

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ПРЕПАРАТА КОЛХАМИНОЛА (К-19) НА ПЕРЕВИВНЫХ ОПУХОЛЯХ КРЫС

Абдирова А.Ч., Еникеева З.М., Ибрагимов А.А., Агзамова Н.А., Тилляшайхов М.Н.

ЯНГИ КОЛХАМИНОЛ (К-19) ДОРИ ВОСИТАСИНИ ЎСМАГА ҚАРШИ ФАОЛЛИГИНИ КАЛАМУШНИНГ ЎСМА ШТАММИДА ЎРГАНИШ

Абдирова А.Ч., Еникеева З.М., Ибрагимов А.А., Агзамова Н.А., Тилляшайхов М.Н.

STUDYING OF ANTINEOPLASTIC ACTIVITY OF NEW PREPARATION COLCHAMINOLE (K-19) ON SUBINOCULATION TUMOURS OF RATS

Abdirova A.Ch., Enikeeva Z.M., Ibragimov A.A., Akzamova N.A. Tillyachaihov M.N.

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии

Мақсад: К-19 янги дори воситасини ўсмага қарши фаоллигини каламушнинг Саркома 45(С-45) ва Карциносаркома Уокера (КСУ) ўсма штамларида таққослаш. **Материаллар ва усуллар:** тажрибалар 78 та зотсиз каламушга юқтирилган. С-45 ва КСУ ўсма штаммида текширув олиб борилди. Ўсма юқтирилган каламушларга 3-7 - кунлари колхаминол (К 19), колхамин, колхицин, циклофосфан. Таксол ва этопозид дори воситалари юборилиб, бир-бирига таққосланди. Юборилган барча дори воситаси 8 ва 10 маротаба терапевтик дозада ёнбошга юборилди. **Натижалар:** олинган натижаларга кўра, ўсимтани ўсишининг олдини олиш учун КСУ штаммида К-19 препарати 98/99-98/98%, колхицинда – 32/47%, колхаминда 35/46%, таксолда 94/92%, этопозидда 15/34%. С-45 штаммида препарат К-19 да 90/88, колхаминда -34/40%, циклофосфанда 51/75% ни кўрсатди. **Хулоса:** каламушлардаги ўсма штамларида ўсимта ўсишига қарши фаоллик колхицин, колхамин, циклофосфан, таксол ва этопозидга нисбатан К-19 препаратини фаоллиги юқори натижа ни кўрсатди. К-19 препаратининг юқори фаоллик натижалари унинг комплекс механизм таъсири эканлиги, салбий оқибатларини пастлиги КОЕС индукциясига боғлиқлигидир.

Калит сўзлар: каламушлар ўсма штамми саркома 45, карциносаркома Уокера, колхицин, колхамин, дерибат колхамин К-19, фаоллиги, циклофосфан, таксол, этопозид.

Objective: Comparison of antineoplastic activity of new preparation K-19 on rats with tumoral strains the Sarcoma 45 (S-45) and Walker Carcinosarcoma (W-Cs). **Material and methods:** Studying is executed on 78 not purebred rats with intertwined tumors S-45 and W-Cs. K-19 entered to rats for 3-7th day after subinoculation tumors 8-fold or 10-fold is multiple intraperitoneal introduction, in comparison with colchamine, colchicine, cyclophosphan, taxol and etoposide, all preparations were entered in therapeutic doses. An estimation of results spent by standard criteria: tumor growth inhibition (TGI), weight of a body and a spleen of animals. Authentic considered distinctions at $p < 0,05$.

Results: From the received results follows, that on tumor W-Cs the preparation K-19 suppressed growth of tumors' on 98/99-98/96 %, colchicine on 32/47 %, colchamine on 35/46%, taxol on 94/92% and etoposide on 15/34%. On S-45 preparation K-19 suppressed growth of tumor on 90/88 %, colchamine on 34/40 % and cyclophosphan on 51/75%.

Conclusion: Studying of preparation K-19 on rats with tumors has revealed its more expressed activity in comparison with initial colchicine, colchamine, cyclophosphan, taxol and etoposide.

High activity K-19 speaks its complex mechanism of action damaging tumors, and smaller level of by-effects - ability to induction colony-forming unit on spleen (CFUs).

Key words: subinoculation tumors of rats the Sarcoma 45, Walker Carcinosarcoma, colchicine, colchamine, a derivative colchamine K-19, activity, cyclophosphan, taxol, etoposide.

На основе трополоновых алкалоидов колхицина и колхамин [1], а также таких природных соединений, широко применяемых в практической онкологии, как алкалоиды винка, лактон подофиллотоксина, таксоиды (паклитаксела), разрабатываются новые производные полусинтетические навельбин, доцетаксел, этопозид [7], обладающие свойством подавлять тубулиновые микротрубочки, а также имеющие лучший профиль токсичности и обладающие более высокими терапевтическим эффектом [1,8,9].

В РСНПМЦОиР МЗ РУз ведется также разработка новых противоопухолевых препаратов, полученных в

результате модификации колхицина и его природного аналога колхамин [2]. Результаты скрининга, проведенного на панели опухолей человека в Национальном институте рака США (NCI) *in vitro*, показали высокую цитотоксическую активность большого ряда новых производных трополоновых алкалоидов. Из них на основании отбора *in vivo* на животных с опухолями выбрано 15 веществ, у которых изучен механизм их цитотоксического действия [2]. Среди проверенных в NCI веществ наиболее высокая активность оказалась у препарата К-19, названного нами колхаминол [3-5].

Цель исследования

Сравнительное изучение противоопухолевой активности производного колхамина К-19 на животных с опухолевыми штаммами саркома 45 и карциносаркома Уокера (КСУ) и препаратов аналогичного тубулининтерактивного действия колхицина и колхамина, таксола и этопозид, а также препарата алкилирующего действия циклофосфана.

Следует отметить, что при разработке нового противоопухолевого препарата необходимо сравнение его с известными противоопухолевыми препаратами, как правило, близкого класса, однако у К-19 выявлено его алкилирующее действие [2].

Материал и методы

Объектом исследования был синтезированный в РСНПМЦОиР МЗ РУз из колхамина препарат К-19, который крысам внутрибрюшинно вводили ежедневно в течение 8-10 дней в разовой дозе 12 мг/кг. Препаратами сравнения служили колхицин, колхамин, циклофосфамид (циклофосфан, АО «Киевмедпрепарат» Украина), а также таксол (INTTAXEL, Dabur, Индия) и этопозид (Etoposide phosphate, Bristol-Myers Squibb).

В работе использовано 78 беспородных крыс обоего пола разведения вивария СЭС МЗ РУз массой 80-110 г. Животных содержали по 4-6 особей при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. В каждом эксперименте использовано по 6-7 особей в опытных и по 10 крыс в контрольных группах.

Дозы К-19 составляли 19-12 мг/кг, таксола 5,5 мг/кг, для этопозид была установлена МПД₁₀ 7 мг/кг, колхицин применяли в дозе 0,3 мг/кг, колхамин – 1,4 мг/кг, циклофосфан – 10 мг/кг. В работе использованы экспериментальные опухоли карциносаркома Уокера и саркома 45, полученные из Банка РОНЦ РАМН им. Н.Н. Блохина. Опухоли прививали согласно общепринятым методикам подкожно взвесью опухолевых клеток по 30-60 мг в 0,3-0,5 мл питательной среды на крысу [6]. Лечение животных начинали через 3-7 дней после имплантации опухоли, препараты вводили внутрибрюшинно ежедневно в

течение 8 или 10 суток в указанных выше дозах в объеме 0,4 мл на крысу массой 100 г. Животные контрольных групп в дни введения препаратов получали адекватный объем физиологического раствора. Животных забивали на 7-й день после последнего введения препарата. При оценке противоопухолевого эффекта учитывали массу и объем опухоли. Для изучения динамики опухолевого роста у животных леченых и контрольных групп измеряли опухоли в 3-х проекциях в начале опыта и затем каждые 5 дней. Торможение роста опухоли вычисляли по формулам [6] по объему (V) и массе (M) извлеченной опухоли. До введения и в конце опыта определяли массу животных, о переносимости лечения судили по гибели животных, определяли массу селезенки.

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica, версия 6.0. За уровень статистической значимости принимали $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

У животных со штаммом карциносаркомы 256 Уокера было проведено сравнительное изучение противоопухолевой активности препарата К-19 в дозе 12 мг/кг, колхамина, из которого он был синтезирован, и колхицина – природного аналога колхамина. Препараты начинали вводить через 6 дней после перевивки (табл. 1) вводили десятикратно внутрибрюшинно.

Как показали полученные результаты, препарат К-19 в разовой дозе 12 мг/кг подавлял рост опухолей КСУ на 98/99%. Препараты сравнения колхамин и колхицин в терапевтических дозах на опухоли КСУ оказывали незначительный противоопухолевый эффект, равный соответственно 35/46 и 32/47%.

Если масса животных контрольной группы уменьшалась на 24%, то в опытной группе с применением К-19 снижение массы было незначительным (на 0,03%), а масса селезенки была на уровне таковой в контрольной группе. Колхамин и колхицин не снижали массу тела, но существенно уменьшали массу селезенки на 30-34%.

Таким образом, препарат К-19 в разовой дозе 12 мг/кг на опухоли КСУ проявил высокий противоопухолевый эффект, равный 98/99%, при этом препарат не снижал массу животного и селезенки.

Таблица 1

Противоопухолевая активность соединений на штамме КСУ (лечение с 6-го дня после перевивки опухоли; 10 введений веществ)

Препарат	Разовая доза, мг/кг	Уменьшение (-) или увеличение (+) массы крыс, %	Объем опухоли, см ³	Масса опухоли, г	% ТРО по объему/массе	Масса селезенки, г и % изменения к контролю
К-19	12	-0,03	0,063±0,065*	0,46±0,065*	98/99	0,60±0,13
Колхамин	1,4	+8,33*	2,64±0,54*	20,52±3,94*	35/46	0,41±0,11* -30,50%
Колхицин	0,3	+0,17*	2,73±0,67*	20,13±2,97*	32/47	0,39±0,11* -33,90%
Контроль	0	-24	4,03±0,94	38,00±4,79	-	0,59±0,17

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем.

Лечение животных с перевитым штаммом саркомы 45 начинали через 7 дней после перевивки (табл. 2).

Противоопухолевое действие К-19 в дозе 12 мг/кг сравнивали с эффектом колхамина и циклофосфамида.

Таблица 2

Противоопухолевая активность К-19 на штамме саркомы-45 (лечение с 7-го дня после перевивки опухоли; 10 введений веществ)

Препарат	Разовая доза, мг/кг	Уменьшение (-) или увеличение (+) массы тела, %	Объем опухоли, см ³	Масса опухоли, г	% ТРО по объему/массе	Масса селезенки, мг и % изменения к контролю
К-19	12	+9,33	0,28±0,08*	0,775±0,125*	90/88	598±79* -10,67%
Колхамин	1,4	+12,47*	1,55±0,37*	2,93±0,985*	34/40	507±84* -24,40%
Циклофосфамид	10	+15,75	1,14±0,137*	1,98±0,343*	51/75	335±56* -50%
Контроль	0	0	2,34±0,51	7,75±1,33	-	670±90,5

Примечание. То же, что и к табл. 1.

На крысах со штаммом С-45 препарат К-19 в разовой дозе 12 мг/кг подавлял рост опухолей С-45 на 90/88%. Препарат сравнения колхамин оказал невысокий противоопухолевый эффект, равный 34/40%, у циклофосфамида был более выраженный эффект, равный 51/75%.

У животных всех опытных групп наблюдалось увеличение массы, однако все препараты снижали массу селезенки, которая была менее снижена в группе с препаратом К-19 (на 10,67%), колхамин уменьшил массу селезенки на 24,4%, циклофосфамид более существенно снижал массу селезенки на 50%.

Таким образом, препарат К-19 в разовой дозе 12 мг/кг на штамме С-45 проявил высокий противоопухолевый эффект в 90/88%, при этом препарат не

способствовал снижению массы тела, однако масса селезенки была снижена на 10,67%.

Также на опухоли КСУ действие препарата К-19 сравнивалось с эффективностью известных противоопухолевых препаратов аналогичного механизма действия таксоллом и этопозидом в дозах 12 (К-19), 7 (этопозид) и 5,5 (таксол) мг/кг. Препараты начинали вводить через 3 дня после перевивки 8-кратно внутрибрюшинно. Гибель животных отмечалась в группах с этопозидом (33%) и таксоллом (50%).

В данном опыте (табл. 3) препарат К-19 в дозе 12 мг/кг подавлял рост опухолей КСУ на 98/96%, у этопозида была низкая активность – 15/34%, а у таксола – 94/92%.

Таблица 3

Противоопухолевая активность препаратов К-19, этопозид и таксола на штамме КСУ (лечение с 3-го дня перевивки опухоли: 8 введений веществ)

Препарат	Гибель, %	Разовая доза, мг/кг	Уменьшение (-) или увеличение (+) массы тела крыс, %	Объем опухоли, см ³	Масса опухоли, г	% ТРО по объему/массе	Масса селезенки, г и % изменения к контролю
К-19	0	12	0	0,3±0,08*	0,5±0,08*	98/96	0,4±0,05 -33%
Этопозид	33	7	+10,9	10,6±2,28*	8,9±1,4*	15/34	1,0±0,03 +150%
Таксол	50	5,5	-7,8	0,8±0,56	1,1±0,7	94/92	0,4±0,1 -33%
Контроль	0	0	+4,5	13,0±2,4	13,0±0,8		0,6±0,08

*Примечание. * – p≤0,05 по сравнению с контролем. В контрольных группах n=4, в контрольных n=4.*

У животных контрольной группы снижения массы не зарегистрировано, в опытных группах уменьшение массы наблюдалось в группе с применением таксола. Масса селезенки животных опытных групп с К-19 и таксоллом была ниже, чем в контроле на 33%, в группе с этопозидом – выше уровня контроля на 150%.

Таким образом, изучение противоопухолевой активности нового препарата К-19 на 2-х опухолевых штаммах крыс показало его высокий эффект, на КСУ более выраженный, чем на саркоме 45.

Сравнение действия К-19 как с его аналогами (колхицином и колхаминном), так и с противоопухолевыми препаратами аналогичного тубулининтерактивно-

го механизма действия таксоллом и этопозидом, а также циклофосфаном показало, что эффективность К-19 выше, чем у препаратов сравнения, кроме того, К-19 вызывал меньшее количество побочных эффектов.

Как правило, получаемые нами производные трополиновых алкалоидов вызывают индукцию КОЕс, которая ведет к снижению уровня побочных эффектов [4]. Изучение влияния К-19 на индукцию КОЕс показано, что в дозах 40 и 1 мг/кг он способствовал увеличению КОЕс до 6-8 ед., масса селезенки была больше, чем у облученного контроля соответственно на 135 и 141%. Масса тимуса в обоих случаях была на 56 и 120% больше, чем в контроле [4].

Заклучение

Изучение нового препарата К-19 на животных с опухолями саркома 45 и КСУ выявило его более выраженную активность в сравнении с исходным колхамином, колхицином, циклофосфаном, а также в сравнении с этопозидом, эффект которого был на 30-60% ниже, у таксола эффект был на 4% меньше. Высокая активность К-19 объясняется его митотической и алкилирующей активностью, способностью к межнуклеосомной деградациии и фрагментации ДНК посредством ингибирования топоизомераз I и II, кроме того он обладает способностью преодоления МЛУ, причем выше, чем этопозид и доксирубицин [4], то есть К-19 обладает целым рядом повреждающих опухоли свойств. При этом его способность к выбросу КОЕс защищает организм от последствий его цитотоксического действия, что, как правило, приводит к снижению уровня побочных эффектов.

Литература

1. Балицкий К.П., Воронина А.А. Лекарственные растения в терапии злокачественных опухолей. – Ростов, 1976. – С. 66-136.
2. Еникеева З.М., Ибрагимов А.А. Новый класс цитостатиков со стимуляцией колониеобразующих единиц на селезенке (КОЕс). – Ташкент: Fan va texnologiya, 2016. – 173 с.
3. Еникеева З.М., Агзамова Н.А., Юсупова А.А. и др. Изучение противоопухолевой активности колхоламина – нового производного колхамина – на мышах с перевивными опухолями АКАТОН и Саркома 180 в позднем периоде после перевивки // Журн. теорет. и клин. медицины. – 2014. – №4. – С. 9-12.
4. Еникеева З.М., Фузаилова Т.М., Агзамова Н.А. и др. Изучение действия К-19 на опухолевом штамме Саркома 180 в сравнении с рядом препаратов // Петровские чтения: Тез. 10-й конф. по фундаментальной онкологии. – СПб, 2014. – С. 30.
5. Еникеева З.М., Фузаилова Т.М., Агзамова Н.А. и др. Сравнение эффективности новых производных трополоновых алкалоидов с действием цисплатина на опухолевом штамме Саркома 180 в позднем периоде после перевивки // Петровские чтения: Тез. 10-й конф. по фундаментальной онкологии. – СПб, 2014. – С. 31.
6. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ; Сост. Е.М. Трещалина и др. // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ; Под общ. ред. А.Н. Миронова. – М., 2012. – С. 640-654.
7. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний; Под ред. Н.И. Переводчиковой. – М., 2013. 511 с.
8. Bombardelli E. Colchicine-skeleton Compounds, Their Use as Medicaments and Compositions Containing Them // US Pat. – 2000. – 6.080.739.
9. Shi Q., Chen K., Morris-Natschke S.L., Lee K.-H. Recent Progress in the Development of Tubulin Inhibitors As Antimitotic Antitumor Agents // Curr. Pharmac. Des. – 1998. – №4. – P. 219-248.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ПРЕПАРАТА КОЛХАМИНОЛА (К-19) НА ПЕРЕВИВНЫХ ОПУХОЛЯХ КРЫС

Абдирова А.Ч., Еникеева З.М., Ибрагимов А.А., Агзамова Н.А., Тилляшайхов М.Н.

Цель: сравнение противоопухолевой активности нового препарата К-19 на крысах с опухолевыми штаммами саркома 45 (С-45) и карциносаркома Уокера (КСУ). **Материал и методы:** эксперимент выполнялся на 78 беспородных крысах с перевиваемыми опухолями С-45 и КСУ. К-19 крысам вводили на 3-7-й день после перевивки опухоли 8-10-кратно внутрибрюшинно, действие препарата сравнивали с таковым колхамина, колхицина, циклофосфана, таксола и этопозиды, которые вводились в терапевтических дозах. Результаты оценивали по стандартным критериям: торможение роста опухоли, масса животного и масса селезенки. **Результаты:** на опухоли КСУ препарат колхоламин (подавлял рост опухолей на 98/99-98/96%, колхицин – на 32/47%, колхамин – на 35/46%, таксол – на 94/92%, этопозид – на 15/34%. На опухоли саркома-45 препарат К-19 подавлял рост опухолей на 90/88%, колхамин – на 34/40%, циклофосфан – на 51/75%. **Выводы:** препарат К-19 на крысах с опухолями оказался более активным по сравнению с исходными колхицином, колхамином, циклофосфаном, таксолом и этопозидом. Высокая активность К-19 объясняется его повреждающим опухоли комплексным механизмом действия, а меньший уровень побочных эффектов – способностью к индукции КОЕс.

Ключевые слова: перевиваемые опухоли крыс саркома 45, карциносаркома Уокера, колхицин, колхамин, дериват колхамина К-19, активность, циклофосфан, таксол, этопозид.