



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101996900499684
Data Deposito	23/02/1996
Data Pubblicazione	23/08/1997

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	D		

Titolo

DERIVATI DELLA CAMPTOTECINA E LORO USO COME AGENTI ANTITUMORALI

4870 M Descrizione dell'invenzione industriale avente per titolo:

MS/sm "DERIVATI DELLA CAMPTOTECINA E LORO USO COME AGENTI
ANTITUMORALI"

a nome: ISTITUTO NAZIONALE PER LO STUDIO E LA CURA DEI
TUMORI

con sede in: Milano

* * *

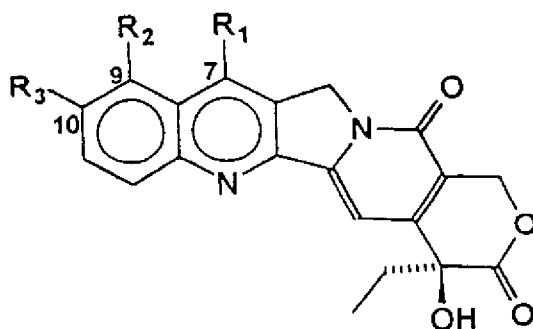
La presente invenzione si riferisce a derivati della camptotecina,
al loro uso come medicinali nel trattamento di tumori e a composizioni
farmaceutiche che li contengono.

La presente invenzione si riferisce anche a un procedimento per la
preparazione di detti derivati.

Sfondo dell'invenzione

23 FEB. 1996

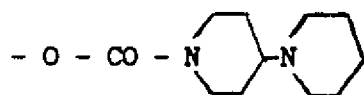
L'agente antitumorale camptotecina, di formula



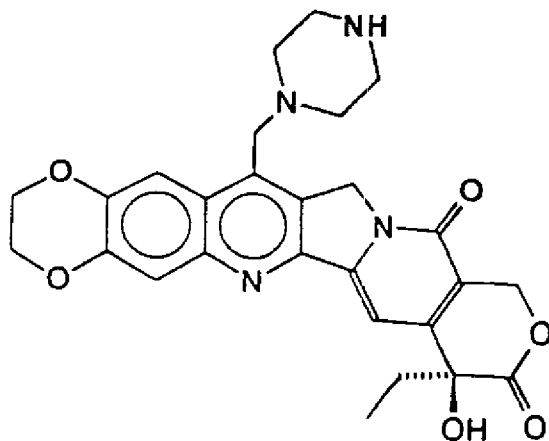
MI 96 A 0338

dove R_1 , R_2 e R_3 sono idrogeno, scoperta nel 1966 da M.E. Wall (J.
Am. Chem. Soc. 88, 3888-90 (1966) dopo una iniziale sperimentazione
clinica fu ritirato come agente terapeutico a causa della sua tossicità
nell'uomo e della sua insolubilità, che ne complicava la
somministrazione in adatte forme farmaceutiche. L'attenzione dei
ricercatori sia in laboratori accademici che industriali fu rivolta

verso la sintesi di analoghi della camptotecina con potenziale terapeutico migliore. Due dei numerosi analoghi descritti dalla formula sopra riportata e precisamente Topotecan, nel quale R_1 è idrogeno, R_2 è il gruppo $-\text{CH}_2-\text{NH}(\text{CH}_3)_2$, R_3 è $-\text{OH}$, e CPT-11, nel quale R_1 è etile, R_2 è idrogeno e R_3 è



sono entrati recentemente nell'armamentario dell'oncologo per il trattamento di alcuni tumori (J. of the National Cancer Inst. 85, 271 (1993); J. of Clin. Oncology 10, 1775-80 (1992). Altri derivati attualmente in sperimentazione clinica sono la 9-amminocamptotecina e l'analogo di formula



(Cancer Treatment Reviews (1994) 20, 73-96)

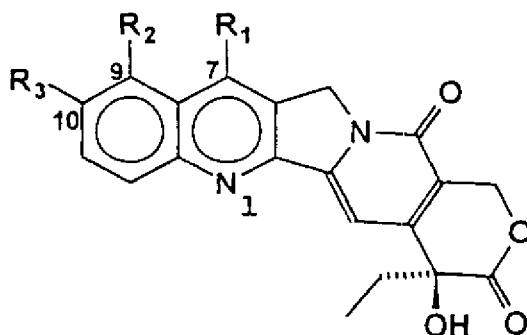
La maggior parte del lavoro sintetico è stata rivolta verso l'introduzione di opportuni sostituenti per la soluzione del problema della scarsa solubilità in acqua caratteristica di questa classe, insolubilità che può portare a difficoltà nella formulazione e a livelli plasmatici di farmaco non prevedibili. Inoltre, la persistenza dell'anello lattonico in forma chiusa rappresenta un importante fattore per l'efficacia antitumorale.

Questa classe di composti riveste una notevole importanza per la peculiarità del loro meccanismo di azione: essi infatti esplicano l'attività antitumorale mediante l'inibizione della topoisomerasi I, enzima che, regolando la topologia del DNA, ha un ruolo critico nei processi essenziali per le cellule quali la replicazione, trascrizione, ricombinazione e riparazione. (C. Capranico e F. Zunino, Current Pharmaceutical Design, 1995, 1, 1-14). La necessità di sviluppare nuovi farmaci attivi in particolare su tumori quali quelli del colon-retto, del polmone non microcitoma e del carcinoma ovarico, che a tutt'oggi risultano poco rispondenti al trattamento chemioterapico, e la peculiarità del meccanismo di azione della camptotecina e analoghi, rende attuale la ricerca di nuovi derivati della camptotecina con migliori proprietà farmacologiche.

Sommario dell'invenzione

E' stato ora trovato che derivati della camptotecina e del suo 10-idrossi-derivato recanti sostituenti al carbonio C-7 sono dotati di attività antitumorale e di favorevoli proprietà chimico-fisiche che ne permettono la formulazione in opportune composizioni farmaceutiche.

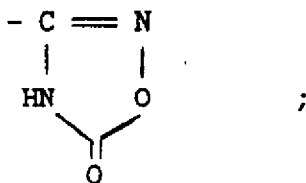
Sono un oggetto della presente invenzione composti di formula I



(I)

dove:

R_1 è un gruppo $-CN$, $-C(=NOH)-NH_2$, $-C(=NH)-NH_2$,



R_2 è idrogeno,

R_3 è idrogeno, OR_4 , dove R_4 è un residuo C_1-C_6 alchile lineare o ramificato, C_7-C_{12} arilalchile e i loro sali farmaceuticamente accettabili.

Un altro oggetto della presente invenzione è l'uso di composti di formula (I) come medicinali, in particolare come agenti antitumorali.

Un altro oggetto della presente invenzione sono composizioni farmaceutiche contenenti i composti di formula (I) come principi attivi.

Un ulteriore oggetto della presente invenzione è un procedimento per la preparazione dei composti di formula (I).

Descrizione dettagliata dell'invenzione

Esempi di gruppi C_1-C_6 alchile sono metile, etile, propile, isopropile, butile, secbutile, terbutile, pentile, 2-metilbutile, isopentile, neopentile, esile, 3-metilpentile, 2-etilbutile.

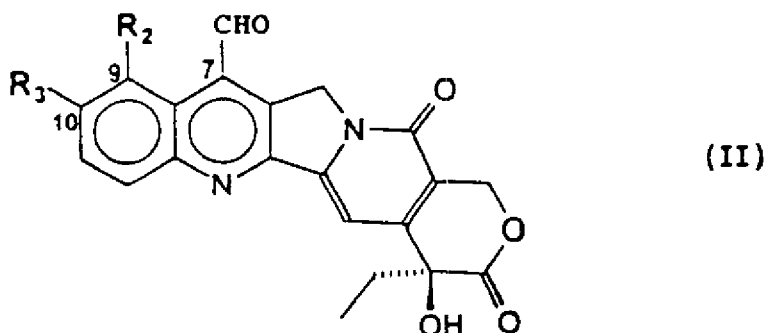
Un primo gruppo di composti preferiti comprende i composti di formula (I) nei quali R_3 è idrogeno.

Un secondo gruppo di composti preferiti comprende i composti di formula (I) nei quali R_3 è OR_4 .

Composti di formula (I) maggiormente preferiti sono quelli dove R_1 è CN e R_2 e R_3 sono idrogeno.

I composti della presente invenzione sono preparati a partire dalla

7-formilcamptotecina oppure dalla 7-formil-10-idrossicamptotecina, di
formula II



dove:

R₂ e R₃ sono come descritti sopra, ottenibili come descritto in Sakawa et al., Chem. Pharm. Bull. 39, 2574 (1991).

Il 7-formil-derivato di interesse viene convertito nella corrispondente ossima e per successivo trattamento con HCOOH/HCOONa si ottengono in buona resa i corrispondenti 7-ciano derivati (formula I, R₁=CN).

I composti di formula I, con R₁ = -C(=NOH)-NH₂ si ottengono per trattamento con idrossilammina del gruppo ciano, ottenuto in precedenza.

Successivamente, se desiderato, il gruppo amminoidrossiimmuno viene sottoposto a idrogenazione catalitica, preferibilmente con Ni-Raney, fornendo così il gruppo 7-ammidino.

Il gruppo 1,2,4-oxadiazolin-5-one-3-ile è ottenuto facendo reagire i composti di formula (I) dove R₁ è -C(=NOH)-NH₂ con cloroformiato di etile.

Le condizioni delle reazioni descritte sono determinabili dall'esperto del settore e comunque sono descritte nella letteratura chimica.

Se desiderato gli N-ossidi sono ottenibili secondo metodi noti

all'esperto.

I sali farmaceuticamente accettabili dei composti di formula (I) sono ottenibili secondo metodi convenzionali.

I composti della presente invenzione risultano dotati di attività antiproliferativa con caratteristiche chimico-fisiche che rendono questi derivati adatti per essere inclusi in formulazioni farmaceuticamente accettabili.

L'attività antitumorale dei composti della presente invenzione è stata saggiata in sistemi cellulari di cellule tumorali, utilizzando il test antiproliferativo quale metodo di valutazione dell'attività citotossica. Il metodo consiste nella determinazione del numero delle cellule sopravvivenenti 72 ore dopo 1 ora di esposizione all'agente citotossico. L'attività citotossica è stata confrontata a quella di a) topotecan quale agente di riferimento tra gli agenti inibitori delle DNA topoisomerasi I; b) doxorubicina, agente convenzionale tra i più efficaci nella terapia clinica dei tumori. I risultati presentati nella tabella indicano che il composto 1 descritto nell'Esempio che segue, è caratterizzato da un'attività citotossica superiore a quella dei composti di riferimento. Inoltre, questo derivato ha un'apprezzabile efficacia nel trattamento di una linea (H460/TPT) selezionata dopo esposizione prolungata a questo farmaco e caratterizzata da elevata resistenza al topotecan. Poichè la linea H460 esprime alti livelli di topoisomerasi I, l'aumentata citotossicità di 1 nel trattamento di questa linea tumorale suggerisce una aumentata specificità del derivato per il bersaglio cellulare. Questa interpretazione è anche sottolineata

dalla ridotta efficacia di questi agenti sulla linea GBM che è
relativamente resistente a questi inibitori per bassa espressione
della topoisomerasi I.

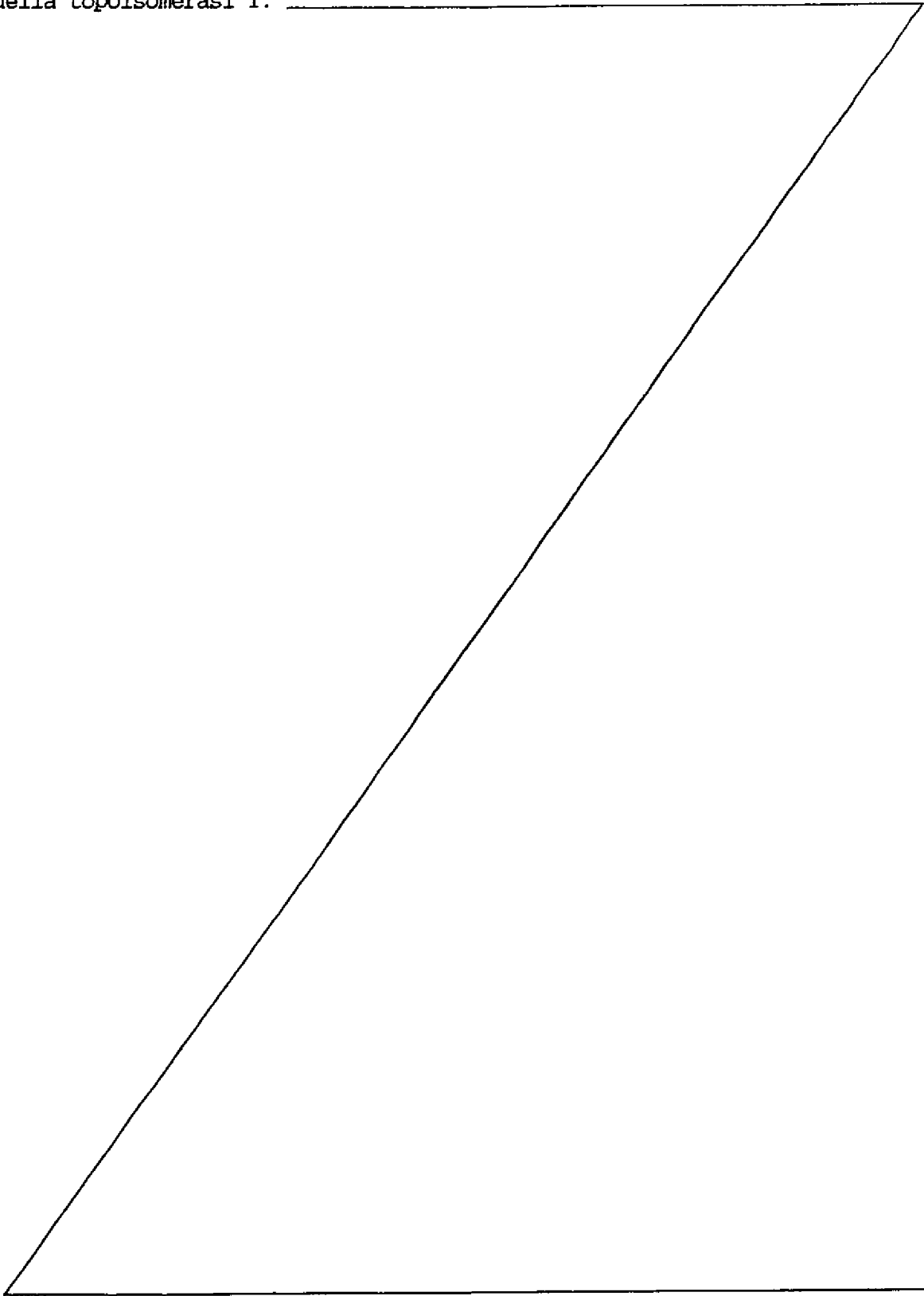


Tabella. ATTIVITA' CITOTOSSICA DELLA 2OS-7-CIANOCAMPTOTECINA \sim (I: R₁ = CN, R₂ - R₃ = H)

Linea cellulare	IC ₅₀ (µg/ml)		
	\sim	Topotecan	Doxorubicina
H460 (carcinoma polmonare a grandi cellule)	0.068-0.095	0.32	0.09
H460/TPT	10-13	>46	
GBM (glioblastoma)	2.7	1.2	

Il seguente Esempio illustra ulteriormente l'invenzione.

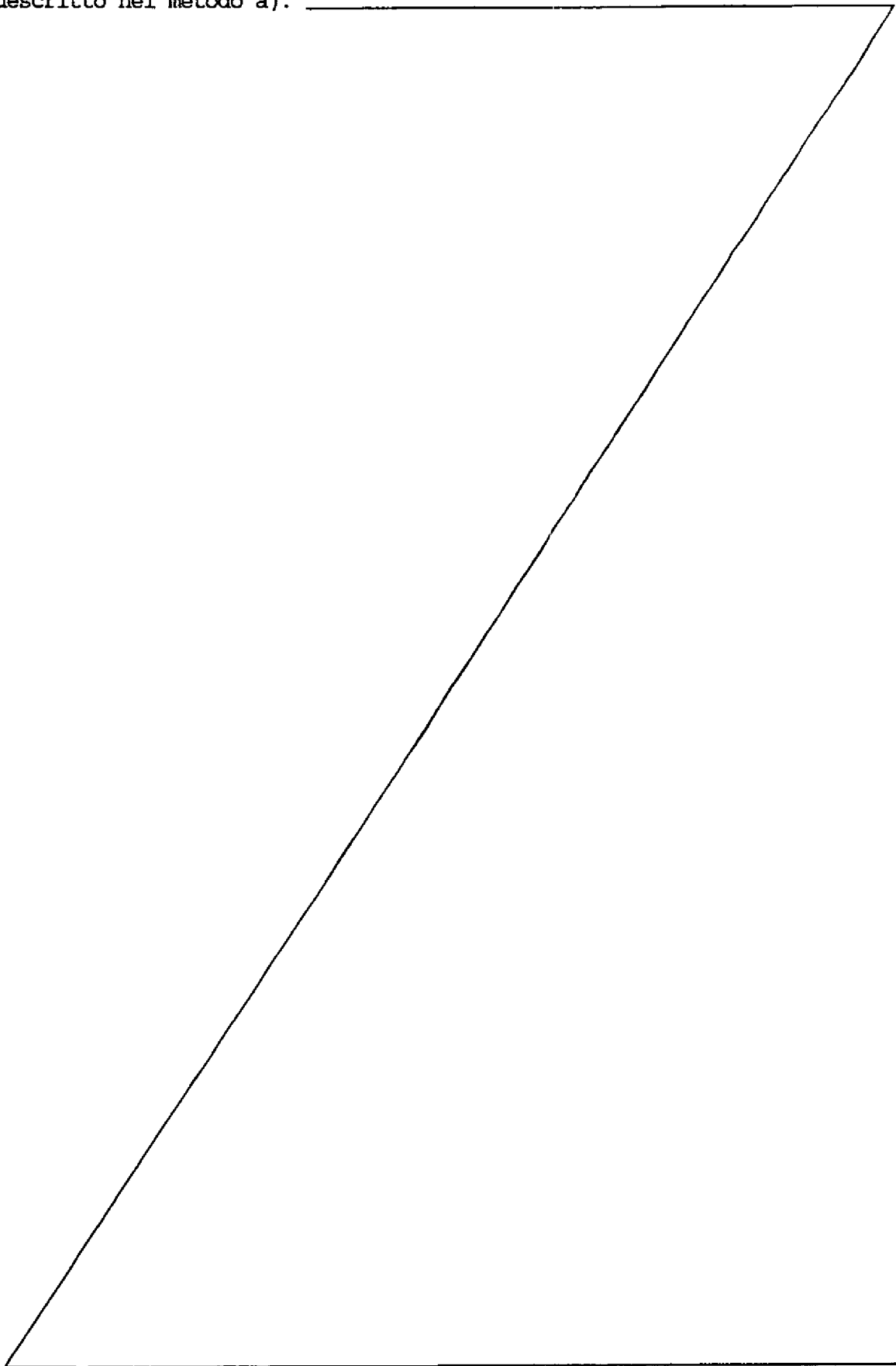
Esempio

20S-7-cianocamptotecina 1 (I: R₁ = CN, R₂ - R₃ = H)

a) 420 mg di ossima della 7 formilcamptotecina, 102 mg di formiato di sodio e 15 ml di acido formico 99% sono riscaldati a ricadere per 6 ore. Si aggiungono 150 ml di acqua e 50 ml di cloruro di metilene. Si separano le fasi, poi si estrae ancora 4 volte con 50 ml di cloruro di metilene. Si riuniscono gli estratti, si anidrifica con Na₂SO₄, si evapora sotto vuoto e si ottengono 380 mg di prodotto solido, che è purificato per cromatografia su gel di silice, con eluente cloruro di metilene/metanolo 96:4. Il prodotto giallo, R_f 0,53 (gel di silice Merck, CH₂Cl₂/MeOH 9/1), macchia a fluorescenza verde alla luce di Wood, ha p. f. 263°C, massa (m/e, %) 374 (16), 373 (98), 344 (36), 329 (48), 316 (27), 314 (55), 301 (53), 300 (53), 273 (100), 272 (82). ¹H NMR (DMSO-d₆) 0.92 (CH₃), 1.92 (CH₂), 5.48, 5.51 (CH₂-5), 5.56 (CH₂-17), 6.62 (OH), 7.13 (CH-14), 8.02 (CH-11), 8.10 (CH-10), 8.30 (CH-9), 8.39 (CH-12) ¹³C NMR (DMSO-d₆). 7.71, 30.29, 50.22, 65.17, 72.27, 97.54, 112.65, 113.76, 120.32, 124.62, 124.89, 130.17, 130.53, 131.91, 135.07, 144.21, 147.58, 150.06, 152.76, 156.45, 172.22.

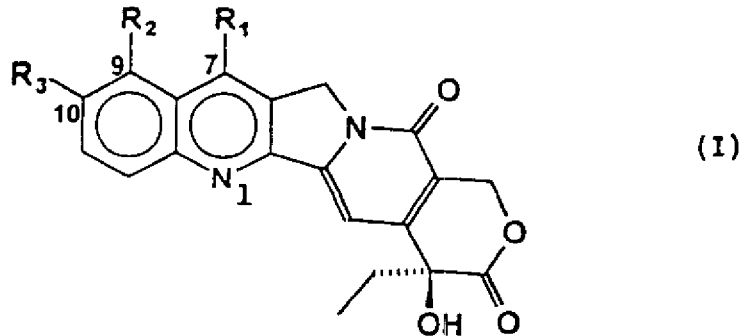
b) 320 mg di 7 formilcamptotecina, 154 mg di idrossilamina cloridrato, 578 mg di formiato di sodio e 20 ml di acido formico sono riscaldati a ricadere. Dopo tre ore si aggiungono 60 mg di idrossilamina cloridrato, e si riscalda per altre due ore a ricadere. Al termine si aggiungono 90 ml di acqua e si estrae con cloruro di metilene in estrattore continuo per 6 ore. La fase organica è separata,

anidrificata con Na_2SO_4 , evaporata. Il residuo grezzo è purificato come descritto nel metodo a).



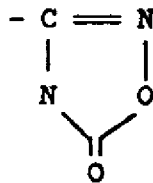
RIVENDICAZIONI

1. Composti di formula I



dove:

R₁ è un gruppo -CN, -C(=NOH)-NH₂, -C(=NH)-NH₂,



R₂ è idrogeno,

R₃ è idrogeno, OR₄, dove R₄ è un residuo C₁-C₆ alchile lineare o ramificato, C₇-C₁₂ arilalchile, i loro N₁-ossidi e i loro sali farmaceuticamente accettabili.

2. Gli N₁-ossidi dei composti secondo la rivendicazione 1.

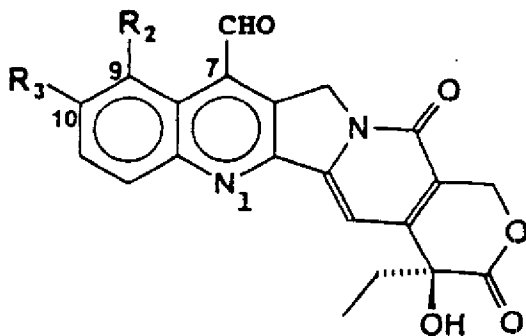
3. Composti secondo le rivendicazioni 1 e 2, nei quali R₃ è idrogeno.

4. Composti secondo le rivendicazioni 1 e 2, nei quali R₃ è OR₄, dove R₄ è come sopra definito.

5. Composto secondo le rivendicazioni 1 e 2, nel quale R₁ è CN, R₂ e R₃ sono idrogeno.

6. Procedimento per la preparazione dei composti delle rivendicazioni 1-4, comprendente i seguenti stadi:

a) conversione del 7-formil-derivato di formula (II)



(II)

dove R₃ è come sopra descritto,

nella corrispondente ossima e successivo trattamento con HCOOH/HCOONa a dare i corrispondenti 7-ciano-derivati, e, se desiderato

b) trattamento dei 7-ciano-derivati con idrossilammina a dare i corrispondenti 7-amminoidrossiimmino-derivati, e, se desiderato

c) idrogenazione catalitica del gruppo 7-amminoidrossiimmino a dare i corrispondenti 7-ammidino-derivati, oppure, se desiderato

trattamento dei 7-amminoidrossiimmino-derivati ottenuti nello stadio b) con cloroformiato di etile a dare i corrispondenti 7-(1,2,4-oxadiazolin-5-one-3-ile)-derivati, eventuale trasformazione in N₁-ossidi e/o in sali farmaceuticamente accettabili.

7. Composti delle rivendicazioni 1-5, per uso come medicinali.

8. Uso dei composti delle rivendicazioni 1-5, per la preparazione di medicinali ad attività antitumorale.

9. Composizioni farmaceutiche comprendenti un composto delle rivendicazioni 1-5 in miscela con veicoli ed eccipienti farmaceuticamente accettabili.

Milano, 23 febbraio 1996

Il Mandatario
(Spadaro Marco)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

