



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2010145438/15, 08.11.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.11.2010

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 08.11.2010

(45) Опубликовано: 27.08.2011 Бюл. № 24

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Неовир, РЛС, 2003, с.572. RU 2222345 C2, 27.01.2004. RU 2328272 C2, 10.07.2008. US 4314061 A, 02.02.1982.

Адрес для переписки:

192007, Санкт-Петербург, а/я 146, ООО
"АИС поли-ИНФОРМ-патент", пат.пov.
О.Л.Сандигурскому, рег.№ 750

(72) Автор(ы):

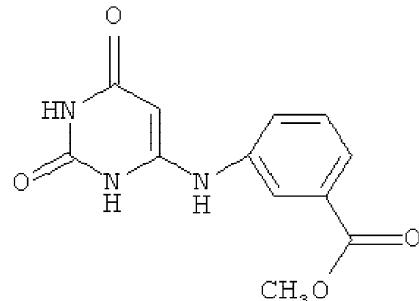
Тец Виктор Вениаминович (RU),
Тец Георгий Викторович (RU),
Крутиков Виктор Иосифович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Тец Виктор Вениаминович (RU),
Тец Георгий Викторович (RU)**(54) СРЕДСТВО ДЛЯ ИНДУКЦИИ ЭНДОГЕННОГО ИНТЕРФЕРОНА**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и представляет собой средство для индукции эндогенного интерферона, а именно 6-(3-метоксиарбонилфенил)амино-2,4(1Н,3Н)-пиримидиндион C₁₂H₁₁N₃O₄ общей формулы



Изобретение обеспечивает более высокую активность при инъекционном, а также и при энтеральном введении. 2 табл., 1 ил.

R U 2 4 2 7 3 7 3 C 1

RUSSIAN FEDERATION

(19) RU⁽¹¹⁾ 2 427 373⁽¹³⁾ C1(51) Int. Cl.
A61K 31/505 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2010145438/15, 08.11.2010

(24) Effective date for property rights:
08.11.2010

Priority:

(22) Date of filing: 08.11.2010

(45) Date of publication: 27.08.2011 Bull. 24

Mail address:

192007, Sankt-Peterburg, a/ja 146, OOO "AIS poli-
INFORM-patent", pat.pov. O.L.Sandigurskomu,
reg.Nº 750

(72) Inventor(s):

Tets Viktor Veniaminovich (RU),
Tets Georgij Viktorovich (RU),
Krutikov Viktor Iosifovich (RU)

(73) Proprietor(s):

Tets Viktor Veniaminovich (RU),
Tets Georgij Viktorovich (RU)

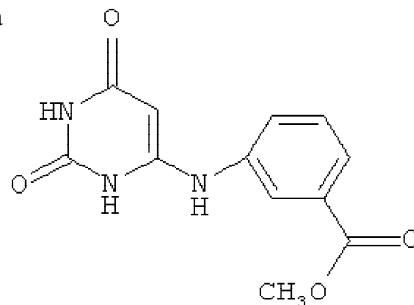
(54) METHOD FOR ENDOGENOUS INTERFERON INDUCTION

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceutics.

SUBSTANCE: invention relates to medicine and represents medication of endogenous interferon induction, namely to: 6-(3-methoxycarbonylphenyl)amino-2,4 (1H, 3H)pyrimidinedione C₁₂H₁₁N₃O₄ of general

formula



EFFECT: invention ensures higher activity in injection as well as enteral introduction.

2 tbl, 1 dwg

R U 2 4 2 7 3 7 3 C 1

Изобретение относится к медицине и может быть использовано для лечения ряда заболеваний, в лечении которых используется интерферон.

К числу заболеваний, в лечении которых используют интерферон или индукторы его эндогенного синтеза, относится большинство вирусных инфекций, в том числе 5 герпетическая инфекция, вирусные гепатиты А, В, С и некоторые опухоли: папилломы гортани, фибромиомы матки, аденомы молочной железы и гипофиза и др., RU 2105566.

Известны лекарственные средства, являющиеся индукторами синтеза собственного 10 эндогенного интерферона - вещества, которое способствует формированию защитного барьера, препятствующего инфицированию организма вирусами и бактериями, а также регулирует состояние иммунной системы и ингибирует рост злокачественных клеток. Наиболее известными и распространенными 15 лекарственными препаратами индукторами интерферона являются Неовир, идентичный ему по структуре циклоферон и тилорон (<http://www.ingentaconnect.com/content/els/00207292/1996/00000055/00000001/art88729>; http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2731.htm).

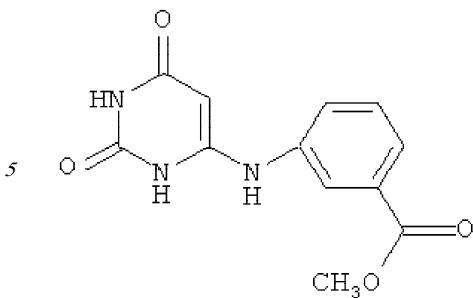
Принятый в качестве прототипа препарат Неовир (оксодигидроакридинилацетат 20 натрия) широко используется для лечения вирусных и бактериальных инфекций, особенно вызванных внутриклеточными паразитами. Неовир также применяют при 25 лечении некоторых онкологических заболеваний. Некоторой активностью Неовир обладает при его инъекционном введении. При энтеральном приеме препарата обнаруживается его низкая эффективность.

После приема внутрь Неовира максимум продукции интерферона определяется в 25 последовательности кишечник-печень-кровь через 4-24 ч. В лейкоцитах человека Неовир индуцирует образование интерферона, уровень которого в крови составляет 250 ЕД/мл.

При назначении Неовира, равно как и других известных индукторов интерферона, 30 существует риск нежелательных взаимодействий с другими лекарствами, например с рифампицином, при лечении туберкулеза и антиретровирусными препаратами при лечении ВИЧ-инфекции, а также с оральными контрацептивами. Ввиду отсутствия детальных данных о взаимодействии Неовира с этими и некоторыми другими 35 лекарствами их одновременное применение может быть опасным ([http://dx.doi.org/10.1016/0006-291X\(76\)90713-0. PMID 187194](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B8%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BD_Renton_KW,_Mannering_GJ_(1976)._%E0%9A%95Depression_of_hepatic_cytochrome_P-450-dependent_monomooxygenase_systems_with_administered_interferon_inducing_agents%._Biochem_Biophys_Res_Commun._73_(2):_343-348. DOI:<a href=)).

Задачей настоящего изобретения является создание препарата, который имеет более высокую активность при инъекционном, а также и при энтеральном введении.

Согласно изобретению средство для индукции эндогенного интерферона 40 представляет собой соединение 6-(3-метоксикарбонилфенил)амино-2,4(1Н,3Н)-
45 пиридиндинон $C_{12}H_{11}N_3O_4$ общей формулы



10 Заявленное вещество получают следующим образом. К 10 г гидрохлорида
метилового эфира м-аминобензойной кислоты и 8.4 г метилового эфира м-
аминобензойной кислоты добавляют 7 г 6-аминоурацила и тщательно перетирают
смесь в ступке. При нагревании до 160°C смесь плавится и становится
легкоподвижной, но уже через 0.5 ч затвердевает, нагревание прекращают через 1.5 ч.
15 Смесь переносят в воду, перемешивают и фильтруют, промывают водой. Затем
продукт кипятят в 100 мл этилового спирта в течение 2 ч. После охлаждения смеси до
комнатной температуры продукт отфильтровывают, промывают этиловым спиртом и
высушивают. Получают 10 г целевого продукта.

20 Этот продукт представляет собой смесь заявленного вещества (мономера) с его
димером. Температура плавления смеси выше 300°C.

Разделение мономера и димера проводили следующим образом: растворяли
указанный выше целевой продукт в смеси 2-пропанол-ДМФА при нагревании и
25 охлаждали. По охлаждении димер выпадал в осадок, а мономер оставался в растворе.
Для извлечения мономера раствор упаривали досуха, кристаллический остаток
промывали этанолом и высушивали в вакууме. Масса полученного мономера в два
раза больше, чем масса димера, возможно использование как мономера, так и димера,
при этом димер легче проникает через клеточные мембранны.

30 Инфракрасный спектр препарата, снятый в таблетках с калием бромидом (2 мг
на 300 мг калия бромида), в области от 4000 см⁻¹ до 400 см⁻¹ должен иметь полное
совпадение полос поглощения с полосами поглощения прилагаемого спектра по
положению и относительной интенсивности полос.

35 Ультрафиолетовый спектр 0.025% раствора препарата в 0.1 н. растворе едкого
натра в области от 200 до 370 нм имеет плечо при 252 нм, минимум поглощения
при 265 нм и несимметричный максимум поглощения при 288 нм ± 1 нм.

Спектр протонного магнитного резонанса содержит следующие характерные
сигналы, м.д.: 10.4 и 10.2 (NH эндоцикл.), 8.36 (экзоцикл. NH), 7.4-7.8 (4H, Ar,), 4.72
40 (1H, CH), 3.86 (3H, OCH₃).

Указанные спектры для заявленного соединения и его димера практически
совпадают.

При изготовлении фармацевтических препаратов на основе заявленного вещества
45 могут быть использованы различные фармацевтически приемлемые наполнители,
адьюванты и транспортеры: метилцеллюлоза, аксипропилметилцеллюлоза,
карбоксиметилцеллюлоза, натрийкарбоксиметилцеллюлоза, кукурузный крахмал,
тальк, каолин, бентониты, аэросил, сахар свекловичный, сахар молочный, натрия
хлорид, натрия гидрокарбонат, окись алюминия, стеарат алюминия, лецитин,
50 сывороточные белки, фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смесь
глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, соли цинка, коллоидная
двуокись кремния, трисиликат магния, воск, полиэтиленгликоль, ланолин и др.

Заявленное средство можно применять перорально, парентерально, ректально,

назально, лингвально, вагинально или при помощи имплантантов; парентеральное применение в данном случае включает его введение подкожно, внутрикожно, внутривенно, внутримышечно, внутрисуставно, интрасиновиально, интрастернально, в спинномозговую жидкость, интракраниально.

⁵ Местное применение фармацевтических препаратов, созданных на основе изобретения, особенно показано, если лечения требуют участки организма, к которым их можно применить местно.

¹⁰ В фармацевтических препаратах для местного нанесения на кожу действующее вещество следует сочетать с подходящей мазевой основой, в которой активный компонент может находиться в растворенном состоянии или в виде суспензии. Мазевая основа может включать минеральные масла, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, смесь полиоксиэтилена и полиоксипропилена, эмульгирующий воск, воду. Основой для фармацевтических препаратов наружного применения может ¹⁵ также быть лосьон или крем, в котором заявленное вещество будет находиться в виде раствора или суспензии. В качестве наполнителей в этом случае могут быть, минеральное масло, сорбитана моностеарат, полисорбат 60, цетиловые эфиры, воск, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт, вода и другие подходящие ²⁰ ингредиенты. Фармацевтические препараты на основе заявленного вещества могут также быть применимы к нижним отделам кишечника в виде ректальных суппозиториев или другой подходящей лекарственной формы.

²⁵ На основе заявленного вещества могут также быть созданы такие лекарственные формы для наружного применения, как пластырь, назальные аэрозоли, ингаляторы. В качестве жидкой фазы для растворения заявленного вещества можно использовать изотонический раствор хлорида натрия (физиологический раствор), при этом стабилизатором может служить бензиловый спирт или любое подходящее для этого вещества, активатором всасывания, чтобы увеличить биодоступность, могут служить ³⁰ фторкарбоны; для улучшения растворения и диспергирования могут быть использованы любые известные в производстве подобных фармацевтических форм вспомогательные вещества.

³⁵ Лекарственный препарат, приготовленный на основе заявленного вещества, может быть использован в дозах примерно от 0.01 до 25 мг активного вещества на 1 кг веса пациента в сутки. Для профилактики и лечения вирусных инфекций и бактериальных инфекций, а также некоторых форм рака предпочтительна суточная доза примерно от 0.5 до 25 мг активного вещества на 1 кг веса. Фармацевтические препараты на основе изобретения можно вводить от 1 до 5 раз в день или в виде длительной инфузии.

⁴⁰ Определение уровня индуцированного интерферона (ИФН) после введения заявленного вещества.

Количественное определение содержания ИФН в контрольных и опытных образцах производилось двумя способами:

⁴⁵ 1) с использованием иммуноферментной тест-системы на ИФН ProCon IF2 plus производства фирмы "Протеиновый контур" с пересчетом полученных результатов весового содержания ИФН в международные единицы (МЕ) активности ИФН;

⁵⁰ 2) с использованием оригинальной методики биологического тестирования содержания ИФН, заключающейся в следующем: ИФН вызывают торможение развития цитопатического действия вирусов, проявляющееся в деструкции монослоя специально подобранной линии клеточной культуры. Количественное определение содержания ИФН в пробе достигается количественным анализом интенсивности деструкции клеточного монослоя после преинкубации с ИФН-содержащими пробами

и инкубации с индикаторным вирусом.

Краткое описание методики: монослойная культура клеток карциномы легкого человека L-41 инкубируется с раститрованными ИФН-содержащими пробами в микропланшетах в течение 24 часов в CO₂-термостате при 37°C, после чего в микропластины вносится раствор индикаторного вируса (вируса везикулярного стоматита, штамм Индиана, ВВС) и происходит инкубация в течение 18 часов в CO₂-термостате при 37°C. Затем микропланшеты окрашиваются кристаллическим фиолетовым для визуализации результатов. Излишки красителя отмываются дистиллированной водой, микропланшеты высушиваются, затем краситель, связавшийся с живыми клетками, экстрагируется 30% этанолом и микропланшеты фотометрируются на автоматическом фотометре типа "Multiscan" для 96-луночных микропланшетов в режиме многократного сканирования лунок при длине волны 590 нм. Полученное количество связавшегося красителя прямо пропорционально содержанию ИФН в определяемом образце. Количественное содержание ИФН в пробах определяют после интерполяции результатов в пределах зависимости от содержания ИФН в пробах и интенсивности деструкции клеточного монослоя. Данная зависимость получена после титрования в аналогичных условиях стандартного референс-препарата нативного человеческого ИФН. В качестве референс-препарата в каждом опыте использовали препарат нативного человеческого ИФН, стандартизованный по активности. Результаты анализа выражены в МЕ активности ИФН на 1 мл в данной индукционной системе, содержащей 3·10⁶ лимфоцитов/мл.

Опытные и контрольные точки исследованы в 4 параллелях.

Интерферониндуцирующая активность препаратов *in vivo* при введении мышам внутрибрюшинно (в МЕ) приведена в таблице 1.

Таблица 1

| Препарат | Время | | | | |
|------------------------------|--------|---------|---------|---------|---------|
| | 2 часа | 4 часа | 6 часов | 8 часов | 24 часа |
| Плацебо | 7-10* | 20-25 | 7-10 | 7-10 | 7-10 |
| Неовир | 7-10 | 100-110 | 7-10 | 7-10 | 7-10 |
| Заявленное вещество, мономер | 30 | 10 | 160 | 25-30 | 30 |
| То же, димер | 40 | 50 | 210 | 30-35 | 15-40 |

Препараты вводили в количестве 1000 мкг/мышь.

*Фоновое значение активности интерферона 7-10 единиц.

Полученные данные указывают, что заявленное вещество индуцирует повышение уровня эндогенного интерферона с динамикой, отличающейся от препарата сравнения. Уровень эндогенного интерферона после введения заявляемых веществ превосходит таковой у прототипа.

Интерферониндуцирующая активность препаратов *in vivo* при энтеральном введении мышам (в МЕ) приведена в таблице 2.

Таблица 2

| Препарат | Время | | | | |
|------------------------------|--------|--------|---------|---------|---------|
| | 2 часа | 4 часа | 6 часов | 8 часов | 24 часа |
| Плацебо | - | 20-25 | - | - | - |
| Неовир | 7-10 | 40-60 | 10-12 | 7-10 | 7-10 |
| Заявленное вещество, мономер | 18 | 120 | 20 | 40 | 100 |
| То же, димер | 12-25 | 150 | 30 | 30-50 | 120 |

Препараты вводили в количестве 5.0 мг/мышь.

*Фоновое значение активности интерферона 7-10 единиц.

Полученные данные свидетельствуют, что заявленное вещество при введении энтерально вызывает выработку эндогенного интерферона и значительно более эффективно в сравнении с прототипом.

Концентрация в плазме крови экспериментальных животных при вагинальном применении заявленного вещества.

Результаты измерения концентрации вещества в плазме крови кроликов при вагинальном введении в форме «суппозитории вагинальные 0,1 г» в виде усредненных фармакокинетических кривых отображены на приведенной ниже диаграмме. После введения свечи вещество начинало проникать в системный кровоток примерно через 15 минут и достигало максимального уровня через 1 час (около 120 мкг/мл), после чего препарат постепенно выводился из организма и через 24 часа после введения определялся в плазме крови в минимальных количествах (около 20 мкг/мл).

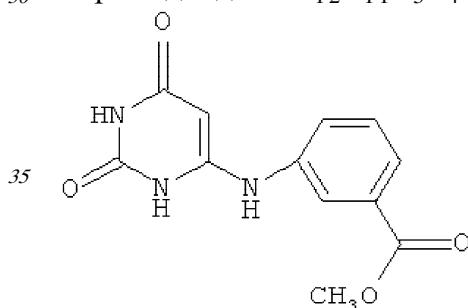
Разброс индивидуальных значений умеренный: коэффициент вариации CV составил 13-22%.

Результаты проведенных исследований указывают, что заявленное вещество при вагинальном введении в виде свечей проникает в кровь экспериментальных животных.

Таким образом, установлено, что заявляемое вещество обладает интерферониндуцирующей активностью при разных способах введения, при этом активность заявленного вещества превосходит таковую у прототипа (Невири) как при парентеральном, так и энтеральном введении. Также было отмечено значительное уменьшение побочных явлений и нежелательных взаимодействий с другими лекарствами.

Формула изобретения

Средство для индукции эндогенного интерферона, отличающееся тем, что представляет собой соединение 6-(3-метоксикарбонилфенил) амино-2,4(1Н,3Н)-пиrimидиндион C₁₂H₁₁N₃O₄ общей формулы



40

45

50

