



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Int. Cl.³: C 07 D 211/90
A 61 K 31/44

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

PATENT A5

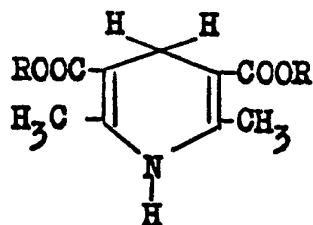
11

644 596

21 Gesuchsnummer:	2899/80	73 Inhaber:	Institut Organicheskogo Sinteza Akademii Nauk Latvyskoi SSR, Riga (SU)
22 Anmeldungsdatum:	07.08.1979	72 Erfinder:	Yan Rikhardovich Uldrikis, Elgava (SU) Ieva Ekabovna Preisa, Riga (SU) Gunar Yanovich Dubur, Riga (SU) Aina Avgustovna Zidermane, Riga (SU) Egils Arvidovich Biseniex, Riga (SU) Gunar Dzhimovich Tirzit, Riga (SU)
30 Priorität(en):	08.08.1978 SU 2655083	74 Vertreter:	Patentanwälte W.F. Schaad, V. Balass, E.E. Sandmeier, Zürich
24 Patent erteilt:	15.08.1984	86 Internationale Anmeldung:	PCT/SU 79/00064 (Ru)
45 Patentschrift veröffentlicht:	15.08.1984	87 Internationale Veröffentlichung:	WO 80/00345 (Ru) 06.03.1980

54 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester und Verfahren zu ihrer Herstellung.

57 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester der Formel



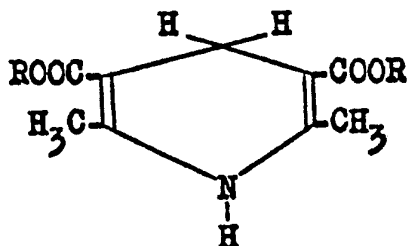
worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet.

Das Verfahren zur Herstellung der genannten Ester besteht darin, dass man Azetessigsäureester mit Hexamethylentetramin in Gegenwart von Ammoniumazetat in Äthylalkohol beim Siedepunkt desselben umsetzt.

Die Verbindungen weisen antimetastatische Eigenschaften auf, d.h. sie hemmen oder verhindern die Entstehung von Metastasen nach der Entfernung von primären Krebsgeschwüren.

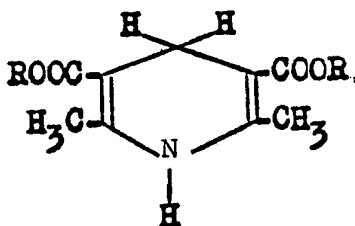
PATENTANSPRÜCHE

1. 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbonsäureester der Formel



worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet.

2. Verfahren zur Herstellung von 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbonsäureestern der Formel



worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet, dadurch gekennzeichnet, dass man Azetessigsäureester der Formel $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COOR}$, worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet, mit Hexamethylentetramin in Gegenwart von Ammoniumazetat in Äthylalkohol beim Siedepunkt desselben umsetzt.

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass man den Azetessigsäureester, das Hexamethylentetramin und das Ammoniumazetat in stöchiometrischem Verhältnis einsetzt.

Technisches Gebiet

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf Stoffe, die antimetastatische Eigenschaften und niedrige Toxizität aufweisen, sowie auf Verfahren zur Herstellung dieser Stoffe.

Stand der Technik

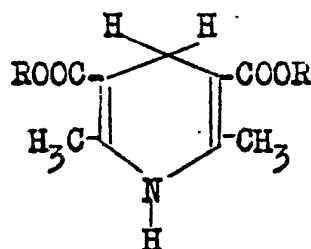
Die antimetastatische Therapie ist ein neues Teilgebiet der Chemotherapie von Geschwülsten und hat grosse Perspektiven, weil sie breite Möglichkeiten für chirurgische Eingriffe eröffnet, indem sie die Entstehung von Metastasen (sekundären Geschwülsten) nach der Entfernung der primären Geschwulst hemmt oder sogar beseitigt. Es ist bekannt British Medical Journal, vol. Nr. 5800, 1972, A.W. Serve, K. Hellmann «Metastases and the Normalisation of Tumor Blood Vessels bei ICRF-159; A New Type of Drug Action» p.p. 597-601; European Journal of Cancer, vol. 11, Nr. 3, 1975, A. Atlierfon «The Effect of ($\pm$) 1,2-bis(3,5-dioxopiperazin-1-yl)propane (ICRF-159) on Liver Metastases from a Hamster Lymphoma», 383-388, dass das antitumorale Präparat ICRF-159 (Razoxane; synthesized bei the Imperial Cancer Research Fund) ($\pm$) 1,2-Bis(3,5-dioxopiperazin-1-yl)propan eine gewisse antimetastatische Aktivität aufweist. Dieses Präparat besitzt aber bestimmte Toxizität (LD_{50} 1000 mg/kg) und Nebenwirkung (ruft Leukopenie, Thrombozytopenie und dispeptische Erscheinungen hervor) European Journal of Cancer, vol. 13, Nr. 8. R.E. Bellet, M. Rosenzweig, D.D. Van Hoff, J.S. Penta, T.H. Wassermann, F.M. Muggia «ICRF-159; Current Status and Clinical Prospects, pp. 1239-1298. Im sowjetischen Urheber-

schein Nr. 300 465 wird ein Verfahren zur Herstellung von 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylderivaten, welche oxidationshemmende Wirkung haben, beschrieben. In der GB-PS Nr. 1 426 499 wird eine pharmazeutische Zubereitung zur Behandlung von Lebererkrankungen, enthaltend 1,4-Dihydropyridinderivate, vorgeschlagen. Diese Derivate vermindern Peroxidvergiftungen an biologischen Membranen und üben eine Schutzwirkung bei durch Hydrazinsulfat verursachten Vergiftungen bei Versuchstieren aus. Weder der sowjetische Urheberschein noch die GB-PS enthalten Hinweise für die antimetastatische Wirksamkeit von 1,4-Dihydropyridinderivaten.

Darstellung der Erfindung

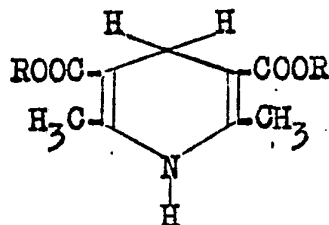
Der Erfindung wurde die Aufgabe zugrundegelegt, einen neuen Stoff zu entwickeln, der antimetastatische Aktivität und niedrige Toxizität aufweist.

Diese Aufgabe wird dadurch gelöst, dass erfindungsgemäss neue Stoffe, 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester der allgemeinen Formel



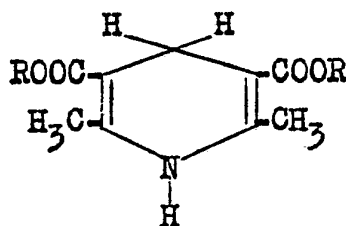
worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet, vorgeschlagen werden.

Es wird ausserdem auch ein Verfahren zur Herstellung von 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureestern der allgemeinen Formel



worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet, vorgeschlagen, dadurch gekennzeichnet, dass man Azetessigsäureester der allgemeinen Formel $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COOR}$, worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet, mit Hexamethylentetramin in Gegenwart von Ammoniumazetat im Medium von Äthylalkohol beim Siedepunkt desselben umsetzt, wobei die Azetessigsäureester der oben angeführten allgemeinen Formel, das Hexamethylentetramin und das Ammoniumazetat in stöchiometrischem Verhältnis eingesetzt werden können.

Die von uns als antimetastatische Aktivität aufweisende Verbindungen vorgeschlagenen 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester der allgemeinen Formel



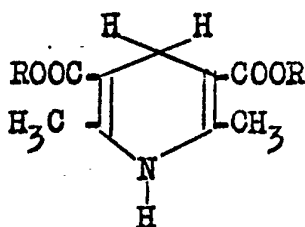
worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet, werden in guter Ausbeute unter milden Bedingungen aus zugänglichen Stoffen synthetisiert.

Ausserdem besitzen die 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester der oben genannten Formel eine niedrige Toxizität (praktisch unschädlich), d.h. LD₅₀ für diese Verbindungen beträgt 5000 mg/kg). Die 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester üben keine nachteilige Wirkung auf die normalen physiologischen Funktionen des lebenden Organismus aus.

Bester Weg zur Ausführung der Erfindung

Die durchgeführte Untersuchung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der von uns synthetisierten neuen Verbindung lieferte folgende Ergebnisse.

Gemäss den Angaben der Elementaranalyse einerseits und den spektroskopischen Kennwerten andererseits sind die erfindungsgemäss synthetisierten Stoffe wirklich 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester der allgemeinen Formel

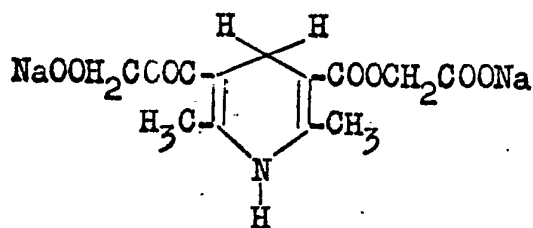


worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet.

Alle oben genannten von uns erhaltenen neuen Verbindungen sind feste feinkristalline, praktisch geruchlose gelbgrün gefärbte Stoffe.

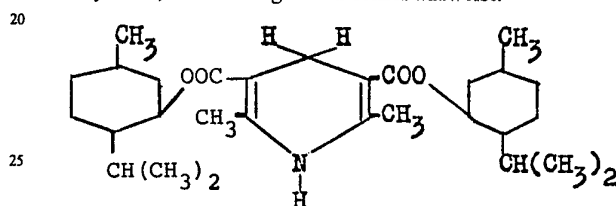
Jede individuelle Verbindung wird durch ihre Molekular- und Strukturformel, den Schmelzpunkt, die Löslichkeit und Spektralangaben gekennzeichnet.

So wird das Dinatriumsalz des 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäurekarboxylatmethylesters, das die folgende Strukturformel aufweist



durch einen Schmelzpunkt (eine Zersetzungstemperatur) von oberhalb 250°C gekennzeichnet, ist in Wasser gut, in Alkohol schwer löslich; das Ultraviolett-Spektrum in Wasser weist ein Absorptionsmaximum bei 236 nm (lg ε = 4,20) und 384 nm (lg ε = 3,88) auf; das Infrarot-Spektrum in Nuyol weist eine Absorptionsbande, die den Schwingungen der NH-Gruppe bei 3375 cm⁻¹ entspricht, und eine Absorptionsbande, die C=O bei 1697 cm⁻¹ entspricht, auf.

Der 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäuremethylester, der die folgende Formel aufweist:

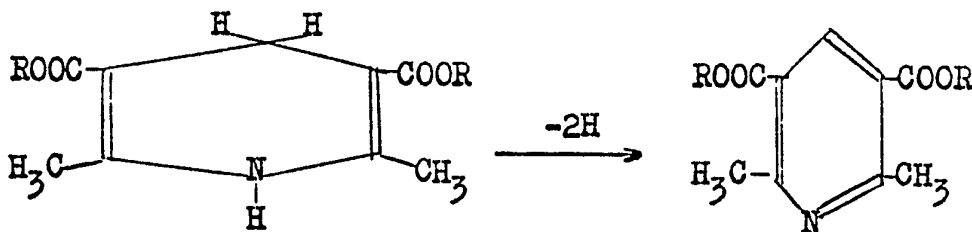


wird durch einen Schmelzpunkt von 171-173°C gekennzeichnet, ist in Alkohol, Chloroform, Azeton, Benzol gut löslich, in Wasser unlöslich; das Ultraviolett-Spektrum in Alkohol weist ein Absorptionsmaximum bei 232 nm (lg ε = 4,25) und 372 nm (lg ε = 3,91) auf; das Infrarot-Spektrum in Nuyol weist eine Absorptionsbande, die den Schwingungen der NH-Gruppe bei 3300 cm⁻¹ entspricht, und eine Absorptionsbande, die C=O bei 1705 cm⁻¹ entspricht, auf.

Die übrigen 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester weisen ähnliche physikalisch-chemische Eigenschaften auf.

Alle erhaltenen 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester fluoreszieren blaugrün in dem Ultraviolett-Licht.

Eine den synthetisierten 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureestern gemeinsame Eigenschaft ist die Abspaltung von Wasserstoff unter der Wirkung von (sowohl organischen als auch anorganischen) Oxydationsmitteln und der Übergang in ein entsprechendes Pyridinderivat nach dem Schema

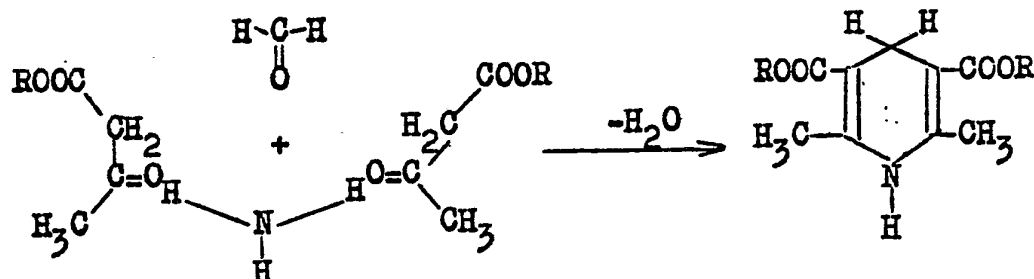


Dieser Übergang wird durch das Verschwinden in dem Ultraviolett-Spektrum des für die 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester charakteristischen Absorptionsmaximums bei 370-380 nm begleitet.

Das allgemeine Verfahren zur Herstellung von 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureestern ist die Kondensation zweier Moleküle eines Azetessigsäureesters der allgemeinen Formel CH₃COCH₂COOR, worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet, mit dem als Formalddehyd und Ammoniak lieferndes Reagens agierenden Hexamethylentetramin in Gegenwart von als Katalysator

und Ammoniak lieferndes Reagens agierendem Ammoniumazetat. Die Reaktion wird im Medium von Äthylalkohol bei dessen Siedepunkt durchgeführt. Alle genannten Reaktionskomponenten können in stöchiometrischem Verhältnis verwendet werden.

Die Reaktion verläuft nach dem allgemeinen Schema:



Die eingesetzten Azetessigsäureester der allgemeinen Formel $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COOR}$, worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet, erhält man entweder durch Umesterung von Azetessigsäureäthylester unter Kochen mit dem entsprechenden hochsiedenden Alkohol oder durch Umsetzung des Diketens mit dem entsprechenden Alkohol. Man kann die Azetessigsäureester auch nicht abtrennen, sondern die 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester stufenweise aus Diketen, dem entsprechenden Alkohol, Hexamethylentetramin und Ammoniumazetat erhalten.

Die antimetastatischen Eigenschaften der 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester wurden an Walker-Karzinom, Sarkom 536 und Lewis-Lungenkarzinom geprüft, indem man als Versuchstiere Mäuse und Ratten verwendete. Die Präparate wurden innerhalb von 10 Tagen verabreicht. Man wählte zwei Varianten der Verabreichung der genannten Stoffe an, und zwar vor der Entfernung der primären Geschwulst und nach der Entfernung der primären Geschwulst. Die Wirksamkeit der antimetastatischen Aktivität der 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester wurde nach der Zunahme der Lebensdauer der Versuchstiere, ausgedrückt in Prozenten, bezogen auf die Lebensdauer der kein Präparat erhaltenen und als Kontrolle dienenden Tiere, bewertet.

Die erhaltenen Ergebnisse haben ergeben, dass die 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester ausgeprägte antimetastatische Aktivität aufweisen.

So erhöhte das Dinatriumsalz des 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäurekarboxylatmethylesters, verabreicht an Raten in Dosen von 50 und 100 mg/kg nach der Entfernung des Walkers-Karzinoms, die Lebensdauer der Versuchsratten um 120% beziehungsweise 93%. Die Verabreichung der genannten Stoffe vor der Entfernung der primären Geschwulst bewirkt ebenfalls antimetastatische Aktivität der 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester, die zwar etwas geringer ist. Die Wirkung der Stoffe ist besonders in Versuchen mit Walker-Karzinom der Ratten ausgeprägt. Eine hohe Aktivität wird auch bei Sarkom 536 der Ratten, eine schwächere Wirkung bei Lewis-Lungenkarzinom der Mäuse festgestellt. Die Verwendung der 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester hat keine nachteilige Wirkung auf die physiologischen Funktionen und das Verhalten der Versuchstiere ausgeübt.

Zum besseren Verstehen der vorliegenden Erfindung sind die Angaben über die antimetastatische Wirksamkeit einiger 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester in der Tabelle zusammengestellt.

Zum besseren Verstehen der vorliegenden Erfindung werden folgende Beispiele für ihre Ausführung angeführt.

Beispiel 1

37 g 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureäthoxykarbonylmethylester löst man in 300 ml heissem Äthylalkohol auf und gibt eine Lösung von 9 g Natriumhydroxid in 25 ml Wasser zu. Die gebildete gelbe breiartige Masse erhitzt man 15 Minuten bei einer Temperatur von 90°C, gibt 100 ml Wasser zu und filtriert die erhaltene heisse Lösung. Nach der Abkühlung trennt man 32 g (69% der Theorie) Dinatriumsalz von 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäurekarboxylatmethylester in Form eines gelben kristallinen Stoffes vom Schmelzpunkt über 250°C ab. Der Stoff wird aus 70%igem Äthylalkohol umkristallisiert.

$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_6\text{Na}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$:

gefunden:	C 33,4	H 4,3	N 3,0
berechnet:	C 33,5	H 5,4	N 3,0

Beispiel 2

Ein Gemisch von 31 g Azetessigsäure-β-zyanäthylester, 12,3 g Hexamethylentetramin, 14 g Ammoniumazetat und 200 ml Äthylalkohol kocht man 30 Minuten. Nach der Abkühlung trennt man 28 g (92% der Theorie) 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäure-β-zyanäthylester in Form eines gelben kristallinen Stoffes ab, der nach der Umkristallisation aus Äthylalkohol einen Schmelzpunkt von 165-169°C aufweist.

$\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$:

gefunden:	C 58,7	H 5,6	N 14,2
berechnet:	C 59,9	H 5,7	N 13,9

Beispiel 3

In 400 ml Benzol löst man 100 g Menthol auf, gibt 1 ml Triäthylamin zu, gibt beim Sieden unter Rühren innerhalb von 1 Stunde 55 ml Diketen zu, destilliert das Benzol unter erniedrigtem Druck (150 Torr) ab. Das verbliebene Öl, das im wesentlichen aus Azetessigsäurementhylester besteht, löst man in 400 ml Äthylalkohol auf, gibt 28 g Hexamethylentetramin und 5 g Ammoniumazetat zu und kocht das Reaktionsgemisch auf Wasserbad 30 Minuten. Nach der Abkühlung wird der ausgefallene gelbe Stoff abfiltriert und aus dem Äthylalkohol umkristallisiert. Man erhält 105 g (69% der Theorie) 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäurementhylester in Form eines hellgelben kristallinen Stoffes vom Schmelzpunkt 180-182°C.

$\text{C}_{29}\text{H}_{47}\text{NO}_4$:

gefunden:	C 73,7	H 9,9	N 2,8
berechnet:	C 73,6	H 10,0	N 3,0

Beispiel 4

Ein Gemisch von 22,2 g Azetessigsäurebornylester, 7 g Hexamethylentetramin, 3,9 g Ammoniumazetat und 150 ml

Äthylalkohol kocht man 30 Minuten. Nach der Abkühlung fällt ein gelber Stoff aus, der abfiltriert und aus dem Äthylalkohol umkristallisiert wird. Man erhält 12 g (52% der Theorie) 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäurebornylester in Form eines gelben kristallinen Stoffes vom Schmelzpunkt 171-173°C.

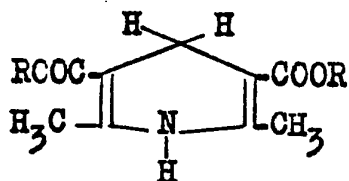
$C_{29}H_{43}NO_4$:

gefunden: C 74,1 H 10,9 N 2,9

berechnet: C 74,2 H 10,8 N 3,0

Gewerbliche Verwertbarkeit

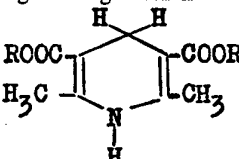
Die erfindungsgemässen neuen Stoffe, die 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester der allgemeinen Formel



worin R substituiertes Alkyl oder Terpenyl bedeutet, können in der Chemotherapie von Geschwülsten als Stoffe Verwendung finden, die antimetastatische Eigenschaften aufweisen.

TABELLE

Einfluss der 2,6-Dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarbonsäureester auf die Lebensdauer der Versuchstiere

Verbindung der allgemeinen Formel	Bedingungen der Verabreichung	Tagesdosis des Stoffes, mg/kg	Lebensdauer, in %, bezogen auf Kontrolle		
			Sarkom 536 (Ratten)	Walker-Karzinom (Ratten)	Lewis-Lungenkarzinom (Mäuse)
 worin R = CH_2COONa	vor der Entfernung der primären Geschwulst	50	—	130	—
		100	152	150	—
		150	138	—	—
(Dinatriumkarboxylat-methylester)	nach der Entfernung der primären Geschwulst	50	129	220	—
		100	—	193	120
		150	132	112	113
worin R = $C_{10}H_{19}$ (Menthylester)	vor der Entfernung der primären Geschwulst	150	—	116	—
		300	—	165	—