказывает наиболее выраженное противоопухолевое действие в отношении карциносаркомы W-256, вызывая торможение её роста более чем на 60%, одновременно увеличивая продолжительность жизни крыс-опухоленосителей на 31,12%. Вызывая более чем на 25%, увеличение продолжительности жизни крыс-опухоленосителей Sa M-1, “деглутам” практически не оказывает действия на критерии, характеризующие её рост, одновременно, не изменяя продолжительность жизни опухоленосителей S 45, достоверно тормозит рост самой опухоли более чем на 50%. Альвеолярный рак печени PC-1 оказался практически нечувствительным к действию исследуемого препарата [4,5,10,12,15,18];

1.3. индуцирует умеренную (индекс $0,5 < K < 1,9$) степень повреждения опухолевых клеток и ингибирует на 60% пролиферативную активность клеток W-256, увеличивая зоны некроза практически всех исследованных перевиваемых опухолей на 64 – 89 % [17].

2. Исследуемый препарат “деглутам” способствует ликвидации метаболического дисбаланса, формирующегося при злокачественном росте, поскольку вызывает изменения в обмене веществ опухолей и организме хозяина, противоположные по направленности индуцированным неопластическим процессом:

2.1. при назначении в дозе 50 мг/кг массы тела крыс-опухоленосителей в течение 18 суток угнетает гликолиз, снижая активность митохондриальных дегидрогеназ и трансаминаз в печени опухоленосителей W-256, одновременно практически не влияя на перечисленные показатели у низкочувствительных к специфическим эффектам препарата опухоленосителей Sa M-1 и PC-1 [4,5,8,12,13,14,18,19];

2.2. чувствительность опухоли к исследуемому препарату определяется активностью метаболических процессов, ответственных за формирование её аминокислотного фонда: назначение “деглутама” индуцирует в наиболее чувствительной к нему опухоли W-256 обогащение суммарного фонда свободных аминокислот и их дерива-

тов, включая повышение уровней синтезирующихся из глутаминовой кислоты, а также снижение концентраций глутамина и аминокислот, транспортируемых в опухоль специфичной для него системой. В практически нечувствительной к "деглутаму" опухоли PC-1 эффекты препарата были диаметрально противоположными установленным для W-256 [3,5,9,12,19];

2.3. чувствительность опухолей W-256 и PC-1 к препарату "деглутам" положительно коррелирует с концентрацией аминокислот группы Glu и, в первую очередь — с уровнем глутамина, а реализация "антиглутамового" механизма действия "деглутама" зависит от активности процессов биосинтеза и утилизации глутамина, определяющих его реальные концентрации, а также от концентраций аминокислот, конкурирующих с ним за общие системы внутриклеточного транспорта и влияющих на особенности межтканевого распределения и метаболизма эндогенного глутамина [4,9,19].

3. Наиболее эффективно назначение препарата "деглутам" крысам с исследованными перевитыми опухолями в дозе 250 мг/кг/сутки в несколько приемов. Противоопухолевый эффект "деглутама" практически не зависит от способа введения, наиболее эффективным является его длительное назначение. Превентивное назначение препарата вызывает торможение роста перевитых опухолей более чем на 50% на начальных этапах их развития, а совместное применение препарата "деглутам" с циклофосфаном или платидиамом позволяет повысить эффективность химиотерапии последними [10].

4. Препарат "деглутам" вызывает торможение биосинтеза белка (по включению ^{14}C -лейцина) в переживающих клеточных культурах биоптатов *in vitro* опухолей человека, причем наиболее чувствительными из исследованных к его противоопухолевому действию в порядке убывания являются клеточные культуры биоптатов рака молочной и рака предстательной железы, чувствительность которого к исследуемому препарату коррелирует со степенью дифференцировки, а также рака мочевого пузыря, рака яичников, острого миелобластного лейкоза, сарком мягких тканей. Клеточные культуры биоптатов рака желудка, толстой кишки и меланомы практически нечувствительны к прямому повреждающему действию препарата "деглутам" [11].

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ РАБОТ

Статьи

1. Антинеопластоны - новые противоопухолевые препараты / Нефёдов Л.И., Углиница К.Н., Каравай А.В., Фомин К.А., Каравай Н.Л. // Тетра Medica. –1997.- № 1.- С. 19-20.
2. Производные L-глутамина антинеопластоны (ANP) - новый класс природных противоопухолевых средств / Нефёдов Л.И., Фомин К.А., Каравай А.В., Жаврид Э.А., Углиница К.Н., Курбат Н.М., Каравай Н.Л., Солдатов В.С., Куваева З.И., Лопатик Д.В, Бондарева О.М. // Здравоохранение.- 1997.- N 7.- С. 28-31.

3. Механизмы реализации метаболической активности производных L-глутамина - противоопухолевых низкомолекулярных пептидов / Нефёдов Л.И., Угляница К.Н., Солдатов В.С., Смирнов В.Ю., Жаврид Э.А., Истомин Ю.П., Каравай А.В., Александрова Е.Н., Леднёва И.О., Прокопчик Н.И., Мотылевич Ж.В., Бородинский А.Н., Горенштейн Б.И., Караедова Л.М., Куваева З.И., Курбат Н.М., Фусточенко Б.П., Бондарева О.М. Лопатик Д.В. // Доклады НАН Беларуси. –1999.- Т. 43, № 2.- С. 44-47.

Сборники научных трудов

4. Специализированные смеси аминокислот для энтерального и парентерального питания / Нефёдов Л.И., Курбат Н.М., Угляница К.Н., Смирнов В.Ю., Дорошенко Е.М., Горенштейн Б.И., Бородинский А.Н., Караедова Л.М., Фусточенко Б.П., Островский С.Ю., Каравай А.В., Курбат М.Н., Ларина Т.Ф., Овчинников В.А., Маслакова Н.Д., Цыркунов В.М., Климович И.И., Дмитриев А.Л. // Национальная политика в области здорового питания в республике Беларусь: Материалы международной конференции. - Минск, 1997.- С. 74-76.
5. Механизмы реализации метаболической активности нового противоопухолевого препарата “деглутам” / Нефёдов Л.И., Угляница К.Н., Каравай А.В. Леднёва И.О., Величко М.Г., Жаврид Э.А., Истомин Ю.П., Смирнов В.Ю., Бородинский А.Н., Горенштейн Б.И., Караедова Л.М., Валиук Т.Ч. // Клинико-лабораторные аспекты метаболической терапии: Сборник статей.- Витебск, 1999.- С. 186-188.
6. Формирование фонда нейроактивных аминокислот, биогенных аминов и их производных в структурах ЦНС на фоне γ-облучения и дополнительного введения L-глутамина или N-ацетилглутамина / Каравай А.В., Нефёдов Л.И., Дорошенко Е.М, Воробьёв В.В. // Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности: Сборник статей.- Минск, 1999.- С. 70-72.
7. Биологические и иммунологические свойства нового лекарственного препарата -- производного глутамина / Горецкая М.В., Леднёва И.О., Каравай А.В., Дюрдь Т.И. // Биологическая активность и транспорт лекарственных веществ: Сб. ст. / Под ред. проф. Нефёдова Л.И.– Гродно, 1999.– С.39-43.
8. Mechanisms of metabolic activity realization and results of studies on specific antitumor activity of the novel medicinal preparation deglutam / Karavay A.V., Nefyodov L.I., Lednyova I.O., Velichko M.G., Borodinsky A.N., Gorenshtein B.I., Karayedova L.M., Smirnov.Yu., Valiuk T.Ch., Andreyeva E.S., Karavai N.L., Uglyanitsa K.N., Prokopchik N.I. // Proc of Internat. Symp. Biological activity and transport of drugs / Ed. L. Nefyodov.- Grodno, 1999.- P. 91-97.
9. Каравай А.В. Экспериментальная оценка противоопухолевых свойств нового производного L-глутамина // Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза: Материалы междунар. науч. конф. – Гродно: ГрГУ, 2000.- С. 199-202.
10. Закономерности формирования аминокислотного фонда в опухолях и организме хозяина при действии нового противоопухолевого препарата “деглутам” / Ка-

- вай А.В., Смирнов В.Ю., Величко М.Г., Угляница К.Н., Нефёдов Л.И. // Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза: Материалы междунар. науч. конф. - Гродно: ГрГУ, 2000.- С. 202-205.
11. Оценка противоопухолевой активности производных L-глутамина и фенилацетата методом краткосрочных клеточных культур / Леднёва И.О., Каравай А.В., Мотылевич Ж.В., Нефёдов Л.И. // Биохимические аспекты жизнедеятельности биологических систем: Сборник научных трудов.- Гродно, 2000.- С. 158-160.
 12. Формирование аминокислотного фонда в механизмах реализации специфической активности нового противоопухолевого препарата “деглутам”/ Каравай А.В., Смирнов В.Ю., Величко М.Г., Угляница К.Н. // Теория и практика медицины: Сборник научных трудов. Вып. 2. - Минск, 2000.- С. 61-62.
- Тезисы**
13. Biochemical mechanisms of realization of antitumor activity of LWP / Nefyodov L.I., Fomin K.A., Uglyanitsa K.N., Zhavrid E.A., Alexandrova E.N., Doroshenko Ye.M., Sminnov V.Yu., Motylevich Z.V., Fustochenko B.P., Gorenshtain B.I., Borodinskii A.N., Karaedova L.M., Karavay A.V. // Proc of Internat. Symp. “Amino Acids And Their Derivatives” / Eds. V. Soldatov, L. Nefyodov.- Grodno, 1996.- P. 65.
 14. Результаты исследования специфической противоопухолевой активности нового лекарственного препарата “деглутам” / Каравай А.В., Леднёва И.О., Нефёдов Л.И., Угляница К.Н., Жаврид Э.А., Курбат Н.М., Прокопчик Н.И., Мотылевич Ж.В., Солдатов В.С., Куваева З.И., Требухина Р.В. // Материалы международной конференции, посвящённой 40-летию ГГМИ.- Гродно, 1998.- С. 26.
 15. Сравнительная характеристика противоопухолевого действия фенилацетата и N-ацетилглутамина / Каравай А.В., Леднёва И.О., Нефёдов Л.И., Угляница К.Н., Мотылевич Ж.В., Жаврид Э.А., Курбат Н.М., Прокопчик Н.И., Солдатов В.С., Куваева З.И., Требухина Р.В., Лопатик Д.В., Бондарева О.М. // Материалы международной конференции, посвящённой 40-летию ГГМИ.- Гродно, 1998.- С. 27.
 16. Сравнительная патоморфологическая характеристика изменений в опухолевой ткани при действии фенилацетата и N-ацетилглутамина / Леднёва И.О., Каравай А.В., Прокопчик Н.И., Нефёдов Л.И., Угляница К.Н., Жаврид Э.А., Солдатов В.С., Куваева З.И., Лопатик Д.В., Бондарева О.М. // Материалы международной конференции, посвящённой 40-летию ГГМИ.- Гродно, 1998.- С. 41.
 17. Механизмы реализации метаболической активности производных L- глутамина – новых противоопухолевых лекарственных препаратов / Нефёдов Л.И., Угляница К.Н., Каравай А.В., Леднёва И.О., Смирнов В.Ю., Жаврид Э.А., Истомин Ю.П., Александрова Е.Н., Мотылевич Ж.В., Фусточенко Б.П., Бородинский А.Н., Караедова Л.М., Горенштейн Б.И., Солдатов В.С., Куваева З.И., Лопатик Д.В., Бондарева О.М., Воробьёв В.В., Прокопчик Н.И., Дорошенко Е.М., Требухина Р.В. // Материалы международной конференции, посвящённой 40-летию ГГМИ.- Гродно, 1998.- С. 44.

18. Результаты исследования противоопухолевой активности нового лекарственного препарата “деглутам” / Каравай А.В., Нефёдов Л.И., Леднёва И.О., Величко М.Г., Бородинский А.Н., Горенштейн Б.И., Караедова Л.М., Смирнов В.Ю., Дорошенко Е.М., Угляница К.Н., Прокопчик Н.И., Валюк Т.Ч., Жаврид Э.А., Истомин Ю.П., Александрова Е.Н., Курбат Н.М. // Сборник статей VI съезда фармацевтов РБ.- Минск, 1999.- С. 132-134.
19. Mechanisms of metabolic activity realization and results of studies on specific antitumor activity of the novel medicinal preparation deglutam / Nefyodov L.I., Karavay A.V., Velichko M.G., Lednyova I.O. // Онкология 2000: Тезисы II съезда онкологов стран СНГ // Эксперим. онкол.- 2000.- Т. 22 (Suppl.).- С. 268.

Патенты

20. Препарат, содержащий производное L-глутамина, обладающий противоопухолевой активностью / Нефёдов Л.И., Каравай А.В., Величко М.Г., Леднёва И.А. Валюк Т.Ч. // Заявка № а 19990937 от 15.10. 1999.
21. Препарат, содержащий производное L-глутамина, обладающий иммуномодулирующей активностью / Горецкая М.В., Мотылевич Ж.В., Нефёдов Л.И., Требухина Р.В., Каравай А.В. // Заявка № а 20000133 от 8.01. 2001.

18
РЭЗЮМЭ

КАРАВАЙ Аляксандр Уладзіміравіч

Супрацьпухлінная актыўнасць і механізмы реалізацыі метабалічных эфектаў кампазіцыі вытворных L-глутаміна і L-фенілаланіна (новага супрацьпухліннага прэпарату “дэглутам”)

Ключавыя слова: вытворныя L-глутаміна і L-фенілаланіна, супрацьпухлінная і метабалічная актыунасць.

Аб'ект даследавання: пацукі (822), эксперыментальныя пухліны і клетачныя лініі, тканкі (пухлінная, печань, кроў), біаптаты пухлін анкалагічных хворых (56).

Мэта работы: даследаванне супрацьпухлінай актыўнасці і механизмаў реализацыі метабалічных эфектаў кампазіцыі вытворных L-глутаміна і L-фенілаланіна — новага супрацьпухліннага прэпарату “дэглутам”.

Методы даследавання: ацэнка супрацьпухлінай актыўнасці па крытэрыям NCI, методы аналітычнай біяхіміі (высакоэфектыўная юнаабменная вадкасная храматографія, энзімалагічныя і радыёметрычныя), t-статыстыкі і карэляацыйнага аналіза.

Выкарыстаная апаратура: амінакіслотны анализатор T339, ВСЛ Mark-II, спектрафатометр Specord M-40, клінічная дыягнастычная апаратура.

Атрыманыя вынікі і их навізна: новы лекавы прэпарат “дэглутам” па базавым параметрам спецыфічнай актыўнасці адпавядае асноўным крытэрыям супрацьпухлінных сродкаў і садзейнічае ліквідацыі метабалічнага дысбаланса, фарміруючагася пры злякасным росце. Супрацьпухлінная актыўнасць “дэглутама” практычна не залежыць ад спосабу ўвядзення, а найболей эфектыўным з'яўляецца яго доўгася назначэнне у дозе 250 мг/кг/сут у некалькі прыёмаў. Прэвентыўнае назначэнне прэпарата выклікае тармажэнне роста карцінасаркомы W-256 на пачатковых этапах яе развіцця, а яго сумеснае прымяnenне з цыклофасфанам ці цысплацинай дазваляе павышыць эфектыўнасць хіміятэрапіі апошнім. Найбольш чулкімі к супрацьпухліннаму дзеянню “дэглутама” *in vitro* ў парадку памяншэння з'яўляюцца злякасныя новаўтварэнні прастаты, малочнай залозы, мачавога пузыра, яечніка, востры міелабластны лейкоз, саркомы мяккіх тканак. Рак стравініка, тоустай кішкі і меланома практычна нечулківы к дзеянню прэпарата.

Рэкамендацыі па выкарыстанню: матэрыялы дысертацыі могуць быць выкарыстаны пры правядзенні клінічных выпрабаванняў і вытворчасці новага супрацьпухліннага лекавага прэпарата “дэглутам”.

Галіна прымяnenня: клінічная і эксперыментальная анкалогія, медыцынская біяхімія.

РЕЗЮМЕ**КАРАВАЙ Александр Владимирович**

Противоопухолевая активность и механизмы реализации метаболических эффектов композиции производных L-глутамина и L-фенилаланина (нового противоопухолевого препарата "деглутам")

Ключевые слова: производные L-глутамина и L-фенилаланина, противоопухолевая и метаболическая активность.

Объект исследования: крысы (822), экспериментальные опухоли и клеточные линии, ткани (опухолевая, печень, кровь), биоптаты опухолей онкологических больных (56).

Цель работы: исследование противоопухолевой активности и механизмов реализации метаболических эффектов композиции производных L-глутамина и L-фенилаланина – нового противоопухолевого препарата "деглутам".

Методы исследования: оценка противоопухолевой активности по критериям NCI, методы аналитической биохимии (высокоэффективная ионообменная жидкостная хроматография, энзимологические и радиометрические), t-статистики и корреляционного анализа.

Использованная аппаратура: аминокислотный анализатор Т339, ЖСС Mark-II, спектрофотометр Specord M-40, клиническая диагностическая аппаратура.

Полученные результаты и их новизна: новый лекарственный препарат "деглутам" по базовым параметрам специфической активности соответствует основным критериям противоопухолевых средств и способствует ликвидации метаболического дисбаланса, формирующегося при злокачественном росте. Противоопухолевое действие "деглутама" практически не зависит от способа введения, а наиболее эффективным является его длительное назначение в дозе 250 мг/кг/сут в несколько приемов. Превентивное назначение препарата вызывает торможение роста карциносаркомы W-256 на начальных этапах её развития, а его совместное применение с циклофосфаном или цисплатиной позволяет повысить эффективность химиотерапии последними. Наиболее чувствительными к противоопухолевому действию "деглутама" *in vitro* в порядке убывания являются злокачественные новообразования предстательной и молочной желез, мочевого пузыря, яичников, острый миелобластный лейкоз, саркомы мягких тканей. Рак желудка, толстой кишки и меланома практически нечувствительны к действию препарата.

Рекомендации по использованию: материалы диссертации могут быть использованы при проведении клинических испытаний и производстве нового противоопухолевого лекарственного препарата "деглутам".

Область применения: клиническая и экспериментальная онкология, медицинская биохимия.

SUMMARY

KARAVAY, Alexandr Vladimirovich

Antitumor activity and mechanisms of antimetabolic effects implementation of a composition of L-glutamine and L-phenylalanine derivatives (novel antitumor drug deglutam)

Key words: L-glutamine and L-phenylalanine derivatives, antitumor and metabolic activity.

Investigation object: rats (822), experimental tumors and cell lines, tissues (tumor, liver, blood), biopsies of tumors from oncological patients (56).

Aim: studies on the antitumor activity and mechanisms of implementation of metabolic effects of a composition of L-glutamine and L-phenylalanine derivatives i.e., a novel antitumor drug deglutam.

Methods: assessment of antitumor activity according to the NCI criteria, methods of analytical biochemistry (high performance ion exchange liquid chromatography, enzymologic and radiometric methods), t-statistics and correlation analysis.

Instruments used: T339 amino acid analyzer, Mark-II liquid scintillation counter, Specord M-40 spectrophotometer, instruments for clinical diagnosis.

Results obtained and their novelty: according to its basic parameters of specific activity the novel antitumor drug deglutam corresponds to the principal criteria of antitumor drugs and aids to elimination of the metabolic imbalance forming in growth. The antitumor effect of deglutam does not essentially depend on the way of administration, most efficient being its long-term administration at a dose of 250 mg/kg/day in several steps. The preventive drug administration inhibits carcinosarcoma W-256 growth at the initial stages and its combined application with cyclophosphamide or cisplatin enables to increase the efficiency of chemotherapy. In order of decreasing, the most sensitive to the deglutam antitumor effect *in vitro* are malignant tumors of prostate and mammary gland, urinary bladder, ovaries, acute myeloblastic leukemia and sarcoma of soft tissues. Carcinoma of the stomach, cancer of the large intestine and melanoma are practically insensitive to the drug effect.

Application recommendations: dissertation materials can be used in clinical trials and production of the novel drug deglutam.

Area of application: clinical and experimental oncology, medical biochemistry.