

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 536 751

②1 N° d'enregistrement national :

82 19768

⑤1 Int Cl³ : C 07 F 9/65; A 61 K 31/675.

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 25 novembre 1982.

③0 Priorité

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOPI « Brevets » n° 22 du 1^{er} juin 1984.

⑥0 Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

⑦1 Demandeur(s) : *CENTRE NATIONAL DE LA RE-
CHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)* — FR.

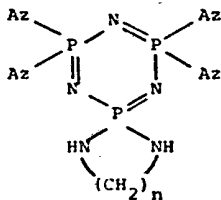
⑦2 Inventeur(s) : Jean-François Labarre, Guy Guerch, Gas-
ton Lévy et François Sournies.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : Regimbeau, Corre, Martin et Schrimpf.

⑤4 Nouveaux dérivés de tricyclophosphazènes, procédé pour leur préparation et leur application en tant que médica-
ment.

⑤7 La présente invention concerne notamment des composés
de formule :



dans laquelle Az est un radical aziridinyle et n est un nombre
entier de 1 à 20,
leur procédé de préparation et leur application en tant que
médicament anti-cancéreux.

FR 2 536 751 - A1

D

La présente invention concerne des composés chimiques nouveaux, des procédés pour leur préparation et l'application de ces composés à titre de médicaments.

C'est en 1979 (J-F. LABARRE, J-P. FAUCHER,
5 G. LEVY, F. SOURNIÉS, S. CROS et G. FRANCOIS, Europ.
J. Cancer, 15, (1979) 637) que l'activité antitumorale in vivo sur les leucémies P388 et L1210 et sur le mélanome B16 sous-cutané (greffés chez des souris DBA/2 femelles) de l'hexaziridinocyclotriphosphazène
10 $N_3P_3Az_6$ fut chiffrée pour la première fois.

Les Laboratoires de l'EORTC apportèrent ensuite les preuves que cette activité s'exerce également d'une manière significative sur 18 autres tumeurs parmi lesquelles on peut citer le carcinome
15 du colon de la ligne 26, le carcinome du poumon de Lewis, le mastocytome P815, le carcinome mammaire de la ligne 16, l'épendymoblastome et le sarcome de Yoshida.

Ce spectre d'activité très étendu sur les
20 tumeurs murines joint à la faible mutagénèse de cette molécule (nom de code EORTC : MYKO 63) en faisaient une drogue dont le développement en vue d'une utilisation en clinique humaine pouvait être raisonnablement envisagée.

25

Il s'avéra toutefois rapidement que le MYKO 63 était en réalité pénalisé par l'apparition d'une toxicité cumulative fâcheuse lors de protocoles de polyinjections du type 5 Q3D ou 5 Q4D. Le MYKO 63
5 était donc une substance antitumorale trop lente quant à sa cinétique d'action sur la tumeur et à sa vitesse d'excrétion.

Afin d'écartier les inconvénients liés à l'utilisation du MYKO 63, il a été mis au point des
10 dérivés présentant des structures voisines, les cyclo-diphosphathiazènes $(\text{NPAz}_2)_2\text{NSOX}$ ($X = \text{F} : \text{SOF}$; $X = \text{Ph} : \text{SOPhi}$; $X = \text{Az} : \text{SOAz}$).

Le SOF, le SOPhi et surtout le SOAz présentent une activité remarquable, sensiblement égale en
15 monoinjection à celle du MYKO 63, mais avec disparition de toute toxicité cumulative même lors de protocoles Q3D et Q4D lourds.

Le SOAz est actuellement en phase 2 clinique humaine.

20 En dépit du succès ainsi enregistré, en particulier avec le SOAz, quant à l'amélioration de la pharmacocinétique du MYKO 63 par substitution d'un atome de phosphore de son cycle par un atome de soufre, il n'en demeure pas moins que les doses
25 nécessaires à l'activité thérapeutique du SOAz restent fortes (du domaine de l'allopathie) et qu'une proportion non négligeable ($\sim 40\%$) de la quantité injectée est retrouvée intacte dans les urines des patients au cours
30 des 12 heures qui suivent l'injection. Ceci prouve à l'évidence que le SOAz injecté n'atteint pas dans sa totalité la tumeur, une part trop importante du médicament ne remplissant donc pas son rôle.

La chaîne -A- peut comprendre de 1 à 30, et de préférence de 1 à 10, atomes de carbone. -A- est de préférence une chaîne alcoylène. La chaîne -A- peut être une chaîne carbonée non interrompue ou bien interrompue par un ou plusieurs radicaux -NR₃-, -O- ou -S-, de préférence par 1 à 4 radicaux de ce type.

De façon préférentielle, les radicaux R₁, R₂ et R₃ sont :

- un atome d'hydrogène,
- un radical alkyle, non substitué ou substitué.

Ces radicaux R₁, R₂ et R₃ peuvent, en outre, être substitués, comme la chaîne -A-, par un ou plusieurs atomes d'halogène, radicaux imino, amino, aryle non substitué ou substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène ou radicaux alkyles en C₁-C₃.

Par "radical alkyle", il faut entendre plus particulièrement les radicaux alkyles inférieurs, droits ou ramifiés, ayant en particulier de 1 à 7 atomes de carbone comme les radicaux méthyle, éthyle, n-propyle et isoputyle.

Par le terme "radical alcényle", il faut entendre plus particulièrement les radicaux alcényles inférieurs, droits ou ramifiés, ayant en particulier de 2 à 7 atomes de carbone, comportant une ou plusieurs insaturations éthyléniques, comme le radical éthylényle par exemple.

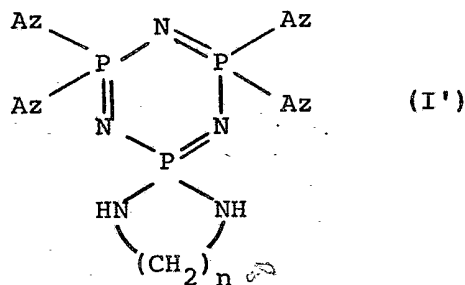
Par "radical alcynyle", il faut entendre plus particulièrement les radicaux alcynyles inférieurs, droits ou ramifiés, ayant en particulier de 2 à 7 atomes de carbone, comme les radicaux acétynyle ou propargyle.

Par "radical aryle", il faut entendre essentiellement des radicaux monocycliques, en particulier le radical phényle, le radical aryle pouvant être substitué de différentes façons, en particulier par des radicaux alkyles, comme dans les radicaux tolyle ou xylele par exemple.

Parmi les substituants sur les carbones de la chaîne -A-, il faut citer notamment les radicaux imino ou amino.

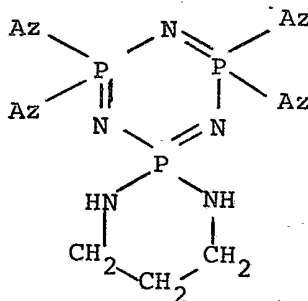
De même, pour les substituants R_3 , il faut citer notamment les radicaux alkylamino.

La présente invention concerne en particulier les composés de formule I' :



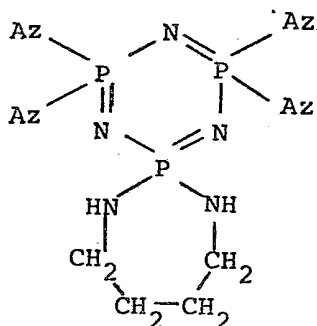
n étant un nombre entier de 1 à 20 et de préférence un nombre choisi parmi 2, 3, 4, 5 et 6.

Lorsque $n = 3$, le composé est de formule :



Ce produit sera dénommé SPIRODIAM3.

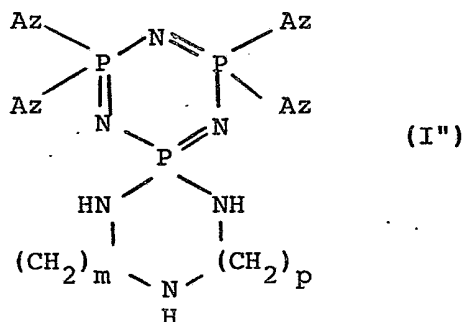
Lorsque $n = 4$, le composé est de formule :



Ce produit sera dénommé SPIRODIAM4.

L'invention concerne également les composés
de formule I'' :

5

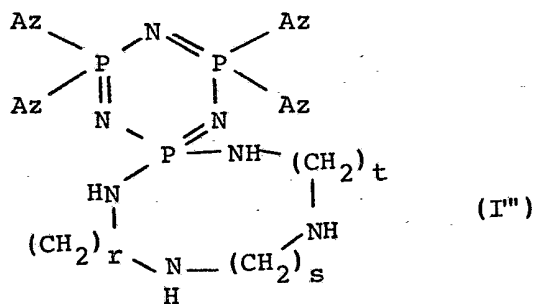


dans laquelle m et p sont des nombres entiers de
1 à 10, de préférence m et p sont des nombres entiers
de 1 à 6.

10

On préfère les composés dans lesquels $m = 3$
et $p = 4$ et dans lesquels $m = 4$ et $p = 1$.

Enfin, l'invention concerne des composés de
formule I''' :

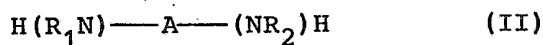


dans laquelle r, s et t sont des nombres entiers de 1 à 10 inclus, de préférence r, s et t sont des nombres entiers de 1 à 6.

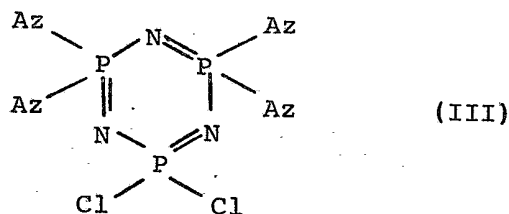
5 On préfère le composé dans lequel r = t = 3 et s = 4.

La présente invention concerne également des procédés de préparation des composés de formule I dans lesquels :

10 a) on fait réagir la polyamine de formule II :

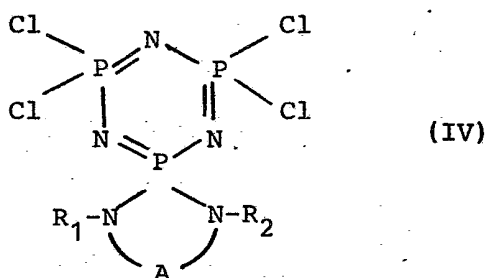


sur le composé gem dichloré de formule III :



ou bien,

15 b) on fait réagir l'aziridine non substituée ou substituée en excès sur le composé de formule IV :



Le composé de formule III sera parfois appelé MYCLAZ.

Les composés de formule III et IV peuvent être préparés à partir du dérivé hexachloré $N_3P_3Cl_6$, soit en faisant réagir l'aziridine pour préparer le composé de formule III, soit en faisant réagir la polyamine $H(R_1N)-A-(NR_2)H$ pour obtenir le composé de formule IV.

Ces différentes réactions sont effectuées de préférence en présence d'un agent fixateur de HCl qui est, de préférence, une amine ne réagissant pas sur le noyau de base telle qu'une amine tertiaire trialkcoylamine par exemple, soit en présence du réactif en excès par rapport à la réaction que l'on désire privilégier.

Ainsi, dans la deuxième étape du procédé, pour passer de III ou IV à I on peut utiliser un large excès du réactif supérieur à 2:1 si nécessaire pour III, ou 4:1 si nécessaire pour IV, mais en présence d'un accepteur d'acide on pourra utiliser 1:1 pour III et 2:1 pour IV.

Ces réactions sont conduites de préférence dans un solvant tel qu'un éther ou un solvant halogéné ou un mélange de tels solvants, par exemple un mélange d'éther de pétrole 60-80° et de dichlorométhane dans le rapport 4:1 et se déroulent de préférence à une

température comprise entre - 20 et + 20°C, par exemple à une température voisine de 0°C et en atmosphère inerte (N₂ ou Ar soigneusement desséché).

5 Parmi les polyamines utilisables dans la préparation des composés selon l'invention, il faut citer :

- la propylène-diamine, la putrescine et la cadavérine qui conduisent à des composés I' ;
- 10 - la spermidine et l'agmatine qui conduisent à des composés de type I" ;
- la spermine qui conduit à des composés I'''.

Enfin, le produit de la réaction de formule I peut être purifié par des procédés connus tels que l'extraction par solvant, la cristallisation, la 15 chromatographie en phase liquide, la chromatographie en phase liquide à haute performance ("HPCL") par exemple.

Les différents produits de départ utiles dans la mise en oeuvre des procédés selon la présente 20 invention peuvent être préparés, notamment, par les méthodes décrites dans :

- Y. KOBAYASHI, L.A. CHASIN et L.B. CLAPP, Inorg. Chem. 2, 212 (1963),
- 25 - R. RATZ, E. KOBER, C. GRUNDMANN et G. OTTMANN, Inorg. Chem., 3, 757 (1964) et brevet des E.U.A. n° 3 197 464, 27 juillet 1965,
- G. GUERCH, J-F. LABARRE, F. SOURNIES, M. MANFAIT, F. SPREAFICO et S. FILIPPESCHI, Inorg. Chim. Acta, 66, 175-183 (1982),

30

pour le gem- $N_3P_3Az_4Cl_2$, et

- M. BECKE-GOEHRING et B. BOPPEL, Z. Anorg. Allg. Chem.,
322, 239 (1963),

5 - S.S. KRISHNAMURTHY, K. RAMACHANDRAN, A.R. VASUDEVA MURTHY,
R.A. SHAW et M. WOODS, Inorg. Nucl. Chem. Lett., 13,
407 (1977),

- G. GUERCH, M. GRAFFEUIL, J-F. LABARRE, R. ENJALBERT,
R. LAHANA et F. SOURNIÉS, J. Mol. Struct., 85, 000 (1982),

10 - G. GUERCH, J-F. LABARRE, R. ROQUES et F. SOURNIÉS,
J. Mol. Struct., 85, 000 (1982)

pour les spiro- $N_3P_3Cl_4$ / $\sqrt{\text{POLYAM}_{m,n}}$ -7.

Enfin, la présente invention concerne, à titre
de médicament nouveau, certains composés tels que décrits
précédemment ainsi que des compositions pharmaceutiques
15 comprenant à titre de principe actif au moins l'un de
ces composés et, en particulier, des compositions
pharmaceutiques administrables par voie parentérale.

Parmi les compositions administrables par voie
parentérale il faut citer les compositions injectables,
20 en particulier par voie intrapéritonéale et intra-
veineuse, bien que l'on puisse utiliser d'autres
compositions telles que les pellets. Les produits
en cause étant en général assez solubles dans l'eau,
on utilisera de préférence comme support pharmaceutique
25 un solvant aqueux, par exemple une solution
physiologique de chlorure de sodium. Bien entendu,
dans le cas de produits difficiles à solubiliser on
peut utiliser des tampons fixant le pH ou éventuellement
un solvant non aqueux tel que des esters, des alcools,
30 des polyols ou diverses huiles en combinaison avec des
agents émulsifiants, on peut également utiliser des
suspensions, en particulier des hydroxypropylcelluloses.

Bien que les compositions pharmaceutiques selon la présente invention soient de préférence des compositions injectables, on peut également utiliser des compositions administrables par voie digestive, voie sublinguale, orale ou rectale, ces compositions pouvant se présenter sous forme solide, comprimés, cachets, granulés, gélules, suppositoires par exemple, ou sous forme liquide, gouttes et ampoules.

Dans le cas des compositions par voie orale, celles-ci sont formulées avec des supports connus solides tels que gélatine, gomme arabique, lactose, amidon, polyalkylène glycol, carboxyméthylcellulose par exemple.

Dans le cas de suppositoires, on peut utiliser des polyéthylène glycol, de la lanoline à titre de véhicule.

Les compositions selon la présente invention peuvent également être applicables par voie topique, en particulier sous forme de pommade ou de gel applicable sur la peau avec un véhicule inerte tel que la vaseline, les polyéthylène glycol ou d'autres excipients gras ; il est possible également de prévoir un agent facilitant la pénétration cutanée du principe actif.

De façon générale, les compositions selon la présente invention peuvent contenir des adjuvants variés tels que conservateurs, stabilisants, mouillants, émulsifiants, agents de texture, de delitement, aromatisation, colorants.

Les composés selon la présente invention se sont révélés particulièrement actifs dans le traitement de certaines tumeurs. Ils se sont en particulier révélés très actifs sur les deux tumeurs standard que sont la leucémie P388 et le mastocytome P815.

Ces composés sont utilisables essentiellement par injection, en particulier par voie intra-péritonéale ou par voie intra-veineuse. Ces composés étant très solubles dans l'eau, la réalisation de compositions injectables ne présente aucun problème. Les doses appliquées sont, bien entendu, fonction, dans chacun des cas, du type de tumeur à traiter ainsi que de l'état général du malade, et peuvent varier dans une très large mesure, en particulier entre 1 mg/kg/jour et 100 mg/kg/Jour, en une ou plusieurs injections dont la fréquence peut être variable.

Les exemples suivants sont destinés à illustrer la préparation et les activités de certains des composés selon la présente invention sans pour autant la limiter.

EXEMPLE 1

Préparation du composé spiro-N₃P₃Az₄/HN-(CH₂)₃-NH
en passant par la synthèse du composé gem-N₃P₃Az₄Cl₂

Une solution de 87,0 mmoles de propylènediamine
 5 $\text{[H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2\text{]}$ fraîchement distillée dans 50 ml d'un
 mélange (4:1) d'éther de pétrole 60-80°C et de CH₂Cl₂
 (appelé ci-dessous S) est ajoutée goutte à goutte pendant
 2 heures à une solution de 32,0 mmoles de gem-N₃P₃Az₄Cl₂
 dans 150 ml du même solvant S sous agitation vigoureuse
 10 et à température ordinaire. L'agitation magnétique est
 maintenue durant toute une nuit. Le chlorhydrate de
 propylènediamine formé est éliminé par filtration et le
 solvant de la solution mère est évaporé sous vide. Le
 produit de réaction brut donne deux taches en chromato-
 15 graphie sur couche mince (avec le méthanol comme éluant)
 à Rf : 0,17 et 0,68.

La recristallisation de ce produit brut dans
 20 volumes de CCl₄ anhydre par évaporation partielle
 du solvant et refroidissement subséquent de la solution
 conduit à un composé cristallin (Rf = 0,68) présentant
 un point de fusion de 134°C, le rendement étant de 80 %.

Le composé présente les caractéristiques
 analytiques suivantes :

Analyse

25 calculé : C 35,20 H 6,44 N 33,59 P 24,76
 trouvé : C 34,98 H 6,40 N 33,38 P 24,59
 35,10 6,50 33,70 24,83

Spectre de masse

30 m/z 375 (M)⁺ 38,2 %, 333 (M-1Az)⁺ 100 %, 292 (M-2Az)⁺ 29,2 %,
 249 (M-3Az)⁺ 17,9 %, 208 (M-4Az)⁺ 12,9 %,
 304 (N₃P₃Az₄)⁺ 9,5 %, 261 (N₃P₃Az₃)⁺ 10,6 %,
 220 (N₃P₃Az₂)⁺ 5,0 %, 177 (N₃P₃Az)⁺ 3,3 %,
 135 (N₃P₃)⁺ 1,1 %.

31 ^{31}P RMN en solution dans CH_2Cl_2 (par rapport à H_3PO_4 85 %)

Spectre AX_2 comportant un doublet à 38,34 et 37,45 ppm et un triplet à 19,69, 18,80 et 17,91 ppm dont les intensités sont dans le rapport 2:1. $J(\text{P-P}) = 32,36 \text{ Hz}$.

5 IR (cm^{-1}) (KBr)

3360 w, 3255 m, 3050 w, 2985 m, 2958 w, 2925 vw, 2880 w, 2860 w, 1255 s, 1180 vs, 1160 m, 1150 m, 1080 s, 930 vs, 870 m, 840 m, 800 m, 703 s, 640 s, 510 s, 497 sh, 440 m.

Structure aux rayons X

10 Groupe d'espace $\text{P2}_1/a$, $a = 18,369(3)\text{\AA}$, $b = 9,715(1)\text{\AA}$, $c = 9,722(2)\text{\AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 94,79(1)^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 1728,9(5)\text{\AA}^3$, $Z = 4$ (voir figures 1 et 2), $R = 0,047$.

15 Cette structure met en évidence la non planité de la boucle spiro, le cycle N_3P_3 étant pour sa part rigoureusement plan aux erreurs d'expérience près.

La figure 3 montre, en outre, les modifications conformationnelles des 4 pales aziridinyles induites par la greffe de la boucle $-\text{HN}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}-$ sur le phosphore portant 2Cl du composé $\text{N}_3\text{P}_3\text{Az}_4\text{Cl}_2$.

20 EXEMPLE 2

Préparation du composé spiro- $\text{N}_3\text{P}_3\text{Az}_4\text{HN}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}$
en passant par la synthèse du composé spiro-
 $\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_4\text{HN}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}$

25 Une solution de 48,5 mmoles d'aziridine fraîchement distillée dans 35 ml du solvant S est ajoutée goutte à goutte en 2 heures à une solution de 11,0 mmoles de spiro- $\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_4\text{HN}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}$ et de 44,5 mmoles de Et_3N dans 120 ml de solvant S. La réaction est conduite à 0°C sous agitation vigoureuse et en atmosphère inerte
30 (N_2 ou Ar sec). On laisse le mélange réactionnel revenir à température ambiante puis on agite encore pendant 24 heures à cette même température.

Le chlorhydrate de triéthylamine est alors filtré et le solvant de la solution mère évaporé sous vide. Le produit de réaction brut donne ici encore 2 taches en chromatographie sur couche mince à $R_f = 0,17$ et $0,68$.

5 La recristallisation dans 20 volumes de CCl_4 par évaporation partielle du solvant et refroidissement de la solution conduit au dérivé cristallisé attendu. Point de fusion : $134^\circ C$, rendement : 87 %.

10 Ce composé présente des caractéristiques analytiques identiques à celles décrites ci-dessus pour l'échantillon obtenu par la première méthode.

EXEMPLES 3 ET 4

Préparations du composé spiro- $N_3P_3Az_4$ /[HN-(CH₂)₄-NH]

15 La synthèse de ce composé peut être réalisée en suivant l'un ou l'autre des deux modes opératoires décrits ci-dessus dans les exemples 1 et 2 à propos du spiro-[HN-(CH₂)₃-NH] et en remplaçant, dans le procédé de l'exemple 1, la propylènediamine par la putrecine, et dans le procédé de l'exemple 2, le spiro- $N_3P_3Cl_4$ -[NH-(CH₂)₃-NH] par le spiro- $N_3P_3Cl_4$ -[NH-(CH₂)₄-NH].

20 Quelle que soit la méthode utilisée, le rendement en produit pur est supérieur ou égal à 90 %.

Les caractéristiques analytiques de ce composé sont les suivantes :

25 Chromatographie sur couche mince

$R_f = 0,41$ avec CH_3OH comme éluant.

Analyse

calculé : C 37,02 H 6,73 N 32,38 P 23,87

trouvé : C 36,93 H 6,70 N 32,08 P 23,75

30 37,10 6,75 32,47 23,78

Point de fusion (non corrigé) : $171^\circ C$

Spectre de masse

m/z 389 (M)⁺ 83,3 %, 347 (M-1Az)⁺ 96,8 %, 304 (M-2Az)⁺ 100 %,
 263 (M-3Az)⁺ 30,9 %, 220 (M-4Az)⁺ 20,6 %,
 261 (N₃P₃Az₃)⁺ 36,5 %, 177 (N₃P₃Az)⁺ 17,4 %, 135 (N₃P₃)⁺ 3,9 %.

On peut remarquer que les pics à m/z 304 et 220 peuvent être aussi attribués aux fragments (N₃P₃Az₄)⁺ et (N₃P₃Az₂)⁺ en raison de l'identité des masses de 2Az et du fragment $\text{[HN-(CH}_2\text{)}_4\text{-NH]}$, lesquelles sont toutes deux égales à 84.

³¹P RMN en solution dans CH₂Cl₂ (par rapport à H₃PO₄ 85 %)

Spectre AX₂ comportant un doublet à 38,74 et 37,77 ppm et un triplet à 23,65, 22,68 et 21,71 ppm dont les intensités sont dans le rapport 2:1. J(P-P) = 35,29 Hz.

IR (cm⁻¹) (KBr)

3270 m, 3060 w, 2990 m, 2920 m, 2880 vw, 2865 vw, 1260 s, 1230 s, 1190 vs, 1170 s, 1120 s, 1080 w, 1055 m, 955 m, 925 vs, 855 m, 845 m, 810 m, 720 w, 705 m, 690 m, 640 s, 525 w, 435 w.

Les composés de départ mis en oeuvre dans les exemples précédents peuvent être préparés comme cela est décrit dans les documents suivants ou bien par des procédés analogues.

- gem-N₃P₃Az₄Cl₂ :

- . Y. KOBAYASHI, L.A. CHASIN et L.B. CLAPP, Inorg. Chem., 2, 212 (1963);
- . R. RATZ, E. KOBER, C. GRUNDMANN et G. OTTMANN, Inorg. Chem., 3, 757 (1964) et brevet des E.U.A. n° 3 197 464, 27 juillet 1965
- . G. GUERCH, J-F. LABARRE, F. SOURNIÉS, M. MANFAIT, F. SPREAFICO et S. FILIPPESCHI, Inorg. Chim. Acta, 66, 175-183 (1982);

- spiro-N₃P₃Cl₄ / HN-(CH₂)₃-NH /
 . G. GUERCH, M. GRAFFEUIL, R. ENJALBERT, R. LAHANA,
 J-F. LABARRE et F. SOURNIES, J. Mol. Struct., 85,
 000 (1982);

5 - spiro-N₃P₃Cl₄ / HN-(CH₂)₄-NH /
 . G. GUERCH, J-F. LABARRE, R. ROQUES et F. SOURNIES,
 J. Mol. Struct., 85, 000 (1982).

Propriétés pharmacologiques

10 Les composés mentionnés précédemment ont été testés
 sur le plan de leur activité pharmacologique.

On a tout d'abord observé que la solubilité des
 deux composés des exemples 1 à 4 est égale ou supérieure
 à 20 g/l ce qui est donc largement suffisant pour la
 réalisation de formes injectables en solution aqueuse.

15 La toxicité de ces composés a été déterminée sur
 des souris femelles Swiss ou CD2F1.

20 La létalité qui apparaît systématiquement aux
 jours 5 et 6 après l'administration a été enregistrée
 en fonction de la dose inoculée et a permis de déduire
 la DL₀ qui correspond à la dose maximale non létale.
 Les résultats ne dépendent pas de l'espèce de souris
 utilisée. On a constaté que :

- la DL₀ du composé spiro-N₃P₃Az₄ / HN-(CH₂)₃-NH /
 (ci-après SPIRODIAM3) est de 75 mg/kg,

25 - la DL₀ du composé spiro-N₃P₃Az₄ / HN-(CH₂)₄-NH /
 (ci-après SPIRODIAM4) est de 125 mg/kg.

Activité antitumorale

30 Les essais d'activité antitumorale ont été
 conduits par le Screening and Pharmacology Group de
 l'EORTC implanté à l'Institut Mario Negri à Milan.

Ces essais ont été conduits soit en monoinjection à différentes doses aux jours J+1 suivant la greffe de la tumeur, soit en polyinjections chroniques Q1D sur des souris CD2F1 femelles.

5 Les résultats observés sont rassemblés dans le tableau 1 ci-après.

Dans ce tableau :

$$\text{ILS}\% = \frac{\text{T}-\text{C}}{\text{C}} \times 100$$

T (en jours) étant la durée moyenne de vie des souris traitées
10 C (en jours) étant la durée moyenne de vie des souris témoins.

QnD signifie une injection tous les n jours à partir du jour J+1, ainsi "5 injections Q1D" signifie 1 injection quotidienne de J+1 à J+5.

15 Le tableau 1 appelle les remarques essentielles suivantes :

1°) Le SPIRODIAM3 et le SPIRODIAM4 guérissent en polyinjections Q1D aussi bien la leucémie P388 que le mastocytome P815. La guérison est également atteinte en monoinjection (à 100 mg/kg, soit au 4/5 de la DL₀) avec
20 le SPIRODIAM4 dans le cas du P815.

2°) Compte tenu des valeurs des DL₀ indiquées plus haut, il s'avère que les indices thérapeutiques (définis comme le rapport de la DL₀ à la dose minimale conduisant à un ILS significatif, c'est-à-dire à un
25 ILS de 25 %) des deux composés sont très largement supérieurs à 10. Des indices aussi élevés sont uniques en chimiothérapie du cancer. Cela signifie que l'activité antitumorale se manifeste déjà en monoinjection au 1/10 de la DL₀ et qu'une polyinjection chronique Q1D répétée
30 n fois de cette dose très faible permet d'atteindre la guérison en minimisant les éventuels effets secondaires de la drogue.

3°) La pharmacocinétique d'action sur la tumeur et de l'excrétion du médicament semblent particulièrement favorables: 9 injections Q1D à 20 mg/kg de SPIRODIAM3 ou de SPIRODIAM4 (dans le cas du P815) correspondent en effet à une dose totale sur 9 jours de 180 mg, soit respectivement 2,4 et 1,5 fois la DL_0 de ces drogues. Or, ces deux protocoles n'induisent aucune toxicité cumulative.

Le même effet est observé dans le cas de la P388 où 5 injections Q1D à 40 mg/kg, correspondant respectivement à 2,7 et 1,6 fois la DL_0 , n'induisent elles non plus de toxicité cumulative.

4°) Les figures 4 à 9 traduisent les relations $ILS = f(\text{dose})$ pour le SPIRODIAM3 et le SPIRODIAM4 en monoinjection et en polyinjections Q1D sur la P388 et le P815. Ces figures permettent les commentaires suivants :

- a) SPIRODIAM3 et SPIRODIAM4 en monoinjection sur la P388 se caractérisent par une relation $ILS = f(\text{dose})$ linéaire,
- b) SPIRODIAM3 et SPIRODIAM4 en monoinjection sur le P815 se caractérisent par une relation $ILS = f(\text{dose})$ à tendance exponentielle analogue à celle obtenue avec le SOAz dans le cas de la P388 avec des souris DBA/2 femelles,
- c) SPIRODIAM3 et SPIRODIAM4 en polyinjections Q1D sur la P388 et le P815 se caractérisent par des relations $ILS = f(\text{dose})$ sensiblement linéaires.

En conclusion, le SPIRODIAM3 et le SPIRODIAM4 constituent des améliorations indiscutables du MYKO 63, du MYCLAZ et du SOAZ à la fois du point de vue de l'indice thérapeutique et de l'activité antitumorale sur les tumeurs murines.

Ce dernier point est clairement illustré par le tableau 2 dans lequel sont rapprochés les ILS% obtenus avec le MYKO 63, le MYCLAz, le SOAz, le SPIRODIAM3 et le SPIRODIAM4 sur la P388 et le P815 lors de la mono-injection d'une même fraction de la DL₀.

TABLEAU 1

TUMEUR	PROTOCOLE (par voie i.p.) <u>COMPOSE</u>	DOSE (mg/kg/jour)	ILS%	
P388	1 injection J+1 <u>SPIRODIAM3</u>	5	30	
		12,5	50	
		50	100	
		100	(94)*	
	5 injections Q1D	2,5	45	
		10	81	
		20	150	
		40	204	
		1 injection J+1 <u>SPIRODIAM4</u>	12,5	50
			50	74
			100	103
		5 injections Q1D	2,5	50
			10	90
			20	155
40			210	
P815		1 injection J+1 <u>SPIRODIAM3</u>	12,5	55
			25	70
			50	150
	100		(95)*	
	9 injections Q1D	1,25	50	
		2,5	55	
		5	105	
		10	155	
		20	283	
		1 injection J+1 <u>SPIRODIAM4</u>	12,5	45
			25	65
			50	90
			100	535
		9 injections Q1D	1,25	55
2,5			60	
5			110	
10			160	
20			300	

* frontière de toxicité

TABLEAU 2

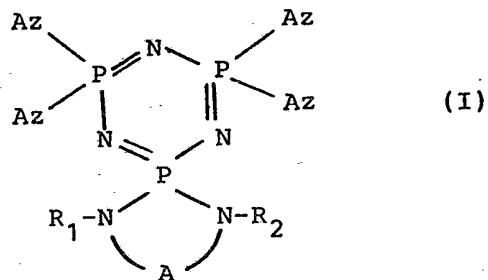
TUMEUR	PROTOCOLE	FRACTION DE LA DL ₀	ILS%				
			MYKO 63 DL ₀ :40mg/kg	MYCLAZ DL ₀ :24mg/kg	SOAZ DL ₀ :210mg/kg	SPIRODIAM3 DL ₀ :75mg/kg	SPIRODIAM4 DL ₀ :125mg/kg
P388	mono-injection à J+1	1/15	NS	NS	NS	30	55
		1/5	NS	NS	NS	50	-
		1/4	51	30	35	-	70
		1/2,5	-	-	-	-	-
		1/2	101	52	73	-	150
		1/1,5	-	-	-	100	-
		1/1,3	-	58	134	-	-
1	tox.	68	196	-	-		
P815	mono-injection à J+1	1/10	NS	NS	NS	-	55
		1/6	NS	NS	NS	55	-
		1/5	25	NS	36	-	65
		1/3	-	NS	-	70	-
		1/2,5	49	27	71	-	90
		1/1,5	57	40	74	150	-
		1/1,25	-	47	-	-	535
1	tox.	58	79	-	-		
type de souris		DBA/2 femelles	CD2F1 mâles	DBA/2 femelles	CD2F1 femelles		
Indice thérapeutique		P388 P815	4 2,5	4 5	~ 15 > 6	~ 15 ~ 10	

. NS = activité non significative (ILS < 25 %)

. tox. = toxique

REVENDEICATIONS

1) Composé de formule I :



dans laquelle :

- 5 Az est un radical 1-aziridinyl substitué ou non,
 A est une chaîne alcoylène, alcénylène ou alcynylène,
 droite ou ramifiée, substituée ou non, qui peut
 être interrompue par un ou plusieurs radicaux
 divalents $-NR_3-$, $-S-$ ou $-O-$;
 10 R_1 , R_2 et R_3 peuvent représenter, indépendamment l'un
 de l'autre :
- . un atome d'hydrogène,
 - . un radical alkyle substitué ou non,
 - . un radical alcényle substitué ou non,
 - 15 . un radical alcynyle substitué ou non,
 - . un radical aryle substitué ou non.

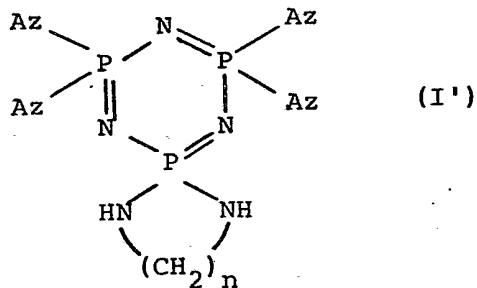
2) Composé selon la revendication 1,
 caractérisé en ce que Az est un radical aziridinyle
 non substitué.

20 3) Composé selon la revendication 1,
 caractérisé en ce que Az est un radical aziridinyle
 substitué par 1 à 4 radicaux alkyles ou alkoxy en
 C_1 à C_3

4) Composé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que la chaîne -A- est substituée par un ou plusieurs atomes d'halogène, radicaux imino, amino, aryle non substitué ou substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène ou radicaux alkyles en C₁ à C₃.

5) Composé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que les radicaux R₁, R₂ et R₃ peuvent être substitués par un atome d'halogène, les radicaux imino, amino, aryle non substitué ou substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène ou radicaux alkyles en C₁ à C₃.

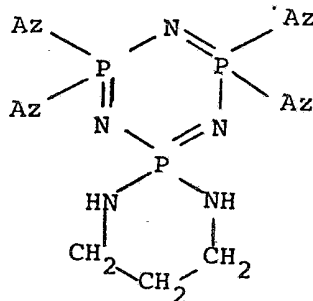
6) Composé selon la revendication 1 de formule I' :



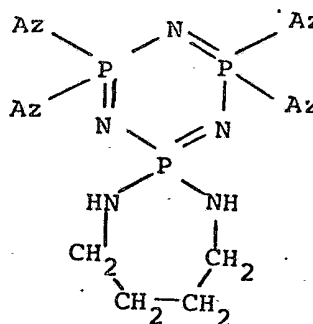
15 dans laquelle n est un nombre entier de 1 à 20.

7) Composé selon la revendication 6, caractérisé en ce que n = 2, 3, 4, 5 ou 6.

8) Composé selon la revendication 7, caractérisé en ce que n = 3, ayant la formule :



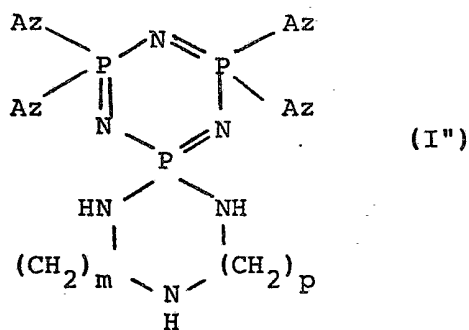
9) Composé selon la revendication 7, caractérisé en ce que $n = 4$, ayant la formule :



5

10) Composé selon la revendication 7, caractérisé en ce que $n = 5$.

11) Composé selon la revendication 1 de formule I" :



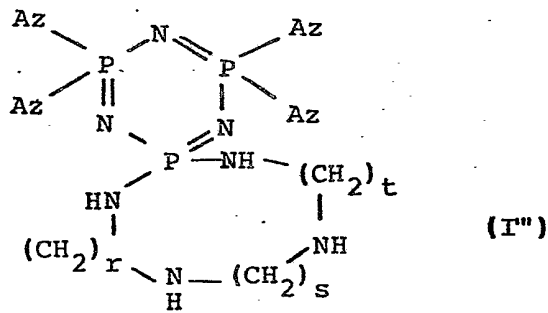
10 dans laquelle m et p sont des nombres entiers de 1 à 10.

12) Composé selon la revendication 11, caractérisé en ce que m et p sont des nombres entiers de 1 à 6.

5 13) Composé selon la revendication 12, caractérisé en ce que m = 3 et p = 4.

14) Composé selon la revendication 12, caractérisé en ce que m = 4 et p = 1.

15) Composé selon la revendication 1 de formule I''' :



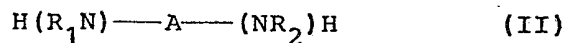
10 dans laquelle r, s et t sont des nombres entiers de 1 à 10 inclus.

16) Composé selon la revendication 15, caractérisé en ce que r, s et t sont des nombres entiers de 1 à 6.

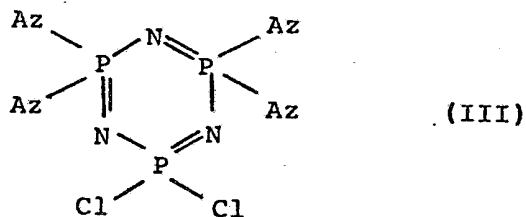
15 17) Composé selon la revendication 16, caractérisé en ce que r = t = 3 et s = 4.

18) Procédé de préparation d'un composé de formule I selon la revendication 1, caractérisé en ce que :

20 on fait réagir la polyamine de formule II :



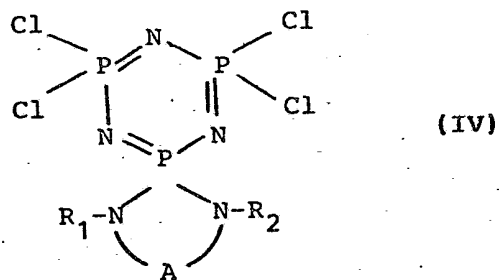
sur le composé gem dichloré de formule III :



19) Procédé de préparation d'un composé de formule I selon la revendication 1, caractérisé en ce que :

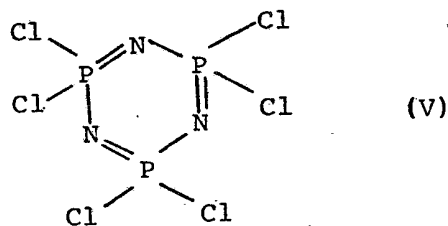
5

on fait réagir l'aziridine non substituée ou substituée en excès sur le composé de formule IV :

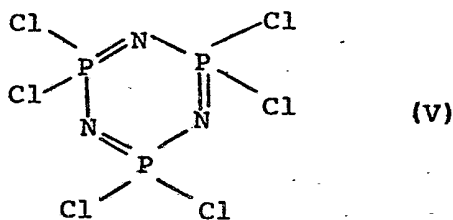


20) Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que le composé de formule III est préparé par action de l'aziridine substituée ou non sur le composé de formule V :

10



21) Procédé selon l'une des revendications 18 et 19, caractérisé en ce que le composé de formule IV est préparé par action de la polyamine $H(R_1N)-A-(NR_2)H$ sur le composé de formule V :



5

22) Procédé selon l'une des revendications 18 à 21, caractérisé en ce que la réaction est conduite dans un mélange d'éther de pétrole et de dichlorométhane.

10

23) Procédé selon l'une des revendications 18 à 22, caractérisé en ce que la réaction se déroule à une température comprise entre -20°C et $+20^{\circ}\text{C}$.

15

24) Procédé selon l'une des revendications 18 à 23, caractérisé en ce que la réaction se déroule en atmosphère inerte.

25) Procédé selon l'une des revendications 18 à 24, caractérisé en ce que la polyamine est choisie parmi :

20

- la propylènediamine,
- la putrecine,
- la cadavérine,
- la spermidine,
- la spermine, et
- l'agmatine.

26) Composition pharmaceutique contenant à titre de principe actif au moins un composé selon l'une des revendications 1 à 17.

5 27) Composition selon la revendication 26 , caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition injectable.

28) Composition selon la revendication 27 , caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition injectable par voie intra-péritonéale ou intra-veineuse.

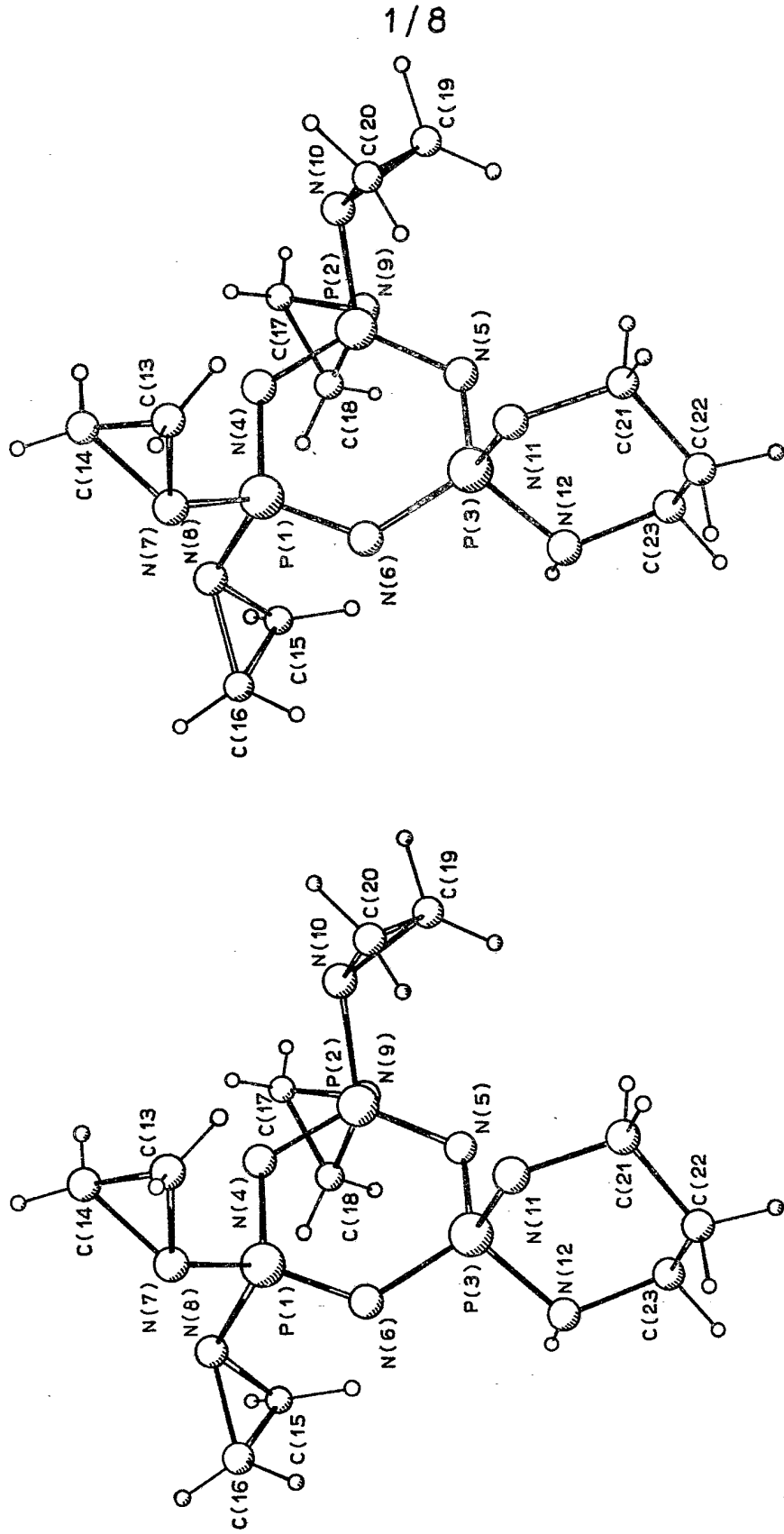
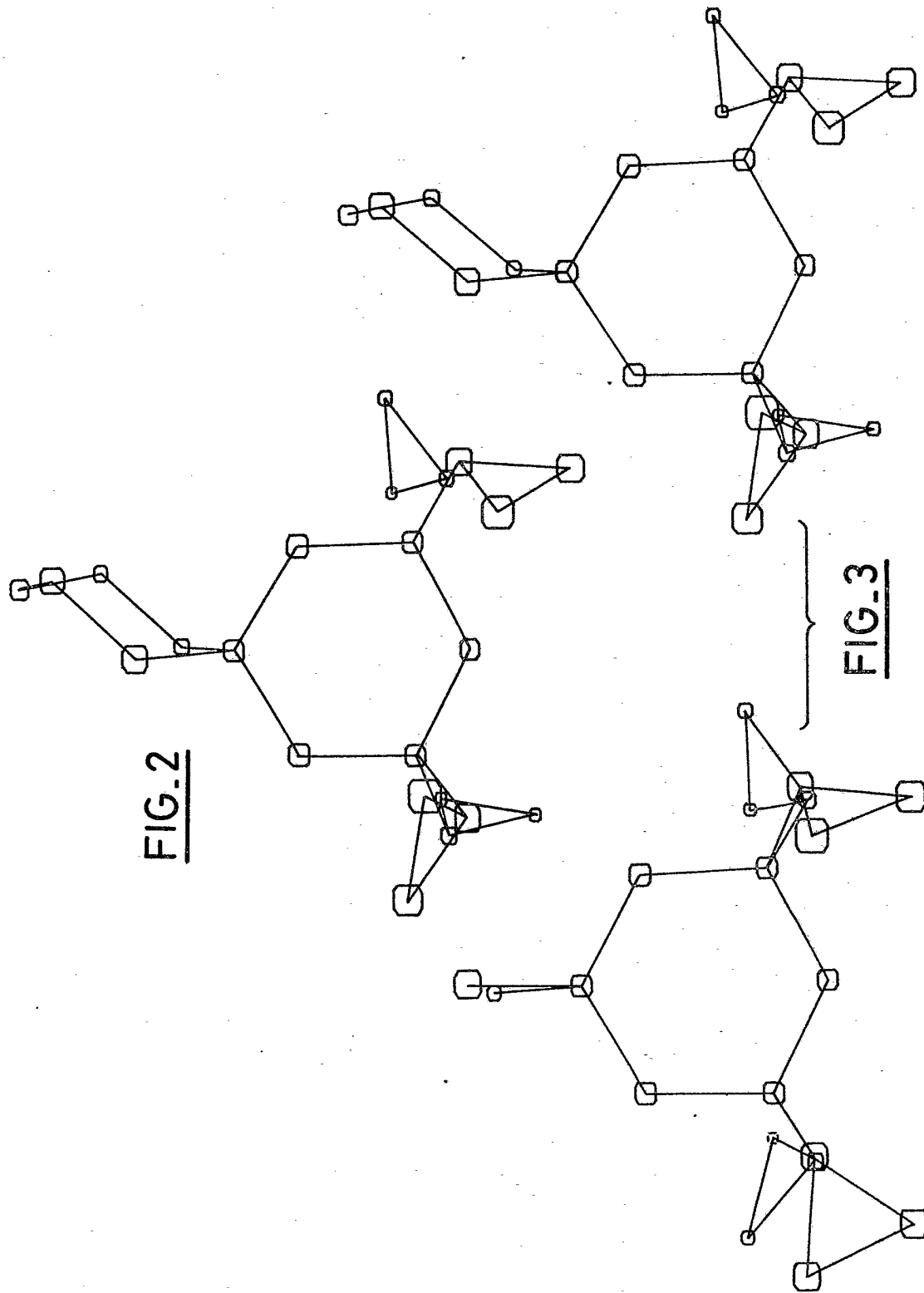


FIG. 1



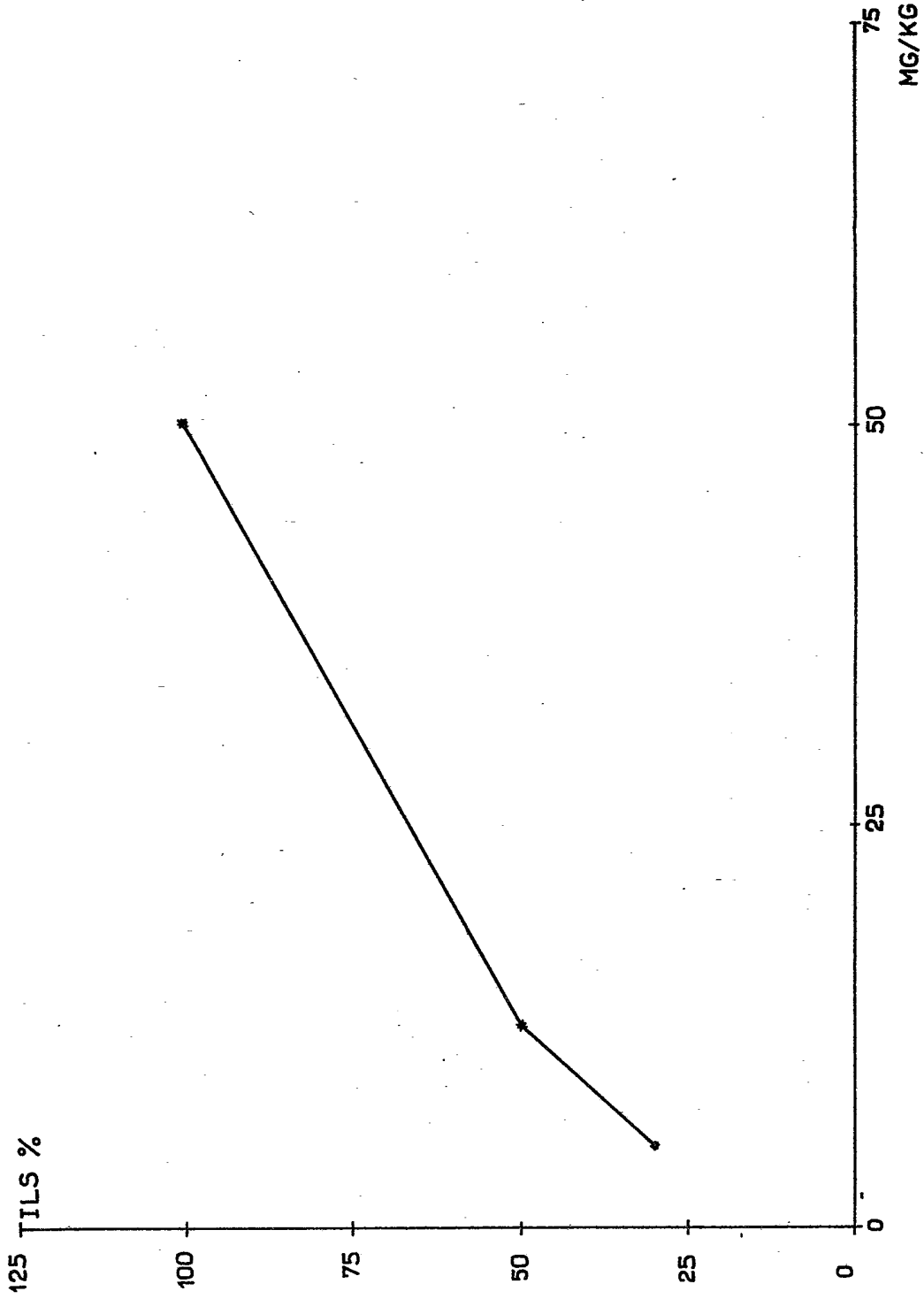


FIG. 4

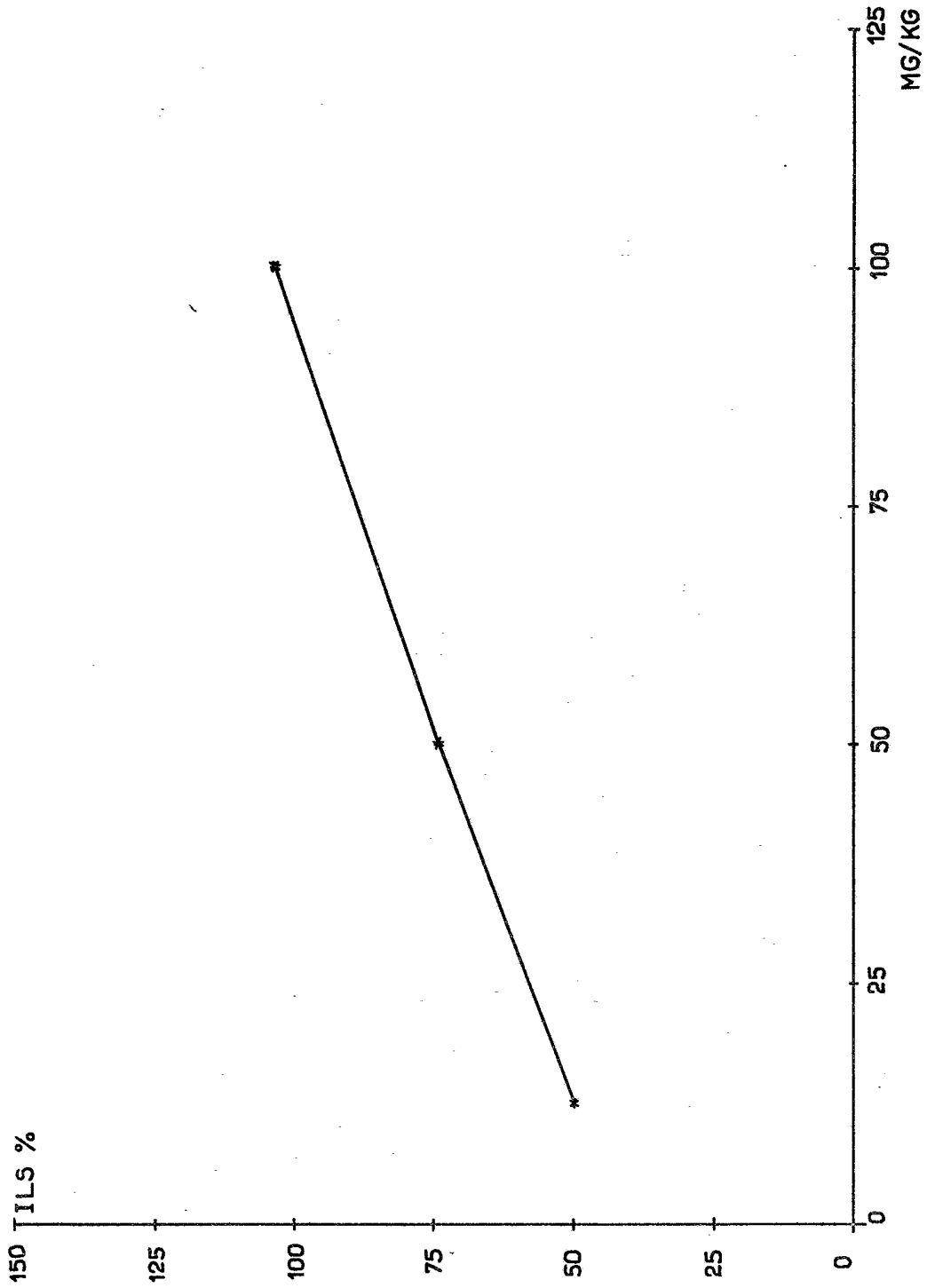


FIG. 5

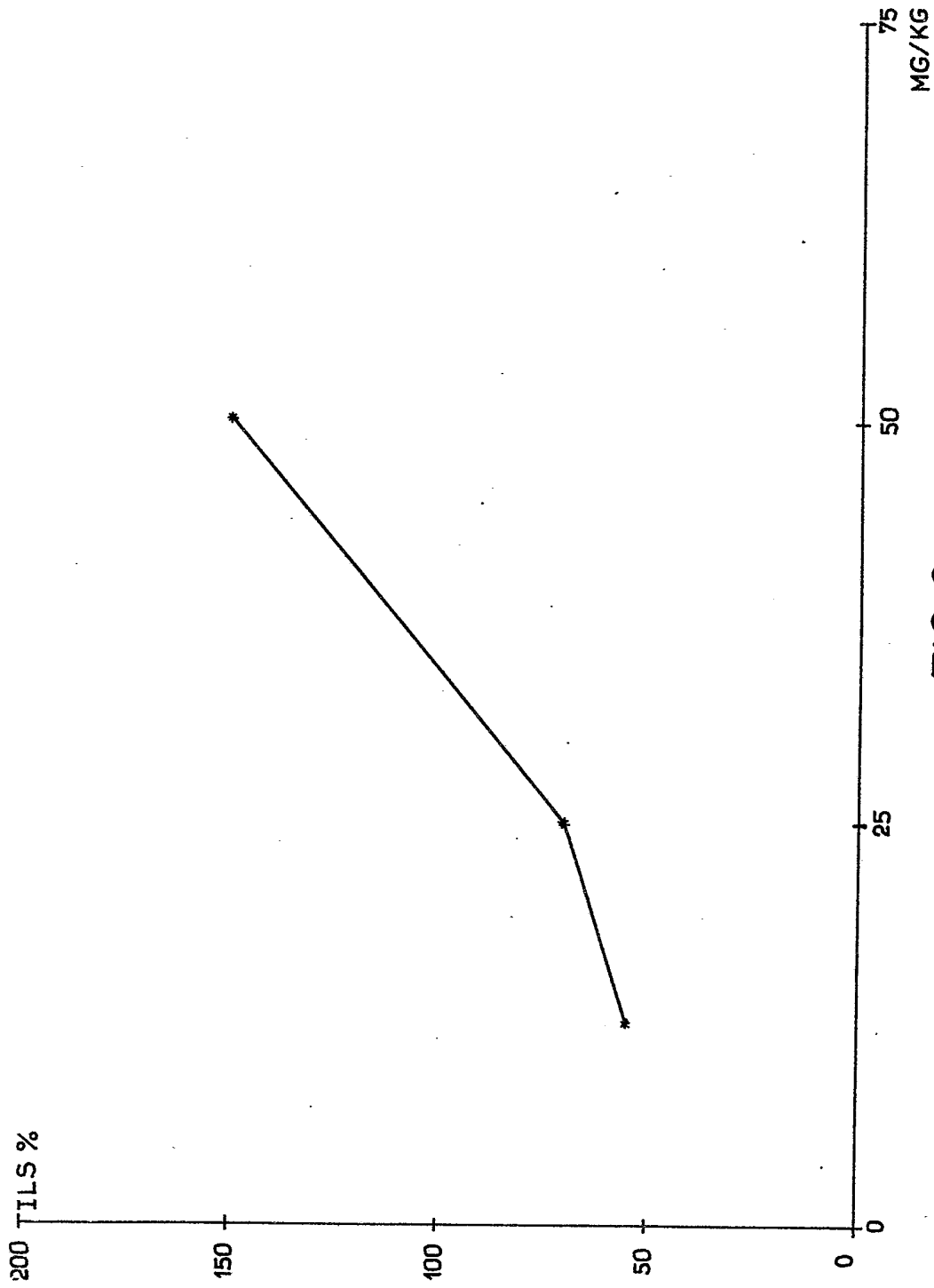


FIG.6

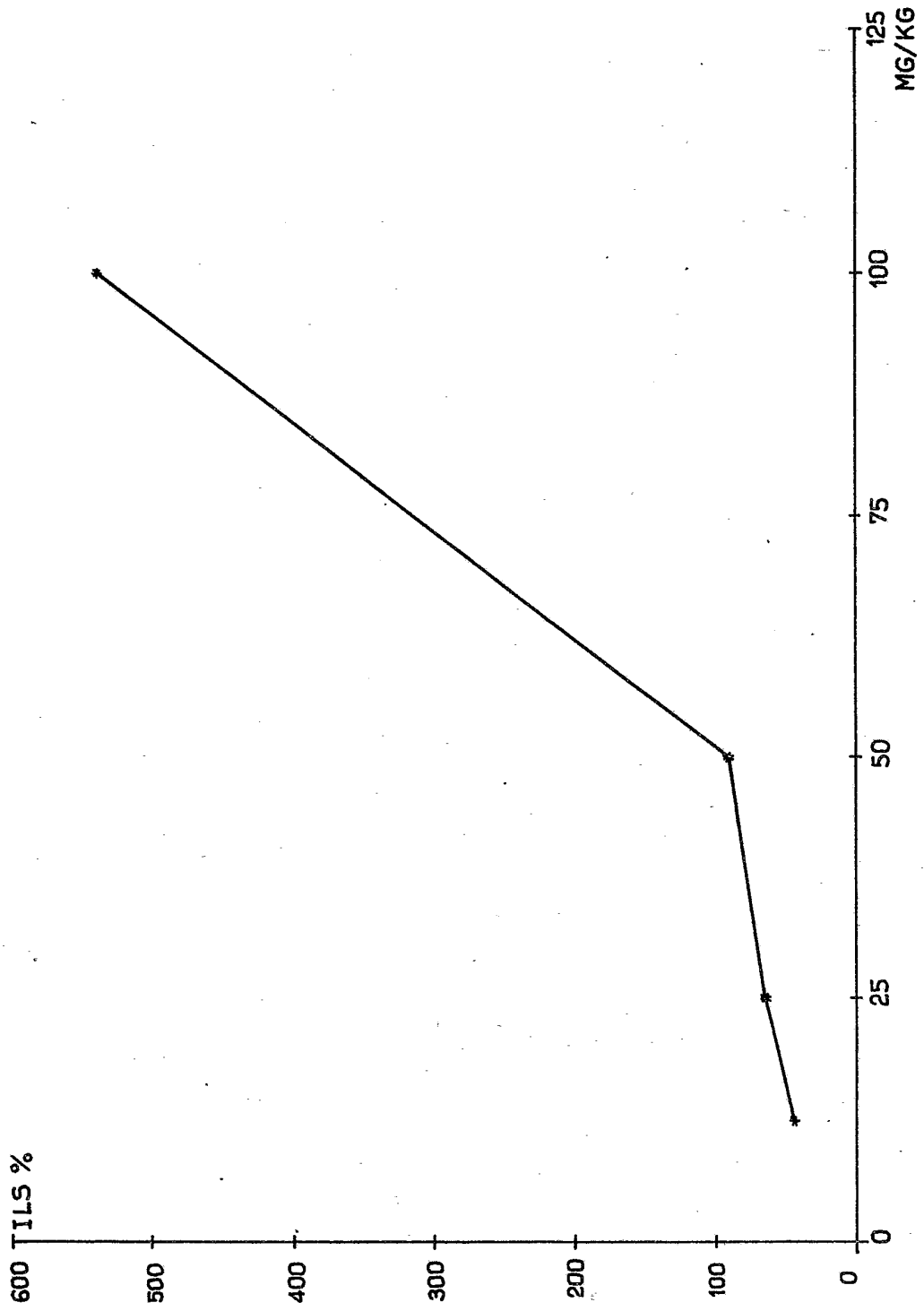


FIG. 7

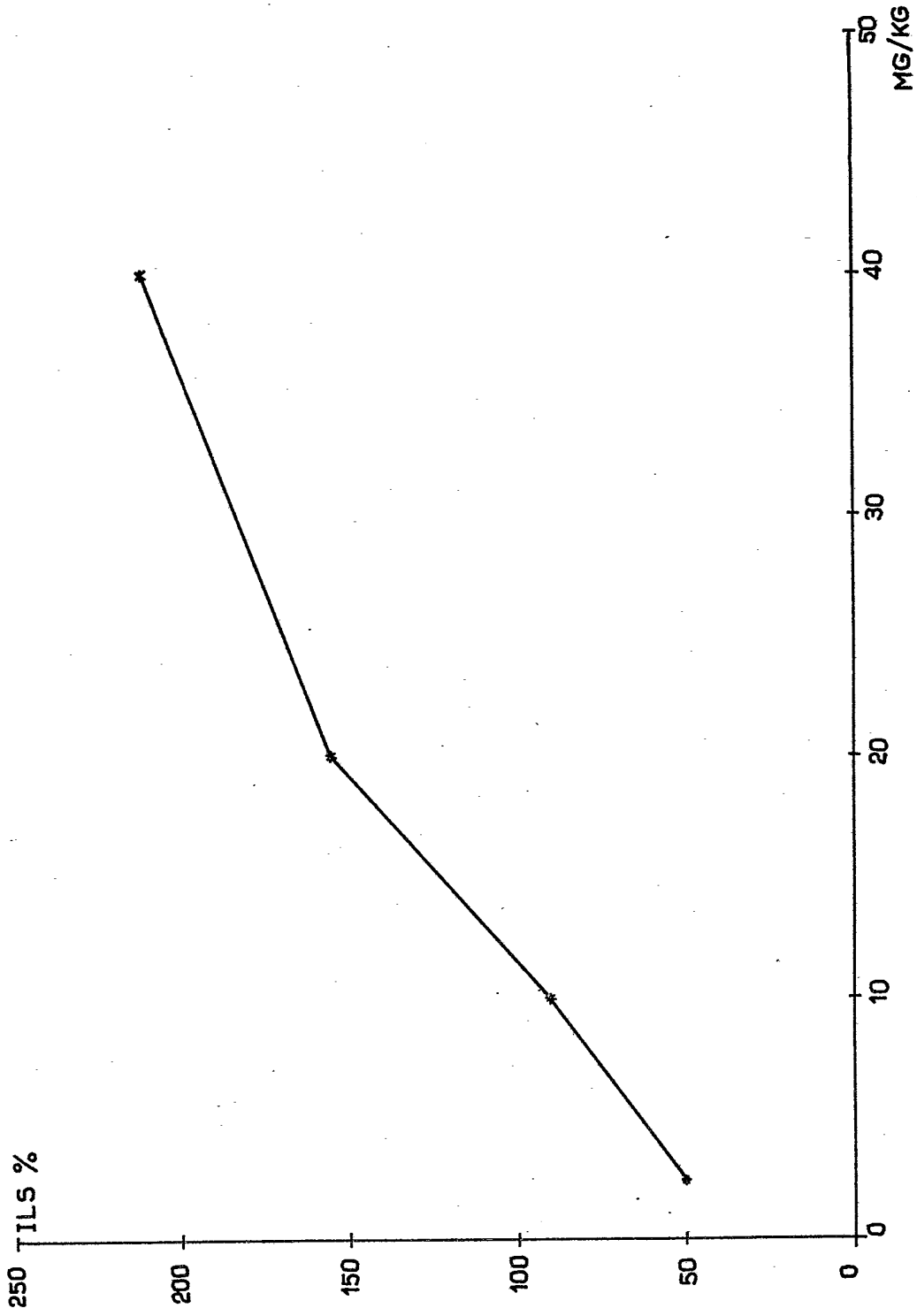


FIG. 8

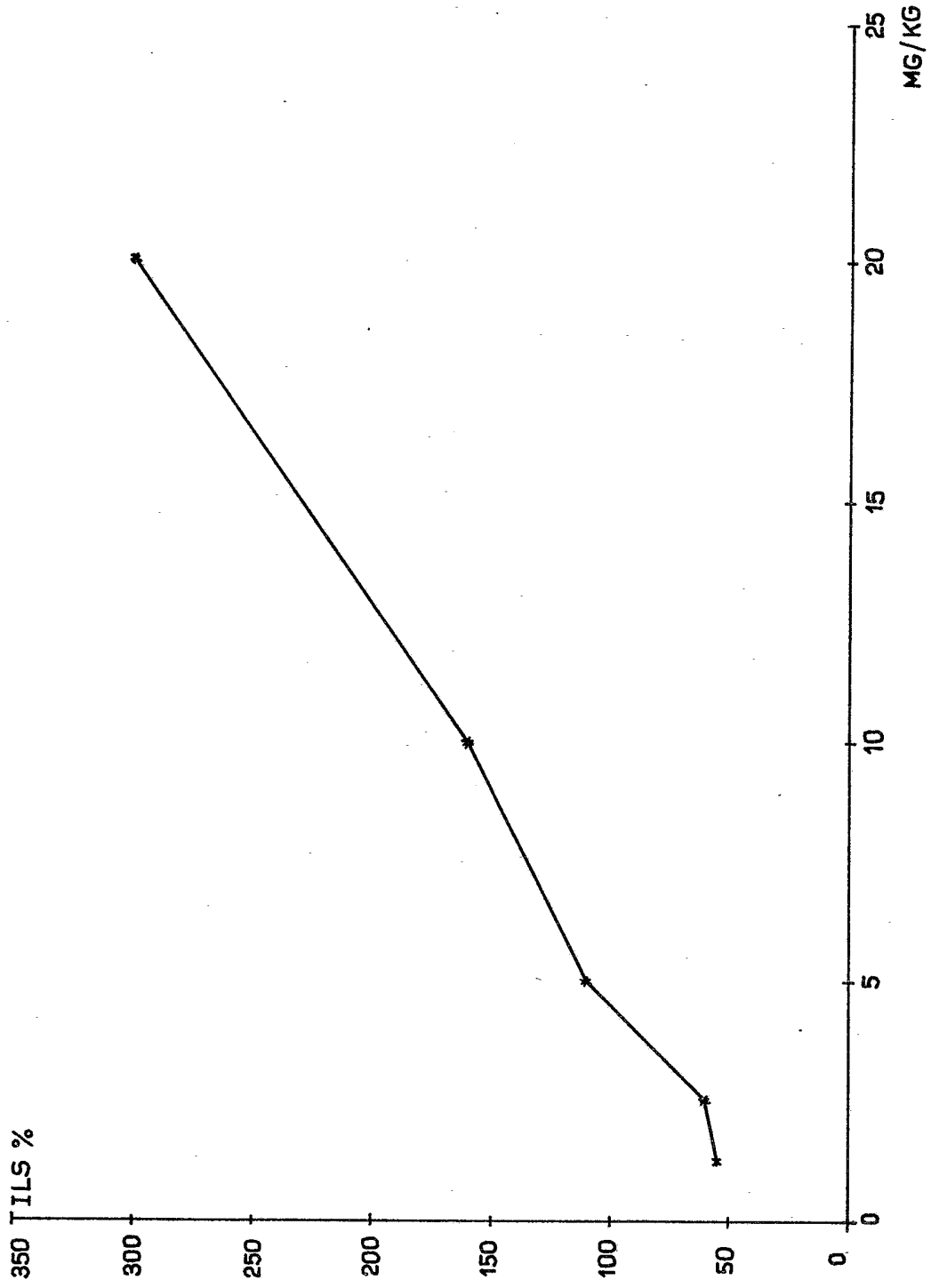


FIG. 9