



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105034** (13) **C2**  
(51) МПК  
**C07D 211/90** (2006.01)  
**A61K 31/4422** (2006.01)

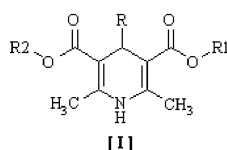
ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки:	<b>а 2011 10839</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и):	<b>Бісінієкс Егілс (LV), Дубурс Гунарс (LV), Стонанс Ілмарс (LV)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки:	<b>11.03.2010</b>	<b>(73)</b> Власник(и):	<b>ГРІНДЕКС, Е ДЖОІНТ СТОК КОМПАНІ, 53, Krustpils street, LV-1057 Riga, Latvia (LV)</b>
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>10.04.2014</b>	<b>(74)</b> Представник:	<b>Гренчук Сергій Рудольфович, реєстр. №170</b>
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>09154872.7, 09159197.4, 09173816.1</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	<b>US 4293700 A, 06.10.1981 ZIDERMANE A. A. ET AL.: "THE POTENTIATING EFFECT OF DISODIUM SALT OF 2 6 DIMETHYL-1 4- DIHYDROPYRIDINE-3 5- BISCARBONYLHYDROXYACETIC ACID ON THE ACTIVITY OF CERTAIN ANTITUMOR DRUGS" EKSPERIMENTAL NAA ONKOLOGIA - EXPERIMENTAL ONCOLOGY, KIEV, UU, vol. 9, no. 2, 1 January 1987 (1987-01-01) , pages 50-52, XP009119251 ISSN: 0204-3564 ULDRIKIS J. ET AL.: "1,4-Dihydropyridine derivatives as a means for potentiating the action of antitumor preparations" AKADEMIYA NAUK LATVIISKOI S.S.R. IZVESTIYA. SERIYA KHIMICHESKAYA, IZDEVEJS ZINATNE TURGENEVA, RIGA, LV, no. 1, 1 January 1983 (1983-01-01), pages 122-123, XP009116902 ISSN: 0002-3248</b>
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>11.03.2009, 30.04.2009, 22.10.2009</b>		
<b>(33)</b> Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	<b>EP, EP, EP</b>		
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку:	<b>10.11.2011, Бюл.№ 21</b>		
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>10.04.2014, Бюл.№ 7</b>		
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	<b>PCT/EP2010/053094, 11.03.2010</b>		

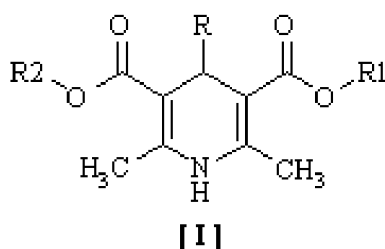
**(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМБІНАЦІЯ 5-ФТОРУРАЦИЛУ І ПОХІДНОГО 1,4-ДИГІДРОПІРИДИНУ ТА ЇЇ ЗАСТОСУВАННЯ В ЛІКУВАННІ РАКУ****(57) Реферат:**

Нові сполуки типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти загальної формули (I), де R - це нижча алкільна група, що є метилом або етилом, а R1 і R2 - це натрію карбоксилат-метиловий ефір, які дають синергічний цитотоксичний ефект в комбінації з 5-фторурацилом.

**UA 105034 C2**



Даний винахід стосується нових водорозчинних сполук типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти, що мають загальну формулу I



де R – це нижча алкільна група, що є метилом або етилом;

5 R<sub>1</sub> і R<sub>2</sub> – це натрію карбоксилат-метиловий ефір.

Нові водорозчинні сполуки типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти загальної формули I мають синергічний цитотоксичний ефект в комбінації з 5-фторурацилом.

Рівень техніки

10 Рак є провідною причиною смерті тварин і людей. Значні зусилля спрямовувались і продовжують спрямовуватись на отримання активних і безпечних протипухлинних препаратів для введення пацієнтам, що страждають від раку. Проблема, яка вирішується даним винаходом, полягає в тому, щоб запропонувати додаткові сполуки для застосування в лікуванні раку.

15 5-Фторурацил (5-FU) є аналогом фторованого піримідину, який широко застосовувався в якості антиметаболічного протиракового препарату для лікування і паліативного ведення різних форм раку, включаючи колоректальний рак, рак підшлункової залози, рак молочної залози і рак шлунку. Його часто призначають суб'єктам, у яких рак вважається некурабельним. Не дивлячись на продемонстровану клінічну корисність, існує низка серйозних недоліків, пов'язаних з використанням 5-фторурацилу, які можуть обмежувати дозу і які можуть робити пацієнтів нездатними переносити лікування з використанням 5-фторурацилу.

20 В цій галузі відчувається суттєва потреба в нових сполуках, композиціях і методах для лікування раку з поліпшеними терапевтичними показаннями за рахунок потенціювання протиракової дії 5-фторурацилу.

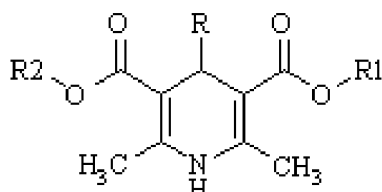
25 Динатрієва сіль карбоксилат-метилового ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти (Карбатон) з антиметастатичною активністю, яка описана в WO 80/00345 A (ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОГО СИНТЕЗА) 06.03.1980, є сполукою, найбільш подібною до сполук типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти, що мають загальну формулу I.

30 Той самий Карбатон було описано у ZIDERMANE, A, et al. Потенціюючий вплив динатрієвої солі 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбоніл гідроксиоцтової (гліколевої) кислоти на активність різних протипухлинних препаратів. Eksp. Oncol. 1987, vol.9, no.2, p.50-2, де він застосовувався для зменшення токсичності циклофосфану у мишей і потенціював цитостатичну активність циклофосфану, 5-фторурацилу і арабінозил цитозину проти лейкемії P388, мишачої саркоми 37 і саркокарциноми Уолкера. Як описувалось, Карбатон не демонстрував протипухлинної активності.

35 В роботі ULDRİKIS, J., et al. Похідні 1,4-дигідропіридину як засіб для потенціювання дії протипухлинних препаратів. LATVIJAS PSR ZINATNU AKADEMIJAS VESTIS, KIMIJAS SERIJA. 1983, vol.1, p.122-123 описується, що динатрієва сіль карбоксилат-метилового ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти (Карбатон) підвищує протипухлинну активність 5-фторурацилу.

Суть винаходу

45 Метою даного винаходу є запропонувати сполуки, які ефективно і синергічно потенціювали б цитотоксичну дію 5-FU. Ця мета досягається за допомогою нових водорозчинних сполук типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти загальної формули I

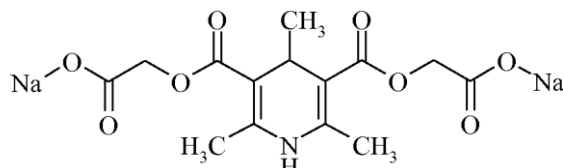
**[I]**

де R – це нижча алкільна група, така як метил або етил;

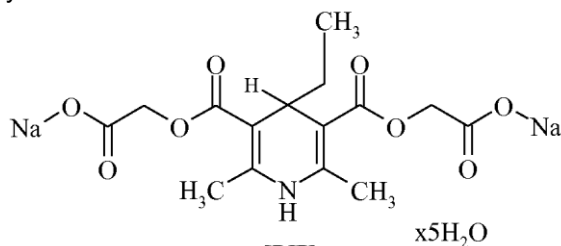
R<sub>1</sub> і R<sub>2</sub> – це натрію карбоксилат-метиловий ефір.

Сполуками згідно формули I є:

- 5     динатрієва сіль 2,4,6-триметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтова кислота формули IV

**[IV]**

- динатрієва сіль 4-етил-2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтова кислота формули VI

**[VI]**

10

Сполуки, що мають загальну формулу I, синергічно потенціюють цитотоксичну дію 5-FU і завдяки саме цій властивості сполуки загальної формули I можуть використовуватись в медицині. Сполуки загальної формули I можуть використовуватись як розчин для ін'єкції або як таблетки.

15

Метою даного винаходу є спосіб приготування вказаних сполук формули I.

Загальний процес для приготування сполук типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти включає конденсацію двох молекул похідного ефіру ацетооцтової кислоти, формальдегіду і аміаку з наступною обробкою гідроокисом натрію в етиловому спирті.

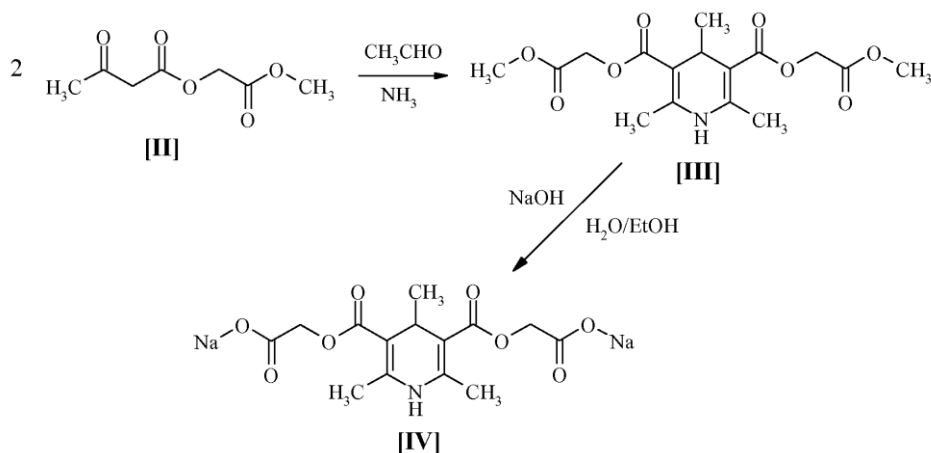
20

Даний винахід буде описаний більш докладно із залученням наступних не обмежуючих прикладів.

Кращий спосіб здійснення винаходу

Приклад 1

Приготування динатрієвої солі 2,4,6-триметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтової кислоти



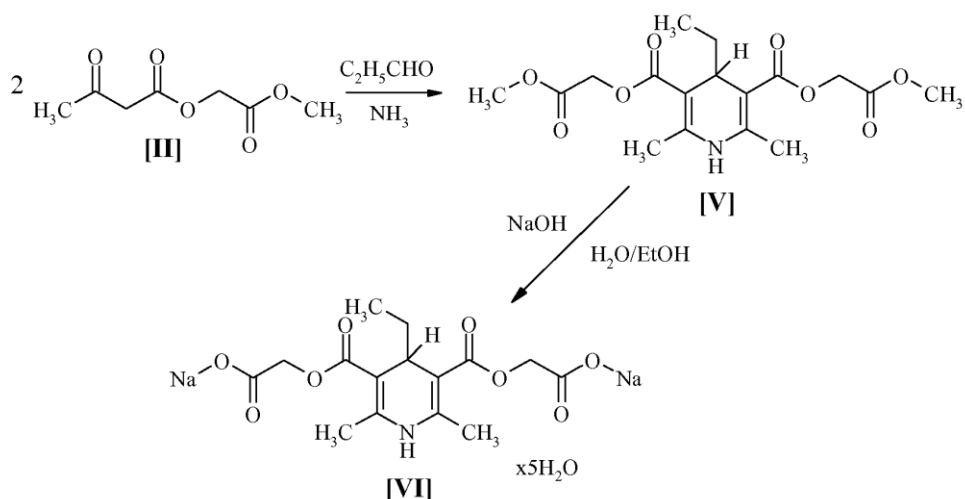
2-Метоксикарбоніл метиловий ефір ацетоацетату (2 моля) конденсували ацетальдегідом (1 моль) і аміаком (1 моль). Після цього 2,4,6-триметил-3,5-біс(метоксикарбонілметоксикарбоніл)-1,4-дигідропіридин обробляють гідроокисом натрію в етиловому спирті.

5 Динатрієву сіль 2,4,6-триметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтової кислоти висушили при температурі оточуючого середовища. Вихід 76 %. Температура плавлення 278-280°C.

<sup>1</sup>H-ЯМР спектр (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,90 (3H, d, J=6,5 Гц, 4-CH<sub>3</sub>); 2,19 (6H, s, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3,76 (1H, kv, J=6,5 Гц, 4-H); 4,15 і 4,23 (4H, АВ кватет, J=16 Гц, 3,5-COOCH<sub>2</sub>CO); 8,56 (1H, pl.s, NH).

10 Приклад 2

Приготування динатрієвої солі 4-етил-2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтової кислоти



15 2-Метоксикарбоніл метиловий ефір ацетоацетату (2 моля) конденсували з використанням пропіональдегіду (1 моль) і аміаку (1 моль). Після цього 4-етил-2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтову кислоту обробили гідроксидом натрію в етиловому спирті.

Динатрієву сіль 4-етил-2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтової кислоти висушили при температурі оточуючого середовища. Температура плавлення 65-67°C.

<sup>1</sup>H-ЯМР спектр (400 МГц, DMSO, TMS) δ: 0,59 (3H, tr, CH<sub>3</sub>); 1,23-1,24 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2,17 (6H, s, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3,80 (1H, tr, 4-CH); 4,10 (4H, kv, -CH<sub>2</sub>); 8,30 (1H, s, N-H).

20 Приклад 3

Нові сполуки типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти загальної формули I оцінювались на протиракову ефективність шляхом перевірки їх цитотоксичної дії на клітини раку молочної залози людини MDA-MB-435s in vitro окремо та в комбінації з 5-фторурацилом.

Клітинна культура і визначення життєздатності клітин

Клітини MDA-MB-435s засівали на 96-лункові планшети з модифікованим за способом Дульбекко живильним середовищем Ігла, яке містило 10 % фетальної бичачої сироватки, без антибіотиків і культивувалось впродовж 72 годин під дією різних концентрацій 5-фторурацилу і сполук типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти. Життєздатність клітин визначали за допомогою модифікованої проби на забарвлення кристалічним фіолетовим

(CVS), як її описано у [Segarman et al., 1985]. В короткому викладі: клітини фіксували 1 % глютаральдегідом впродовж 15 хвилин, промивали водою і фарбували 0,05 % кристалічним фіолетовим впродовж 15 хвилин при кімнатній температурі. Після видалення залишкового кристалічного фіолетового промиванням водопровідною водою барвник кристалічний фіолетовий вимивали буфером етиловий спирт: натрію цитрат (1:1) і вимірювали спектральну поглинальну здатність при 540 нм з використанням зчитувального пристрою для мікропланшетів.

Величини  $IC_{50}$ , які відповідають концентрації сполук, що викликає 50 % зменшення життєздатності клітин, обчислювались для індивідуальних сполук та їх комбінацій, як показано в Таблиці 1.

Результати  $IC_{50}$  комбінованої обробки сполуками типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти загальної формули I і 5-FU підсумовано в Таблиці 1.

Комбінація сполук		$IC_{50}$	
Сполука 1	Сполука 2	Сполука 1 [мкМ]	Сполука 2 [мкМ]
5-FU	-	30	-
-	Карбонат	-	1315
-	Динатрієва сіль 4-етил-2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтова кислота	-	>2104
-	Динатрієва сіль 2,4,6-триметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтова кислота	-	>2694
5-FU	Карбонат	6,7	0,67
5-FU	Динатрієва сіль 4-етил-2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтова кислота	3,7	0,37
5-FU	Динатрієва сіль 2,4,6-триметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтова кислота	1,4	0,14

Таблиця 1

$IC_{50}$  для 5-фторурацилу, динатрієвої солі карбоксилат-метилового ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти (Карбонату) і сполук типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти загальної формули I та їх комбінації (в молярному співвідношенні 10:1) як показник впливу на життєздатність клітин раку молочної залози людини MDA-MB-435s in vitro

Порівняльні експериментальні результати були одержані при використанні динатрієвої солі карбоксилат-метилового ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти (Карбонату) – окремо і в комбінації з 5-FU. Карбонат синергічно потенціює цитотоксичний ефект 5-FU в клітинах раку молочної залози людини MDA-MB-435s, але не так ефективно, як динатрієва сіль 2,4,6-триметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтова кислота та динатрієва сіль 4-етил-2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біс-карбонілоксиоцтова кислота, як показано в Таблиці 1.

Можливою фармацевтичною композицією для орального застосування, яка ілюструє, але не вичерпує даний винахід, є наступна рецептура для одержання таблеток:

Сполука формули I	1 мг
5-Фторурацил	10 мг
Крохмаль	20 мг
Тальк	10 мг
Кальцію стеарат	1 мг

Таблиця 2

Можливою фармацевтичною композицією для орального застосування, яка ілюструє, але не вичерпує даний винахід, є наступна рецептура для одержання капсул:

Сполука формули I	1 мг
5-Фторурацил	10 мг
Аеросил	5 мг

Лактоза	66 мг
Тальк	7 мг
Кальцію стеарат	3 мг

Таблиця 3

Можливою фармацевтичною композицією для орального застосування, яка ілюструє, але не вичерпує даний винахід, є наступна рецептура для отримання розчину та/або сиропу:

5

Сполука формули I	1 мг/мл
5-Фторурацил	10 мг/мл
Метил-р-гідроксибензоат	0,20-0,60 г
Пропіл-р-гідроксибензоат	0,01-0,1 г
Пропілен гліколь	6,15-8,30 г
Сорбіт	120,00-150,50 г
Гліцерин	10,00-15,00 г
Очищена вода	150 мл

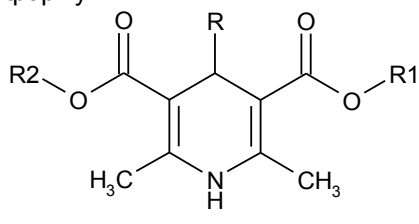
Таблиця

4

# ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

10

1. Сполука типу ефіру 2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти загальної формули I



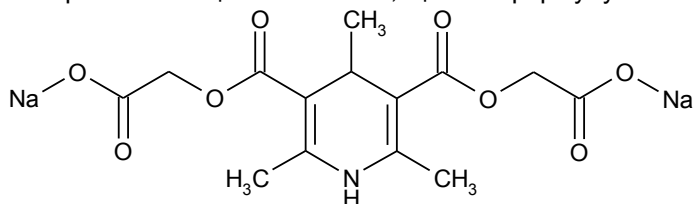
, [I]

де R - це нижча алкільна група, така як метил або етил;

15

R1 і R2 - це натрію карбоксилат-метиловий ефір.

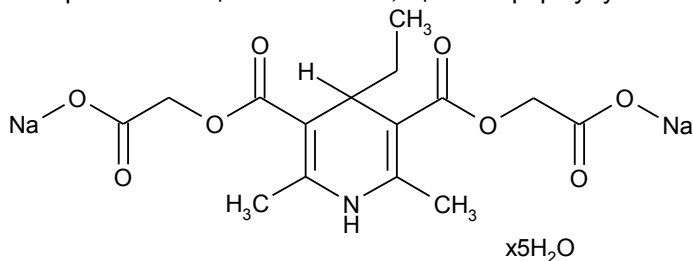
2. Сполука за пунктом 1, яка є динатрієвою сіллю 2,4,6-триметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біскарбонілоксіоцтової кислоти, що має формулу IV



[IV]

20

3. Сполука за пунктом 1, яка є динатрієвою сіллю 4-етил-2,6-диметил-1,4-дигідропіридин-3,5-біскарбонілоксіоцтової кислоти, що має формулу VI



[VI]

25

4. Сполука за будь-яким з пунктів 1-3 для використання як медикаменту.

5. Сполука за будь-яким з пунктів 1-3 для використання в лікуванні раку.

6. Застосування сполуки за будь-яким з пунктів 1-3 для виготовлення медикаменту для лікування раку.

7. Комбінаційний лікарський продукт, який містить сполуку за будь-яким з пунктів 1-3 і 5-фторурацил.
8. Комбінаційний лікарський продукт за пунктом 7, в якому переважне співвідношення активних інгредієнтів - сполуки за будь-яким з пунктів від 1 до 3 і 5-фторурацилу - становить від 1:100 до 100:1, а краще від 1:20 до 20:1, а найкраще 10:1.
- 5 9. Застосування комбінаційного лікарського продукту за пунктом 7 як медикаменту.
10. Застосування комбінаційного лікарського продукту за пунктом 7, який містить сполуку за будь-яким з пунктів 1-3 і 5-фторурацил, для виготовлення медикаментів для лікування раку.
- 10 11. Фармацевтична композиція, яка містить комбінаційний лікарський продукт за пунктом 7 разом з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм.

---

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601