



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 063 243** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁶ **A 61 K 38/14**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 92005718/14, 10.11.1992

(46) Дата публикации: 10.07.1996

(56) Ссылки: Лютов А.Г. с соавт. Получение альфа-1 кислого гликопротеина из отходов производства альбумина "Гематология и трансфузиология", 1987, т.32, № 5, с.58-61.

(71) Заявитель:

Уфимский научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток им.И.И.Мечникова

(72) Изобретатель: Лютов А.Г.,

Корытный В.С., Саломатин В.В.

(73) Патентообладатель:

Уфимский научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток им.И.И.Мечникова

(54) СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и касается использования нового отечественного препарата - альфа-1 кислого гликопротеина /орозомукоида/ в качестве средства для лечения лучевой болезни. Орозомукоид - это белок крови человека. Он не обладает побочными действиями, токсичностью и чужеродностью. Орозомукоид

оказывает комплексное действие на патогенез лучевой болезни. Для лечения лучевой болезни орозомукоид применяют парентерально. Наибольший защитный эффект получен при трехкратном введении препарата в первые сутки после облучения. Выживаемость животных при дозе облучения 700 и 800 сГрей составила 100%. 3 табл.



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 063 243** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁶ **A 61 K 38/14**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 92005718/14, 10.11.1992

(46) Date of publication: 10.07.1996

(71) Applicant:

Ufimskij nauchno-issledovatel'skij institut
vaksin i syvorotok im.I.I.Mechnikova

(72) Inventor: Ljutov A.G.,

Korytnyj V.S., Salomatin V.V.

(73) Proprietor:

Ufimskij nauchno-issledovatel'skij institut
vaksin i syvorotok im.I.I.Mechnikova

(54) **AGENT FOR RADIATION DISEASE TREATMENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine. SUBSTANCE: invention relates to use of new preparation, - alpha-1 acid glycoprotein (orosomucoid) as an agent for radiation disease treatment. Orosomucoid is a human blood protein which shows complex effect on radiation disease pathogenesis.

For treatment orosomucoid is used by parenteral route. Maximal protective effect is obtained at three-fold preparation administration during the first 24 hr after irradiation. Animal survival is 100% at irradiation dose 700 and 800 cГрей. EFFECT: enhanced effectiveness of agent proposed. 3 tbl

Изобретение относится к медицине и касается использования нового отечественного препарата орозомукоида (альфа-1 кислого гликопротеина) в качестве средства для лечения лучевой болезни.

Для лечения и профилактики лучевой болезни используется большой набор химических и биологических препаратов, оказывающих терапевтическое действие на разных этапах развития патологического процесса: уменьшающие образование перекисей или активных радикалов, переводящие клетку в фазу покоя, когда она более устойчива, связывающие продукты радиоллиза, иммуностимуляторы, симптоматические средства, антиоксиданты.

Важное место в терапии лучевой болезни занимают препараты, обладающие свойством стимулировать антимикробную, противоопухолевую и иммунную функции организма. С этой целью предлагается использование иммуноглобулинов, различных стимуляторов синтетического или микробного происхождения меркаптоэтиламина, левамизола, мурамилдипептида, продигоизана, пептидов тимуса, различных гликопептидов.

Делаются попытки использования эндогенных биологических веществ - аутокрови /1/, медиаторов клеточных реакций, например интерлейкинов /2, 3/, иммуноглобулинов с повышенным содержанием противотканевых антител /4, 5/, собственных белков крови, например церулоплазмينا /6/. К сожалению, данные препараты действуют только на какой-то один поврежденный механизм, что в условиях тотального ослабления иммуногенеза при облучении не приводит к заметному улучшению общего состояния. Кроме того, большинство радиопротекторов эффективны только при использовании их до облучения.

Поэтому поиск препаратов, которые обладают активностью после радиационного воздействия, высокой эффективностью и минимальными побочными эффектами, для терапии лучевой болезни продолжается.

Целью изобретения является применение для лечения лучевой болезни высокоэффективного препарата орозомукоида, оказывающего комплексное действие на патогенез лучевой болезни.

Орозомукоид (ОР), или альфа-1 кислый гликопротеин, белок крови человека с молекулярной массой 40000 дальтон, изоэлектрической точкой 2,7 и содержанием углеводных компонентов до 40% от общей массы молекулы. Содержание ОР в крови человека и животных резко увеличивается (в 3-5 раз) при различных воспалительных, инфекционных, опухолевых процессах и травмах, что позволяет отнести гликопротеин к так называемым "белкам острой фазы". Как у нас в стране, так и за рубежом орозомукоид используется только для иммунохимических исследований.

Предлагаемая нами лекарственная форма ОР представляет собой белый порошок по 4,0 г во флаконах вместимостью 500 мл. Готовится лиофилизацией раствора ОР. Перед употреблением добавляется растворитель, вводится внутривенно капельно. Торговое название "Орозин".

Известно, что ОР может связывать многие лекарственные средства и гормоны /7/,

принимает участие в коагуляции крови /8/, регулирует развитие иммунных реакций /9-11/, улучшает микроциркуляцию крови /12/ и может оказывать лечебный эффект при инсульте и инфаркте /13/. Использование ОР для лечения лучевой болезни неизвестно и не следует из его известных свойств, что свидетельствует о соответствии заявляемого решения критериям "новизна" и "изобретательский уровень".

После проведения комплекса исследований нами было обнаружено свойство ОР защищать организм от последствий лучевой травмы.

Предлагаемый способ осуществляется путем применения альфа-1 кислого гликопротеина (орозомукоида) в качестве средства для лечения лучевой болезни.

Эффективность ОР иллюстрируется следующими примерами.

Мышей линии С57В 6 с массой тела (22±2) г облучали в дозах от 700 до 850с Грей на исследовательской радиобиологической установке ИГУР-1. ОР, полученный по способу (Лютон А.Г. и соавт. /Получение альфа-1 кислого гликопротеина из отходов производства альбумина/ Гематология и трансфузиология, 1987, N 5, с. 58-61), вводили внутрибрюшинно в дозе 10 мг на животное в различные сроки после облучения. Регистрировали выживаемость животных. Использовано 240 животных, по 10 мышей в каждой группе, результаты обработаны непараметрическими методами анализа.

Результаты представлены в таблице 1.

В контрольных экспериментах при облучении животных в дозе 750с Грей погибло 90% мышей, тогда как при введении ОР после облучения выживаемость составила от 70 до 100% что даже превышает защитный эффект стандартного радиопротектора меркаптоэтиламина (МЭА), вводимого до облучения. Различия между группами высокодостоверны ($p < 0,01$).

Применение ОР до воздействия не оказывает существенного влияния на результаты экспериментов.

Пример 2. Мышей-гибридов СВА.С57 1, разделенных на 25 групп по 10 особей в каждой, подвергали воздействию ионизирующего излучения в дозах от 700 до 900 с Грей. После облучения внутрибрюшинно вводили ОР одно, дву- или трехкратно по 10 мг на инъекцию. Результаты представлены в таблице 2.

Если в контроле погибло от 50% животных (при дозе полученного излучения 700 с Грей) до 100% (900 с Грей), то трехкратное введение ОР способствовало выживанию до 100% животных (при 700 и 800 с Грей), что сравнимо с табельным химическим защитным средством меркаптоэтаноламином (защита от 80 до 100%).

Пример 3. Сходные результаты получены на крысах (табл. 3).

Использовано 160 беспородных животных с массой тела 170±10 г.

Защитный эффект ОР ярко выражен в группах животных, облученных в дозе 700 и 750 с Грей, где выживаемость составила 90 и 70% соответственно, против 60 и 40% выживших животных в контрольных экспериментах. Однократное введение препарата было менее эффективным.

В специальных дополнительных экспериментах была изучена динамика некоторых биохимических и иммунологических показателей при лучевой травме и в условиях ее лечения ОР.

Установлено, что введение ОР после лучевого воздействия способствует снижению конечных азотсодержащих продуктов обмена белков и нуклеиновых кислот, способствует более быстрому возвращению к норме концентрации железа, что свидетельствует о более интенсивном использовании железа в процессе восстановления эритропоэза при лечении ОР.

По сравнению с контрольными животными были менее выражены изменения содержания в крови общего белка, холестерина и общих триглицеридов.

Отмечено особенно заметное уменьшение ферментопатии (первоначального подъема уровня ферментов с последующим падением их концентрации) под влиянием ОР, что свидетельствует о защитном действии ОР на клеточные структуры.

Важным моментом в лечебном действии белка является способность связывать продукты перекисного окисления липидов и супероксидрадикалов, что регистрируется по уменьшению хемилюминисценции.

Применение ОР после лучевого воздействия значительно увеличивало в селезенке как абсолютное, так и относительное содержание антителообразующих клеток к эритроцитам барана, резко увеличивало содержание нейтрофилов и общее количество лейкоцитов в крови, что способствовало быстрому очищению организма от эндогенной инфекции, как одной из причин поздней летальности облученных животных, по сравнению с контрольными экспериментами.

Таким образом, защитное действие ОР при лучевой травме четко выражено (до 100%) и связано с действием белка на различные этапы и звенья патологического процесса: уменьшением образования супероксидных радикалов, связыванием токсичных продуктов распада, стабилизацией мембраны клеток, увеличением количества лейкоцитов, стимуляцией иммунного ответа, защитой организма от вторичной инфекции. Весьма важным является то, что ОР это белок крови человека, он не обладает побочным действием, токсичностью и чужеродностью.

Специальные исследования, проведенные в соответствии с требованиями по безопасности лекарственных веществ фармакологического комитета, показали, что ОР не обладает острой, хронической токсичностью, мутагенностью, аллергизирующим действием.

Токсикологическая комиссия фармакологического комитета (заседание 10.09.92) рекомендовала клиническое применение препарата "Орозин" (торговое название) у больных термическими ожогами кожи.

Первая фаза клинических испытаний препарата "Орозин" (орозомукоида, или альфа-1 кислого гликопротеина), проведенная в соответствии с решением фармкомитета (прилагается) в НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, показала безопасность и высокую эффективность препарата.

К сожалению, фармкомитетом разрешено

провести испытания только при одной нозологии термических ожогах кожи, так как в настоящее время случаи получения острой лучевой травмы достаточно редки и изучить эффективность применения препарата в этом случае проблематично. Патогенез ожоговой болезни имеет много общего с лучевыми поражениями: повреждение клеток, повышение проницаемости, активация процессов перекисного окисления липидов, интоксикация продуктами распада тканей и др. /Балуда В.П. и соавт. Патогенез и лечение комбинированных радиационно-термических поражений. М. Медицина, 1989, 128 с./.

Поэтому эффективность "Орозина" (орозомукоида) при термических ожогах свидетельствует, что и при лучевой травме в клинических условиях препарат будет обладать терапевтическими свойствами.

Результаты испытаний подтверждают, что "Орозин", примененный у больных с термическими ожогами кожи, уменьшал тяжесть ожогового шока, улучшал микроциркуляцию в травмированных участках кожи, уменьшал градиент кожно-ректальной температуры и за счет этого ускорял заживление ран и сокращал сроки пребывания больных в стационаре. Препарат применяли в первые 4-6 часов после ожога в дозе 4-8 г внутривенно 1-2 раза в сутки (0,1-0,2 г/кг) в течение двух суток.

Отчет о клинических испытаниях прилагается.

Исходя из результатов экспериментов (как при лучевых поражениях, так и при ожогах) и клинического наблюдения, терапевтическое действие орозомукоида наиболее выражено при введении препарата в первые часы после травмы. Это, по-видимому, объясняется тем, что орозомукоид белок так называемой "острой фазы", его синтез в организме резко возрастает в ответ на травму, воспаление или опухолевый рост, что имеет защитное значение. Однако максимум концентрации орозомукоида в крови достигается только к третьим суткам, поэтому введение экзогенного орозомукоида в первые-вторые сутки оказывает защитный, лечебный эффект. Введение препарата до облучения малоэффективно, так как орозомукоид обладает лечебными свойствами только в условиях патологии, в норме его свойства никак не проявляются. После анализа данных первой фазы клинических испытаний установлено, что первоначально предлагаемая фасовка препарата "Орозин", включающая 0,5 г субстанции, недостаточна, поэтому в настоящее время используется препарат, расфасованный по 4 г во флаконе вместимостью 500 мл. В дальнейшем терапевтическая доза и курс лечения будут уточнены при проведении второй фазы клинических испытаний.

По-видимому, минимальная эффективная доза орозомукоида 0,1 г/кг, оптимальная 0,3-0,5 г/кг, максимальная не ограничена. Применять препарат необходимо как можно раньше после травмы, 2-3 раза в сутки в первые двое суток после облучения. Наиболее важным является суммарная доза орозомукоида, полученная организмом в первые сутки после травмы.

Таким образом, уникальное сочетание лечебных свойств препарата ОР может

сделать его эффективным и незаменимым
средством для терапии лучевой болезни.
ТТТ1 ТТТ2

Формула изобретения:

Применение орозомукоида (альфа-1
кислого гликопротеина) в качестве средства
для лечения лучевой болезни.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

RU 2063243 C1

RU 2063243 C1

Таблица I

Влияние ОР на выживаемость мышей линии С57В
после различных доз облучения, %

№ п/п	Использованные препараты	Доза облучения, сГр			
		700	750	800	850
1.	Физиол.раствор (контроль)	50	10	0	0
2.	МЭА (стандарт)	80ж	80	70	70
3.	ОР, непосредственно после облучения	70	40ж	40ж	20ж
4.	ОР, через 15 мин после облучения	80ж	70ж	40ж	10
5.	ОР, через 12 час после облучения	80ж	100ж	30ж	5
6.	ОР, за 12 час до облучения	40	50ж	10	0

Примечание. ж - различие значимо относительно контроля

RU 2063243 C1

RU 2063243 C1

Таблица 2

Влияние ОР на выживаемость мышей-гибридов
СВАхС57В при различных дозах облучения

№ п/п	Использованные препараты	Доза облучения, сГр				
		700	750	800	850	900
1.	Физиол.раствор (контроль)	50	30	10	10	0
2.	МЭА (стандарт)	100ж	100ж	80ж	70ж	50ж
3.	ОР, трехкратно ^{жж} после облучения	100ж	90ж	100ж	60ж	40
4.	ОР, двукратно ^{жж} после облучения	80ж	70ж	70ж	30	10
5.	ОР, однократно после облучения	60	50ж	30ж	20	0

Примечание. ж - различие значимо относительно контроля
жж - интервал между инъекциями 3-4 часа.

Таблица 3

Влияние ОР на выживаемость крыс после различных
доз облучения

№ п/п	Использованные препараты	Доза облучения, сГр			
		700	750	800	850
1.	Физиол.раствор (контроль)	60	40	10	10
2.	ОР, трехкратно после облучения	90ж	70ж	40ж	30
3.	ОР, двукратно после облучения	80ж	60ж	50ж	20
4.	ОР, однократно после облучения	50	20	10	0

Примечание. ж - различие значимо относительно контроля.