

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-509133

(P2004-509133A)

(43) 公表日 平成16年3月25日(2004.3.25)

(51) Int.Cl.⁷

C07K 5/037
A61K 38/00
A61K 45/00
A61P 35/00
A61P 43/00

F I

C O 7 K 5/037 Z N A
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 43/00 1 2 3
 A 6 1 K 37/02

テーマコード (参考)

4 C O 8 4
 4 C O 8 6
 4 H O 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 40 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-526905 (P2002-526905)
 (86) (22) 出願日 平成13年9月7日 (2001.9.7)
 (85) 翻訳文提出日 平成15年3月14日 (2003.3.14)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2001/010397
 (87) 国際公開番号 W02002/022655
 (87) 国際公開日 平成14年3月21日 (2002.3.21)
 (31) 優先権主張番号 M12000A002012
 (32) 優先日 平成12年9月15日 (2000.9.15)
 (33) 優先権主張国 イタリア (IT)

(71) 出願人 502046788
 ファルマシア・イタリア・エッセ・ピー・
 アー
 イタリア国、20152・ミラン、ピア・
 ロベルト・コック、1. 2.
 (74) 代理人 100062007
 弁理士 川口 義雄
 (74) 代理人 100105131
 弁理士 井上 満
 (74) 代理人 100113332
 弁理士 一入 章夫
 (74) 代理人 100114188
 弁理士 小野 誠
 (74) 代理人 100103920
 弁理士 大崎 勝真

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗腫瘍活性を有する、ジスタマイシン誘導体とのグルタチオン結合体

(57) 【要約】

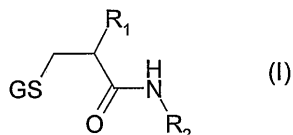
本発明は、グルタチオンと結合した、ジスタマイシンおよびその誘導体（ジスタマイシンのプロモアクリロイル誘導体またはクロロアクリロイル誘導体など）、その調製方法およびその医薬組成物に関する。本発明の化合物は顕著な抗腫瘍活性を有しており、従ってガンの処置における治療において有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I)

【化 1】

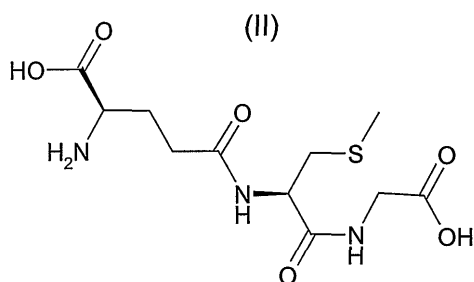


(式中、

10

 R_1 は臭素原子または塩素原子であり； R_2 はジスタマイシン構造またはジスタマイシン様構造であり； GS は、イオウ原子を介して分子の残部に結合したグルタチオンからなる下記の式 (I I) の基；

【化 2】



20

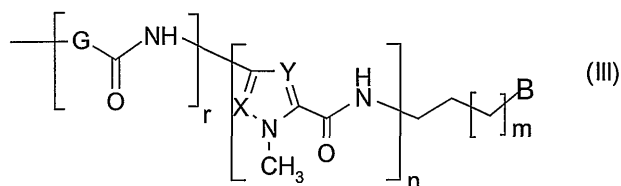
を表す)、

のジスタマイシン誘導体化合物またはその医薬適合性の塩。

【請求項 2】

 R_2 が、式 (I I I) の基；

【化 3】



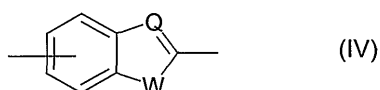
30

(式中、

 m は 0 または 1 または 2 であり； n は 2 ～ 5 の整数であり； r は 0 または 1 であり； X および Y は、それぞれの複素環状環について独立して、同じであるかまたは互いに異なり、窒素原子または CH 基を表し； G はフェニレンであるか、または窒素もしくは酸素もしくはイオウの中から選ばれる 1 個から 3 個のヘテロ原子を有する飽和もしくは不飽和の 5 原子複素環状環もしくは 6 原子複素環状環であるか、または式 (I V) の基；

40

【化 4】

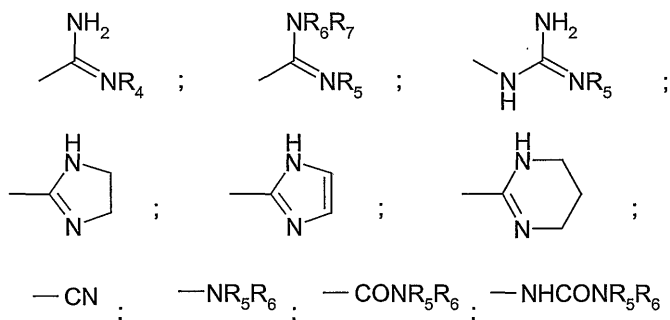
(式中、 Q は窒素原子または CH 基であり、 W は酸素原子またはイオウ原子であるか、あるいは NR_3 基 (式中、 R_3 は水素または $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ アルキルである) である)

であり；

50

B は、下記の中から選ばれる基：

【化 5】



10

(式中、R₄ は、シアノ、アミノ、ヒドロキシまたはC₁ ~ C₄ アルコキシであり；R₅、R₆ およびR₇ は、同じであるかまたは互いに異なり、水素またはC₁ ~ C₄ アルキルである)

である)

である、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 3】

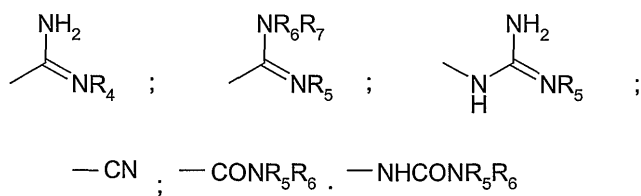
R₁ が臭素または塩素であり、R₂ が式 (I I I) の基 (式中、r は 0 であり、m は 0 または 1 であり、n は 4 である) であり、B が上記に記載の意味を有する、請求項 2 に記載の式 (I) の化合物。

20

【請求項4】

XおよびYがともにCH基であり、Bが下記：

【化 6】



30

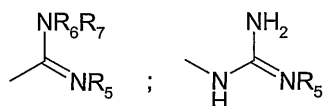
(式中、R₄ はシアノまたはヒドロキシであり；R₅、R₆ および R₇ は、同じであるかまたは互いに異なり、水素または C₁ ~ C₄ アルキルである)

の中から選ばれ、請求項 3 に記載の式 (I) の化合物。

【請求項 5】

B が下記：

【化 7】



40

(式中、 R_5 、 R_6 および R_7 は水素原子である)

の中から選ばれる、請求項４に記載の式（Ⅰ）の化合物。

【請求項 6】

下記の化合物の中から選ばれ、場合により医薬適合性の塩の形態にある、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物：

1) N-5-{1-[({3-[({5-[({5-[({5-[({3-アミノ-3-イミノプロピル) アミノ}カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ]カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ]カルボニル}-1-メ

50

2) N-5-{1-[({3-[({5-[({5-[({5-[({3-アミノ-3-イミノプロピル)アミノ}カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ}カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ}カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ]-2-ブromo-3-オキシプロピル}スルファニル)メチル]-2-[({カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチル}グルタミン

;

4) N-5-{1-[({3-[(5-{[(5-{[(5-{[(3-アミノ-3-イミノプロピル)アミノ]カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ]カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ]カルボニル}-1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル)アミノ]-2-ブromo-3-オキシプロピル}スルファニル)メチル]-2-[(カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチル}グルタミン；

6) N-5-{1-[({3-[({2-{{5-{{5-{{3-アミノ-3-アミノプロピル)アミノ}カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ}カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ}カルボニル}-1-メチル-1H-イミダゾル-4-イル)アミノ]-2-ブromo-3-オキシプロピル}スルファニル)メチル]-2-[(カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチル}グルタミン；

8) N-5- { 1- [({ 3- [(5- { [(5- { [(5- { [(2-アミノ (イミ 40
ノ) メチル] アミノ} エチル) アミノ] カルボニル} - 1-メチル-1 H-ピロル-3-
イル) アミノ] カルボニル} - 1-メチル-1 H-ピロル-3-イル) アミノ] カルボニ
ル} - 1-メチル-1 H-ピロル-3-イル) アミノ] - 2-クロロ-3-オキシプロピ
ル} スルファニル) メチル] - 2- [(カルボキシメチル) アミノ] - 2-オキシエチル
} グルタミン;

9) N-5-{1-[({3-[({5-[({5-[({5-[({5-[({2-アミノ(イミ
ノ)メチル]アミノ}エチル)アミノ]カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-
イル)アミノ]カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ]カルボニ
ル}-1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル)アミノ]-2-ブromo-3-オキソプロ
ピル}スルファニル)メチル]-2-[(カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチ 50

ル} グルタミン；

10) N-5- {1- [({3- [(5- { [(5- { [(5- { [(2-アミノ (イミノ) メチル] アミノ} エチル) アミノ] カルボニル} -1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ] カルボニル} -1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ] カルボニル} -1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル) アミノ] -2-クロロ-3-オキソプロピル} スルファニル) メチル] -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン；

11) N-5- {1- [({3- [(2- { [(5- { [(5- { [(2-アミノ (イミノ) メチル] アミノ} エチル) アミノ] カルボニル} -1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ] カルボニル} -1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ] カルボニル} -1-メチル-1H-イミダゾル-4-イル) アミノ] -2-ブromo-3-オキソプロピル} スルファニル) メチル] -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン； 10

12) N-5- {1- [({3- [(2- { [(5- { [(5- { [(2-アミノ (イミノ) メチル] アミノ} エチル) アミノ] カルボニル} -1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ] カルボニル} -1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ] カルボニル} -1-メチル-1H-イミダゾル-4-イル) アミノ] -2-クロロ-3-オキソプロピル} スルファニル) メチル] -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン；

13) N-5- {1- [({3- [(5- { [(5- { [(5- { [5- (4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ] カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ] カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} -2-ブromo-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル] -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン； 20

14) N-5- {1- { ({3- [(5- { [(5- { [(5- { [(5- (4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル) アミノ] カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} -2-クロロ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン； 30

15) N-5- {1- [({3- [(5- { [(5- { [(5- { [5- (4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル] アミノ} -2-ブromo-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル] -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン；

16) N-5- {1- [({3- [(5- { [(5- { [(5- { [5- (4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル] アミノ} -2-クロロ-3-オキソプロピル} スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン； 40

17) N-5- {1- [({3- [(2- { [(5- { [(5- { [(5- (4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピラゾル-4-イル] アミノ} -2-ブromo-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン；

18) N-5- {1- [({3- [(2- { [(5- { [(5- { [5- (4-アミノ 50

－４－イミノブタノイル）－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル］アミノ}カルボニル)
)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル］アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－
 ピロル－３－イル］アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピラゾル－４－イル］ア
 ミノ}－２－クロロ－３－オキソプロピル)スルファニル]メチル}－２－[(カルボキ
 シメチル)アミノ]－２－オキソエチル}グルタミン；

１９) N－５－{１－[({ ３－[(５－{ [(５－{ [(５－{ [(５－(３－{ [ア
 ミノ(イミノ)メチル]アミノ}プロパノイル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル
]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)
 －１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピ
 ロル－３－イル]アミノ}－２－ブromo－３－オキソプロピル}スルファニル]メチル} 10
 －２－[(カルボキシメチル)アミノ]－２－オキソエチル}グルタミン；

２０) N－５－{１－[({ ３－[(５－{ [(５－{ [(５－{ [(５－(３－{ [ア
 ミノ(イミノ)メチル]アミノ}プロパノイル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル
]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)
 －１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピ
 ロル－３－イル]アミノ)－２－クロロ－３－オキソプロピル}スルファニル]メチル}
 －２－[(カルボキシメチル)アミノ]－２－オキソエチル}グルタミン；

２１) N－５－{１－[({ ３－[(５－{ [(５－{ [(５－{ [(５－(３－{ [ア
 ミノ(イミノ)メチル]アミノ}プロパノイル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル
]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル) 20
 －１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピ
 ラゾル－３－イル]アミノ}－２－ブromo－３－オキソプロピル)スルファニル]メチル
 }－２－[(カルボキシメチル)アミノ]－２－オキソエチル}グルタミン；

２２) N－５－{１－[({ ３－[(５－{ [(５－{ [(５－{ [(５－(３－{ [ア
 ミノ(イミノ)メチル]アミノ}プロパノイル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル
]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)
 －１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピ
 ラゾル－３－イル]アミノ}－２－クロロ－３－オキソプロピル}スルファニル]メチル
 }－２－[(カルボキシメチル)アミノ]－２－オキソエチル}グルタミン；

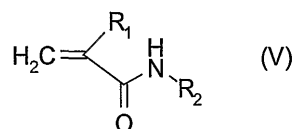
２３) N－５－{１－[({ ３－[(２－{ [(５－{ [(５－{ [(５－(３－{ [ア 30
 ミノ(イミノ)メチル]アミノ}プロパノイル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル
]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)
 －１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－イ
 ミダゾル－４－イル]アミノ}－２－ブromo－３－オキソプロピル}スルファニル]メチ
 ル}－２－[(カルボキシメチル)アミノ]－２－オキソエチル}グルタミン；

２４) N－５－{１－[({ ３－[(２－{ [(５－{ [(５－{ [(５－(３－{ [ア
 ミノ(イミノ)メチル]アミノ}プロパノイル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル
]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)
 －１－メチル－１Ｈ－ピロル－３－イル]アミノ}カルボニル)－１－メチル－１Ｈ－イ
 ミダゾル－４－イル]アミノ}－２－クロロ－３－オキソプロピル}スルファニル]メチ 40
 ル}－２－[(カルボキシメチル)アミノ]－２－オキソエチル}グルタミン。

【請求項 7】

請求項 1 に記載された式 (I) の化合物およびその医薬適合性の塩を調製するための方法
 であって、グルタチオンを下記の式 (V) の化合物：

【化 8】



(式中、 R_1 および R_2 は、請求項 1 に記載される意味を有する)
と反応させること、およびそのようにして得られる式 (I) の化合物をその医薬適合性の塩に場合により変換することを含む、前記方法。

【請求項 8】

前記反応が、過剰なグルタチオンを用いて、有機塩基または無機塩基の存在下で行われる、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

式 (V) の化合物とグルタチオンとのモル比が約 1 : 1 から約 1 : 3 の範囲である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

有効成分として請求項 1 に記載された式 (I) の化合物の治療効果的な量と、1 つ以上の医薬適合性のキャリアまたは希釈剤とを含む医薬配合物。

【請求項 11】

腫瘍を処置するための治療法であって、それを必要とする患者に、請求項 10 に記載される医薬組成物を投与することを含む治療法。

【請求項 12】

請求項 1 に記載される式 (I) の化合物またはその医薬適合性の塩と、さらなる抗腫瘍剤とを含む、抗腫瘍治療において同時または個別または連続的に使用される混合調製物。

【請求項 13】

医薬品として使用される、請求項 1 に記載される式 (I) の化合物。

【請求項 14】

抗腫瘍活性を有する医薬品の製造における、請求項 1 に記載される式 (I) の化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、抗腫瘍活性を有するジスタマイシン誘導体に関し、より詳細には、本発明は、グルタチオンと結合したジスタマイシンのアクリロイル誘導体、その調製方法およびその医薬組成物に関する。

【0002】

ジスタマイシン A は、ポリピロール構造を特徴とする、抗ウイルス性および腫瘍溶解性を有する抗生物性物質である [Nature, 203; 1064 (1964); J. Med. Chem. 32: 774~778 (1989)]。

【0003】

国際特許出願公開 WO 90/11277、同 WO 98/04524、同 WO 98/21202、同 WO 99/50265、同 WO 99/50266 および同 WO 01/40181 (英国特許出願第 9928703.9 号の優先権を主張する) (これらはすべて、本出願人自身の名義であり、参考文献として本明細書に組み込まれる) には、アミジン末端基が、例えば、シアナミジン基、N-メチルアミジン基、エチルグアニジン基、アミド基、アミドキシム基、シアノ基もしくはそれらのアナログなどの窒素基で場合により置換されるジスタマイシンのアクリロイル誘導体、および/またはジスタマイシンのポリピロール構造もしくはその一部が異なる炭素環構造もしくは複素環構造で置換されるジスタマイシンのアクリロイル誘導体が記載される。

【0004】

今回、本発明者らは、予想もしなかったことに、グルタチオンと適正に結合した上記に報告されるジスタマイシンのアクリロイル誘導体が顕著な抗腫瘍活性を有することを見出した。

【0005】

従って、本発明の目的は、式 (I) のジスタマイシン誘導体またはその医薬適合性の塩を提供することである：

【0006】

10

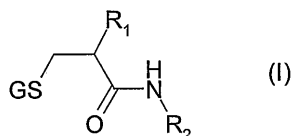
20

30

40

50

【化 9】

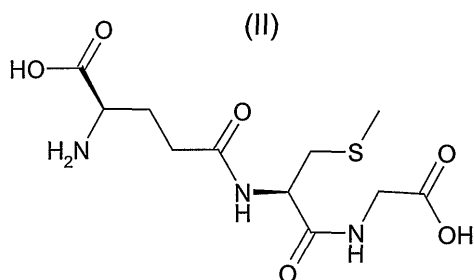


式中、

 R_1 は臭素原子または塩素原子であり； R_2 はジスタマイシン構造またはジスタマイシン様構造であり；GSは、イオウ原子を介して分子の残部に結合したグルタチオンからなる式（I I）の基 10
：

【0007】

【化10】



20

を表す。

【0008】

本発明は、その範囲において、式（I）の化合物の可能な異性体のすべて（分離と見なされる状態および混合状態の両方）、ならびに式（I）の化合物の代謝産物および医薬適合性の生物前駆体（これは他の場合にはプロドラッグとして知られている）を包含する。

【0009】

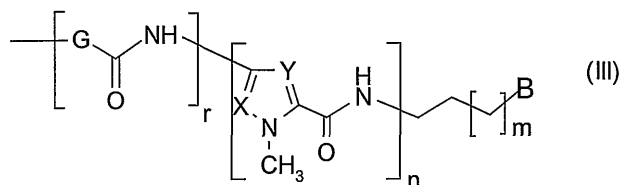
本説明では、別途示されない限り、 R_2 のジスタマイシン構造またはジスタマイシン様構造の用語により、例えば、アミジン末端基および／またはポリピロール構造もしくはその一部を置換することによってジスタマイシン自身に相関し得る任意の構造が意図される。 30

【0010】

本発明の好ましい化合物は、 R_2 が式（I I I）の基である上記に記載された式（I）の化合物である：

【0011】

【化11】



40

（式中、

mは0または1または2であり；nは2～5の整数であり；rは0または1であり；

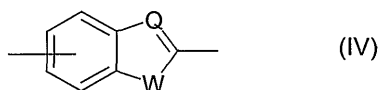
XおよびYは任意の複素環状環について独立して、同じであるか、または互いに異なり、窒素原子またはCH基であり；

Gはフェニレンであるか、または窒素もしくは酸素もしくはイオウの中から選ばれる1個から3個のヘテロ原子を有する飽和もしくは不飽和の5原子複素環状環もしくは6原子複素環状環であるか、または下記の式（I V）の基：

【0012】

50

【化 1 2】



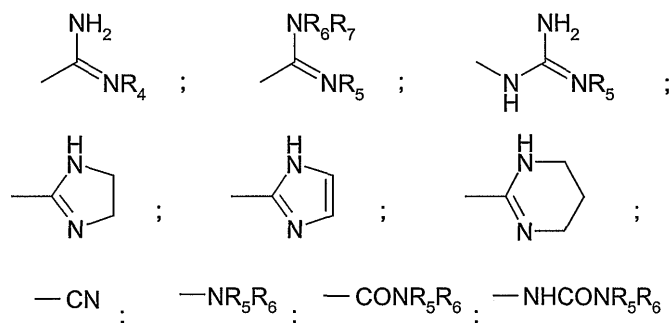
(式中、Qは窒素原子またはCH基であり、Wは酸素原子またはイオウ原子であるか、あるいはNR₃基(式中、R₃は水素またはC₁～C₄アルキルである)である)であり；

Bは、下記の中から選ばれる基：

【0013】

10

【化 1 3】



(式中、R₄は、シアノ、アミノ、ヒドロキシまたはC₁～C₄アルコキシであり；R₅、R₆およびR₇は同じであるか、または互いに異なり、水素またはC₁～C₄アルキルである)である。

【0014】

本発明のさらにより好ましい化合物は、R₁が臭素または塩素であり、R₂が式(III)の基(式中、rは0であり、mは0または1であり、nは4である)であり、かつBが上記に記載の意味を有する式(I)の化合物である。

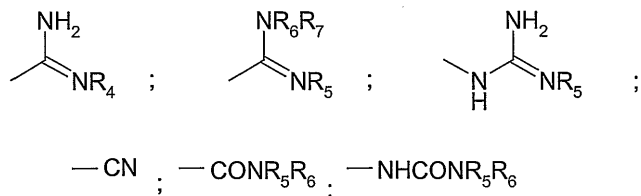
【0015】

30

この範囲において、特に好ましいものは、XおよびYがともにCH基であり、Bが下記：

【0016】

【化 1 4】



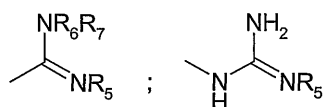
(式中、R₄はシアノまたはヒドロキシであり；R₅、R₆およびR₇は同じであるか、または互いに異なり、水素またはC₁～C₄アルキルである)の中から選ばれる式(I)の化合物である。

【0017】

この範囲において、さらにより好ましいものは、Bが下記：

【0018】

【化 1 5】



(式中、 R_5 、 R_6 および R_7 は水素原子である)
の中から選ばれる式 (I) の化合物である。

【0019】

本説明において、別途示されない限り、 $C_1 \sim C_4$ アルキルまたは $C_1 \sim C_4$ アルコキシの用語に関して、それらは、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、メトキシ、エトキシ、*n*-プロポキシ、イソプロポキシ、*n*-ブトキシ、イソブトキシ、*sec*-ブトキシまたは *tert*-ブトキシの中から選ばれる直鎖状または分枝状の基が意図される。

【0020】

式 (I) の化合物の医薬適合性の塩は、有機酸または無機酸との塩ならびに有機塩基または無機塩基との塩で、医薬適合性の塩である。例えば、医薬適合性の塩には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、過塩素酸、リン酸、硝酸、酢酸、トリフルオロ酸、プロピオン酸、コハク酸、マロン酸、酒石酸、メタンスルホン酸または *p*-トルエンスルホン酸との塩、ならびにアルカリ金属もしくはアルカリ土類金属の水酸化物との塩、炭酸塩もしくは重炭酸塩との塩、または脂肪族アミンもしくはシクロ脂肪族アミン (例えば、メチルアミン、エチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミンもしくはピペリジン) との塩がある。

【0021】

式 (I) の好ましい化合物の具体的な例として、下記が挙げられる (これらの化合物は、場合により、好ましくは、塩酸または水酸化ナトリウムとの医薬適合性の塩の形態にある) :

- 1) $N-5-\{1-[(\{3-[(5-\{[(5-\{[(5-\{[(3-アミノ-3-イミノプロピル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ\}-2-クロロ-3-オキソプロピル\}スルファニル)メチル]-2-[(カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチル\}グルタミン$;
- 2) $N-5-\{1-[(\{3-[(5-\{[(5-\{[(5-\{[(3-アミノ-3-イミノプロピル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ\}-2-ブromo-3-オキソプロピル\}スルファニル)メチル]-2-[(カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチル\}グルタミン$;
- 3) $N-5-\{1-[(\{3-[(5-\{[(5-\{[(5-\{[(3-アミノ-3-イミノプロピル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル)アミノ\}-2-クロロ-3-オキソプロピル\}スルファニル)メチル]-2-[(カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチル\}グルタミン$;
- 4) $N-5-\{1-[(\{3-[(5-\{[(5-\{[(5-\{[(3-アミノ-3-イミノプロピル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル)アミノ\}-2-ブromo-3-オキソプロピル\}スルファニル)メチル]-2-[(カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチル\}グルタミン$;
- 5) $N-5-\{1-[(\{3-[(2-\{[(5-\{[(5-\{[(3-アミノ-3-イミノプロピル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル)アミノ\}]カルボニル\}-1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル)アミノ\}-2-クロロ-3-オキソプロピル\}スルファニル)メチル]-2-[(カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチル\}グルタミン$;

10

10

10

20

20

30

40

40

50

ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} -2-ブロモ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン;

14) N-5-{1-{({3-[(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ (4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} -2-クロロ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン;

15) N-5-{1-[({3-[(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [5-(4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル] アミノ} -2-ブロモ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン;

16) N-5-{1-[({3-[(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [5-(4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル] アミノ} -2-クロロ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン;

17) N-5-{1-[({3-[(2-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ (4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピラゾル-4-イル] アミノ} -2-ブロモ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン;

18) N-5-{1-[({3-[(2-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [5-(4-アミノ-4-イミノブタノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピラゾル-4-イル] アミノ} -2-クロロ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン;

19) N-5-{1-[({3-[(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [5-(3-{ [アミノ(イミノ)メチル] アミノ} プロパノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} -2-ブロモ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン;

20) N-5-{1-[({3-[(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [5-(3-{ [アミノ(イミノ)メチル] アミノ} プロパノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} -2-クロロ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル} -2- [(カルボキシメチル) アミノ] -2-オキソエチル} グルタミン;

21) N-5-{1-[({3-[(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [(5-{ [5-(3-{ [アミノ(イミノ)メチル] アミノ} プロパノイル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピロル-3-イル] アミノ} カルボニル) -1-メチル-1H-ピラゾル-3-イル] アミノ} -2-ブロモ-3-オキソプロピル) スルファニル] メチル

10

20

30

40

50

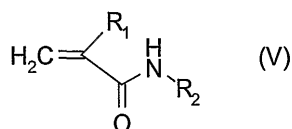
} - 2 - [(カルボキシメチル) アミノ] - 2 - オキソエチル} グルタミン ;
 22) N - 5 - { 1 - [({ 3 - [(5 - { [(5 - { [5 - (3 - { [ア
 ミノ (イミノ) メチル] アミノ} プロパノイル) - 1 - メチル - 1 H - ピロル - イル] ア
 ミノ} カルボニル) - 1 - メチル - 1 H - ピロル - 3 - イル] アミノ} カルボニル) - 1
 - メチル - 1 H - ピロル - 3 - イル] アミノ} カルボニル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾ
 ル - 3 - イル] アミノ} - 2 - クロロ - 3 - オキソプロピル} スルファニル] メチル} -
 2 - [(カルボキシメチル) アミノ] - 2 - オキソエチル} グルタミン ;
 23) N - 5 - { 1 - [({ 3 - [(2 - { [(5 - { [(5 - { [5 - (3 - { [ア
 ミノ (イミノ) メチル] アミノ} プロパノイル) - 1 - メチル - 1 H - ピロル - 3 - イル
] アミノ} カルボニル) - 1 - メチル - 1 H - ピロル - 3 - イル] アミノ} カルボニル) 10
 - 1 - メチル - 1 H - ピロル - 3 - イル] アミノ} カルボニル) - 1 - メチル - 1 H - イ
 ミダゾル - 4 - イル] アミノ} - 2 - ブロモ - 3 - オキソプロピル} スルファニル] メチ
 ル} - 2 - [(カルボキシメチル) アミノ] - 2 - オキソエチル} グルタミン ;
 24) N - 5 - { 1 - [({ 3 - [(2 - { [(5 - { [(5 - { [5 - (3 - { [ア
 ミノ (イミノ) メチル] アミノ} プロパノイル) - 1 - メチル - 1 H - ピロル - 3 - イル
] アミノ} カルボニル) - 1 - メチル - 1 H - ピロル - 3 - イル] アミノ} カルボニル)
 - 1 - メチル - 1 H - ピロル - 3 - イル] アミノ} カルボニル) - 1 - メチル - 1 H - イ
 ミダゾル - 4 - イル] アミノ} - 2 - クロロ - 3 - オキソプロピル} スルファニル] メチ
 ル} - 2 - [(カルボキシメチル) アミノ] - 2 - オキソエチル} グルタミン。

【0022】

本発明のさらなる目的は、式 (I) の化合物およびその医薬適合性の塩を調製するための方法である。この方法は、グルタチオンを下記の式 (V) の化合物：

【0023】

【化16】



(式中、 R_1 および R_2 は、上記に記載される意味を有する)

と反応すること、およびそのようにして得られる式 (I) の化合物をその医薬適合性の塩の場合により変換することを含む。

【0024】

式 (I) の化合物の調製は、本発明の方法目的に従って、式 (V) の化合物を、好ましくは過剰のグルタチオンと、例えば、約 1 : 1 から約 1 : 3 の範囲である化合物 (V) : グルタチオンのモル比で、有機塩基または無機塩基 (例えば、炭酸ナトリウム、トリエチルアミン、または好ましくは水酸化ナトリウムなど) の存在下で反応することによって行われる。

【0025】

反応は、有機溶媒 (例えば、低級アルコール、ジメチルスルホキシドまたはジメチルホルムアミド) の存在下、約 -10°C から約 70°C の温度で約 1 時間 ~ 約 6 時間の期間にわたって行われる。好ましくは、反応は、メタノールまたはエタノールの存在下で行われる。

【0026】

上記から、望ましくない副生成物をもたらす得る、従って、反応の進行を妨害する、場合により使用される官能基は、十分に知られている方法に従って都合よく保護され得ることが当業者には明かである。一例として、グルタチオンのアミノ基およびカルボキシル基は、式 (V) の誘導体との上記の反応を行う前に保護することができ、その後、知られている方法に従って操作することによって脱保護することができる。

【0027】

同様に、式 (I) の化合物の塩形成反応を従来の方法に従って行うことができる。十分に

20

30

40

50

知られている様々な手法、例えば、結晶化またはクロマトグラフィーなどの技術もまた、式（I）の化合物の異性体混合物を単一の異性体に分離するために用いることができる。

【0028】

グルタチオン（The Merck Index、XII版、N. 4483）、および式（V）のジスタマイシンのアクリロイル誘導体は、文献において知られている化合物であるか、または例えば、上記の国際特許出願公開WO90/11277、同WO98/04524、同WO98/21202、同WO99/50265、同WO99/50266および同WO01/40181に記載されるような知られている方法に従って得ることができる。

【0029】

（薬理学）

本発明の目的である式（I）の化合物は細胞傷害性を示し、従って、治療において、例えば、乳房、肺、結腸、卵巣および子宮内膜のガン、ならびに肉腫または血液学的悪性腫瘍（例えば、白血病）をはじめとする他の新生物を含む様々な腫瘍形態の処置において有用である。

【0030】

式（I）の化合物の細胞傷害性効果はヒト卵巣ガン細胞（A2780）で評価された。細胞は、安定化された培養物として、ウシ胎児血清（10%）およびL-グルタミン（2mM）が添加された培養培地RPMI1640でインビトロで維持された。細胞障害性効果を指数増殖期の細胞で評価した。細胞を処理の24時間前に5,000細胞/cm²の濃度で96ウェルプレートに播種した。試験される化合物の段階的な用量を培養培地に加え、細胞を37℃で1時間インキュベーションした。処理が終了したとき、試験物質を含む培養培地を除き、新鮮な培養培地と交換した。式（I）の化合物の細胞傷害性効果を72時間後にMTT試験（Cole SP、MTTアッセイを使用するヒト肺腫瘍細胞の迅速な化学感受性試験、Cancer Chemotherapy & Pharmacology、17（3）：259～63、1986）によって評価した。式（I）の化合物の抗増殖作用を用量応答曲線から計算し、コントロールに対して処理群において細胞増殖の50%を阻害する用量（ID₅₀）として表した。

【0031】

式（I）の化合物は、これらの実験条件で試験されたとき、特に活性であることが見出された。

【0032】

本発明の式（I）の化合物は、例えば、静脈内注射もしくは静脈内注入、筋肉内、皮下による非経口経路、または局所的経路もしくは経口経路による従来の方法に従って、ヒトを含む哺乳動物に投与することができる。

【0033】

正確な投薬量は、例として、処置される患者の年齢、体重および状態を含むいくつかの要因ならびに選択された投与方法によって決定される。

【0034】

本発明のさらなる目的が、有効成分としての式（I）の化合物と、1つ以上の医薬適合性のキャリアまたは希釈剤とを含む医薬組成物によって示される。このような医薬組成物は通常、従来の方法に従って調製される。

【0035】

本発明の目的はまた、本発明の組成物を投与することを含む、腫瘍を処置するための治療法である。

【0036】

式（I）の化合物はまた、腫瘍を処置するための治療において従来から用いられている他の抗新生物剤と組み合わせて投与することができる。

【0037】

従って、本発明のさらなる目的は、式（I）の化合物またはその医薬適合性の塩と、さら

10

20

30

40

50

なる抗腫瘍剤とを含む、抗腫瘍治療において同時または個別または連続的に使用される混合調製物である。

【0038】

抗腫瘍活性を有し、本発明の目的に従って用いられ得る化合物には、例えば、マスタード類などのアルキル化剤、ニトロソウレア類、テトラジン類、アジリジン類および白金誘導体；トポイソメラーゼ I および II の阻害剤、例えば、カンプトテシン類および誘導体、アントラサイクリン類およびアントラキノン誘導体、アクリジン誘導体など；タキサン類または抗代謝物質が含まれる。

【0039】

下記の実施例は、この場合、本発明をより良く理解するためのものであり、本発明のいかなる限定を表さない。 10

【0040】

実施例 1

N-5-{1-{[(3-{[5-(5-{[5-(5-{[(5-(3-{[アミノ(イミノ)メチル]アミノ}プロパノイル)-1-メチル-1H-ピロル-3-イル]アミノ{カルボニル}-1-メチル-1H-ピロル-3-イル]アミノ}カルボニル)-1-メチル-1H-ピロル-3-イル]アミノ}-2-クロロ-3-オキソプロピル)スルファニル]メチル}-2-[(カルボキシメチル)アミノ]-2-オキソエチル}グルタミン(化合物20)

2 M 水酸化ナトリウム溶液 (70 μ l) を、グルタチオン (60 mg) のメタノール (3 ml) における懸濁液に加えた。反応混合物を室温で 2 時間攪拌し、その後、33 mg の N-[5-(5-{[5-(5-{[5-(3-{[アミノ(イミノ)メチル]アミノ}プロパノイル)-1-メチル-1H-ピロル-3-イル]アミノ}カルボニル)-1-メチル-1H-ピロル-3-イル]アミノ}カルボニル)-1-メチル-1H-ピロル-3-イル]-4-[(2-クロロアクリロイル)アミノ]-1-メチル-1H-ピロル-2-カルボキサミド (これは国際特許出願公開 WO 98/04524 に報告されるように調製された) を加えた。2 時間後、懸濁物をろ過し、沈殿を少量のメタノールでフィルター上で洗浄し、その後、加熱乾燥器に入れ、真空下、40 $^{\circ}$ C で 4 時間乾燥した。このようにして、60 mg の所望する生成物が淡黄色の固体として得られた。 20

【0041】

FAB-MS: m/z 986 (100 [M+H]⁺)。 30

【0042】

類似する方法で操作することによって、そして式 (V) の適切な誘導体を使用することによって、前記に記載され、そして番号が付けられた 1 から 19 および 21 から 24 の具体的な化合物などの式 (I) の多数の他の誘導体を合成することができる。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
21 March 2002 (21.03.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/22655 A1

- (51) International Patent Classification: C07K 5/02, GERONI, Maria, Cristina [IT/IT]; Via Correggio, 48, A61K 38/06, C07K 5/037 I-20149 Milano (IT).
- (21) International Application Number: PCT/EP01/10397
- (22) International Filing Date: 7 September 2001 (07.09.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: MI2000A002012 15 September 2000 (15.09.2000) IT
- (71) Applicant (for all designated States except US): PHARMACIA & UPJOHN SPA [IT/IT]; Via Robert Koch, 1.2, I-20152 Milano (IT).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): BERIA, Italo [IT/IT]; Via S. Anna, 16, I-20014 Nerviano (IT). COZZI, Paolo [IT/IT]; Via Zanella, 48/5, I-20133 Milano (IT).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BI, CF, CG, CI, CM, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— with international search report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/22655 A1

(54) Title: GLUTATHIONE CONJUGATES WITH DISTAMYCIN DERIVATIVES HAVING ANTITUMORAL ACTIVITY

(57) Abstract: The present invention refers to distamycin and derivatives thereof, such as bromo- or chloro-acryloyl derivatives of distamycin, which are conjugated with glutathione, to a process for their preparation and to pharmaceutical compositions thereof. The compounds of the invention are endowed with a remarkable antitumor activity and are thus useful in therapy in the treatment of cancer.

WO 02/22655

PCT/EP01/10397

**GLUTATHIONE CONJUGATES WITH DISTAMYCIN DERIVATIVES WITH
ANTITUMORAL ACTIVITY**

- 5 The present invention refers to distamycin derivatives having antitumoral activity and, more in particular, it refers to acryloyl derivatives of distamycin conjugated with glutathione, their preparation process and the pharmaceutical compositions thereof.

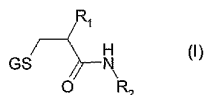
10 Distamycin A is an antibiotic substance having antiviral and oncolytic properties characterized by a polypyrrole structure. [*Nature* 203; 1064 (1964); *J. Med. Chem.* 32: 774-778 (1989)].

The international patent applications WO 90/11277, WO 98/04524, WO 98/21202, WO 99/50265, WO 99/50266 and WO 01/40181 (claiming priority from British patent application No. 9928703.9), all in the name of the Applicant itself and herewith
15 incorporated as a reference, describe acryloyl derivatives of distamycin in which the amidine end moiety is optionally substituted by nitrogen groups such as, for instance, cyanamidine, N-methylamidine, ethylguanidine, amide, amidoxime, cyano groups or analogues thereof, and/or where the polypyrrole structure of distamycin, or parts of it, are substituted by different carbocyclic or heterocyclic structures.

20 Now we have unexpectedly found that the above reported acryloyl derivatives of distamycin, properly conjugated with glutathione, result to be endowed with a remarkable antitumoral activity.

It is therefore an object of the present invention a distamycin derivative of formula (I)

25



wherein:

WO 02/22655

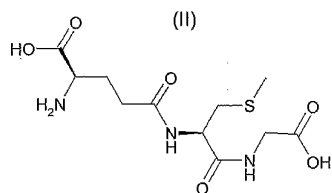
PCT/EP01/10397

2

R₁ is a bromine or chlorine atom;

R₂ is a distamycin or a distamycin-like structure;

GS represents a radical of formula (II)



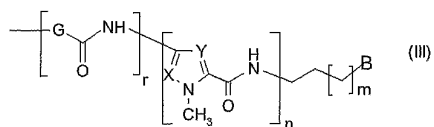
5

consisting of glutathione bound to the rest of the molecule through the sulfur atom; or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The present invention includes, in its scope, all the possible isomers of the compounds of formula (I), both considered separately and in admixture, as well as the metabolites and the pharmaceutically acceptable bio-precursors (otherwise known as pro-drugs) of the compounds of formula (I).

In the present description, unless otherwise specified, by the term distamycin or distamycin-like structure R₂ it is intended any structure which could be correlated to distamycin itself, for example by substituting the amidine ending moiety and/or the polypyrrrole sequence, or parts of it.

Preferred compounds of the invention are the compounds of formula (I) mentioned above, wherein R₂ is a group of formula (III):



20

WO 02/22655

PCT/EP01/10397

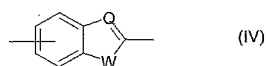
3

wherein:

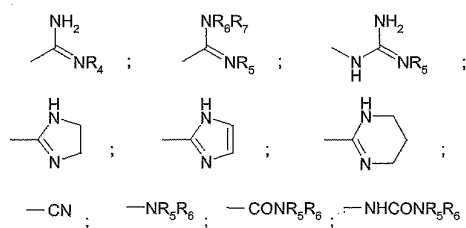
m is 0, 1, or 2; n is an integer number from 2 to 5; r is 0 or 1;

X and Y are, independently for any heterocyclic ring and the same or different from each other, a nitrogen atom or a CH group;

- 5 G is phenylene or a saturated or unsaturated penta- or hexa-atomic heterocyclic ring with from 1 to 3 heteroatoms chosen among nitrogen, oxygen or sulfur; or G is a group of formula (IV)



- 10 wherein Q is a nitrogen atom or a CH group and W is an oxygen or sulfur atom or it is a NR_3 group wherein R_3 is hydrogen or C_1 - C_4 alkyl;
B is a group chosen among

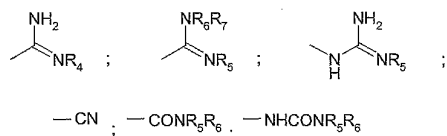


- 15 wherein R_4 is cyano, amino, hydroxy or C_1 - C_4 alkoxy; R_5 , R_6 and R_7 , the same or different from each other, are hydrogen or C_1 - C_4 alkyl.
Even more preferred compounds of the invention are the compounds of formula (I) wherein R_1 is bromine or chlorine; R_2 is a group of formula (III) wherein r is 0, m is 0 or 1, n is 4 and B has the above reported meanings.
- 20 Particularly preferred, in this ambit, are the compounds of formula (I) wherein X and Y are both CH groups and B is chosen from:

WO 02/22655

PCT/EP01/10397

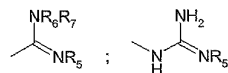
4



wherein R₄ is cyano or hydroxy and R₅, R₆ and R₇, the same or different from each other, are hydrogen or C₁-C₄ alkyl.

Still more preferred, in this ambit, are the compounds of formula (I) wherein B is chosen

5 between :



wherein R₅, R₆ and R₇ are hydrogen atoms.

In the present description, unless otherwise specified, with the term C₁-C₄ alkyl or alkoxy it is intended a straight or branched group chosen among methyl, ethyl, n.propyl, isopropyl, n.butyl, isobutyl, sec.butyl, tert. butyl, methoxy, ethoxy, n.propoxy, isopropoxy, n.butoxy, isobutoxy, sec.butoxy or tert.butoxy.

Pharmaceutically acceptable salts of the compounds of formula (I) are the salts with organic or inorganic acids as well as the salts with organic or inorganic bases, pharmaceutically acceptable. For example, pharmaceutically acceptable salts are the salts with hydrochloric, hydrobromic, sulfuric, perchloric, phosphoric, nitric, acetic, trifluoroacetic, propionic, succinic, malonic, tartaric, methanesulphonic or p-toluensulphonic acids, as well as the salts with alkaline or alkalino-earth hydroxides, with carbonates or bicarbonates, or with aliphatic or cycloaliphatic amines, for example methylamine, ethylamine, diethylamine, triethylamine or piperidine.

Specific examples of preferred compounds of formula (I), optionally in the form of pharmaceutically acceptable salts, preferably with hydrochloric acid or with sodium hydroxide, are:

- 1) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 2) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 3) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 4) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 5) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 6) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(3-amino-3-aminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 7) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(2-[(amino(imino)methyl)amino]ethyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;

- yl)amino]carbonyl}-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 8) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(2-amino(imino)methyl)amino]ethyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 9) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(2-amino(imino)methyl)amino]ethyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 10) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(2-amino(imino)methyl)amino]ethyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 11) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(2-amino(imino)methyl)amino]ethyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 12) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(2-amino(imino)methyl)amino]ethyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 13) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(5-[(4-amino-4-aminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 14) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(5-[(4-amino-4-aminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;

- 3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 15) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(4-amino-4-aminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl]amino}-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 16) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(4-amino-4-aminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 17) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(4-amino-4-aminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl]amino}-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 18) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(4-amino-4-aminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 19) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(5-[(3-[(amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 20) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(5-[(3-[(amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino} carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;

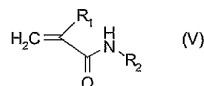
WO 02/22655

PCT/EP01/10397

8

- 21) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-{[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl]amino}-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 22) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-{[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 23) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(3-{[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]amino}-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 24) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(3-{[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine.

A further object of the present invention is a process for the preparation of the compounds of formula (I), and the pharmaceutically acceptable salts thereof, comprising the reaction of glutathione with a compound of formula (V)



WO 02/22655

PCT/EP01/10397

9

wherein R₁ and R₂ have the above described meanings; and the optional conversion of the compound of formula (I) thus obtained into a pharmaceutically acceptable salt thereof.

5 The preparation of the compounds of formula (I), according to the process object of the present invention, is performed by reacting the compounds of formula (V) with glutathione, preferably in excess, for instance with a molar ratio compound (V): glutathione ranging from about 1:1 to about 1:3, and in the presence of an organic or inorganic base such as, for instance, potassium carbonate, triethylamine or, preferably, sodium hydroxide.

10 The reaction may be performed in the presence of an organic solvent, for instance lower alcohols, dimethylsulfoxide or dimethylformamide, at a temperature comprised between About -10°C to about 70°C and for a period of time comprised between about 1 to about 6 hours. Preferably, the reaction is carried out in the presence of methanol or ethanol.

From the above it is clear to the skilled man that optional functional groups which could give rise to unwanted side products, hence interfering with the course of the reaction, may
15 be conveniently protected according to well known methods. The amino and the carboxyl groups of glutathione, as an example, can be protected before performing the above reaction with the derivatives of formula (V) and afterwards deprotected, by operating according to known methods.

20 Likewise, the reaction of salification of the compounds of formula (I) can be performed according to conventional methods. Well known procedures such as, for instance, crystallization or chromatographic techniques, can be also employed for the separation of isomeric mixtures of the compounds of formula (I) into the single isomers.

25 Glutathione (The Merck Index XII Ed. N. 4483) and the acryloyl derivatives of distamycin of formula (V) are compounds known in the literature or may be obtained according to known methods, for instance as described in the aforementioned international patent applications WO 90/11277, WO 98/04524, WO 98/21202, WO 99/50265, WO 99/50266 and WO 01/40181.

WO 02/22655

PCT/EP01/10397

10

PHARMACOLOGY

The compounds of formula (I), object of the present invention, exhibit cytotoxic properties and are thus useful, in therapy, in the treatment of various tumoral forms comprising, for instance, carcinoma of breast, lung, colon, ovary and endometrium, as well as other

5 neoplasm including sarcoma or hematological malignant tumors, for instance leukemia.

The cytotoxic effect of the compounds of formula (I) was assessed in cells of human ovarian carcinoma (A2780). The cells have been maintained in-vitro as stabilized cultures, in culture medium RPMI 1640 added with bovine fetal serum (10%) and L-glutamine (2 mM). The cytotoxic effect has been evaluated in cells in exponential growth. The cells have

10 been sown, 24 hours before treatment, on 96-well plates at the concentration of 5,000 cells/cm². Serial doses of the compound to be tested have been added to the culture medium and the cells were incubated for one hour at 37°C. At the end of the treatment, the culture medium with the substances was removed and replaced with fresh culture medium.

The cytotoxic effect of the compounds of formula (I) was evaluated after 72 hours by the

15 MTT test (Cole SP. Rapid chemosensitivity testing of human lung tumor cells using the MTT assay; Cancer Chemotherapy & Pharmacology. 17(3):259-63, 1986). The antiproliferative effect of the compounds of formula (I) was calculated from the dose-response curves and expressed as the dose inhibiting the 50% of the cell growth in treated versus controls (ID₅₀).

20 The compounds of formula (I), tested under these experimental conditions, were found to be particularly active.

The compounds of formula (I) of the invention may be administered to mammals, including humans, according to conventional methods for example by parenteral route through intravenous injection or infusion, intramuscularly, subcutaneously or even by topical or oral

25 route.

The exact dosage will depend from several factors among which are, as an example, the age, the body weight and the conditions of the patient to be treated, as well as from the selected method of administration.

WO 02/22655

PCT/EP01/10397

11

A further object of the invention is represented by the pharmaceutical formulations which comprise the compounds of formula (I), as the active ingredient, and one or more pharmaceutically acceptable carriers or diluents. These pharmaceutical compositions are usually prepared according to conventional methods.

- 5 Object of the present invention is also a therapeutic method for the treatment of tumors comprising the administration of the compositions of the invention.

The compounds of formula (I) may be also administered in combination with other anti-neoplastic agents conventionally employed in therapy for the treatment of tumors.

- 10 Therefore, it is a further object of the present invention a combined preparation for the simultaneous, separate or sequential use, in anti-tumoral therapy, comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof and an additional anti-tumoral agent.

- Compounds with antitumoral activity which can be employed according to the object of the invention include, for instance, alkylating agents such as mustards, nitrosoureas, tetrazines, 15 aziridines and platinum derivatives; inhibitors of topoisomerase I and II such as camptotecines and derivatives, anthracyclines and anthraquinone derivatives, actidine derivatives; taxanes or antimetabolites.

- 20 The following examples are here intended for a better understanding of the invention, but do not represent any limitation of it.

Example 1

- 25 N-5-{1-[[[3-[[[5-([[(5-([[(5-3-{[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino{carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino{carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino{carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl]glutamine (Compound 20).

A 2M (70 µl) sodium hydroxide solution was added to a suspension of glutathione (60 mg) in methanol (3 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 hours and then added with 33 mg of N-5-{1-[[[3-[[[5-([[(5-3-{[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-

WO 02/22655

PCT/EP01/10397

12

methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]-4-[(2-chloroacryloyl)amino]-1-methyl-1H-pyrrol-2-carboxamide, prepared as reported in WO 98/04524. After 2 hours the suspension was filtered, the precipitate was washed on the filter with a small amount of methanol and then dried in a

5 stove at 40°C under vacuum for 4 hours. 60 mg of the desired product were thus obtained, as a pale yellow solid.

FAB-MS: m/z 986, (100, [M+H]⁺).

By operating in a similar way and by using the appropriate derivatives of formula (V), numerous other derivatives of formula (I) may be synthesized, such as the specific

10 compounds from 1 to 19 and from 21 to 24, previously mentioned and numbered.

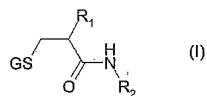
WO 02/22655

PCT/EP01/10397

13

CLAIMS

1. A distamycin derivative compound of formula (I)

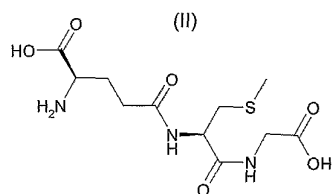


5 wherein:

R₁ is a bromine or chlorine atom;

R₂ is a distamycin or distamycin-like structure;

GS represents a radical of formula (II)

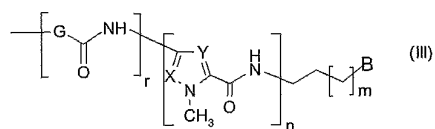


10

consisting of glutathione bound to the rest of the molecule through the sulfur atom; or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

2. A compound of formula (I), according to claim 1, wherein R₂ is a group of formula

15 (III):



wherein:

WO 02/22655

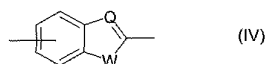
PCT/EP01/10397

14

m is 0, 1 or 2; n is an integer number from 2 to 5; r is 0 or 1;

X and Y are, independently for each heterocyclic ring, the same or different from each other and represent a nitrogen atom or a CH group;

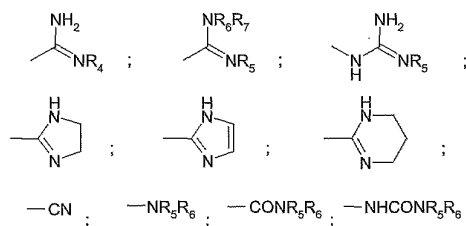
5 G is phenylene or a saturated or unsaturated penta- or hexa-atomic heterocyclic ring with from 1 to 3 heteroatoms chosen among nitrogen, oxygen or sulfur, or G is a group of formula (IV)



wherein Q is a nitrogen atom or a CH group and W is an oxygen or sulfur atom or it is a

10 NR₃ group wherein R₃ is hydrogen or C₁-C₄-alkyl;

B is a group chosen among



wherein R₄ is cyano, amino, hydroxy or C₁-C₄-alkoxy; R₅, R₆ and R₇, the same or different

15 from each other, are hydrogen or C₁-C₄-alkyl.

3. A compound of formula (I), according to claim 2, wherein R₁ is bromine or chlorine; R₂ is a group of formula (III) where r is 0, m is 0 or 1, n is 4 and B has the above reported meanings.

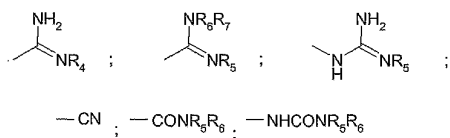
20

WO 02/22655

PCT/EP01/10397

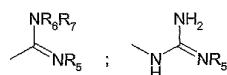
15

4. A compound of formula (I), according to claim 3, where X and Y are both CH groups and B is chosen among:



5 wherein R₄ is cyano or hydroxy and R₅, R₆ and R₇, the same or different from each other are hydrogen or C₁-C₄-alkyl.

5. A compound of formula (I), according to claim 4, where B is chosen between:



10

where R₅, R₆ and R₇ are hydrogen atoms.

6. A compound of formula (I), according to claim 1, optionally in the form of a pharmaceutically acceptable salt, chosen among:

- 1) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl}sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 20 2) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl}sulfanyl)methyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;

- 3) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl}sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 5 4) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl}sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 5) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(3-amino-3-iminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl}sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 10 6) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(3-amino-3-aminopropyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl}sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 15 7) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(2-[(amino(imino)methyl)amino]ethyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl}sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 20 8) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(2-[(amino(imino)methyl)amino]ethyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl}sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 25 9) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(2-[(amino(imino)methyl)amino]ethyl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino]-2-bromo-3-oxopropyl}sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;

- 10) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(2-amino(imino)methyl]amino)ethyl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-2-[(carboxymethyl)amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 5 11) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(2-amino(imino)methyl]amino)ethyl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 12) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(2-amino(imino)methyl]amino)ethyl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 10 13) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-(4-amino-4-iminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 15 14) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-(4-amino-4-iminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 20 15) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-(4-amino-4-iminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl]amino]-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 25 16) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-(4-amino-4-iminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino]carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl]amino]-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanylmethyl]-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;

- 17) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(4-amino-4-iminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl]amino}-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 5 18) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(4-amino-4-iminobutanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 10 19) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-[[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 15 20) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-[[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 20 21) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-[[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl]amino}-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;
- 25 22) N-5-{1-[(3-[(5-[(5-[(5-[(3-[[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl} glutamine;

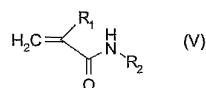
WO 02/22655

PCT/EP01/10397

19

- 23) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(3-[[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]amino}-2-bromo-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl}glutamine;
- 24) N-5-{1-[(3-[(2-[(5-[(5-[(5-[(3-[[amino(imino)methyl]amino}propanoyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-pyrrol-3-yl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]amino}-2-chloro-3-oxopropyl)sulfanyl]methyl}-2-[(carboxymethyl)amino]-2-oxoethyl}glutamine.

7. A process for the preparation of the compounds of formula (I), as from claim 1, and pharmaceutically acceptable salts thereof, comprising the reaction of glutathione with a compound of formula (V)



where R₁ and R₂ have the meanings as from claim 1; and the optional conversion of the compound of formula (I) thus obtained into its pharmaceutically acceptable salt.

8. A process according to claim 7 wherein the reaction is carried out with an excess of glutathione and in the presence of an organic or inorganic base.

9. A process according to claim 8 wherein the molar ratio between the compound of formula (V) and glutathione ranges from about 1 to 1 to about 1 to 3.

WO 02/22655

PCT/EP01/10397

20

10. A pharmaceutical formulation comprising a therapeutically effective amount of a compound of formula (I) as from claim 1, as active ingredient, and one or more pharmaceutically acceptable carriers or diluents.
- 5 11. A therapeutic method for the treatment of tumors comprising the administration, to the patients in need thereof, of the pharmaceutical compositions as from claim 10.
12. A combined preparation for the simultaneous, separate or sequential use in antitumor therapy, comprising a compound of formula (I), according to claim 1 or its
10 pharmaceutically acceptable salt, and an additional antitumor agent.
13. A compound of formula (I), as defined in claim 1, for use as a medicament.
14. Use of a compound of formula (I), as defined in claim 1, in the manufacture of a
15 medicament with antitumor activity.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/EP 01/10397
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K5/02 A61K38/06 C07K5/037		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K C07K C07D Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 00 06541 A (PHARMACIA & UPJOHN SPA) 10 February 2000 (2000-02-10) the whole document	1-14
Y	WO 99 50265 A (BARALDI PIER GIOVANNI ;CALDARELLI MARINA (IT); BERIA ITALO (IT); C) 7 October 1999 (1999-10-07) cited in the application see examples and whole document	1-14
Y	WO 98 21202 A (BARALDI PIER GIOVANNI ;CALDARELLI MARINA (IT); BERIA ITALO (IT); C) 22 May 1998 (1998-05-22) cited in the application see definitions of T -/-	1-14
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *I* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (see specification) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
22 November 2001		28/11/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2240, Tx. 31 651 epo nl Fax. (+31-70) 340-3016		Authorized officer Scruton-Evans, I

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 01/10397

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 0 265 719 A (BOEHRINGER BIOCHEMIA SRL) 4 May 1988 (1988-05-04) see whole document, especially pages 2-3 -----	1-14
Y	US 5 880 097 A (KAUVAR LAWRENCE M ET AL) 9 March 1999 (1999-03-09) see especially column 10 -----	1-14
Y	US 5 646 177 A (KOCH TAD H ET AL) 8 July 1997 (1997-07-08) the whole document -----	1-14
A	EP 0 420 121 A (SENJU PHARMA CO) 3 April 1991 (1991-04-03) the whole document -----	1-14
E	WO 01 85144 A (PHARMACIA & UPJOHN S.P.A) 15 November 2001 (2001-11-15) the whole document -----	1-14

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
 information on patent family members

 International Application No.
 PCT/EP 01/10397

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 0006541	A	10-02-2000	WO EP	0006541 A1 1100777 A1	10-02-2000 23-05-2001
WO 9950265	A	07-10-1999	AU WO EP	3415499 A 9950265 A1 1064280 A1	18-10-1999 07-10-1999 03-01-2001
WO 9821202	A	22-05-1998	AU WO EP JP US	5121698 A 9821202 A1 0937070 A1 2001504109 T 6153642 A	03-06-1998 22-05-1998 25-08-1999 27-03-2001 28-11-2000
EP 0265719	A	04-05-1988	IT IT AT AU AU CA DE EP ES GR HK IL JP JP KR PH US ZA	1197485 B 1211748 B 61226 T 605512 B2 7939887 A 1306693 A1 3768419 D1 0265719 A1 2036553 T3 3001578 T3 66594 A 84114 A 1829438 C 63246334 A 9513762 B1 23232 A 4871528 A 8707502 A	30-11-1988 03-11-1989 15-03-1991 17-01-1991 14-04-1988 25-08-1992 11-04-1991 04-05-1988 01-06-1993 23-11-1992 15-07-1994 25-01-1994 15-03-1994 13-10-1988 15-11-1995 06-06-1989 03-10-1989 15-04-1988
US 5880097	A	09-03-1999	AU EP JP WO	1422897 A 0873355 A1 2000503648 T 9725342 A1	01-08-1997 28-10-1998 28-03-2000 17-07-1997
US 5646177	A	08-07-1997	IT	1272234 B	16-06-1997
EP 0420121	A	03-04-1991	JP JP AT CA DE DE DK EP ES GR KR RU	2919867 B2 3112933 A 86866 T 2025857 A1 69001111 D1 69001111 T2 420121 T3 0420121 A1 2046641 T3 3007401 T3 9708106 B1 2027442 C1	19-07-1999 14-05-1991 15-04-1993 28-03-1991 22-04-1993 22-07-1993 03-05-1993 03-04-1991 01-02-1994 30-07-1993 21-05-1997 27-01-1995
WO 0185144	A	NONE			

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
// A 6 1 K 31/4025	A 6 1 K 31/4025	
A 6 1 K 31/4155	A 6 1 K 31/4155	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 ベリア, イタロ
 イタリア国、イー２００１４・ネルビアーノ、ビア・ストド・アンナ、１６

(72)発明者 コツツイ, パオロ
 イタリア国、イー２０１３３・ミラノ、ビア・ザネツラ、４８／５

(72)発明者 ジエローニ, マリア・クリステイーナ
 イタリア国、イー２０１４９・ミラノ、ビア・コレツジヨ、４８

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA06 AA07 AA16 BA01 BA10 BA14 BA23 BA32 CA59
 DC50 MA01 MA02 MA52 MA55 MA66 NA05 NA14 NA15 ZB262
 4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 BC05 BC36 BC38 GA07 MA01 MA02
 MA04 MA05 MA52 MA55 MA66 NA05 NA14 NA15 ZB26
 4H045 AA10 BA72 DA83 EA28 FA50