Octrooiraad

(10)A **Terinzagelegging** (11) **8003299**

Nederland (19) **NL**

(54) **Middel voor de bestrijding van de groei van kankercellen en werkwijze ter bereiding daarvan.**

(51) Int.Cl³.: C07D487/04, A61K31/505.

(71) Aanvrager: Dr. Karl Thomae Gesellschaft mit beschränkter Haftung te Biberach a.d. Riss, Bondsrepubliek Duitsland.

(74) Gem.: Ir. C.M.R. Davidson c.s.
Octrooibureau Vriesendorp & Gaade
Dr. Kuyperstraat 6
2514 BB 's-Gravenhage.

(21) Aanvrage Nr. 8003299.

(22) Ingediend 5 juni 1980.

(32) Voorrang vanaf 3 augustus 1979.

(33) Land van voorrang: Bondsrepubliek Duitsland (DE).

(31) Nummer van de voorrangsaanvrage: P 2931573 .

(23) - -

(61) - -

(62) - -

(43) Ter inzage gelegd 5 februari 1981.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Middel voor de bestrijding van de groei van kankercellen en werkwijze ter bereiding daarvan.

Uit de literatuur is bekend dat de verbinding 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidino-pyrimido/5.4-d/pyrimidine en de fysiologisch aanvaardbare zuuradditiezouten daarvan op grond van de remwerking daarvan op de thrombocyten-aggregatie de tumorcel-hechting aan het vaten-endothelium remt en aldus de metastasen-vorming verhindert (zie bijvoorbeeld H. Gastphar c.s., Acta Med. Scand. 190, 269-271, 525 (1971) en Med. Welt 23, 606-608 (1972)).

Verrassenderwijze werd nu gevonden dat 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido/5,4-d/pyrimidine en de fysiologisch aanvaardbare zuuradditiezouten daarvan de groei van kankercellen, bijvoorbeeld van leukemie-cellen, verhindert. De remwerking op de groei van bijvoorbeeld leukemie-cellen werd op de volgende wijze vastgesteld.

(1) Invloed van 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido-/5.4-d/pyrimidine op de vermenigvuldiging van L 1210-tumorcellen in celcultures:

Onder geschikte celcultuur-omstandigheden vertonen L 1210-cellen (Y. Carpentier c.s., 1978) een exponentionele groeisnelheid en verdubbelen zij in aantal 2,23 (± 0,21) maal per 24 uren (gemiddelde waarde ± SEM uit 16 proeven in drievoudige uitvoering).

Wanneer men 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido-/5.4-d/pyrimidine in een eindconcentratie van 1×10^{-4} mol/liter toevoegt aan de voedingsvloeistof van de celcultuur bereikt men een verminderde groeisnelheid. Deze bedraagt dan

1,98 (± 0,25) cel-verdubbelingen per 24 uren (gemiddelde waarde ± SEM uit 6 proeven in drievoudige uitvoering). (De 50 %'s remdosis bedraagt 2×10^{-4} mol/liter).

Het verschil is statistisch beschouwd in hoge mate significant ($p = 0,0002$).

(2) Cytotoxisch effect op L 1210-cellen in vitro:

2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido/5.4-d/-pyrimidine in een eindconcentratie van 1×10^{-3} mol/liter doodt in een celcultuur L 1210-tumorcellen. Daarbij worden 5 % van de cellen binnen 4 uren gedood. Dit percentage stijgt snel tot een waarde van 50 % na 8 uren en bereikt een afstervingsgetal van 90 % na een incubatieduur van 12 uren.

De LD_{50} voor een celcultuur van 24 uren bedraagt 5×10^{-4} M.

Op grond van de goede verdraagbaarheid van 2.6-bis(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido/5,4-d/pyrimidine zijn de ter verkrijging van de gewenste remwerking op de groei van tumorcellen, bijvoorbeeld leukemie-cellen, benodigde hoge doses zonder meer toepasbaar. Bijvoorbeeld bedraagt de acute toxiciteit (LD_{50}) van 2.6-bis(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido/5.4-d/-pyrimidine bij orale toediening daarvan bij de muis 465 mg/kg, bij de rat meer dan 3 g/kg en bij het guinese biggetje meer dan 3 g/kg.

De voor de farmaceutische toepassing benodigde dagelijkse dosis bedraagt 50-100 mg/kg, dus al naar gelang het gewicht van de te behandelen mensen 1,6-8 g, bij voorkeur echter 2-6 g, verdeeld over 3-4 doses. De afzonderlijke dosis bedraagt dus 0,4-2 g, bij voorkeur echter 0,5-1,5 g, 3 tot 4 maal dagelijks. Hiertoe kunnen2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidino-pyrimido/5.4-d/pyrimidine zowel als de fysiologisch aanvaardbare zuuradditiezouten daarvan met anorganische of organische zuren in de gebruikelijke farmaceutische preparaatvormen, zoals dragees, tabletten, capsules, poeders, oplossingen, ampullen, suspensies of zetpillen, die de gebruikelijke dragerstoffen en/of verdunningsmiddelen bevatten, worden gebruikt. De uitvinding wordt verder toegelicht maar niet beperkt door de volgende voor-

beelden.

Voorbeeld I

Capsules met 400 mg 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidino-pyrimido/5,4-d/pyrimidine.

Samenstelling:

1 capsule bevat

Werkzame stof	400,0 mg
Maiszetmeel	80,0 mg
Melksuiker	18,0 mg
Magnesiumstearaat	2,0 mg
	500,0 mg

Bereiding.

De bestanddelen worden homogeen gemengd en in een capsule-vulmachine in harde gelatine-steekcapsules met een grootte van 00 afgevuld, waarbij het capsule-vulgewicht voortdurend wordt gecontroleerd. Indien nodig worden de capsules vervolgens nog gepolijst. Capsule-vulling: 500 mg; capsulegrootte: 00.

Voorbeeld II

Dragees met 500 mg 2.6-bis(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido/5.4-d/pyrimidine.

1 Drageekern bevat:

Werkzame stof	500,0 mg
Melksuiker	50,0 mg
Maiszetmeel	40,0 mg
Polyvinylpyrrolidon	8,0 mg
Magnesiumstearaat	2,0 mg
	600,0 mg

Bereiding.

De werkzame stof, melksuiker en zetmeel worden gemengd en met het in water opgeloste bindmiddel gelijkmatig bevochtigd. De gegranuleerde massa wordt gedroogd, gezeefd en met het smeermiddel gemengd. Het gerede mengsel wordt tot dragee-kernen geperst. Stempel: 12 mm, rond biconvex.

Dragering.

De boven beschreven kernen worden in een drageer-

ketel met een suikerpasta tot 660 mg en vervolgens met suiker stroop tot 680 mg gedrageerd.

Voorbeeld III

Granulaat met 4 g 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidino-pyrimido-/5.4-d/pyrimidine per portie.

Werkzame stof	4.000,0 mg
Maiszetmeel	500,0 mg
Rietsuiker	500,0 mg
	5.000,0 mg

Bereiding.

De werkzame stof en maiszetmeel worden homogeen gemengd en met een 70 %'s oplossing van de suiker in water gegranuleerd. Het granulaat wordt gedroogd. Na het afzeven van de poederbestanddelen wordt het granulaat in een drageerketel met suikerstrook bekleed.

Voorbeeld IV

Ampullen met 500 mg 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidino-pyrimido/5.4-d/pyrimidine per 10 ml

1 ampul bevat:

Werkzame stof	500,0 mg
Wijnsteenzuur	130,0 mg
Natriumchloride	45,0 mg
Water voor injectie-doeleinden tot	10,0 ml

Bereiding.

In de van te voren bereide wijnsteenzuuroplossing worden de werkzame stof en het isotonische middel opgelost, waarna met water voor injectie-doeleinden tot het eindvolume wordt aangevuld.

Voorbeeld V

Infusie-oplossing met 8 g 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidino-pyrimido/5,4-d/pyrimidine per 500 ml.

Werkzame stof	8000,0 mg
1N HCl	q.s.
1N NaOH tot pH 5,5	q.s.
Natriumchloride	4000,0 mg
Water voor injectie-doeleinden tot	500 ml

Bereiding.

Aan een suspensie van de werkzame stof wordt onder zacht verwarmen druppelsgewijze zoutzuur toegevoegd totdat de werkzame stof volledig is opgelost. Door toevoeging van de grootste hoeveelheid van het water voor injectie-doeleinden wordt de oplossing op kamertemperatuur gebracht en met natriumhydroxyde ingesteld op een pH van 5,5. Na het oplossen van het isotonische middel wordt water voor injectie-doeleinden toegevoegd tot het eindvolume is bereikt.

Conclusies

1. Geneesmiddel ter bestrijding van de groei van kankercellen, bevattende 2.6-bis(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido/5.4-d/pyrimidine en/of fysiologisch aanvaardbare zuuradditiezouten daarvan met anorganische of organische zuren benevens een of meer inerte dragerstoffen of verdunningsmiddelen.

2. Geneesmiddel volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat de dagelijkse dosis bij mensen 50-100 mg/kg, verdeeld over drie-vier doses, bedraagt.

3. Geneesmiddel volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat de afzonderlijke dosis 0,4-2 g, bij voorkeur 0,4-1,5 g, 3-4 maal dagelijks bedraagt.

4. Toepassing van 2.6-bis(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido/5.4-d/pyrimidine en de fysiologisch aanvaardbare zuuradditiezouten daarvan met anorganische of organische zuren ter bestrijding van de groei van kankercellen.

5. Toepassing van 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido/5.4-d/pyrimidine en de fysiologisch aanvaardbare zuuradditiezouten daarvan met anorganische of organische zuren ter bereiding van een geneesmiddel voor de bestrijding van de groei van kankercellen.

6. Werkwijze ter bereiding van een geneesmiddel voor de bestrijding van de groei van kankercellen, met het kenmerk, dat 2.6-bis-(diethanolamino)-4-piperidinopyrimido/5.4-d/-pyrimidine en/of de fysiologisch aanvaardbare zuuradditiezouten daarvan met anorganische of organische zuren samen met een of meer dragerstoffen of verdunningsmiddelen tot een galenische preparaatvorm worden verwerkt.

7. Geneesmiddelen en werkwijzen als beschreven in de beschrijving en/of voorbeelden.