



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42679 (13) C2

(51) 7 A61K31/505, A61K31/70,
C07D239/54МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ІНГІБІТОР УРАЦИЛ РЕДУКТАЗИ, ЩО МІСТИТЬ 5-ЕТИНІЛУРАЦИЛ, ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ПРЕПАРАТ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНО ПРИЙНЯТНА КОМПОЗИЦІЯ НА ЙОГО ОСНОВІ І СПОСІБ ПРИГОТУВАННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ 5-ЕТИНІЛУРАЦИЛУ

(21) 93101215

(22) 25.09.1991

(24) 15.11.2001

(31) 9020930.5

(32) 26.09.1990

(33) GB

(86) PCT/GB91/01650, 25.09.1991

(46) 15.11.2001, Бюл. № 10, 2001 р.

(72) Томас Спектор, US, Девід Джон Тімоті Портер,
US, Саад Георг Рахім, GB

(73) ДЗЕ ВЕЛЛКАМ ФАУНДЕЙШН ЛІМІТЕД, GB

(56) EP, 0272065, 22.06.1988, кл. C07H19/06.

US, 4719214, 12.01.1988, кл. A61K31/505.

US, 4863927, 05.09.1989, кл. A61K31/505.

EP, 0356166, 28.02.1990, кл. C07H19/073.

EP, 0371139, 06.06.1990, кл. C07D239/55.

EP, 0409575, 23.01.1991, кл. C07H19/073.

P.J. Barr, A.S. Jones, R.T. Walker, NUCLEIC ACIDS
RESEARCH, vol. 3, no. 10, 1976, 2845-2849.Claude Desgranges et al., CANCER RESEARCH,
vol. 46, 1986, 1094-1101(57) 1. Применение 5-этинилурацила в качестве
ингибитора урацил редуктазы в химиотерапии
рака.2. Фармацевтический препарат, **отличающийся**
тем, что он содержит 5-этинилурацил вместе с, по
крайней мере, одним фармацевтически приемле-
мым носителем.3. Препарат по п. 2, **отличающийся** тем, что его
изготавливают в форме единицы дозирования.4. Препарат по п. 3, **отличающийся** тем, что каж-
дая единица дозирования содержит от 1 до 200 мг
5-этинилурацила.5. Препарат по п. 4, **отличающийся** тем, что каж-
дая единица дозирования содержит от 2 до 50 мг
5-этинилурацила.6. Препарат по любому из пп. 2-5, **отличающийся**
тем, что приспособленный для орального вве-
дения.7. Препарат по п. 6, **отличающийся** тем, что вы-
полненный в виде таблетки, капсулы или облатки.8. Препарат по любому из пп. 2-7, **отличающийся**
тем, что он дополнительно содержит 5-флуоро-
урацил или его предшествующее вещество.9. Препарат по п. 8, **отличающийся** тем, что он
содержит от 5 до 3000 мг 5-флуороурацила или
его предшествующее вещество.10. Фармацевтически приемлемая композиция, **от-
личающаяся** тем, что она содержит в качестве
отдельных или смешанных компонентов 5-этинил-
урацил или 5-флуороурацил или его предшест-
вующее вещество.11. Композиция по п. 10, **отличающаяся** тем, что
соотношения 5-этинилурацила к 5-флуороурацилу
или его предшествующему веществу колеблется в
пределах от 1:0,01 до 1:100 по весу.12. Способ приготовления фармацевтического
препарата 5-этинилурацила, **отличающийся** тем,
что он содержит приготовление 5-этинилурацила
обычным способом и смешивание с фармацевти-
чески приемлемым носителем или инертным на-
полнителем.13. Способ по п. 12, **отличающийся** тем, что до-
полнительно содержат примесь 5-флуороурацила
или его предшествующее вещество.

Данное изобретение касается определенных
инактиваторов фермента, которые применяются в
медицине, преимущественно в химиотерапии ра-
ка, особенно в сочетании с антиметаболическими
antineoplasticкими агентами, такими как 5-
фторурацил (5-FU).

5-фторурацил использовался в химиотерапии
рака с 1957 г. К чувствительным к химиотерапии
опухолям относятся: рак грудной железы, желу-

дочно-кишечные злокачественные опухоли, рак го-
ловы и шеи; 5-фторурацил также применяют для
повышения чувствительности к радиации, 5-фтор-
урацил быстро включается в метаболизм в печени
(время полу-жизни - примерно от 8 до 20 минут)
при участии фермента дигидропиримидиндегидро-
геназы (урацил-редуктазы). Сообщалось (Cancer
Research, 46, 1094, 1986), что 5-/2-бромвинил/-
урацил (БВУ) является ингибитором дигидротими-

(19) UA (11) 42679 (13) C2

диндегидрогеназы, которая и тормозит метаболизм 5-фторурацила и увеличивает его антиопухолевую активность. Сообщалось также, что 5-/2-бромвинил-/2'-дезоксисуридин (который *in vivo* превращается в БВУ) увеличивает антиопухолевую активность 5-фторурацила в БВУ, увеличивает антиопухолевую активность 5-фторурацила и 5-дезоксидефторуридина - предшественника 5-фторурацила (Biochemical Pharmacology, 38, 2885, 1989).

К сожалению, БВУ токсичен для людей.

Сейчас обнаружено, что 5-этинилурацил является инактиватором урацил-редуктазы; он увеличивает уровень и время полу-жизни 5-фторурацила в плазме и повышает активность 5-фторурацила. Он также уменьшает обычно наблюдаемые колебания уровня 5-фторурацила в плазме разных пациентов.

Соответственно - первый аспект - в данном изобретении состоит в том, что предлагается применять 5-этинилурацил для использования в медицине, особенно в химиотерапии рака. 5-фторурацил или его предшественник вообще будет применяться вместе с инактиватором урацил-редуктазы.

Следующим аспектом настоящего изобретения являются указанное выше производное урацила для производства лечебных препаратов, использующихся в химиотерапии рака. Лечебные препараты могут также применяться для защиты от токсичности 5-фторурацила, и, совместно с 5-фторурацилом или его предшественником, для лечения псориаза, ревматоидного артрита или папилломной вирусной инфекции человека.

Еще один аспект - в настоящем изобретении предлагается сочетание 5-этинилурацила с 5-фторурацилом или его предшественником.

Предшественники 5-фторурацила (5-ФУ) - это соединения, которые в процессе метаболизма *in vivo* превращаются в 5-фторурацил, к ним относятся: 5-фторуридин, 5-фтор-2-дезоксисуридин, 5-фтор-2-дезоксидефторуридин, 5'-дезоксидефторуридин, 1-/2-тетрагидрофуранил-/5-фторурацил и 1-С₁₋₈ алкилкарбомойл-5-фторурацил производные.

5-ФУ или его предшественник и 5-этинилурацил, согласно данному изобретению, могут применяться в сочетании при введении комбинации компонентов либо совместно, например, в едином фармакологическом препарате, или же, лучше, отдельно или последовательно в течение определенного периода времени, посредством чего и достигается желаемое терапевтическое действие комбинации. Лучше сначала вводить 5-этинилурацил, а затем - 5-ФУ или его предшественник, целесообразно вводить в период от 15 минут до 4-х дней, обычно - в период от 1 до 15 часов, главным образом - в период от 1 до 2-х часов со времени введения 1-ого препарата.

5-ФУ или его предшественник и 5-этинилурацил в терапевтических целях могут вводиться любым соответствующим способом, включая введение через рот, прямую кишку, нос и местное (в том числе - зашеечное и подъязычное), введение через влагалище и парентеральное (включая подкожное, внутримышечное, внутривенное и внутрикожное). Большим преимуществом является то,

что наилучший способ введения можно выбирать в зависимости от состояния и возраста пациента, природы инфекционного заболевания и других клинических факторов.

До настоящего времени было невозможно вводить 5-ФУ через рот, так как он разрушался урацил-редуктазой в желудочно-кишечном тракте. Однако сейчас показано, что если 5-этинилурацил вводится перед введением 5-ФУ (или его предшественника) через рот, в плазме наблюдается высокий и постоянный уровень 5-ФУ; это свидетельствует о том, что данное соединение не разрушается. Это является еще одним преимуществом настоящего изобретения. Предпочтительно вводить 5-ФУ в период от 15 минут до 4-х дней, обычно - в период от 1 до 15 часов, главным образом - в период от 1 до 2-х часов со времени введения 5-урацил производного.

Обычно в плазме пациентов наблюдается высокий уровень изменчивости концентраций 5-ФУ в результате приема определенной дозы 5-ФУ, этот уровень может быть обусловлен скоростями вывода 5-ФУ, различающимися у разных пациентов. Кроме того, у каждого пациента могут наблюдаться суточные колебания. Показано, что применение 5-замещенного производного урацила согласно данному изобретению значительно снижает такую изменчивость у разных пациентов (см. Эксперимент 3).

Вообще, требуемые дозы 5-ФУ или его предшественника находятся в пределах от 0,1 до 1000 мг на килограмм веса пациента в день, предпочтительно - от 0,1 до 200 мг на килограмм веса в день. Хотя при введении самого 5-ФУ предпочтительны дозы в пределах от 0,1 до 50 мг на килограмм веса пациента в день, предшественники 5-ФУ могут применяться в более высоких дозах. Дозы 5-ФУ или его предшественника могут применяться в виде разовой дозы, например содержащей от 5 до 3000 мг, лучше - от 20 до 1000 мг активного компонента на разовую дозу.

Проведенные с 5-ФУ эксперименты дают возможность полагать, что необходимо вводить такую дозу, при которой пик концентрации активного соединения в плазме составит примерно от 0,01 до 1,5 мкг/мл.

5-этинилурацил можно вводить в дозах в пределах от 0,01 до 50 мг на килограмм веса пациента в день, лучше - от 0,01 до 10 мг/кг. В зависимости от применяемого производного предпочтительна доза в пределах от 0,01 до 0,4 мг на килограмм веса тела пациента в день. Иной предпочтительный режим введения - раз в неделю от 0,5 до 10 мг/кг.

Лучше, если необходимая доза изготовлена как одна, две или более меньших доз, вводимых через определенные интервалы в течение дня. Такие небольшие дозы могут вводиться в виде разовой дозы, например содержащей от 1 до 200 мг, желательно - от 2 до 100 мг, предпочтительно от 2 до 50 мг производного 5-урацида.

Инактиваторы урацил-редуктазы в 5-ФУ обычно применяются в соответствующем соотношении для того, чтобы значительно снизить имеющийся у пациента уровень урацил-редуктазы. Такое соотношение, основанное на отношении весов инактиватора урацил-редуктазы и 5-ФУ, обычно берется

в пределах от 1:0,01 до 1:100, предпочтительно в пределах от 1:0,1 до 1:50, еще лучше - в пределах от 1:1 до 1:10.

5-ФУ или его предшественник и производное 5-урацила желательно вводить в виде фармацевтических препаратов - либо в виде единичного фармацевтического препарата, содержащего оба компонента, либо - по отдельности, когда каждый препарат содержит один из компонентов данной комбинации. 5-этинилурацил усиливает действие 5-ФУ, что дает возможность применять низкие дозы 5-ФУ.

Таким образом, данное изобретение включает также фармацевтически приемлемую композицию, которая содержит в качестве отдельных или смешанных компонентов 5-этинилурацил или 5-флуороурацил или его предшествующее вещество.

Кроме того, соотношения 5-этинилурацила к 5-флуороурацилу или его предшествующему веществу колеблется в пределах от 1:0,01 до 1:100 по весу.

Еще одним аспектом данного изобретения является способ приготовления фармацевтического препарата 5-этинилурацила, который включает приготовление 5-этинилурацила обычным способом и смешивание с фармацевтически приемлемым носителем или инертным наполнителем.

Также, в соответствии с изобретением, способ может дополнительно содержать примесь 5-флуороурацила или его предшествующее вещество.

Каждый носитель должен быть фармацевтически приемлемым в том смысле, что он должен быть совместим с другими компонентами препарата и не вредным для пациента. Препараты такого состава приспособлены для введения через рот, прямую кишку, нос и местного введения (включая зашеечное и подъязычное), введение через влагалище и парентеральное (в том числе - подкожное, внутримышечное, внутривенное и внутрикожное). Для удобства препараты могут изготавливаться в форме разовой дозы любым из хорошо известных в фармацевтике методов. Эти методы включают этап соединения активного компонента с носителем, который представлен одним или несколькими добавочными компонентами. В общем, препараты изготовляют посредством равномерного и тщательного перемешивания активного компонента с жидкими носителями или тонко измельченными твердыми носителями, или и с теми, и с другими, а затем, в случае необходимости, приданием формы полученному продукту.

Препараты, описываемые в данном изобретении, предназначенные для введения через рот, могут выпускаться в виде отдельных упаковок, таких как капсулы, облатки или таблетки, каждая из которых содержит определенное количество активного компонента; или могут выпускаться в виде порошков или гранул, в виде растворов или суспензии в воде или иной жидкости; в виде масляно-водных жидких эмульсий или водно-масляных жидких эмульсий. Активный компонент может также быть изготовлен в виде большой пилюли, лекарственной каши или пасты. Предпочтительно введение препарата через рот.

Таблетка может быть изготовлена прессованием или формованием, с одним или более добавочными компонентами. Прессованные таблетки

можно получить в соответствующем аппарате прессованием активного компонента, находящегося в сыпучем состоянии, таком как порошок или гранулы, произвольно смешанным со связующим веществом (таким как повидон, желатин, гидроксипропилметилцеллюлоза), смазочным маслом, инертным разбавителем: предохранительным средством, разрыхлителем (например, натриевой солью гликолата крахмала, имеющим поперечные сшивки повидоном, имеющей поперечные сшивки натриевой солью карбоксиметилцеллюлозой), поверхностно-активным или диспергирующим агентом. Формованные таблетки могут быть изготовлены формованием в соответствующем аппарате смеси порошкообразного соединения, пропитанного инертным жидким разбавителем. Таблетки могут (но не обязательно) иметь покрытие или разделительную черту, и могут быть изготовлены так, чтобы обеспечить контролируемое высвобождение содержащегося в них активного компонента, например, с помощью гидроксипропилметилцеллюлозы, взятой в различных пропорциях, можно получить желаемый профиль высвобождения.

Препараты, предназначенные для местного введения в рот, включают лепешки, состоящие из активного компонента со вкусовыми добавками, обычно - сахарозой и аравийской камедью или трагакантом; пастилки, состоящие из активного компонента на инертной основе, такой как желатин и глицерин, или сахароза или аравийская камедь, и полоскания для рта, состоящие из активного компонента в соответствующем жидком носителе.

Препараты для введения через прямую кишку могут представлять собой свечи, изготовленные на соответствующей основе, включающей, например, масло какао или салицилат.

Препараты, предназначенные для введения через влагалище, могут представлять собой пессарии, тампоны, кремы, гели, пасты, пену или жидкость для опрыскивания, содержащую в дополнение к активному компоненту хорошо известные в фармацевтике соответствующие носители.

Препараты, предназначенные для парентерального введения, включают водные и неводные изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, антисептики и растворенные вещества, которые обеспечивают изотоничность вводимого препарата крови определенного пациента, водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и наполнители. Препараты можно выпускать в содержащих одну или несколько доз герметических сосудах, например в ампулах и флаконах; препараты можно хранить в высушенном при замораживании (лиофилизованном) виде, при этом непосредственно перед употреблением необходимо добавить только стерильный жидкий носитель, например воду для инъекций. Самостоятельно можно приготовить растворы для инъекций и суспензии из стерильных порошков, гранул и таблеток типа описанных ранее.

Желательно, чтобы жидкие препараты с растворенным производным 5-урацила были забуферены - pH от 7 до 11, как правило, от 9,5 до 10,5. Предпочтительны такие расфасованные дозы препарата, которые содержат дневную дозу или еди-

ничную дозу, часть дневной дозы (как описано выше) или соответствующую часть дозы активного компонента.

5-этинилурацил, применяемый согласно данному изобретению в комбинации с 5-фторурацилом или его предшественником, можно приготовить общепринятым способом. Например, описанные выше инактиваторы можно приготовить методами, описанными в: J. Heterocycl. Chem. 19/3/463-4 (1982) - для получения 5-этинилурацила.

Пример 1. (5-этинилурацил (ЭУ))

а) 5-Триметилсилилэтинил/урацил

Раствор 5-йодоурацила (8 г, 30 мМ) в дважды перегнанном триэтилаmine (500 мл) и безводном ДМФ (10 мл) дегазировали в бескислородном азоте в течение 15 минут. Затем добавляли хлорид бис/трифенилфосфин/палладия (II) (0,5 г), йодид меди (I) (0,5 г) и триметилсилилацетилен (10 г, 102 мМ), смесь прогревали при перемешивании при 50°C в течение 24 часов. Охлажденную реакционную смесь фильтровали, фильтрат выпаривали досуха, и остаток растворяли в дихлорметане (500 мл). Органический раствор промывали 2% водным раствором динатриевой соли ЭДТА (3×250 мл), водой (3×200 мл), сушили (Na₂SO₄) и выпаривали досуха. Остаток растирали с этанолом, получая первую порцию указанного в названии соединения. Было обнаружено, что твердый компонент, отфильтрованный из реакционной смеси, также содержал требуемый продукт, но в менее очищенном виде, поэтому его обрабатывали отдельно описанным выше способом, получая вторую порцию соединения.

¹H ЯМР δ (d₆DMCO) 11,75-10,85 (2H, bs, NH), 7,75 (1H, s, H-6), 0,15ppm (9H, m, SiCH₃).

б) 5-этинилурацил

Раствор 5-триметилсилилэтинил/урацила (5,3 г, 24,4 мМ) в 0,2 М растворе метилата натрия в метаноле (400 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов и нейтрализовали до pH 7 разведенной соляной кислотой. Осадок отфильтровывали, промывали метанолом и высушивали, получая первую порцию указанного в названии соединения. Фильтраты и смывы объединяли, упаривали досуха, и остаток кристаллизовали из метанола, получая вторую порцию продукта. Чистый продукт получали объединением двух полученных порций и дальнейшей перекристаллизацией из этанола.

Т.пл. 260°C (разложение).

¹H ЯМР δ (d₆DMCO) 11,6-10,8 (2H, bs, NH), 7,8 (1H, s, H-6), 4,03 ppm (1H, s, H ацетилена).

Микроанализ: вычислено для C₆H₄N₂O₂: C 52,95, H 2,96, N 20,58.

Найдено: C 52,04; H 2,92; N 20,3.

Пример 2. (5-этинилурацил)

а) 2,4-диметокси-5-йод-пиримидин

В сухую круглодонную колбу объемом 1 л помещали 5-йод-урацил (50 г, 0,21 М), хлорокись фосфора (300 мл) и N,N-диметиланилин (6 капель). Гетерогенную смесь прогревали при 120°C на масляной бане в атмосфере азота в течение 24 часов. Отгоняли хлорокись фосфора (при этом отгонялась и часть продукта). Затем реакционную смесь медленно и осторожно наливали поверх льда (1 л) с твердым бикарбонатом натрия, поддерживая внутреннюю температуру при или менее

-20°C. (Это сопровождалось охлаждением в ацетоновой бане с сухим льдом). По окончании добавления pH реакционной смеси доводили до 7 добавлением твердого бикарбоната натрия. Смесь экстрагировали хлористым метиленом, и органические фракции высушивали, пропуская через фазово-разделяющую бумагу. Неочищенный раствор 2,4-дихлор-5-йодпиримидина немедленно начинали добавлять по каплям к раствору, содержащему MeOH (400 мл) и метилат натрия (28,8 г, 0,533 М). Это добавление занимало 1 час. Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Раствор нейтрализовали с помощью CO₂ (газ), экстрагировали хлористым метиленом, высушивали над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт адсорбировали на силикагеле (100 г) и наносили на испарительную хроматографическую колонку с 400 г силикагеля. Колонку элюировали смесью 90:10 гексана: этилацетата (объем:объем). Соответствующие фракции объединяли и концентрировали, получая белое твердое вещество - соединение, указанное в названии.

Выход: 26,7 г (48%)

200 MHz ЯМР CDCl₃ δ=3,97 (s, 3H), 4,02 (s, 3H), 8,43 (s, 1H).

б) 2,4-иметокси-5-б-триметилсилил/этинилпиримидин. В сухую круглодонную колбу объемом 1 л в атмосфере азота помещали продукт, полученный на стадии а) (26,7 г, 0,10 М), безводный хлористый метилен (Олдрич, 150 мл), безводный Et₃N (свежеперегнаный из гранулированного KOH, 250 мл). Несколько раз проводили откачивание и продувку системы через Firestone клапан. Шприцем добавляли триметилсилилацетилен (21,2 мл, 0,15 М, Олдрич). Затем добавляли хлорид бис/трифенилфосфин/ палладия (II) (Олдрич, 5,84 г, 8,32 мМ) и йодид меди (I) (Олдрич, 4,76 г, 25 мМ). Смесь прогревали при 60°C на масляной бане в течение 2 часов, охлаждали и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали под вакуумом. Остаток растворяли в толуоле (100 мл), затем толуол удаляли под вакуумом. Остаток переносили в хлористый метилен (200 мл), фильтровали и фильтрат экстрагировали 5% водным раствором динатриевой соли этилендиаминтетраацетата (3×100 мл Олдрич), H₂O (1×100 мл). Органический слой сушили, пропуская через фазово-разделяющую бумагу, и концентрировали под вакуумом. Продукт чистили на Waters Prep 500, элюируя смесью 95:5 гексана : этилацетата (объем : объем). Неочищенный продукт адсорбировали на 100 г силикагеля и наносили на испарительную хроматографическую колонку с 400 г силикагеля. Колонку элюировали 97,5:2,5 гексана: этилацетата (объем : объем). Соответствующие фракции объединяли и концентрировали.

Выход: 16,94 г (73%).

Пробу (1,2 г) полученного соединения связывали на 6 г силикагеля и наносили на 50г испарительной хроматографической колонны. Колонну элюировали гексан : этилацетатом 95 : 5 (объем : объем). Соответствующие фракции объединяли, концентрировали, отгоняли с CH₂Cl₂ (2×30 мл) и высушивали под вакуумом, получая 1,000 г указанного в названии соединения, температура

плавления 72,5-73°C. Литературные данные: т.пл. 73-74°C Heterocyclic Chem., 19, 463 (1982).

в) 5-*b*-триметилсилил/этинилурацил

В сухую 3-х-горлую круглодонную колбу в атмосфере азота помещали 2,4-диметокси-5-*b*-триметилсилил/этинилпиримидин (6,5 г, 27,5 мМ), безводный ацетонитрил (120 мл Олдрич), иодид натрия (высушенный в печи под вакуумом при 80°C, 18 часов, 12,4 г, 82,7 мМ) и хлортриметилсилан (10,5 мл, 82,7 мМ, свежеперегнанный). Смесь прогревали с обратным холодильником в течение 3 часов и затем концентрировали под вакуумом. Остаток дигерировали с раствором, содержащим метанол (40 мл) и воду (20 мл), и продукт отфильтровывали, получая 1,48 г (26%). Продукт растворяли в хлороформе, и раствор адсорбировали на 7 г силикагеля, который затем наносили на испарительную хроматографическую колонку с 35 г силикагеля. Элюировали смесью хлороформ: метанол 95:5 (объем : объем), затем - хлороформ : метанол 90:10 (объем : объем), и содержащие продукт фракции выпаривали, получая 1,23 г белого твердого вещества - соединения, указанного в названии.

г) 5-этинилурацил

Раствор, содержащий 5-*b*-триметилсилил/этинилурацил (3,85 г, 18,4 мМ) и метанол (370 мл) обрабатывали другим раствором, содержащим гидроокись натрия (2,3 г, 57,5 мМ) и воду (18 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов и затем концентрировали под вакуумом. Остаток суспендировали в воде (35 мл), и pH доводили до 5, используя 0,1 N HCl. Твердые вещества растворялись, затем при pH=5 образовывался второй осадок. Продукт отфильтровывали, промывали водой и затем высушивали под вакуумом, получая 2,3 г (92%) 5-этинилурацила в виде светло-бежевого порошка.

При микроанализе вычислено для C₆H₄N₂O₂: С, 52,95; Н 2,96; N 20,58.

Найдено: С 52,79, Н 3,02; N 20,44.

Следующие примеры иллюстрируют фармакологические препараты, в которых "Активный компонент" - это 5-пропинилурацил, 5-этинилурацил или другой инактиватор урацил-редуктазы, описанный выше, или смесь инактиватора с 5-фторурацилом.

Пример 3

Препараты в таблетках

Следующие препараты 5А, 5В и 5С изготовлены мокрым гранулированием компонентов (за исключением стеарата магния) с раствором повидона и последующим высушиванием гранул, добавлением стеарата магния и прессованием.

Препарат А	мг/таблетку	мг/таблетку
Активный компонент	5	2
Лактоза, В.Р.	205	75
Повидон, В.Р.	15	10
Натриевая соль гликолата крахмала	20	10
Стеарат магния	5	3
	250	100
Препарат 5В	мг/таблетку	мг/таблетку
Активный компонент	5	2
Лактоза, В.Р.	155	-

Авицель РН 101	50	25
Повидон, В.Р.	15	10
Натриевая соль гликолата крахмала	20	10
Стеарат магния	5	3
	250	50
Препарат 5С	мг/таблетку	
Активный компонент	5	
Лактоза, В.Р.	205	
Крахмал	50	
Повидон, В.Р.	6	
Стеарат магния	4	
	270	

Следующий препарат 5Д изготовлен непосредственно прессованием примесных компонентов. Использовалась лактоза прямо в прессованном виде.

Препарат 5Д	мг/таблетку
Активный компонент	5
Лактоза	155
Авицель РН 101	100
	260

Следующий препарат 5Е представляет собой таблетку с контролируемым высвобождением препарата, изготовлен мокрым гранулированием компонентов (за исключением стеарата магния) с раствором повидона, последующим высушиванием гранул, добавлением стеарата магния и прессованием.

Препарат 5Е	мг/таблетку
Активный компонент	5
Гидроксипропиленметилцеллюлоза (Methocel K4M Premium)	110
Лактоза, В.Р.	50
Повидон, В.Р.	28
Стеарат магния	7
	200

Пример 4. Препараты в капсулах

Следующие препараты 6А и 6В изготавливали смешиванием непрессованных компонентов, препараты помещали в плотные желатиновые капсулы, состоящие из 2-х частей.

Препарат 6А	мг/таблетку
Активный компонент	5
Лактоза, В.Р.	250
Натриевая соль гликолата крахмала	25
Стеарат магния	5
	290

Препарат 6В	мг/таблетку
Активный компонент	5
Крахмальный гель NF 15	245
	250

Препарат 6С	мг/таблетку
Активный компонент	10
Macrogol 4000, В.Р.	340
	350

Macrogol 4000, В.Р. плавил и диспергировали в нем активный компонент. Расплав тщательно перемешивали, и затем им заполняли состоящую из 2-х частей плотную желатиновую капсулу.

Пример 5. Препараты для инъекций

Активный компонент	10 мг
Стерильный, очищенный от пирогенных примесей, пирофосфатный буфер (pH 10), q.s. до	10 мг

Активный компонент растворяли в большей части фосфатного буфера (35-40°C), затем довели объем и фильтровали через микропористый фильтр в 10-ти мл капсулу из желтого стекла (тип 1), закрывали стерильной пробкой и герметизировали.

Пример 6. Свечи

Активный компонент, 63 мкм*	10 мг
Твердый жир, В.Р. (Витепзоль Н15-нейтральный) Dynamit	1790
	1800

* Активный компонент использовали в виде порошка, в котором, по крайней мере, 90% частиц имели размеры 63 мкм и менее.

Одну пятую часть Витепзоля Н15 расставляли в сосуде с паровой рубашкой при температуре не выше 45°C. Активный компонент просеивали через 200 мкм сито и добавляли к расплавленному основанию при перемешивании, используя мешалку, снабженную режущей головкой, до получения хорошо перемешанного дисперсного раствора. Поддерживая температуру смеси при 45°C, к суспензии добавляли остальной Витепзоль Н15 и перемешивали до получения однородной смеси. Суспензию пропускали через 250 мкм сито из нержавеющей стали и охлаждали при постоянном перемешивании примерно до 40°C. При температуре от 38°C до 40°C 1,3 г смеси фильтровали в подходящую пластиковую форму. Свечи охлаждали до комнатной температуры.

Для проверки эффективности 5-замещенных соединений урацила, описанных в изобретении, был проведен ряд экспериментов.

Эксперимент 1. Определение инактивации урацил-редуктазы

Урацил-редуктазу (1 микромоляр) (дигидропиримидин дегидрогеназа, ЕС 1.3.1.2), очищенную из печени быка, инкубировали со 100 микромолями инактиватора и 5 мМ дитиотрейтола (восстановитель фермента) при 37°C в течение 30 минут в 0,05 М трис-НСl при pH 8,0. Фермент и инактиватор разводили в 100 раз в буфере для пробы, содержащем 200 микромолей НАДФ.Н, 200 микромолей тимина и 1 мМ дитиотрейтола в трис-НСl при pH 8,0. Активность фермента определяли спектрофотометрически. Полученные активности корректировали с учетом скорости окисления НАДФ.Н оксидазой, которая составляла менее 10% скорости тимин-зависимого окисления, НАДФ.Н. Процент инактивации фермента равнялся 100% минус процент остаточной ферментативной активности. Энзим, инкубированный без ингибитора, был стабилен в этих условиях. Значения, данные в скобках, - кажущиеся константы скорости реакции инактивации фермента (реакция первого порядка), полученные в подобных экспериментах, где активность фракций определяли, как функцию времени инкубации 50 микромолей инактиватора с ферментом.

Результаты представлены ниже:

Соединение	% инактивации
5-этинилурацил	100(100)
5-цианурацил ^a	100(14)
5-пропинилурацил	100(8)
5-бромэтинилурацил	100(8)
5-/1-хлорвинил/урацил	100(5)
5-иодурацил	100(4)

5-гекс-1-инилурацил ^a	90
5-винилурацил ^{a,b}	86
5-трифторметилурацил	75
5-бромурацил	75

^a Ингибирование было обратимым, так как фермент, обработанный этим производным, медленно восстанавливал активность после 100-кратного разведения в смеси для пробы.

^b Эти нуклео-основания были получены *in situ* обработкой соответствующего нуклеозида тимидин-фосфорилазой (40 единиц/мл) в 35 мМ калий-фосфате в течение 20 минут перед добавлением к урацил редуктазе. Исходные нуклеозиды не являлись инактиваторами.

Изучали эффективность 5-этинилурацила (ЭУ), как указано в следующих экспериментах со 2 по 4 и представлено на фигурах, где:

фиг. 1 - показано увеличение уровней урацила и тимина через 24 часа после введения крысам через рот различных доз ЭУ,

фиг. 2 - показано, что ЭУ повышает уровни 5-фторурацила (5-ФУ) в плазме. Мышам вводили дозы либо через рот (перорально), либо - внутрибрюшинно (введение 5-ФУ). 5-этинилурацил в дозах 2 мг/кг вводили внутрибрюшинно за 90 минут до введения 5-ФУ.

Эксперимент 2. Инактивация урацил редуктазы (*in vivo*)

У мышей, крыс, собак и обезьян, которым вводили малые количества 5-этинилурацила (ЭУ), наблюдалось быстрое и значительное увеличение уровней урацила и тимина в плазме. Максимальный эффект достигался при введении крысам перорально примерно 0,1 мг/кг, мышам - подкожно - от 0,5 до 1 мг/кг и собакам - внутривенно - приблизительно 1 мг/кг; вероятно, при этом происходит полная инактивация урацил редуктазы. У мышей и крыс такие дозы увеличивают уровни урацила в плазме от приблизительно 3 мМ примерно до 50-60 мМ. Уровень урацила в плазме снижается до нормального через 24 часа (время полужизни = 10 часам). На фиг. 1 показано повышение уровней урацила и тимина в плазме у крыс через 4 часа после введения через рот различных доз 5-этинилурацила, обусловленное инактивацией урацил редуктазы. ЕД₅₀ составляет 0,01 мг/кг.

Эксперимент 3. Влияние на уровень ФУ в плазме

У мышей и крыс, которым предварительно вводили 5-этинилурацил (ЭУ), а затем давали ФУ, поддерживались более высокие уровни ФУ в плазме, чем у тех мышей, которым предварительно не вводили ЭУ (фиг. 2). К тому же, обычная изменчивость ФУ в плазме у крыс, которым вводили ФУ через рот в дозах 50 мг/мл, ликвидировалась при предварительном введении ЭУ. АУС кривых зависимости концентрации ФУ в плазме от времени составляли 41, 126 и 68 (среднее = 78±55%) против 417, 446 и 426 (среднее = 430±3%) для крыс, которым предварительно не вводился ЭУ, и крыс, которым предварительно вводили ЭУ, соответственно.

Эксперимент 4. Усиление антиопухолевой активности 5-фторурацила с помощью 5-этинилурацила у мышей

Мышам имплантировали опухоль прямой кишки 38 в день "0" (зеро). Мышам (по 8 в группе) 5-

ФУ в дни: с 1 по 9 вводили в дозах, указанных в таблице, ЭУ вводили внутривнутрибрюшинно в дозах

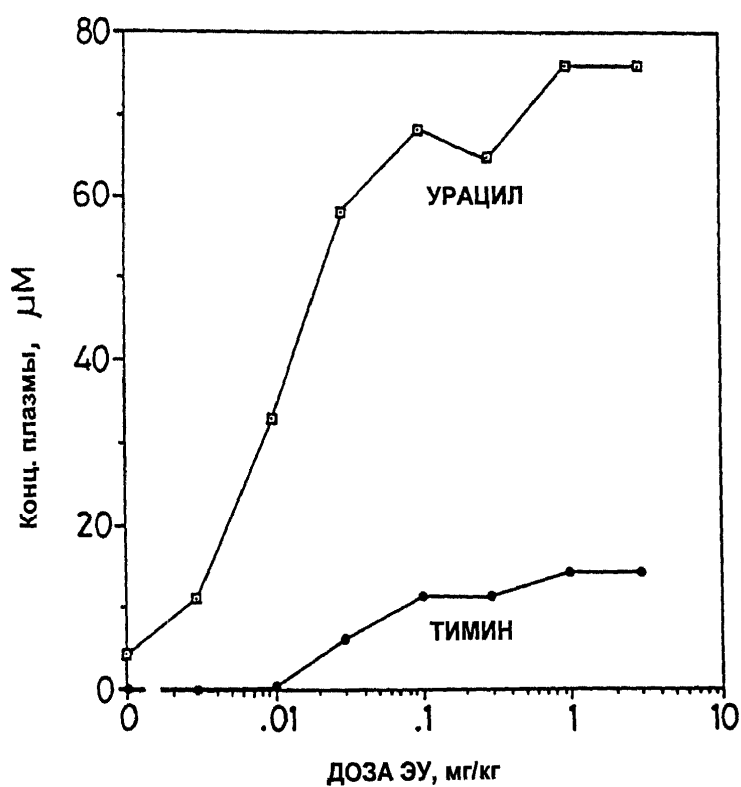
2 мг/кг за 30 минут до введения указанных доз 5-ФУ.

Таблица

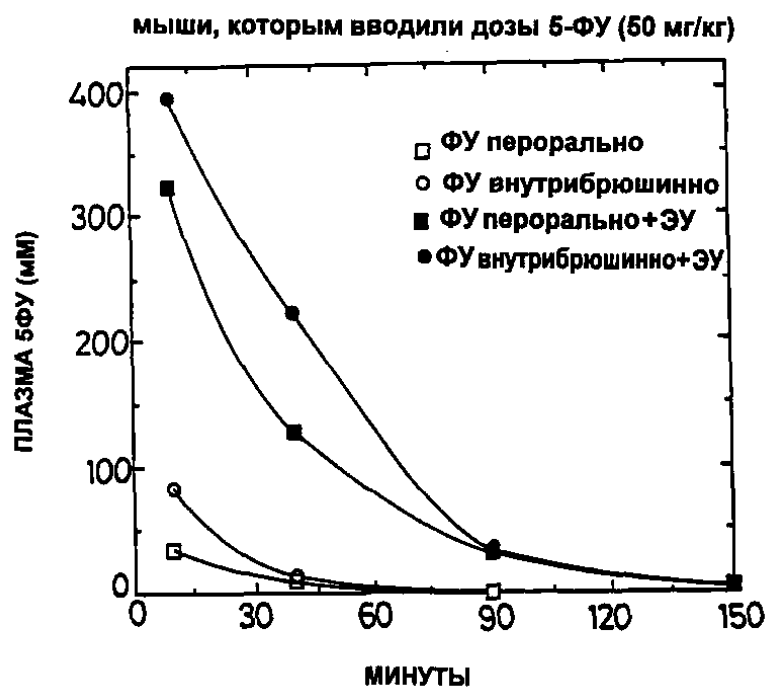
% мышей, у которых не обнаружено опухоли на 17-ый день

Доза 5-ФУ (мг/кг)	ФУ (внутри- брюшинно) + ЭУ	ФУ (внутри- брюшинно)	ФУ (перорально) +ЭУ	ФУ (перорально)
0,25	0			
0,5	25		0	
1	12,5		25	
2	37,5		37,5 ^a	
3	100			
4	100			
10		0		0
15		12,5		12,5
20		12,5		12,5
25		-		12,5
30		87,5 ^a		12,5

^a В этих группах зарегистрировано по одному смертельному случаю, не связанному с опухолью.



Фиг. 1



Фиг. 2

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
 Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
 (044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60x84 1/8.
 Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
 (044) 268-25-22