



(51) МПК

C07F 15/02 (2006.01)*A61K 31/295* (2006.01)*A61K 31/095* (2006.01)*A61P 35/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2009140097/15, 30.05.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.05.2007

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.05.2007

(43) Дата публикации заявки: 10.05.2011 Бюл. № 13

(45) Опубликовано: 20.09.2011 Бюл. № 26

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2291880 C1, 20.01.2007. US 2010190850
А, 29.07.2010. WO 2009/148346 А1, 10.12.2009.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 29.10.2009(86) Заявка РСТ:
RU 2007/000285 (30.05.2007)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2008/147242 (04.12.2008)Адрес для переписки:
142432, Московская обл., Ногинский р-н, г.
Черноголовка, пр-кт академика Семенова, 1,
ИПХФ РАН, директору ИПХФ РАН
академику С.М.Алдошину

(72) Автор(ы):

Санина Наталия Алексеевна (RU),
Жукова Ольга Степановна (RU),
Алдошин Сергей Михайлович (RU),
Емельянова Нина Сергеевна (RU),
Герасимова Галина Константиновна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

УЧРЕЖДЕНИЕ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК ИНСТИТУТ
ПРОБЛЕМ ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ
РАН (ИПХФ РАН) (RU),
Учреждение Российской академии
медицинских наук Российский
онкологический научный центр имени Н.Н.
Блохина РАМН, РОНЦ им. Н.Н.Блохина
РАМН (RU)**(54) ПРИМЕНЕНИЕ ТЕТРАНИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С ТИОФЕНОЛОМ В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к области органической химии и фармацевтики и касается применения тетранитрозильного комплекса железа с тиюфенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ в качестве

противоопухолевого лекарственного средства, для получения лекарственного средства для лечения онкологических заболеваний, к содержащим его фармацевтической композиции и набору. Изобретение обеспечивает высокую эффективность лечения. 4 н. и 4 з.п. ф-лы, 1 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

C07F 15/02 (2006.01)*A61K 31/295* (2006.01)*A61K 31/095* (2006.01)*A61P 35/00* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2009140097/15, 30.05.2007**(24) Effective date for property rights:
30.05.2007

Priority:

(22) Date of filing: **30.05.2007**(43) Application published: **10.05.2011 Bull. 13**(45) Date of publication: **20.09.2011 Bull. 26**(85) Commencement of national phase: **29.10.2009**(86) PCT application:
RU 2007/000285 (30.05.2007)(87) PCT publication:
WO 2008/147242 (04.12.2008)

Mail address:

142432, Moskovskaja obl., Noginskij r-n, g.
Chernogolovka, pr-kt akademika Semenova, 1,
IPKhF RAN, direktoru IPKhF RAN akademiku
S.M.Aldoshinu

(72) Inventor(s):

**Sanina Natalija Alekseevna (RU),
Zhukova Ol'ga Stepanovna (RU),
Aldoshin Sergej Mikhajlovich (RU),
Emel'janova Nina Sergeevna (RU),
Gerasimova Galina Konstantinovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**UChREZhDENIE ROSSIJSKOJ AKADEMII
NAUK INSTITUT PROBLEM KhIMICHESKOJ
FIZIKI RAN (IPKhF RAN) (RU),
Uchrezhdenie Rossijskoj akademii meditsinskih
nauk Rossijskij onkologicheskij nauchnyj tsentr
imeni N.N. Blokhina RAMN, RONTs im.
N.N.Blokhina RAMN (RU)**

(54) USING TETRANITROSYL COMPLEX OF IRON WITH THIOPHENOL AS ANTI-TUMOUR MEDICINAL AGENT

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to use of a tetranitrosyl complex of iron with thiophenol of formula $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ as an anti-tumour medicinal agent in order to prepare a medicinal agent

for treating oncological diseases. The invention also relates to a pharmaceutical composition and a set containing said complex.

EFFECT: invention ensures high efficiency of treatment.

8 cl, 1 tbl, 1 ex

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Изобретение относится к тетранитрозильным биядерным комплексам железа и может быть использовано в медицинской практике для создания лекарственного средства нового поколения для лечения онкологических заболеваний. Конкретно, настоящее изобретение относится к применению тетранитрозильного биядерного комплекса железа с тиофенолом в качестве противоопухолевого лекарственного средства нового поколения.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

В последние годы с целью создания лекарственных препаратов нового поколения, применяемых в терапии онкологических заболеваний, ведется интенсивный поиск противоопухолевых средств на основе комплексов переходных металлов с улучшенным спектром активности и уменьшенными побочными эффектами по сравнению с уже используемыми клиническими препаратами, например цисплатином, нитропруссидом натрия и т.п.

Интерес к нитрозильным комплексам металлов усилился благодаря открытым возможностям их использования в качестве эффективных доноров NO в медицине, в частности для терапии опухолевых заболеваний. Применение доноров NO как нового класса противоопухолевых агентов связано с важной ролью NO в процессе роста злокачественных опухолей [Wink D., Vodovoz J., Cook J., Biochemistry, 1998, 63, 7, pp.948-957]. Показано, что монооксид азота изменяет уровень апоптоза опухолевых клеток, активность гена p53 и неоангиогенез [Brune B., Scheneiderhan N., Nitric oxide evoked p53-accumulation and apoptosis, Toxicol Letters, 2003, 193, 2, pp. 19-23], подавляет активность ключевого белка репарации O6-метил-гуанин-ДНК-метил-трансферазы млекопитающих [L Liu, M. Xu-Welliver, S. Kanagula, H.E. Pegg, Inactivation and degradation of O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase after reaction with nitric oxide., Canser. Res., 2002, 62, pp.3037-3043].

Связывание NO с активными центрами металлоферментов, в частности, с негемовыми железосодержащими белками, изучается особенно интенсивно [Ford P.C., Lorkovic I.M., Chem.Rev., 2002, 102, 993; Hoshino M., Laverman L.E., Ford P.C., Coord. Chem. Rev., 1999, 187, p.75]. Установлено, что одной из форм природных резервуаров NO являются нитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами [Butler A.R., Megson I.I., Chem. Rev., 2002, 102, pp.1155-1165].

Их синтетические модели - эфиры "красной соли" Руссена - имеют состав $[\text{Fe}_2(\text{SR})_2(\text{NO})_4]$, где R = Et, t-Bu, $(\text{CH}_2)_4\text{-CH}_3$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{F}$, Ph [T. Thomas, J.H. Robertson, E.G. Cox, Acta. Crystalogr., 1958, 11, p.599; C. Glidewell, M.E. Harman, M.B. Hursthouse, I.L. Johnson, M. Motevalli, J. Chem.Res., 1998, 212, p.1676; R.E. Marsh, A.L. Spek, Acta. Crystalogr., Sect. B. Struct. Sci., 2001, 57, p.800; C. Jinhua, M. Shaoping, H. Jinling, L. Jiayi, Chinese J. Struct. Chem., 1983, 2, p. 263; T.B. Rauchfuss, T.D. Weatherill, Inorg. Chem., 1982, 21, pp.827-830].

Эти биядерные диамагнитные серанитрозильные комплексы с R = Alk генерируют NO при термо- или фотоактивации [J.L. Bourassa, P.C. Ford, Coord. Chem. Rev., 2000, 200-202, pp.887-900] и могут служить новыми перспективными противоопухолевыми NO-донирующими агентами.

Однако известные к настоящему времени синтетические доноры NO различных классов не используют в качестве терапевтических средств для лечения онкологических заболеваний, а применяют только для усиления (в различной мере, в зависимости от химической природы) действия существующих химиотерапевтических средств или радиотерапии [Wink D., Vodovoz J., Cook J., Biochemistry, 1998, 63, 7, pp. 948-

957; N.P. Konovalova, S.A. Goncharova, L.M. Volkova, T.A. Raevskaya, L.T. Eremenko, A.M. Korolev, Nitric Oxide: Biology and Chemistry, 2003, 8, pp.59-64; Yang, W., Rogers P.A., Ding H., J. Biol. Chem., 2002, 277, pp. 12868-12873; O. Siri, A. Tabard, P. Pullumbi, R. Guillard, Inorg. Chim. Acta 2003, 350, p.633; J.L. Burgaud, E. Jngini, Del Soldato P. Ann, N.Y. Acad. Sci.
 5 2002, 962, p.360; T. I. Karu, L. V. Pyatibrat, G. S. Kalendo, Toxicology Letters, 2001, 121, p.57].

В работе A. Janczyk et al., Nitric Oxide, 2004, 10, 1, pp.42-50, изучено непосредственное цитотоксическое действие нитрозильного комплекса железа $\text{Na}[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_7]$ на клетки меланомы человека и мыши. Однако этот нитрозильный комплекс железа
 10 генерирует NO при фотоактивации (даже в темноте), а также не может быть использован в качестве противоопухолевого лекарственного средства из-за высокой токсичности в отношении нормальных клеток.

Таким образом, существует потребность в других противоопухолевых средствах с повышенной эффективностью и пониженной токсичностью.

15 Задачей настоящего изобретения является расширение арсенала противоопухолевых средств и создание противоопухолевого лекарственного средства на основе комплексов переходных металлов с улучшенным спектром активности и уменьшенными побочными эффектами, в частности лекарственного средства на
 20 основе тетранитрозильного биядерного комплекса железа, действующего как донор NO, с повышенной активностью и пониженной токсичностью.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩЕСТВА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что тетранитрозильный биядерный комплекс железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ самопроизвольно
 25 выделяет NO при разложении в протонных средах и обладает противоопухолевой активностью в отношении опухолевых клеток млекопитающих, в частности человека.

Таким образом, в одном аспекте изобретение относится к применению тетранитрозильного биядерного комплекса железа с тиофенолом формулы
 30 $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ в качестве противоопухолевого лекарственного средства.

В другом аспекте изобретение относится к применению тетранитрозильного биядерного комплекса железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ для
 получения противоопухолевого лекарственного средства.

35 В следующем аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество тетранитрозильного биядерного комплекса железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ и фармацевтически приемлемый носитель.

В следующем аспекте настоящее изобретение предлагает набор, применяемый для
 40 лечения онкологических заболеваний, включающий: (1) фармацевтическую композицию, содержащую тетранитрозильный биядерный комплекс железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$, в герметичной упаковке; и (2) вспомогательные средства.

ПОДРОБНОЕ РАСКРЫТИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

45 Настоящее изобретение относится к применению тетранитрозильного биядерного комплекса железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ в качестве противоопухолевого лекарственного средства.

Тетранитрозильный биядерный комплекс железа с тиофенолом формулы
 50 $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ известен из уровня техники. Получение тетранитрозильного комплекса железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ из $\text{Fe}_2(\text{I})_2(\text{NO})_4$ и PhSH в присутствии Et_3N описано в статье T.B. Rauchfuss, T.D. Weatherill, Inorg. Chem., 1982, 21, pp.827-830. Другой способ получения тетранитрозильного комплекса железа с

тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ раскрыт в статье С. Glidewell, R.J. Lambert, М.Е. Harman и М.В. Hursthouse, J. Chem. Soc., Dalton Trans., 1990, 10, pp.2685-2690. Способ заключается во взаимодействии соли $\text{Na}[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_7]$ с тетрафторборатом фенилдиазония $\text{PhN}_2^+\text{BF}_4^-$ в растворе ацетонитрила при 0°C .

Но ни один из документов предшествующего уровня техники не раскрывает биологически активных свойств, какого-либо назначения или применение тетранитрозильного комплекса железа с тиофенолом в какой-либо области.

Тетранитрозильный комплекс железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ может быть получен с помощью известных способов синтеза, например, способом, раскрытым в статье С. Glidewell, R.J. Lambert, М.Е. Harman и М. В. Hursthouse, J. Chem. Soc., Dalton Trans., 1990, 10, pp.2685-2690, для аналогичных тетранитрозильных комплексов $[\text{Fe}_2(\text{SR})_2(\text{NO})_4]$, где R представляет собой алкил ($\text{C}_1\text{-C}_8$), $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ или 2-пиримидинил. Способ заключается во взаимодействии бис(μ -тиосульфато-S)-бис-(динитрозилферрата)(2-) натрия: $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]$ в водном растворе с тиолами RSH в присутствии тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и NaOH.

Авторы изобретения получали комплекс $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ взаимодействием тетранитрозильного тиосульфатного биядерного комплекса железа с тиофенолом при их стехиометрическом соотношении в водной щелочной среде с последующим выделением целевого продукта экстракцией дихлорметаном и кристаллизацией из дихлорметана.

Авторы изобретения обнаружили, что тетранитрозильный комплекс железа с тиофенолом $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ является эффективным донором NO, выделяя NO самопроизвольно при разложении в протонных средах (таких, как вода, кровь и ее компоненты, физиологические растворы и т.п.), и для этого не требуется термо- или фотоактивации, как для других известных нитрозильных комплексов железа. Это имеет существенное преимущество при терапии опухолевых заболеваний: для активации комплекс $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ не нужно нагревать или облучать (как, например, при фотодинамической терапии). Авторы настоящего изобретения показали также, что тетранитрозильный биядерный комплекс железа с тиофенолом ингибирует рост опухолевых клеток млекопитающих, в частности человека.

Таким образом, в первом аспекте настоящее изобретение относится к применению тетранитрозильного биядерного комплекса железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ в качестве противоопухолевого лекарственного средства.

В частности, тетранитрозильный биядерный комплекс железа с тиофенолом может быть использован для лечения миелолейкоза.

Тетранитрозильный биядерный комплекс железа с тиофенолом согласно настоящему изобретению пригоден для ингибирования роста опухолей у млекопитающих и его предпочтительно вводят в виде фармацевтической композиции, включающей эффективное противоопухолевое количество соединения согласно настоящему изобретению в комбинации с, по меньшей мере, одним фармацевтически или фармакологически приемлемым носителем. Носитель, также известный из уровня техники, как эксципиент, наполнитель, вспомогательное вещество, добавка или разбавитель, представляет собой любое вещество, которое фармацевтически инертно, придает соответствующую консистенцию или форму композиции и не ослабляет терапевтической эффективности противоопухолевых соединений. Носитель является "фармацевтически или фармакологически приемлемым", если он не вызывает побочной, аллергической или другой неблагоприятной реакции при введении млекопитающему или человеку, соответственно.

В другом аспекте изобретение относится к применению тетранитрозильного биядерного комплекса железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ для изготовления противоопухолевого лекарственного средства.

Настоящее изобретение также предлагает фармацевтические композиции, содержащие эффективное количество тетранитрозильного биядерного комплекса железа с тиофенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ и фармацевтически приемлемый носитель.

Предпочтительно, в качестве фармацевтически приемлемого носителя используют протонсодержащую среду, более предпочтительно, смесь протонсодержащей среды и диметилсульфоксида.

В настоящем изобретении в качестве протонсодержащей среды предпочтительно используют воду, физиологический раствор, водорастворимые биополимеры.

Предпочтительно, тетранитрозильный комплекс железа с тиофенолом присутствует в фармацевтической композиции в количестве 50-100 мкМ.

Фармацевтические композиции, содержащие противоопухолевое соединение согласно настоящему изобретению, могут быть получены любым обычным способом. Необходимую препаративную форму выбирают в зависимости от выбранного способа введения. Композиции согласно изобретению могут быть приготовлены для любого способа введения так, чтобы ткань-мишень была доступна при таком пути введения. Пригодные пути введения включают, но не ограничены ими, пероральное, парентеральное (например, внутривенное, внутриартериальное, подкожное, ректальное, внутримышечное, интраорбитальное, интракапсулярное, интраспинальное, интраперитонеальное или интрастернальное), локальное (назальное, чрескожное, внутриглазное), внутривезикулярное, внутриоболочечное, в тонкую кишку, легочное, интралимфатическое, внутриполостное, вагинальное, трасуретральное, интрадермальное, ушное, интрамаммарное, трансбуккальное, ортотопическое, внутритрахеальное, внутриочаговое, чрескожное, эндоскопическое, чресслизистое, подъязычное и кишечное введение.

Фармацевтически приемлемые носители для использования в композициях согласно настоящему изобретению хорошо известны специалисту, и их выбирают в зависимости от ряда факторов: используемое конкретное противоопухолевое соединение и его концентрация, стабильность и ожидаемая биологическая доступность; заболевание, нарушение или состояние человека, которого лечат композицией; субъект, его возраст, вес и общее состояние; и способ введения. Пригодные носители легко определяются специалистом (J.G. Nairn в: Remington's Pharmaceutical Science (edit. A. Gennaro), Mack Publishing Co., Easton, Pa, (1985), pp.1492-1517).

Композиции, предпочтительно, получают в виде таблеток, диспергирующихся порошков, пилюль, капсул, желатиновых капсул, каплет с покрытием, гелей, гранул, растворов, суспензий, эмульсий, сиропов, эликсиров, пастилок, драже, лепешек или любой другой дозированной формы, которая может быть введена перорально.

Технологии и композиции для получения пригодных согласно настоящему изобретению пероральных дозированных форм описаны в литературе (Modern Pharmaceutics, главы 9 и 10 (изд. Banker и Rhodes, 1979); Lieberman и др., Pharmaceutical Dosage Form: Tablets (1981); и Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, второе издание (1976)).

Композиции согласно настоящему изобретению для перорального введения включают эффективное противоопухолевое количество соединения согласно изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Пригодные носители для

твердых дозированных форм включают сахара, крахмалы и другие обычные вещества, включающие лактозу, тальк, сахарозу, желатин, карбоксиметилцеллюлозу, агар, маннит, сорбит, фосфат кальция, карбонат кальция, карбонат натрия, каолин, альгиновую кислоту, гуммиарабик, кукурузный крахмал, картофельный крахмал, сахаринат натрия, карбонат магния, трагакант, микрокристаллическую целлюлозу, коллоидный диоксид кремния, натрийкроскармеллозу, тальк, стеарат магния и стеариновую кислоту. Далее, такие твердые дозированные формы могут быть без покрытия или могут быть с нанесенным известными способами покрытием, например, для задержки разрушения и абсорбции.

Противоопухолевое соединение согласно настоящему изобретению также предпочтительно используют для приготовления дозированной формы для парентерального введения, например, в виде дозированной формы для инъекции внутривенным, внутриартериальным, подкожным, ректальным, внутримышечным, интраорбитальным, интракапсулярным, интраспинальным, интраперитонеальным или интрастериальным путями. Композиции согласно изобретению для парентерального введения включают эффективное противоопухолевое количество противоопухолевого соединения в фармацевтически приемлемом носителе.

Пригодные для парентерального введения дозированные формы включают растворы, суспензии, дисперсии, эмульсии или любую другую дозированную форму, которая может быть введена парентерально. Методики и композиции для получения парентеральных дозированных форм известны из уровня техники.

В композиции согласно изобретению может быть включено для различных целей незначительное количество дополнительных компонентов, хорошо известных в фармацевтической промышленности. Эти компоненты большей частью придают свойства, которые увеличивают время удерживания противоопухолевого соединения в месте введения, способствуют стабильности композиции, обеспечивают регулирование значения pH, облегчают введение противоопухолевого соединения в фармацевтические композиции, и т.п. Каждый из этих компонентов индивидуально присутствует в количестве, предпочтительно, меньше примерно 15 мас.%, более предпочтительно, меньше примерно 5 мас.% и, наиболее предпочтительно, меньше примерно 0,5 мас.% в расчете на общую массу композиции. Некоторые компоненты, такие, как наполнители или разбавители, могут составлять вплоть до 90 мас.% в расчете на общую массу композиции, как хорошо известно в технологии приготовления лекарственных средств. Такие добавки включают криозащитные компоненты для предотвращения осаждения комплекса железа с тиюфенолом, поверхностно-активные вещества, смачивающие или эмульгирующие агенты (например, лецитин, полисорбат-80, Твин® 80, плуроник-60, полиоксиэтиленстеарат), консерванты (например, этил-п-гидроксibenзоат), предохраняющие от воздействия микробов средства (например, бензиловый спирт, фенол, м-крезол, хлорбутанол, сорбиновая кислота, тимеросал и парабен), агенты для регулирования значения pH или буферирующие агенты (например, кислоты, основания, ацетат натрия, сорбитан-монолаурат), компоненты для регулирования осмолярности (например, глицерин), загустители (например, моностеарат алюминия, стеариновая кислота, цетиловый спирт, стеариловый спирт, гуаровая смола, метилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, тристеарин, сложные цетиловые эфиры воска, полиэтиленгликоль), пигменты, красители, добавки, придающие текучесть, нелетучие силиконы (например, циклометикон), глины (например, бентониты), адгезивы, увеличивающие объем агенты, ароматизаторы, подслащивающие вещества,

адсорбенты, наполнители (например, вода, солевой раствор, растворы электролитов), связующие (например, крахмалы, такие как кукурузный крахмал, пшеничный крахмал, рисовый крахмал или картофельный крахмал, желатин, трагакант, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, натрийкарбоксиметилцеллюлоза, поливинилпирролидон, сахара, полимеры, гуммиарабик), разрыхляющие агенты (например, крахмалы, такие как кукурузный крахмал, пшеничный крахмал, рисовый крахмал, картофельный крахмал или карбоксиметилкрахмал, структурированный поливинилпирролидон, агар, альгиновая кислота или ее соль, такая как альгинат натрия, натрийкроскармеллоза или кросповидон), смазывающие агенты (например, диоксид кремния, тальк, стеариновая кислота или ее соли, такие, как стеарат магния, или полиэтиленгликоль), агенты для покрытий (например, концентрированные растворы сахара, включающие гуммиарабик, тальк, поливинилпирролидон, карбополгель, полиэтиленгликоль или диоксид титана) и антиоксиданты (например, метабисульфит натрия, бисульфит натрия, сульфит натрия, декстроза, фенолы и тиафенолы).

Согласно предпочтительному варианту осуществления фармацевтическая композиция согласно изобретению включает, по меньшей мере, один неводный фармацевтически приемлемый растворитель и противоопухолевое соединение, обладающее растворимостью в нем, по меньшей мере, примерно 10-60 мг/мл. Без связи с какой-либо конкретной теорией полагают, что растворимость в диметилсульфоксиде противоопухолевого соединения может быть непосредственно связана с его эффективностью. Также предпочтительным является то, что противоопухолевое соединение имеет значение ID_{100} (то есть концентрация лекарственного средства, вызывающая 100%-ное ингибирование образования колонии), по меньшей мере, в 4 раза меньше, чем цисплатин, при проведении измерения в соответствии с методикой, описанной в книге «Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США» под ред. З.П. Софьиной, А.Б. Сыркина (СССР), А. Голдина, А. Кляйна (США) М.: Медицина, 1979 г., с.71-105.

Введение дозированной формы указанными путями может быть непрерывным или периодическим, зависящим, например, от физиологического состояния пациентов, от того, является ли цель введения терапевтической или профилактической, и других факторов, известных или оцениваемых практикующим врачом.

Доза и схемы введения фармацевтических композиций согласно изобретению могут быть легко определены онкологом. Понятно, что доза противоопухолевых соединений зависит от возраста, пола, состояния здоровья и веса реципиента, типа проводимого одновременно лечения, если оно имеется, частоты обработки и природы желаемого эффекта. Для любого способа введения точное количество используемого противоопухолевого соединения, а также назначаемая доза, необходимая для достижения описанных здесь полезных воздействий, также зависит, в частности, от таких факторов, как биодоступность противоопухолевого соединения, заболевание человека, которое лечат, желаемая терапевтическая доза, и других факторов, которые очевидны специалисту.

Концентрация противоопухолевого соединения настоящего изобретения в жидкой фармацевтической композиции составляет, наиболее предпочтительно, 50-100 мкМ. Как правило, предпочтительны относительно низкие концентрации, так как противоопухолевое соединение наиболее растворимо при низких концентрациях.

Эмульсии для парентерального введения могут быть приготовлены растворением противоопухолевого соединения в любом фармацевтически приемлемом растворителе,

способном растворять соединение (например, ДМСО, дихлорметан), с образованием раствора. К раствору при перемешивании добавляют соответствующий объем носителя, который представляет собой эмульсию, такую, как эмульсия Liposyn II или Liposyn III, с получением фармацевтически приемлемой эмульсии для парентерального введения пациенту. Если желательно, такие эмульсии могут быть приготовлены с содержанием минимального количества, или без него, раствора Cremophor®.

Растворы для перантерального введения могут быть приготовлены растворением противоопухолевого соединения в любом фармацевтически приемлемом растворителе, способном растворять соединение (например, ДМСО), с образованием раствора. К раствору при перемешивании добавляют соответствующий объем носителя, который представляет собой протонсодержащую среду (солевые растворы, растворы сахаров, водорастворимые полимеры, белки, растворы электролитов) для парентерального введения пациенту.

Так, например, для жидких препаративных форм в качестве носителя обычно используют неводные фармацевтически приемлемые полярные растворители, такие как масла, спирты, амиды, сложные эфиры, простые эфиры, кетоны, углеводороды и их смеси, а также воду, солевые растворы, растворы декстрозы (например, DW5), растворы электролитов или любую другую протонную, фармацевтически приемлемую среду.

Пригодные неводные фармацевтически приемлемые полярные растворители включают, но не ограничены ими, амиды (например, диметилацетамид (DMA), диметилацетамидбензилбензоат, диметилформамид, N- (β-гидроксиэтил) лактамид, N,N-диметилацетамид, 2-пирролидинон, 1-метил-2-пирролидинон или поливинилпирролидон); сложные эфиры (например, 1-метил-2-пирролидинон, 2-пирролидинон, эфиры уксусной кислоты, такие, как моноацетин, диацетин и триацетин; алифатические или ароматические сложные эфиры, такие как этилкаприлат или этилоктаноат, алкилолеат, бензилбензоат, бензилацетат, диметилсульфоксид (ДМСО), сложные эфиры глицерина, такие как моно-, ди- или триглицерилцитраты или тартраты, этилбензоат, этилацетат, этилкарбонат, этиллактат, этилолеат, эфиры жирных кислот сорбитана, эфиры жирных кислот и полиэтиленгликоля (ПЭГ), глицерилмоностеарат, сложные эфиры глицеридов, таких как моно-, ди- или триглицериды, эфиры жирных кислот, такие, как изопропилмиристат, эфиры на основе жирных кислот и ПЭГ, такие как ПЭГ-гидроксиолеат и ПЭГ-гидроксистеарат, N-метилпирролидинон, плуроник-60, полиоксиэтиленированные сложные полиэфиры на основе сорбита и олеиновой кислоты, такие как поли(оксиэтилен)₃₀₋₆₀ орбитполи(олеат)₂₋₄, поли(оксиэтилен)₁₅₋₂₀ моноолеат, поли (оксиэтилен)₁₅₋₂₀ моно-12-гидроксистеарат и поли(оксиэтилен)₁₅₋₂₀ монорицинолеат; полиоксиэтиленсорбитановые сложные эфиры, такие как полиоксиэтиленсорбитанмоноолеат, полиоксиэтиленсорбитанмонопальмитат, полиоксиэтиленсорбитанмонолаурат, полиоксиэтиленсорбитанмоностеарат и полисорбат® 20, 40, 60 или 80 фирмы ICI Americas, Wilmington, DE; поливинилпирролидон; модифицированные алкиленоксидами эфиры жирных кислот, такие как гидрированное полиоксил(40)-касторовое масло и полиоксиэтиленированные касторовые масла (например, раствор Cremophor® EL или раствор Cremophor® RH 40); эфиры жирных кислот и сахара (то есть продукт конденсации моносахарида (например, пентозы, такие, как рибоза, рибулоза, арабиноза, ксилоза, ликсоза и ксилулоза; гексозы, такие как глюкоза, фруктоза,

галактоза, манноза и сорбоза; триозы, тетрозы, гептозы и октозы), дисахариды (например, сахароза, мальтоза, лактоза и трегалоза) или олигосахарида или их смеси с жирной кислотой (жирными кислотами) с 4-22 атомами углерода (например, насыщенные жирные кислоты, такие как каприловая кислота, каприновая кислота, лауриновая кислота, миристиновая кислота, пальмитиновая кислота и стеариновая кислота, и насыщенные жирные кислоты, такие как пальмитолеиновая кислота, олеиновая кислота, элаидиновая кислота, эруковая кислота и линолевая кислота)), или стероидальные сложные эфиры); алкиловые, арильные или циклические простые эфиры с 2-30 атомами углерода (например, диэтиловый эфир, тетрагидрофуран, диметилизосорбит, моноэтиловый эфир диэтиленгликоля); гликофуrol (простой эфир полиэтиленгликоля и тетрагидрофурфурилового спирта); кетоны с 3-30 атомами углерода (например, ацетон, метилэтилкетон, метилизобутилкетон); алифатические, циклоалифатические или ароматические углеводороды с 4-30 атомами углерода (например, бензол, циклогексан, дихлорметан, диоксоланы, гексан, н-декан, н-додекан, н-гексан, сульфолан, тетраметиленсульфон, тетраметиленсульфоксид, толуол, диметилсульфоксид (ДМСО) или тетраметиленсульфоксид); алкил- или арилгалогениды, содержащие 1-30 атомов углерода и необязательно более одного атома галогена в качестве заместителя; дихлорметан; моноэтаноламин; петролейный эфир; троламин; омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты (например, альфа-линоленовая кислота, эйкозапентаеновая кислота, докозапентаеновая кислота или докозагексаеновая кислота); полигликолевый эфир 12-гидроксистеариновой кислоты и полиэтиленгликоля (Solutol® HS-15 фирмы BASF, Ludwigshafen, germany); полиоксиэтиленглицерин; лаурат натрия; олеат натрия; или сорбитанмоноолеат.

Предпочтительно в качестве фармацевтически приемлемого носителя в настоящем изобретении использовать протонсодержание среды, такие как вода, солевые растворы, водорастворимые полимеры, белки, растворы декстрозы (например, DW5), растворы электролитов или спиртов из каталога "PAA Laboratory's", p.26, 2006.

Композиции, например, представляют собой 0,2% растворы диметилсульфоксида в питательной среде RPMI 1640 с растворенным в нем тетранитрозильным биядерным комплексом железа с тиюфенолом с концентрацией 50-100 мкМ. Фармацевтически приемлемый носитель - питательная среда RPMI 1640 - может быть заменен на физиологический раствор, крахмал и другие носители, выбранные специалистом в зависимости от способа введения, вида опухолевого заболевания и субъекта, подвергнутого лечению.

В следующем аспекте настоящего изобретения предлагается набор для лечения онкологических заболеваний, который включает: (1) фармацевтическую композицию, содержащую тетранитрозильный биядерный комплекс железа с тиюфенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$, в герметичной упаковке; и (2) вспомогательные средства.

Набор может содержать композицию в виде единичной дозированной формы или в виде множественных доз. Набор может включать формы для перорального или парентерального введения.

Фармацевтическая композиция в наборе может быть помещена в стеклянные или полимерные пузырьки, ампулы, флаконы, дозированные картриджи для инъекторов, блистеры, капсулы, пакетики с композицией, применяемые соответственно для пероральной или парентеральной формы.

Вспомогательные средства включают жидкости для восстановления композиции, вводимой парентерально, если она в наборе представлена в концентрированной форме, например, в виде сухого вещества, высушенного препарата и т.п.; средства для

получения пероральных жидких форм и форм для инъекций *ex tempore*. В качестве жидкости для восстановления может быть использована вода для инъекций, физиологический раствор, раствор лидокаина и т.п. Для восстановления композиции, применяемой в жидком виде перорально, может быть использован раствор глюкозы, сахаров, сиропы и т.п.

Необязательные вспомогательные средства набора включают средства для вскрытия укупок, средства для герметизации вскрытых многоразовых укупок, вкладыши-инструкции.

Фармацевтическая композиция, представляющая собой твердую дозированную форму для перорального введения, может быть представлена в наборе в виде таблеток, капсул в блистерах, ампулах, флаконах, пузырьках, пакетиках и т.п. Фармацевтическая композиция, представляющая собой жидкую дозированную форму для парентерального или перорального введения, может быть представлена в наборе во флаконах, капсулах, ампулах, картриджах и т.п.

Пример набора для парентерального введения включает упаковку, в которой размещены инструкции по применению, ампулы или флаконы с сухой композицией и ампулы с физиологическим раствором для инъекций. В упаковку вкладывается приспособление для вскрытия ампул. Ампулы упакованы в блистеры по 10 ампул.

Другие варианты набора очевидны для специалиста в данной области из представленного выше описания.

Примеры

Следующие примеры приведены только как дополнительная иллюстрация изобретения и их не следует рассматривать в качестве ограничения изобретения.

Пример получения тетранитрозильного биядерного комплекса железа с тиюфенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$

Синтез проводили в инертной атмосфере. Дистиллированную воду в течение 30 минут насыщали аргоном. В колбу Шленка помещали 0,508 г (3,2 ммоль) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich), 0,588 г (1,0 ммоль) $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, синтезированного по методике [Н.А. Санина, С.М. Алдошин, Т.Н. Руднева, Н.И. Головина, Г.В. Шилов, Ю.М. Шульга, В.М. Мартыненко, Н.С. Ованесян, «Синтез, структура и твердофазные превращения нитрозильного комплекса железа $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ », Координационная Химия, 2005, 31, 301-306], 0,2 г (5,1 ммоль) NaOH гранулированного (Aldrich) и 0,52 мл (5,1 ммоль) $\text{C}_6\text{P}_5\text{SH}$ (Aldrich). К смеси приливали 40 мл H_2O и интенсивно перемешивали 2 часа при комнатной температуре. По окончании этой процедуры проводили экстракцию продукта дихлорметаном (Aldrich) на воздухе три раза по 15 мл. Все фракции объединяли и полученный красный раствор упаривали до 1/5 начального объема, фильтровали через пористый стеклянный фильтр N4 и оставляли на воздухе на несколько часов. Образующиеся после удаления растворителя темно-синие кристаллы сушили на воздухе. Выход продукта составлял 0,319 г (87%).

Строение полученного комплекса железа исследовано следующими методами.

Элементный анализ для $\text{Fe}_2\text{S}_2\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_4$. Найдено, %: Fe 24,82; S 14,20; N 12,38; C 32,03; H 2,20. Вычислено, %: Fe 24,89; S 14,22; N 12,44; C 32,01; H 2,22; O 14,22.

ИК-спектр образца регистрировали на спектрометре Фурье SPECTRUM BX-II.

Образец готовили в виде таблеток с KBr (1 мг исследуемого вещества на 300 мг KBr).

ИК-спектр (cm^{-1}): 1778, 1763, 1723, 1583, 1478, 1441, 1303, 1181, 1118, 1092, 1071, 1024, 999, 916, 834, 734, 694, 688.

Мессбауэровские спектры поглощения снимали на установке WissEl, работающей в

режиме постоянного ускорения. Источником служил Co^{57} в матрице Rh. Измерения спектров при низких температурах проводили с помощью проточного гелиевого криостата CF-506 (Oxford Instruments) с регулируемой температурой. Обработку

мессбауэровских спектров проводили методом наименьших квадратов в

предположении лоренцевой формы индивидуальных спектральных компонент.

Параметры ЯГР-спектроскопии:

Изомерный сдвиг - $0,074 \text{ мм} \cdot \text{с}^{-1}$;

Квадрупольное расширение - $0,971 \text{ мм} \cdot \text{с}^{-1}$.

Исследование цитотоксичности нитрозильного комплекса железа на опухолевых клетках человека *in vitro*

Для исследования использовали следующие линии опухолевых клеток человека: карцинома яичника SKOV3, миелолейкоз K562, карцинома молочной железы MCF7, немелкоклеточный рак легкого A549. Клетки выращивали в монослое в среде RPMI 1640, содержащей 10% эмбриональной сыворотки теленка, при 37°C и 5% содержании CO_2 . Для экспериментов клетки высевали в 96-луночные планшеты и выращивали в тех же условиях.

Перед началом эксперимента соединение растворяли в 200 мкл ДМСО, а затем доводили до нужной концентрации питательной средой RPMI 1640. Конечная концентрация ДМСО в пробах не превышала 0,2% и не влияла на рост клеток.

Тестирование цитотоксического эффекта проводили с помощью МТТ-теста, основанного на способности дегидрогеназы живых клеток восстанавливать неокрашенную соль тетразолия в голубые кристаллы формазана, растворимые в диметилсульфоксиде (ДМСО). Соединение вносили в лунки в объеме 20 мкл в 4-х конечных концентрациях (мкМ) 100, 50, 25 и 10. Общий объем инкубации составлял 200 мкл. Клетки с препаратом инкубировали в указанных выше условиях в течение 72 часов. По окончании инкубации к клеткам добавляли МТТ-реагент и инкубировали при тех же условиях в течение 2 часов. Затем образовавшиеся кристаллы формазана растворяли в 100 мкл ДМСО при 37°C в течение 20 минут. Оптическое поглощение растворов ДМСО измеряли на оптическом счетчике для многолуночных планшет при длине волны 540 нм. Результаты выражали в виде средних значений для 4-х параллельных измерений как торможение роста клеток в %: $(1 - \text{опыт/контроль}) \times 100$. Соединение считали активным, если концентрация 100 мкМ на одной из 3-х линий клеток вызывала ингибирование роста на 50% или более ($\text{ИК}_{50} \leq 100 \text{ мкМ}$). Ошибка измерений не превышала 5%.

В качестве препаратов сравнения в исследовании использованы известные в клинике противоопухолевые препараты - цисплатин (cis-DDP) и кармустин (бисхлорэтилнитрозомочевина).

Нитрозильный комплекс железа с тиофенолом проявил цитотоксическую активность на всех линиях клеток (таблица 1). Комплекс был максимально активен на клетках миелолейкоза K562 ($\text{ИК}_{50} = 20 \text{ мкМ}$), активность его сравнима с активностью платинового комплекса cis-DDP ($\text{ИК}_{50} = 20 \text{ мкМ}$). Наиболее устойчивой к действию изученного комплекса была линия клеток рака легкого A549 и карциномы яичника SKOV3.

Комплекс $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ оказывает цитотоксическое действие на опухолевые клетки человека различного генеза: миелолейкоз K562, карциному молочной железы MCF7, немелкоклеточный рак легкого A549 и карциному яичника SKOV3. Токсичность заявляемого противоопухолевого средства значительно ниже ($\text{LD}_{100} = 60 \text{ мг/кг}$), чем цисплатина ($\text{LD}_{100} = 16 \text{ мг/кг}$).

Таблица 1

Цитотоксическая активность нитрозильного комплекса железа с тиюфеном $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ на линиях опухолевых клеток человека

№ п/п	Препарат	Линии клеток, ИК ₅₀ , мкМ		
		K562	MCF7	A549
1	$[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$	20	65	100
2	cis-DDP	17	50	37
3	Кармустин	200	58	570

В соответствии с методическими указаниями по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ проведены исследования на перевиваемых опухолях мышей на Са-755 и меланоме В-16 (на мышах-гибридах первого поколения BDF₁ (C₅₇Bl/6 × DBA/2) и DBA/2 массой 18-25 г, полученных из отдела лабораторных животных ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН). Выявлен умеренный статистически значимый по сравнению с контролем противоопухолевый эффект заявляемого препарата в дозах 10-75 мг/кг при ежедневном внутрибрюшинном введении в течение 5 дней.

Формула изобретения

1. Применение тетранитрозильного комплекса железа с тиюфенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ в качестве противоопухолевого лекарственного средства.

2. Применение тетранитрозильного комплекса железа с тиюфенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$ для получения лекарственного средства для лечения онкологических заболеваний.

3. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество тетранитрозильного комплекса железа с тиюфенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$, фармацевтически приемлемый носитель.

4. Фармацевтическая композиция по п.3, где в качестве фармацевтически приемлемого носителя используют протонсодержащую среду.

5. Фармацевтическая композиция по п.3, где в качестве фармацевтически приемлемого носителя используют смесь протонсодержащей среды и диметилсульфоксида.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп.4 или 5, где в качестве протонсодержащей среды используют воду, физиологический раствор, водорастворимые биополимеры.

7. Фармацевтическая композиция по п.3, где тетранитрозильный комплекс железа с тиюфенолом присутствует в количестве 50-100 мкМ.

8. Набор, применяемый для лечения онкологических заболеваний, включающий: (1) фармацевтическую композицию, содержащую тетранитрозильный биядерный комплекс железа с тиюфенолом формулы $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_4]$, в герметичной упаковке; и (2) вспомогательные средства.