

THE UNIVERSITY OF TEXAS  
MD ANDERSON  
CANCER CENTER

October 4, 1996

Robert A. Newman, Ph.D.  
Chief, Section of Pharmacology  
D.B. Lane Cancer Research Professor  
Phone: (713) 792-2950  
FAX: (713) 792-6759

Dr. Leo Boulgak  
Fersman Museum  
Leninski pr.18, Building 2  
Moscow, Russia 117071

Dear Dr. Boulgak:

I am happy to review for you as well as provide you with an update on the studies which we have conducted on your interesting compound, Astromelanin. Astromelanin appears to us to be a unique biopolymer with interesting properties certainly deserving further study.

**Analysis:** As you can see in the attached ion trace, we have performed an analysis of Astromelanin using a mass spectrometer. The data clearly indicate the polymer nature of the material with an average mass weight centered around 790 mass units. I have also attached the specific conditions (that is, instrument parameters) under which these analyses were performed.

**Cytotoxicity:** As we have previously discussed, Astromelanin is an active cytotoxic compound with interesting activity against human melanoma, breast, ovarian and colon tumor cell lines (studies performed in our laboratories here at M. D. Anderson Cancer Center). These studies consisted of incubating the cells for 72 hr with varying concentrations of Astromelanin prior to analyses of cell growth using the "MTT" assay. Although the concentrations of Astromelanin which inhibit cell growth of human cancer cells in culture are much higher than that of some of our more active anticancer drugs currently in use in the clinic, we have found that when Astromelanin is left in contact with cells over prolonged periods of time (for example up to 9 days) then the cytotoxicity resembles that achieved by standard anticancer compounds. This observation may in fact be providing us with a clue as to the potential mechanism of action of this compound and how it might be best used in the clinic. The data suggest that this compounds should be used at effective doses over a prolonged period of time perhaps as an infusion rather than single bolus doses separated by days or weeks.



Dr. Daniel Von Hoff, who is Head of the Institute for Drug Development, Cancer Therapy and Research Center in San Antonio, TX has also evaluated the cytotoxicity of Astromelanin for me at my request. He has found that against human HS578T breast cancer cells, Astromelanin produced complete inhibition of cell growth at concentrations of drug of 20 ug/ml and higher when cells were left in contact with drug for 6 days. Lower concentrations were not cytotoxic.

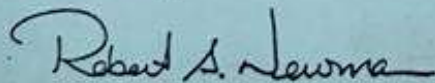
**Toxicity/Antitumor activity:** Our preliminary toxicology studies with, Astromelanin in mice have shown this compound to be relatively free from any major potential to injure the mice even when used on a daily basis for up to 7 days. Based on this information we have decided to proceed with several studies using mice with either hematologic tumors (leukemia) or solid tumors (Madison lung carcinoma). These studies are currently in progress.

**Conclusion:** This melanin biopolymer material has definite cytotoxicity against human cancer cells growing in culture and is therefore of interest. The preliminary toxicity studies indicate that the drug may also be a good candidate for further antitumor studies in mice and, in fact, these studies are currently underway.

In order for this material to make any further progress as a potential antitumor compound to be used one day in the clinic, much greater quantities of material are required and, of course, further preclinical studies are required. In addition, tests must be done to indicate that the same product is being produced each time (e.g. elemental analyses, mass spectrometry tests showing molecular weight distribution, etc.).

We continue to be interested in the development of this material. Please let us know if you are successful in obtaining funding to produce greater quantities of Astromelanin. We, in turn, will keep you informed of the studies we currently have underway with this interesting compound.

Sincerely,



Robert A. Newman, Ph.D.  
Professor of Medicine

МД АНДЕРСОН

ЦЕНТР РАКА

Роберт А. Ньюман, доктор философии.

Заведующий отделением фармакологии ДМ Лейна Профессор исследования рака

4 октября 1996 г.

Доктору Лео Булгак

Музей Ферсмана

Ленинский пр. 18. Корпус 2

Москва, Россия 117071

Уважаемый Доктор Булгак;

Я счастлив сделать для Вас обзор, а также предоставить Вам обновленную информацию об исследованиях, которые мы провели с вашим интересным соединением, «АстроМеланином». «АстроМеланин» представляется нам уникальным биополимером с интересными свойствами и безусловно заслуживает дальнейшего изучения.

Анализ: Как Вы можете видеть на прилагаемом ионном отпечатке, мы провели анализ «АстроМеланина» с помощью масс-спектрометра. Данные четко указывают на полимерную природу материала со средней массой около 790 единиц. Я также приложил конкретные условия (то есть параметры прибора), при которых проводился этот анализ.

Цитотоксичность: как мы уже обсуждали ранее, «АстроМеланин» является активным цитотоксическим соединением с интересной активностью в отношении линий опухолевых клеток меланомы человека, груди, яичников и толстой кишки (исследования, проведенные в наших лабораториях онкологического центра им. М. Д. Андерсона). Эти исследования заключались в инкубации клеток в течение 72 часов с различными концентрациями «АстроМеланина» перед анализом роста клеток с использованием «МТТ-анализа». Хотя концентрации «АстроМеланина», которые ингибируют рост раковых клеток человека в культуре, намного выше, чем некоторые из наших более активных противоопухолевых препаратов, которые в настоящее время используются в клинике, мы обнаружили, что, когда «АстроМеланин» остается в контакте с клетками в течение продолжительных периодов времени (например, до 9 дней), цитотоксичность аналогична той, которая достигается стандартными противораковыми соединениями. Это наблюдение, на самом деле, может дать нам ключ к разгадке потенциального механизма действия этого соединения и того, как его лучше всего использовать в клинике. Данные предполагают, что эти соединения следует использовать в эффективных дозах в течение длительного периода времени, возможно, в виде инфузии, а не однократных болюсных доз, разделенных днями или неделями.

Д-р Даниэль фон Хофф, глава Института разработки лекарств, лечения рака и исследовательского центра в Сан-Антонио, штат Техас, также по моей просьбе оценил цитотоксичность «АстроМеланина». Он обнаружил, что «АстроМеланин» против клеток рака груди человека HS578T вызывал полное ингибирование роста клеток при концентрациях лекарственного средства 20 мкг/мл и выше, когда клетки оставляли в контакте с лекарством в течение 6 дней. Более низкие концентрации не были цитотоксичными.

Токсичность/противоопухолевая активность: наши предварительные токсикологические исследования с «АстроМеланином» на мышах показали, что это соединение относительно свободно от какого-либо серьезного потенциального повреждения мышей даже при ежедневном использовании в течение до 7 дней. Основываясь на этой информации, мы решили продолжить несколько исследований с использованием мышей с гематологическими опухолями (лейкемия) или солидными опухолями (карцинома легких Мэдисона). Эти исследования в настоящее время продолжаются.

Заключение: этот биополимерный материал меланина обладает определенной цитотоксичностью в отношении раковых клеток человека, растущих в культуре, и поэтому представляет интерес. Предварительные исследования токсичности показывают, что препарат также может быть хорошим кандидатом для дальнейших противоопухолевых исследований на мышах, и, фактически, эти исследования в настоящее время уже в процессе.

Для того чтобы этот материал развивался в качестве потенциального противоопухолевого соединения, которое может однажды использоваться в клинике, требуются гораздо большие количества материала и, конечно же, требуются дальнейшие доклинические исследования. Кроме того, необходимо проводить тесты, чтобы указать, что каждый раз производится один и тот же продукт (например, элементный анализ, масс-спектрометрические тесты, показывающие распределение молекулярной массы и т. Д.).

Мы продолжаем интересоваться развитием этого материала. Сообщите нам, если Вам удастся получить финансирование для производства большего количества «АстроМеланина». Мы, в свою очередь, будем держать Вас в курсе исследований, которые в настоящее время ведутся с этим интересным соединением.

С уважением,

Роберт А. Ньюман, доктор философии. Профессор медицины