

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **042238**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2023.01.26**

**(21)** Номер заявки  
**202191325**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2019.09.19**

**(51)** Int. Cl. **A61K 31/566** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**C07J 73/00** (2006.01)

---

**(54) ПРИМЕНЕНИЕ 3-О-СУЛЬФАМОИЛОКСИ-7β-МЕТИЛ-D-ГОМО-6-ОКСАЭСТРА-1,3,5(10),8(9)-ТЕТРАЕН-17α-ОНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

---

**(31)** 2018139337

**(32)** 2018.11.08

**(33)** RU

**(43)** 2021.08.06

**(86)** PCT/RU2019/000651

**(87)** WO 2020/096487 2020.05.14

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:

**ИЛЬЯСОВА НАТАЛЬЯ  
ЭДУАРДОВНА (RU)**

**(72)** Изобретатель:

**Ильясова Наталья Эдуардовна,  
Ильясов Шамиль Сионович, Шавва  
Александр Григорьевич, Морозкина  
Светлана Николаевна (RU)**

**(74)** Представитель:

**Нилова М.И. (RU)**

**(56)** Morozkina S.N. et al. Sintez i issledovanie nekotorykh biologicheskikh svoystv sulfamatoov 8α-analogoov steroidnykh estrogenov. Zhurnal organicheskoi khimii. 2015. 51(3): 425-30  
PFIŠER. MATERIAL SAFETY DATA SHEET. Material Name: Tamoxifen Citrate Tablets. [Online] Revision date: 20-Dec-2006. Version: 1.0. p. 6. [Retrieved on 22.01.2020]. Found on <[https://www.pfizer.com/system/files/products/material\\_safety\\_data/PZ00565.pdf](https://www.pfizer.com/system/files/products/material_safety_data/PZ00565.pdf)>

Bubert Christian et al. 3,17-Disubstituted 2-Alkylestra-1,3,5(10)-trien-3-ol Derivatives: Synthesis, In Vitro and Vivo Anticancer Activity. J Med Chem. 2007 Sep 6;50(18):4431-43. DOI: 10.1021/jm070405v  
RU-C1-2619457  
RU-C1-2620084

---

**(57)** Изобретение относится к области медицины и химико-фармацевтической промышленности и касается средств для лечения рака молочной железы. Описано применение 3-О-сульфамоиокси-7β-метил-D-гомо-6-оксаэстра-1,3,5(10),8(9)-тетраен-17α-она в качестве противоонкологического агента при моно- и адьювантной терапии рака молочной железы, включая трижды негативную форму.

---

**B1**

**042238**

**042238  
B1**

### Область техники

Изобретение относится к области медицины и химико-фармацевтической промышленности и касается средств для лечения рака молочной железы.

#### Предшествующий уровень техники

Рак молочной железы является ведущим онкологическим заболеванием у женщин [Parkin D.M., Bray F., Ferlay J., and Pisani P., *CA Cancer J. Clin.*, 2005, vol. 55, p. 74-108]. По данным ВОЗ, в мире 2.09 миллионов больных, а ежегодно умирают от рака молочной железы 627 тыс. женщин [<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>].

Значительная часть опухолей этой локализации прогрессирует под действием эстрогенов [Yue W., Yager J.D., Wang J.-P., Jupe E.R., Santen R.J., *Steroids*, 2013, vol. 78, p. 161-170]. При иммуногистохимическом исследовании рака молочной железы определяются рецепторы эстрогенов (ER), прогестерона (PR) и her2neu ("чувствительность к герцептину"). Значительная часть опухолей содержат рецепторы эстрогенов, прогестерона и/или HER2NEU 3+. Если опухоль не имеет рецепторов и не чувствительна к герцептину (ERO, PRO, HER2NEU 0-1) её рассматривают как трижды негативную (ER-/PR-/HER-2-). Это одна из самых смертоносных форм рака молочной железы по причине отсутствия мишеней для подавления её роста. На сегодняшний день в мире нет лекарственных препаратов для лечения этой формы рака.

Эстрогены циркулируют в крови и накапливаются в опухоли в виде сульфатов, не способных связываться с рецепторами эстрогенов, однако после превращения в свободные гормоны они активируют рост опухоли. Поэтому перспективной является стратегическая линия лечения, в основе которой лежит применение ингибиторов, блокирующих образование этой группы свободных гормонов в опухоли.

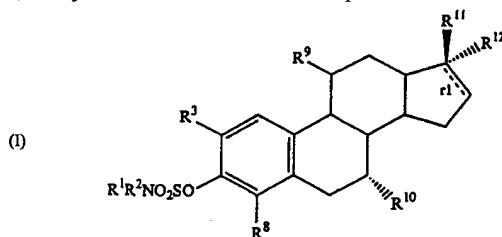
К препаратам из группы селективных модуляторов рецепторов эстрогенов, которые блокируют эффекты эстрогена на гормонозависимые ткани, в том числе - на ткани молочной железы, относится тамоксифен. Тамоксифен является стандартом гормональной терапии для женщин в пременопаузе и постменопаузе. Наиболее характерными побочными эффектами, возникающими на фоне применения тамоксифена, являются: повышение риска развития тромбоза вен, усугубление течения заболеваний сердечно-сосудистой системы (включая приступы стенокардии), а также появление новообразований эндометрия (полипы, и рак эндометрия), а также фиброма матки. Кроме того, тамоксифен гепатотоксичен. По биофармацевтической классификационной системе (БКС), разработанной Gordon Amidon с соавторами в 1995 г., тамоксифен отнесён ко второму классу - препарат имеет низкую растворимость и высокую проницаемость.

Большую эффективность по сравнению с тамоксифеном показали ингибиторы ароматазы, в частности, нашли применение летрозол и анастрозол, которые отнесены к первому классу. Они имеют высокую растворимость и высокую проницаемость. Побочные эффекты ингибиторов ароматазы - остеопороз, приливы, головные боли.

Кроме того, привлекает внимание стероидная сульфатаза в связи с локальным межтканевым образованием эстрогенов из обильного пула циркулирующего сульфата эстрогена. Стероидная сульфатаза катализирует гидролиз сульфата эстрогена до эстрогена и сульфата DHEA до DHEA (Dibbelt I., *Biol. Chem., Hoppe-Seyler*, 1991, 372, 173-185; Stein C., *J. Biol. Chem.*, 1989, 264, 13865-13872).

Самым известным ингибитором стероидной сульфатазы является EMATE - сульфамат эстрогена (Ahmed S., *Curr. Med. Chem.*, 2002, vol 9, no. 2, p. 263-273). Однако он обладает существенным недостатком. Под действием ингибиторов сульфатазы эстрогена, имеющих в своем составе сульфаматную группу, происходит необратимая дезактивация фермента с высвобождением свободного лиганда [Howarm N.M., Purohit A., Reed M.J. *J. Med. Chem.*, 1994, vol. 37, p. 219-221]. В частности, сульфамат эстрогена ингибирует сульфатазу эстрогена, однако высвобождение свободного гормона приводит к появлению сильной утеротропной активности [Shields-Botella J. et al., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2003, vol. 84, p. 327-335].

Ряд ингибиторов сульфатазы эстрогена защищены в патенте WO9933858 (A2) - 1999-07-08, где в качестве ингибиторов сульфатазы эстрогена для лечения или профилактики эстрогензависимых расстройств, таких как рак молочной железы, могут быть использованы производные общей формулы



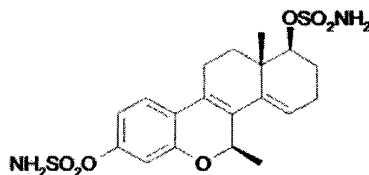
Данные производные обладают также утеротропной активностью.

Таким образом, при поиске новых противораковых агентов необходимо учесть, что носитель сульфаматной группы ингибитора сульфатазы эстрогена не должен обладать гормональной активностью.

Выполнение этих условий привело к расширению области применения сульфаматов на основе эстрогенов ввиду широкого потенциала их действия, в частности, при рецидивирующем раке молочной железы [Shah R. Et al., *Sulfatase inhibitors for recidivist breast cancer treatment: A chemical review*, *Eur. J. Med.*

Chem., 2016. vol. 114, p. 170-190]. В частности, описаны 17 $\alpha$ -замещенные производные сульфамата эстрадиола.

Из уровня техники также известно соединение 3,17 $\beta$ -дисульфоилокси-7 $\beta$ -метил-D-гомо-6-оксаэстра-1,3,5(10),8,14-пентаен формулы

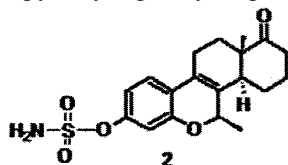


в качестве ингибитора роста клеток рака молочной железы MCF-7 (RU 2619457, опубл. 16.05.2017). Данное соединение может быть указано в качестве ближайшего аналога.

#### Раскрытие изобретения

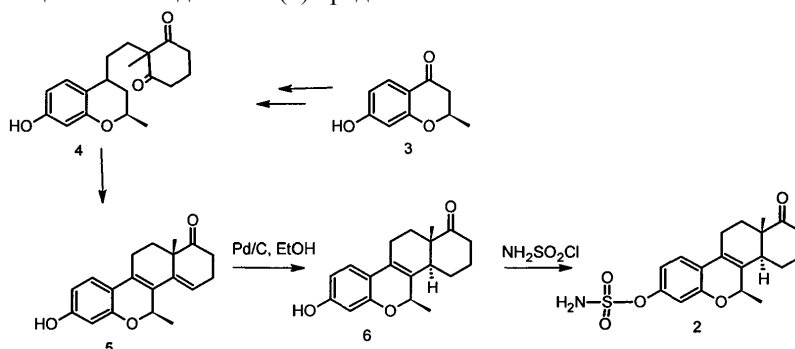
Задачей настоящего изобретения является поиск и разработка эффективного синтеза соединений, которые могут быть использованы в качестве противораковых агентов при моно- и адъювантной терапии рака молочной железы, в том числе при его самой смертоносной форме - трижды-негативной (ER-/PR-/HER-2-).

Задача решается использованием соединения 3-О-сульфоилокси-7 $\beta$ -метил-D-гомо-6-оксаэстра-1,3,5(10),8(9)-тетраен (2), который ингибирует сульфатазу эстрогена,



и может применяться как противоонкологический агент при моно- и адъювантной терапии рака молочной железы, включая трижды негативную форму (ER-/PR-/HER-2-) рака молочной железы.

Схема синтеза целевого соединения (2) представлена ниже.



Соединение (3) ввели в реакцию с винилмагнийбромидом, конденсация полученного винилкарбинола с 2-метилциклогексан-1,3-дионом приводила к образованию секосоединения (4). Реакцию циклодегидратации соединения 4 проводили в соляной кислоте. Эстратетраен 6 получили гидрированием над Pd/C в этаноле, выход 75%. Сульфамат 2 получен с выходом 86%.

Полученный противоонкологический агент относится к 5 классу опасности ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг). Полученные данные позволяют оценить дозы для исследования противоопухолевой активности как безопасные. Терапевтически эффективные дозы препарата предпочтительно составляют от 0.1 до 20 мг.

Несмотря на значительный прогресс в клинической онкологии, хирургический метод играет ведущую роль в лечении больных злокачественными новообразованиями молочной железы. Однако, многие пациенты впоследствии погибают. Это означает, что у этих больных наряду с первичной опухолью уже имеются микрометастазы, которые, к сожалению, не всегда можно выявить с помощью самых современных методов исследования. С целью длительного подавления таких микрометастаз, как правило, используется адъювантная терапия - вспомогательное, дополняющее хирургические или лучевые методы, химиотерапевтическое лечение. Адъювантная терапия в основном проводится в течение 5-10 лет, что может привести к различным побочным эффектам на другие ткани и органы. Предложенное соединение обеспечивает проведение такой терапии с большей эффективностью.

Опухоли молочной железы (МЖ) у мышей самок линии FBV/N, трансгенных по HER-2/neu представляют собой аденокарциномы, которые характеризуются низким содержанием рецепторов эстрогена (ЭР) (фиг. 1) и отсутствием рецепторов прогестерона (ПР). Можно выделить два подтипа аденокарцином, а именно ЭР+, ПР-, и ЭР-, ПР-. При иммуногистохимическом исследовании ER $\alpha$  в опухолях молочной железы только в 10 образцах из 45 обнаружены единичные позитивно окрашенные ядра (фиг. 1).

Модель чувствительна к схеме CAF (циклофосфамид, адриамицин, 5-фторурацил), при этом отме-

чается торможение роста опухоли, приводящее к стабилизации среднего объема опухолей (фиг. 2). Торможение роста опухоли составило 63% на 14 сутки и 46% на 21 сутки опыта.

Поскольку у животных возможно развитие множественных опухолей, то представляется целесообразным анализ среднего суммарного объема опухолей у мышей (фиг. 3) и его относительное изменение к началу опыта (фиг. 4). На графике относительного прироста объема опухоли видно, что происходит линейное изменение этого показателя в контрольной группе, что свидетельствует о целесообразности использования данного показателя для оценки биологического ответа опухоли на лечение. Так при воздействии схемы САФ наблюдается отсутствие изменения этого показателя на протяжении почти 3-х недель, свидетельствующее о стабилизации заболевания. Частота стабилизации отдельных опухолей составляет около 60% к 21 суткам.

#### Краткое описание фигур чертежей

Изобретение иллюстрируется следующими фигурами:

фиг. 1 - окрашивание антителами к ER $\alpha$  опухоли молочной железы; визуализация пероксидазы хрена + диаминобензидин, ув.  $\times 100$  (А). Специфическое окрашивание ядер клеток протока молочной железы и ядер единичных опухолевых клеток (Б), ув.  $\times 400$ ;

фиг. 2 - динамика среднего объема опухолей, имевшихся к началу исследования, у мышей при терапии схемой САФ;

фиг. 3 - динамика среднего суммарного объема опухолей, имевшихся к началу исследования, у мышей при терапии схемой САФ;

фиг. 4 - относительное изменение среднего суммарного объема опухолей, имевшихся к началу исследования, у мышей при терапии схемой САФ;

фиг. 5 - относительное изменение среднего суммарного объема опухолей у мышей при оценке противоопухолевой активности препарата в дозах 20 и 100 мг/кг;

фиг. 6 - относительное изменение среднего суммарного объема опухолей у мышей при оценке противоопухолевой активности препарата в дозе 2 мг/кг.

#### Лучший пример осуществления изобретения

Изобретение может быть проиллюстрировано следующими ниже представленными примерами осуществления изобретения.

Пример 1.

Синтез 3-Гидрокси-7 $\beta$ -метил-D-гомо-6-оксаэстра-1,3,5(10),8(9),8,14-пентаен-17 $\alpha$ -он (5).

Секосоединение 4 получали из 6 г хроманона (3).

К раствору секостероида 4 в 100 мл метаноле добавляли 6 мл соляной кислоты, кипятили 10 ч. Охлажденную реакционную смесь выливали в охлажденную воду, последовательно промывали 5% раствором NaHCO<sub>3</sub>, водой до нейтральной реакции, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель отгоняли на ротационном испарителе. Получали продукт с т. пл. 237-240 $^{\circ}$ C.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>), м.д.: 7.08; 6.45; 6.39; 5.84; 5.30; 5.00 с (1H, C3-OH); 2.79; 2.74-2.40; 2.14, 1.69; 1.28; 1.24 с (3H).

Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (DMSO-d<sup>6</sup>), м.д.: 214.6; 158.6, 152.6 (C-3, C-5), 137.4; C); 123.9, 125.4; 124.1; 115.7; 118.3; 108.7; 103.8; 69.9; 45.0; 35.4; 28.6; 24.1; 21.1; 18.1.

3-Гидрокси-7 $\beta$ -метил-D-гомо-6-оксаэстра-1,3,5(10),8(9)-тетраен-17 $\alpha$ -он (6) получали из 100 мг эстрапентаэна. Продукт реакции кристаллизовали из MeOH, сушили. Получили 76 мг (75%) соединения, T>254 $^{\circ}$ C.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, (DMSO-d<sup>6</sup>), м.д.: 9.44 с (C<sub>3</sub>-OH); 6.96; 6.33, 6.22; 4.84, 2.80; 2.51; 2.46, 2.18; 2.12; 2.06; 1.91; 1.83; 1.62; 1.52; 1.16, 1.08 с (3H).

Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (DMSO-d<sup>6</sup>), м.д.: 214.4; 158.1, 152.4; 128.2; 122.3; 116.4; 123.8; 108.5; 103.7; 70.5; 46.8; 45.4; 37.0; 29.0; 25.9; 22.3; 21.8; 19.6; 16.4.

Полноту протекания реакций и индивидуальность соединений проверяли, используя тонкослойную хроматографию (ТСХ) на пластинах Silufol UV254 фирмы Kavalier и Alugram SIL G/UV254 фирмы Macherey-nagel в системах растворителей гексан/петролейный эфир 40-70 - этилацетат в различном соотношении. Детектирование веществ проводилось в ультрафиолетовом свете ( $\lambda_{\max}$ =254 нм), адсорбцией паров йода или при реакции с серной кислотой в метаноле (3:1) при нагревании.

Для очистки веществ колоночной хроматографией использовали силика-гель 60 (0.035-0.070 мм; 0.060-0.200 мм) фирмы Acros Organics.

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C снимали в CDCl<sub>3</sub> (если не оговорено особо) на приборе Bruker DPX-300 соответственно на частотах 400.130 и 100.613 МГц для ядер <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C соответственно при 298 К. Для спектров ЯМР <sup>1</sup>H использовали растворы 3-5 мг вещества в 0.6 мл CDCl<sub>3</sub>, а для ЯМР <sup>13</sup>C - 20-50 мг в том же объеме. Химические сдвиги измеряли по отношению к тетраметилсилану, присвоив сигналу растворителя (CDCl<sub>3</sub>/CHCl<sub>3</sub>=99.9/0.1) значения: 7.26 м.д. (<sup>1</sup>H) и 77.16 м.д. (<sup>13</sup>C).

## Пример 2.

Изучение фармакологической активности.

Клеточные культуры и условия культивирования.

Работа проведена на перевиваемой культуре клеток человека MCF-7 (аденокарцинома молочной железы). В качестве отрицательного контроля использовали нормальные кожные фибробласты человека (КФЧ) ранних пассажей. Клетки культивировали во флаконах Карреля в среде DMEM/F12 (Биолот) с добавлением 1% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (Биолот), без антибиотиков, в 5% CO<sub>2</sub> атмосфере, при 37°C.

Оценка пролиферативной активности клеток.

Клетки высаживались на флаконы Карреля по  $50 \times 10^4$  клеток на флакон. Для изучения пролиферативной активности клеток в условиях подавления сульфатазы через 24 ч после посева культуральную среду заменяли на среду, содержащую ингибиторы сульфатаз до конечной концентрации 50 мкг/мл, после чего инкубировали данные опухолевые клеточные линии в течение различных промежутков времени (от 24 до 72 ч). Ингибитор растворяют в ДМСО. Конечная концентрация ДМСО в культуральной среде не превышала 0.5%. Для исключения цитотоксического действия ДМСО ставили контроль с добавлением ДМСО без ингибитора сульфатаз. Для исключения неспецифического губительного действия веществ использовали нормальные кожные фибробласты человека. Далее клетки снимали раствором версенатрипсина (Биолот), рассеивали на флаконы Карреля, содержащие новую полную культуральную среду. Подсчет клеток проводили в момент достижения необработанными контрольными клетками максимальной плотности клеток на единицу площади поверхности культурального флакона (монослой), при этом их количество определялось как 100%. Пролиферативную активность всех исследованных клеточных культур при воздействии ингибиторов сульфатаз определяли не менее трех раз.

Исследование влияние полученного сульфамата на рост перевиваемой культуры клеток человека MCF-7 (аденокарцинома молочной железы) показало, что стероид 2 полностью блокирует рост опухолевых клеток при концентрации 20 мкг/мл, при этом он не влияет на рост кожных фибробластов человека, не имеющих рецепторов эстрогенов. Рост опухолевых клеток ингибируется в той же степени, что и под действием тамоксифена, применяемого в медицинской практике более 30 лет. Это весьма важно, поскольку сульфаматы и тамоксифен имеют разные механизмы действия, поэтому есть перспективы их совместного применения.

В экспериментах на мышах линии FVB, трансгенной по HER-2/neu (ER-/PR-/HER2+), с опухолями молочных желез, агент ингибирует рост опухолей сравнимо с применяемым в клинической практике тамоксифеном, что предполагает их совместное использование для лечения рака молочной железы.

На клеточной линии трижды негативного рака молочной железы MDA-MB-231 соединение ингибирует рост клеток, IC<sub>50</sub>=4.8 мМ, что сравнимо с применяющимся в клинической практике химиотерапевтическим препаратом этопозидом.

## Пример 3.

Исследование проведено на мышах-самках линии FVB трансгенных по HER-2/neu конвенциональной категории, линия получена из питомника Charles River Laboratories (Италия). Возраст животных к началу исследования составлял 21-41 неделю, вес - 25-30 г.

Для исследования была использована лекарственная форма препарата Тамоксифен Гексал (Гексал АГ, Германия, 83607 Хольцкирхен, серия HA1575 от 01/17), представляющая собой таблетки, покрытые оболочкой белого или слегка желтоватого цвета, круглые, двояковыпуклые, с однородной гладкой поверхностью, содержащие 20 мг действующего вещества.

Условия содержания соответствуют стандартам, указанным в руководстве The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (ILAR publication, 1996, National Academy Press, 1996).

Животных содержали в отдельном помещении группами (не более 5 особей) в индивидуальных клетках для лабораторных грызунов типа T2. Размеры 268 × 215 × 141 мм (площадь основания 370 см<sup>2</sup>). Ванна из поликарбоната, крышка из нержавеющей стали с бункером для корма, разделителем для поилки.

Подстил стружка древесная обеспыленная.

Животные имели неограниченный доступ к комбинированному полнорационному гранулированному корму для лабораторных грызунов.

Вода питьевая, давалась ad libitum в стандартных поилках объемом 190 мл, производства ТЕС-НИPLAST из высокотемпературного полисульфона с силиконовым кольцом и металлической крышкой из нержавеющей стали AISI 316.

Температура в помещении поддерживалась на уровне 20-26°C, относительная влажность - 50-70%. Фотопериод установлен 12 ч ночь - 12 ч день при искусственном освещении лампами дневного света.

На клетке содержания устанавливали идентификационную карточку, на которой указывали номер карточки/клетки, номер опытной группы, индивидуальные номера животных, их количество и пол, номер исследования, ФИО руководителя исследования. Каждому животному проводили установку на ушную раковину металлического метчика для мелких лабораторных грызунов из никелевого сплава Kent-

Scientific, США (на метчиках имеются проштампованные производителем трехзначные номера).

В конце опыта мышей подвергли эвтаназии углекислым газом. Все группы животных подвергали аутопсии с макроскопическим описанием.

Проведено определение LD50 препарата у мышей линии FVB трансгенных по HER-2/neu по тесту OECD 423 (OECD guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method).

Использованы 12 мышей-самок.

На первом шаге 3 мышам вводили препарат в дозе 300 мг/кг. Исследуемый препарат вводили внутрижелудочно с помощью металлического атравматического зонда (в соответствии с пероральным путем применения в клинике). Для внутрижелудочного введения субстанцию препарата смешивали с оливковым маслом для получения суспензии необходимой концентрации для введения из расчета 0,1 мл суспензии на 10 г массы тела животного. Лекарственная форма для введения готовилась *ex tempore*.

В связи с отсутствием гибели животных при введении препарата в дозе 300 мг/кг, этот же уровень дозы препарата был использован для введения еще 3 животным. Гибель животных также отсутствовала, поэтому далее препарат вводили в дозе 2000 мг/кг в 2 шага по 3 животных.

Вели клиническое наблюдение и регистрацию массы тела в соответствии с табл. 1. Животных осматривали ежедневно 2 раза в день, клинически обследовали индивидуально после введения дозы первые 60 мин, с особым вниманием в течение первых 4 ч, периодически в течение первых 24 ч, на 2 сутки и еженедельно до 14 дней. Выполняли подробный осмотр животного в клетке содержания, в руках. Фиксировали общее состояние животных: особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, состояние волосяного и кожного покрова.

Регистрировали массу тела животных с помощью поверенных быстродействующих электронных лабораторных весов Ohaus Scout Pro (США), с максимально нагрузкой 2000 г, шагом измерения 0,1 г.

На 15 сутки выполняли эвтаназию и аутопсию с регистрацией макроскопических изменений. Данные заносили в специальный индивидуальный бланк вскрытия.

Патоморфологическому исследованию подлежали все экспериментальные животные в конце исследования. После эвтаназии животные были тщательно обследованы на предмет внешних патологических признаков. Было проведено исследование состояния грудной и брюшной полостей и макроскопическое исследование внутренних органов. Микроскопический анализ органов и тканей лабораторных животных не проводился, так как гибель животных не зафиксирована в течение всего периода наблюдения, кроме того, макроскопический анализ внутренних органов не выявил патологических изменений.

Таблица 1

Схема наблюдения и взвешивания животных при оценке острой токсичности

Показатели	Сутки опыта (взвешивание в первые сутки проводится до введения препарата)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Взвешивание	■	■					■								■
Введение препаратов	■														
Клиническое обследование	■	■					■							■	
Эвтаназия животных															■

Исследуемый препарат вводили внутрижелудочно с помощью металлического атравматического зонда (в соответствии с предполагаемым пероральным путем применения в клинике). Препарат вводили в однократной суточной дозе (20 мг/кг массы тела) и 5-ти кратной суточной дозе - 100 мг/кг массы тела. Для введения *ex tempore* готовили раствор препаратов в оливковом масле (рафинированное оливковое масло с добавлением нерафинированного Extra Virgen марки Global Village "Clasico" серия L:183351116, срок годности до 26.04.2020, ВАЕО, Испания). Объем введения составил 0,1 мл на 10 г массы тела мыши (0,2 мл готовой формы для мыши массой 20 г). Начало введения препарата через 24 ч после рандомизации. Курс введения составил 27-28 дней.

Препарат сравнения - тамоксифен - вводили также с помощью металлического атравматического зонда (в соответствии с пероральным путем применения в клинике), суточная доза составила 4 мг/кг и была определена при пересчете клинических доз. Эта доза соответствует суточной дозе для человека 20 мг/кг. Таблетку тамоксифена измельчали в ступке, из полученного порошка готовили суспензию в 40 мл оливкового масла, объем введения составил 0,08 мл на 10 г массы тела мыши, длительность введения соответствовала длительности введения опытных препаратов и составила 27-28 дней.

В контрольных группах вводили оливковое масло (плацебо).

Критериями оценки были данные клинического наблюдения, масса тела животных, сроки гибели (в случае таковой), рост опухоли в динамике, данные патоморфологического исследования (верификация новообразования при аутопсии, оценка токсического действия по макроскопической картине изменений внутренних органов).

Измерение массы тела.

Массу тела животных регистрировали перед первым введением препаратов и далее два раза в неделю с помощью поверенных быстродействующих электронных лабораторных весов Ohaus Scout Pro (США), с максимально нагрузкой 2000 г, шагом измерения 0,1 г.

Измерение размеров опухоли.

Один раз в неделю во время взвешивания у животных измеряли макроскопически определяемые опухолевые узлы. Для каждого узла измеряли два линейных размера: наибольший и больший перпендикулярный к нему. Наибольший размер принимали за длину (а) и второй размер за ширину (b) опухолевых узлов. Объем опухоли рассчитывали по формуле:

$$V=(axb)^2/2,$$

Эффективность терапии оценивали по изменению среднего объема опухолей, торможению роста опухоли (ТРО), динамике среднего суммарного объема опухолей у каждой мыши и его относительного изменения.

Процент торможения роста опухоли рассчитывали по формуле:

$$ТРО = (VK-VO)/VK \times 100 (\%),$$

где VK - средний объем опухоли в контрольной группе, а VO - средний объем опухоли в опытной группе.

Первичные данные с индивидуальных бланков перенесены в книги программы Microsoft Excel 2007. Для всех количественных данных вычислены групповое среднее арифметическое (M) и среднеквадратическое отклонение (m). Статистический анализ проведен с использованием статистической программы GraphPad Prism 6.0. Отличия между группами оценены с помощью регрессионного анализа ANOVA и точного критерия Фишера.

При оценке острой токсичности животные находились под непрерывным наблюдением первые 60 мин, затем осматривались ежечасно 3 ч, далее через 24 ч. На вторые сутки наблюдение осуществляли два раза в день. Затем наблюдения проводили раз в день. Клинический осмотр каждого животного проводили после введения субстанции, через сутки, далее еженедельно. Выполняли подробный осмотр животного в клетке содержания, в руках. Отмечали общее состояние животных: особенности их поведения, двигательной активности, состояние волосяного и кожного покрова.

При введении препарата в дозе 300 мг/кг в ходе эксперимента не была зафиксирована гибель животных. Визуально, признаков интоксикации за весь период наблюдения отмечено не было ни у одного животного. Внешний вид и поведение животных были обычными. При взятии в руки реакция была стандартная низкая. Вокализация у животных не отмечена, в том числе непосредственно во время и сразу после введения.

Ежедневное наблюдение за общим состоянием животных, поведенческими реакциями показали, что однократное пероральное введение тестируемого объекта не оказало влияния на общее состояние и активность подвергнутых интоксикации экспериментальных животных.

Данные о массе тела приведены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Динамика массы тела животных при введении препарата в стартовой дозе 300 мг/кг

доза мг/кг	300	Сутки опыта			
		1	2	7	14
1 серия		03.05.2018	04.05.2018	09.05.2018	16.05.2018
мышь №1		27,5	27,6	28,0	28,4
мышь №2		26,4	26,8	27,0	27,0
мышь №3		29,6	29,2	29,4	29,8
2 серия		15.05.2018	16.05.2018	21.05.2018	28.05.2018
мышь №4		26,0	26,5	27,4	29,3
мышь №5		27,0	25,2	25,6	26,0
мышь №6		28,0	27,3	28,2	27,9
Среднее (% исходной)		27,4	27,1 (-1)	27,6 (1)	28,1 (2)
Летальные эффекты (пало всего)		0/6			

Таблица 3

Динамика массы тела животных при введении препарата в дозе 2000 мг/кг

мг/кг доза 2000	Сутки опыта			
	1	2	7	14
1 серия	30.05.2018	31.05.2018	05.06.2018	12.06.2018
мышь №1	26,4	27,0	25,7	27,0
1 серия	17.09.18	18.09.18	23.09.18	30.09.18
мышь №2	28,4	27,9	24,7	28,3
мышь №3	25,0	25,5	24,5	24,9
2 серия	30.09.18	01.10.18	06.10.2018	13.10.2018
мышь №4	26,6	26,5	25,1	26,4
мышь №5	24,0	23,2	23,1	25,6
мышь №6	26,7	26,2	25,2	25,4
Среднее (% исходной)	26,2	26,1 (-1)	24,7 (-6)	26,3 (0)
Летальные эффекты (пало всего)				0,6

Как следует из данных табл. 2 зафиксировано транзитное снижение средней массы тела на 2 сутки после введения на 1% у животных, которые получали препарат в дозе 300 мг/кг.

Поскольку гибель животных при введении дозы 300 мг/кг отсутствовала, перешли к введению препарата в дозе 2000 мг/кг. Препарат был введен в 2 приема с интервалом 3 ч, в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела на прием при концентрации 100 мг/мл т.к. суспензия в масле при большей концентрации густая, что не позволяет ввести препарат через зонд. При введении дозы 2000 мг/кг клиническая картина интоксикации не наблюдалась. Ширина глазной щели животных, независимо от группы, практически не менялись в течение всего периода наблюдения. Патологических выделений из глаз не отмечалось. Нос розовый, умеренно влажный, патологические выделения отсутствовали. Шерсть у всех мышей была опрятной, блестящей, без очагов облысения. Отмечено снижение средней массы тела у животных на 1% на 2 сутки и на 6% на 7 сутки от исходной (табл. 3). К концу периода наблюдения средняя масса тела не отличалась от исходного значения.

Аутопсии подвергались все животные, подвергнутые запланированной эвтаназии на 15-е сутки опыта. При макроскопическом исследовании отклонений в состоянии внутренних органов не обнаружено.

Данные аутопсии были следующие:

- шерсть животных имела опрятный вид, была блестящей, без очагов облысения;
- упитанность животных была удовлетворительной;
- патологических выделений из естественных отверстий не было;
- подчелюстные лимфатические узлы имели округлую форму, бледно-розовую окраску и умеренную плотность;
- слюнные железы обычной формы, бледно-желтого цвета, умеренной плотности;
- брюшина гладкая, блестящая, свободной жидкости в полости нет;
- селезенка не увеличена, плотная, капсула гладкая и блестящая;
- поджелудочная железа бледно-розовая, дольчатой структуры;
- величина и форма печени не изменены, капсула печени блестящая;
- ткань печени имела коричневатый цвет и умеренно плотную консистенцию;
- почки плотные, капсула гладкая, блестящая, вокруг почек умеренное разрастание жировой клетчатки;
- яичники не увеличены с блестящей поверхностью;
- желудок со складчатой блестящей слизистой оболочкой, небольшим количеством слизи и пищевого содержимого в просвете;
- плевра гладкая, блестящая, свободной жидкости в грудной полости нет;
- тимус треугольной формы, беловатого цвета;
- легкие светло-розового цвета, воздушные.

В соответствие с проведенным тестом ОЭСР 423 препарат может быть отнесен к 5-й или не классифицируемой категории с LD50 равной или более 5000 мг/кг, что соответствует классу малоопасных веществ по ГОСТ 12.1.007-76.

Животные удовлетворительно переносили введение препарата, клинических признаков токсичности не наблюдалось. Масса тела животных увеличивалась в течение всего периода наблюдений во всех группах, прибавка массы тела может быть связана с увеличением объема опухолевых узлов у мышей (табл. 4, 5). При аутопсии в конце опыта специфических признаков токсического поражения внутренних органов не выявлено.



Таблица 4

Динамика средней массы тела мышей (г) при оценке противоопухолевой активности препарата в дозах 20 и 100 мг/кг

Группа	Показатель	Дата (сутки опыта)				
		Дата	10.07.18 (1)	16.07.18 (7)	23.07.18 (14)	30.07.18 (21)
Контроль-2 (N=10)	M	27,5	27,2	27,6	28,6	30,1
	m	0,5	0,5	0,5	0,7	0,8
20 мг/кг (N=10)	M	26,8	27,4	27,2	27,7	28,8
	m	0,5	0,6	0,6	0,8	0,9
100 мг/кг (N=10)	M	27,2	27,3	27,1	27,8	28,8
	m	0,4	0,6	0,6	0,6	0,8
Тамоксифен-1, 4 мг/кг (N=10)	Дата	27.06.2018 (1)	02.07.2018 (6)	09.07.2018 (13)	16.07.18 (20)	23.07.18 (27)
	M	27,7	26,5	27,3	27,5	28,2
	m	0,8	0,8	0,9	0,9	1,0

Таблица 5

Динамика средней массы тела мышей (г) при оценке противоопухолевой активности препарата в дозе 2 мг/кг

Группа	Показатель	Дата (сутки опыта)				
		Дата	18.09.18 (1)	24.09.18 (7)	01.10.18 (14)	08.10.18 (21)
Контроль-3 (N=10)	M	31,4	31,8	33,7	35,8	36,7
	m	0,9	1,1	1,2	1,4	1,5
Дата		21.08.18 (1)	27.07.18 (7)	03.09.18 (14)	10.09.18 (21)	17.09.18 (28)
2 мг/кг (N=9)	M	30,5	30,8	32,7	32,9	35,3
	m	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2
Тамоксифен-2, 4 мг/кг (N=9)	M	31,0	32,0	32,9	32,8	34,2
	m	1,1	1,3	1,2	1,3	1,4

Данные о динамике среднего объема опухолей, имевшихся к началу опыта в группах Контроль-1, препарат 20 мг/кг, препарат 100 мг/кг и Тамоксифен-1 приведены на фиг. 1, в табл. 6, а для групп Контроль-3, препарат 2 мг/кг и Тамоксифен-2 - на фиг. 2, в табл. 7.

Таблица 6

Динамика среднего объема опухолей (см<sup>3</sup>), имевшихся к началу опыта, при оценке противоопухолевой активности препарата в дозах 20 и 100 мг/кг

Группа	Показатель	09.07.18 (0)	16.07.18 (7)	23.07.18 (14)	30.07.18 (21)	06.08.18 (28)	% изменения от нсх
Контроль-2 (N=23)	M	0,08	0,13	0,28	0,43	0,61	663
	m	0,01	0,02	0,04	0,05	0,08	
20 мг/кг (N=22)	M	0,18	0,28	0,43	0,54	0,55	206
	m	0,04	0,06	0,09	0,14	0,14	
	ТРО, %	-125	-115	-54	-26	10	
100 мг/кг (N=22)	M	0,13	0,19	0,27	0,37	0,44	238
	m	0,03	0,04	0,06	0,06	0,06	
	ТРО, %	-63	-46	4	14	28	
Тамоксифен-1, 4 мг/кг # (N=29)	Дата	25.06.2018 (0)	02.07.2018 (7)	09.07.2018 (14)	16.07.18 (21)	23.07.18 (28)	-
	M	8 (-1)	8 (6)	8 (13)	8 (20)	8 (27)	
	m	0,23	0,26	0,3	0,47	0,58	
	ТРО, %	0,07	0,07	0,07	0,1	0,11	
		-188	-100	-7	-9	5	

M - среднее значение, m - ошибка средней арифметической, N - число опухолей на начало лечения и включенных в анализ. # - группа сравнения приведена из первой серии опытов.

Таблица 7

Динамика среднего объема опухолей (см<sup>3</sup>), имевшихся к началу опыта, при оценке противоопухолевой активности препарата в дозе 2 мг/кг

Группа	Показатель	17.09.18 (0)	24.09.18 (7)	01.10.18 (14)	08.10.18 (21)	15.10.18 (28)	% изменения от нсх
Контроль-3 (N=60)	M	0,38	0,5	0,7	0,85	0,97	155
	m	0,05	0,06	0,08	0,1	0,11	
Дата		20.08.18 (0)	27.08.18 (7)	03.09.18 (14)	10.09.18 (21)	17.09.18 (28)	-
2 мг/кг (N=48)	M	0,27	0,42	0,6	0,77	1,11	
	m	0,05	0,06	0,07	0,09	0,13	
	ТРО, %	29	16	14	9	-14	
Тамоксифен-2, 4 мг/кг (N=39)	M	0,29	0,46	0,65	0,75	1,27	338
	m	0,04	0,07	0,08	0,09	0,16	
	ТРО, %	24	8	7	12	-31	

В целом, можно сделать вывод об отсутствии у препарата в исследованном диапазоне доз (2, 20 и

100 мг/кг) и у препарата сравнения Тамоксифена в дозе 4 мг/кг (группы Тамоксифен-1, Тамоксифен-2) выраженного противоопухолевого эффекта на данной модели. Для препарата в дозах 20 и 100 мг/кг показатель ТРО к концу наблюдения на 28 сутки составил 10 и 28%, соответственно, по отношению к группе Контроль-2. Как следует из представленных данных (фиг. 1, табл. 6, фиг. 2, табл. 7), средние объемы опухолей у мышей групп препарата 2 мг/кг и Тамоксифен-2 были больше, чем в группе Контроль-2 в 3,4 и 3,6 раз, соответственно, на 0 сутки опыта. Поэтому сравнение абсолютных значений показателей объемов опухолей этих групп не представляется корректным, так как это могло повлиять на последующую динамику роста, поэтому более корректно оценивать относительные величины изменения этих параметров (табл. 11, табл. 12). Следует отметить, что при оценке параметра ТРО в группе Тамоксифен-2 торможение наблюдалось на 7-21 сутки, а концу опыта средний объем опухолей, имевшихся в начале лечения, превысил этот показатель в контрольной группе на 31%, что может быть связано с развитием резистентности опухолей к препарату сравнения по мере их роста.

При анализе частоты стабилизации опухолей и развития новых в течение периода наблюдения (табл. 8) следует отметить, что наблюдалась тенденция к меньшему объему новых опухолей, определенному в конце периода наблюдения, так в группе Контроль-2 этот показатель составил  $0,28 \pm 0,09 \text{ см}^3$ , а в группах препарат 20 мг/кг и препарат 100 мг/кг -  $0,19 \pm 0,04 \text{ см}^3$  и  $0,18 \pm 0,04 \text{ см}^3$ , что на 32 и 36% меньше контрольного значения, соответственно. Препарат в дозе 2 мг/кг не влиял ни на частоту стабилизации, ни на объем развивающихся новых опухолей.

Таблица 8

Частота стабилизаций опухолей, число и средний объем новых опухолей, развившихся к концу исследования, при оценке противоопухолевой активности препарата

Группа	Число опухолей на начало лечения и частота их стабилизаций		Абсолютное число новых опухолей	Средний объем новых опухолей к концу наблюдения, (см <sup>3</sup> )	
				M	m
Контроль-2	23	4%	22	M	0,28
				m	0,09
20 мг/кг	22	9%	22	M	0,19
				m	0,04
100 мг/кг	22	9%	19	M	0,18
				m	0,04
Тамоксифен-1, 4 мг/кг	29	10%	21	M	0,16
				m	0,05
Контроль-3	60	8%	25	M	0,23
				m	0,04
2 мг/кг	41	5%	30	M	0,33
				m	0,05
Тамоксифен-2, 4 мг/кг	39	3%	32	M	0,20
				m	0,05

% стабилизации заболевания - показатель аналогичный критерию RECIST, отражающий частоту опухолей, объем которых не увеличился более чем на 20% к концу наблюдения по отношению к началу лечения.

При анализе динамики среднего суммарного объема опухолей (фиг. 3, табл. 9, фиг. 4, табл. 10) получены аналогичные данные, препарат в дозах 20 и 100 мг/кг к 28 суткам оказал противоопухолевое действие по показателю ТРО, который составил 12% и 30 %, соответственно.

Таблица 9

Средний суммарный объем опухолей (см<sup>3</sup>) у мышей при оценке противоопухолевой активности препарата в дозах 20 и 100 мг/кг

Группа	Показатель	17.09.18	24.09.18	01.10.18	08.10.18	15.10.18	% изменения от нел.
		(0)	(7)	(14)	(21)	(28)	
Контроль-2 (N=10)	M	0,19	0,29	0,65	0,99	1,39	632
	m	0,05	0,07	0,15	0,21	0,32	
20 мг/кг (N=10)	M	0,41	0,62	0,94	1,18	1,22	198
	m	0,1	0,15	0,23	0,34	0,34	
	ТРО, %	-116	-114	-45	-19	12	
100 мг/кг (N=10)	M	0,28	0,41	0,59	0,81	0,97*	246
	m	0,07	0,13	0,21	0,28	0,29	
	ТРО, %	-47	-41	9	18	30	
Тамоксифен-1, 4 мг/кг # (N=10)	Дата	25.06.201	02.07.201	09.07.201	16.07.18	23.07.18	-
		8 (-1)	8 (6)	8 (13)	(20)	(27)	
	M	0,66	0,76	0,88	1,38	1,68	
	m	0,17	0,18	0,28	0,37	0,41	
	ТРО, %	-247	-162	-35	-39	-21	

Таблица 10

Средний суммарный объем опухолей (см<sup>3</sup>) у мышей при оценке противоопухолевой активности препарата в дозе 2 мг/кг

Группа	Показатель	17.09.18 (0)	24.09.18 (7)	01.10.18 (14)	08.10.18 (21)	15.10.18 (28)	% изменения от нск.
Контроль-3 (N=10)	M	2,26	3,02	4,17	5,07	5,80	157
	m	0,36	0,46	0,58	0,70	0,73	
Дата		20.08.18 (0)	27.07.18 (7)	03.09.18 (14)	10.09.18 (21)	17.09.18 (28)	-
2 мг/кг (N=9)	M	1,24	1,91	2,71	3,50 *	5,04	307
	m	0,20	0,25	0,32	0,35	0,50	
	ТРО, %	45	37	35	31	13	
Тамоксифен-2, 4 мг/кг # (N=9)	M	1,26	2,01	2,84	3,23 *	5,52	338
	m	0,22	0,33	0,49	0,55	1,05	
	ТРО, %	44	33	32	36	5	

При оценке относительного изменения суммарного объема опухолей у мышей установлено, что этот показатель в контрольных группах (Контроль-2, Контроль-3) изменяется линейно и постоянно увеличивается. В опытных группах, при введении препарата в дозах 20 и 100 мг/кг, этот показатель был статистически значимо меньше (фиг. 5, табл. 11), что свидетельствует о влиянии исследуемых препаратов на рост опухоли, хотя это не привело к уменьшению абсолютных значений объемов опухолей. При введении препарата в дозе 2 мг/кг этот показатель был выше контрольных значений, одна следует отметить, что и в группе Тамоксифен-2 этот показатель превышал значение в группе Контроль-3.

Таблица 11

Относительное изменение среднего суммарного объема опухолей к - 1 суткам (%) у мышей при оценке противоопухолевой активности препарата в дозах 20 и 100 мг/кг

Группа	Показатель	17.09.18 (0)	24.09.18 (7)	01.10.18 (14)	08.10.18 (21)	15.10.18 (28)
Контроль-2 (N=10)	M	0	61	274	467	684
	m	0	22	69	101	130
20 мг/кг (N=10)	M	0	55	145	209 **	227 ***
	m	0	9	28	46	49
100 мг/кг (N=10)	M	0	42	89 *	177 ***	269 ***
	m	0	20	29	43	54
Тамоксифен- 1, 4 мг/кг # (N=10)	Дата	25.06.2018 (-1)	02.07.2018 (6)	09.07.2018 (13)	16.07.18 (20)	23.07.18 (27)
	M	0	40	80 **	161 ***	246 ***
	m	0	18	41	44	73

\*, \*\*, \*\*\* - p<0,05, p<0,01, p<0,001, соответственно, по сравнению с контрольной группой.

Таблица 12

Относительное изменение среднего суммарного объема опухолей к - 1 суткам (%) у мышей при оценке противоопухолевой активности препарата в дозе 2 мг/кг.

Группа	Показатель	17.09.18 (0)	24.09.18 (7)	01.10.18 (14)	08.10.18 (21)	15.10.18 (28)
Контроль-3 (N=10)	M	0	34	88	131	175
	m	0	6	14	22	25
Дата		20.08.18 (0)	27.07.18 (7)	03.09.18 (14)	10.09.18 (21)	17.09.18 (28)
2 мг/кг (N=9)	M	0	59	131	210	347***
	m	0	7	20	38	53
Тамоксифен-2, 4 мг/кг # (N=9)	M	0	67	134	178	363***
	m	0	15	21	41	66

\*\*\* p<0,001, соответственно, по сравнению с контрольной группой.

По всем проанализированным показателям противоопухолевая активность на модели опухолей молочной железы у мышей FBV, трансгенных по HER-2/neu препарата не уступает препарату сравнения - тамоксифену.

Проведен анализ гормональных эффектов препарата в отношении матки тела, по сравнению веса тела этого органа без рогов в конце периода наблюдения (табл. 13).

Статистически значимых отличий этого показателя по отношению к контрольной группе у препарата в диапазоне доз от 2 до 100 мг/кг не выявлено.

Таблица 13

Вес тела матки и масса тела мышей с опухолями молочной железы при изучении противоопухолевой активности препарата

Группа	Вес тела матки (мг)	Фаза эстрального цикла (число мышей)	Масса тела (г)
Контроль-2	57±7	Э - 9	30,2±0,9
	31	Д - 1	28,7
	53±6	Все	30,1±0,8
Тамоксифен-2, 4 мг/кг	28±1	Э - 9	34,2±1,4
	-	Д - 0	-
	28±1	Все	34,2±1,4
2 мг/кг	53±3	Э - 4	35,5±2,5
	24±7	Д - 5	35,1±1,5
	37±6	Все	35,3±1,1
20 мг/кг	53±4	Э - 6	29,6±1,5
	45±13	Д - 4	27,6±0,2
	50±4	Все	28,8±0,9
100 мг/кг	56±5	Э - 8	28,9±1,0
	34±13	Д - 2	28,5±0,4
	52±5	Все	28,8±0,8

Эффективность препарата на модели множественных опухолей МЖ у мышей самок линии FBV/N трансгенных по HER-2/neu по показателю ТРО составила 10 и 28% для доз 20 и 100 мг/кг, соответственно. Эта активность выше эффекта препарата сравнения тамоксифеном (4 мг/кг), для которого показатель ТРО к концу периода наблюдения составил 5%.

Показано, что у препарата отсутствует утеротропная активность.

В соответствии с проведенным тестом ОЭСР 423 препарат может быть отнесен к 5-й или не классифицируемой категории с LD50 равной или более 5000 мг/кг, что соответствует классу малоопасных веществ по ГОСТ 12.1.007-76.

#### Промышленная применимость

На животных моделях с привитой человеческой опухолью трижды негативного рака молочной железы препарат показал более высокую активность, по сравнению с используемыми в клинической практике тамоксифеном и ингибитором ароматазы летрозолом.

В результате проведенных исследований установлены следующие рекомендации к применению:

моно- и адьювантная терапия раннего гормоноположительного рака молочной железы у женщин в постменопаузе;

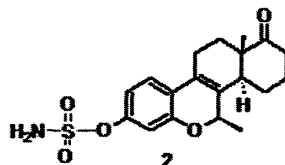
лечение трижды негативного рака молочной железы;

моно- и адьювантная терапия рака молочной железы у женщин в постменопаузе после 2-3 летнего применения тамоксифена;

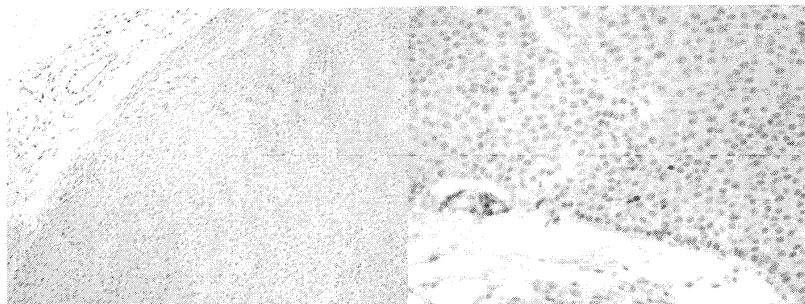
лечение распространённого рака молочной железы на поздних стадиях.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

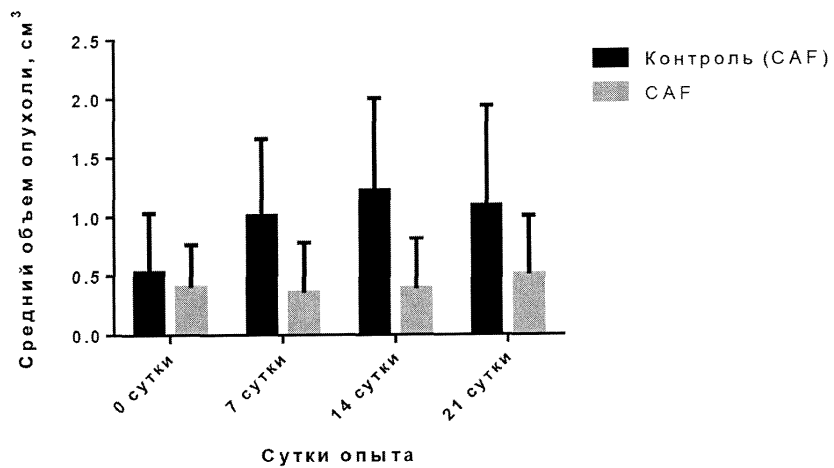
Применение 3-О-сульфамойокси-7β-метил-D-гомо-6-оксаэстра-1,3,5(10),8(9)-тетраен-17а-он формулы



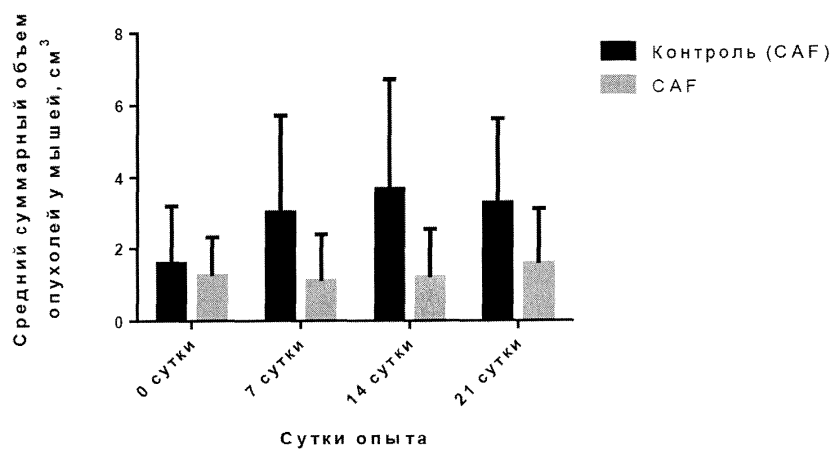
в качестве противоонкологического агента при моно- и адьювантной терапии рака молочной железы, включая трижды негативную форму.



Фиг. 1

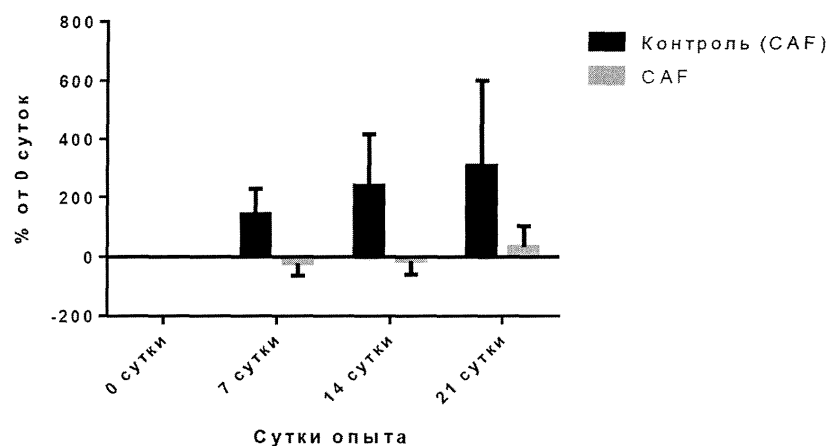


Фиг. 2



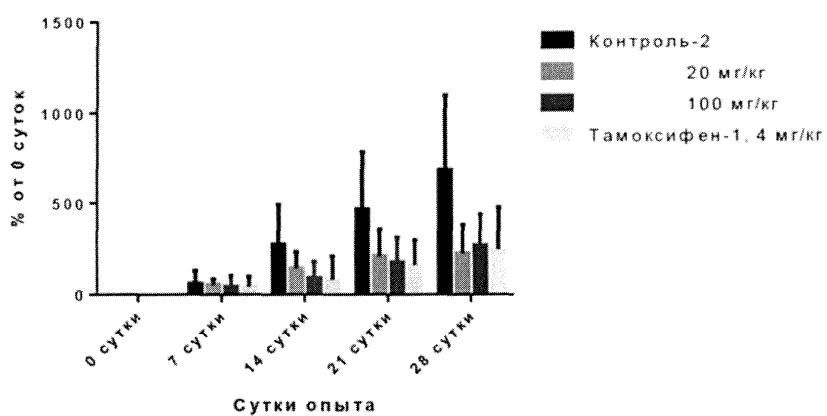
Фиг. 3

Относительное изменение среднего суммарного  
объема опухолей у мышей



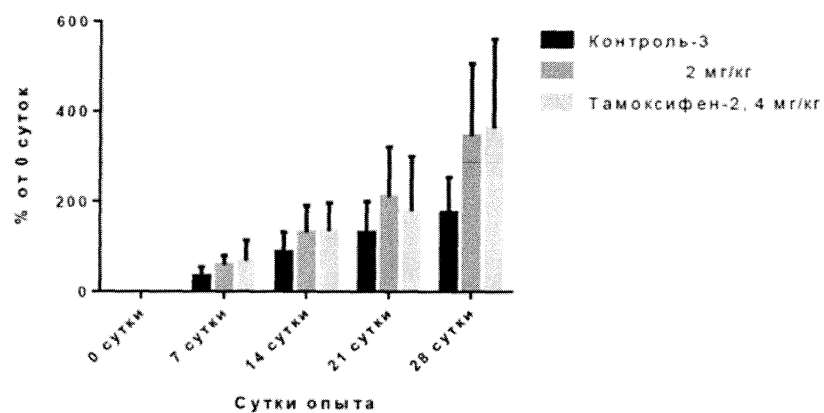
Фиг. 4

Относительное изменение среднего суммарного  
объема опухолей у мышей



Фиг. 5

Относительное изменение среднего суммарного  
объема опухолей у мышей



Фиг. 6

