



(51) МПК
A61K 31/19 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012121271/15, 24.05.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 24.05.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 24.05.2012

(45) Опубликовано: 20.06.2013 Бюл. № 17

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2006108276 A1, 19.10.2006. BRIGITTE SINN ET AL.: «Caffeine confers radiosensitization of PTEN-deficient malignant glioma cells by enhancing ionizing radiation-induced G1 arrest and negatively regulating Akt phosphorylation.» / Mol Cancer Ther. 2010, VOL.9, P.P.480-488. KATSUHIRO HAYASHI ET AL.: «Impact of serum caffeine monitoring on (см. прод.)

Адрес для переписки:

107023, Москва, ул. Б. Семеновская, 49,
 оф.404, ООО Центр инновации и развития
 "ИННОТЭК"

(72) Автор(ы):

**Круглый Борис Игоревич (RU),
 Тюляев Александр Иванович (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

Круглый Борис Игоревич (RU)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической композиции для лечения онкологических заболеваний на основе дихлорацетата натрия, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит теобромин (3,7-диметилксантин) или кофеин (1,3,7-триметилксантин) или

параксантин (1,7-диметилксантин), при этом отношение дихлорацетата натрия к выбранной из указанных метильной производной ксантина составляет 1:1-10:1. Фармацевтическая композиция обеспечивает синергетический эффект. 6 ил., 9 табл., 9 пр.

(56) (продолжение):

adverse effects and chemotherapeutic responses to caffeine-potentiated chemotherapy for osteosarcoma» / J Orthop Sci, 2009, VOL.14, P.P.253-258. Пархоменко Н.Т. и др. К механизму противоопухолевого действия метилксантинов: 5-ая Международная конференция. - Киев, Тезисы.

RU 2 484 814 C1

RU 2 484 814 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 31/19 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2012121271/15, 24.05.2012**

(24) Effective date for property rights:
24.05.2012

Priority:

(22) Date of filing: **24.05.2012**

(45) Date of publication: **20.06.2013 Bull. 17**

Mail address:

**107023, Moskva, ul. B. Semenovskaja, 49, of.404,
OOO Tsentri innovatsii i razvitija "INNOTEhK"**

(72) Inventor(s):

**Kruglyj Boris Igorevich (RU),
Tjuljaev Aleksandr Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

Kruglyj Boris Igorevich (RU)

(54) PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATMENT OF ONCOLOGICAL DISEASES

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention relates to pharmaceutical composition for treatment of oncological diseases based on sodium dichloroacetate, characterised by fact, that it additionally contains theobromine (3,7-dimethylxanthine) or caffeine (1,3,7-

threemethylxanthine) or paraxanthine (1,7-dimethylxanthine), with ratio of sodium dichloroacetate to xanthine methyl derivative of those mentioned above constitutes 1:1-10:1.

EFFECT: pharmaceutical composition ensures synergetic effect.

9 tbl, 9 ex, 6 dwg

R U 2 4 8 4 8 1 4 C 1

R U 2 4 8 4 8 1 4 C 1

Изобретение относится к области медицины и касается лекарственного средства, предназначенного для лечения различных форм онкологических заболеваний.

Известно, что ранний канцерогенез происходит в гипоксическом микроокружении, при этом метаболизм клеток при опухолевой трансформации переключается на анаэробный гликолиз (Gatenby RA, Gillies RJ (2004) Why do cancers have high aerobic glycolysis, *Nat Rev Cancer* 4: 891-899). При этом индуцируется фактор HIF (Hypoxia-inducible factor), который, в свою очередь, вызывает индукцию экспрессии нескольких видов транспортеров глюкозы и большинства ферментов гликолиза (Semenza GL, Roth PH, Fang HM and Wang GL (1994) Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem*, 269, 23757-23763. | PubMed | ISI | ChemPort). HIF индуцирует экспрессию киназы пируватдегидрогеназы (PDK) (Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab.* 2006 Mar; 3(3):177-85). Лактоацидоз способствует опухолевому росту путем ремоделирования-деструкции внеклеточного матрикса, увеличения метастатического потенциала и подвижности клеток и активации ангиогенеза. Хотя в некоторых случаях опухоли васкуляризируются и перестают быть в значительной степени в гипоксических условиях (с возможным сохранением обедненных кислородом зон из-за недостаточности васкуляризации), выбор клетками аэробного гликолиза сохраняется. Это может свидетельствовать о том, что такое изначальное адаптивное метаболическое приспособление обеспечивает выживаемость и селекцию раковых клеток - трансформация в гликолитический фенотип способствует устойчивости к апоптозу (Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab.* 2006 Mar; 3(3):177-85; Plas DR & Thompson CB. Cell metabolism in the regulation of programmed cell death. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 13 75-78.2002; Kim JW, Dang CV Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends Biochem Sci* 30: 142-150. 2005). Митохондриальный мембранный потенциал и продукция активных форм кислорода (АФК) зависят от цепи переноса электронов (ЭТЦ), деполяризация и возрастание АФК ассоциированы с открыванием пор МТР (Zamzami N, Kroemer G The mitochondrion in apoptosis: how Pandora's box opens. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2: 67-71,2001) и высвобождением проапоптотических факторов, в частности, цитохрома С и апоптоз-индуцирующего фактора.

В ряде клеточных линий показана гиперполяризация митохондрий (E D Michelakis, L Websterl and J R Mackey, Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer *British Journal of Cancer* (2008) 99, 989-994) по сравнению с нормальными клетками (Sébastien Bonnetl, Stephen L. Archer Investigation on the mechanism of dichloroacetate (DCA) induced apoptosis in breast cancer. *Journal Breast Cancer Research and Treatment Publisher Springer Netherlands ISSN 0167-6806 p.1573. 2009*), в ряде других опухолевых линий, по нашим наблюдениям, возможны флуктуации уровня АФК. Снижение поступления пирувата, по-видимому, приводит к падению продукции АФК и закрытию редоксзависимых каналов, к митохондриальной гиперполяризации, и, как следствие, к устойчивости к апоптозу. Необходимо также учитывать, что апоптоз - энергозависимый активный процесс, требующий аденозин трифосфата (АТФ), в этой связи более эффективное энергообеспечение будет также способствовать апоптозу.

Наиболее близким аналогом (прототип) заявленного лекарственного средства является известный (Evangelos D Michelakis, MD. Open-Labeled, Clinical and Pharmacology Study of Dichloroacetate (DCA) University of Alberta Clinical Trials.gov record. Feb. 12, 2009.

NCT01029912; ... Edward Garon. A Multicenter, Phase II Open-Labeled, Single-Arm Clinical and Pharmacology Study of Dichloroacetate (DCA) in Patients With Previously Treated Metastatic Breast or Non-Small Cell Lung Cancer" The current ClinicalTrials.gov record. NCT01029925), проходящий в настоящее время мультицентровые клинические

5 исследования лекарственный препарат Dichloroacetate Sodium (DCA) - он же дихлорацетат натрия (ДХА), который используется в качестве средства для лечения лактоацидоза и различных видов опухолевых заболеваний ((WO/2006/108276) A METHOD OF TREATING CANCER USING DICHLOROACETATE Biblio. Data Description Claims National

10 PhaseNoticesDocuments Latest bibliographic data on file with the International Bureau Publication Number: WO/2006/108276 International Application No.: PCT/CA2006/000548 Publication Date: 19.10.2006 International Filing Date: 11.04.2006 Int. Class.: A61K 31/19 (2006.01), A61P 35/00 (2006.01), C12Q 1/00 (2006.01) Applicants: THE GOVERNORS OF THE UNIVERSITY OF ALBERTA [CA/CA]; #4000 Research Transition Facility, 8308 - 114 Street,

15 Edmonton, Alberta T6G 2E1 (CA) (All Except US).MICHELAKIS, Evangelos [CA/CA]; Priority Data: 60/669,884 11.04.2005 US). Его противоопухолевая активность в качестве индуктора апоптоза опухолевых клеток доказана в экспериментальных работах (L. Ko, J. Allalunis-Turner; Canada Dichloroacetate (DCA) induced apoptosis in breast cancer.J ClinOncol 27, 2009 (suppl; abstr e14637); Bonnet S, Archer S. L. Investigation on the mechanism of dichloroacetate (DCA) induced apoptosis breast cancer. Journal Breast Cancer Research and Treatment Publisher Springer Netherlands ISSN 0167-6806 p.1573. 2009). Проведенные исследования в работах (L. Ko, J. Allalunis-Turner; Canada Dichloroacetate (DCA) induced apoptosis in breast cancer.J ClinOncol 27, 2009 (suppl; abstr e14637); Bonnet S, Archer S.L. Investigation on the mechanism of dichloroacetate (DCA) induced apoptosis breast cancer. Journal Breast Cancer Research and Treatment Publisher Springer Netherlands ISSN 0167-6806 p.1573. 2009) доказывают индукцию апоптоза ДХА в глиобластоме, в клеточных культурах рака эндометрия, простаты и немелкоклеточного рака легких. Кроме того,

30 убедительно доказана способность ДХА индуцировать апоптоз в культурах клеток рака молочной железы. При этом было показано, что в культуре клеток аденокарциномы молочной железы крысы переключение гликолитического фенотипа при воздействии ДХА коррелировало с ингибированием пролиферации без какого-либо увеличения гибели клеток. Согласно опубликованным данным положительный эффект от применения препарата у 90 больных отмечается в 67% случаев, причем в исследование включались только пациенты с метастатическими формами рака, у которых традиционные методы терапии были неэффективны.

Известны также усиливающие эффекты метильных производных ксантина -

40 блокаторов кальциевых ионных каналов L-типа на противоопухолевую химиотерапию. Заметное, хотя и не сильно выраженное противоопухолевое действие метильных производных ксантина также связывают с их способностью к модуляции кальциевых ионных каналов плазматической мембраны и индукции апоптоза опухолевых клеток (Sinn B, Tallen G, Schroeder G, Grassl B, Schulze J, Budach V, Tinhofer I. Caffeine confers radiosensitization of PTEN-deficient malignant glioma cells by enhancing ionizing r Mol radiation-induced G1 arrest and negatively regulating Akt phosphorylation. Cancer Ther. 2010 Feb;9(2):480-8. Epub 2010 Jan 26; ... Hayashi K, Tsuchiya H, Yamamoto N, Shirai T, Yamauchi K, Takeuchi A, Kawahara M, Miyamoto K, Tomita K.J Orthop Sci. 2009 May; 14(3):253-8. Epub 2009 Jun 5, Impact of serum caffeine monitoring on adverse effects and chemotherapeutic responses to caffeine-potentiated chemotherapy for osteosarcoma; John P Alaol and Per Sunnerhagenl, The ATM and ATR inhibitors CGK733 and caffeine suppress cyclin D1 levels and inhibit cell proliferation Radiat Oncol. 2009; 4:51; Пархоменко Н.Т., Шарыкина

50

Н.И., Куксенюк А.М., Яценко Л.Н., Карацуба Т.А., Олейник Т.М., Пенделюк С.И. К механизму противоопухолевого действия метилксантинов. 5-я Международная конференция. Тезисы. Киев (1997 г.).

5 Такие эффекты метильных производных ксантина реализуются далее на системном уровне клетки путем активирующего влияния на систему натрий-кальциевого обмена плазматической мембраны, что в дополнение к высвобождающему действию этих веществ на кофеин зависимый пул кальция из эндоплазматического ретикулума будет вести к уменьшению суммарного пула кальция в клетке, т.е. в конечном итоге такой механизм должен приводить к дополнительному противоопухолевому действию (John P Alaol and Per Sunnerhagen, The ATM and ATR inhibitors CGK733 and caffeine suppress cyclin D1 levels and inhibit cell proliferation Radiat Oncol. 2009; 4: 51; ... Пархоменко Н.Т., Шарыкина Н.И., Куксенюк А.М., Яценко Л.Н., Карацуба Т.А., Олейник Т.М., Пенделюк С.И. К механизму противоопухолевого действия метилксантинов. 5-я
10 Международная конференция. Тезисы. Киев (1997 г.).

Задача настоящего изобретения заключается в расширении ассортимента эффективных лекарственных средств для лечения онкологических заболеваний.

Технический результат заключается в создании новой фармацевтической композиции указанного назначения.
20

Указанный технический результат достигается за счет того, что фармацевтическая композиция для лечения онкологических заболеваний на основе дихлорацетата натрия дополнительно содержит теобромин (3,7-диметилксантин) или кофеин (1,3,7-триметилксантин) или параксантин (1,7-диметилксантин), при этом отношение дихлорацетата натрия к выбранной из указанных метильных производных ксантина составляет 1:1-10:1.
25

Указанные диапазоны соотношений определяются колебаниями оптимальных терапевтических концентраций действующих активных компонентов метильных производных ксантина - 50-520 ммоль/л и ДХА - 10-100 ммоль/л.
30

Заявленная фармацевтическая композиция - гомогенизированная смесь из двух активных фармацевтических субстанций - дихлорацетата натрия (ДХА) и метильных производных ксантина и, при необходимости, фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.
35

В качестве химических производных ксантина выступают его метильные производные, а именно: кофеин (1,3,7-триметилксантин), параксантин (1,7-диметилксантин) и теобромин (3,7-диметилксантин).

Фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами при изготовлении лекарственных препаратов на основе заявленной композиции могут быть, например:
40 а) в таблетках: целлюлоза микрокристаллическая, крахмал картофельный, тальк, стеариновая кислота, титана диоксид, лактоза (сахар молочный), эмульсия КЭ10-16, полисорбат-80; б) в капсулах: кукурузный крахмал, полисорбат-80 (пластификатор), краситель пищевой е 133, краситель пищевой е 17, желатин, в) в суспензии для приема
45 внутрь: сахароза, натрия гидроксид, метилпарагидроксибензоат, этанол 96%, натрия цитрат, кислота лимонная моногидрат, ароматы фруктовые (банана, мандарина, апельсина и пр.), ванилиновая отдушка, малиновая отдушка, эфиры полиглицостеариловой кислоты, метилгидроксипропилцеллюлоза, карбомер, натрия цикломат, натрия сахарин, г) в растворе для приема внутрь: лимонной кислоты моногидрат, натрия гидрофосфата дигидрат, натрия хлорид, бензалкония хлорид.
50

Учитывая действие ДХА, выражающееся в индукции апоптоза при увеличении внутриклеточного содержания пирувата, а также эффект метильных производных

ксантина по активации окислительного фосфорилирования и увеличению содержания АТФ, была исследована проапоптотическая активность различных комбинаций ДХА и метилксантинов на клеточных линиях HeLa и Jurkat, при этом особое внимание уделялось функционированию митохондрий и митохондриальному звену.

Результаты исследований иллюстрируются следующими графическими материалами:

- Фиг.1 - Диаграмма цитотоксичности теобромина (Т), дихлорацетата натрия (ДХА) и их комбинации (Т+ДХА). Для наглядности результаты (величины оптического поглощения формазаном) представлены в % от контроля с инверсией шкалы.

- Фиг.2 - Диаграмма индукции апоптоза теоброминем (Т), дихлорацетатом натрия (ДХА) и их комбинацией (Т+ДХА).

- Фиг.3 - Диаграмма цитотоксичности кофеина (КОФ), ДХА и их комбинации 9КОФ+ДХА).

- Фиг.4 - Диаграмма индукции апоптоза кофеином (КОФ), ДХА и их комбинацией (КОФ+ДХА).

- Фиг.5 - Диаграмма цитотоксичности параксантина (ПК), ДХА и их комбинации (ПК+ДХА).

- Фиг.6 - Диаграмма индукции апоптоза параксантином (ПК), ДХА и их комбинацией (ПК+ДХА).

На представленных диаграммах (фиг.1-6) приводятся данные исследований, подтверждающие выводы о более высокой эффективности заявленной фармацевтической композиции по сравнению с действием отдельных, входящих в ее состав компонентов.

Объекты исследования: клеточные линии Т-лимфобластной лейкемии Jurkat (лимфобластоподобная), эпителиоидной карциномы шейки матки HeLa.

Режим воздействия: инкубации в течение 24 часов с дихлорацетатом (отдельно), теофилином (отдельно), теохлоналом (комбинация), индуктором апоптоза (положительным контролем).

Действующие вещества и диапазоны концентраций: теобромин (Т) (0,05-13,42 мМ/л); дихлорацетат (ДХА) (0,25-64 мМ/л); комбинация (Т+ДХА) при соотношении ДХА и Т по массе 4:1.

Оценка цитотоксичности, метаболической активности производилась с использованием МТТ-теста, основанного на способности митохондриальных дегидрогеназ конвертировать водорастворимый 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид (МТТ) в окрашенный формазан, который кристаллизуется внутри клетки. Растворение формазана с помощью диметилсульфоксида (ДМСО) позволяет осуществить фотометрию и фиксировать изменение оптического поглощения раствора, коррелирующее с метаболической активностью клеточной линии. МТТ-тест является индикатором функции митохондрий в жизнеспособных клетках, нарушение метаболической функции клеток, как правило, сопряжено с последующим снижением их жизнеспособности. В соответствии с этим МТТ-тест может применяться для оценки цитотоксичности какого-либо воздействия на клетки, а также для определения пролиферативной активности.

Исследования показали, что противоопухолевая активность ДХА, проявляющаяся в индуцировании апоптоза опухолевых клеток, усиливается при добавлении одного из метилксантинов, то есть совместное биологическое действие известных (ДХА и одного из метилксантинов) компонентов композиции обеспечивает синергетический эффект.

Эффективность терапевтического действия фармацевтической композиции существенно превышает действие отдельно взятого ДХА. Сами по себе метилксантины обладают очень слабым по сравнению с ДХА действием. По данным *in vitro* комбинированные препараты метилксантинов с ДХА индуцируют гибель опухолевых (апоптоз) клеток в диапазоне концентрации чего 10-16 ммоль/л, т.е. в 1.85-1.5 раз меньшей, чем концентрации ДХА.

Таким образом, фармацевтическая композиция обладает большей эффективностью и позволяет значительно уменьшать терапевтическую дозу препарата, что способствует устранению возможных побочных эффектов (периферическая нейропатия и гепатотоксичность), вызываемых большими дозами кофеина, что является дополнительным техническим результатом.

Ниже приводятся примеры лекарственных средств, полученных на основе заявленной фармацевтической композиции.

Пример 1

Капсулы 0.5 при следующем соотношении компонентов, вес. %:

ДХА	89.0
КОФ	9.0
Вспомогательные вещества (кукурузный крахмал, полисорбат-80 (пластификатор), краситель пищевой е 133, краситель пищевой е 17, желатин)	2.0

Пример 2

Водный раствор лекарственного препарата для перорального применения, содержащий комбинированный препарат в количестве от 0,001 г/мл до 0,5 г/мл (включая лекарственную форму для детей) при следующем соотношении компонентов, вес. %:

ДХА	65.4
КОФ	32.6
Вспомогательные вещества (лимонная кислота, моногидрат, натрия гидрофосфата дигидрат, натрия хлорид, бензалкония хлорид)	2.0

Пример 3

Раствор для внутримышечных и внутривенных инъекций: 1-3 мл раствора содержит 0,05 г/мл - 0.25 г/мл препарата при следующем соотношении компонентов, вес. %:

ДХА	50.0
КОФ	50.0

Пример 4

Таблетки 0,5 (покрытые оболочкой) при следующем соотношении компонентов, вес. %:

ДХА	49.0
КОФ	49.0
Вспомогательные вещества (целлюлоза микрокристаллическая, крахмал картофельный, тальк, стеариновая кислота, титана диоксид, лактоза, эмульсия кэ 10-16, полисорбат-80)	2.0

Пример 5

Суспензия для перорального применения, содержащая комбинированный препарат

в количестве от 0,001 г/мл до 0,5 г /мл (включая лекарственную форму для детей) при следующем соотношении компонентов, вес. %:

5	ДХА	78.4
	ПК	19.6
	Вспомогательные вещества (эферы полиглицостеариловой кислоты, метилгидроксипропилцеллюлоза, карбомер, натрия цитрат, кислота лимонная моногидрат, ванилиновая отдушка, малиновая отдушка, натрия цикломат, натрия сахарин) и консерванты (кислота сорбиновая, натрия бензоат)	2.0

10

Пример 6

Раствор для внутримышечных и внутривенных инъекций: 1-3 мл раствора содержит 0,05 г/мл - 0.25 г/мл комбинированного препарата при следующем соотношении компонентов, вес. %:

15

ДХА	50.0
ПК	50.0

Пример 7

20

Таблетки 0,5 (покрытые оболочкой) лекарственного средства при следующем соотношении компонентов, вес. %:

25

ДХА	78.4
Г	19.6
Вспомогательные вещества (целлюлоза микрокристаллическая, крахмал картофельный, тальк, стеариновая кислота, титана диоксид, лактоза, эмульсия кэ 10-16, полисорбат-80)	2.0

Пример 8.

30

Водный раствор лекарственного средства для перорального применения, содержащий комбинированный препарат в количестве от 0,001 г/мл до 0,5 г/мл (включая лекарственную форму для детей) при следующем соотношении компонентов, вес. %:

35

ДХА	65.4
Г	32.6
Вспомогательные вещества (лимонная кислота, моногидрат, натрия гидрофосфата дигидрат, натрия хлорид, бензалкония хлорид)	2.0

Пример 9.

40

Раствор для внутримышечных и внутривенных инъекций: 1-3 мл раствора содержит 0,05 г/мл - 0.25 г/мл комбинированного препарата при следующем соотношении компонентов, вес. %:

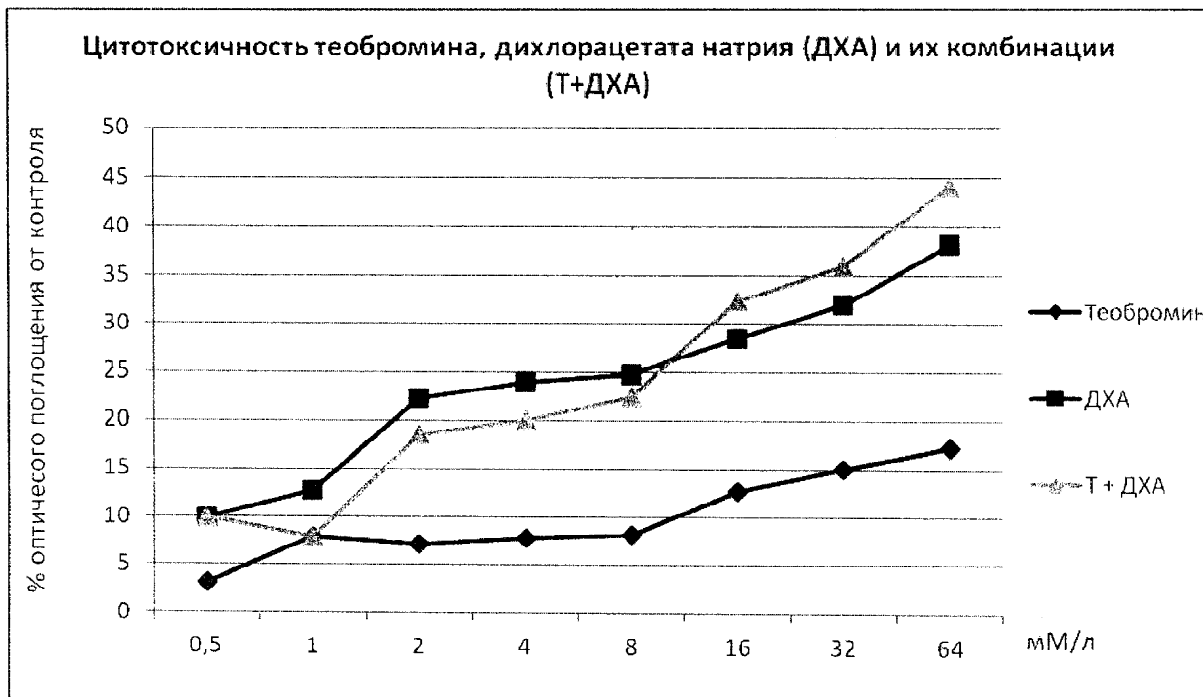
45

ДХА	50.0
Г	50.0

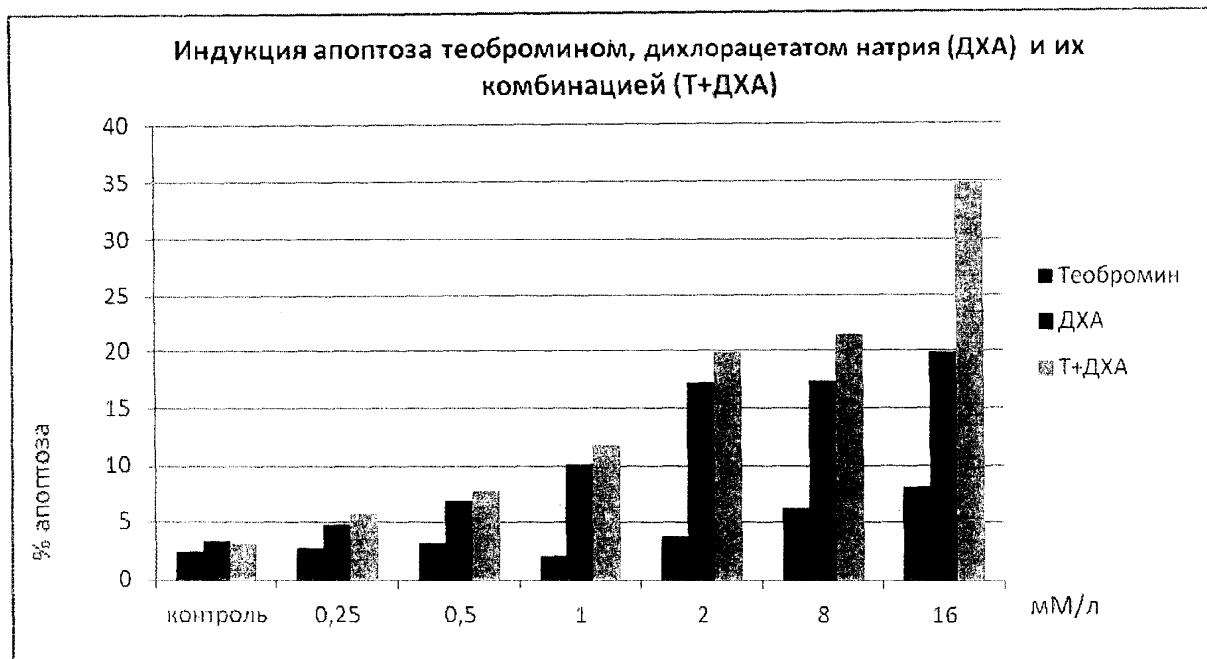
Формула изобретения

50

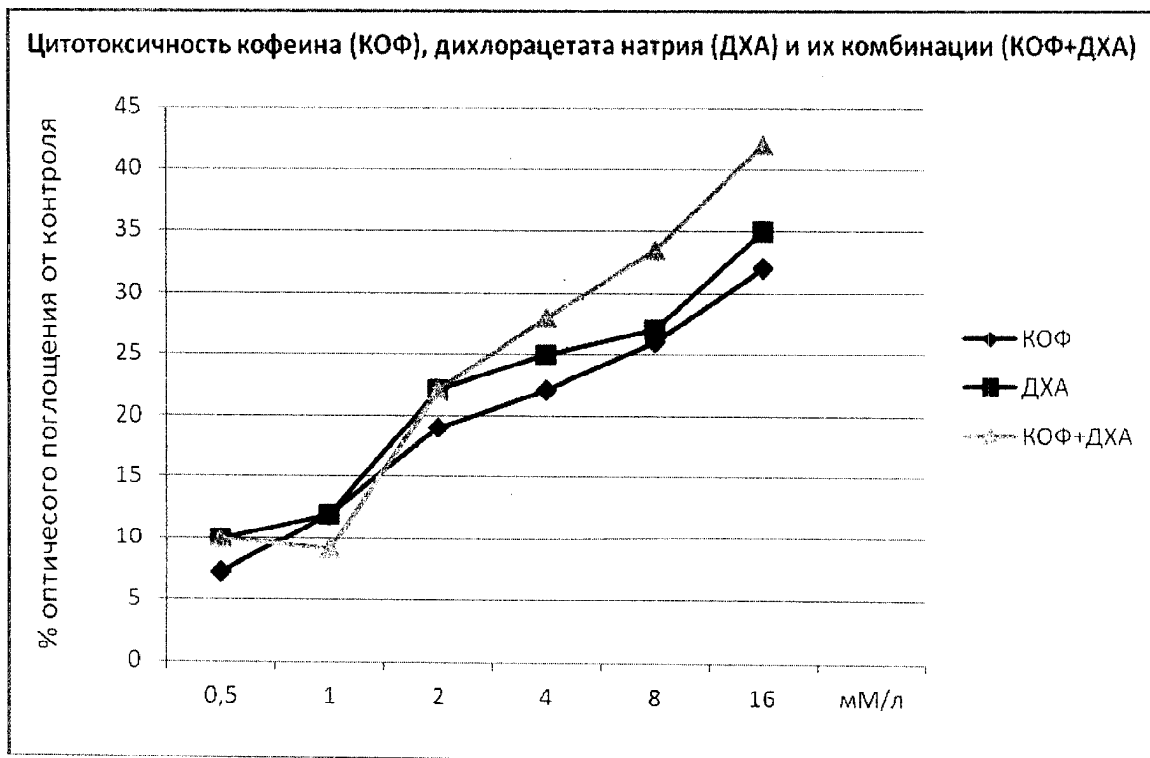
Фармацевтическая композиция для лечения онкологических заболеваний на основе дихлорацетата натрия, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит теобромин (3,7-диметилксантин) или кофеин (1,3,7-триметилксантин) или параксантин (1,7-диметилксантин), при этом отношения дихлорацетата натрия к выбранной из указанных метильной производной ксантина составляет 1:1-10:1.



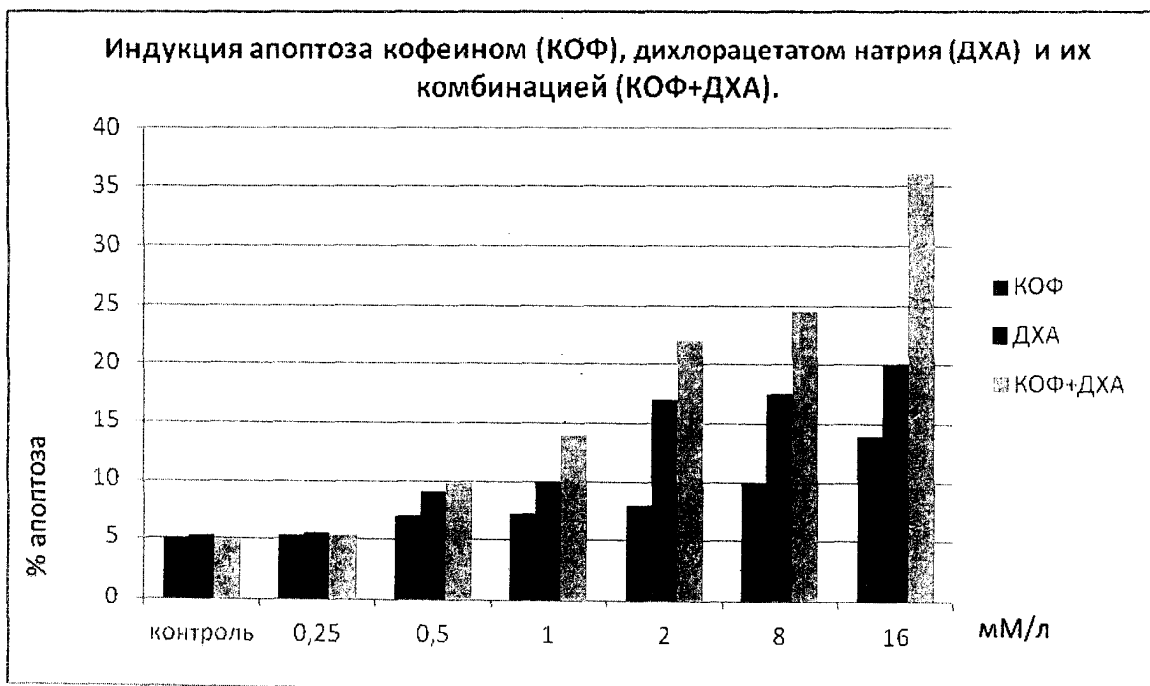
Фиг. 1



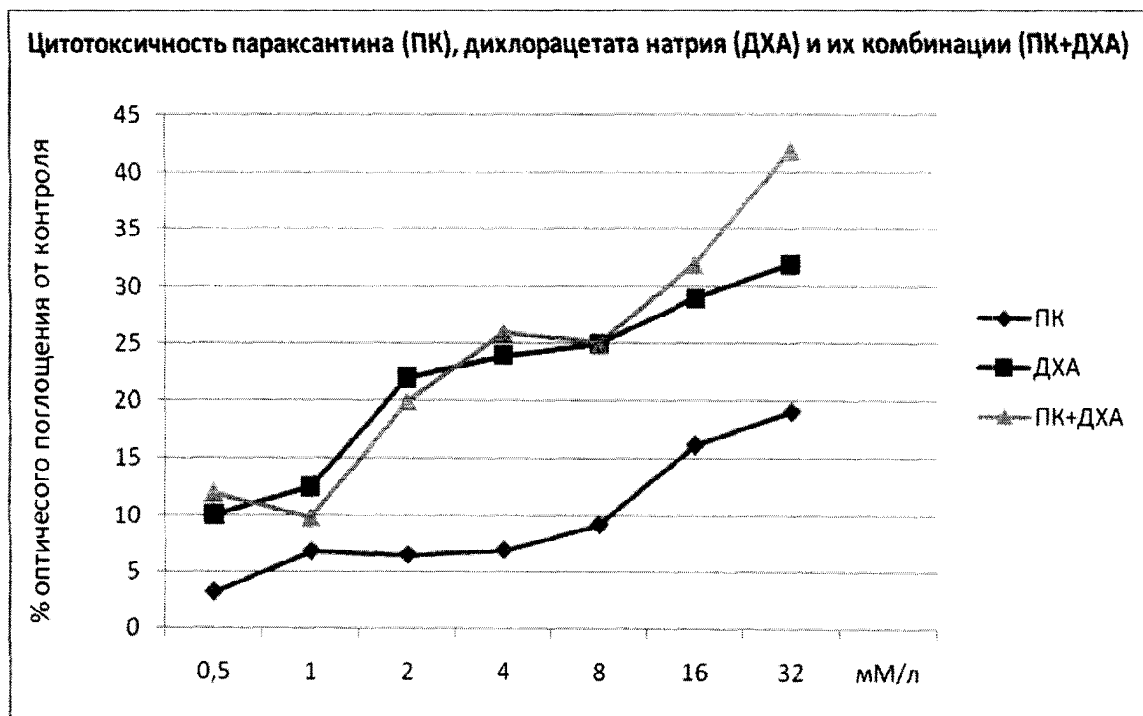
Фиг. 2



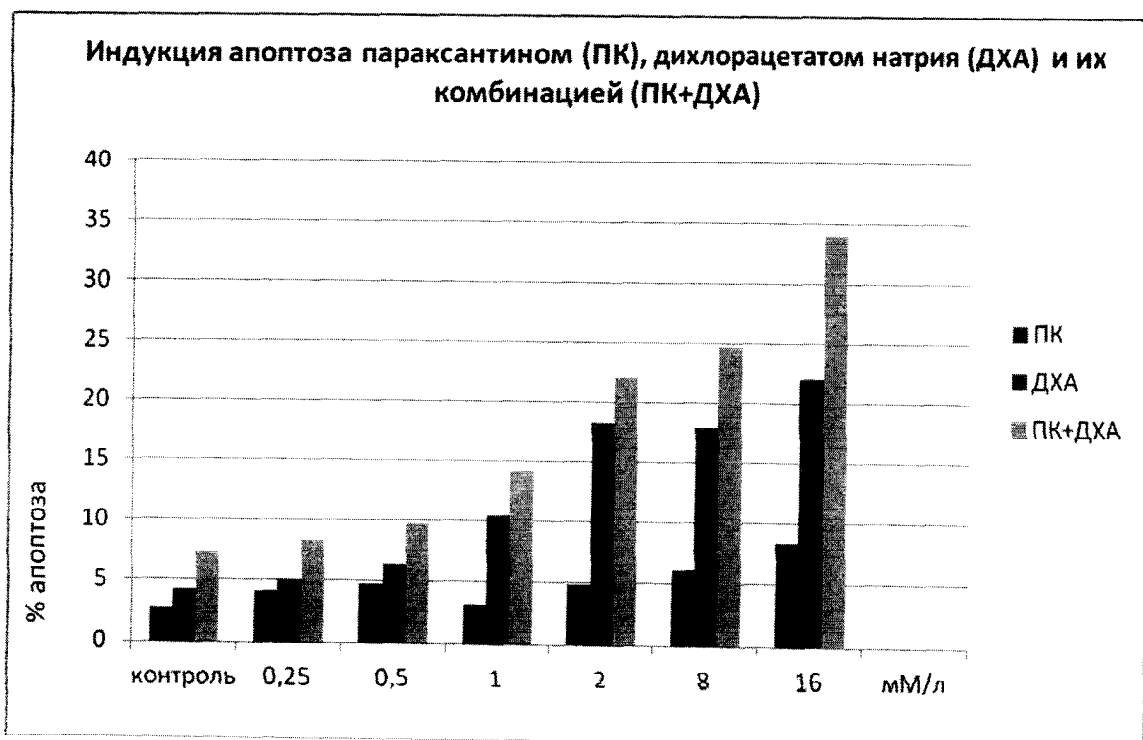
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6