

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **034858**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.03.30

(21) Номер заявки
201791713

(22) Дата подачи заявки
2016.02.01

(51) Int. Cl. **A61K 31/01** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ ГЛЮКОЗЫ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ

(31) **15153178.7**

(32) **2015.01.30**

(33) **EP**

(43) **2018.01.31**

(86) **PCT/EP2016/052076**

(87) **WO 2016/120490 2016.08.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ФРЕЗЕНИУС КАБИ ДОЙЧЛАНД
ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:
**Зундерманн Бернд, Вальц Ларс,
Баснер Зильке, Ноккен Франк, Майер
Кристоф (DE)**

(74) Представитель:
**Веселицкая И.А., Веселицкий М.Б.,
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)**

(56) ROCCONI R.P. ET AL.: "Icodextrin enhances survival in an intraperitoneal ovarian cancer murine model utilizing gene therapy", GYNECOLOGIC ONCOLOGY, ACADEMIC PRESS, LONDON, GB, vol. 103, no. 3, 1 December 2006 (2006-12-01), pages 985-989, XP024922034, ISSN: 0090-8258, DOI:10.1016/J.YGYNO.2006.06.005[retrieved on 2006-12-01]abstract
US-A1-2013196949
WO-A1-2012004008
WO-A1-0236167

(57) В заявке описан раствор, прежде всего фармацевтически приемлемый раствор, включающий икодекстрин и гидроксиалкилированный крахмал (ГАК), при этом икодекстрин присутствует в концентрации от 1 до 7,5% (мас./об.), и указанный ГАК присутствует в концентрации от 1 до 15% (мас./об.). В заявке, кроме того, описан упомянутый выше фармацевтический приемлемый раствор для применения в качестве лекарственного средства и для применения (например, в способах) при профилактике метастазирования и/или рецидива метастазирования при введении в полость тела субъекту, страдающему от рака. Кроме того, в заявке описан набор, включающий икодекстрин и ГАК в предварительно отмеренных количествах и фармацевтически приемлемые средства для их растворения, устройство, включающее фармацевтически приемлемый раствор по настоящему изобретению, средства для его введения, а также описан фармацевтически приемлемый раствор, включающий икодекстрин и гидроксиалкилированный крахмал в суммарной концентрации в интервале от 1 до 20% (мас./об.), при этом массовое соотношение икодекстрина и гидроксиалкилированного крахмала находится в интервале от 0,05:1 до 5:1, и указанный набор предназначен для применения при профилактике метастазирования и/или рецидива метастазирования при введении в полость тела субъекта, страдающего от рака.

B1**034858****034858****B1**

Область, к которой относится настоящее изобретение

Настоящее изобретение относится к раствору, прежде всего к фармацевтически приемлемому раствору, включающему икодекстрин и гидроксилалкилкрахмал (ГЭК), при этом концентрация икодекстрина составляет от 1 до 7,5% (мас./об.) и концентрация ГЭК составляет от 1 до 15% (мас./об.). Настоящее изобретение также относится к указанному выше фармацевтически приемлемому раствору для применения в качестве лекарственного средства и для применения при профилактике метастазирования и/или рецидива метастазирования при введении в полость тела субъекта, страдающего от рака. Настоящее изобретение относится также к набору, содержащему икодекстрин и ГЭК в предварительно определенных количествах и фармацевтически приемлемые средства для их растворения (т.е. разбавители), устройству, включающему фармацевтически приемлемый раствор по настоящему изобретению и средства для его введения, и к фармацевтически приемлемому раствору, содержащему икодекстрин и гидроксилалкилкрахмал при общей концентрации в интервале от 1 до 20% (мас./об.), при этом массовое соотношение икодекстрина и гидроксилалкилкрахмала находится в интервале от 0,05:1 до 5:1. Различные растворы, наборы и устройства, описанные в данном контексте, являются пригодными для профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования при введении в полость тела субъекта, страдающего от рака.

Предпосылки создания настоящего изобретения

Получаемые из крахмала полисахариды используют в медицине, например, в качестве плазмозамещающих средств для замены плазмы, а также в клиническом гемодиализе (Sommermeyер и др., *Krankenhauspharmazie*, 8 (8), 271-278 (1987), Weidler и др., *Arzneimittelforschung/Drug Research*, 41, 494-498 (1991)). Для этой цели часто используют особые формы гидроксилалкилированного крахмала (ГЭК), прежде всего гидроксипропилированного крахмала (ГЭК). Однако в последние годы описаны другие возможные области применения полисахаридов в медицине, включая описанные ниже.

β -Глюканы были исследованы при пероральном и внутривенном введении в качестве универсальных иммуностимуляторов, прежде всего при лечении рака (A. Weitberg, *J Exp Clin Cancer Res*, 27 (40) (2008), WO 2007/084661), и на модели саркомы мыши (патент US № 4207312). Было установлено, что β -глюканы не оказывают цитотоксический эффект, например, на раковые клетки, но характеризуются иммуностимулирующими эффектами (Chan и др., *J Hematol Oncol*, 2, 25 (2009), WO 2004/030613).

α -Глюканы, такие как амилоза, не были известны как вещества, оказывающие противоопухолевое действие. Однако недавно было установлено, что гидроксилалкилированные крахмалы характеризуются снижением роста опухолей при внутривенном введении (WO 2013/113747, WO 2013/113496).

В патенте DE 4023788 A1 описано применение гидроксилалкилированного крахмала при гипербарической оксигенации внутреннего уха и различных других состояний. Описан только один пример введения раствора ГЭК, включающего экстракт гинко билоба, пациенту, проходящему курс гипербарической оксигенации. Однако лечебный эффект после такого лечения не наблюдался.

В литературе описано несколько примеров применения растворов, содержащих полиглюканы в качестве носителей для фармацевтически активных соединений. В патенте US № 6207654 описано применение ГЭК для предотвращения утечки сывороточных белков из капиллярных эндотелиальных соединений и предлагается применение растворов, содержащих ГЭК и интерлейкин-2, для лечения вирусных и бактериальных инфекций для профилактики образования злокачественных опухолей. В работе Mohamed и др. (*EJCO*, 29, 261 (2003)) и в обзоре (*Surg Oncol Clin N Am*, 12, 813 (2003)) описаны преимущества изотонических растворов высокомолекулярных соединений в качестве носителей для внутрибрюшинной химиотерапии. Кроме того, применение икодекстрина в качестве компонента раствора носителя при внутрибрюшинной аденовирусной онкотерапии на модели мыши, при которой использование такого раствора улучшало общую выживаемость по сравнению с фосфатно-солевым буфером (ФСБ) (Rosconi и др., *Gynecologic Oncology*, 103, 985 (2006)).

Более того, было предложено использовать полиглюканы, включающие гидроксилалкилированные крахмалы, для снижения образования послеоперационных спаек, см., например, Gist и др. (*Journal of Investigative Surgery*, 9, 369-373 (1996)), Van den Tol и др. (*Surgery*, 137 (3), 348 (2005)), патент US № 5807833 и I. Bekes (диссертация медицинского факультета RWTH Aachen (2008): "Adhasions- und Nidationsprophylaxe nach i.p. Implantation von SCOV.ip-Zellen in SCID-Mause mittels Icodextrin, Hyaluronsaure und physiologischer NaCl-Losung"). В последней работе описано также применение раствора икодекстрина для предотвращения имплантации клеток опухоли в очагах, введенных в брюшную полость. Значительный эффект по сравнению с контролем (раствор хлорида натрия) не наблюдался.

Рак все еще является одной из основных причин смертельных случаев, прежде всего в развитых странах. Соответственно улучшение лечения и профилактика рака все еще являются целью множества исследовательских проектов. В течение многих лет были разработаны способы лечения первичных раков, которые в большинстве случаев являются, по крайней мере, эффективными на начальном этапе и которые в большинстве случаев включают хирургическое вмешательство. Однако в зависимости от вида рака существует риск возобновления роста опухоли (рецидив) и/или распространения раковых клеток в другие участки тела (метастазирование). Соответственно пятилетняя выживаемость изменяется в интервале, например, от 100% для рака молочной железы *in situ* до 25% для рака яичника и снижается до 6%

для рака поджелудочной железы. Таким образом, основное внимание большинства исследовательских центров сместилось с лечения первичного рака или, по крайней мере, лечения видимых глазом опухолей к профилактике и лечению метастазирования и рецидива метастазирования. Такое лечение является особенно необходимым для раков полостей тела, прежде всего брюшной полости, поскольку раки, образующиеся в брюшной полости, вызывают симптомы только после достижения ими определенного размера опухоли и, следовательно, часто остаются в теле в течение продолжительных периодов времени до их удаления. В результате в таких опухолях значительно увеличивается риск отделения опухолевых клеток, что приводит к метастазированию. Данный эффект часто вносит вклад в крайне плохой прогноз для пациентов с диагнозом рака таких видов.

Примером "хирургического вмешательства" для лечения рака является перитонэктомия, хирургическая процедура для пациентов с перитонеальной мезотелиомой. Перитонеальная полость представляет собой пространство между мембраной, выстилающей абдоминальную полость, и мембранами, окружающими орган внутри брюшной полости. Цель хирургического вмешательства заключается в удалении раковой части слизистой оболочки брюшной полости. В процессе перитонэктомии можно выполнить циторедуктивную операцию, предназначенную для удаления максимально возможного количества раковой ткани из разных участков брюшной полости. Данная операция, называемая также циторедукцией, является сложной процедурой и ее продолжительность может составлять от 10 до 12 ч. Она может даже включать удаление частей соседних органов, включая кишечник, желчный пузырь, печень, поджелудочную железу, селезенку и желудок.

Хирургическое вмешательство предназначено для удаления опухоли, однако оно ограничено теми раковыми клетками, которые видны невооруженным глазом. Следовательно, такое хирургическое вмешательство (например, циторедуктивная операция) может сопровождаться другими дополнительными процедурами для улучшенного проникновения в раковые клетки, не видимые невооруженным глазом.

Например, химиотерапию, которая означает введение химиотерапевтических агентов с противоопухолевой и/или цитотоксической активностью, иногда проводят в брюшной полости для прямого контактирования с раковыми клетками, начиная с момента проведения операции, и продолжают в интервале времени от 90 мин до приблизительно 2 недель. При таком комбинированном лечении химиотерапия предназначена для уничтожения любых раковых клеток, оставшихся неудаленными после циторедукции. Гипертермическая внутрибрюшинная химиотерапия (ГВБХ) представляет собой другую процедуру, которую можно использовать в комбинации с хирургической операцией для лечения различных желудочно-кишечных раков, перитонеальных мезотелиом и раков яичников, которые распространяются до слизистой оболочки брюшной полости.

Комбинация циторедукции (циторедуктивной операции) и ГВБХ представляет собой двухстадийный процесс хирургического удаления любых видимых глазом опухолей или раковых клеток с последующим введением нагретых химиотерапевтических агентов в поврежденную область. На второй стадии пациента подключают к серии катетеров и насосному устройству, с помощью которого промывают всю брюшную полость нагретыми химиотерапевтическими средствами в течение приблизительно 90 мин для лечения любых раковых клеток, которые могли остаться неудаленными.

Недостаток данного способа заключается в том, что обслуживание оборудования требует большой осторожности и представляет высокий риск контактирования медицинского персонала с использованными цитотоксичными агентами. Кроме того, все оборудование для промывания брюшной полости необходимо обрабатывать и утилизировать как токсичные или опасные отходы, поскольку они находились в контакте с цитотоксичными агентами, использованными при химиотерапии.

В работе Pi и др. (Bull Hunan Med Univ, 24, 6, 1 (1999)) исследовали применение гипертермических перитонеальных промывных растворов при 45°C для профилактики имплантации опухолевых клеток у мышей. Авторы пришли к выводу, что предпочтительным является послеоперационная промывка брюшной полости мыши гипотонической водой при 45°C, солевым раствором при 45°C и затем гипертоническим раствором, содержащим декстран 40, также при 45°C. Однако данные результаты нельзя использовать непосредственно в клинической практике, поскольку обработка при 45°C может оказывать отрицательное действие на нормальные клетки тканей пациента.

Краткое описание настоящего изобретения

Существует необходимость в разработке композиций и способов для профилактики метастазирования и рецидива метастазирования, прежде всего композиций и способов, которые можно использовать, не подвергая субъекта стрессу, связанному с тяжелыми побочными эффектами, которыми сопровождается введение противоопухолевых или цитотоксичных агентов, не подвергая риску повреждения здоровых тканей за счет промывания их растворами, нагретыми до повышенных температур. Техническая проблема решается при осуществлении определенных вариантов по настоящему изобретению в формуле изобретения, которая описана ниже.

Соответственно настоящее изобретение относится к раствору, содержащему икодекстрин и гидроксиалкилированный крахмал (ГЭК), при этом концентрация икодекстрина составляет от 1 до 7,5% (мас./об.), и концентрация ГЭК составляет от 1 до 15% (мас./об.). Предпочтительный раствор включает от 3 до 5% икодекстрина (мас./об.) и от 7,5 до 12,5% (мас./об.) ГЭК. В настоящее изобретение включены

интервалы, указанные в данном контексте. Например, раствор, включающий от 1 до 7,5% икодекстрина (мас./об.), может включать 1% икодекстрина, 7,5% икодекстрина или любые интервалы или количества в интервале от 1 до 7,5% (мас./об.). Кроме того, любые предлагаемые количества могут быть охарактеризованы термином "приблизительно". Например, раствор по настоящему изобретению может включать икодекстрин в количестве приблизительно от 1 до приблизительно 7,5% (мас./об.) и ГАК приблизительно от 1 до приблизительно 15% (мас./об.).

Следующие предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения представлены в качестве примера без ограничения перечисленным и включены в объем настоящего изобретения.

Вариант 1.

Раствор, содержащий икодекстрин и гидроксиалкилированный крахмал (ГАК), при этом концентрация икодекстрина составляет от 1 до 7,5% (мас./об.) и концентрация ГАК составляет от 1 до 15% (мас./об.).

Вариант 2.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по варианту 1, в котором ГАК представляет собой гидроксиэтилированный крахмал (ГЭК).

Вариант 3.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по варианту 1 или 2, в котором ГАК, предпочтительно ГЭК, характеризуется величиной молярного замещения (МЗ) в интервале от 0,1 до 3, предпочтительно от 0,2 до 1,3 и более предпочтительно от 0,3 до 0,7.

Вариант 4.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1 или 2, где среднемассовая молекулярная масса (M_w) ГАК, предпочтительно ГЭК, составляет от 5 до 700 кДа, предпочтительно от 10 до 300 кДа и более предпочтительно от 70 до 150 кДа.

Вариант 5.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1-4, где среднемассовая молекулярная масса (M_w) икодекстрина составляет от 5 до 30 кДа, предпочтительно от 10 до 20 кДа и более предпочтительно от 13 до 16 кДа.

Вариант 6.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1-5, где икодекстрин присутствует в концентрации от 2 до 5% (мас./об.) и/или где ГАК присутствует в концентрации от 5 до 12,5% (мас./об.).

Вариант 7.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1-6, где икодекстрин присутствует в концентрации от 3 до 5% (мас./об.) и/или где ГАК присутствует в концентрации от 7,5 до 12,5% (мас./об.).

Вариант 8.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1-7, где икодекстрин присутствует в концентрации $4 \pm 1\%$ (мас./об.) и где ГАК присутствует в концентрации $10 \pm 1\%$ (мас./об.).

Вариант 9.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1-8, где икодекстрин присутствует в концентрации $4 \pm 0,5\%$ (мас./об.) и где ГАК присутствует в концентрации $10 \pm 0,5\%$ (мас./об.).

Вариант 10.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1-9, где общая концентрация икодекстрина и ГАК составляет по не более 20% (мас./об.), предпочтительно не более 15%.

Вариант 11.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1-10, где суммарная концентрация икодекстрина и ГАК составляет от 5 до 20% (мас./об.), предпочтительно от 7 до 15% (мас./об.).

Вариант 12.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1-11, где раствор дополнительно включает соль или соли, предпочтительно NaCl, в концентрации по крайней мере 0,8% (мас./об.).

Вариант 13.

Композиция по настоящему изобретению, включающая раствор по любому из вариантов 1-12, где раствором является фармацевтически приемлемый раствор.

Вариант 14.

Фармацевтически приемлемый раствор, как описано в данном контексте (например, раствор по варианту 13), предназначенный для применения в качестве лекарственного средства для профилактики

метастазирования или рецидива метастазирования.

Вариант 15.

Фармацевтически приемлемый раствор, как описано в данном контексте (например, раствор по варианту 13), предназначенный для применения в качестве лекарственного средства для профилактики метастазирования или рецидива метастазирования при введении в полость тела субъекту, страдающему от рака.

Вариант 16.

Фармацевтически приемлемый раствор для применения, как описано в данном контексте, например, в варианте 15, где раком является рак яичника, карцинома яичника, рак желудка, рак легкого, рак поджелудочной железы, рак желчного пузыря, рак печени, колоректальный рак или рак молочной железы. Предпочтительным раком является рак кишечника.

Вариант 17.

Фармацевтически приемлемый раствор для применения, как описано в данном контексте, например, в варианте 15 или 16, где осуществляется профилактика метастазирования и/или рецидива метастазирования в полости тела субъекта, предпочтительно в брюшной полости.

Вариант 18.

Фармацевтически приемлемый раствор для применения, как описано в данном контексте, например, в любом из вариантов 15-17, где раствор предназначен для послеоперационного введения, для введения во время операции и/или для введения перед операцией (или для введения согласно способу лечения после операции, при проведении операции или перед операцией).

Вариант 19.

Применение раствора, описанного в данном контексте, например, раствора по вариантам 1-13, для лечения рака, предпочтительно для профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования.

Вариант 20.

Набор, включающий икодекстрин и ГАК в предварительно отмеренных количествах (упакованных отдельно или вместе) и фармацевтически приемлемые средства для их растворения (например, носитель), или набор, включающий раствор, включающий икодекстрин или ГАК, например, как описано в данном контексте.

Вариант 21.

Устройство, включающее фармацевтически приемлемый раствор, как описано в данном контексте, например, по варианту 13, и средства для его введения.

Вариант 22.

Применение икодекстрина и ГАК для получения фармацевтической композиции, предназначенной для профилактики метастазирования у субъекта, страдающего от рака.

Пример 23.

Применение икодекстрина и ГАК, как описано в данном контексте, например, для применения по варианту 22, где фармацевтической композицией является фармацевтически приемлемый раствор, предпочтительно фармацевтически приемлемый раствор по варианту 13.

Вариант 24.

Способ профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования у субъекта, страдающего от рака, включающий введение фармацевтически приемлемого раствора, включающего икодекстрин в концентрации от 1 до 7,5% (мас./об.) и гидроксиалкилированный крахмал (ГАК) в концентрации от 1 до 15% (мас./об.) в полость тела субъекта. Раствор вводят в течение времени и в количестве, обеспечивающем эффективную профилактику метастазирования и/или рецидива метастазирования у субъекта.

Вариант 25.

Способ по варианту 24, где профилактикой метастазирования и/или рецидива метастазирования у субъекта является профилактика метастазирования и/или рецидива метастазирования в полости тела субъекта. Фармацевтически приемлемый раствор можно вводить в полость тела и/или можно осуществлять профилактику метастазирования и/или рецидива метастазирования.

Вариант 26.

Фармацевтически приемлемый раствор, включающий икодекстрин и гидроксиалкилированный крахмал в суммарной концентрации в интервале от 1 до 20% (мас./об.), где массовое соотношение икодекстрина и гидроксиалкилированного крахмала находится в интервале от 0,05:1 до 5:1. Раствор можно использовать для профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования при введении в полость тела субъекта, страдающего от рака.

Вариант 27.

Фармацевтически приемлемый раствор, как описано в данном контексте, например, раствор по варианту 26, где суммарная концентрация икодекстрина и гидроксиалкилированного крахмала находится в интервале от 2 до 18% (мас./об.), предпочтительно в интервале от 5 до 16% (мас./об.) и более предпочтительно в интервале от 7 до 15% (мас./об.).

Вариант 28.

Фармацевтически приемлемый раствор, например, для применения по варианту 26 или 27, где мас-

совое соотношение икодекстрина и гидроксилкилированного крахмала находится в интервале от 0,1:1 до 4:1, предпочтительно в интервале от 0,2:1 до 3:1 и более предпочтительно от 0,3:1 до 2:1.

Вариант 29.

Фармацевтически приемлемый раствор для применения по одному из вариантов 26-28, где суммарная концентрация икодекстрина и гидроксилкилированного крахмала находится в интервале $14 \pm 1\%$ (мас./об.) и массовое соотношение икодекстрина и гидроксилкилированного крахмала находится в интервале от 0,3:1 до 0,5:1.

Термины "содержать", "состоять из" или "включать" или любые другие варианты произвольной грамматики, используемые в данном контексте, используются в неисключительном варианте. Таким образом, эти термины могут означать случай, когда кроме введенного этими терминами признака другие признаки отсутствуют, или случай, когда присутствует один или более других признаков. Например, словосочетания "А содержит В", "А состоит из В" и "А включает В" может означать случай, когда, кроме В, в А другие элементы отсутствуют (т.е. случай, когда А полностью и исключительно состоит из В), или случай, когда, кроме В, в структуре А присутствует один или более других элементов, таких как элемент С, элементы С и D или даже другие элементы.

Кроме того, термины "предпочтительно", "более предпочтительно", "наиболее предпочтительно", "прежде всего", "предпочтительнее всего", "подробно", "более подробно" или похожие термины, используемые в данном контексте, используются в комбинации с дополнительными признаками, но не ограничиваясь альтернативными вариантами. Таким образом, признаки, вводимые такими терминами, являются необязательными признаками, и никоим образом не предназначены для ограничения объема формулы изобретения. Специалистам в данной области техники представляется очевидным, что настоящее изобретение можно осуществить с использованием альтернативных признаков. Аналогичным образом, признаки, вводимые термином "в варианте осуществления настоящего изобретения" или аналогичными терминами, являются необязательными признаками, которые не ограничивают объем настоящего изобретения и никоим образом не ограничиваются возможностью комбинации признаков, вводимых таким образом, с другими необязательными или обязательными признаками настоящего изобретения.

Кроме того, термин "приблизительно", использованный в данном контексте, в отношении величины параметра относится к величине, включающей интервал $\pm 10\%$, предпочтительно $\pm 5\%$, более предпочтительно $\pm 2\%$, наиболее предпочтительно $\pm 1\%$ от величины. Соответственно выражение "приблизительно 4 г" предпочтительно означает "4 г $\pm 10\%$ ", т.е. величины от 3,6 до 4,4 г. Для ясности, величина и индикатор отклонения от величины выражены в одинаковых единицах, а отклонение обозначено в тех же самых единицах, что применимо к случаям, в которых единицей является процент. Соответственно выражение "4 $\pm 1\%$ " соответствует величинам от 3 до 5%. Термин "А в основном состоит из В" означает А, содержащее по крайней мере 90%, предпочтительно 95%, более предпочтительно 98% и наиболее предпочтительно 99% В. Если "А в основном состоит из В", то А состоит из В и любых других материалов или стадий, материально не влияющих на основные и новые характеристики А.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 представлен линейный график зависимости массы мыши, инокулированной клетками опухоли LS174T, от времени, как описано в примере 1. На оси Y показана абсолютная масса животного в граммах $\pm$ стандартное отклонение (CO); на оси X указано время в днях, прошедших после инокуляции.

Способы лечения обозначены следующими символами: "▲" (черный треугольник) означает животных, леченных 0,9% изотоническим солевым раствором (NaCl) в качестве контроля, "△" (белый треугольник) означает животных, леченных раствором икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)), "●" (черный круг) означает животных, леченных заменителем крови VOLUVEN (10%, ГЭК 130/0,4 (10%)), "○" (белый круг) означает животных, леченных смесью 1:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 5% (икодекстрин (2%)+ГЭК 130/0,4 (5%)), "■" (черный квадрат) означает животных, леченных смесью 4:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 3,2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 2% (икодекстрин (3,2)+ГЭК 130/0,4 (2%)) и "□" (белые квадраты) означают животных, леченных ГЭК 130/0,4, растворенном при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)+ГЭК 130/0,4 (10%)).

На фиг. 2 показана диаграмма изменения индекса перитонеального рака (PCI, среднее значение по всем животным $\pm$ CO) у мышей, инокулированных клетками опухоли LS174T, как описано в примере 1. Соответствующие способы обозначены следующим образом: черный столбец означает лечение 0,9% изотоническим солевым раствором (NaCl) в качестве контроля, белый столбец означает лечение раствором икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)), заштрихованный вертикально столбец означает лечение заменителем крови VOLUVEN® (10%) (ГЭК 130/0,4 (10%)), заштрихованный диагонально столбец означает лечение смесью 1:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN® (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 5% (икодекстрин (2%)+ГЭК 130/0,4 (5%)), заштрихованный горизонтально столбец

означает лечение смесью 4:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 3,2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 2% (икодекстрин (3,2%)+ГЭК 130/0,4 (2%)), и заштрихованный пунктиром столбец означает лечение ГЭК 130/0,4, растворенном при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)+ГЭК 130/0,4 (10%)).

На фиг. 3 показан график изменения индекса перитонеального рака (PCI, отдельные значения для всех животных, черная линия - средняя величина) у мышей, инокулированных клетками опухоли LS174T, как описано в примере 1. Способы лечения обозначены следующими символами: "▲" (черный треугольник) означает введение 0,9% изотонического солевого раствора (NaCl) мышам (контроль), "△" (белый треугольник) означает введение раствора икодекстрина (4%) мышам (икодекстрин (4%)), "●" (черный круг) означает введение заменителя крови VOLUVEN® мышам (10%, ГЭК 130/0, (10%)), "○" (белый круг) означает введение смеси 1:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN® (10%) мышам, при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 5% (икодекстрин (2%)+ГЭК 130/0,4 (5%)), "■" (черный квадрат) означает введение смеси 4:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN® (10%) мышам, при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 3,2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 2% (икодекстрин (3,2%)+ГЭК 130/0,4 (2%)) и "□" (белые квадраты) означают введение ГЭК 130/0,4 при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (4%) мышам (икодекстрин (4%)+ГЭК 130/0,4 (10%)).

На фиг. 4 показана диаграмма изменения индекса перитонеального рака (PCI, среднее значение по всем животным±CO) брыжейки мыши, как описано в примере 1. Соответствующие способы лечения обозначены следующим образом: черный столбец означает лечение 0,9% изотоническим солевым раствором (NaCl) в качестве контроля, белый столбец означает лечение раствором икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)), заштрихованный вертикально столбец означает лечение заменителем крови VOLUVEN® (10%) (ГЭК 130/0,4 (10%)), заштрихованный диагонально столбец означает лечение смесью 1:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN® (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 5% (икодекстрин (2%) и ГЭК 130/0,4 (5%)), заштрихованный горизонтально столбец означает лечение смесью 4:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 3,2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 2% (икодекстрин (3,2%)+ГЭК 130/0,4 (2%)) и заштрихованный пунктирно столбец означает лечение ГЭК 130/0,4, растворенном при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)+ГЭК 130/0,4 (10%)).

На фиг. 5 показан график изменения индекса перитонеального рака (PCI, отдельные значения для всех животных, черная линия - средняя величина) брыжейки, как описано в примере 1. Способы лечения обозначены следующими символами: "▲" (черный треугольник) означает введение 0,9% изотонического солевого раствора (NaCl) мышам (контроль), "△" (белый треугольник) означает введение раствора икодекстрина (4%) мышам (икодекстрин (4%)), "●" (черный круг) означает введение заменителя крови VOLUVEN® мышам (10%, ГЭК 130/0, (10%)), "○" (белый круг) означает введение смеси 1:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN® (10%) мышам, при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 5% (икодекстрин (2%)+ГЭК 130/0,4 (5%)), "■" (черный квадрат) означает введение смеси 4:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN® (10%) мышам, при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 3,2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 2% (икодекстрин (3,2%)+ГЭК 130/0,4 (2%)) и "□" (белые квадраты) означают введение ГЭК 130/0,4 при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (4%) мышам (икодекстрин (4%)+ГЭК 130/0,4 (10%)).

Фиг. 6 представляет собой диаграмму изменения индекса перитонеального рака (PCI, среднее значение по всем животным±CO) толстой кишки мыши, как описано в примере 1. Соответствующие способы лечения обозначены следующим образом: черный столбец означает лечение 0,9% изотоническим солевым раствором (NaCl, контроль), белый столбец означает лечение раствором икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)), заштрихованный вертикально столбец означает лечение заменителем крови VOLUVEN® (10%) (ГЭК 130/0,4 (10%)), заштрихованный диагонально столбец означает лечение смесью 1:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN® (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 5% (икодекстрин (2%) и ГЭК 130/0,4 (5%)), заштрихованный диагонально столбец означает лечение смесью 4:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 3,2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 2% (икодекстрин (3,2%)+ГЭК 130/0,4 (2%)) и заштрихованный пунктиром столбец означает лечение ГЭК 130/0,4, растворенном при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)+ГЭК 130/0,4 (10%)).

На фиг. 7 показан график изменения индекса перитонеального рака (PCI, отдельные значения для

всех животных, черная линия - средняя величина+СО) толстой кишки, как описано в примере 1. Способы лечения обозначены следующими символами: "▲" (черный треугольник) означает мышей, которым вводили 0,9% изотонический солевой раствор (NaCl, контроль), "△" (белый треугольник) означает мышей, которым вводили раствор икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)), "●" (черный круг) означает мышей, которым вводили заменитель крови VOLUVEN® (10%, ГЭК 130/0, (10%)), "○" (белый круг) означает мышей, которым вводили смесь 1:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN® (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 5% (икодекстрин (2%) и ГЭК 130/0,4 (5%)), "■" (черный квадрат) означает мышей, которым вводили смесь 4:1 (об./об.) раствора икодекстрина (4%) и заменителя крови VOLUVEN® (10%), при этом конечная концентрация икодекстрина составляет 3,2% и конечная концентрация ГЭК 130/0,4 составляет 2% (икодекстрин (3,2%) и ГЭК 130/0,4 (2%)) и "□" (белые квадраты) означают мышей, которым вводили ГЭК 130/0,4 при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)+ГЭК 130/0,4 (10%)).

На фиг. 8 представлен график зависимости изменения массы мышши, инокулированной клетками опухоли LS174T, от времени, как описано в примере 2. На оси Y указана абсолютная масса животного в граммах ± СО; на оси X указано время в днях, прошедших после инокуляции. Способы лечения обозначены следующими символами: "▲" (черный треугольник) означает мышей, которым вводили 0,9% изотонический солевой раствор (NaCl, контроль), "△" (белый треугольник) означает мышей, которым вводили заменитель крови VOLUVEN® (10%, ГЭК 130/0, (10%)), "●" (черный круг) означает мышей, которым вводили раствор икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)), "○" (белый круг) означает мышей, которым вводили раствор икодекстрина (7,5%) (икодекстрин (7,5%)), "■" (черный квадрат) означает мышей, которым вводили ГЭК 130/0,4 при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (7,5%) (икодекстрин (7,5%)+ГЭК 130/0,4 (10%)) и "□" (белые квадраты) означают мышей, которым вводили икодекстрин при конечной концентрации 15% (мас./об.) и ГЭК 130/0,4 при конечной концентрации 20% (мас./об.) в солевом растворе при конечной концентрации твердых веществ 35% (мас./об.) (икодекстрин (15%)+ГЭК 130/0,4 (20%)).

На фиг. 9 показана диаграмма изменения индекса перитонеального рака (PCI, среднее значение по всем животным ± СО) у мышшей, инокулированных клетками опухоли LS174T, как описано в примере 2. Соответствующие способы лечения обозначены следующим образом: черный столбец означает мышей, которым вводили 0,9% изотонический солевой раствор (NaCl, контроль), заштрихованный вертикально столбец означает мышей, которым вводили заменитель крови VOLUVEN® (10%, ГЭК 130/0, (10%)), белый столбец означает мышей, которым вводили раствор икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)), диагонально заштрихованный столбец означает мышей, которым вводили раствор икодекстрина (7,5%) (икодекстрин (7,5%)), горизонтально заштрихованный столбец означает мышей, которым вводили ГЭК 130/0,4 при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (7,5%) (икодекстрин (7,5%)+ГЭК 130/0,4 (10%)) и заштрихованный пунктиром столбец означает мышей, которым вводили икодекстрин при конечной концентрации 15% (мас./об.) и ГЭК 130/0,4 при конечной концентрации 20% (мас./об.) в солевом растворе при конечной концентрации твердых веществ 35% (мас./об.) (икодекстрин (15%)+ГЭК 130/0,4 (20%)).

На фиг. 10 показан график изменения индекса перитонеального рака (PCI, отдельные значения для всех животных, черная линия - средняя величина+СО), мышши, инокулированной клетками опухоли LS174T, как описано в примере 2. Способы лечения обозначены следующими символами: "▲" (черный треугольник) означает мышей, которым вводили 0,9% изотонический солевой раствор (NaCl, контроль), "△" (белый треугольник) означает мышей, которым вводили заменитель крови VOLUVEN® (10%, ГЭК 130/0, (10%)), "●" (черный круг) означает мышей, которым вводили раствор икодекстрина (4%) (икодекстрин (4%)), "○" (белый круг) означает мышей, которым вводили раствор икодекстрина (7,5%) (икодекстрин (7,5%)), "■" (черный квадрат) означает мышей, которым вводили ГЭК 130/0,4 при конечной концентрации 10% (мас./об.) в растворе икодекстрина (7,5%) (икодекстрин (7,5%)+ГЭК 130/0,4 (10%)) и "□" (белые квадраты) означают мышей, которым вводили икодекстрин при конечной концентрации 15% (мас./об.) и ГЭК 130/0,4 при конечной концентрации 20% (мас./об.) в солевом растворе при конечной концентрации твердых веществ 35% (мас./об.) (икодекстрин (15%)+ГЭК 130/0,4 (20%)).

На фиг. 11 представлена диаграмма для сравнения индексов перитонеального рака (PCI, отдельные значения для всех животных, по всем органам, черная линия - средняя величина) у мышшей, инокулированных клетками опухоли LS174T, как описано в примерах 1 и 2. Величины PCI нормированы на соответствующую величину контрольной группы, которую принимали за 100%. Первые 6 столбцов относятся к данным из примера 1, в то время, как данные, представленные в последних 3 столбцах, относятся к примеру 2. Способы лечения обозначены по концентрациям икодекстрина и/или ГЭК 130/0,4 в процентах (мас./об.).

На фиг. 12 представлена диаграмма для сравнения индексов перитонеального рака (PCI, отдельные значения для всех животных, черная линия - средняя величина) у мышшей, инокулированных клетками

опухоли LS174T. Величины PCI нормированы на соответствующую контрольную группу, которая принята за 100%. Первые 6 столбцов относятся к данным из примера 1, в то время, как данные, представленные в последнем столбце, относятся к примеру 2, описанному в заявке РСТ/ЕР 2014/065990. Способы лечения обозначены по концентрациям икодекстрина и/или ГЭК 130/0,4 или декстрана 40 в процентах (мас./об.).

Подробное описание настоящего изобретения

Как известно специалистам в данной области техники, полисахариды, прежде всего природные полисахариды (биополимеры), состоящие или в основном состоящие из моносахаридных звеньев ангидроглюкозы, называются "глюканами". Соответственно, например, полисахарид, состоящий или в основном состоящий из звеньев ангидроглюкозы, соединенных через α -(1,6)-гликозидные связи, называются α -(1,6)-глюканами. При постоянстве остальных факторов (*mutatis mutandis*), полисахарид, содержащий или в основном содержащий звенья ангидроглюкозы, образующие основную цепь из молекул, соединенных α -1,4-гликозидными связями с точками разветвления, соединенными через α -1,6-гликозидные связи, называются α -(1,4/1,6)-глюканом. Специалистам в данной области техники также известно, что звенья ангидроглюкозы в полисахариде часто для простоты называют "звеньями глюкозы" или "глюкозосодержащими молекулами".

Способы анализа полисахаридов и, прежде всего, определения присутствия и количества α -гликозидных связей известны в данной области техники. Предпочтительно эти способы включают ПК- и ЯМР-анализы, такие как 1D и/или 2D ЯМР спектроскопия, прежде всего ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР, HSQC, TOCSY, COSY, NOESY и т.п. в соответствии со стандартными методиками. Способы определения молекулярной массы полисахаридов хорошо известны в данной области техники. Величины Mw и Mn полисахаридов по настоящему изобретению в основном определяли следующим образом. Термин "средняя молекулярная масса", используемый в данном контексте, означает массу, которую определяют методом МУСР-ГПХ (малоугловое лазерное светорассеяние - гель-проникающая хроматография). Для определения две колонки Tosoh BioSep GMPWXL, соединенные последовательно (размер частиц 13 мкм, диаметр 7,8 мм, длина 30 см, номер по каталогу 08025), использовали в качестве стационарной фазы. Подвижную фазу готовили следующим образом: в мерной колбе 3,74 г ацетата натрия×3H₂O, 0,344 г NaN₃ растворяли в 800 мл воды Milli-Q, добавляли 6,9 мл уксусного ангидрида и объем раствора в колбе доводили до 1 л. Приблизительно 10 мг полисахарида растворяли в 1 мл подвижной фазы и частицы отфильтровывали через шприц-фильтр (0,22 мкм, mStarll, CoStar Cambridge, MA). Измерение проводили при скорости потока 0,5 мл/мин. В качестве детекторов использовали малоугловой лазерный детектор светорассеяния и рефрактометр при постоянной температуре, соединенные последовательно. Для определения средних величин Mw и Mn образца использовали программное обеспечение Astra (Vers. 5.3.4.14, Wyatt Technology Cooperation) при dn/dc 0,147. Величину определяли при λ =690 нм (растворитель NaOAc/H₂O/0,02% NaN₃, T=20°C) как описано в литературе W.M. Kulicke, U. Kaiser, D. Schwengers, R. Lemmes, Starch, 43(10): 392-396 (1991) и WO 2012/004007 A1, пример 1.9. Однако величины Mw и Mn ГЭК и ГЭК, описанных в данном контексте, определяли по методике, описанной в работах Sommermeyer и др. (Krankenhauspharmazie, 8:271-278 (1987)) или European Pharmacopoeia 7.0, 01/2011, 1785, с. 984.

Предпочтительно полисахариды по настоящему изобретению, т.е. икодекстрин и гидроксипропилированный крахмал, являются производными полисахаридов, образующихся в результате жизнедеятельности живых организмов, более предпочтительно из царства растений (kingdom plantae), предпочтительно сосудистое растение (трахофит). Соответственно полисахарид как таковой может содержать незначительные примеси, например, в основной цепи или в боковых цепях. В предпочтительном варианте содержание незначительных примесей в полисахариде составляет менее 10 мас.% в расчете на общую массу полисахарида, более предпочтительно менее 5 мас.% в расчете на общую массу полисахарида, еще более предпочтительно менее 3 мас.% в расчете на общую массу полисахарида, еще более предпочтительно менее 2 мас.% в расчете на общую массу полисахарида, еще более предпочтительно менее 1 мас.% в расчете на общую массу полисахарида, еще более предпочтительно менее 0,5 мас.% в расчете на общую массу полисахарида, наиболее предпочтительно менее 0,1 мас.% в расчете на общую массу полисахарида.

Термин "икодекстрин" в принципе известен специалистам в данной области техники и означает глюкан, обычно состоящий из основной цепи звеньев ангидроглюкозы, соединенных α -1,4-гликозидными связями, с α -1,6-связями в точках разветвлений. Икодекстрин представляет собой коллоидный осмотический агент, производное мальтодекстрина. Мальтодекстрин можно получить в присутствии ферментов из любого крахмала. Икодекстрин выпускается в виде водного раствора или для перитонеального диализа или при разных концентрациях для снижения образования постоперационных спаек (фиброзных образований между тканями и органами) после гинекологической лапароскопии. Mw предпочтительного икодекстрина составляет от 5 до 30 кДа, более предпочтительно от 10 до 20 кДа и наиболее предпочтительно от 13 до 16 кДа. Предпочтительная Mn икодекстрина составляет от 3 до 10 кДа, более предпочтительно от 4 до 7,5 кДа и наиболее предпочтительно от 5 до 6 кДа. Соответственно в предпочтительном варианте Mw икодекстрина составляет от 13 до 16 кДа и Mn от 5 до 6 кДа.

Крахмал представляет собой хорошо известный полисахарид формулы $(C_6H_{10}O_5)_n$, который в основном состоит из звеньев α -D-глюкозы, соединенных гликозидными связями. Крахмал обычно состоит из амилозы и амилопектина. Амилоза состоит из линейных цепей, в составе которых глюкозные звенья соединены через α -1,4-гликозидные связи. Амилопектин представляет собой в значительной степени разветвленную структуру с α -1,4-гликозидными и α -1,6-гликозидными связями. Природные крахмалы, из которых можно получить гидроксиалкилированные крахмалы, включают, но не ограничиваясь только ими, злаковые крахмалы, бобовые крахмалы и картофельные крахмалы. Злаковые крахмалы включают, но не ограничиваясь только ими, рисовые крахмалы, пшеничные крахмалы, такие как крахмалы из пшеницы-однозернянки, спельтовые крахмалы, крахмалы из мучнистой пшеницы, крахмалы из пшеницы-двузернянки, крахмалы из твердой пшеницы или крахмалы из камута, зерновые крахмалы, ржаные крахмалы, овсяные крахмалы, ячменные крахмалы, крахмалы из тритикале, спельтовые крахмалы и просяные крахмалы, такие как крахмалы из сорго или крахмалы из абиссинской метлички. Другие источники могут включать горох, маниок, сладкий картофель и бананы. Предпочтительные природные крахмалы, из которых получают гидроксиалкилированные крахмалы, содержат высокое содержание амилопектина по сравнению с амилозой. Содержание амилопектина в таких крахмалах составляет, например, по крайней мере 70 мас.%, предпочтительно по крайней мере 75 мас.%, более предпочтительно по крайней мере 80 мас.%, еще более предпочтительно по крайней мере 85 мас.%, еще более предпочтительно по крайней мере 90 мас.%, такое как до 95, до 96, до 97, до 98, до 99 или до 100 мас.%. Природными крахмалами с чрезвычайно высоким содержанием амилопектина являются, например, пригодные картофельные крахмалы, такие как восковые картофельные крахмалы, которые обычно экстрагируют из не-содержащего амилозу картофеля, которые являются традиционно выведенными сортами (например, природная разновидность с торговым названием Eliane) или генетически модифицированные амилопектиновые разновидности картофеля, и злаковые крахмалы, такие как крахмалы из восковидной кукурузы или восковидного риса.

Гидроксиалкилированный крахмал (ГАК) представляет собой эфирное производное частично гидролизированных природных крахмалов, в котором гидроксильные группы в составе крахмала обычно являются гидроксиалкильными группами. Таким образом, ГАК включает группы $-O-(алкил-O)_n-H$, присоединенные к группам ангидроглюкозы таким образом, что протон по крайней мере одной гидроксильной группы заменен на группу $-(алкил-O)_n-H$, где n равен от 1 до 6, предпочтительно от 1 до 4, более предпочтительно от 1 до 2 и наиболее предпочтительно 1. Термин "алкильная группа", использованный в данном контексте, означает линейную или разветвленную функциональную группу или боковую группу, состоящую из насыщенных углеводородов, предпочтительно с длиной цепи от 2 до 12 атомов углерода. Насыщенный углеводород может быть линейным, таким как остатки пропил-, бутил-, пентил-, гексил-, гептил-, октил-, нонил-, деканил-, ундеканил- и додеканил-, или разветвленным, т.е. если углеродная цепь разветвляется в одном или более направлениях, включая, например, группы изопропил-, изобутил-, трет-изобутил-, 1-изопентил-, 2-изопентил-, 3-изопентил-, неопентил-. Предпочтительно алкилом является этил, и соответственно, группой, замещающей протон по крайней мере одной гидроксильной группы звена ангидроглюкозы является этил-ОН, таким образом, ГАК предпочтительно представляет собой гидроксиэтилированный крахмал, более предпочтительно ГЭК, как описано в данном контексте.

Как полимер и в зависимости от способов получения, ГАК является полидисперсным соединением, в составе которого индивидуальные молекулы гидроксиалкилированного крахмала могут отличаться по степени полимеризации, по числу и типу разветвлений, по способу замещения, т.е. по числу и/или участкам присоединения гидроксильных групп. Следовательно, гидроксиалкилированный крахмал обычно характеризуется статистически усредненными параметрами. В основном эти параметры включают распределение по молекулярной массе, степень замещения и соотношение замещения $C2/C6$.

Конкретный раствор гидроксиалкилированного крахмала предпочтительно характеризуется средней молекулярной массой, определенной методами статистической обработки. В данном контексте, M_n рассчитывают арифметическим методом в зависимости от числа молекул и их молекулярной массы. Среднечисловую молекулярную массу M_n определяют по следующему уравнению:

$$M_n = \sum_i n_i M_i / \sum_i n_i$$

где n_i означает число молекул гидроксиалкилированного крахмала типа i с молекулярной массой M_i . В другом варианте массовое распределение можно описать среднечисловой молекулярной массой M_w . Среднечисловую молекулярную массу M_w определяют по следующему уравнению:

$$M_w = \sum_i n_i M_i^2 / \sum_i n_i M_i$$

где n_i означает число молекул гидроксиалкилированного крахмала типа i с молекулярной массой M_i . Согласно настоящему изобретению величины M_w ГАК, прежде всего ГЭК, предпочтительно находятся в интервале от 1 до 2000 кДа, более предпочтительно от 5 до 700 кДа, более предпочтительно от 10 до 300 кДа, еще более предпочтительно от 70 до 150 кДа и наиболее предпочтительно 130 кДа.

Специалистам в данной области техники известно, что среднюю молекулярную массу можно определить, как описано в работе Sommermeyer и др. (Krankenhauspharmazie, 8:271-278 (1987)) или в Европейской фармакопее 7.0,01/2011, 1785, с. 984. Разница между двумя методами заключается в различии

используемой величины показателя преломления светорассеяния dn/dc : в методе Sommermeuer используют величину dn/dc 0,135, в то время как согласно Фармакопее эта величина изменяется на 0,147 $\pm$ 0,001. Если не указано иное, используемые в настоящем контексте величины средних молекулярных масс определены методом Sommermeuer (там же).

Существует две возможности определения степени замещения. Степень замещения (C3) гидроксиалкилированного крахмала описывают как долю замещенных глюкозных мономеров по отношению ко всем глюкозным остаткам. Тип замещения гидроксиалкилированного крахмала можно также описать как молярное замещение (M3), когда определяют число гидроксиалкильных групп в расчете на глюкозный остаток. В контексте настоящего изобретения тип замещения гидроксиалкилированного крахмала описывают по величине M3, которую предпочтительно определяют методом, описанным в Sommermeuer и др. (Krankenhauspharmazie 8 (8), сс 271-278 (1987), прежде всего с. 273) или в Европейской фармакопее 7.0, 01/2011, : 1785, с. 984. Величины M3 соответствуют способности гидроксиалкилированного крахмала расщепляться α -амилазой. Обычно, чем выше величины M3 гидроксиалкилированного крахмала, тем меньше его соответствующая способность к расщеплению. Параметр M3 можно также определять методом Ying-Che Lee и др., Anal. Chem., 55:334-338 (1983) или K.L. Hodges и др., Anal. Chem. 51 :2171 (1979). Согласно данным методам известное количество гидроксиалкилированного крахмала подвергают расщеплению по эфирной связи в ксилоле, в который добавляют адипиновую и иодистоводородную кислоты. Затем определяют количество выделившегося иодалкана методом газовой хроматографии с использованием толуола в качестве внутреннего стандарта и калиброванных растворов иодалкана в качестве внешних стандартов. Согласно настоящему изобретению величины M3 предпочтительно находятся в интервале от 0,1 до 3, более предпочтительно в интервале от 0,2 до 1,3, еще более предпочтительно в интервале от 0,3 до 0,7 и наиболее предпочтительно 0,4. Если не указано иное, используемые в данном контексте величины среднего молярного замещения определены методом Sommermeuer (там же).

Следующий параметр, т.е. "соотношение C2/C6", означает соотношение числа ангидроглюкозных звеньев, замещенных в положении C2, к числу ангидроглюкозных звеньев, замещенных в положении C6. В процессе получения гидроксиалкилированного крахмала на соотношение C2/C6 может оказывать влияние величина pH реакционной смеси гидроксиалкилирования. Обычно, чем выше pH, тем больше гидроксильных групп в положении C6 являются гидроксиалкилированными. Параметр C2/C6 можно определять, например, как описано в работе Sommermeuer и др., Krankenhauspharmazie, 8(8):271-278 (1987), прежде всего с. 273. Согласно настоящему изобретению, типичные величины соотношения C2/C6 находятся в интервале от 2 до 20, предпочтительно от 2 до 14 и более предпочтительно от 2 до 12.

На практике для идентификации различных препаратов ГАК и ГЭК используют следующую номенклатуру. Буквенный код указывает на тип модификации (например, ГЭК означает гидроксиалкилированный крахмал), за которым следуют два числа, указывающих среднюю молекулярную массу и молекулярное замещение, соответственно. Соответственно "ГЭК 130/0,4" соответствует гидроксиэтилированному крахмалу со средней молекулярной массой 130 кДа и величиной M3 0,4. Специалистам в данной области техники следует понимать, что поскольку как частичный гидролиз, так и как замещение боковых цепей, являются статистическими процессами, указанные величины являются средними величинами, включенными в определенный интервал. Предпочтительно величины M3 и C2/C6 указывают на интервал величин $\pm 20\%$, более предпочтительно $\pm 10\%$, наиболее предпочтительно $\pm 5\%$.

Соответственно предпочтительными вариантами ГАК по настоящему изобретению являются ГЭК 70/0,5 и ГЭК 450/0,7 и наиболее предпочтительным ГАК по настоящему изобретению является ГЭК 130/0,4.

Получение гидроксиалкилированного крахмала, более предпочтительно гидроксиэтилированного крахмала, описано в работах, например, Sommermeuer и др., Chromatographia, 25, 167-168 (1988), C. Jungheinrich и др., Clin. Pharmacokin., 44(7), 2005:681-699 (2005), J.-M. Mishler IV, Pharmacology of hydroxyethyl starches, Oxford Medical Publications, 20, 1-30 (2002).

Термин "раствор" известен специалистам в данной области техники и означает композицию, включающую или состоящую из ингредиентов, описанных в данном контексте, растворенных в жидком носителе. Предпочтительно жидкий носитель включает по крайней мере 90%, предпочтительно по крайней мере 95%, более предпочтительно по крайней мере 98% воды, таким образом, раствор предпочтительно является водным раствором. В предпочтительном варианте носитель является чистой водой (100%). Композиции по настоящему изобретению могут включать растворы, как описано в данном контексте, которые не встречаются в природе.

Предпочтительно раствором является фармацевтически приемлемый раствор. Термин "фармацевтический приемлемый раствор", использованный в данном контексте, означает раствор, как описано выше, в котором ингредиенты, прежде всего жидкий носитель, являются фармацевтически приемлемыми в том смысле, что они являются совместимыми с другими ингредиентами состава и не оказывают отрицательное действие на реципиента. Предпочтительно жидкий носитель выбирают таким образом, чтобы он не влиял на биологическую активность полисахаридов. Соответственно жидкий носитель предпочтительно является изотоническим или слабо гипо- или гипертоническим раствором неопасных ингреди-

тов в пригодном растворителе. Предпочтительно жидкий носитель включает воду, более предпочтительно дистиллированную воду. Более предпочтительно жидкий носитель представляет собой физиологический солевой раствор, фосфатно-солевой буферный раствор, кардиоплегический раствор, раствор Рингера или раствор Хэнка. Кроме того, фармацевтический приемлемый раствор включает другие носители или нетоксичные, нелекарственные, неиммуногенные стабилизаторы и т.п. Предпочтительно фармацевтически приемлемый раствор предлагается в виде раствора, готового для использования (готового для вливания), например, предпочтительно предлагается бутылка или, более предпочтительно, пакет.

Согласно следующему предпочтительному варианту осуществления настоящего изобретения раствор, прежде всего фармацевтически приемлемый раствор, включает другие ингредиенты, более предпочтительно фармацевтически приемлемые ингредиенты, известные специалистам в данной области техники и описанные на примерах в данном контексте ниже. Термин "другие ингредиенты" означает, например, хлорид натрия, предпочтительно в физиологической концентрации, или другие фармацевтически приемлемые добавки и/или эксципиенты, включая, например, одну или более солей магния, кальция, лактаты и т.п. Другими фармацевтически приемлемыми ингредиентами являются эксципиенты, предпочтительно выбранные из списка, включающего моносахариды, дисахариды, неорганические соли, противомикробные агенты, антиоксиданты, ПАВ, буферные вещества, кислоты, основания и их любые комбинации.

Предпочтительные моносахариды являются сахарами, такими как фруктоза, мальтоза, галактоза, глюкоза, D-манноза, сорбоза и т.п., дисахариды, такие как лактоза, сахароза, трегалоза, целлобиоза и т.п., приведены в качестве примера. Предпочтительные неорганические соли или буферные вещества включают лимонную кислоту, хлорид натрия, хлорид калия, сульфат натрия, нитрат калия, однозамещенный фосфат натрия, двузамещенный фосфат натрия и их любые комбинации. Предпочтительные противомикробные агенты для профилактики или детектирования роста микроорганизмов включают хлорид бензалкония, хлорид бензетония, бензиловый спирт, хлорид цетилпиридиния, хлорбутанол, фенол, фенилэтиловый спирт, нитрат фенилртути, тимерзол и любые их комбинации. Предпочтительные антиоксиданты включают аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол, бутилированный гидрокситолуол, гипофосфорную кислоту, моноиоглицерин, пропилгаллат, бисульфит натрия, формальдегидсульфоксид натрия, метабисульфит натрия и любые их комбинации. Предпочтительные ПАВ включают полисорбаты или сложные эфиры сорбитана (плуроники), липиды, такие как фосфолипиды и лецитин и другие фосфатидилхолины, фосфатидилэтаноламины, кислоты и жирные эфиры, стероиды, такие как холестерин, и хелатирующие агенты, такие как ЭДТУ или цинк и их любые совместимые комбинации. Предпочтительными кислотами и основаниями являются хлористоводородная кислота, уксусная кислота, фосфорная кислота, лимонная кислота, яблочная кислота, молочная кислота, муравьиная кислота, трихлоруксусная кислота, азотная кислота, перхлорная кислота, фосфорная кислота, серная кислота, фумаровая кислота и их комбинации, и/или гидроксид натрия, ацетат натрия, гидроксид аммония, гидроксид калия, ацетат аммония, ацетат калия, фосфат натрия, фосфат калия, цитрат натрия, формиат натрия, сульфат натрия, сульфат кальция, фумарат калия и их комбинации. Другие предпочтительные, предпочтительно фармацевтически приемлемые, ингредиенты включают витамины, микропитательные агенты, антиоксиданты и т.п. Предпочтительно "другими компонентами" являются галеновые компоненты, т.е. ингредиенты, не опосредующие фармацевтический эффект в отношении раковых клеток.

Предпочтительно фармацевтически приемлемый раствор по настоящему изобретению не включает интерлейкин и интерферон. Более предпочтительно раствор не содержит никаких химиотерапевтических агентов с противоопухолевой активностью или цитотоксичной активностью. Более предпочтительно раствор не содержит никаких агентов с противоопухолевой активностью или цитотоксичной активностью, отличных от ГАК и икодекстрина. Более предпочтительно фармацевтически приемлемый раствор включает два полисахарида по настоящему изобретению в качестве единственных ингредиентов для профилактики и/или рецидива метастазирования. Более предпочтительно фармацевтически приемлемый раствор включает два полисахарида по настоящему изобретению в качестве единственных противораковых агентов, утвержденных Европейским медицинским агентством (ЕМА) и/или Управлением по пищевым и лекарственным средствам (FDA).

Предпочтительно общая концентрация полисахаридов в растворе, предпочтительно в фармацевтически приемлемом растворе, находится в интервале от 1 до 20% (мас./об.), более предпочтительно от 2 до 18% (мас./об.), еще более предпочтительно от 5 до 16% (мас./об.), наиболее предпочтительно от 7,5 до 15% (мас./об.) в расчете на общую массу полисахаридов по настоящему изобретению, т.е. ГАК и икодекстрина, и на общий объем раствора. Общую концентрацию в данном случае определяют как сумму отдельных концентраций различных полисахаридов. Определение концентраций таких соединений известно специалистам в данной области техники. Концентрации отдельных полисахаридов в смеси можно определять с использованием стандартных методик, описанных в Европейской фармакопее 7.0, 01/2011: 1785, с. 984 или в работе B. Wittgren и др., *Int. J. Polym. Anal. Charac.* 7(1-2): 19-40 (2002), по сравнению с концентрациями стандартов, полученных либо при растворении отдельных полисахаридов в соответствующем носителе или при использовании коммерческих продуктов, содержащих известные концентрации ГЭК, таких как заменитель крови VOLUVEN® или раствор икодекстрин-подобного агента ADEPT

для снижения спаек.

Ниже приведены предпочтительные концентрации и концентрационные интервалы для конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения. Предпочтительно концентрация ГАК, прежде всего ГЭК, в фармакологически приемлемом растворе находится в интервале от 1 до 15% (мас./об.), более предпочтительно от 5 до 12,5% (мас./об.), еще более предпочтительно от 7,5 до 12,5% (мас./об.) и наиболее предпочтительно приблизительно 10% (мас./об.) в расчете на общую массу раствора. В предпочтительном варианте концентрация ГАК, прежде всего ГЭК, в фармакологически приемлемом растворе составляет $10 \pm 1\%$ (мас./об.) (т.е. в интервале от 9 до 11% (мас./об.)), более предпочтительно $10 \pm 0,5\%$ (мас./об.) (т.е. в интервале от 9,5 до 10,5% (мас./об.)). Предпочтительно концентрация икодекстрина в фармакологически приемлемом растворе находится в интервале от 1 до 7,5% (мас./об.), более предпочтительно от 2 до 6% (мас./об.), еще более предпочтительно от 3 до 5% (мас./об.) и наиболее предпочтительно 4% (мас./об.). В предпочтительном варианте концентрация икодекстрина в фармакологически приемлемом растворе составляет $4 \pm 1\%$ (мас./об.) (т.е. в интервале от 3 до 5% (мас./об.)), более предпочтительно $4 \pm 0,5\%$ (мас./об.) (т.е. в интервале от 3,5 до 4,5% (мас./об.)). Предпочтительный раствор включает от 3 до 5% (мас./об.) икодекстрина и от 7,5 до 12,5% (мас./об.) ГЭК. Другие предпочтительные композиции и их концентрационные материалы представлены в табл. 1.

Таблица 1
Предпочтительные составы раствора, предпочтительно фармацевтически приемлемого раствора, по настоящему изобретению, все композиции предпочтительно являются водными растворами

№ композиции	Икодекстрин, % (мас./об.)	ГАК, % (мас./об.)
1	2-6	2-15
2	2-6	5-14
3	2-6	7,5-12
4	2-6	10
5	3-5,5	2-15
6	3-5,5	5-14
7	3-5,5	7,5-12
8	3-5,5	10
9	3,5-5	2-15
10	3,5-5	5-14
11	3,5-5	7,5-12
12	3,5-5	10
13	4	2-15
14	4	5-14
15	4	7,5-12
16	4	10
17	3,5-5	7,5-12,5

Предпочтительными фармацевтически приемлемыми растворами, содержащими полисахариды по настоящему изобретению, являются следующие растворы, приведенные в качестве примера: ГЭК 130/0,4, 20 г/л и икодекстрин, 30 г/л в физиологическом солевом растворе (0,9%); ГЭК 130/0,4, 100 г/л, и икодекстрин, 40 г/л в физиологическом солевом растворе (0,9%); и ГЭК 130/0,4, 100 г/л; и икодекстрин, 40 г/л в водном растворе, кроме того включающем хлорид натрия 5,4 г/л, лактат натрия 4,5 г/л, хлорид кальция 257 мг/л и хлорид магния 61 мг/л. Растворы являются предпочтительно предназначенными для введения перед операцией, во время операции и после операции.

Настоящее изобретение, кроме того, относится к фармацевтически приемлемому раствору по настоящему изобретению для применения в качестве лекарственного средства. Более того, настоящее изобретение относится к фармацевтически приемлемому раствору по настоящему изобретению для применения при профилактике метастазирования и/или рецидива метастазирования при введении в полость тела субъекту, страдающему от рака. Термин "профилактика", использованный в данном контексте, означает сохранение здоровья субъекта в отношении заболеваний или нарушений, указанных в данном контексте, в течение определенного периода времени. Следует понимать, что период времени зависит от количества композиции, которая была введена, и от индивидуальных факторов субъекта, обсуждаемого в данном контексте. Следует также понимать, что профилактика не может проявлять эффективность для всех субъектов, которым вводили композицию по настоящему изобретению. Однако для данного термина является необходимым, предпочтительно статистически важным, чтобы осуществлялась эффективная профилактика доли субъектов когорты или популяции от заболевания или нарушения, описанных в данном контексте, или от их сопутствующих симптомов. Предпочтительно в данном контексте рассматривается когорта или популяция субъектов, у которых без предварительных мер по настоящему изобретению, наблюдается нормальное развитие заболевания или нарушения, описанных в данном контексте. Статистическую значимость доли субъектов можно определить без дополнительных затруднений специалистами в данной области техники с использованием различных хорошо известных статистических оценочных методов, например, определение доверительных интервалов, определение величины p , t -критерия Стьюдента, критерия Манна-Уитни и т.п. Предпочтительный доверительный интервал составляет по крайней мере 90%, по крайней мере 95%, по крайней мере 97%, по крайней мере 98% или по

крайней мере 99%. Величины p составляют предпочтительно 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,0001. Предпочтительно, лечение должно быть эффективным по крайней мере для 60%, по крайней мере для 70%, по крайней мере для 80% или по крайней мере для 90% субъектов данной когорты или популяции. Композиции, описанные в данном контексте, и способы их применения, можно также описать как снижающие вероятность того, что у пациента, которому вводили композицию, будет наблюдаться рост метастаз или, после признания вылеченным от рака, будет развиваться рецидив рака (того же типа или отличного от предыдущего и в том же участке тела или в другом участке тела).

Термин "рак", использованный в данном контексте, предпочтительно означает заболевание или нарушение у животного, предпочтительно человека, вызванного или характеризующееся пролиферацией клеток, потерявших чувствительность к контролю нормального роста ("раковые клетки"). Такой неконтролируемый рост может сопровождаться прорастанием в окружающие ткани и их разрушением и возможным распространением раковых клеток в другие участки тела (метастазирование). Специалистам в данной области техники известно, что рак может развиваться повторно после первичного лечения, предназначенного для удаления солидного проявления такого рака или предназначенного для уничтожения любых циркулирующих раковых клеток. Такое повторное проявление называется "рецидивом". Предпочтительно термин "рак" означает опухоли и любые другие пролиферативные нарушения. Таким образом, данный термин означает все патологические состояния, включающие все злокачественные клетки независимо от стадии или инвазивности. Данный термин предпочтительно включает солидные опухоли, возникающие в солидных и в несоллидных тканях или органах, например раки крови (например, лейкозы и лимфомы).

Предпочтительно согласно настоящему изобретению, рак локализован в определенных ткани или органе (например, в яичнике, предстательной железе или поджелудочной железе), и, таким образом, не распространяется за пределы ткани, в которой он возник. В другом предпочтительном варианте рак является инвазивным и, таким образом, может распространяться за пределы слоя ткани, в которой он возник, в нормальные окружающие ткани (часто также называемый локально прогрессирующим раком). Инвазивные раки могут метастазировать и не метастазировать. Таким образом, рак также может являться метастазирующим. Рак является метастазирующим, если он распространяется из участка его исходной локализации в отдаленные участки тела.

Например, в данной области техники хорошо известно, что раковые клетки молочной железы могут распространяться в другие органы или участки тела, такие как лимфоузлы. Предпочтительно раком является солидная опухоль органа, которая сообщается с помощью жидкой среды по крайней мере с одной полостью тела, например, предпочтительно солидная опухоль легкого, желудка, поджелудочной железы, печени, яичника, мочевого пузыря, почки, подвздошной кишки, ободочной кишки, прямой кишки, желчного пузыря или предстательной железы. Более предпочтительно раком является солидная опухоль, которая сообщается с помощью жидкой среды по крайней мере с одной полостью тела, как описано в данном контексте. Предпочтительно жидкой средой не является сообщение через кровь и/или лимфу.

Предпочтительно рак выбирают из группы, включающей острый лимфобластический лейкоз (взрослых), острый лимфобластический лейкоз (детей), острый миелоидный лейкоз (взрослых), острый миелоидный лейкоз (детей), аденокортикоидную карциному (взрослых), аденокортикоидную карциному (детей), раки, связанные со СПИД, лимфому, связанную со СПИД, рак анального канала, рак аппендикса, астроцитомы (детей), атипичный тератоидный/рабдоидный рак (детей), рак центральной нервной системы, базальноклеточную карциному, рак желчных протоков (экстрагепатический), рак желчного пузыря, рак желчного пузыря (детей), рак костей, остеосаркому и злокачественную фиброзную гистиоцитому, глиому ствола мозга (детей), рак мозга (взрослых), рак мозга (детей), глиому ствола головного мозга (детей), рак центральной нервной системы мозга (взрослых), атипичный тератоидный/рабдоидный рак (детей), рак мозга, эмбриональные опухоли центральной нервной системы (детей), астроцитомы мозга (детей), краниофарингиому, рак мозга (детей), эпендимобластому мозга (детей), медуллобластому мозга (детей), медуллоэпителиому (детей), паренхиматозные опухоли шишковидного тела промежуточной дифференциации, опухоль мозга (детей), супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли и пинеобластому мозга (детей), опухоли головного и спинного мозга (детей), рак молочной железы, рак молочной железы (детей), рак молочной железы (мужчин), бронхиальные опухоли (детей), лимфому Буркитта, карциноидную опухоль (детей), карциноидную опухоль, карциному желудочно-кишечного тракта, атипичный тератоидный/рабдоидный рак (детей), лимфому центральной нервной системы, первичный рак шейки матки, первичный рак шейки матки (детей), детей раки, хордому (детей), хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз, хронические миелолиферативные нарушения, рак ободочной кишки, колоректальный рак (детей), краниофарингиому (детей), кожную Т-клеточную лимфому, эмбриональные опухоли, рак эндометрия, эпендимобластому (детей), эпендимому (детей), рак пищевода, рак пищевода (детей), эстезионейробластому (детей), опухоли семейства сарком Юинга, экстракраниальную герминогенную опухоль (детей), внегонадные герминогенные опухоли, рак внепеченочных желчных протоков, рак глаза, интраокулярную меланому, ретинобластому, рак желчного пузыря, рак желудка, рак желудка (детей), желудочно-кишечную карциноидную опухоль, желудочно-кишечные стромальные опухоли (GIST), желудочно-кишечные нестромальные опухоли (детей),

герминогенную опухоль, экстракраниальный рак (детей), герминогенную опухоль, рак яичника, гестационную трофобластическую опухоль, глиому (взрослых), глиому (детей), рак ствола мозга, волосатоклеточный лейкоз, рак головы и шеи, рак сердца (детский), гепатоклеточный (печени) рак (взрослых, первичный), гепатоклеточный (печени) рак (детей, первичный), гистиоцитоз, ганглионевроз, лимфому Ходжкина (взрослых), лимфому Ходжкина (детей), гипоглоточный рак, внутриглазную меланому, инсулому (поджелудочной железы), саркому Капоши, рак почки (клеток почки), рак почки (почечноклеточный, детей), ганглионевроз, рак гортани, рак гортани (детей), лейкоз, острый лимфобластический лейкоз (взрослых), острый лимфобластический лейкоз (детей), острый миелоидный лейкоз (взрослых), острый миелоидный лейкоз (детей), хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, рак губ и полости рта, рак печени (взрослых, первичный), рак печени (детей, первичный), немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, лимфому не-Ходжкина (взрослых), лимфому не-Ходжкина (детей), первичную лимфому центральной нервной системы, макроглобулинемию Вальденстрема, злокачественную фиброзную гистиоцитому костей и остеосаркому, медуллобластому (детей), медуллоэпителиому (детей), меланому, внутриглазную меланому, карциному клеток Меркеля, мезотелиому (взрослых), злокачественную мезотелиому (детей), метастазирующий плоскоклеточный бессимптомный первичный рак шеи, рак ротовой полости, множественные эндокринные синдромы новообразований (детей), множественное новообразование миелома/плазмацит, фунгиоидный микоз, миелодиспластические синдромы, миелодиспластические/миелолифферативные новообразования, хронический миелоидный лейкоз, острый миелоидный лейкоз (взрослых), острый миелоидный лейкоз (детей), множественную миелому, рак носовой полости и придаточных пазух носа, рак носоглотки, рак носоглотки (детей), нейробластому, рак ротовой полости (детей), рак губ и ротовой полости, рак ротоглотки, остеосаркому и злокачественный фиброз, гистиоцитому костей, рак яичника (детей), эпителиальный рак яичников, эмбрионально-клеточную опухоль яичников, опухоль яичников с низким злокачественным потенциалом, рак поджелудочной железы, рак поджелудочной железы (детей), рак поджелудочной железы, инсуломы, папилломатоз (детей), рак носовой полости и синусовых пазух, рак щитовидной железы, рак полового члена, фарингеальный рак, паренхимальные опухоли шишковидного тела промежуточной дифференциации (детей), пинеобластому и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли (детей), опухоль гипофиза, плазмноклеточную опухоль/множественную миелому, плеврорегочную бластому, пиогенную гранулему и рак молочной железы, первичную лимфому центральной нервной системы, рак предстательной железы, рак прямой кишки, почечно-клеточный рак (почки), рак почечной лоханки и переходно-клеточный рак мочеточника, рак респираторного тракта с изменениями в хромосоме 15, ретинобластому, рабдомиосаркому (детскую), рак слюнных желез, рак слюнных желез (детей), саркому, опухоли семейства саркомы Юинга, саркому Капоши, саркому мягких тканей (взрослых), саркому мягких тканей (детскую), саркому матки, синдром Сезари, рак кожи (немеланомный), рак кожи (детей), рак кожи (меланома), рак кожи из клеток Меркеля, мелкоклеточный рак легкого, рак тонкой кишки, саркому мягких тканей (взрослых), саркому мягких тканей (детскую), плоскоклеточную карциному, рак желудка, рак желудка (детей), супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли (детей), кожную Т-клеточную лимфому, рак яичка, рак яичка (детей), рак горла, тимому и рак вилочковой железы, тимому и рак вилочковой железы (детей), рак щитовидной железы, рак щитовидной железы (детей), переходно-клеточный рак почечной лоханки и мочеточника, гестационную трофобластическую опухоль, неизвестную первичную локализацию, карциному взрослых, неизвестный первичный очаг, рак (детей), неизвестные раки детей, мочеточник и почечную лоханку, переходно-клеточный рак, рак уретры, рак матки, эндометриальную саркому матки, рак влагалища, рак влагалища (детей), рак наружных половых органов и опухоль Вильмса.

Предпочтительно раком является рак, при котором образуется опухоль, предпочтительно опухоль в полости тела, как описано в данном контексте. Еще более предпочтительно рак выбирают из группы, включающей рак брюшной полости, рак яичника, рак легкого и рак мочевого пузыря, при этом термин "рак брюшной полости" предпочтительно включает рак желудка, рак аппендикса, рак печени, рак поджелудочной железы, рак почки, перитонеальный рак, перитонеальную мезотелиому, адренокортикоидный рак и рак ободочной кишки.

Еще более предпочтительно рак выбирают из группы, включающей рак брюшной полости и рак молочной железы, предпочтительно рак брюшной полости выбирают из группы, включающей перитонеальный рак и колоректальный рак. Композиции и способы по настоящему изобретению можно применять к субъекту, у которого установлен диагноз прогрессирующего рака.

Термин "полость тела", использованный в данном контексте, означает любое пустое пространство внутри тела субъекта, которое может быть заполнено жидкостью, газом и/или органами или их частями, включая, например, желчный пузырь. Соответственно внутренний просвет лимфатической системы и системы кровообращения не является полостью тела. Предпочтительно полостью тела является полость тела, выстланная серозной мембраной, например, более предпочтительно, брюшная полость (cavitas abdominalis), перитонеальная полость, плевральная полость, синовиальная полость, полость желчного пузыря или перикардальная полость. Наиболее предпочтительно полостью тела является брюшная полость и перитонеальная полость. Термин "введение в полость тела" известен специалистам в данной об-

ласти техники и означает введение в просвет в полости тела.

Термин "субъект" означает животное, предпочтительно млекопитающее, более предпочтительно человека.

Термин "субъект, страдающий от рака" означает субъекта, характеризующегося наличием в теле и/или содержащего раковые клетки, предпочтительно опухоль, в теле. Предпочтительно данный термин означает субъекта, про которого известно, что в его организме присутствуют раковые клетки, таким образом, более предпочтительно, субъектом, страдающим от рака, является субъект с диагнозом рака или субъект, про которого известно, что он страдал от рака.

Термин "введение", использованный в настоящем изобретении, означает применение композиции, предпочтительно фармацевтически приемлемого раствора, по настоящему изобретению, для субъекта. Предпочтительно термин означает непрерывное введение. Более предпочтительно, термин означает повторное применение, или, наиболее предпочтительно, однократное применение. Раствор по настоящему изобретению можно вводить в полость тела и удалять и заменять на второе количество раствора. Однако наиболее предпочтительным является введение раствора "один раз", т.е. введение раствора в полость тела один раз с последующим его присутствием в организме до его экскреции организмом человека.

Предпочтительно введение означает введение в полость тела, как описано в настоящем контексте, более предпочтительно в брюшную полость или перитонеальную полость, например, предпочтительно внутрибрюшинное и/или забрюшинное введение.

Предпочтительно введение проводят независимо от того, проходил или будет ли проходить субъект курс дополнительного лечения, например, при хирургическом вмешательстве, циторедуктивной терапии и/или химиотерапии. Предпочтительно введение раствора проводят в качестве дополнительного лечения до, в процессе или после циторедуктивного или местно-регионального лечения. Соответственно фармацевтически приемлемый раствор предпочтительно предназначен для применения после, в процессе и/или до операции.

Предпочтительно введением является введение фармацевтически приемлемого раствора при температуре в интервале от 18 до 43°C. Более предпочтительно введением является введение фармацевтически приемлемого раствора при температуре, приемлемой для пациента, т.е. предпочтительно в интервале от температуры окружающей среды (от 20 до 25°C) до температуры незначительно выше температуры тела человека (от 40 до 43°C), т.е. от 20 до 43°C. Предпочтительно температура раствора находится в интервале от 20 до 42°C, более предпочтительно в интервале от 36 до 42°C и наиболее предпочтительно в интервале от 36 до 40°C.

Термины "введение после операции", "введение во время операции" и "введение перед операцией" известны специалистам в данной области техники и означают время введения фармацевтически приемлемого раствора по настоящему изобретению относительно хирургического вмешательства ("хирургической операции"). Предпочтительно введением после операции, введением во время операции и введением перед операцией является введение в полость тела субъекта, как описано в данном контексте. Следует понимать, что термин "хирургическая операция" предпочтительно означает любой вид хирургического вмешательства независимо от того, связана ли операция с онкологическим состоянием субъекта. Более предпочтительно, хирургической операцией по настоящему изобретению является хирургическая операция, в процессе которой частично или, более предпочтительно, полностью происходит удаление опухоли, первичной или вторичной опухоли (резекция опухоли и/или метастаз (резекция метастаз)), предпочтительно из полости тела, или хирургическая операция для получения биопсии опухоли и/или метастаз, предпочтительно из полости тела. Кроме того, предпочтительно, хирургическая операция представляет собой циторедуктивную хирургическую операцию, как описано в данном контексте.

Термин "введение после операции" предпочтительно означает введение после хирургического вмешательства, как описано выше. Предпочтительно данный термин означает временной интервал между моментом сразу после операции и четырьмя неделями после. Более предпочтительно данный термин означает временной интервал между моментом сразу после операции и одной неделей после, еще более предпочтительно данный термин означает временной интервал между моментом сразу после операции и 24 часами после, наиболее предпочтительно, данный термин означает временной интервал между моментом сразу после операции и 4 ч после. Термин "после операции" означает время после завершения операции, т.е. после закрытия предварительно выполненного разреза, например, с использованием хирургически ниток или скобок. В данном случае, полисахарид или композицию по настоящему изобретению предпочтительно вводить с использованием инъекции, более предпочтительно с использованием внутрибрюшинной инъекции.

Термин "введение во время операции" предпочтительно означает введение в ходе хирургического вмешательства, т.е. после раскрытия разреза и до его закрытия.

Термин "введение перед операцией" предпочтительно означает введение во временном интервале от четырех недель до операции до момента непосредственно перед началом операции, т.е. предпочтительно перед началом выполнения разреза. Следует понимать, что данный термин предпочтительно означает введение в момент времени, когда решение о проведении разреза еще не принято. Более предпочтительно данный термин означает время в интервале от трех недель до операции до момента непосред-

венно перед началом операции. Еще более предпочтительно данный термин означает время в интервале от двух недель до операции до момента непосредственно перед началом операции. Наиболее предпочтительно данный термин означает время в интервале от одной недели до операции до момента непосредственно перед началом операции. Следует понимать, что предпочтительно введение фармацевтически приемлемого раствора по настоящему изобретению субъекту не начинают до установления диагноза субъекту, страдающему от рака. Таким образом, предпочтительно, введением до операции является введение в интервале времени между установлением онкологического диагноза и операцией, как описано в данном контексте. Предпочтительно введением перед операцией является введение в полость тела, как описано в данном контексте.

В процессе работы над настоящим изобретением успешно было установлено, что при введении фармацевтически приемлемых растворов, включающих полисахариды по настоящему изобретению, в брюшную полость млекопитающих происходит их взаимодействие с отложениями раковых клеток в брюшной полости и эффективность наблюдаемого эффекта выше по сравнению с растворами, содержащими только один полисахарид. Это означает, что растворы характеризуются улучшенной способностью к профилактике метастазирования и/или рецидива метастазирования несмотря на риск отложения свободных или свободно циркулирующих раковых клеток, что может происходить в результате отсоединения от первичной опухоли, метастаз или рецидивирующей опухоли в брюшной полости. При предпочтительном введении композиции, менее токсичной по сравнению с композициями, используемыми в данной области техники (например, с композициями, включающими цитотоксичные противоопухолевые агенты), снижаются неблагоприятные для пациентов эффекты, исключая таким образом дополнительную нагрузку на организм пациента и риск нанесения вреда здоровью персонала, работающего с растворами. Приведенные выше определения, при постоянстве остальных факторов (*mutatis mutandis*), применяются к следующему тексту.

Дополнительные определения и разъяснения, приведенные ниже, также относятся ко всем вариантам осуществления настоящего изобретения, описанным в данном контексте *mutatis mutandis*.

Настоящее изобретение относится также к применению фармацевтически приемлемого раствора, состав которого описан выше, для лечения рака, предпочтительно для профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования.

Настоящее изобретение также относится к набору, содержащему икодекстрин и ГАК в предварительно отмеренных количествах и фармацевтически приемлемые средства для их растворения.

Термин "набор", использованный в данном контексте, означает описанные выше соединения, средства или реагенты по настоящему изобретению, которые можно упаковывать вместе или можно упаковывать отдельно. Компоненты набора могут включать отдельные флаконы (т.е. являться набором из отдельных частей) или находиться в одном флаконе. Более того, следует понимать, что предпочтительно набор по настоящему изобретению предназначен для осуществления способов, описанных выше, на практике. Более предпочтительным является подготовка всех компонентов в виде готовой к использованию упаковки для осуществления способов, описанных в данном контексте, на практике. Кроме того, набор содержит инструкции по применению способов. Например, инструкции по применению можно представить в виде распечатки или в электронной форме. Например, инструкции по применению могут включать указания по обращению с оборудованием, необходимым для осуществления упомянутых выше способов с использованием набора по настоящему изобретению. Предпочтительно ГАК и икодекстрин включены в набор в виде смеси.

Кроме того, настоящее изобретение относится к устройству, включающему фармацевтически приемлемый раствор, состав которого определен выше, и средства для его введения.

Термин "устройство", использованный в данном контексте, означает систему средств для хранения, по крайней мере, фармацевтически приемлемого раствора по настоящему изобретению, описанного в пунктах формулы изобретения или в данном контексте выше, таких как предварительно наполненные флаконы, бутылки или пакеты, и средства для введения субъекту. Средства для введения фармацевтически приемлемого раствора по настоящему изобретению хорошо известны специалистам в данной области техники и включают, например, шприцы, наборы для вливаний, насосы для вливаний и т.п. Предпочтительно упомянутые выше средства находятся в одном устройстве.

Настоящее изобретение относится также к применению икодекстрина и ГАК для получения фармацевтической композиции, предназначенной для профилактики метастазирования у субъекта, страдающего от рака. Предпочтительно фармацевтической композицией является фармацевтически приемлемый раствор, описанный выше.

Кроме того, настоящее изобретение также относится к способу профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования у субъекта, страдающего от рака, включающему:

а) введение фармацевтически приемлемого раствора, включающего икодекстрин в концентрации от 1 до 7,5% (мас./об.) и гидроксикалцирированный крахмал (ГАК) в концентрации от 1 до 15% (мас./об.), в полость тела субъекта, и

б) таким образом обеспечение профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования у субъекта.

Способ по настоящему изобретению предпочтительно представляет собой способ *in vivo*. Предпочтительно, одну или более стадий проводят на автоматизированном оборудовании. Кроме того, способ может включать стадии дополнительно к описанным выше в явном виде. Например, дополнительные стадии лечения могут относиться, например, к установлению у субъекта диагноза рака перед проведением стадии а) или удалению фармацевтически приемлемого раствора, включающего полисахарид, из полости тела после проведения стадии а), предпочтительно в комбинации с повторением стадии а), т.е. с повторным промыванием брюшной полости другой дозой фармацевтически приемлемого раствора. Предпочтительно профилактика метастазирования и/или рецидива метастазирования у субъекта заключается в профилактике и/или рецидива метастазирования в брюшной полости субъекта. Более предпочтительно профилактика метастазирования и/или рецидива метастазирования у субъекта заключается в профилактике метастазирования и/или рецидива метастазирования в брюшной полости субъекта, которому ввели фармацевтически приемлемый раствор. Предпочтительно профилактика образования метастаз и/или рецидива рака в брюшной полости субъекта заключается в профилактике образования метастаз и/или рецидива рака по крайней мере в одном из органов и/или одной из тканей, связанных со слизистой оболочкой полости тела.

Предпочтительно хирургическое удаление раковых клеток проводят до, в процессе или после стадии введения фармацевтически приемлемого раствора, включающего полисахариды по настоящему изобретению, в полость тела субъекта. Более предпочтительно хирургическим удалением раковых клеток является, в случае образования ими солидной опухоли, является удаление по крайней мере части видимой глазом солидной раковой опухоли перед введением или после введения водного раствора на стадии а). Предпочтительно видимой глазом солидной опухолью является первичная опухоль. В таком случае более предпочтительно, по крайней мере первичную опухоль или ее часть удалять при хирургическом вмешательстве. В таком случае наиболее предпочтительно, по крайней мере, первичную опухоль удалять полностью.

Предпочтительно количество вводимого фармацевтически приемлемого раствора определяется размером и/или емкостью полости тела, в которую вводят раствор. Специалистам в данной области техники следует понимать, что в принципе предпочтительно вводить большой объем фармацевтически приемлемого раствора. Однако также следует понимать, что объем вводимого раствора действительно определяется емкостью полости тела.

Эффективная доза фармацевтически приемлемого раствора по настоящему изобретению представляет собой дозу, которая обеспечивает профилактику образования метастаз и/или рецидива рака у субъекта. Эффективность и токсичность соединений можно определить по стандартным методикам на клеточных культурах или экспериментальных животных, например, определяя ED_{50} (терапевтически эффективная доза у 50% популяции) и LD_{50} (летальная доза для 50% популяции). Соотношение между величинами доз для терапевтического и токсичного эффекта представляет собой терапевтический индекс, который можно представить в виде соотношения LD_{50}/ED_{50} .

Курсы лечения определяет лечащий врач и другие клинические факторы, предпочтительно в соответствии с любым из описанных выше способов. Как известно в медицине, дозировка для любого пациента зависит от множества факторов, включая размер пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретное вводимое соединение, пол, время и способ введения, общее состояние здоровья и другие лекарственные средства, вводимые одновременно. Эффективность можно оценивать при периодической оценке. Типичная доза составляет например, от 250 мл до 2 л фармацевтически приемлемого раствора для одного введения в брюшную полость, однако можно использовать дозы, выходящие за пределы типичного интервала, особенно с учетом выше упомянутых факторов и малого размера других полостей тела, например, перикарда. Общее количество вводимого фармацевтически приемлемого раствора может находиться в интервале от 20 мл до 10 л, прежде всего если вводить повторные дозы. Предпочтительно величину дозы подбирают соответствующим образом. В основном, интервал величин доз при регулярном однократном введении составляет от 250 мл до 3 л.

Фармацевтически приемлемый раствор, описанный в данном контексте, вводят по крайней мере один раз для профилактики заболевания или состояния, описанных в данном контексте. Однако, фармацевтически приемлемый раствор можно вводить более одного раза, например, каждые 4-7 дней вплоть до нескольких недель.

Настоящее изобретение относится также к фармацевтически приемлемому раствору, включающему икодекстрин и гидроксилкилированный крахмал в суммарной концентрации в интервале от 1 до 20% (мас./об.), при этом массовое соотношение икодекстрина и гидроксилкилированного крахмала составляет интервал от 0,05:1 до 5:1, для применения при профилактике образования метастаз и/или рецидива рака при введении в полость тела субъекта, страдающего от рака. Термин "суммарная концентрация", использованный в данном контексте, означает арифметическую сумму концентраций икодекстрина и ГАК в фармацевтически приемлемом растворе по настоящему изобретению. Следует понимать, что другие полисахариды, которые могут присутствовать в растворе дополнительно, предпочтительно не включены в расчет суммарной концентрации.

"Массовое соотношение" икодекстрина и гидроксилкилированного крахмала по настоящему изобретению

бретению рассчитывают при делении концентрации икодекстрина на концентрацию ГАК в фармацевтически приемлемом растворе. Соответственно, если, например, икодекстрин присутствует в растворе в концентрации 4% (мас./об.) и ГАК присутствует в растворе в концентрации 10% (мас./об.), то массовое соотношение рассчитывают по формуле $4\%/10\%=0,4$, что можно также выразить как 0,4:1. Предпочтительно, массовое соотношение икодекстрина и гидроксипропилированного крахмала составляет интервал от 0,05:1 до 5:1, более предпочтительно от 0,1:1 до 4:1, еще более предпочтительно от 0,2:1 до 3:1 и наиболее предпочтительно от 0,3:1 до 2:1.

Все цитированные в данном контексте ссылки включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме, и раскрывающем сущность, специально упомянутую в данном контексте.

Примеры

Следующие примеры представлены только для иллюстрации настоящего изобретения. Их не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего изобретения.

Пример 1.

Краткое содержание. Взрослых самок безтимусных мышей BALB/c лечили однократной внутривенной (в/б) инъекцией солевого раствора, икодекстрина (4%), заменителя крови VOLUVEN® (10%) в отдельности или в комбинации с 4%-ным раствором икодекстрина и раствором, содержащим 10% ГЭК 130/0.4, растворенным в 4%-ном растворе икодекстрина, после инокуляции клетками аденокарциномы ободочной кишки человека LS174T (ATCC® CL-188™) с целью определения роста опухолевых клеток и массы тела в ходе эксперимента.

Вещества.

В качестве контроля использовали солевой раствор (0,9% NaCl) (Lot 134002, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Германия). Гидроксиэтилкрахмал (ГЭК) (поли(О-2-гидроксиэтил)крахмал), содержащий исследуемый препарат заменителя крови VOLUVEN® (10%) (ГЭК 130/0.4) 100 г/л, NaCl 9 г/л (Lot 14FC3308) получали на фирме Fresenius Kabi Deutschland GmbH (Bad Homburg, Германия) в виде готового для применения продукта. Икодекстрин 4% (40 г/л, хлорид натрия 5,4 г/л, лактат натрия 4,5 г/л, хлорид кальция 257 мг/л, хлорид магния 61 мг/л) (Lot 11892004, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Германия) получали в виде готового для применения раствора. ГЭК 130/0.4 (Lot 17123722) получали на фирме Fresenius Kabi Deutschland GmbH (Bad Homburg, Германия) в виде твердого порошкообразного вещества, растворенного в растворе икодекстрина 4%, в виде коммерческого продукта (как описано выше), до конечной концентрации 10% мас./об. и его фильтровали стерильно. Все растворы до использования хранили при комнатной температуре (<25°C). Все растворы вводили в стерильных условиях.

Животные.

Для исследования использовали взрослых самок безтимусных мышей BALB/c (штамм CAnN.Cg-Foxnlmu/Crl) (Charles River GmbH, Sulzfeld, Германия). Перед началом эксперимента их возраст составлял 6-7 недель, а средняя масса тела составляла от 15 до 20 г. Всех мышей содержали в строго контролируемых и стандартизированных защитных условиях. Их содержали максимально по 4 мыши в клетке, в индивидуально вентилируемых клетках в следующих условиях окружающей среды: комнатная температура 22±3°C, относительная влажность 45-65%, искусственный флуоресцентный свет 12 ч/темнота 12 ч. Мыши получали в свободном доступе автоклавированный корм, подстилку (Ssniff, Soest, Германия) и автоклавированную водопроводную воду.

Модель карциноматоза.

В исследовании использовали 6 экспериментальных групп, каждая содержала по 25 самок безтимусных мышей BALB/c. В день 0 в брюшную полость всех безтимусных мышей BALB/c (группы 1-6) вводили внутривенно 2×10 клеток LS174T в 300 мкл ФБР. В каждом цикле имплантации использовали свежеприготовленные суспензии клеток, при этом клетки имплантировали 4-м животным из каждой группы 1-6. Для имплантации 25 животных/группа требовалось 6 циклов имплантации свежеприготовленной суспензии клеток для 24 животных (группы 1-6). В шестом и последнем цикле имплантации использовали свежеприготовленную суспензию клеток для 30 мышей (5 животных×6 групп). В течение 10-15 мин после имплантации клеток каждой мыши из групп 4-6 вводили внутривенно 500 мкл икодекстрина (4%)+заменителя крови VOLUVEN® (10%) (1:1 об./об.) (группа 4), икодекстрин (4%)+заменитель крови VOLUVEN® (10%) (4:1 об./об.) (группа 5) или ГЭК 130/0.4 (конечная концентрация 10% об./об.) (группа 5), растворенные в икодекстрине (4%) (группа 6). Животным из группы 1 вводили 500 мкл солевого раствора, животным из группы 2 вводили 500 мкл икодекстрина (4%), а животным из группы 3 вводили 500 мкл заменителя крови VOLUVEN® (10%) (см. табл. 2). Все курсы лечения осуществляли внутривенно (в/б).

Растворы, содержащие 4%-ный икодекстрин, получали из коммерческого раствора, а растворы, содержащие заменитель крови VOLUVEN® (10%), получали из коммерческого раствора. Соответственно растворы содержали незначительно отличающиеся концентрации соли.

Таблица 2

Гр.	Лечение	Объем введенного раствора	Число животных	Конечная конц-ция икодекстрина [%]	Конечная конц-ция ГЭК [%]
1	Солевой раствор	500 мкл мышь	25	0	0
2	Икодекстрин (4%)	500 мкл мышь	25	4	0
3	VOLUVEN® (10%)	500 мкл мышь	25	0	10
4	Икодекстрин (4%)+ VOLUVEN® (10%) (1:1 об./об.)	500 мкл мышь	25	2	5
5	Икодекстрин (4%)+ VOLUVEN® (10%) (4:1 об./об.)	500 мкл мышь	25	3,2	2
6	ГЭК 130/0.4 (кон. конц-ция 10% мас./об., раство- ренный в икодекстрине (4%))	500 мкл мышь	25	4	10

В ходе эксперимента несколько животных из групп 1-5 умерщвляли раньше срока по этическим причинам (асцит, набухание брюшной стенки) и проводили вскрытие. В день 27 исследование завершали по этическим причинам, всех оставшихся животных умерщвляли и проводили вскрытие. Перед вскрытием всех животных взвешивали и умерщвляли цервикальной дислокацией. Всех животных обследовали невооруженным глазом и видимые опухоли оценивали при расчете индекса перитонеального рака (PCI).

Для этой цели все опухоли в брюшной полости группировали в 11 различных представляющих интерес участков (см. табл. 3 ниже) и классифицировали по размеру очага с использованием шкалы LS-0 - LS4 и диаметров опухолей, как указано в табл. 3. Затем число опухолей в различных представляющих интерес участках для каждого размера очага суммировали и умножали на соответствующий фактор 0, 1, 2, 3 или 4 для LS-0, LS-1, LS-2, LS-3 и LS-4 соответственно, и получали специфические к размеру очага величины PCI: PCI_{LS0} - PCI_{LS4} . И наконец, эти пять результатов суммировали, и получали суммарный индекс перитонеального рака ($PCI_{общий}$).

Дополнительно для каждой группы рассчитывали орган-специфичные величины PCI. Для этой цели индивидуальные величины PCI для каждого представляющего интерес участка рассчитывали для каждого животного, как указано выше, при этом получали орган-специфичные величины PCI: PCI_{R1} - PCI_{R11} . И наконец, для каждого представляющего интерес участка суммировали величины PCI_{Ri} для всех животных в группе и определяли средние и медианные величины.

Таблица 3

Схема определения индекса перитонеального рака

Представл. интерес участка (RI)		Шкала размера очага					RI-спец. величины PCI
		LS-0	LS-1	LS-2	LS-3	LS-4	
		Отсутствие видимых опухолей	Диаметр опухоли <2 мм	Диаметр опухоли 2-5 мм	Диаметр опухоли 5-10 мм	Диаметр опухоли >10 мм	
1	Правая брюшина						PCI_{R11}
2	Левая брюшина						PCI_{R12}
3	Желудок						PCI_{R13}
4	Почки						PCI_{R14}
5	Кишечник						PCI_{R15}
6	Слепая кишка						PCI_{R16}
Представл. интерес участка (RI)		Шкала размера очага					RI-спец. величины PCI
		LS-0	LS-1	LS-2	LS-3	LS-4	
		Отсутствие видимых опухолей	Диаметр опухоли <2 мм	Диаметр опухоли 2-5 мм	Диаметр опухоли 5-10 мм	Диаметр опухоли >10 мм	
7	Ободочная кишка						PCI_{R17}
8	Печень						PCI_{R18}
9	Селезенка						PCI_{R19}
10	Диафрагма						PCI_{R110}
11	Брыжейка						PCI_{R111}
Специфичные к размеру участка величины PCI		PCI_{LS0}	PCI_{LS1}	PCI_{LS2}	PCI_{LS3}	PCI_{LS4}	$\Sigma = PCI_{сум}$

Статистическая оценка. Массы тела животных, суммарные величины PCI, а также орган-специфичные величины PCI анализировали с использованием описательного анализа данных (среднее $\pm$ CO, медиана). Кроме того, все индивидуальные величины представлены для всех образцов, а также в виде орган-специфичных величин (индивидуальные величины и медиана). Анализ всех данных проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 5, GraphPad Software, Inc., San Diego, США.

Результаты.

Лечение комбинациями полисахаридов вызывает снижение общего индекса перитонеального рака

(PCI), прежде всего PCI для брыжейки, по сравнению с контрольной группой и с лечением индивидуальным полисахаридами. В случае PCI для ободочной кишки особенно значительный эффект наблюдается при лечении раствором, включающим 4% икодекстрина и 10% ГЭК 130/0.4 (обозначенным как "икодекстрин (4%)+ГЭК 130/0.4 (10%)"). Изменение массы тела указывало на отсутствие связанной с веществом токсичности.

Пример 2.

Краткое содержание. Взрослых самок безтимусных мышей BALB/c лечили однократной в/б инъекцией солевого раствора, икодекстрина (4%), заменителя крови VOLUVEN® (10%) в отдельности или различных комбинаций ГЭК 130/0.4 и икодекстрина, после инокуляции клетками аденокарциномы ободочной кишки человека LS174T (ATCC® CL-188™) с целью определения роста опухолевых клеток и массы тела в ходе эксперимента.

Вещества.

В качестве контроля использовали солевой раствор (0,9% NaCl) (Lot 134002, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Германия). Гидроксиэтилкрахмал (ГЭК), (поли(О-2-гидроксиэтил)крахмал), содержащий исследуемый препарат заменителя крови VOLUVEN® (10%) (ГЭК 130/0.4) 100 г/л, NaCl 9 г/л (Lot 14FC3308) получали на фирме Fresenius Kabi Deutschland GmbH (Bad Homburg, Германия) в виде готового для применения продукта. Икодекстрин 4% (40 г/л, хлорид натрия 5,4 г/л, лактат натрия 4,5 г/л, хлорид кальция 257 мг/л, хлорид магния 61 мг/л) (Lot (Lot 13892004, Baxter AG, Vienna, Австрия) и икодекстрин 7,5% (75 г/л, хлорид натрия 5,4 г/л, лактат натрия 4,5 г/л, хлорид кальция 257 мг/л, хлорид магния 61 мг/л) (Lot 14I18G40, Baxter Healthcare Ltd., Thetford, UK) получали в виде готового для применения раствора. ГЭК 130/0.4 (Lot 17123722) получали на фирме Fresenius Kabi Deutschland GmbH (Bad Homburg, Германия) в виде твердого порошка. Порошкообразный икодекстрин (партия 141001SS-05) получали на фирме Fresenius Kabi Deutschland GmbH (Bad Homburg, Германия) после диализа и лиофилизации исходного готового для использования раствора икодекстрина 4% (Lot 13892004). Этот порошок использовали для получения раствора, содержащего 15% икодекстрина в солевом растворе. Все растворы до использования хранили при комнатной температуре (<25°C). Все растворы вводили в стерильных условиях.

Животные.

Для исследования использовали взрослых самок безтимусных мышей BALB/c (штамм CAnN.Cg-Foxlnu/Crl) (Charles River GmbH, Sulzfeld, Германия). Перед началом эксперимента их возраст составлял 6-7 недель, а средняя масса тела составляла от 16 до 18 г. Всех мышей содержали в строго контролируемых и стандартизированных защитных условиях. Их содержали максимально по 4 мыши в клетке, в индивидуально вентилируемых клетках в следующих условиях окружающей среды: комнатная температура 22±3°C, относительная влажность 45-65%, искусственный флуоресцентный свет 12 ч/темнота 12 ч. Мыши получали в свободном доступе автоклавированный корм, подстилку (Ssniff, Soest, Германия) и автоклавированную водопроводную воду.

Модель карциноматоза.

В исследовании использовали 6 экспериментальных групп, каждая содержала по 25 самок безтимусных мышей BALB/c. В день 0 в брюшную полость всех безтимусных мышей BALB/c (группы 1-6) вводили внутрибрюшинно 2×10 клеток LS174T в 300 мкл ФБР. В каждом цикле имплантации использовали свежеприготовленные суспензии клеток, при этом клетки имплантировали 4-м животным из каждой группы 1-6. Для имплантации 25 животным/группа требовалось 6 циклов имплантации свежеприготовленных суспензий клеток для 24 животных (группы 1-6). В шестом и последнем цикле имплантации использовали свежеприготовленную суспензию клеток для 30 мышей (5 животных×6 групп). В течение 10-15 мин после имплантации клеток каждой мыши вводили внутрибрюшинно 500 мкл заменителя крови VOLUVEN® 10% (группа 1), икодекстрина 4% (группа 3), икодекстрин 7,5% (группа 5), ГЭК 130/0.4 (конечная концентрация 20% мас./об.+икодекстрин (конечная концентрация 15% мас./об.), растворенные в солевом растворе (группа 6), или солевой раствор в качестве контроля (группа 1) соответственно (см. табл. 4). Растворы, содержащие 4% икодекстрина или 7,5% икодекстрина, являлись коммерческими растворами, раствор с названием VOLUVEN® 10% является коммерческим раствором "VOLUVEN® 10%". Соответственно растворы содержали незначительно различные концентрации солей. Раствор, содержащий 15% икодекстрина и 20% ГЭК 130/0.4, получали при растворении 15% мас./об. выделенного икодекстрина и 20% имеющегося ГЭК 130/0.4 в солевом растворе.

Таблица 4

Гр.	Лечение	Объем введенного раствора	Способ введения	Число животных
1	Солевой раствор	500 мкл мышь	в/б	25
2	VOLUVEN® (10%)	500 мкл мышь	в/б	25
3	Икодекстрин (4%)	500 мкл мышь	в/б	25
4	Икодекстрин (7,5%)	500 мкл мышь	в/б	25
5	ГЭК 130/0.4 (10% мас./об.), растворенный в икодекстрине 7,5%	500 мкл мышь	в/б	25
6	ГЭК 130/0.4 (20% мас./об.) + икодекстрин (15% мас./об.), растворенные в солевом растворе (% мас./об.)	500 мкл мышь	в/б	25

В ходе эксперимента несколько животных из групп 1-5 умерщвляли раньше срока по этическим причинам (асцит, набухание брюшной стенки) и проводили вскрытие. В день 31 исследование завершали по этическим причинам, всех оставшихся животных умерщвляли и проводили вскрытие. Перед вскрытием всех животных взвешивали и умерщвляли цервикальной дислокацией. Всех животных обследовали невооруженным глазом, и видимые опухоли оценивали при расчете индекса перитонеального рака (PCI).

Для этой цели все опухоли в брюшной полости группировали в 11 различных представляющих интерес участков (см. табл. 3, эксперимент 1) и классифицировали по размеру очага с использованием шкалы LS-0 - LS4 и диаметров опухолей, как указано в табл. 3. Затем число опухолей в различных представляющих интерес участках для каждого размера очага суммировали и умножали на соответствующий фактор 0, 1, 2, 3 или 4 для LS-0, LS-1, LS-2, LS-3 и LS-4 соответственно, и получали специфичные к размеру очага величины PCI: PCI_{LS0} - PCI_{LS4} . И наконец, эти пять результатов суммировали, и получали суммарный индекс перитонеального рака ($PCI_{\text{сум}}$).

Дополнительно для каждой группы рассчитывали органспецифичные величины PCI. Для этой цели индивидуальные величины PCI для каждого представляющего интерес участка рассчитывали для каждого животного, как показано выше, при этом получали органспецифичные величины PCI: PCI_{RI1} - PCI_{RI11} . И наконец, для каждого представляющего интерес участка суммировали величины PCI_{RI} для всех животных в группе и определяли средние и медианные величины.

Статистическая оценка. Массы тела животных, общие величины PCI, а также органспецифичные величины PCI анализировали с использованием описательного анализа данных (среднее $\pm$ CO, медиана). Кроме того, все индивидуальные величины представлены для всех образцов, а также в виде органспецифичных величин (индивидуальные величины и медиана). Анализ всех данных проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 5, GraphPad Software, Inc., San Diego, США.

Результаты.

Лечение комбинацией VOLUVEN® 10% в икодекстрине 7,5% вызывает снижение индекса перитонеального рака (PCI) по сравнению с контрольной группой. Лечение икодекстрином 4% или комбинацией ГЭК 130/0.4 (20% мас./об.)+икодекстрин (15% мас./об.), растворенной в солевом растворе, в меньшей степени снижает величину PCI. Введение икодекстрина 7,5% не вызывало снижения PCI. Изменение массы тела указывало на отсутствие связанной с веществом токсичности.

Пример 3.

Краткое описание.

На фиг. 11 представлено обобщение данных, полученных в примерах 1 и 2. Чтобы получить сопоставимые данные, суммарные величины PCI для контроля (солевой раствор) принимали за 100%, и остальные величины выражали в процентах (%) от контроля. Очевидно, что растворы, содержащие икодекстрин вплоть до 5% и ГЭК вплоть до 10%, характеризуются улучшенным защитным действием от отложения опухолевых клеток по сравнению как с контролем, так и с растворами, содержащими один полисахарид. Дальнейшее повышение концентрации икодекстрина выше 7,5% и/или концентрации ГЭК до 20% не вызывает дополнительного улучшения. Даже если раствор, содержащий 7,5% икодекстрина, не вызывает улучшения защитного эффекта по сравнению с 4% раствором икодекстрина, такой раствор все еще проявляет эффективность по сравнению с введением контрольного раствора. Без привлечения теории можно заключить, что эти данные могут свидетельствовать об отсутствии взаимосвязи защитного эффекта с осмотическими (гиперонкотическими) эффектами раствора по настоящему изобретению.

Пример 4.

Сравнение с декстраном 40.

На фиг. 11 представлено обобщение данных, полученных в примере 1 и в описанном ранее эксперименте (пример 2 в заявке РСТ/ЕР 2014/065990). Чтобы получить сопоставимые данные, суммарные величины PCI для контроля (солевой раствор) принимали за 100%, и остальные величины выражали в процентах (%) от контроля. Очевидно, что растворы, содержащие икодекстрин вплоть до 5% и ГЭК

вплоть до 10%, характеризуются улучшенным защитным действием от отложения опухолевых клеток как по сравнению с контролем, так и с растворами, содержащими один полисахарид. Этот эффект в значительной степени усиливается по сравнению с действием декстрана 40.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтически приемлемый раствор, содержащий икодекстрин и гидроксиалкилированный крахмал (ГЭК), где концентрация указанного икодекстрина составляет от 1 до 7,5% (мас./об.) и концентрация указанного ГЭК составляет от 1 до 15% (мас./об.) для профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования при введении в полость тела субъекта, страдающего от рака.

2. Фармацевтически приемлемый раствор по п.1, где указанный ГЭК представляет собой гидроксиэтилированный крахмал (ГЭК).

3. Фармацевтически приемлемый раствор по п.1 или 2, где величина молярного замещения (МЗ) указанного ГЭК, предпочтительно ГЭК, составляет от 0,1 до 3.

4. Фармацевтически приемлемый раствор по любому из пп.1-3, где средняя молекулярная масса (M_w) указанного ГЭК, предпочтительно ГЭК, составляет от 70 до 150 кДа.

5. Фармацевтически приемлемый раствор по любому из пп.1-4, где средняя молекулярная масса (M_w) указанного икодекстрина составляет от 10 до 20 кДа.

6. Фармацевтически приемлемый раствор по любому из пп.1-5, где указанный икодекстрин присутствует в концентрации от 3 до 5% (мас./об.) и/или указанный ГЭК присутствует в концентрации от 7,5 до 12,5% (мас./об.).

7. Фармацевтически приемлемый раствор по любому из пп.1-6, где суммарная концентрация икодекстрина и ГЭК составляет от 7 до 15% (мас./об.).

8. Фармацевтически приемлемый раствор по любому из пп.1-7, где раком является рак яичника, карцинома яичника, рак желудка, рак легкого, рак поджелудочной железы, рак желчного пузыря, рак печени, колоректальный рак, рак молочной железы, предпочтительно рак ободочной кишки.

9. Фармацевтически приемлемый раствор по любому из пп.1-8, где осуществляют профилактику метастазирования и/или рецидива метастазирования в полости тела указанного субъекта, предпочтительно в брюшной полости.

10. Фармацевтически приемлемый раствор по любому из пп.1-9, где указанный раствор предназначен для введения после операции, в ходе операции и/или до операции.

11. Набор для получения фармацевтически приемлемого раствора по любому из пп.1-10, включающий икодекстрин и ГЭК в предварительно отмеренных количествах и фармацевтически приемлемые средства для их растворения.

12. Фармацевтически приемлемый раствор, включающий икодекстрин и гидроксиалкилированный крахмал в суммарной концентрации в интервале от 1 до 20% (мас./об.), где массовое соотношение икодекстрина и гидроксиалкилированного крахмала находится в интервале от 0,05:1 до 5:1, предназначенный для профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования при введении в полость тела субъекта, страдающего от рака.

13. Фармацевтически приемлемый раствор по п.12, где суммарная концентрация икодекстрина и гидроксиалкилированного крахмала составляет от 5 до 16% (мас./об.).

14. Фармацевтически приемлемый раствор по п.13, где суммарная концентрация икодекстрина и гидроксиалкилированного крахмала находится в интервале $14 \pm 1\%$ (мас./об.) и массовое соотношение икодекстрина и гидроксиалкилированного крахмала находится в интервале от 0,3:1 до 0,5:1.

15. Способ профилактики метастазирования и/или рецидива метастазирования у субъекта, страдающего от рака, включающий введение фармацевтически приемлемого раствора, включающего икодекстрин в концентрации от 1 до 7,5% (мас./об.) и гидроксиалкилированный крахмал (ГЭК) в концентрации от 1 до 15% (мас./об.), в полость тела субъекта.

16. Способ по п.15, где профилактика метастазирования и/или рецидива метастазирования у субъекта представляет собой профилактику метастазирования и/или рецидива метастазирования в полости тела субъекта.

17. Способ по п.15 или 16, где фармацевтически приемлемый раствор включает икодекстрин в концентрации от 3 до 5% (мас./об.) и гидроксиалкилированный крахмал (ГЭК) в концентрации от 5 до 12,5 (мас./об.).

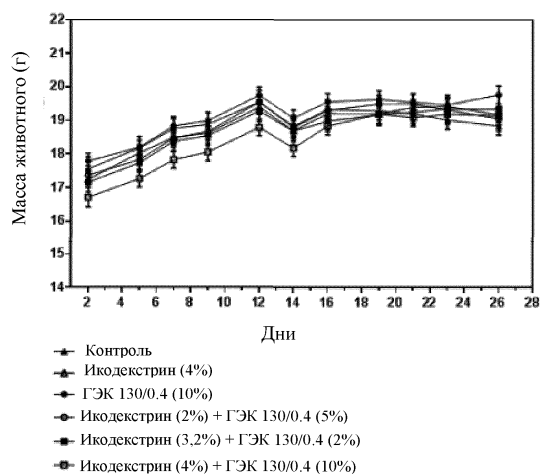
18. Способ по п.15 или 16, где суммарная концентрация икодекстрина и гидроксиалкилированного крахмала находится в интервале от 7,5 до 15% (мас./об.).

19. Фармацевтический раствор, включающий икодекстрин и гидроксиалкилированный крахмал (ГЭК), где указанный икодекстрин присутствует в концентрации от 1 до 7,5% (мас./об.) и где указанный ГЭК присутствует в концентрации от 1 до 15% (мас./об.).

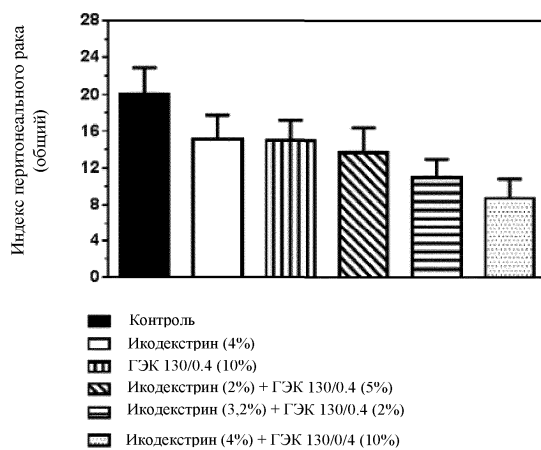
20. Раствор по п.19, где фармацевтически приемлемый раствор включает икодекстрин в концентрации от 3 до 5% (мас./об.) и гидроксиалкилированный крахмал (ГЭК) в концентрации от 5 до 12,5% (мас./об.).

21. Фармацевтическая композиция, включающая икодекстрин и гидроксиалкилированный крахмал (ГАК).

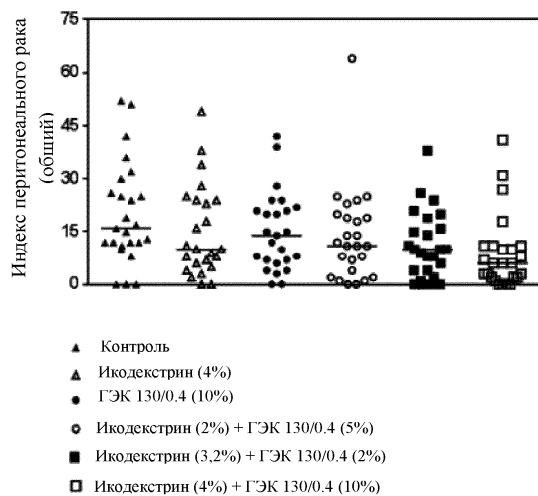
22. Композиция по п.21, где массовое соотношение икодекстрина и гидроксиалкилированного крахмала находится в интервале от 0,3:1 до 0,5:1.



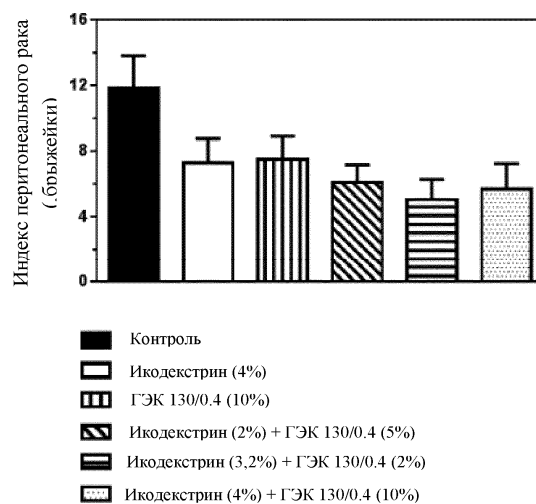
Фиг. 1



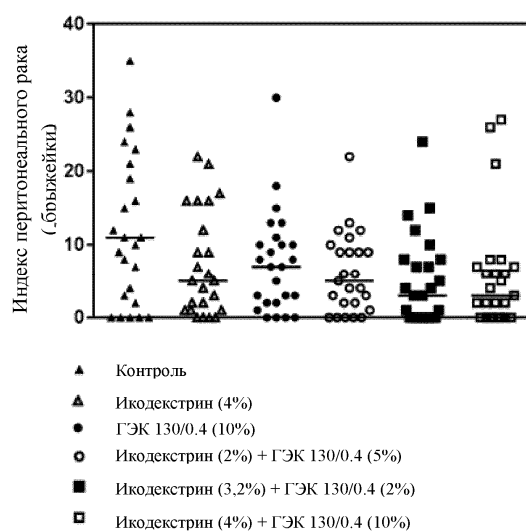
Фиг. 2



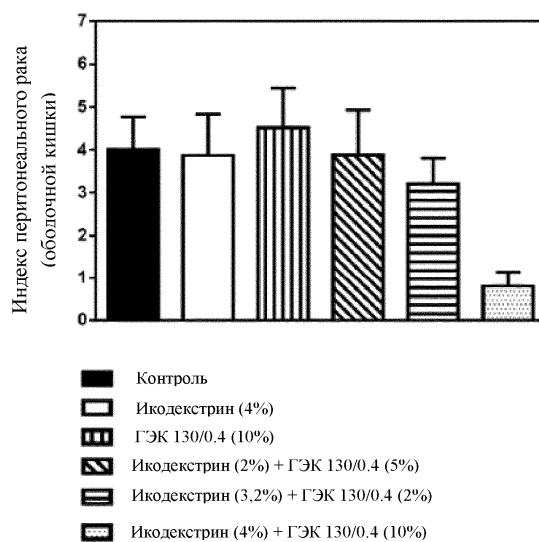
Фиг. 3



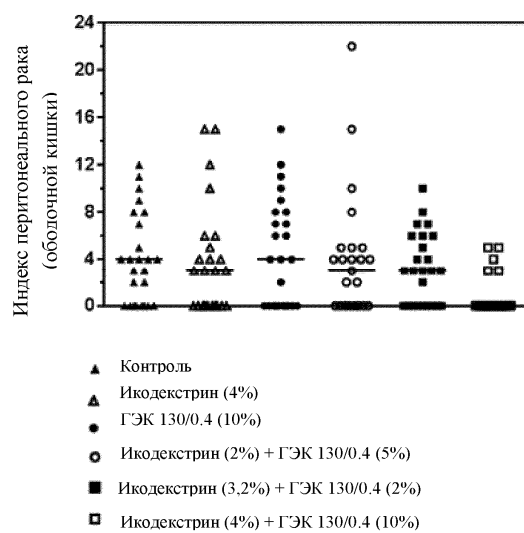
Фиг. 4



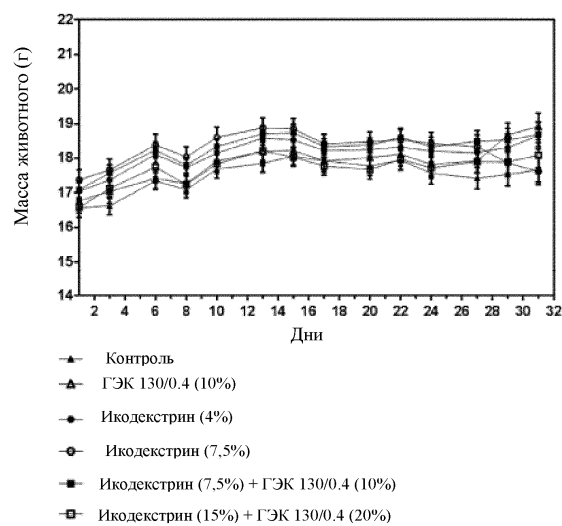
Фиг. 5



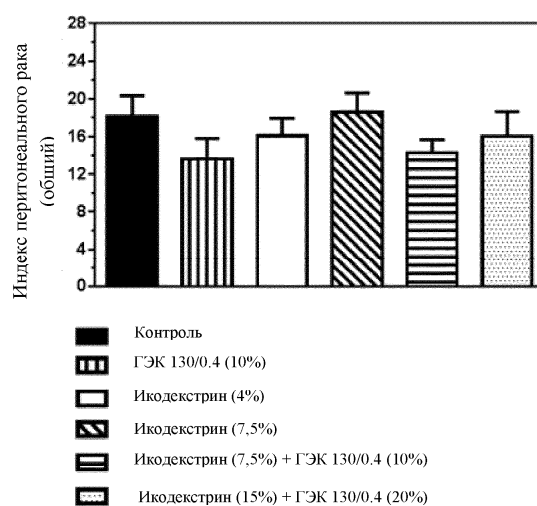
Фиг. 6



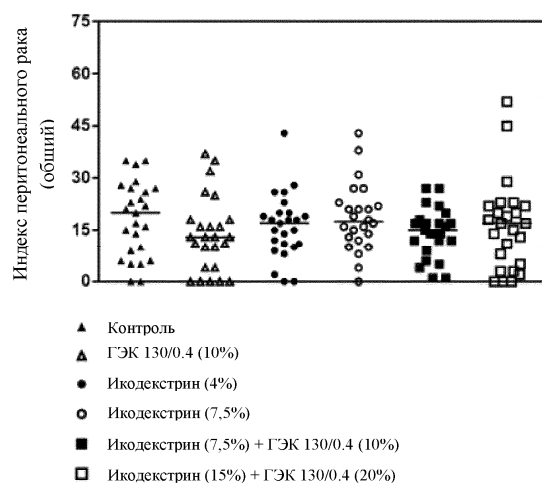
Фиг. 7



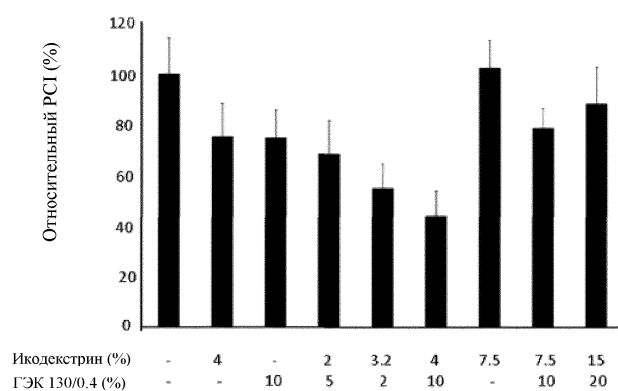
Фиг. 8



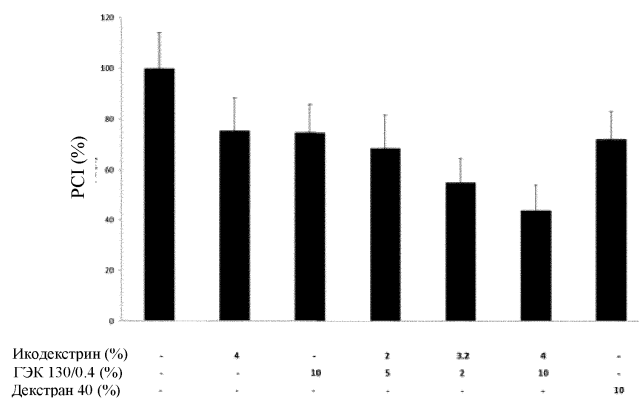
Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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