



(51) МПК
A61K 31/282 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/282 (2020.02); A61K 31/704 (2020.02); A61P 35/00 (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2016151380, 27.12.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 27.12.2016

Дата регистрации:
 15.07.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.12.2016

(43) Дата публикации заявки: 28.06.2018 Бюл. № 19

(45) Опубликовано: 15.07.2020 Бюл. № 20

Адрес для переписки:

142432, Московская обл., г. Черноголовка, пр-кт Академика Семенова, 1, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химической физики Российской академии наук (ИПХФ РАН), Терентьеву А.А.

(72) Автор(ы):

Терентьев Алексей Алексеевич (RU),
 Балакина Анастасия Александровна (RU),
 Ступина Татьяна Сергеевна (RU),
 Сень Василий Дмитриевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью "Плат-АН" (ООО "Плат-АН") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: US 6503943 B1, 07.01.2003. US 6350737 B1, 26.02.2002. RU 2130941 C1, 27.05.1999. Н.В.Комлева и др. Сравнительный анализ цитотоксичности и влияния на клеточный цикл аминонитроксильных комплексов платины (IV), Вестник Нижегородского университета им.Н.И.Лобачевского, 2011, N2(2), стр.82-89. Гончарова С.А. и др. Антилейкемическая активность и (см. прод.)

(54) Композиция на основе аминонитроксильного комплекса платины и доксорубицина и способ лечения опухолей

(57) Реферат:

Изобретение относится к применению комбинированного средства, содержащего аминонитроксильный комплекс платины ВС118, представляющий собой е-Аммин-d-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-а, f-бис(ацетато)-b, c-дихлорплатины (IV), и

доксорубицин, в качестве противоопухолевого средства на модели опухолевых клеток линий А-172 и МСF7. Лекарственное средство по изобретению является эффективным, позволяет снизить токсическую нагрузку на организм и выраженность побочных эффектов. 2 ил., 1 табл.

(56) (продолжение):

развитие лекарственной устойчивости к цисплатину (СРТ) и платина (IV)-нитроксильному комплексу ВС118; Вопросы онкологии, 2011, 57(3), стр.355-358. Н.А.Бизунок, Интерактивный алгоритм анализа комбинированных воздействий по Chou-Talalay: фундаментальная основа и опыт практического применения, Военная медицина, 2016, N1, с.70-74.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11)**2 726 826**⁽¹³⁾ **C2**

(51) Int. Cl.
A61K 31/282 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 31/282 (2020.02); A61K 31/704 (2020.02); A61P 35/00 (2020.02)(21)(22) Application: **2016151380, 27.12.2016**(24) Effective date for property rights:
27.12.2016Registration date:
15.07.2020

Priority:

(22) Date of filing: **27.12.2016**(43) Application published: **28.06.2018 Bull. № 19**(45) Date of publication: **15.07.2020 Bull. № 20**

Mail address:

**142432, Moskovskaya obl., g. Chernogolovka, pr-
kt Akademika Semenova, 1, Federalnoe
gosudarstvennoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki
Institut problem khimicheskoy fiziki Rossijskoj
akademii nauk (IPKHF RAN), Terentevu A.A.**

(72) Inventor(s):

**Terentev Aleksej Alekseevich (RU),
Balakina Anastasiya Aleksandrovna (RU),
Stupina Tatyana Sergeevna (RU),
Sen Vasilij Dmitrievich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennostyu
"Plat-AN" (OOO "Plat-AN") (RU)**

(54) COMPOSITION BASED ON AMINO-NITROXYL COMPLEX OF PLATINUM AND DOXORUBICIN AND METHOD OF TREATING TUMORS

(57) Abstract:

FIELD: medicine; pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention relates to use of a combined agent containing an amino nitroxyl complex of platinum BC118, which is e-Ammin-d-(4-amino-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl)-a,f-bis(acetate)-b,c-dichloroplatinum (IV), and doxorubicin, as an

anticancer agent on model of tumor cells of A-172 and MCF7 lines.

EFFECT: medicinal agent under the invention is effective, allows to reduce toxic load on an organism and severity of by-effects.

1 cl, 2 dwg, 1 tbl

C 2
6 2 8 9 2 7 2
R UR U
2 7 2 6 8 2 6
C 2

Изобретение относится к высокоэффективным противоопухолевым композициям на основе аминонитроксильного комплекса платины и доксорубицина и способу лечения опухолей с использованием этой композиции.

Злокачественные новообразования входят в группу социально значимых заболеваний. 5
Общее число онкологических больных в России приближается к 3 млн. человек [Социально значимые заболевания 2011]. В развитых странах смертность от опухолей приближается или даже превышает смертность от заболеваний сердечно-сосудистой системы [World health statistics 2012]. В этой связи очевидна актуальность проблемы разработки средств терапии онкологических заболеваний.

10 Известно применение цисплатина и его аналогов почти в половине режимов лечения опухолей [Wheate et al. 2010].

Одной из наиболее острых проблем противоопухолевой химиотерапии является побочное действие препаратов, что особо актуально для комплексов платины. Другой 15
проблемой для применяемых в клинике цисплатина, карбоплатина и оксалиплатина является присущая некоторым опухолям или приобретенная ими резистентность [Wang 2010, Galansky, 2006].

Известна модификация противоопухолевых соединений антиоксидантными группировками, которая позволила бы обеспечить одновременное действие двух 20
фармакофоров в одной целевой ткани. В качестве антиоксидантного фармакофора предлагаются нитроксильные радикалы, обладающие уникальными окислительно-восстановительными свойствами. Нитроксильные радикалы - низкомолекулярные, неиммуногенные, стабильные соединения, способные вызывать гибель опухолевых клеток и улучшать химиотерапевтические свойства различных классов соединений [Hahn et al. 1992, Mitchell et al. 1991, Suy et al. 2005, Emanuel & Konovalova 1992, Kálai 25
2011]. Это дает основания полагать, что внесение нитроксильных радикалов в состав платиновых комплексов позволит добиться, с одной стороны, снижения токсичности и, в то же время, сохранения противоопухолевых свойств родительского платинового соединения.

Препарат Доксорубин относится к семейству антациклиновых антибиотиков. 30
Представители этой группы соединений подавляют активность топоизомеразы II и способны взаимодействовать с ДНК, что представляет дополнительный противоопухолевый механизм. В настоящее время доксорубин и подобные антрациклины широко применяются для химиотерапии рака молочной железы, рака легкого, сарком и лимфом, острых лейкозов. Но основным побочным эффектом 35
доксорубина и его аналогов является кардиотоксичность [Cheung-Ong et al. 2013].

Задачей заявляемого изобретения является разработка высокоэффективной противоопухолевой композиции, позволяющей снизить токсическую нагрузку на организм и выраженность побочных эффектов.

40 Также задачей изобретения является разработка способа лечения опухолей с использованием противоопухолевой композиции на основе аминонитроксильного комплекса платины и доксорубицина.

Поставленная задача решается предлагаемой композицией на основе аминонитроксильного комплекса платины и доксорубицина в качестве противоопухолевого лекарственного средства.

45 Так же задача решается способом лечения опухолей путем воздействия комбинированным средством, в котором в качестве комбинированного средства берут композицию на основе аминонитроксильного комплекса платины и доксорубицина с учетом комбинационного индекса согласно формуле:

$$CI = \frac{(D)_1}{(D_x)_1} + \frac{(D)_2}{(D_x)_2} + \frac{(D)_1(D)_2}{(D_x)_1(D_x)_2},$$

где $(D)_1$ и $(D)_2$ - дозы соединений 1 и 2 в комбинации, вызывающей эффект x , а $(D_x)_1$ и $(D_x)_2$ - дозы соединений 1 и 2, вызывающих эффект x при раздельном введении.

Способ лечения характеризуется тем, что аминонитроксильный комплекс платины и доксорубицин вводят последовательно или одновременно.

Известно применение комбинированной химиотерапии в практике лечения злокачественных новообразований примерно с 70-х годов прошлого века. Основные преимущества комбинированной химиотерапии заключаются в том, что подобные подходы учитывают гетерогенность опухоли, позволяют направлять терапевтический эффект на несколько мишеней одновременно, снижать вероятность возникновения лекарственной устойчивости опухолей, что в целом приводит к повышению эффективности терапии [Zimmermann et al. 2007, DeVita & Chua 2008].

Наиболее важным результатом применения комбинации лекарственных веществ является возможность достижения эффекта синергизма в их терапевтическом действии. Синергизм в терапевтическом действии позволяет не только повысить эффективность терапии, но также за счет повышения селективности действия против целевой мишени существенно снижает терапевтические дозы, что позволяет снизить токсическую нагрузку на организм и выраженность побочных эффектов [Chou 2006].

Нами обнаружена комбинация аминонитроксильного комплекса платины и доксорубицина, в которой проявляются эффекты синергизма при действии на клетки опухолей. Благодаря эффекту синергизма, применение данной комбинации позволяет снижать терапевтические дозы противоопухолевых лекарственных веществ. Данная комбинация может быть использована для противоопухолевой химиотерапии.

Для сравнения аналогичные исследования были проведены с Таксол (Tax), Винкристин-Тева (Vin), Циклофосфан (ЦФ) и Цисплатин-Тева (ЦП).

Аминонитроксильный комплекс платины *e*-Аммин-*d*-(4-амино-2,2,6,6-тетрметилпиперидин-1-оксил)-*a,f*-бис(ацетато)-*b,c*-дихлороплатина(IV) (далее комплекс ВС118) синтезировали по ранее описанному методу [Сень с соавт. 2006]. Доксорубицин-ТЕВА (Dox), Таксол (Tax), Винкристин-Тева (Vin), Циклофосфан (ЦФ) и Цисплатин-Тева (ЦП) приобретались в аптеке. Перед внесением в клетки комплекс ВС118, Таксол, Винкристин, Циклофосфан и Цисплатин разводили в среде для инкубации клеток до необходимой концентрации, а Доксорубицин, представленный лиофилизированным порошком, растворяли в спирте, а затем разводили в среде для инкубации клеток.

Культивирование клеток. Все клеточные линии получены из Коллекции культур клеток позвоночных (Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург). Клетки выращивались при температуре 37°C в атмосфере 5% CO₂ в соответствии с рекомендациями Коллекции культур клеток позвоночных: клетки глиобластомы человека А-172 выращивались в среде DMEM («ПанЭко», Россия), клетки гормонозависимого рака молочной железы человека MCF7 - в среде EMEM («ПанЭко», Россия) с добавлением инсулина (Sigma, США) в концентрации 1 мкг/мл. Во всех случаях инкубационная среда содержала 10% эмбриональную телячью сыворотку («Biowest», Франция).

Исследование цитотоксичности методом МТТ-окрашивания. Клетки рассеивали в 96-луночные культуральные планшеты в количестве 5×10³ клеток на лунку в 100 мкл (А-172) или 8×10³ клеток на лунку в 100 мкл (MCF7). Через 24 ч после посева

инкубационную среду из лунок отбирали и заменяли на среду, содержащую комплекс исследуемые соединения в разных концентрациях. Через 72 ч после внесения веществ проводили процедуру МТТ-окрашивания с помощью красителя 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромида (МТТ), который в жизнеспособных клетках восстанавливается до нерастворимого в воде формазана фиолетового цвета. В каждую лунку добавляли МТТ в конечной концентрации 0.5 мг/мл и планшеты инкубировали в СО₂-инкубаторе в течение 4 ч. После инкубации культуральную среду отбирали, для растворения кристаллов формазана в каждую лунку добавили 100 мкл ДМСО и встряхивали на шейкере в течение 10 мин при скорости 600-900 об/мин. Интенсивность МТТ-окрашивания определяли фотометрически при длине волны 570 нм, фоновое поглощение света определяли при длине волны 620 нм. Жизнеспособность клеток определяли в процентах от МТТ-окрашивания контрольных (необработанных) клеток [Blumenthal 2005].

Определение цитотоксического действия комплекса ВС118 и противоопухолевых препаратов при комбинированном применении. Для изучения цитотоксичности комбинаций комплекса ВС118 и противоопухолевых препаратов были использованы комбинации комплекса ВС118 с Доксорубицином, Таксолом, Винкристином, Цисплатином и Циклофосфаном. Соединения в комбинациях применялись в соответствии с дозами IC50 и вводились в соотношении, равном:

$$IC50_{\text{комплекса ВС118}} / IC50_{\text{второго соединения}}$$

Соединения в комбинациях или отдельно вносились в инкубационную среду клеток через 24 ч после посева в планшеты. После 72-часовой инкубации в присутствии исследуемых соединений проводилось МТТ-окрашивание по методу, описанному выше.

Для определения характера фармакологического взаимодействия химических двух соединений при совместном применении использовался алгоритм Чоу и Талалэя для расчета комбинационного индекса [Chou & Talalay 1984, Chou 2006, Chou 2010]. Комбинационный индекс (CI) показывает, насколько действие соединений в комбинации сильнее или слабее, чем при раздельном применении. Значение CI=1 (в комбинации и раздельно соединения действуют одинаково) отражает аддитивный характер действия соединений. При CI<1 (эффект соединений в комбинации выражен сильнее, чем при раздельном применении) эффект комбинации оценивается как синергизм, а при CI>1 - как антагонизм.

Комбинационный индекс рассчитывается согласно формуле:

$$CI = \frac{(D)_1}{(D_x)_1} + \frac{(D)_2}{(D_x)_2} + \frac{(D)_1(D)_2}{(D_x)_1(D_x)_2},$$

где $(D)_1$ и $(D)_2$ - дозы соединений 1 и 2 в комбинации, вызывающей эффект x, а $(D_x)_1$ и $(D_x)_2$ - дозы соединений 1 и 2, вызывающих эффект x при раздельном применении.

Параметры $(D)_1$ и $(D)_2$ рассчитываются из параметра $(D_x)_{1,2}$ - суммарной дозы веществ в комбинации, вызывающей эффект x, - путем деления параметра $(D_x)_{1,2}$ на части соответственно соотношению доз соединений 1 и 2 в комбинации.

Результаты и их обсуждение.

В табл. 1 представлены дозы IC50 для исследуемых соединений для клеток А-172 и MCF7. Исследуемые соединения проявляют разную токсичность для клеток, от наномолярных до микромолярных концентраций. Клетки рака молочной железы менее чувствительны к цисплатину и доксорубину, но в случае комплекса ВС118 клетки А-172 и MCF7 проявляют близкую чувствительность. Определение токсичности клеток

МСF7 к Таксолу и Винкристину затруднительно в связи со слабой воспроизводимостью результатов.

Таблица 1. Дозы IC50 исследуемых соединений для клеток А-172 и МСF7

Линия клеток	BC118, мкМ	ЦП, мкМ	Доx, мкМ	Таx, нМ	Vin, нМ	ЦФ, мМ
А-172	15.55±2.74	2.51±0.11	0.22±0.01	3.32±1.67	9.08±2.39	4.28±0.07
МСF7	13.19±1.85	31.5±1.07	1.07±0.09	-	-	7.80±0.85

Исследование комбинированного действия комплекса BC118 и противоопухолевых препаратов позволило выявить несколько синергичных комбинаций. Результаты исследования представлены на фиг. 1 и фиг. 2.

- на фиг. 1 представлены математические модели комбинационного индекса (CI) для комбинаций BC118 с Цисплатином (А), с Циклофосфаном (Б), с Доксорубицином (В), с Таксолом (Г) и Винкристином (Д) для клеток А-172;

- на фиг. 2 представлены математические модели комбинационного индекса (CI) для комбинаций BC118 с Цисплатином (А), с Циклофосфаном (Б), и Доксорубицином (В) на клетках МСF7.

В случае клеток А-172 (фиг. 1) показан переходный характер действия комбинации BC118:ЦП - от антагонизма при низком фракционном эффекте до синергизма при высоком фракционном эффекте. Комбинации BC118:Таx и BC118:Vin проявляют антагонизм практически во всем диапазоне фракционного эффекта. Для комбинаций BC118 с циклофосфаном и доксорубицином обнаружено синергичное действие, причем по классификации Чо [Chou 2006] данный эффект относится к сильному синергизму.

В случае клеток МСF7 (фиг. 2) комбинации BC118 с цисплатином и доксорубицином проявляют переходный характер антагонизм-синергизм, в то время как в комбинации BC118 с циклофосфаном проявляется антагонизм.

Ранее было показано, что комбинации комплекса BC118 с цисплатином или циклофосфаном проявляют высокую эффективность при терапии экспериментального лейкоза P388 [Сень с соавт. 2011]. Мы показали, что при использовании комбинации комплекса BC118 и доксорубицина проявляется эффект синергизма при действии на опухолевые клетки разных типов. В отличие от других комбинаций, сочетание комплекса BC118 и доксорубицина приводит к синергичному действию, сравнимому или превышающему подобный синергизм для комбинации с цисплатином или с циклофосфаном.

Таким образом, заявленная копозиция аминитроксильного комплекса платины BC118 и противоопухолевого антибиотика Доксорубицина обладает высоким противоопухолевым потенциалом. При использовании копозиции комплекс BC118: Доксорубицин в соотношениях, соответствующих их токсическим дозам, в действии данной комбинации на опухолевые клетки проявляется эффект синергизма. Подобный эффект позволяет существенно повышать эффективность химиотерапии, снижать применяемые терапевтические дозы и токсическую нагрузку на организм.

Список цитированной литературы

1. Социально значимые заболевания населения России в 2010 году (Статистические материалы). - М.: Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 2011. - 66 с.

2. World health statistics 2012. - Geneva: World Health Organization, 2012. - 176 p. - ISBN

978-92-4-156444-1.

3. Wheate N.J., Walker S., Craig G.E., Oun R. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials // Dalton Transactions. 2010. V. 39. P. 8113-8127.

4. Wang X. Fresh platinum complexes with promising antitumor activity // Anticancer agents in medicinal chemistry. - 2010. - Vol. 10. - P. 396-411.

5. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy // Nature Reviews Cancer. 2007. V. 7. P. 573-584.

6. Kuwahara A., Yamamori M., Nishiguchi K., Okuno T., Chayahara N., Miki I., Tamura T., Inokuma T., Takemoto Y., Nakamura T., Kataoka K., Sakaeda T. Replacement of cisplatin with nedaplatin in a definitive 5-fluorouracil/cisplatin-based chemoradiotherapy in Japanese patients with esophageal squamous cell carcinoma // International Journal of Medical Science. 2009. V. 6. P. 305-311.

7. Alberto M.E., Lucas M.F.A., Pavelka M., Russo N. The second-generation anticancer drug nedaplatin: a theoretical investigation on the hydrolysis mechanism // Journal of Physical Chemistry. 2009. P. 14473-14479.

8. Lee K.H., Hyun M.S., Kim H.-K., Jin H.M., Yang J., Song H.S., Do Y.R., Ryoo H.M., Chung J.S., Zang D.Y., Lim H.-Y., Jin J.Y., Yim C.Y. Park H.S, Kim J.S., Sohn C.H., Lee S.N. Randomized, multicenter, phase III trial of heptaplatin 1-hour infusion and 5-fluorouracil combination chemotherapy comparing with cisplatin and 5-fluorouracil combination chemotherapy in patients with advanced gastric cancer // Cancer Research and Treatment. 2009. V. 41. P. 12-18.

9. Kim N.K., Kim T.-Y., Shin S.-G., Park Y.I., Lee J.A., Cho Y.-B., Kim K.H., Kim D.-K., Heo D.S., Bang Y.-J. A Phase I study of cis-malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-1,3-dioxolane] platinum(II) in patients with advanced malignancies // Cancer. 2001. V. 91. P. 1549-1556.

10. Treat J., Schiller J., Quoix E., Mauer A., Edelman M., Modiano M., Bonomi P., Ramlau R., Lemarie E. ZD0473 treatment in lung cancer: an overview of the clinical trial results // European Journal of Cancer. 2002. V. 38. P. 13-18.

11. Samimi G., Howell S.B. Modulation of the cellular pharmacology of JM-118, the major metabolite of satraplatin, by copper influx and efflux transporters // Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 2006. V. 57. №6. P. 781-788.

12. Choy H., Park C., Yao M. Current Status and Future Prospects for Satraplatin, an Oral Platinum Analogue // Clinical Cancer Research. 2008. V. 14. P. 1633-1638.

13. Cheng C.F., Juan S.H., Chen J.J., Chao Y.C., Chen H.H., Lian W.S., Lu C.Y., Chang C.I., Chiu T.H., Lin H. Pravastatin attenuates carboplatin-induced cardiotoxicity via inhibition of oxidative stress associated apoptosis // Apoptosis. - 2008. - Vol. 13. - P. 883-894.

14. Jiang Y., Guo C., Vasko M.R., Kelley M.R. Implications of apurinic/aprimidinic endonuclease in reactive oxygen signaling response after cisplatin treatment of dorsal root ganglion neurons // Cancer Research. - 2008. - Vol. 68. - P. 6425-6434.

15. Kawai Y., Nakao T., Kunimura N., Kohda Y., Gemba M. Relationship of intracellular calcium and oxygen radicals to Cisplatin-related renal cell injury // Journal of pharmacological sciences. - 2006. - Vol. 100. - P. 65-72.

16. Kim H.J., Lee J.H., Kim S.J., Oh G.S., Moon H.D., Kwon K.B., Park C., Park B.H., Lee H.K., Chung S.Y., Park R., So H.S. Roles of NADPH oxidases in cisplatin-induced reactive oxygen species generation and ototoxicity // The Journal of neuroscience. - 2010. - Vol.30. - P. 3933-3946.

17. Ozben T. Oxidative Stress and Apoptosis: Impact on Cancer Therapy // Journal of Pharmaceutical Sciences. - 2007. - Vol.96. - P. 2181-2196.

18. Kim C.H., Kang S.U., Pyun J., Lee M.H., Hwang H.S., Lee H. Epicatechin protects auditory

cells against cisplatin-induced death // *Apoptosis*. - 2008. - Vol.13. - P. 1184-1194.

19. Jiang M., Wei Q., Pabla N., Dong G., Wang C.Y., Yang T., Smith S.B., Dong Z. Effects of hydroxyl radical scavenging on cisplatin-induced p53 activation, tubular cell apoptosis and nephrotoxicity // *Biochemical pharmacology*. -2007. - Vol.73. - P. 1499-14510.

5 20. Wang J., Yi J. Cancer cell killing via ROS. To increase or decrease, that is the question // *Cancer Biology & Therapy*. - 2008. - Vol.7. - P. 1875-1884.

21. Galanski M., Recent developments in the field of anticancer platinum complexes // *Recent patents on anti-cancer drug discovery*. - 2006, 1, 285-295.

10 22. Bragado P., Armesilla A., Silva A., Porras A. Apoptosis by cisplatin requires p53 mediated p38alpha MAPK activation through ROS generation // *Apoptosis*. - 2007. - Vol.12. - P. 1733-1742.

15 23. Mitchell J.B., DeGraff W., Kaufman D., Krishna M.C., Samuni A., Finkelstein E., Ahn M.S., Hahn S.M., Gamson J., Russo A. Inhibition of oxygen-dependent radiation-induced damage by the nitroxide superoxide dismutase mimic, tempol // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1991. V. 289. №1. P. 62-70.

24. Suy S., Mitchell J.B., Samuni A., Mueller S., Kasid U. Nitroxide tempo, a small molecule, induces apoptosis in prostate carcinoma cells and suppresses tumor growth in athymic mice // *Cancer*. - 2005. - Vol.103. - No. 6. - P. 1302-1313.

20 25. Hahn S.M., Tochner Z., Krishna C.M., Glass J., Wilson L., Samuni A., Sprague M., Venzon D., Glatstein E., Mitchell J.B., Russo A. Tempol, a stable free radical, is a novel murine radiation protector // *Cancer Res*. - 1992. - Vol. 52. - No. 7. - P. 1750-1753.

26. Emanuel N.M., Konovalova N.P., in *Bioactive Spin Labels*, Ed. R.I. Zhdanov. B. - N.Y., Springer-Verlag, 1992, 439-460.

25 27. Kálai T., Kuppusamy M.L., Balog M., Selvendiran K., Rivera B.K., Kuppusamy P., Hideg K., Synthesis of N-Substituted 3,5-Bis(arylidene)-4-piperidones with High Antitumor and Antioxidant Activity // *Journal of Medicinal Chemistry* // 2011. - Vol.54. - P. 5414-5421.

28. Korman D., Mikaelian S., Boronovskaia L., Maslova I., Results of a phase I-II clinical trial of Ruboxyl, a novel antineoplastic anthracycline // *Voprosy onkologii*. - 2003. - Vol. 50. - P. 202-207.

30 29. DeVita V., Chua E. A History of Cancer Chemotherapy // *Cancer Research*. - 2008. - Vol. 68. - No. 21. - P. 8643-8653.

30. Zimmermann G.R., Lehar J., Keith C.T. Multi-target therapeutics: when the whole is greater than the sum of the parts // *Drug Discovery Today*. - 2007. - Vol. 12. - No. 1-2. - P. 34-42.

35 31. Cheung-Ong K., Giaever G., Nislow C. DNA-damaging agents in cancer chemotherapy: serendipity and chemical biology // *Chem Biol*. - 2013. - Vol.20. - No. 5. - P. 648-659.

32. Chou T.C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies // *Pharmacol Rev*. - 2006. - Vol. 58. - No. 3. - P. 621-681.

40 33. Blumenthal R.D. Chemosensitivity. Volume I: In Vitro Assays / ed. Rosalyn D. Blumenthal. - 2005. - New Jersey: Humana Press. - 231 p.

34. Chou T.C., Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors // *Adv Enzyme Regul*. - 1984. - Vol. 22. - P. 27-55.

45 35. Chou T.C. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method // *Cancer Res*. - 2010. - Vol.70. - No. 2. - P.440-446.

36. Сень В.Д., Голубев В.А., Луговская Н.Ю., Сашенкова Т.Е., Коновалова Н.П. // *Изв. АН. Сер. хим.* - 2006. - №1. - P. 60-63.

37. Сень В.Д., Терентьев А.А., Коновалова Н.П. Синтез, взаимодействие с ДНК и

противоопухолевая активность комплексов платины с аминнитроксильными радикалами // Известия Академии наук. Серия химическая. - 2011. - №7. - С.1319-1328.

(57) Формула изобретения

5 Применение комбинированного средства, содержащего аминнитроксильный комплекс платины $VC118$, представляющий собой е-Аммин-d-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-а, f-бис(ацетато)-b, c-дихлорплатины(IV), и доксорубицин, в качестве противоопухолевого средства на модели опухолевых клеток линий A-172 и MCF7.

10

15

20

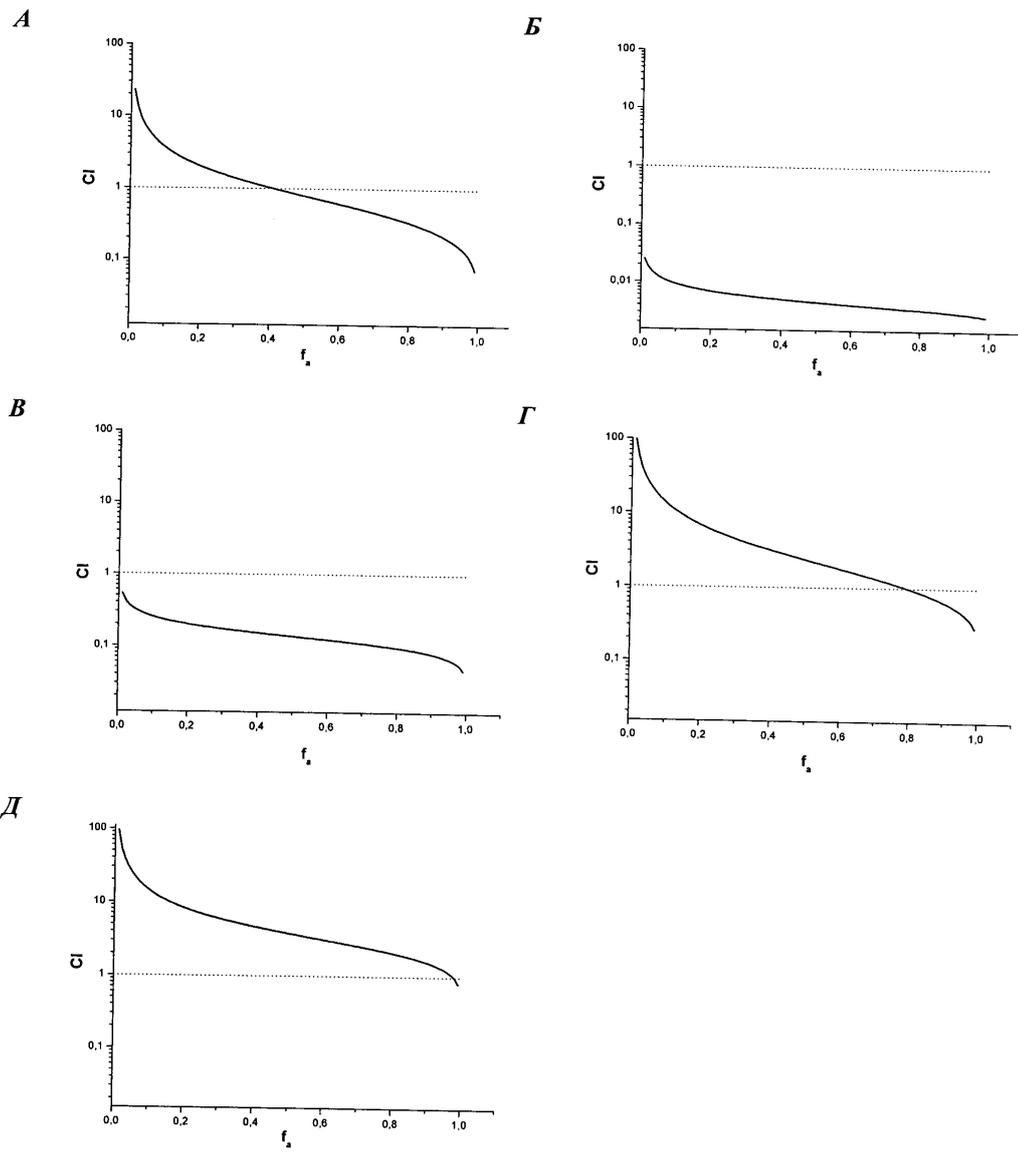
25

30

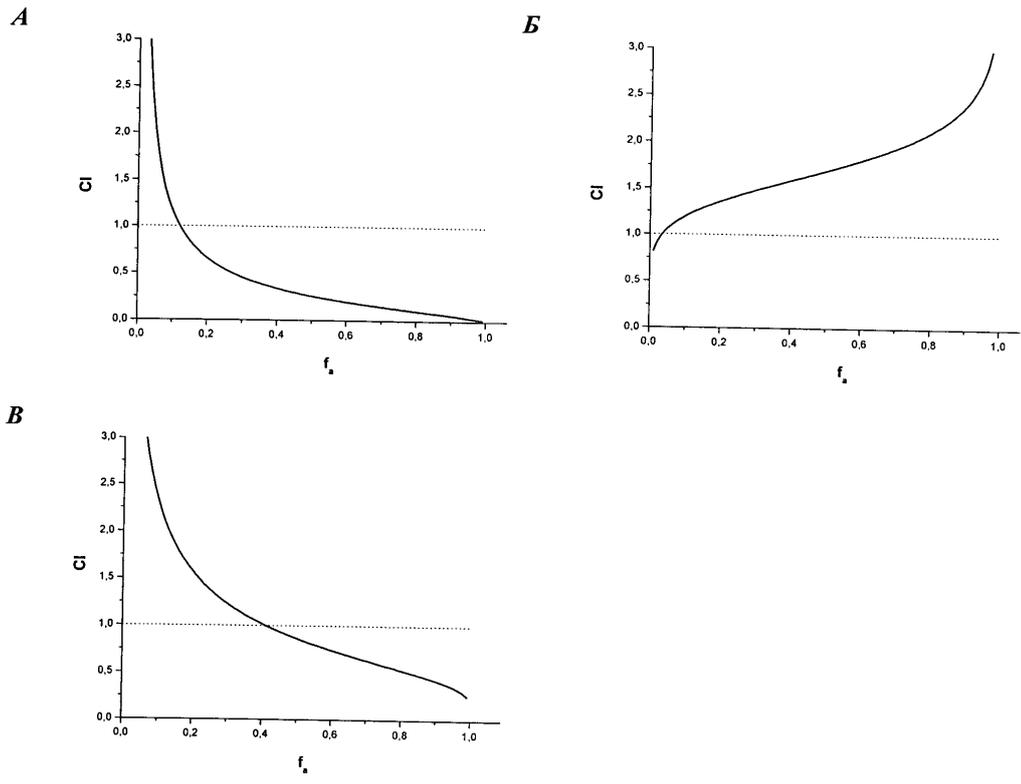
35

40

45



Фиг. 1



Фиг. 2