

MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA NUMERO	**102001900941284**
Data Deposito	**02/07/2001**
Data Pubblicazione	**02/01/2003**

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

NUOVO IMPIEGO DI POLIAMMIDI ETEROCICLICHE E BENZOETEROCICLICHE STRUTTURALMENTE CORRELATE ALL'ANTIBIOTICO NATURALE DISTAMICINA A.

11/10/2002

Descrizione dell'invenzione industriale dal titolo: "Nuovo impiego di poliammidi eterocicliche e benzoeterocicliche strutturalmente correlate all'antibiotico naturale distamicina A"

Di: Università degli Studi di Ferrara, nazionalità italiana, Ferrara, Via Savonarola n.9; Associazione Veneta per la lotta alla Talassemia, nazionalità italiana, c/o Centro di Microcitemia dell'Azienda ULSS 18, Rovigo, (IT); Associazione per la lotta alla Talassemia di Ferrara, nazionalità italiana, Piazzetta S. Nicolò 1/c, Ferrara, (IT).

Inventori designati: BARALDI, Pier Giovanni, BIANCHI, Nicoletta; FERIOTTO, Giordana; GAMBARI, Roberto; MISCHIATI, Carlo; ROMAGNOLI, Romeo.

Depositata il: 2 Luglio 2001

* * * *10 2001A 000633

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

DESCRIZIONE

La presente invenzione si riferisce all'impiego di analoghi strutturali della distamicina in grado di indurre il differenziamento cellulare eritroide per la preparazione di un medicamento per il trattamento terapeutico della β-talassemia.

L'esistenza di sostanze in grado di indurre la biosintesi di emoglobina fetale (HbF) in soggetti

adulti è nota da tempo (1-7). Tali sostanze sono in grado di attivare la trascrizione dei geni per le globine embrionali e fetali e quindi di indurre il differenziamento cellulare in senso eritroide.

Recentemente sono state descritte numerose molecole leganti il DNA aventi la capacità di indurre un aumento di trascrizione dei geni globinici (8). Tra queste citiamo il cisplatino e analoghi del cisplatino (9), la mitramicina (10) e la cromomicina (10). Tali sostanze sono qui indicate con il termine "modificatori del processo di trascrizione".

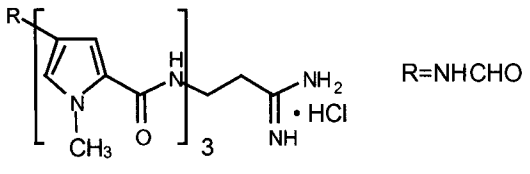
Nell'essere umano l'attivazione della trascrizione dei geni per le globine γ in soggetti adulti conduce alla produzione di emoglobina fetale mimando il fenotipo HPFH (High Persistance of Fetal Hemoglobin) che conferisce un quadro clinico favorevole a pazienti affetti da β-talassemia, anche in forma omozigote (8). Una terapia impiegante tali molecole nel trattamento di pazienti affetti da β-talassemia potrebbe pertanto rendere tali soggetti maggiormente indipendenti dalla terapia trasfusionale (11-13).

Alla base della presente invenzione vi è pertanto la necessità di progettare, sintetizzare

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

e produrre nuovi modificatori del processo di trascrizione utilizzabili nel trattamento della β-talassemia che siano in grado di indurre un elevato livello di espressione dei geni γ-globinici.

E' stato da noi sorprendentemente trovato che numerosi analoghi strutturali della distamicina, un antibiotico descritto nella tecnica nota la cui formula di struttura è di seguito illustrata, soddisfano tali requisiti.

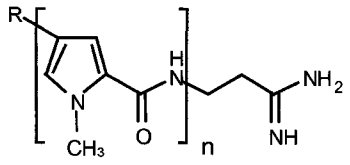


DISTAMICINA A

In particolare, è stato trovato che gli analoghi strutturali della distamicina di seguito illustrati aventi le formule generali (I), (II) e (III) (IV) e (V) ed i loro sali farmaceuticamente accettabili sono in grado di indurre il differenziamento eritroide e la trascrizione del gene per la globina γ umana.

- Analoghi della tallimustina contenenti 2 a 4 anelli pirrolici ed aventi diverse unità alchilanti, di formula generale (I):

JACOBACCI & PERANI S.p.A.



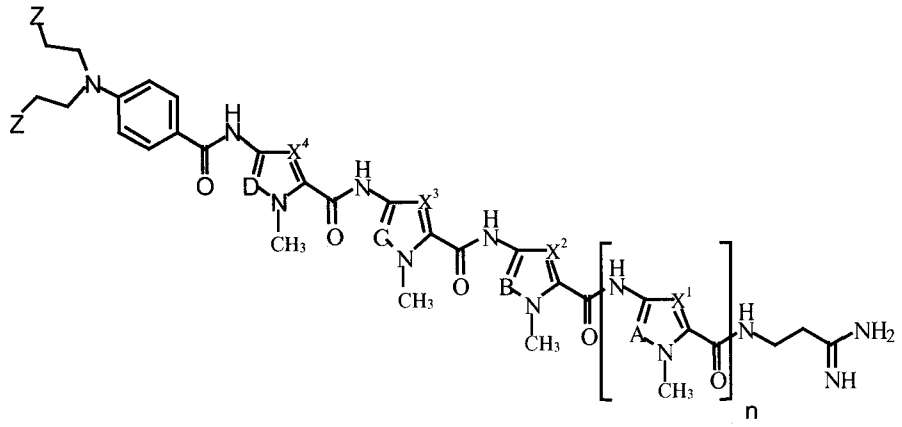
in cui:

n è un numero intero scelto tra 2, 3 e 4;

R è 4-[$(ZCH_2CH_2)_2N$]C_6H_4CONH; e

Z è scelto dal gruppo che consiste di F, Cl, Br e I.

- Analoghi della tallimustina in cui uno o più anelli pirrolici sono stati sostituiti da un ugual numero di anelli pirazolici e/o imidazolici, di formula generale (II):



FORMULA II

in cui:

n è un numero intero scelto tra 0 (zero), 1 e 2;

Z è scelto dal gruppo che consiste di F, Cl, Br e I;

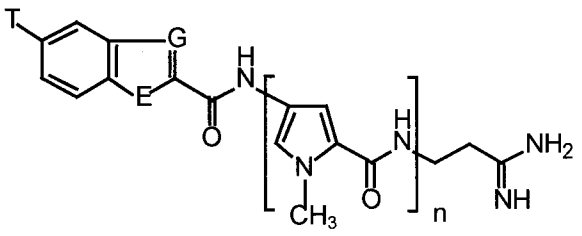
JACOBACCI & PERANI S.p.A.

A, B, C e D sono scelti indipendentemente l'uno dall'altro tra CH oppure N;

X^1, X^2, X^3 e X^4 sono scelti indipendentemente l'uno dall'altro tra CH oppure N,

con la condizione che quando X^1 è N, A è CH; quando X^2 è N, B è CH; quando X^3 è N, C è CH e quando X^4 è N, D è CH.

- Derivati della distamicina A in cui il gruppo formilico è stato sostituito da un benzoeterociclo legato ad una unità alchilante, di formula generale (III):



in cui:

n è un numero intero scelto tra 2, 3 e 4;

T è scelto dal gruppo che consiste di 4-$[(ZCH_2CH_2)_2N]C_6H_4CONH$, $(ZCH_2CH_2)_2N$, e $CH_2=CZCONH$;

Z è scelto dal gruppo che consiste di F, Cl, Br e I;

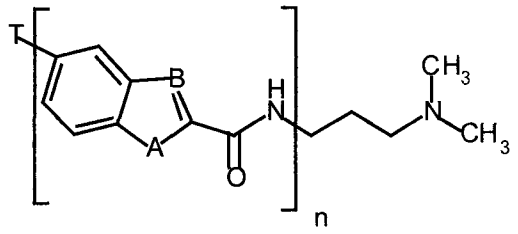
E è scelto dal gruppo che consiste di O (ossigeno), S e NR_1;

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

R_1 è H oppure CH_3; e

G è CH oppure N.

- Derivati benzoeterociclici della distamicina A in cui gli anelli pirrolici sono stati sostituiti da anelli benzoeterocicli aromatici, ed in cui il gruppo formilico è stato sostituito da una unità alchilante, di formula generale (IV):



in cui:

n è un numero intero scelto tra 1, 2, 3 e 4;

T è scelto dal gruppo che consiste di 4-$[(ZCH_2CH_2)_2N]C_6H_4CONH$, $(ZCH_2CH_2)_2N$, e $CH_2=CZCONH$;

Z è scelto dal gruppo che consiste di F, Cl, Br e I;

A è scelto dal gruppo che consiste di O (ossigeno), S e NR_1;

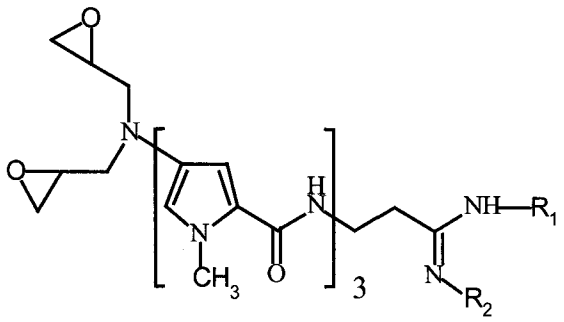
R_1 è alchile lineare o ramificato avente 1 a 4 atomi di carbonio;

B è CH oppure N.

- Analoghi della distamicina A modificati nella parte ammidinica e caratterizzati da una duplice

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

funzionalità alchilante epossidica od ossiranica, di formula generale (V):



in cui:

R_1 ed R_2 sono scelti indipendentemente l'uno dall'altro nel gruppo che consiste di idrogeno, alchile lineare o ramificato avente 1 a 4 atomi di carbonio, nitrile (CN) e ossidrile (OH), oppure R_1 e R_2 formano in combinazione l'uno con l'altro una catena alchilica lineare $-(CH_2)_m-$ in cui m è 2 oppure 3.

I composti sopra descritti sono di per sé noti; la loro sintesi chimica è stata descritta da diversi gruppi di ricerca (si vedano ad esempio i riferimenti bibliografici n. 14 per i composti di formula generale I, n. 15 per i composti di formula generale II e n. 16 per i composti di formule generali III, IV e V).

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

Tuttavia, questi composti sono stati proposti come agenti antitumorali, antivirali (16-18) e antimalarici (19) ma non come induttori del differenziamento cellulare eritroide.

Un primo oggetto della presente invenzione è pertanto l'impiego degli analoghi strutturali della distamicina precedentemente illustrati aventi le formule generali (I), (II) e (III), (IV) e (V) e dei loro sali farmaceuticamente accettabili, come induttori del differenziamento cellulare eritroide per la preparazione di un medicamento per il trattamento terapeutico della β-talassemia.

Sali farmaceuticamente accettabili degli analoghi strutturali della distamicina sopra descritti sono sali con acidi inorganici od organici farmaceuticamente accettabili, quali ad esempio acido cloridrico, acido bromidrico, acido solforico, acido nitrico, acido acetico, acido propionico, acido succinico, acido malonico, acido citrico, acido tartarico, acido metansolfonico, acido p-toluensolfonico.

Come è stato recentemente descritto (9, 10), un trattamento combinato con diversi modificatori del processo di trascrizione permette di incrementare

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

ulteriormente l'espressione dei geni per la globina γ.

Una secondo oggetto della presente invenzione è pertanto l'impiego degli analoghi della distamicina sopra descritti o loro sali farmaceuticamente accettabili in combinazione con almeno un ulteriore modificatore del processo di trascrizione per la preparazione di un medicamento per il trattamento della β-talassemia.

Secondo una forma di attuazione preferita, detto ulteriore modificatore del processo di trascrizione è scelto dal gruppo che consiste di citosina arabinoside, acido retinoico, plicamicina, idrossiurea, guanina, guanosina trifosfato (GTP), guanosina difosfato (GDP) e guanosina monofosfato (GMP); tra questi sono maggiormente preferiti citosina arabinoside ed acido retinoico.

L'attività degli analoghi della distamicina descritti in precedenza come induttori del differenziamento cellulare eritroide è stata valutata mediante lo studio del differenziamento eritroide indotto in colture di cellule umane.

I risultati di tale studio sono illustrati nella Tabella 1 fornita nel seguito.

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

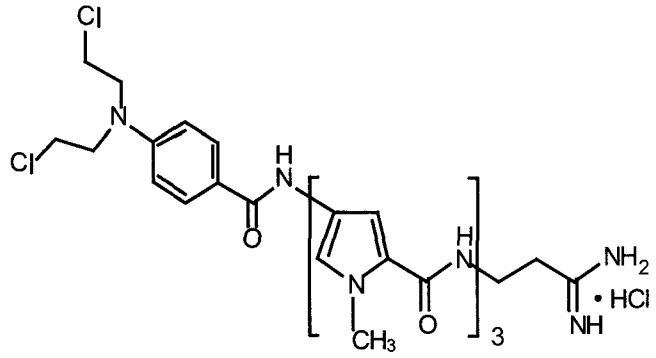
L'esempio che segue viene fornito a scopo di illustrazione e non è inteso a limitare in alcun modo la portata dell'invenzione.

ESEMPIO

E' stata valutata l'attività biologica di cinque composti, qui indicati come "composto 1", "composto 2", "composto 3", "composto 4" e "composto 5" appartenenti rispettivamente alla serie con formula generale (I), (II), (III), (IV) e (V):

- Composto 1:

3-(1-metil-4-(1-metil-4-(1-metil-4-(4-bis(2-cloroetil)amminobenzene-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossamido)pirrolo-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossiammido)propionammidina

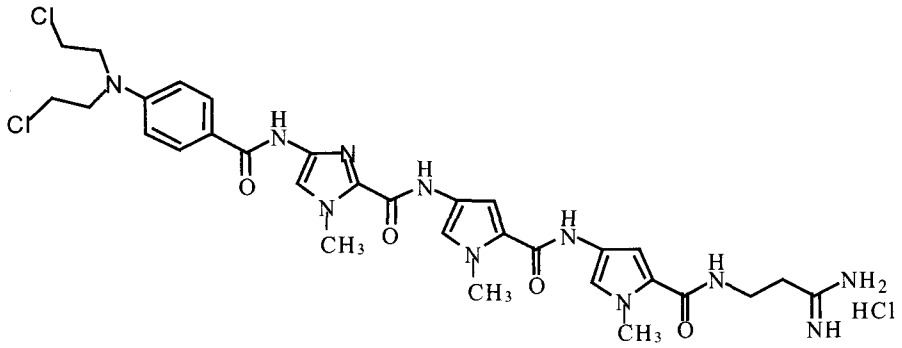


- Composto 2:

3-(1-metil-4-(1-metil-4-(1-metil-4-(4-bis (2-cloroetil) amino benzene)- imidazolo-2-

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

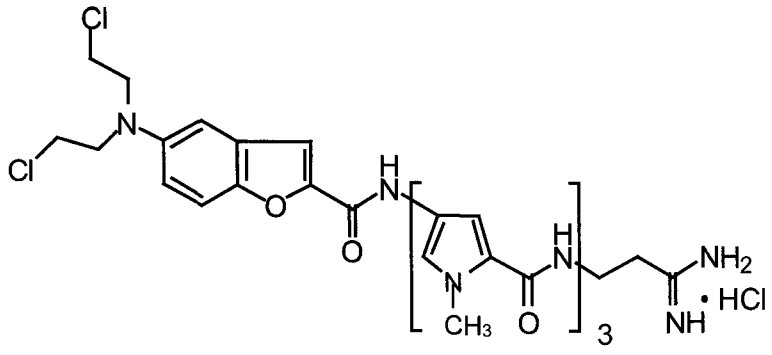
carbossamido) pirrolo-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossiammido) propionammidina



COMPOSTO 2

- Composto 3:

3-(1-metil-4-(1-metil-4-(1-metil-4-(5,N,N-bis(2-cloroetil)amminobenzofurano-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossamido)pirrolo-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossiammido)carbossiammido)pirrolo-2-carbossiammido)propionammidina

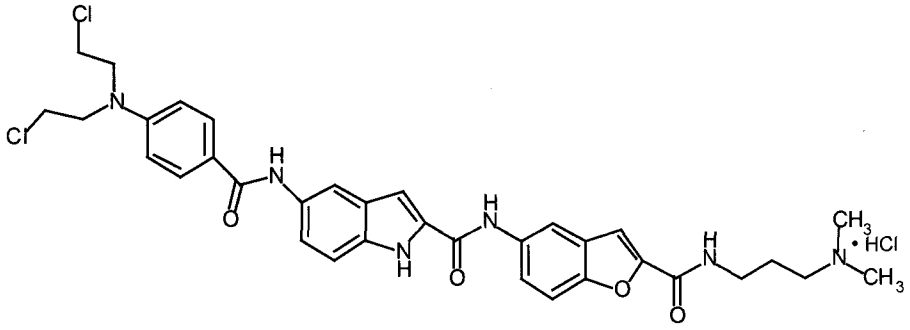


COMPOSTO 3

IACOBACCI & PERANI S.p.A.

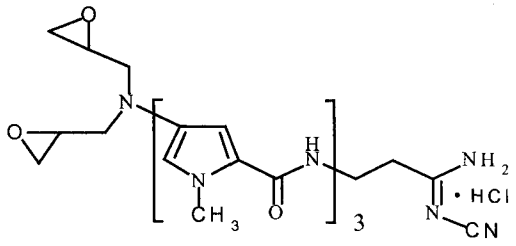
- Composto 4:

N(3'-dimetilamminopropil)-5-[5-[4-[bis(2-cloroetil)ammino]benzoil)ammino]-5-*1H*-indolcarbossamido]-benzofurano-2-carbossamido



- Composto 5:

3-(1-metil-4-(1-metil-4-(1-metil-4-(bis-(2-metilossirano)-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossamido)pirrolo-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossiammido) cianopropionammidina



La valutazione dell'attività biologica è stata condotta esaminando la capacità di tali composti di indurre il differenziamento eritroide nella

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

linea cellulare umana K562, che è in grado di differenziare in senso eritroide esprimendo i geni per la globina γ se sottoposta a trattamento con modificatori della risposta biologica adatti a tale scopo (19-24). Il livello di differenziamento è stato valutato analizzando la positività delle cellule alla benzidina (23). Alcuni tra i dati ottenuti sono riportati in Tabella 1, che rappresenta i risultati di cinque esperimenti indipendenti (media ± SD). Come si può facilmente notare, i composti 1-5 sono in grado di indurre un incremento della percentuale di cellule K562 positive alla benzidina, rispetto alle cellule K562 di controllo non trattate.

La produzione di emoglobina è stata valutata mediante elettroforesi su acetato di cellulosa e colorazione del gel con una soluzione a base di benzidina/H_2O_2 (23). L'emoglobina prodotta in modo preponderante da cellule K562 trattate con i composti 1-5 è l'Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$).

L'espressione dei geni codificanti per le globine γ è stata valutata mediante RT-PCR (*reverse transcriptase PCR*) e Northern blotting (25). I dati ottenuti dimostrano un aumento di 8-10 volte dell'accumulo intracitoplasmatico di mRNA per la

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

globina γ. Tali valutazioni sono state eseguite dopo 6 giorni di induzione con le molecole indicate.

Un esempio che riguarda i risultati ottenuti eseguendo una RT-PCR quantitativa è mostrato nella Tabella 2.

Inoltre, allo scopo di verificare se analoghi della distamicina in grado di indurre il differenziamento delle cellule K562 fossero anche in grado di stimolare la produzione di HbF in precursori eritroidi umani isolati da sangue periferico, è stata impiegata la tecnica pubbicata da Fibach et al. (26, 27).

I risultati ottenuti hanno dimostrato una incrementata produzione di HbF in cellule trattate con derivati della distamicina capaci di indurre un aumento di trascrizione dei geni per la globina γ in cellule K562.

Tabella 1

Composto	Concentrazione (nM)	*differenziamento eritroide (%)
-	-	5,1±3,7
1	50	65,5±8,8
2	50	85,2±12,8

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

3	100	72,4±10,2
4	500	30±3,8
5	50	77±10,1

* Differenziamento eritroide = percentuale di cellule K562 positive alla benzidina.

Tabella 2

Composto	Concentrazione (nM)	*mRNA per la Globina γ
-	-	1
1	50	11,5±2,5

* L'accumulo di RNA per la globina γ è riportato in Tabella come incremento rispetto a quello di cellule K562 di controllo non trattate.

La tecnica utilizzata è quella della RT-PCR quantitativa (28, 29) utilizzando i seguenti oligonucleotidi-primer e sonda: γ-globin forward primer, 5'-TGG CAA GAA GGT GCT GAC TTC-3'; γ-globin reverse primer, 5'-TCA CTC AGC TGG GCA AAG G-3'; sonda γ-globin, 5'-FAM-TGG GAG ATG CCA TAA AGC ACC TGG-TAMRA-3' (FAM = 6-carbossi fluoresceina, TAMRA = 6-carbossi-N,N,N',N'-tetrametilrodamina).

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

Bibliografia

1. Al-Khatti A, Papayannopoulou T, Knitter G, Fritsch EF, Stamatoyannopoulos G, Blood, 72:817-819, 1988.

2. DeSimone J, Heller P, Hall L, Zwiers D, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79:4428-4431, 1982.

3. Lowrey CH, Nienhuis AW, Engl. J. Med., 329:845-848, 1993.

4. Perrine SP, Ginder GD, Faller DV, et al., N. Engl. J. Med., 328:81-86, 1993.

5. Rodgers GP, Dover GJ, Uyesaka N, Noguchi CT, Schechter AN, Nienhuis AW, N. Engl. J. Med., 328:73-80, 1993.

6. Rodgers GP, Rachmilewitz EA, British J. Haematology, 91:263-268, 1995.

7. Torkelson S, White B, Faller DV, Phipps K, Pantazis C, Perrine SP, Blood Cells, Molecules and Diseases, 22:150-158, 1996.

8. Rochette J, Craig JE, Thein SL, Blood Reviews, 8:213-224, 1994.

9. Bianchi N, Ongaro F, Chiarabelli C, Gualandi L, Mischiati C, Bergamini P, Gambari R, Biochem. Pharmacol. 60:31-40, 2000.

10. Bianchi N, Osti F, Rutigliano C, Ginanni Corradini F, Borsetti E, Tomassetti M, Mischiati

JACOBACCI & PERANI SpA

C, Feriotto G, Gambari R, British Journal of Haematology, 104:258-263, 1999.

11. Castaigne S, Chomienne C, Daniel MT, Ballerini P, Berger R, Fenaux P, Degos L., Blood, 76:1704, 1990.

12. Dover GJ, Brusilow S, Samid D, New England Journal of Medicine, 327:569-570, 1992.

13. Ikuta T, Atweh G, Boosalis V, White GL, De Fonseca S, Boosalis M, Faller DV, Perrine SP, Annals of New York Academy of Sciences, 850:87-99, 1998.

14. D'Alessio R, Geroni C, Biasoli G, Pesenti E, Grandi M, Mongelli N, Bioorg. & Med. Chem. Lett., 4:1467-1472, 1994.

15. Baraldi PG, Romagnoli R, Spalluto G, Cozzi P, Mongelli N, Bianchi N, Gambari R, Arzneimittel-Forschung/Drug Research, 50: 309-315, 2000.

16. Cozzi P, Baraldi PG, Beria I, Caldarelli M, Capolongo L, Romagnoli R, Spalluto G, WO 98/21202 (1998).

17. Wang W, Lown JW, J. Med. Chem., 35:2890-2897, 1992.

18. Beria I, Pesenti E, Capolongo L, Mongelli N, Baraldi PG Pharmacia S.P.A, WO96/05196 (1996).

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

19. Animati F, Arcamone F, Lombardi P, Rossi CA, Menarini & Myers Squibb WO 94/25436 (1994)

20. Osti F, Corradini FG, Hanau S, Matteuzzi M, Gambari R, Haematologica. 82:395-401, 1997.

21. Lozzio CB, Lozzio BB, Blood, 45:321-334, 1975.

22. Gambari R, Amelotti F, Piva R., Experientia, 41:673-675, 1985.

23. Gambari R, del Senno L, Barbieri R, Cell Differentiation, 14:87-97, 1984.

24. Rutherford TR, Clegg JB, Weatherall DJ, Nature, 280:164-165, 1979.

25. Sambrook J, Fritsch, EF, Maniatis T, Extraction, purification and analysis of messenger RNA from eukaryotic cells. In: Molecular Cloning 2nd ed. Cold Spring Harbor, N.Y., Cold Spring Harbor Laboratory, 7.43-7.45, 1981.

26. Fibach E, Hemoglobin, 22: 45-458, 1998.

27. Fibach E, Burke KP, Schechter AN, Noguchi CT, Rodgers GP, Blood, 81:1630-1635, 1993.

28. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM, Genome Research, 6:986-994, 1996.

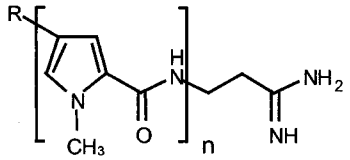
29. Gibson UE, Heid CA, Williams PM, Genome Research, 6:995-1001, 1996.

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

RIVENDICAZIONI

1. Impiego di un analogo strutturale della distamicina scelto dal gruppo che consiste di:

- composti di formula (I):



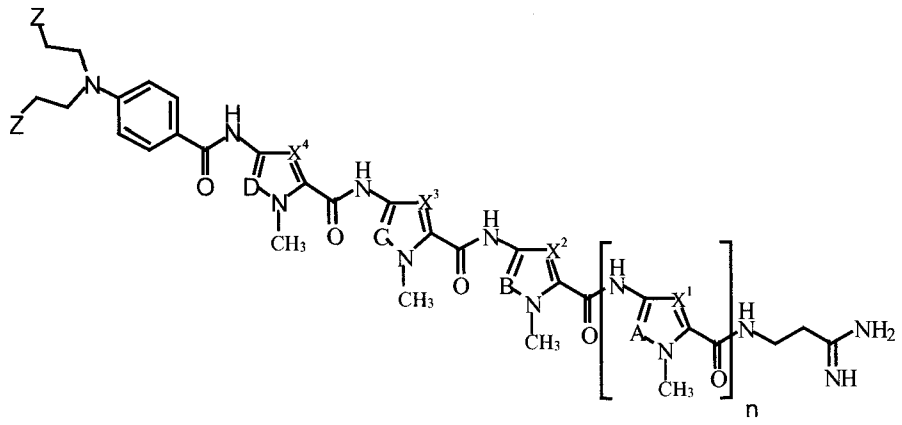
in cui:

n è un numero intero scelto tra 2, 3 e 4,

R è 4-[$(ZCH_2CH_2)_2N$]C_6H_4CONH, e

Z è scelto dal gruppo che consiste di F, Cl, Br ed I;

- composti di formula (II):



in cui:

n è un numero intero scelto tra 0 (zero), 1 e 2,

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

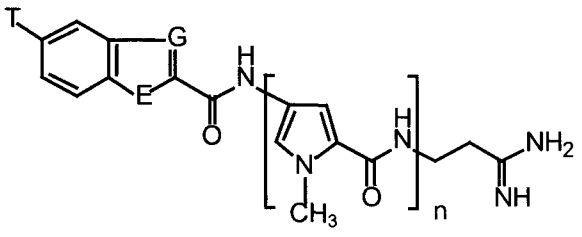
Z è scelto dal gruppo che consiste di F, Cl, Br e I,

A, B, C e D sono scelti indipendentemente l'uno dall'altro tra CH oppure N,

X^1, X^2, X^3 e X^4 sono scelti indipendentemente l'uno dall'altro tra CH oppure N,

con la condizione che quando X^1 è N, A è CH; quando X^2 è N, B è CH; quando X^3 è N, C è CH e quando X^4 è N, D è CH;

- composti di formula (III):



in cui:

n è un numero intero scelto tra 2, 3 e 4,

T è scelto nel gruppo che consiste di 4-$[(ZCH_2CH_2)_2N]C_6H_4CONH$, $(ZCH_2CH_2)_2N$, e $CH_2=CZCONH$,

Z è scelto nel gruppo che consiste di Cl, Br, F e I,

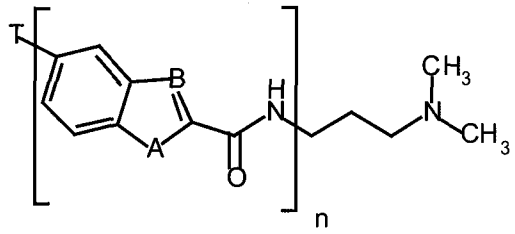
E è scelto nel gruppo che consiste di O (ossigeno), S e NR_1,

R_1 è H oppure CH_3, e

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

G è CH oppure N;

- composti di formula (IV):



in cui:

n è un numero intero scelto tra 1, 2, 3 e 4;

T è scelto dal gruppo che consiste di 4-$[(ZCH_2CH_2)_2N]C_6H_4CONH$, $(ZCH_2CH_2)_2N$, e $CH_2=CZCONH$;

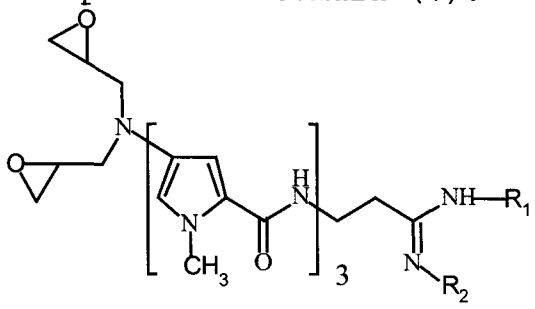
Z è scelto dal gruppo che consiste di F, Cl, Br e I;

A è scelto dal gruppo che consiste di O (ossigeno), S e NR_1;

R_1 è alchile lineare o ramificato avente 1 a 4 atomi di carbonio;

B è CH oppure N;

- composti di formula (V):



IACOBACCI & PERANI S.p.A.

in cui:

R_1 ed R_2 sono scelti indipendentemente l'uno dall'altro nel gruppo che consiste di idrogeno, alchile lineare o ramificato avente 1 a 4 atomi di carbonio, nitrile (CN) o ossidrile (OH), oppure R_1 e R_2 formano in combinazione l'uno con l'altro una catena alchilica lineare $-(CH_2)_m-$ in cui m è 2 oppure 3;

- e loro sali farmaceuticamente accettabili, per la preparazione di un medicamento per il trattamento terapeutico della β-talassemia.

2. Impiego secondo la rivendicazione 1, in cui detto analogo strutturale o suo sale farmaceuticamente accettabile è in combinazione con almeno un altro modificatore del processo di trascrizione scelto dal gruppo che consiste di citosina arabinoside, acido retinoico, plicamicina, mitramicina, idrossiurea, guanina, guanosina trifosfato (GTP), guanosina difosfato (GDP) e guanosina monofosfato (GMP).

3. Impiego secondo la rivendicazione 1 oppure 2, in cui detto analogo strutturale è 3-(1-metil-4-(1-metil-4-(1-metil-4-(4-bis(2-cloroetil)amminobenzene-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossamido)pirrolo-2-carbossiammido)pirrolo-2-

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

carbossiammido)propionammidina o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

4. Impiego secondo la rivendicazione 1 oppure 2, in cui detto analogo strutturale è 3-(1-metil-4-(1-metil-4-(1-metil-4-(4-bis(2-cloroetil)aminobenzene)-imidazolo-2-carbossamido)pirrolo-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossiammido)propionammidina o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

5. Impiego secondo la rivendicazione 1 oppure 2, in cui detto analogo strutturale è 3-(1-metil-4-(1-metil-4-(1-metil-4-(5,N,N-bis(2-cloroetil)amminobenzofurano-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossamido)pirrolo-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossiammido)carbossiammido)pirrolo-2-carbossiammido)propionammidina o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

6. Impiego secondo la rivendicazione 1 oppure 2, in cui detto analogo strutturale è N(3'-dimetilamminopropil)-5-[5-[4-[bis(2-cloroetil)ammino]benzoil)ammino]-5-*1H*-indolcarbossamido]-benzofurano-2-carbossamido o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

JACOBACCI & PERANI S.p.A.

7.Impiego secondo la rivendicazione 1 oppure 2, in cui detto analogo strutturale è 3-(1-metil-4-(1-metil-4-(1-metil-4-(bis-(2-metilossirano)-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossamido)pirrolo-2-carbossiammido)pirrolo-2-carbossiammido) cianopropionammidina o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

8. Impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 7, in cui detto sale farmaceuticamente accettabile è un sale di un acido scelto dal gruppo che consiste di acido cloridrico, acido bromidrico, acido solforico, acido nitrico, acido acetico, acido propionico, acido succinico, acido malonico, acido citrico, acido tartarico, acido metansolfonico e acido p-toluensolfonico.

PER INCARICO
ANGELO GERBINO
Iscr. N. 488BM

JACOBACCI & PERANI S.p.A.