

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

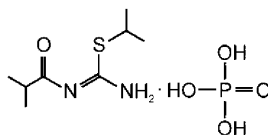
(11) **043793**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента
2023.06.23
- (21) Номер заявки
202190760
- (22) Дата подачи заявки
2021.04.09
- (51) Int. Cl. *A61K 31/155* (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61P 17/16 (2006.01)
C07C 335/32 (2006.01)

(54) **РАДИОЗАЩИТНОЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО**

- (31) 2020113581
(32) 2020.04.15
(33) RU
(43) 2021.11.30
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
РАДИОЛОГИИ" МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБУ "НИИЦ РАДИОЛОГИИ"
МИНЗДРАВА РОССИИ) (RU)**
- Филимонов Александр Сергеевич,
Сабурова Алина Сергеевна, Макаrchук
Виктория Михайловна, Шитова
Анна Андреевна, Солдатова Ольга
Васильевна, Шегай Пётр Викторович,
Иванов Сергей Анатольевич, Каприн
Андрей Дмитриевич (RU)**
- (74) Представитель:
Урванцева Т.Д. (RU)
- (56) RU-C1-2475479
RU-C1-2663465
RU-C2-2699558
SINGH V.K. et al.: Drug discovery strategies for acute radiation syndrome, EXPERT OPINION ON DRUG DISCOVERY, 2019, vol. 14(7), p. 701-715. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1604674>; Весь документ
- (72) Изобретатель:
**Филимонова Марина Владимировна,
Шевченко Людмила Ивановна,**

- (57) Изобретение относится к фосфату 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины (соединение T1082) со структурной формулой



в качестве радиозащитного средства, оказывающего эффективное противолучевое действие в широком диапазоне доз действующего вещества - 1/12-1/4 ЛД₁₀. Полученное средство обеспечивает эффективное и стабильное радиозащитное действие при применении малых, относительно безопасных доз действующего вещества - уровня 1/12-1/8 ЛД₁₀, а также расширяет возможности для разработки эффективных и безопасных противолучевых средств и средств профилактики осложнений лучевой терапии.

B1**043793****043793****B1**

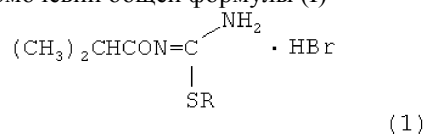
Изобретение относится к области удовлетворения жизненных потребностей человека, а именно к новым лекарственным средствам, которые могут найти применение в химико-фармацевтической и медицинской промышленности, конкретно к производным изотиурония, которые обладают выраженным радиозащитным действием и могут применяться в качестве радиопротекторов и средств профилактики осложнений лучевой терапии.

По мнению многих специалистов в области радиационной фармакологии, имеющийся арсенал противолучевых средств, допущенных к применению для человека, не удовлетворяет в полной мере современные практические потребности, возросшие в последние годы в связи с нарастанием террористической активности и геополитической нестабильности, а также широким применением радиологических методов диагностики и лечения (Рождественский Л.М. Проблемные вопросы разработки противолучевых средств. Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. 59(2): 117-26. Singh V.K., Newman V.L., Romaine P.L. et al. Radiation countermeasure agents: an update (2011-2014). Expert Opin Ther Pat. 2014. 24(11): 1229-55).

На сегодняшний день известно значительное число соединений различных химических классов, снижающих при профилактическом применении частоту и тяжесть острых радиационных поражений (Гребенюк А.Н., Гладких В.Д. Современное состояние и перспективны разработки лекарственных средств для профилактики и ранней терапии радиационных поражений. Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. 59(2): 132-49. Singh V.K., Seed N.V., Olabisi A.O. Drug discovery strategies for acute radiation syndrome. Expert Opin Drug Discov. 2019. 14(7): 701-15). При этом некоторые из них проявляют высокую противолучевую активность и способность к профилактике осложнений лучевой терапии.

Общим недостатком таких средств является их низкая переносимость и потенциальная токсичность в эффективных для человека радиозащитных дозах (Рождественский Л.М. Актуальные вопросы поиска и исследования противолучевых средств. Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. 53(5): 513-20). Это обстоятельство значительно ограничивает применение известных радиопротекторов в клинике и диктует необходимость дальнейшего совершенствования фармакологических средств противолучевой защиты, в первую очередь - в плане повышения безопасности их применения для человека.

Прототипом является вазоконстрикторное средство (RU 2475479 C1) и относится к новым N,S-замещенным производным изотиомочевин общей формулы (I)



где R=(CH₃)₂CH;

C₂H₅, обладающим NOS-ингибирующим, вазоконстрикторным и радиозащитным действием. Соединения обладают NOS-ингибирующей активностью, способной к подавлению каталитической активности синтеза оксида углерода, а также антигипотензивным действием, обусловленным выраженным и длительным повышением АД при тяжелом гиповолемическом шоке. Соединения пригодны для получения фармацевтической композиции, пригодной для лечения гипотонических состояний, таких как коллапс, гиповолемический и вазодилатационный шок, рефракторные стадии шока, артериальная гипотензия, связанная с понижением сосудистого тонуса, в эффективной дозе 0,01÷0,1 LD₅₀ и для получения фармацевтической композиции, пригодной при защите от лучевого поражения в эффективной дозе 0,2÷0,4 LD₅₀. Установлено, что T1023 является вазоактивным радиопротектором, обеспечивающим при относительно безопасных дозах (1/5-1/4 ЛД₁₀) выраженную профилактику костномозговой и энтеральной форм острой лучевой болезни, не уступая в эффективности известным радиопротекторам различных классов - ФИД составляет 1,6-1,8, а также способен к избирательной защите нормальных тканей при лучевой терапии злокачественных опухолей (Филимонова М.В., Шевченко Л.И., Макачук В.М. и др. Радиозащитные свойства ингибитора NO-синтаз T1023. I. Показатели противолучевой активности и взаимодействие с другими радиопротекторами. Радиационная биология. Радиоэкология. 2015. 55(3): 250-9; Филимонова М.В., Ульяненко С.Е., Шевченко Л.И. и др. Радиозащитные свойства ингибитора NO-синтаз T1023. II. Способность к селективной защите нормальных тканей при лучевой терапии новообразований. Радиационная биология. Радиоэкология. 2015. 55(3): 260-6).

Недостатком прототипа является короткая дистанция между радиозащитными и токсическими дозами (4-5-кратная): эффективные радиозащитные дозы T1023 составляют 1/5-1/4 ЛД₁₀ (для мышей - 60-80 мг/кг, в/б), что не позволяет исключить риски развития острых негативных эффектов, особенно у лиц, имеющих в анамнезе серьезные заболевания внутренних органов. Этот недостаток T1023 усиливается узостью диапазона эффективных радиозащитных доз этого соединения, не позволяющей, в случае необходимости, существенно снизить назначаемую дозу без потери радиозащитного эффекта. Уже 2-кратное уменьшение дозы T1023 до уровня 1/8 ЛД₁₀ (для мышей - 40 мг/кг, в/б), как правило, редуцирует его радиозащитный эффект до минимальных значимых уровней (Филимонова М.В., Шевченко Л.И., Макачук В.М. и др. Радиозащитные свойства ингибитора NO-синтаз T1023. I. Показатели противолучевой активности и взаимодействие с другими радиопротекторами. Радиационная биология. Радиоэкология. 2015. 55(3):

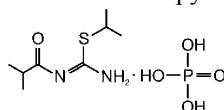
250-9).

Техническим результатом предлагаемого изобретения является создание нового радиозащитного средства, обладающего значительно расширенным диапазоном эффективных радиозащитных доз: до 1/12-1/4 ЛД₁₀, что позволит обеспечить эффективное радиозащитное действие при применении действующего вещества в указанных дозах и существенно повысить безопасность такого фармакологического воздействия.

Созданный технический результат позволит создать новые возможности в разработке эффективных и безопасных радиозащитных средств, способных, в том числе, ограничивать токсичность существующих радиологических методов лечения онкологических заболеваний.

Для достижения технического результата авторами предлагаемого изобретения проведён скрининг в обширном ряду химических аналогов 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины и ее солей с различными кислотами. Результатом этого скрининга стало соединение с более выгодными фармакологическими свойствами, чем прототип и имеющиеся радиопротекторы.

Особенностью заявленного решения является то, что содержит в качестве действующего вещества фосфат 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины со структурной формулой



Полученное средство оказывает эффективное противолучевое действие в широком диапазоне доз действующего вещества - 1/12-1/4 ЛД₁₀ и обеспечивает высокую противолучевую эффективность при применении малых, относительно безопасных доз действующего вещества - 1/12-1/8 ЛД₁₀. Средство содержит 0,1-10% действующего вещества в составе растворов для инъекций или инфузий и содержит 0,1-10% действующего вещества самостоятельно или в фармацевтической композиции в составе жидких или твердых лекарственных форм для местного применения; 100-500 мг действующего вещества в составе твердых лекарственных форм для перорального введения. Средство применяют парентерально - в дозах 4-15 мг/кг, перорально - в дозах 8-20 мг/кг, местно - в концентрациях 0,1-10%, в том числе, в составе фармацевтической композиции, в качестве радиопротектора или средства профилактики осложнений лучевой терапии.

Заявленное техническое решение иллюстрируется следующими материалами:

Фиг. 1 - структурные формулы рассматриваемых соединений: А) гидробромид 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины (соединение Т1023); Б) фосфат 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины (соединение Т1082).

Фиг. 2 - влияние соединений Т1023 и Т1082 в эквимоллярных дозах на выживаемость мышей F1 (СВА×С57BL6j) в течение 30 суток после воздействия γ -излучения в дозе 9,5 Гр (объединенные данные двух независимых экспериментов): А) дозы соединений: Т1023-75 мг/кг, Т1082-79,7 мг/кг; Б) дозы соединений: Т1023-40 мг/кг, Т1082-42,5 мг/кг; В) дозы соединений: Т1023-25 мг/кг, Т1082-26,5 мг/кг. Кривые 1-3-диаграммы выживаемости Каплана-Майера контрольных облученных животных (1), мышей, получавших Т1023 (2), и мышей, получавших Т1082 (3). Символы *, # - статистически достоверное по F-критерию Кокса ($p < 0,05$) повышение выживаемости в сравнении с контролем (*) и в сравнении с группой, получавшей Т1023 (#).

Осуществление изобретения

Синтез соединения Т1082.

Способ получения фосфата 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины состоял в предварительном синтезе гидробромид 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины (соединения Т1023) ранее описанным нами методом (RU 2475479 С1), из которого выделяют свободное основание - 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевину и на последней стадии подвергают взаимодействию с фосфорной кислотой.

Структуру и чистоту промежуточного соединения Т1023 подтверждали данными элементного анализа, ПМР-спектроскопии и хроматографии. Хроматографирование проводилось на пластинках Silufol UV-254 в системе аммиак-хлороформ-изопропанол (1:8:4). Спектры ПМР получены на приборе Bruker DR-500 (500 МГц). Структуру соединения Т1082 подтверждали данными элементного анализа.

В доступной научной и патентной литературе способы получения фосфата 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины и его свойства не описаны, что свидетельствует о том, что этой соединением получено нами впервые.

Способ получения соединения Т1082, его токсические свойства и радиозащитную активность, а также аргументы в пользу достижения заявленного технического результата отражают приведенные ниже примеры.

Пример 1. Получение промежуточного соединения Т1023

Смесь 6 г (40 ммоль) 1-изобутаноилтиомочевины, 9,8 г (80 ммоль) изопропилбромид и 15 мл сухого ацетонитрила в запаянной ампуле нагревают на кипящей водяной бане в течение 2 ч. Растворитель упаривают, остаток отфильтровывают и перекристаллизовывают из 4-метил-2-пентанона. Выход 3,6 г (33%). Т_{пл} 129-131°C.

Спектр ПМР (DMSO-d₆) δ 1,1 (д, 6H); 1,36 (д, 6H); 2,73 (м, 1H); 4,1 (м, 1H); 10,9 (ушир.т, 2H).

Вычислено, %: C 35,69; H 6,37; N 10,41 C₈H₁₆N₂OS·HBr

Найдено, %: C 35,76; H 6,51; N 10,45

Получение соединения Т1082.

2,8 г гидробромида 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины растворяют в 10 мл воды, по каплям добавляют около 5 мл концентрированного водного раствора аммиака (до pH 7-8) и экстрагируют дважды диэтиловым эфиром (2×15 мл). Эфирный экстракт промывают 5 мл воды, затем сушат безводным Na₂SO₄ в течение получаса, и упаривают в вакууме. Выход основания 1,7 г.

Полученное основание растворяют в 10 мл ацетона, по каплям добавляют 0,9 г фосфорной кислоты. Охлаждают. Осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из большого объема ацетона. Выход 2,2 г (84% в пересчете на Т1023) белого кристаллического продукта.

T_{пл} 129-131°C (с разложением).

R_f – 0,35 в системе аммиак-хлороформ-изопропанол (1:8:4).

Вычислено, %: C 33,55; H 6,68; N 9,78 C₈H₁₆N₂OS·H₃PO₄

Найдено, %: C 33,39; H 6,66; N 9,78

Токсические свойства соединения Т1082.

Пример 2.

Токсичность соединения Т1082 исследована на самцах белых аутбредных мышей в возрасте 2-2,5 месяца с массой тела 24-27 г путем оценки экспресс-методом по Прозоровскому (Прозоровский В.Б., Прозоровская М.П., Демченко В.М. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки. Фармакол. и токсикол. 1978. 41(4): 497-502) средней летальной дозы (ЛД₅₀) при однократном внутрибрюшинном введении в дозах 316-631 мг/кг. Растворы Т1082 изготавливали перед введением на основе воды для инъекций (Дальхимфарм, РФ). Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 суток.

Результаты этого исследования показали, что, как и Т1023, соединение Т1082 по ГОСТ 12.1.007-76 относится к третьему классу опасности (умеренно токсичное). Оценка его средней смертельной дозы (ЛД₅₀) при таком способе применения составила для мышей 410 (350÷470) мг/кг (табл. 1).

В использованных дозах соединение Т1082 вызывало быстрое развитие острой интоксикации, проявления которой были аналогичны действию токсических доз Т1023: развивалась адинамия, инициация сосудов хвоста и ушных раковин, отмечался диурез и дефекация. Ухудшение состояния сопровождалось урежением дыхания, слюнотечением и развитием клонических судорог, на пике которых регистрировалась гибель. Летальное действие развивалось в течение 20-60 мин после введения Т1082. У выживших мышей проявления интоксикации начинали ослабевать через 1,5-2 ч, а через 1 сутки и в течение дальнейшего срока наблюдения каких-либо отклонений в их состоянии не наблюдалось.

Таблица 1. Оценка средней летальной дозы соединения Т1082 для мышей при однократном внутрибрюшинном введении (метод Прозоровского)

Доза Т1082, мг/кг	Летальность	ЛД ₅₀ , мг/кг
316	0 / 2	410 (350÷470)
398	1 / 2	
501	2 / 2	
631	2 / 2	

Сопоставление полученного для соединения Т1082 показателя ЛД₅₀ с показателями "острой" токсичности для Т1023, полученными нами ранее на таких же животных и при таком же способе введения (ЛД₁₀, ЛД₁₆, ЛД₅₀ и ЛД₈₄ составляют 317, 333, 410±17, 488 мг/кг), свидетельствует, что изменение солеобразующей кислоты с бромводородной на фосфорную значительно не изменяет токсические характеристики соли 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевины, и, формально, не снижает уровень безопасности такого фармакологического воздействия.

Противолучевая активность соединения Т1082.

Сравнительное исследование противолучевой активности соединений Т1023 и Т1082 было проведено на самцах мышей F1 (СВА×С57BL6j) возрасте 2-2,5 месяца с массой тела 21-24 г в двух сериях экспериментов по различным радиобиологическим тестам, отражающим радиозащитное действие этих веществ.

Пример 3.

В первой серии экспериментов в двух независимых опытах было исследовано влияние соединений Т1023 и Т1084 при однократном введении в эквивалентных дозах на выживаемость гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при воздействии γ-излучения, которую оценивали по методу Тилла и МакКаллока (Till J.F., McCulloch E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. Radiat. Res. 1961. 14: 213-22) по числу эндогенных гемопоэтических селезеночных колоний на 8-е сутки после лучевого воздействия.

В обоих опытах мышей распределяли в 9-11 экспериментальных групп: одну контрольную и 8-10 опытных групп (по 15-20 особей в каждой). Все животные получали общее воздействие γ-излучения Со

на установке "Рокус" (РФ) в дозе 6 Гр при мощности дозы 0,45-0,5 Гр/мин. При этом животным опытных групп за 30 мин до облучения проводили однократное в/б введение соединения Т1023 в дозах 17, 25, 40, 75 и 130 мг/кг, или соединения Т1082 в эквимолярных дозах - 18,1, 26,5, 42,5, 79,7 и 138,2 мг/кг. Растворы Т1023 и Т1082 изготавливали перед введением на основе воды для инъекций (Дальхимфарм, РФ). На 8-е сутки всех животных выводили из опыта путем цервикальной дислокации под эфирным наркозом, выделяли селезенки, фиксировали их 24 ч в кислой жидкости Буэна, и далее при 20-кратном увеличении проводили подсчет числа гемопоэтических колоний на их поверхности. Выраженность противолучевых эффектов соединений Т1023 и Т1082, и их сопоставление между собой проводили при множественном межгрупповом сравнении числа эндоколоний путем дисперсионного анализа рангов Краскела-Уоллиса с применением Q-критерия Бонферрони-Данна.

Таблица 2. Влияние соединений Т1023 и Т1082 при однократном введении в эквимолярных дозах на число эндогенных селезеночных гемопоэтических колоний у мышей F1 (СВА×С57BL6j) на 8-е сутки после воздействия γ -излучения в дозе 6 Гр (объединенные данные двух независимых экспериментов)

Дозы радиопротекторов		Число эндоколоний, отн. ед. ¹ (M ± SD); число наблюдений
0 (контроль облучения)		1,00 ± 0,84 (n = 30)
63 мкмоль/л	T1023 – 17,0 мг/кг	2,02 ± 2,23 (n = 15)
	T1082 – 18,1 мг/кг	1,44 ± 1,07 (n = 14)
93 мкмоль/л	T1023 – 25,0 мг/кг	1,85 ± 0,98 (n = 34)
	T1082 – 26,5 мг/кг	2,83 ± 1,61 (n = 34) * #
149 мкмоль/л	T1023 – 40,0 мг/кг	3,06 ± 1,39 (n = 35) *
	T1082 – 42,5 мг/кг	3,13 ± 1,56 (n = 33) *
279 мкмоль/л	T1023 – 75,0 мг/кг	3,20 ± 1,33 (n = 33) *
	T1082 – 79,7 мг/кг	3,71 ± 1,72 (n = 34) *
483 мкмоль/л	T1023 – 130,0 мг/кг	2,80 ± 1,65 (n = 34) *
	T1082 – 138,2 мг/кг	3,03 ± 2,06 (n = 34) *

Примечания: ¹ - данные нормированы на среднее число селезеночных эндоколоний в контроле облучения каждого опыта; символы *, # - статистически достоверное различие (p<0,05) по Q-критерию Данна с группой контроля облучения (*) и с группой, получавшей эквимолярную дозу Т1023 (#).

Результаты этих экспериментов, отраженные в табл. 2, показали, что оба изучаемых соединения реализовали наиболее выраженное, равное по эффективности противолучевое действие при дозах уровня 1/4 ЛД₁₀ (Т1023-75 мг/кг; Т1082-79,7 мг/кг), которое в этих опытах повышало выживаемость ГСК в 3,2-3,7 раза. Снижение доз соединений до уровня 1/8 ЛД₁₀ (Т1023-40 мг/кг; Т1082-42,5 мг/кг) умеренно ослабляло их радиозащитное действие, но, в целом, их противолучевая эффективность также оставалась высокой и равной - выживаемость ГСК повышалась в 3,1 раза. Но снижение доз соединений до уровня 1/12 ЛД₁₀ (Т1023-25 мг/кг; Т1082-26,5 мг/кг) в обоих опытах сопровождалось качественно различной противолучевой активностью Т1023 и Т1082. Если соединение Т1023 в этих опытах, как и во многих предыдущих исследованиях, при такой дозе не оказывало значимого радиозащитного действия, то противолучевая активность Т1082 при таких дозах была достоверно более выраженной, и сохранялась на высоком, статистически значимом уровне - выживаемость ГСК повышалась в 2,8 раза. Дальнейшее же снижение доз до уровня 1/18-1/20 ЛД₁₀ (Т1023-17 мг/кг; Т1082-18,1 мг/кг) сопровождалось отсутствием значимого радиозащитного действия уже обоих соединений.

Таким образом, в двух независимых экспериментах были выявлены существенные различия противолучевой активности изучаемых соединений в области малых доз уровня 1/12 ЛД₁₀ (Т1023-25 мг/кг; Т1082-26,5 мг/кг). И характер этих различий свидетельствует, что изменение солеобразующей кислоты с бромводородной на фосфорную расширяет диапазон радиозащитных доз соли 1-изобутаноил-2-изопропил-изотиомочевина, что, потенциально, позволяет соединению Т1082 реализовать эффективное противолучевое действие при применении в меньших, более безопасных дозах.

Пример 4.

Для подтверждения выводов первой серии радиологических экспериментов (пример 3) и более детальной оценки особенностей противолучевой активности соединения Т1082, была проведена вторая серия также из двух независимых опытов, в которых проводилось сравнительное изучение влияния соединений Т1023 и Т1082 при однократном введении в эквимолярных дозах на выживаемость мышей в течение 30 суток после воздействия минимальных абсолютно летальных доз γ -излучения (ЛД₈₄-ЛД₉₅).

В обоих опытах животных распределяли в 6-7 экспериментальных групп: одну контрольную и 5-6 опытных групп (по 15-16 особей в каждой). Животные получали общее воздействие γ -излучения ⁶⁰Со на установке "Рокус" (РФ) в дозе 9,5 Гр при мощности дозы 0,45-0,5 Гр/мин. При этом животным опытных групп за 30 минут до облучения проводили однократное в/б введение соединения Т1023 в дозах 25, 40 и 75 мг/кг, или соединения Т1082 в эквимолярных дозах - 26,5, 42,5 и 79,7 мг/кг. Растворы Т1023 и Т1082 изготавливали перед введением на основе воды для инъекций (Дальхимфарм, РФ). Выживаемость животных регистрировали ежедневно в течение 30 суток после лучевого воздействия. Выраженность противолучевых эффектов соединений Т1023 и Т1082, и их сопоставление между собой проводили путем межгруппового статистического сравнения диаграмм выживаемости Каплана-Майера по F-критерию Кокса и показателей 30-суточной выживаемости по точному критерию Фишера.

Результаты этих экспериментов, отраженные в обобщенном виде на фиг. 2 и в табл. 3, подтверждали узость диапазона эффективных радиозащитных доз соединения T1023. Выраженное, эффективное противолучевое действие (выживаемость 60% облученных мышей) соединение T1023 реализовало только при дозе уровня 1/4 ЛД₁₀ (75 мг/кг). Снижение дозы T1023 до уровня 1/8 ЛД₁₀ (40 мг/кг) сопровождалось резким ослаблением противолучевой эффективности, и радиозащитное действие при этом уже наблюдалось на минимально значимом уровне (выживаемость 36% животных). А дальнейшее снижение дозы T1023 до уровня 1/12 ЛД₁₀ (25 мг/кг) уже сопровождалось полным отсутствием радиозащитного эффекта.

Таблица 3. Влияние соединений T1023 и T1082 при однократном введении в эквимолярных дозах на показатели 30-суточной выживаемости мышей F1 (CBA×C57BL6j) при воздействии γ -излучения в дозе 9,5 Гр (объединенные данные двух независимых экспериментов)

Дозы радиопротекторов		Доля выживших мышей на 30-е сутки, %
0 (контроль облучения)		12,9% (4/31)
93 мкмоль/л	T1023 – 25,0 мг/кг	26,7% (8/31)
	T1082 – 26,5 мг/кг	80,0% (12/15) * #
149 мкмоль/л	T1023 – 40,0 мг/кг	35,5% (11/31) *
	T1082 – 42,5 мг/кг	63,3% (19/30) * #
279 мкмоль/л	T1023 – 75,0 мг/кг	60,0% (18/30) *
	T1082 – 79,7 мг/кг	71,0% (22/31) *

Примечания: символы *, # - статистически достоверное различие ($p < 0,05$) по точному критерию Фишера с группой контроля облучения (*) и с группой, получавшей эквимолярную дозу T1023 (#).

Принципиально иная дозовая зависимость противолучевой активности в данном диапазоне доз в этих независимых опытах наблюдалась для соединения T1082. При дозе уровня 1/4 ЛД₁₀ (79,7 мг/кг) T1082 реализовало такое же выраженное, эффективное радиозащитное действие (выживаемость 71% облученных мышей), как и T1023 в эквимолярной дозе. Но при этом снижение доз T1082 до уровней 1/8 ЛД₁₀ (42,5 мг/кг) и 1/12 ЛД₁₀ (26,5 мг/кг) не вызывало ограничения его противолучевой эффективности, и сопровождалось таким же стабильно выраженным радиозащитным действием (выживаемость 63-80% животных). При всех использованных дозах T1082 противолучевое действие было равноэффективным - значимых различий не наблюдалось ни по диаграммам выживаемости, ни по показателям 30-суточной выживаемости, и при этом при дозах 42,5 и 25,5 мг/кг радиозащитный эффект соединения T1082 выражено, статистически достоверно превосходил эффекты эквимолярных доз T1023.

Доказательство достижения заявленного результата

Заявленный технический результат предлагаемого изобретения заключается в значительном расширении терапевтического диапазона эффективных радиозащитных доз, позволяющих обеспечить эффективное радиозащитное действие при применении значительно меньших доз действующего вещества, и, тем самым, существенно повысить безопасность такого фармакологического воздействия.

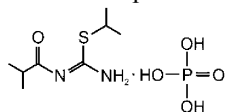
Приведенные результаты независимых кратных сравнительных исследований противолучевой активности соединений T1023 и T1082 (примеры 3, 4) свидетельствуют, что изменение солеобразующей кислоты с бромоводородной на фосфорную, в целом, практически не влияет на уровень максимальной противолучевой эффективности солей 1-изобутаноил-2-изопропил-изотиомочевины их при оптимальных радиозащитных дозах, но выражено влияет на широту терапевтических диапазонов таких доз. Если в виде соли гидробромида это производное изотиомочевины способно к эффективному радиозащитному действию в достаточно узком диапазоне доз - 1/5-1/4 ЛД₁₀ (60-80 мг/кг для мышей), то фосфатная соль этой изотиомочевины (соединение T1082) реализует равноэффективное радиозащитное действие в гораздо более широком диапазоне доз - 1/12-1/4 ЛД₁₀ (25-80 мг/кг для мышей). И очевидно, что такой характер и масштаб расширения терапевтического диапазона радиозащитных доз позволяет соединению T1082 реализовать выраженное, не уступающее в эффективности прототипу, противолучевое действие, но при применении в 2-3 раза меньших доз действующего вещества - уровня 1/12-1/8 ЛД₁₀.

Такая особенность противолучевой активности T1082, в совокупности с данными об отсутствии ухудшения общих токсических характеристик этого соединения в сравнении с прототипом (пример 2) позволяет достичь при предложенном техническом решении наиболее важного аспекта заявленного результата - повысить безопасность такого фармакологического воздействия, что является в настоящее время наиболее приоритетной задачей современной радиационной фармакологии.

Полученное фармакологическое средство обеспечивает эффективное и стабильное радиозащитное действие при применении малых, относительно безопасных доз действующего вещества - уровня 1/12-1/8 ЛД₁₀, а также расширяет возможности для разработки эффективных и безопасных противолучевых средств и средств профилактики осложнений лучевой терапии.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Радиозащитное фармакологическое средство, характеризующееся тем, что содержит в качестве действующего вещества фосфат 1-изобутироил-2-изопропилизотиомочевины со структурной формулой



2. Средство по п.1, характеризующееся тем, что оказывает противолучевое действие в широком диапазоне доз действующего вещества - 1/12-1/4 ЛД₁₀.

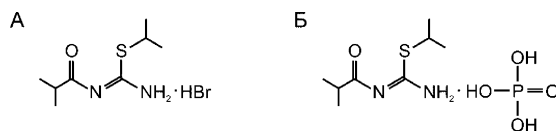
3. Средство по пп.1 и 2, характеризующееся тем, что обеспечивает высокую противолучевую эффективность при применении малых, относительно безопасных доз действующего вещества - 1/12-1/8 ЛД₁₀.

4. Средство по пп.1-3, характеризующееся тем, что содержит 0,1-10% действующего вещества в составе растворов для инъекций или инфузий.

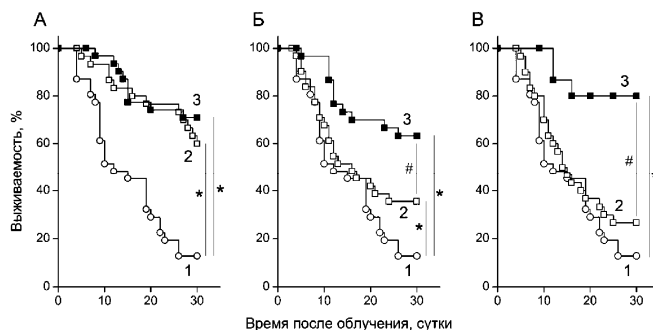
5. Средство по пп.1-3, характеризующееся тем, что содержит 0,1-10% действующего вещества самостоятельно или в фармацевтической композиции в составе жидких или твердых лекарственных форм для местного применения.

6. Средство по пп.1-3, характеризующееся тем, что содержит 100-500 мг действующего вещества в составе твердых лекарственных форм для перорального введения.

7. Применение радиозащитного фармакологического средства по п.1 однократно парентерально в дозах 4-15 мг/кг, перорально - в дозах 8-20 мг/кг, местно - в концентрациях 0,1-10%, в качестве радиопротектора или средства профилактики осложнений лучевой терапии.



Фиг. 1



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2