

ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ ФОРМ МИТОМИЦИНА С В ЛЕЧЕНИИ КАНЦЕРОМАТОЗА БРЮШИНЫ

JUSTIFICATION OF IMMOBOLIZED FORM OF MITOMYCIN C USING IN THERAPY OF PERITONEUM CARCINOMATOSIS

Оксана Геннадьевна Фролова¹ - кандидат медицинских наук

Иван Николаевич Звягин²

Владимир Владимирович Хвостовой¹ - кандидат медицинских наук

Вячеслав Алексеевич Кузнецов³ - доктор химических наук

Светлана Ильинична Провоторова³ - кандидат фармацевтических наук

Петр Олегович Куцев³

Мария Сергеевна Лавлинская³

Oksana Gennadevna Frolova¹ - Candidate of Medical Sciences

Ivan Nikolaevich Zviagin²

Vladimir Vladimirovich Khvostovoi¹ - Candidate of Medical Sciences

Viacheslav Alekseevich Kuznetsov³ - Doctor of Chemical Sciences

Svetlana Ilinichna Provotorova³ - Candidate of Pharmaceutical Sciences

Petr Olegovich Kushchev³

Mariia Sergeevna Lavlinskaia³

Резюме

В ходе биофармацевтического исследования *in vitro* методом диализа через полупроницаемую мембрану определена скорость высвобождения митомыцина С, иммобилизованного в «Мезогель». Объектами исследования являлись образцы разработанных модельных составов «Линтекс-Мезогель» с митомыцином С и вспомогательными веществами (ПЭГ-400(полиэтиленгликоль), Твин-80 (полиоксиэтилен(20) сорбитан моноолеат). Установлено, что оптимальной средой для высвобождения исследуемого препарата является буферный раствор со значением pH 7.2 и концентрация ПЭГ – 1 %.

Ключевые слова: митомыцин С, иммобилизованные формы, «Мезогель», внутрибрюшное введение, скорость высвобождения препарата.

Summary

The rate of mitomycin C release immobilized on «Mezogel» by dialysis through a semipermeable membrane is investigated by biopharmaceutical researching *in vitro*. The objects of the study were samples of the developed Lintex-Mesogel model compositions with mitomycin C and auxiliary substances (PEG-400 (polyethylene glycol), Tween-80 (polyoxyethylene (20) sorbitan mono-oleate). It is found that the optimum media for release of study meds is a buffer solution with pH 7.2 and PEG concentration equaled 1%.

Key words: mitomycin C, immobilized form, «Mezogel», intraperitoneal insertion, rate of meds release.

Введение

Лечение пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта и органов малого таза по-прежнему остается актуальной задачей в практической онкологии. Комбинированный способ остается ведущим в лечении опухолей данной локализации, что позволяет добиться улучшения показателей выживаемости. Многофакторность в развитии онкопатологии, поздняя обращаемость пациентов за медицинской помощью - определяют факт первичного выявления опухолей органов брюшной полости и малого таза на поздних стадиях заболевания — с наличием отдаленных и региональных метастазов, диссеминацией опухолевых клеток по брюшине и развитием перитонеального канцероматоза.

Перитонеальный канцероматоз является второй по частоте причиной смерти пациентов с раком толстой кишки после метастазирования в печень; он отмечается у 10% пациентов с впервые диагностированным заболеванием и у 25% пациентов с рецидивом. Помимо рака толстой кишки самой распространенной причиной перитонеального канцероматоза является рак яичника: более чем в 60% случаев заболевание диагностируется на поздних стадиях, когда имеется вовлечение органов брюшной полости или ретроперитонеальных лимфоузлов [3, 6]. Бессимптомное течение заболевания на ранних стадиях является причиной того, что более чем в 60% случаев рака яичников определяется в далеко зашедших стадиях, когда уже имеет место поражение

брюшины за пределами малого таза с вовлечением органов брюшной полости, асцит, реже – гематогенные метастазы в легких, печени, костях, опухолевый плеврит. В этом случае, летальность в первый год с момента постановки диагноза составляет 33%, а общая пятилетняя выживаемость – менее 30% [1]. У 90% пациенток с раком яичников развивается перитонеальный канцероматоз.

Любое оперативное лечение, как радикальное, так и паллиативное, сопровождается возникновением спаек брюшной полости и полости малого таза, а при наличии канцероматоза брюшины формированием спаечно-опухолевых конгломератов. Таким образом, при хирургическом лечении пациентов онкологи сталкиваются с решением вопроса о необходимости предупреждения дальнейшего имплантационного метастазирования, уменьшения выраженности спаечного процесса брюшной полости и возможности раннего начала лекарственной терапии путем внутрибрюшного введения препаратов.

Возможным решением данной проблемы может быть использование противоспаечного препарата «Мезогель» на

УДК:616.381-006:615.277.3

URL: <http://innova-journal.ru/issues/2016-4-5/files/04.pdf>

DOI: <https://doi.org/10.21626/innova/2016.4/04>

Для корреспонденции: О.Г. Фролова nixonfrolo@mail.ru

¹ ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России

² ОБУЗ «Курский областной клинический онкологический диспансер»

³ Воронежский государственный университет

основе карбоксиметилцеллюлозы (производство ООО «Линтекс», Санкт-Петербург) и иммобилизованных на нем цитостатиков.

Карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) – полисахарид, производное биополимера целлюлозы (целлюлозогликолевая кислота, простой эфир целлюлозы и гликолевой кислоты) $[C_6H_7O_2(OH)_3-x(OCH_2COOH)_x]_n$, где $x = 0,08-1,5$, слабая кислота ($K_{5,25 \times 10^{-7}} - 5,0 \times 10^{-5}$ при $x = 0,1-0,8$), относящийся к биodeградируемым полимерам [2,4]. Применение имеет натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-карбоксиметилцеллюлоза) – со средней молекулярной массой 3×10^4 . Хорошо совмещается в водных растворах с различными водорастворимыми веществами, благодаря наличию в своей структуре гидрофильных, гидроксильных и карбоксильных групп, которые обеспечивают ее хорошие комплексообразующие свойства. Водные растворы КМЦ характеризуются высокими значениями вязкости. При нагревании водных растворов КМЦ растворимость снижается. Верхний предел стабильности водных растворов составляет $50-60^\circ C$ [2,4]. Это свойство объясняется разрушением полимергидратной оболочки, вследствие чего полимер выделяется в виде осадка. Отсутствие токсичности КМЦ и способность к образованию вязких растворов обуславливает возможность ее применения в качестве носителя лекарственных веществ, в частности противоопухолевых цитостатиков.

Целью исследования являлись биофармацевтические исследования в разработке противоспаечного «Линтекс-Мезогеля» с митомицином С для профилактики и лечения канцероматоза брюшины, спаек брюшной полости у пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта и раком яичников.

Методы исследования

Объектами исследования являлись образцы разработанных модельных составов «Линтекс-Мезогеля» с митомицином С и вспомогательными веществами (ПЭГ-400(полиэтиленгликоль), Твин-80 (полиоксиэтилен(20) сорбитан моноолеат). Биофармацевтические исследования, отличающиеся дешевизной и малой затратой времени в сравнении с опытами *in vivo*, проводили методом диализа через полупроницаемую мембрану.

Техническое выполнение эксперимента *in vitro* определялось главным образом свойствами входящих компонентов модельного состава. Суть метода заключается в том, что исследуемый модельный состав отделен от водной среды полупроницаемой мембраной. Моделью полупроницаемой мембраны служил целлофан марки «Купрофан» с толщиной 0.09 мм, а в качестве акцепторных сред использовали среды с pH брюшной полости в зависимости от патологического процесса (вода очищенная pH 5.8 и буферный раствор pH 7.2). Аппаратурное оформление исследования максимально приближает условия опыта к условиям живого организма – это двухкамерная установка, разделенная мембраной. В одной из камер находится модельный образец, в другой – среда для диализа. 1.0 г образца (точная навеска) наносили на целлофановую пленку, которую затем неподвижно укрепляли на конце диализной трубки резинкой-обхваткой.

Эксперимент проводили в трехкратном повторении для одного модельного образца следующего состава:

№ 1 – «Линтекс-Мезогель» с митомицином С

№ 2 – «Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 5 % Твин-80;

№ 3 – «Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 1 % Твин-80;

№ 4 – «Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 5 % ПЭГ-400;

№ 5 – «Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 1 % ПЭГ-400.

Время проведения эксперимента – 30 дней, время отбора проб – через 1 сутки после начала испытания. После отбора среду растворения восполняли в соответствующем объеме. Пробы разбавляли соответствующей средой растворения (вода очищенная pH 5.8 или буферный раствор pH 6.8), после чего фильтровали через бумажный фильтр типа «белая лента», отбрасывая первую порцию фильтрата. Для количественного определения 5-фторурацила в диализате использовали метод УФ-спектрофотометрии. Данные УФ-спектроскопии получали на приборе «Shimadzu» (Япония) в кварцевых кюветках толщиной 1 см в диапазоне 190–300 нм. Параметры регистрации: ширина щели 05 мм, режим slow, интервал регистрации 05 нм.

ИК-спектры регистрировали на приборе Bruker Vertex 70 с приставкой DIKE Miracle с Фурье преобразователем методом НПВО. Условия сканирования: 64 сканирования, разрешение 4 см⁻¹, в интервале 4000–550 см⁻¹. Поскольку УФ-спектроскопия является эталонным методом и последующих расчетов необходим стандартный образец. В качестве него использовали 1 % водного раствора исследуемого препарата и рассчитывали по формуле:

где E_{cp} – удельный показатель поглощения вещества; D – оптическая плотность испытуемого раствора; C – концентрация вещества; A – разведение; V – общий объем диализата, мл; E – удельный показатель поглощения вещества; q – объем диализата, взятый для анализа; p – доза лекарственного вещества, мг.

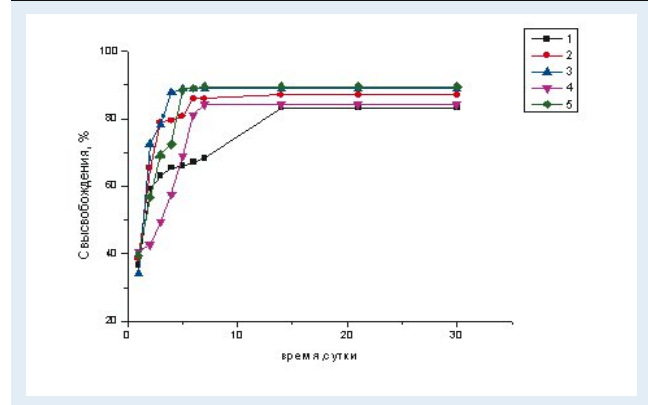
Концентрация в диализате определяли по формуле:

где D – измеренная оптическая плотность в пробе диализата; A – разведение, мл; V – общий объем диализата, мл; E – удельный показатель поглощения вещества; q – объем диализата, взятый для анализа; p – доза лекарственного вещества, мг.

Результаты исследования

Анализ полученных результатов эксперимента, представленный на рис. 1, 2, дает основание считать, что использование митомицина С иммобилизованного в структуру противоспаечного «Линтекс-Мезогеля» с введением или без вспомогательных веществ дает возможность разработать оптимальный состав для эффективной лекарственной формы с пролонгированным фармакологическим эффектом, что закономерно наблюдается по скорости высвобождения митомицина С в диализную среду. Введение в состав мезогеля с митомицином С таких вспомогательных веществ, как твин-80 (полиоксиэтилен(20) сорбитан моноолеат с молярной массой 1226 г/моль) и ПЭГ 400 (полиэтиленгликоль) в концентрации 1 % и 5 % увеличивает концентрацию и скорость высвобождения митомицина С в буферном растворе. При этом следует отметить, что высвобождение исследуемого препарата из комплекса с КМЦ в водном растворе в присутствии вспомогательных веществ (ПЭГ,

Рис. 1. Зависимость С высвобождения от времени митомицина С из комплекса с КМЦ в водном растворе: 1-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С; 2-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 5% твин-80; 3-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 1% твин-80; 4-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 5% ПЭГ-400; 5-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 1% ПЭГ-400.



Твин-80) имеет более высокое значение. Начиная с 8-х суток эксперимента концентрация и скорость высвобождения митомицина С остаются постоянными в сериях с использованием 1% Твин-80 и 1% ПЭГ -400 до 30-х суток эксперимента. Важным результатом является и значение pH акцепторной среды, дающее основание считать, что при изменении pH в брюшной полости (при наличии асцита, перитонита) идет более медленное высвобождение митомицина С.

Результаты ИК-спектроскопии [5] показали, что митомицина С содержит полосы поглощения в области 1640 см⁻¹, характеризующие валентные колебания амидной карбонильной группы –СООН₂; 1670 см⁻¹ - карбонильная группа дикетонного ароматического фрагмента; 3400 см⁻¹ - NH₂

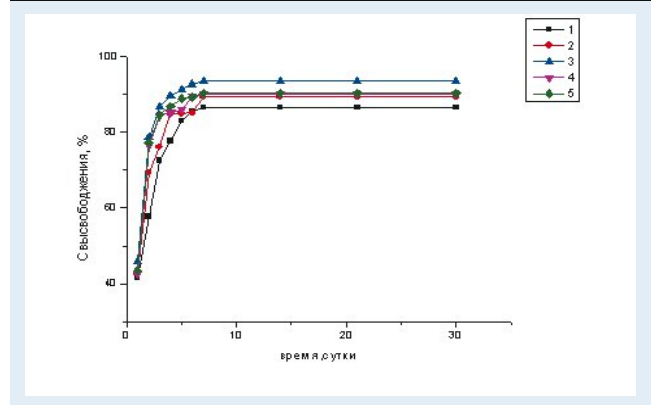
Литература

- 1.Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. –М., 2017. – 250 с.
2. Роговин, З. А. Химия целлюлозы / З. А. Рогозин. – М., 1972. – 519 с.
3. Степанов И.В., Падеров Ю.М., Афанасьев С.Г. Перитониаальный канцероматоз // Сибирский онкологический журнал. – 2014. - №5. – С.45-53.
4. Сутягин В.М., Ляпков А.А. Учебное пособие. Физико-химические методы исследования полимеров. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2008. – 130 с.
5. Сычов М. Д., Киселев И. Л., Дронов С. П., Хвостовой В. В. и др. // Вестник клинической и экспериментальной хирургии.- 2015.- № 1.- С. 82–86.
6. Шпенкова А.А.Рак яичников: эффективность лечения в зависимости от градаций карциноматоза, или нерешенные вопросы стадирования // Вестник Новгородского государственного университета.- 2010.- № 59. - С.116-120.
- 7.Урманчеева, А.Ф. Опухоли яичника (клиника, диагностика и лечение) / А.Ф. Урманчеева, Г.Ф. Кутушева, Е.А. Ульрих. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2012. – 68 с.

References

- 1.Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2015 godu (zabolevaemost' i smertnost') / pod red. A.D. Kaprina, V.V. Starinskogo, G.V. Petrovoj. –М., 2017. – 250 s.
2. Rogovin, Z. A. Himiya celluljozy / Z. A. Rogozin. – М., 1972. – 519 s.
3. Stepanov I.V., Paderov Ju.M., Afanas'ev S.G. Peritonial'nyj kanceromatoz // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. – 2014. - №5. – S.45-53.
4. Sutjagin V.M., Ljapkov A.A. Uchebnoe posobie. Fiziko-himicheskie metody issledovanija polimerov. – Tomsk: Izd-vo Tomskogo politehnicheskogo universiteta, 2008. – 130 s.
5. Sychov M. D., Kiselev I. L., Dronov S. P., Hvastovoj V. V. i dr. // Vestnik klinicheskoy i jeksperimental'noj hirurgii.- 2015.- № 1.- S. 82–86.
6. Shpenkova A.A.Rak jaichnikov: jeffektivnost' lechenija v zavisimosti ot gradacij karcinomatoza, ili nereshennye voprosy stadirovaniya // Vestnik Novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta.- 2010.- № 59. - S.116-120.
- 7.Urmancheeva, A.F. Opuholi jaichnika (klinika, diagnostika i lechenie) / A.F. Urmancheeva, G.F. Kutusheva, E.A. Ul'rih. – SPb.: Izd-vo N-L, 2012. – 68 s.

Рис. 2. Зависимость С высвобождения от времени митомицина С из комплекса с КМЦ в буферном растворе: 1-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С; 2-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 5% твин-80; 3-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 1% ПЭГ-400; 4-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 5% ПЭГ-400; 5-«Линтекс-Мезогель» с митомицином С и 1% твин-80.



группа ароматического кольца. В ИК-спектре наблюдается смещение полос поглощения, характерных для митомицина С в физ. растворе в коротковолновую область на 5-10 см⁻¹, что свидетельствует об образовании комплекса митомицина С с сегментами полимерной матрицы карбоксиметилцеллюлозы. Отсутствие полос поглощения, не характерных для исходного цитостатика и «Мезогеля», свидетельствует об образовании комплекса без участия химического взаимодействия.

Выводы

При проведении биофармацевтических исследований методом диализа через полупроницаемую мембрану было изучено влияние акцепторных сред и концентрации вспомогательных веществ на высвобождение митомицина С из