



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(22) Přihlášeno 04 02 81
(21) (PV 8549-81)

(40) Zveřejněno 31 12 82

(45) Vydáno 15 03 86

223241
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
A 61 K 31/33
(A 61 K 31/33,
31/34, 31/505)
//C 07 H 19/06

(75)
Autor vynálezu

BERÁNEK JIŘÍ ing. DrSc., HŘEBABECKÝ HUBERT ing. CSc.,
HLAVÁČKOVÁ JANA, PRAHA

(54) Použití 4-amino-1-(2,5-anhydro- β -D-arabinofuranosyl)pyrimidin-
-2(1H)-onu jako testovací látky v chemoterapii

1

2

Vynález se týká použití 4-amino-1-(2,5-anhydro- β -D-arabinofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-onu jako testovací látky v chemoterapii. Tato látka je analogem přirozeného nukleosidu cytidinu a náleží mezi anhydroderiváty nukleosidů.

Předmětem vynálezu je použití 4-amino-1-(2,5-anhydro- β -D-arabinofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-onu jako testovací látky v chemoterapii.

Při studiu mechanismu biologického účinku a při studiu enzymatické deaminace 4-amino-1-(5-chlor-deoxy- β -D-arabino-furanosyl)pyrimidin-2(1H)-onu [Collect. Czech. Commun. 1980, **45**, 599; čs AO číslo 199 949, č. 204 212 a č. 218 224] bylo zjištěno, že jeho biologický účinek není způsoben pomalou hydrolýzou na známou, biologicky vysoce účinnou látku, 1- β -D-arabinofuranosylcytosin, jak bylo původně předpokládáno, ale že látka po aplikaci v systémech in vitro i v systémech in vivo je metabolizována na jiný nukleosidový derivát, a to na 4-amino-1-(2,5-anhydro- β -D-arabinofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-on.

Dalším studiem byla potom zjišťována biologická účinnost, zejména kancerostatická této látky.

Biologická aktivita uvedeného metabolitu byla sledována na leukemických buňkách L1210 a byla zjišťována její inhibiční potence na syntézu ribonukleové a deoxyribonukleové kyseliny. Pokusy bylo zjištěno, že látka vykazuje specifický inhibiční účinek na syntézu deoxyribonukleové kyseliny, zatímco syntéza ribonukleové kyseliny není inhibována. Dále bylo zjištěno, že látka nevykazuje virostatický účinek ani vůči ribonukleovému ani deoxyribonukleovému virům a oproti arabinofuranosylcytosinu vykazuje vyšší specifitu účinku. Látka vykazuje jeden z nejvyšších inhibičních účinků vůči syntéze deoxyribonukleové kyseliny, jaké byly v analogických testech u antimetabolitů nukleových kyselin zjištěny, včetně antimetabolitů, které jsou užívány v klinické praxi v chemoterapii rakovinného onemocnění. Uvedené vlastnosti této látky nebyly dosud popsány.

4-amino-1-(2,5-anhydro- β -D-arabinofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-on lze použít při biologické aplikaci samotný nebo v kombinaci se známými látkami, užívanými v chemoterapii rakoviny, jako jsou antimetabolity nukleových kyselin, 6-merkaptopurin, 6-thioguanin, 5-fluoruracil, arabinosylcytosin a

jejich deriváty, 5-azaanalogy a 6-azaanalogy pyrimidinových nukleosidů nebo dihydropropyladenin, anebo s látkami odlišného typu léčiv, jako jsou daunorubicin, vincristin, methotrexat, prednison, cyklofosfamid 1,3-bis(2-chlorethyl)-1-nitrosomočovina (BCNU).

Látka připravovaná podle vynálezu náleží mezi analogy nukleových kyselin a na základě provedených testů je možno reálně předpokládat, že se může stát významným antimetabolitem nukleových kyselin a představitelem nové skupiny látek biologicky vysoce účinných léčiv podobně jako 5'-halogenderiváty (chlor-, brom-, jodderiváty) a 5'-azido, 5'-O-methanosulfonyl a 5'-O-p-toluensulfonyl deriváty arabinofuranosylcytosinu i cyklocytidinu.

Příklad

Byla provedena zkouška biologické aktivity metabolitu podle vynálezu.

Leukemické buňky L1210 byly kultivovány v RPMI médiu, které obsahovalo 10 % fetálního hovězího séra, 20 mmol/l sodné soli 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinethansulfonové kyseliny — pufru o pH 7,2, 100 j/ml penicilinu a 100 μ g/ml streptomycinu a byly udržovány na hustotě 1 až 4×10^6 /ml. 4-amino-1-(2,5-anhydro- β -D-arabinofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-on byl rozpuštěn v dimethylsulfoxidu (DMSO) a bylo přidáno takové množství výše uvedeného média, aby konečná koncentrace DMSO byla 2%. Polovina ml L1210 buněk o koncentraci 2×10^6 /ml byla přidána k 0,5 ml testovaného roztoku a vzorek byl inkubován po dobu 3 hodin při 37 °C za míchání. Ke vzorku byl potom přidán ^3H -thymidinu (40 Ci/mol) do aktivity 0,5 μ Ci/ml. Po 1 hodině byla stanovena radioaktivita ve sraženině trichloroctovou kyselinou. Analogická technika za použití ^3H -uridinu poskytla hodnoty ED₅₀ pro inhibici ribonukleové kyseliny syntézy. Testovaná látka způsobovala 50% inhibici DNK syntézy při koncentraci 1,2 μ M, přičemž syntéza RNK nebyla koncentrací 1000 μ M této látky vůbec inhibována.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Použití 4-amino-1-(2,5-anhydro- β -D-arabinofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-onu jako testovací látky v chemoterapii.