



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

DOMANDA NUMERO	102007901495132
Data Deposito	19/02/2007
Data Pubblicazione	19/08/2008

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

COMPOSTI DERIVATI DELLA COLCHICINA, PROCEDIMENTO PER LA LORO PREPARAZIONE
E USI IN CAMPO MEDICO.

DESCRIZIONE

A corredo di una domanda di brevetto per invenzione industriale dal titolo: "Composti derivati della colchicina, procedimento per la loro preparazione e usi in campo medico"

Titolari: Francesco FRINGUELLI 16%, Oriana PIERMATTI 16%, Massimo PINZANI 26%, Ferdinando PIZZO 16%, Angelo VEDOVELLI 26%

Inventori: Francesco FRINGUELLI, Oriana PIERMATTI, Massimo PINZANI, Ferdinando PIZZO, Angelo VEDOVELLI

* * *

La presente invenzione concerne composti derivati della colchicina, procedimento per la loro preparazione e usi in campo medico. In particolare, la presente invenzione concerne composti derivati della colchicina da impiegare vantaggiosamente nella terapia antifibrotica delle malattie epatiche croniche.

Le malattie croniche del fegato ad evoluzione sclerogena comprendono una serie di affezioni ad etiologia infettiva, tossico/metabolica, genetica ed autoimmune. In Italia, nei Paesi del bacino Mediterraneo ed in genere in Europa queste malattie incidono pesantemente in termini di morbidità e mortalità. In particolare, per quanto concerne le

forme infettive, si calcola che circa il 10% della popolazione italiana possa essere portatore di malattia ed un picco di incidenza di forme terminali di epatopatia cronica è previsto al momento tra il 2010 ed il 2020. Va sottolineato inoltre che, nonostante l'incidenza delle epatopatie croniche sclerogene sia inferiore a quella di altre patologie sclerogene quali ad esempio le malattie cardiovascolari, la loro incidenza nelle varie classi di età è più ampiamente distribuita con molti pazienti affetti da fasi invalidanti della malattia in classi di età relativamente più giovani e in cui è massima la pressione produttiva. Dato che il trapianto di fegato è attualmente l'unico reale presidio terapeutico efficace si comprende come tutto questo si traduca in un notevole danno sociale ed economico. Nonostante i notevoli sforzi operati in questo senso negli ultimi anni, al momento non esiste un reale trattamento che possa definirsi sicuramente proponibile in senso antifibrogenico. L'introduzione di tale tipo di trattamento associato a terapie specificamente dirette a correggere la causa principale del danno cronico costituirebbe un sicuro vantaggio strategico nell'ambito di una terapia combinata dei vari aspetti delle epatopatie croniche.

Di seguito vengono descritte in breve le basi cellulari della fibrosi epatica.

Durante il processo di attiva fibrogenesi epatica le cellule stellate perisinusoidali costituiscono uno dei principali tipi cellulari responsabili della produzione di matrice extracellulare, con una predominante sintesi di collagene I e III. Le cellule stellate (HSC; note come hepatic stellate cells, fat-storing cells, o lipociti) sono localizzate a livello dello spazio di Disse in intimo contatto sia con gli epatociti che con le cellule endoteliali dei sinusoidi. In condizioni di danno epatico cronico le HSC vanno incontro ad un processo di attivazione e modulazione fenotipica trasformandosi nel fenotipo denominato myofibroblast-like. Questa transizione, osservabile sia nel tessuto epatico sede di danno cronico che in vitro dopo prolungata coltura su plastica, è caratterizzata da una notevole proliferazione cellulare, da migrazione cellulare, da un aumento della sintesi e della secrezione di matrice extracellulare (MEC) fibrillare (in particolare collagene tipo I e III), e da un consistente aumento delle loro capacità contrattili. Le HSC attivate sono in grado, almeno nelle prime fasi di attivazione, di operare una degradazione ed

un rimodellamento della MEC prodotta. Tuttavia questa caratteristica viene gradualmente persa con il perpetuarsi del processo di attivazione, mentre vengono progressivamente ad accentuarsi le caratteristiche proliferative, sintetiche e contrattili. E' possibile quindi affermare che la fibrosi epatica è in pratica il risultato di uno sbilanciamento tra il processo di fibrogenesi e quello di degradazione della matrice.

Le HSC costituiscono la principale sede di deposito di retinoidi nell'organismo adulto. Ciò in ragione delle loro capacità di uptake selettivo del retinolo contenuto nella dieta e metabolizzazione del retinolo in esteri del retinolo, che costituiscono la principale forma di stivaggio nelle caratteristiche gocce lipidiche presenti nel citoplasma delle HSC. Nel corso del processo di attivazione delle HSC si osserva una progressiva perdita dei depositi intracellulari di retinoidi. E' stato ipotizzato che la perdita del fisiologico contenuto intracellulare di retinoidi abbia un impatto su alcuni aspetti dell'attivazione delle HSC ed in particolare sulle caratteristiche proliferative del fenotipo attivato. In supporto di questa possibilità è il rilievo di una riduzione della proliferazione cellulare, sia in

condizioni basali che dopo stimolazione con mitogeni, dopo incubazione con retinolo o con acido retinoico e successivo, almeno parziale, ripristino dei depositi intracellulari di retinoidi.

Nell'ultima decade, si sono realizzati significativi avanzamenti nella identificazione e nello sviluppo di nuovi agenti antifibrotici, principalmente grazie ad una migliore comprensione dei meccanismi cellulari e molecolari che conducono ad una progressiva cirrotizzazione del fegato. Al momento, solo pochi agenti hanno raggiunto la possibilità di una sperimentazione clinica, e un efficace trattamento della cirrosi epatica non è ancora realizzabile. In generale, il principale problema posto dai farmaci in grado di influenzare la risposta fibrogenica e infiammatoria del fegato è la mancanza di specificità della loro azione, tanto a livello di organo che a livello di tipo cellulare, cui conseguono effetti collaterali di vario genere. Tali reazioni avverse impongono limitazioni di dosaggio che compromettono seriamente l'efficacia della terapia. D'altra parte, i farmaci agenti come inibitori o modulatori delle principali vie di trasduzione intracellulare del segnale in conseguenza dell'occupazione di recettori di membrana da parte di fattori di crescita e

citochine agenti in senso profibrogenico non sono dotati di alcuna specificità cellulare e possono quindi determinare effetti altamente controproducenti nell'ambito del processo rigenerativo epatico.

La colchicina, principale alcaloide di *Colchicum autumnale* e *Gloriosa superba*, è il più noto e il più estesamente studiato tra i farmaci in grado di interferire con i microtubuli, componenti fondamentali del citoscheletro. L'intimo meccanismo di azione della colchicina risiede nel legame virtualmente irreversibile che essa forma con le molecole di tubulina libere nel citosol, che stabilendosi in una regione critica per la polimerizzazione con altre subunità di tubulina, ne impedisce l'assemblaggio a formare i microtubuli. Il risultato è il dissolvimento dei microtubuli cellulari, poiché tali strutture si mantengono grazie al perenne equilibrio tra l'associazione di nuove subunità di tubulina e la dissociazione di quelle integrate. Ne deriva l'inibizione di funzioni cellulari microtubulo-dipendenti, incluse la mitosi e la secrezione extracellulare di diverse macromolecole. Nel complesso, ciò spiega la molteplicità e il ventaglio degli effetti farmacologici che la colchicina può esercitare

nell'organismo in conseguenza della sua azione anti-microtubulare. Un vasto corpo di evidenze sperimentali, accumulate nel corso degli ultimi trenta anni, ha messo in evidenza che la colchicina può esercitare una varietà di attività farmacologiche potenzialmente sfruttabili a scopo terapeutico nei pazienti con danno epatico. Esse possono essere artificialmente distinte in due classi: proprietà di tipo antifibrotico e antiinfiammatorio, da una parte, e proprietà di citoprotezione dall'altra. Il razionale per l'impiego della colchicina nella fibrosi epatica è basato sulle seguenti evidenze sperimentali: (a) la colchicina è in grado di inibire la secrezione extracellulare di collagene da parte di osteoblasti, condrociti, e fibroblasti di fegato in coltura, con conseguente accumulo intracellulare di collagene e "feed-back inhibition" della sua sintesi; (b) la colchicina stimola l'espressione e la secrezione extracellulare di varie proteinasi, incluse collagenasi, elastasi, e gelatinasi, in differenti tipi di cellule mesenchimali in coltura; (c) in colture di cellule stellate del fegato, la colchicina sopprime la proliferazione e la motilità cellulare indotta da platelet-derived growth factor (PDGF).

A fronte di questi presupposti, le sperimentazioni cliniche nell'uomo volte a valutare l'efficacia della colchicina in vari tipi di fibrosi epatica (alcolica e non alcolica) hanno fornito complessivamente risultati deludenti. Ciò contrasta con l'efficacia antifibrotica che la colchicina - ad alte dosi - ha esibito in diversi modelli sperimentali di cirrosi epatica. Infatti quando somministrata nell'animale di laboratorio a dosaggi elevati, la sostanza si è dimostrata in grado non solo di prevenire, ma anche di far regredire, la cirrosi sperimentale. Questa discrepanza è facilmente spiegabile con il fatto che le alte dosi impiegate nell'animale da esperimento e dotate di effettiva azione antifibrotica e anticirrotica non sono praticabili in campo umano per l'insorgere di significativi e anche gravi effetti collaterali dovuti all'azione del farmaco in distretti extraepatici. A questo riguardo alcune considerazioni di ordine farmacocinetico suggeriscono indirettamente l'ordine di grandezza dei potenziali vantaggi derivanti da un targeting della colchicina selettivo per il fegato. Studi di distribuzione hanno mostrato che alte percentuali di farmaco si concentrano normalmente nel rene, nella milza, nell'intestino, e nei leucociti circolanti, oltre che

nel fegato. Inoltre, assumendo una distribuzione uniforme del farmaco nei differenti tipi cellulari del fegato, è ovvio che una quota preponderante di colchicina si disperde negli epatociti che rendono conto di circa l'80% del volume parenchimale, mentre solo una minima frazione finisce per essere internalizzata dalle cellule stellate, che contribuiscono solo per l'1.4% del volume parenchimale normale. E' difficile pensare che al dosaggio di colchicina di 1 mg al giorno, una frazione di questo tipo possa influenzare in misura significativa il processo di "attivazione" delle cellule stellate che è alla base della fibrosi del fegato.

E' noto il derivato della colchicina retinoilideacetilcolchicina (composto 2a nella tabella).² Il composto è stato sintetizzato da Brossi et. Al. senza alcun rapporto con l'impiego antifibrotico o per malattie croniche del fegato ma solo nell'ambito di studi riguardanti i rapporti tra struttura della colchicina e suo legame con la tubulina. Lo scopo era quello di indagare *in vitro* l'influenza di un sostituyente di grosse dimensioni molecolari (vitamina A) nella posizione C7 dell'anello B della colchicina nei riguardi della

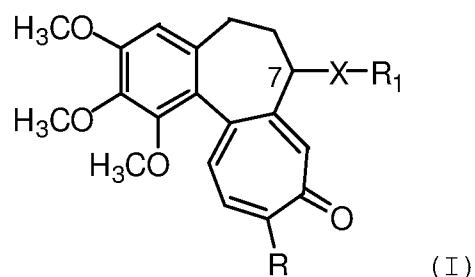
cinetica di legame con la tubulina. Rispetto alla colchicina, la retinoilideacetilcolchicina ha mostrato nello studio ridotta affinità di legame con la tubulina, ciò che fa presumere una sua ridotta o assente attività biologica.²

Alla luce di quanto sopra esposto risulta pertanto evidente l'esigenza di poter disporre di nuovi composti in grado di risolvere gli svantaggi delle terapie finora note.

Gli autori della presente invenzione hanno ora trovato nuovi composti con aumentata efficacia terapeutica e ridotta tossicità rivolti al trattamento antifibrotico delle malattie epatiche croniche fibrogeniche. Inoltre, l'invenzione è in grado di fornire composti che veicolano farmaci antifibrotici selettivamente al fegato, e specificatamente nelle cellule stellate, soluzione ideale per assicurare una terapia antifibrotica efficace e sicura ai pazienti con malattie epatiche croniche. Questo tipo di targeting conferisce a dosi standard di un farmaco antifibrotico, convenzionale o sperimentale: a) il drammatico aumento dell'efficacia terapeutica, attraverso la concentrazione nell'organo e nelle cellule-bersaglio; b) l'attenuazione fino al

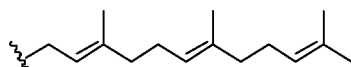
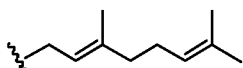
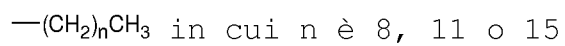
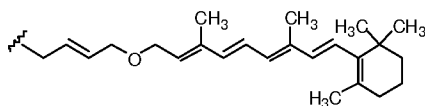
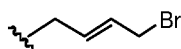
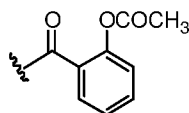
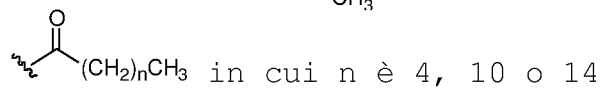
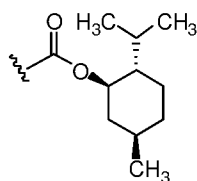
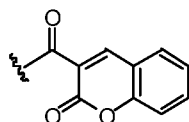
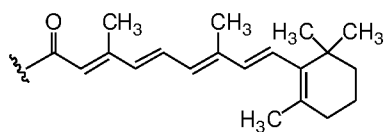
virtuale annullamento degli effetti avversi, per la drastica riduzione della distribuzione in altri distretti. L'invenzione si basa sulla peculiare via metabolica del retinolo, che dopo essere assorbito a livello intestinale viene veicolato dai chilomicroni nel fegato dove si ritrova stivato in forma di estere all'interno delle cellule stellate. Di conseguenza la coniugazione della colchicina e composti da essa derivati con il retinolo (o altri retinoidi) può permettere la loro veicolazione preferenzialmente a livello epatico (targeting di I ordine) e, all'interno dell'organo, specificatamente a livello delle cellule stellate epatiche (targeting di II ordine), il principale effettore cellulare della fibrogenesi epatica.

Formano pertanto oggetto specifico della presente invenzione composti derivati della colchicina aventi formula generale (I):



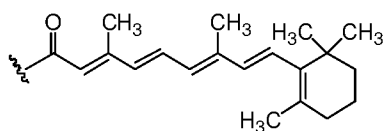
di configurazione $(aR, 7S), (aS, 7R); (aR, 7S)$ o $(aS, 7R),$

il gruppo R è scelto tra OCH_3 , SCH_3 o SCH_2Ph , X è scelto tra NH o O, R_1 è scelto tra



e R_1 è H quando X è NH e R è SCH_2Ph , oppure quando X è O e R è SCH_3 o SCH_2Ph ;

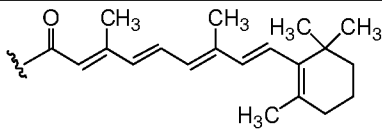
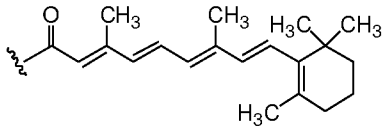
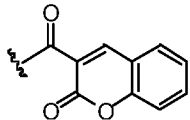
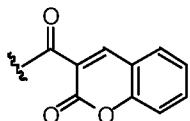
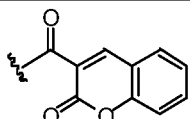
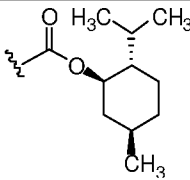
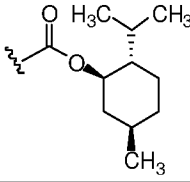
a condizione che quando R_1 è

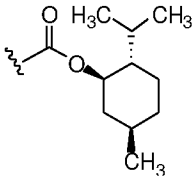
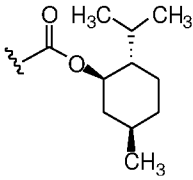
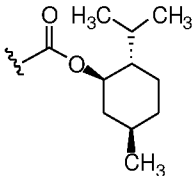
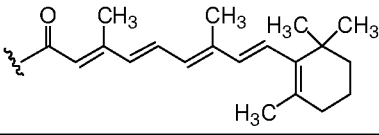
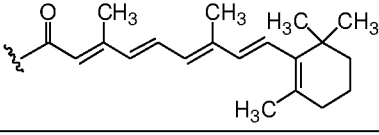
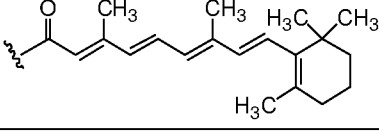
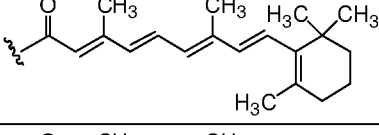
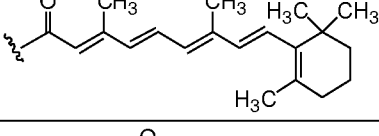
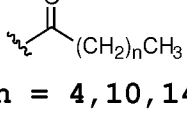
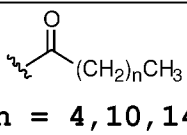
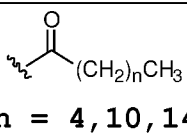
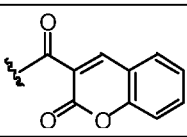


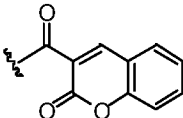
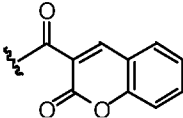
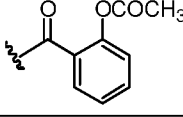
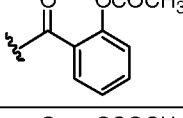
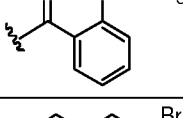
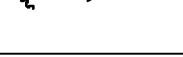
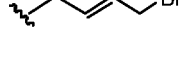
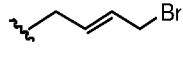
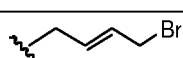
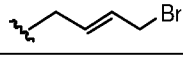
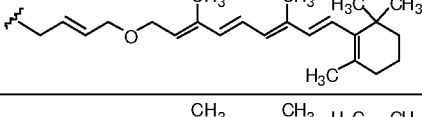
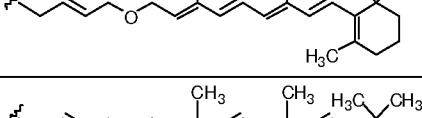
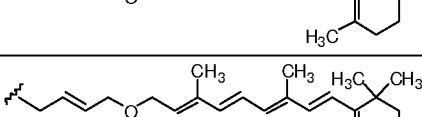
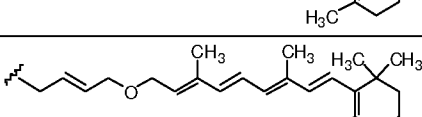
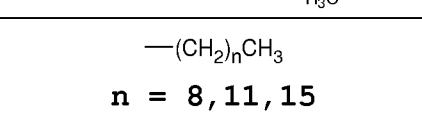
e X è NH allora R è diverso da OCH_3 .

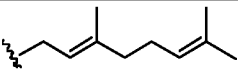
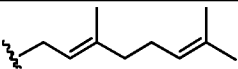
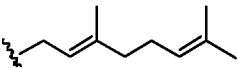
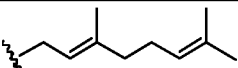
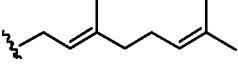
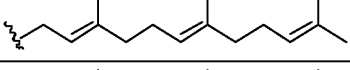
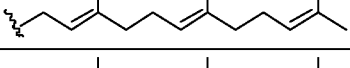
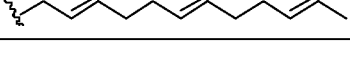
Preferibilmente la colchicina è (aR,7S)-cochicina,
ancora più preferibilmente (-)-(aR,7S)-colchicina .

I composti secondo l'invenzione sono preferibilmente
scelti tra i composti aventi le seguenti formule:

Prodotto	R	X	R ₁	Configura- zione
1c	SCH₂Ph	NH	H	(aR, 7S)
2b	SMe	NH		(aR, 7S)
2c	SCH₂Ph	NH		(aR, 7S)
3a	OMe	NH		(aR, 7S)
3b	SMe	NH		(aR, 7S)
3c	SCH₂Ph	NH		(aR, 7S)
4c	SCH₂Ph	O	H	(aR, 7S) , (aS, 7R)
(-) -4b	SMe	O	H	(aR, 7S)
(+) -4b	SMe	O	H	(aS, 7R)
5a	OMe	O		(aR, 7S) , (aS, 7R)
5b	SMe	O		(aR, 7S) , (aS, 7R)

5c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
(-) -5b	SMe	O		(aR, 7S)
(+) -5b	SMe	O		(aS, 7R)
6a	OMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
6b	SMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
6c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
(-) -6b	SMe	O		(aR, 7S)
(+) -6b	SMe	O		(aS, 7R)
7a	OMe	O	 n = 4, 10, 14	(aR, 7S), (aS, 7R)
7b	SMe	O	 n = 4, 10, 14	(aR, 7S), (aS, 7R)
7c	SCH ₂ Ph	O	 n = 4, 10, 14	(aR, 7S), (aS, 7R)
8a	OMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)

8b	SMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
8c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
9a	OMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
9b	SMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
9c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
10a	OMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
10b	SMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
10c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
(-)-10b	SMe	O		(aR, 7S)
(+)-10b	SMe	O		(aS, 7R)
11a	OMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
11b	SMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
11c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
(-)-11b	SMe	O		(aR, 7S)
(+)-11b	SMe	O		(aS, 7R)
12a	OMe	O	—(CH ₂) _n CH ₃ n = 8, 11, 15	(aR, 7S), (aS, 7R)
12b	SMe	O	—(CH ₂) _n CH ₃ n = 8, 11, 15	(aR, 7S), (aS, 7R)
12c	SCH ₂ Ph	O	—(CH ₂) _n CH ₃	(aR, 7S),

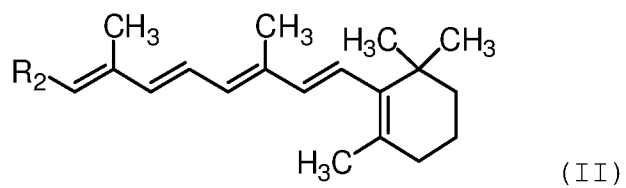
			$n = 8, 11, 15$	$(aS, 7R)$
13a	OMe	O		$(aR, 7S),$ $(aS, 7R)$
13b	SMe	O		$(aR, 7S),$ $(aS, 7R)$
13c	SCH₂Ph	O		$(aR, 7S),$ $(aS, 7R)$
(-)-13b	SMe	O		$(aR, 7S)$
(+)-13b	SMe	O		$(aS, 7R)$
14a	OMe	O		$(aR, 7S),$ $(aS, 7R)$
14b	SMe	O		$(aR, 7S),$ $(aS, 7R)$
14c	SCH₂Ph	O		$(aR, 7S),$ $(aS, 7R)$

I composti sopra descritti possono essere vantaggiosamente impiegati in campo medico.

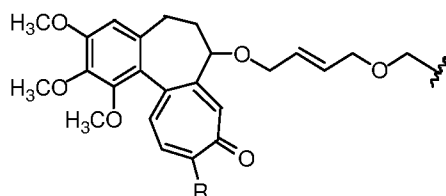
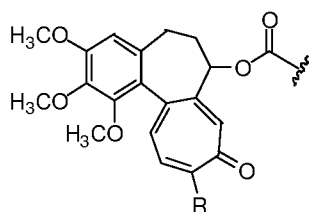
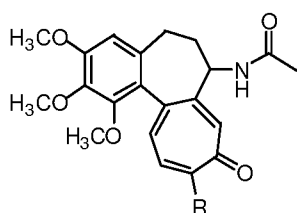
Costituisce ulteriore oggetto della presente invenzione una composizione farmaceutica comprendente uno o più composti come definiti sopra come principio attivo assieme ad uno o più eccipienti o adiuvanti farmaceuticamente accettabili.

Inoltre, l'invenzione concerne l'uso dei composti e della composizione come definiti sopra per la preparazione di un medicamento da impiegare nella terapia antifibrotica delle malattie epatiche croniche.

Costituiscono ulteriore oggetto della presente invenzione composti derivati del retinolo aventi la seguente formula generale (II):



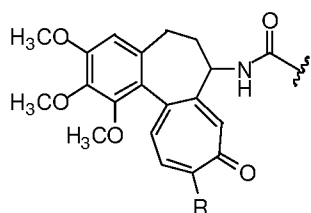
in cui R_2 è scelto tra



di configurazione $(aR, 7S)$, $(aS, 7R)$; $(aR, 7S)$ o $(aS, 7R)$,

dove il gruppo R è scelto tra OCH_3 , SCH_3 o SCH_2Ph , a

condizione che quando R_2 è



di configurazione $(aR, 7S)$, allora R è

diverso da OCH_3 .

I composti secondo la formula (II) possono essere vantaggiosamente impiegati come farmaci antifibrotici in cui il retinolo funge da carrier.

Inoltre, l'invenzione riguarda una composizione farmaceutica comprendente uno o più composti di formula (II) come principio attivo assieme ad uno o più eccipienti o adiuvanti farmaceuticamente accettabili. Detti composti e composizione possono essere vantaggiosamente impiegati per per la prevenzione e la cura delle malattie epatiche come la fibrosi epatica e nella terapia antifibrotica delle malattie epatiche croniche.

La presente invenzione riguarda inoltre l'uso del retinolo come veicolo di farmaci antifibrotici.

La presente invenzione verrà ora descritta a titolo illustrativo, ma non limitativo, secondo sue forme preferite di realizzazione.

Esempio 1: *Preparazione di derivati della colchicina secondo la presente invenzione (Tabella 1).*

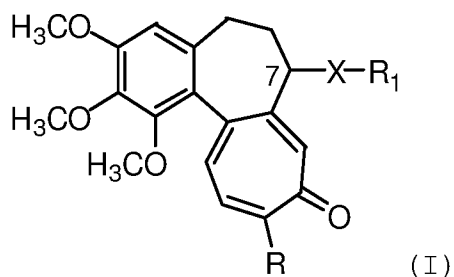
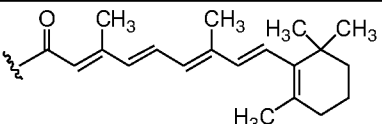
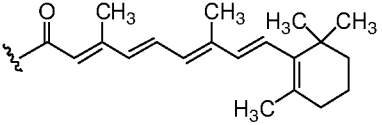
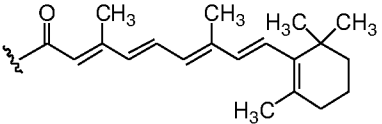
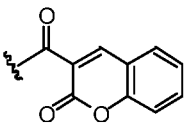
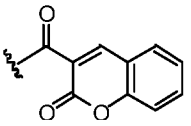
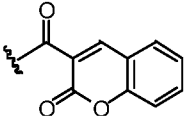
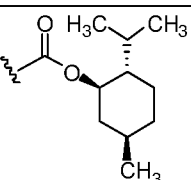
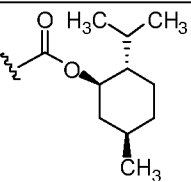
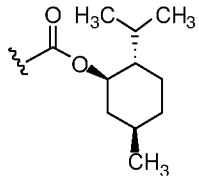
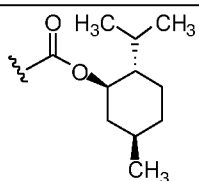
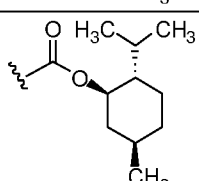
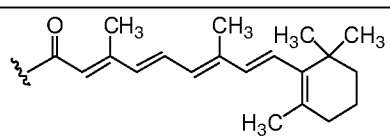
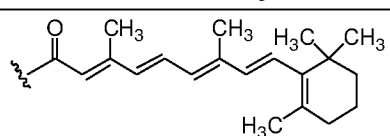
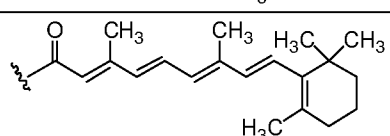
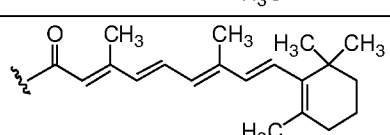
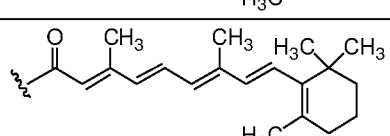
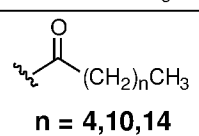
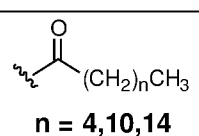
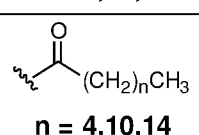
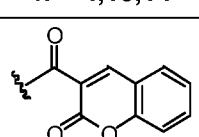
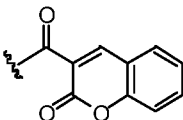
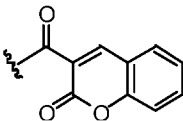
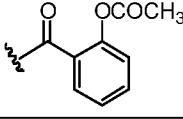
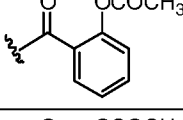
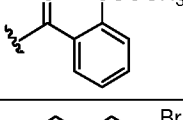
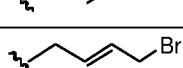
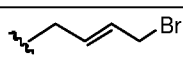
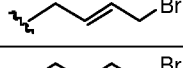
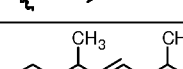
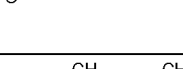
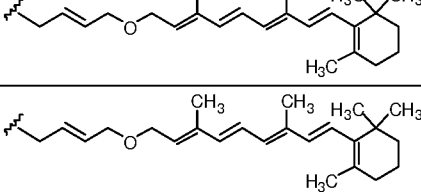
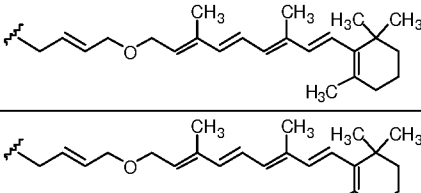
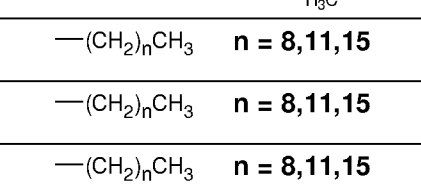
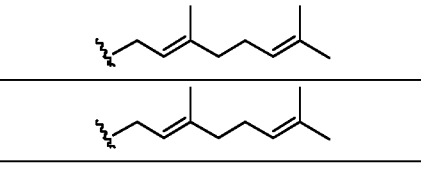
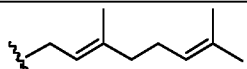
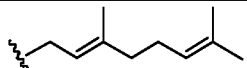
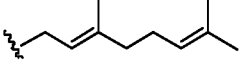
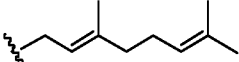
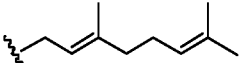
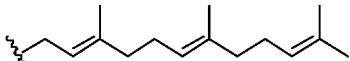
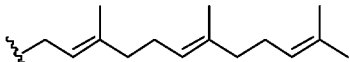
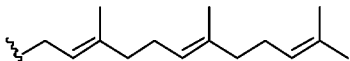


Tabella 1

Prodotto	R	X	R ₁	Configurazione C-7
1a	OMe	NH	H	(aR,7S)
1b	SMe	NH	H	(aR,7S)
1c	SCH₂Ph	NH	H	(aR,7S)
2a	OMe	NH		(aR,7S)
2b	SMe	NH		(aR,7S)
2c	SCH₂Ph	NH		(aR,7S)
3a	OMe	NH		(aR,7S)
3b	SMe	NH		(aR,7S)
3c	SCH₂Ph	NH		(aR,7S)
4a	OMe	O	H	(aR,7S), (aS,7R)
4b	SMe	O	H	(aR,7S), (aS,7R)
4c	SCH₂Ph	O	H	(aR,7S), (aS,7R)
(-)-4b	SMe	O	H	(aR,7S)
(+)-4b	SMe	O	H	(aS,7R)
5a	OMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
5b	SMe	O		(aR,7S), (aS,7R)

5c	SCH ₂ Ph	O		(aR,7S), (aS,7R)
(-)-5b	SMe	O		(aR,7S)
(+)-5b	SMe	O		(aS,7R)
6a	OMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
6b	SMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
6c	SCH ₂ Ph	O		(aR,7S), (aS,7R)
(-)-6b	SMe	O		(aR,7S)
(+)-6b	SMe	O		(aS,7R)
7a	OMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
7b	SMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
7c	SCH ₂ Ph	O		(aR,7S), (aS,7R)
8a	OMe	O		(aR,7S), (aS,7R)

8b	SMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
8c	SCH ₂ Ph	O		(aR,7S), (aS,7R)
9a	OMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
9b	SMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
9c	SCH ₂ Ph	O		(aR,7S), (aS,7R)
10a	OMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
10b	SMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
10c	SCH ₂ Ph	O		(aR,7S), (aS,7R)
(-)-10b	SMe	O		(aR,7S)
(+)-10b	SMe	O		(aS,7R)
11a	OMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
11b	SMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
11c	SCH ₂ Ph	O		(aR,7S), (aS,7R)
(-)-11b	SMe	O		(aR,7S)
(+)-11b	SMe	O		(aS,7R)
12a	OMe	O	—(CH ₂) _n CH ₃ n = 8,11,15	(aR,7S), (aS,7R)
12b	SMe	O	—(CH ₂) _n CH ₃ n = 8,11,15	(aR,7S), (aS,7R)
12c	SCH ₂ Ph	O	—(CH ₂) _n CH ₃ n = 8,11,15	(aR,7S), (aS,7R)
13a	OMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
13b	SMe	O		(aR,7S), (aS,7R)

13c	SCH ₂ Ph	O		(aR,7S), (aS,7R)
(-)-13b	SMe	O		(aR,7S)
(+)-13b	SMe	O		(aS,7R)
14a	OMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
14b	SMe	O		(aR,7S), (aS,7R)
14c	SCH ₂ Ph	O		(aR,7S), (aS,7R)

Preparazione di (-)-N-Retinoil-Deacetil-Tiometilcolchicina (2b) e (-)-N-Retinoil-Deacetil-Benziltiocolchicina (2c)

Le (-)-deacetilcolchicine 1a e 1b sono preparate in accordo alla letteratura.¹ La (-)-deacetilbenziltiocolchicina 1c è un nuovo prodotto ed è stato da noi preparato per idrolisi della benziltiocolchicina^{1e} con HCl in MeOH a riflusso.

I retinoil derivati 2b e 2c sono nuovi prodotti e sono stati preparati mediante reazione delle deacetilcolchicine 1b-c con acido retinoico in CH₂Cl₂ in presenza di dicicloesilcarbodimmide (DCC) e 4-pirrolidinpiridina (PPY) mediante una procedura già descritta per la (-)-N-retinoil-deacetilcolchicina 2a.²

Procedura: Una miscela costituita da deacetilcolchicina 1b o 1c (1.4 mmol), acido

retinoico (0.5 g, 1.65 mmol), DCC (0.5 g, 2.4 mmol), PPY (0.05 g, 0.34 mmol) in CH_2Cl_2 (15 ml) viene agitata a temperatura ambiente per 20 h. La miscela di reazione viene filtrata per eliminare la dicicloesilurea (DCU). La soluzione viene lavata con acqua, seccata su sodio solfato e concentrata a pressione ridotta. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice utilizzando una miscela di etere dietilico/etere di petrolio 90:10 come eluente. I retinoil derivati 2b,c sono ottenuti con rese del 80-85%.

(-)-N-Retinoil-Deacetil-Tiometilcolchicina (2b)

p.f.: 208-211°C

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -88.7^\circ$ (c. 0.32; CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.00 (s, 6H, $2\text{CH}_3-1'$), 1.40-1.65 (m, 4H, CH_2-2' , CH_2-3'), 1.69 (s, 3H, CH_3-5'), 1.92 (s, 3H, CH_3-9'), 2.00 (m, 2H, CH_2-4'), 2.22 (s, 3H, CH_3-13'), 2.42 (s, 3H, SCH3-10), 2.2-2.6 (m, 4H, CH_2-5 , CH_2-6), 3.71 (s, 3H, OCH_3-1), 3.8 (s, 3H, OCH_3-2), 3.94 (s, 3H, OCH_3-3), 4.73 (m, 1H, H-7), 5.84 (s, 1H, H-14'), 6.05-6.25 (m, 4H, H-7', H-8', H-10', H-12'), 6.52 (s, 1H, H-4), 6.80 (dd, 1H, H-11', $J=14.8$, 11.7 Hz), 7.06 (d, 1H, H-11, $J=10.4$ Hz), 7.30 (d, 1H, H-12, $J=10.4$ Hz), 7.44 (s, 1H, H-8)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 400 MHz) ppm: 12.7, 13.4, 15.1, 19.2, 21.7, 28.9 (2C), 30.0, 33.0, 33.9, 36.6, 39.5, 51.8, 56.0, 61.3, 61.8, 107.2, 120.9, 125.7, 126.5, 127.8, 128.7, 129.6, 129.7, 129.8, 134.5, 134.7, 135.9, 137.4, 137.6, 138.36, 138.39, 141.5, 149.4, 151.1, 151.6, 153.5, 156.8, 158.1, 166.5, 182.3

(-)-N-Retinoil-Deacetil-Benziltiocolchicina (2c)

p.f.: decompone a 144-146 °C

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -29.0° (c. 0.49; CHCl_3)

^1H -NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.03 (s, 6H, $2\text{CH}_3\text{-1}'$), 1.44-1.66 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-2}'$, $\text{CH}_2\text{-3}'$), 1.72 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-5}'$), 1.96 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-9}'$), 2.02 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-4}'$), 2.25 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-13}'$), 2.2-2.6 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-5}$, $\text{CH}_2\text{-6}$), 3.70 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-1}$), 3.90 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-2}$), 3.95 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-3}$), 4.14 (s, 2H, CH_2Ph), 4.72 (m, 1H, H-7), 5.77 (s, 1H, H-14'), 6.05-6.35 (m, 4H, H-7', H-8', H-10', H-12'), 6.53 (s, 1H, H-4), 6.90 (dd, 1H, H-11', $J=14.4$, 11.3 Hz), 7.1-7.5 (m, 8H, H-8, H-11, H-12, Ph)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 400 MHz) ppm: 12.8, 13.4, 19.2, 21.7, 28.9 (2C), 30.0, 33.0, 34.2, 36.6, 36.8, 39.5, 51.8, 56.0, 61.4, 61.8, 107.2, 120.7, 125.6, 127.2, 127.6, 128.0 (2C), 128.7 (2C), 129.0, 129.1, 129.7, 129.8, 129.9, 134.4, 134.7, 134.8, 135.7, 137.4, 137.7, 138.6, 138.8, 141.5, 149.6, 151.2, 151.4, 153.5,

156.7, 166.4, 182.4

Preparazione di (-)-N-(Cumarina-3-carbonile)-Deacetil-Colchicina (3a), (-)-N-(Cumarina-3-carbonile)-Deacetil-Tiometilcolchicina (3b) e (-)-N-(Cumarina-3-carbonile)-Deacetil-Benziltiocolchicina (3c)

Le ammidi 3a-c sono state preparate mediante reazione delle deacetilcolchine 1a-c con acido 3-carbossi cumarinico in CH_2Cl_2 in presenza di dicicloesilcarbodimide (DCC) e 4-pirrolidinpiridina (PPY).

Procedura: Una miscela costituita da deacetilcolchicina 1a, 1b o 1c (1.4 mmol), acido 3-carbossicumarinico (0.31 g, 1.65 mmol), DCC (0.5 g, 2.4 mmol), PPY (0.05 g, 0.34 mmol) in CH_2Cl_2 (15 ml) viene agitata a temperatura ambiente per 20 h. La miscela di reazione viene filtrata per eliminare la dicicloesilurea (DCU). La soluzione viene lavata con acqua, seccata su sodio solfato e concentrata a pressione ridotta. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice utilizzando una miscela di etere dietilico/etere di petrolio 90:10 come eluente. I derivati 3a-c sono ottenuti con rese del 80-85%.

(-)-N-(Cumarina-3-carbonile)-Deacetil-Colchicina (3a)

pf 151-156 °C

$[\alpha]^{25}_{\text{D}}$ -74.52° (c. 0.5; CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ : 2.40-2.67 (m, 4H, CH₂-5, CH₂-6), 3.76 (s, 3H, OMe-10), 3.97 (s, 3H, OMe-1), 4.01 (s, 3H, OMe-2), 4.03 (s, 3H, OMe-3), 4.81 (m, 1H, H-7), 6.63 (s, 1H, H-4), 6.86 (d, 1H, J=10.8Hz, H-11), 7.32 (s, 1H, H-6'), 7.33-7.74 (m, 5H, H-8, H-12, H-4', H-5', H-7'), 8.80 (s, 1H, H-3');

¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz) ppm: 29.4, 36.3, 52.6, 55.7, 56.0, 61.1, 107.0, 111.7, 116.3, 117.4, 118.0, 125.1, 125.4, 129.5, 130.7, 133.9, 134.1, 134.7, 135.5, 141.2, 148.3, 149.8, 150.8, 153.1, 154.1, 160.7, 161.0, 163.7, 179.0.

Preparazione di Colchicolo (4a), Thiometil-Colchicolo (4b) and Benziltio-Colchicolo (4c) in forma otticamente pura.

I colchicoli 4a-b sono ottenuti dalle corrispondenti deacetilcolchicine 1a-b rispettivamente, in accordo alla letteratura.^{1c,3} Il colchicolo racemo 4c è un nuovo prodotto ed è stato da noi preparato per reazione della deacetilcolchicina 1c con 4-formil-1-metilpiridinium benzensolfonato (FMB), a temperatura ambiente per 1.5 h. L'immina ottenuta viene trattata *in situ* con 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) e poi con acido ossalico per dare il corrispondente

colchicone che viene ridotto con NaBH_4 in metanolo per dare l'alcol racemo $(\pm)$ -4c.

La separazione del (+) e (-)-colchicolo 4a-c è stata ottenuta per la prima volta mediante ricristallizzazione dei mentil derivati 5a-c, ottenuti mediante trattamento della miscela racemica con (-)-mentil-cloroformiato. L'uso di etil acetato come solvente di ricristallizzazione fornisce il (+)-(aS,7R)-mentil-derivato (+)-5a-c, con circa il 40% di resa. L'uso di $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ come solvente di ricristallizzazione fornisce il (-)-(aR,7S)-mentil-derivato (-)-5a-c con circa il 40% di resa.

L'idrolisi dei mentil-derivati in una soluzione di KOH 0.5 M in metanolo fornisce il (+) e (-)-colchicolo 4a-c in forma otticamente pura con rese del 95%. Di seguito viene riportata la procedura per la separazione del $(\pm)$ -tiocolchicolo 4b.

Procedura: a) Ad una soluzione di $(\pm)$ -tiocolchicolo 4b (6 g, 16.0 mmol) in piridina anidra (30 ml), viene addizionato il (-)-mentil-cloroformiato (6.8 ml, 32 mmol) e la miscela viene agitata a temperatura ambiente per 1.5 h. Dopo la rielaborazione il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice utilizzando

una miscela costituita da etere dietilico/
cloroformio/etere di petrolio in rapporto 20:50:30.
Il mentil-derivato 5b viene ottenuto con una resa del
94%.

b) *Separazione dei diastereoisomeri:* I
diastereoisomeri ($\pm$)-5b sono stati separati mediante
ricristallizzazione. L'uso di etil acetato come
solvente di ricristallizzazione fornisce il
diastereoisomero (+)-5b ($[\alpha]^{25}_D +185.5^\circ$ (c. 0.3
CHCl₃)), con il 44% di resa. L'uso di MeOH/CHCl₃ come
solvente di ricristallizzazione fornisce (-)-5b
($[\alpha]^{25}_D -269.5^\circ$ (c. 0.3 CHCl₃)) con una resa del
40%.

Mentil derivato (+)-5b

$[\alpha]^{25}_D +185.5^\circ$ (c. 0.33 CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.69 (d, 3H, CH₃-5', J= 6.9
Hz), 0.85 (d, 3H, CH₃-CH-CH₃, J=6.8 Hz), 0.86 (d, 3H,
CH₃-CH-CH₃, J= 6.2 Hz), 0.75-1.12 (m, 3H), 1.37 (m,
2H), 1.62 (m, 2H), 1.80-2.10 (m, 3H), 2.42 (s, 3H,
SCH₃), 2.35-2.60 (m, 3H), 3.62 (s, 3H, OCH₃-1), 3.89
(s, 3H, OCH₃-2), 3.91 (s, 3H, OCH₃-3), 4.38 (m, 1H,
H-1'), 5.16 (m, 1H, H-7), 6.55 (s, 1H, H-4), 7.02 (d,
1H, H-11, J=10.3 Hz), 7.23 (d, 1H, H-12, J= 10.3 Hz),
7.30 (s, 1H, H-8)

^{13}C -NMR (CDCl_3 400 MHz) ppm: 15.1, 16.1, 20.6, 21.8, 23.1, 25.8, 29.2, 31.3, 33.9, 35.8, 40.4, 46.8, 55.9, 61.2, 61.3, 75.9, 78.9, 107.3, 124.9, 125.8, 127.6, 134.2, 134.5, 136.0, 141.5, 147.9, 151.0, 153.5, 153.6, 158.6, 182.2

Mentil derivato (-)-5b

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -269.5^\circ$ (c. 0.31 CHCl_3)

^1H -NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 0.69 (d, 3H, $\text{CH}_3\text{-5'}$, $J = 6.9$ Hz), 0.84 (d, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH-CH}_3$, $J = 6.5$ Hz), 0.89 (d, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH-CH}_3$, $J = 7.0$ Hz), 0.75-1.05 (m, 3H), 1.38 (m, 2H), 1.63 (m, 2H), 1.90-2.06 (m, 3H), 2.41 (s, 3H, SCH_3), 2.35-2.60 (m, 3H), 3.62 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-1}$), 3.89 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-2}$), 3.91 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-3}$), 4.37 (m, 1H, H-1'), 5.15 (m, 1H, H-7), 6.54 (s, 1H, H-4), 7.01 (d, 1H, H-11, $J = 10.4$ Hz), 7.22 (d, 1H, H-12, $J = 10.4$ Hz), 7.28 (s, 1H, H-8)

^{13}C -NMR (CDCl_3) ppm: 15.0, 16.0, 20.6, 21.8, 23.2, 26.1, 29.2, 31.2, 33.9, 35.7, 40.5, 46.9, 55.9, 61.2, 61.3, 75.9, 79.0, 107.3, 124.9, 125.8, 127.5, 134.2, 134.4, 135.9, 141.5, 147.8, 151.0, 153.6, 158.6, 181.9

c) *Idrolisi*: Una soluzione di (+)-5b o (-)-5b (1.8 mmol) in KOH 0.5 M in metanolo (25 ml) viene agitata a 80 °C per 30 min. Dopo rielaborazione il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su

colonna (gel di silice, etere dietilico/cloroformio/metanolo 50:45:5). Il (+)-(aS,7R)-tiocolchicolo (+)-4b ($[\alpha]^{25}_D +189^\circ$ (c. 0.3, MeOH)), e il (-)-(aR,7S)-thiocolchicol (-)-4b ($[\alpha]^{25}_D -188^\circ$ (c. 0.3, MeOH)), sono ottenuti con una resa del 95 %.

Preparazione di (+) e (-)-7-O-Retinoil-Deacetammido-colchicina (6a), 7-O-Retinoil-Deacetammido-tiometilcolchicina (6b), and 7-O-Retinoil-Deacetammido-benziltiocolchicina (6c).

I (+) e (-)-retinoil derivati 6a-c sono preparati mediante reazione dei (+) e (-)-colchicoli 4a-c con acido retinoico in CH_2Cl_2 in presenza di dicicloesilcarbodimide (DCC) and 4-pirrolidinipiridina (PPY).

Procedura: Una miscela di (+) o (-)-colchicolo (4a, 4b or 4c) (1.4 mmol), acido retinoico (0.7 g, 2.3 mmol), DCC (0.58 g, 2.8 mmol), PPY (0.062 g, 0.42 mmol) in CH_2Cl_2 (15 ml) viene agitata a temperatura ambiente per 3 h. La miscela di reazione viene filtrata per eliminare la DCU; la soluzione filtrata viene lavata con acqua, seccata su sodio solfato e concentrata a pressione ridotta. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna (gel di silice, etere dietilico/cloroformio/etere di

petrolio 10:50:40). I (+) e (-)- retinoil derivati 6a-c sono ottenuti con una resa del 70-75%.

(-)-7-O-Retinoil- Deacetammido-tiometilcolchicina (-)-6b

$[\alpha]_D^{25}$ -68.9° (c. 0.37 CHCl₃)

p.f.: 113-117°C

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 1.02 (s, 6H, 2CH₃-1'), 1.45-1.75 (m, 4H, CH₂-13', CH₂-14'), 1.71 (s, 3H, CH₃-11'), 1.98 (s, 3H, CH₃-7'), 1.9-2.1 (m, 2H, CH₂-5), 2.25 (s, 3H, CH₃-3'), 2.3-2.6 (m, 2H, CH₂-5), 2.42 (s, 3H, S-CH₃), 3.66 (s, 3H, OCH₃-1), 3.90 (s, 3H, OCH₃-2), 3.93 (s, 3H, OCH₃-3), 5.37 (m, 1H, H-7), 5.87 (s, 1H, H-2'), 1.1-6.3 (m, 4H, H-4', H-6', H-8', H-9'), 6.54 (s, 1H, H-4), 6.99 (dd, 1H, H-5', J=14.8, 11.6 Hz), 7.03 (d, 1H, H-11, J=10.3 Hz), 7.25 (d, 1H, H-12, J=10.3 Hz), 7.33 (s, 1H, H-8).

¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz) ppm: 12.8, 13.9, 15.1, 19.1, 21.7, 28.9 (2C), 29.4, 33.0, 34.2, 36.0, 39.5, 56.0, 61.2, 61.4, 71.9, 107.4, 117.4, 125.1, 126.2, 128.2, 128.8, 129.4, 130.0, 131.6, 134.5, 134.6, 134.7, 136.7, 137.1, 137.6, 140.0, 141.5, 148.9, 151.0, 153.6, 154.5, 158.5, 165.4, 182.3

**Preparazione di vari esteri del (+) e (-)-
Colchicolo (4a), Tiometilcolchicolo (4b) e
Benziltiocolchicolo (4c).**

Vari esteri di struttura 7-9(a-c) sono stati preparati per reazione dei (+) e (-)-colchicoli 4a-c con un appropriato acido carbossilico (acido esanoico, dodecanoico e esadecanoico, acido 3-carbossi cumarinico e acido acetil salicilico) in CH₂Cl₂ in presenza di DCC and PPY.

Procedura: Una miscela di (+) o (-)-colchicolo (4a, 4b or 4c) (1.4 mmol), acido carbossilico (2.3 mmol), DCC (0.58 g, 2.8 mmol), PPY (0.062 g, 0.42 mmol) in CH₂Cl₂ (15 ml) viene agitata a temperatura ambiente per 3 h. La miscela di reazione viene filtrata per eliminare la DCU; la soluzione filtrata viene lavata con acqua, seccata su sodio solfato e concentrata a pressione ridotta. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna (gel di silice, etere dietilico/cloroformio/etere di petrolio 10:50:40). I (+) and (-)-esteri derivati 7-9 sono ottenuti con resa del 70-75%.

7-(cumarina-3-carbossilato)-Deacetammido-

benziltiocolchicina (8c)

mp 116-118 °C;

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 2.18-2.61 (m, 4H, CH₂-5,

CH₂-6), 3.67 (s, 3H, OCH₃-1), 3.92 (s, 3H, OCH₃-2), 3.94 (s, 3H, OCH₃-3), 4.14 (s, 1H, SCH₂Ph), 5.56 (m, 1H, H-7), 6.57 (s, 1H, H-4), 7.2-7.7 (m, 12H, Ar, H-8, H-11, H-12), 8.60 (s, 1H, H-4'');

¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz) ppm: 28.9, 35.5, 36.2, 55.8, 61.0, 61.2, 73.9, 107.3, 116.2, 116.5, 117.4, 124.4, 124.7, 126.8, 127.3, 127.8, 128.4 (2C), 128.7 (2C), 129.6, 133.9, 134.4, 134.5, 134.6, 136.5, 141.2, 147.7, 149.0, 150.8, 153.4, 154.6, 156.0, 157.0, 161.0, 181.8.

Preparazione di (+)- e (-)-7-{[(2'E)-4'(Retinilossi)but-2'-enil]ossi}-deacetammidocolchicina (11a), 7-{[(2E)-4(Retinilossi)but-2-enil]ossi}-deacetamidotiometilcolchicina (11b) and 7-{[(2E)-4(Retinilossi)but-2-enil]ossi}-deacetamidotioziltiocolchicina (11c).

I sali di litio dei (+) o (-)-colchicoli 4a-c ottenuti per trattamento con litio diisopropilammide (LDA), reagiscono con il trans-1,4-dibromo-2-butene per dare i corrispondenti (+)- and (-)-butenilbromuri 10a-c. La reazione dei 4-bromo-butenil derivati con il sale di litio del retinolo fornisce i (+)- e (-)-retinil eteri 11a-c.

Procedura: a) Ad una soluzione di (+) o (-)-

colchicolo (4a, 4b or 4c) (2.7 mmol) in THF (20 ml) raffreddata a -20°C viene addizionata una soluzione di LDA (4 mmol) in THF (6 ml). La risultante miscela viene agitata a 0°C per 30 min e poi a temperatura ambiente per 1 h. Una soluzione di 1,4-dibromo-2-butene (5.4 mmol) in DMF (15 ml) viene addizionata e la soluzione agitata a temperatura ambiente per 15 h. Dopo rielaborazione il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna (gel di silice gel, etere dietilico/cloroformio/etere di petrolio 50:40:10). I (+)- e (-)-butenilbromuri 10a-c sono ottenuti con una resa del 40 %.

b) Ad una soluzione di LDA (2.5 mmol) in 4 ml di Et_2O , raffreddata a -20°C , una soluzione di retinolo (2.5 mmol) in 4 ml di Et_2O viene addizionata lentamente. La miscela viene agitata a temperatura ambiente per 30 minuti e una soluzione del butenilbromuro 10 (1 mmol) in DMF viene addizionata e la soluzione lasciata sotto agitazione a t.a. per 15 h. Dopo rielaborazione il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna (gel di silice, etere dietilico/etere di petrolio 85:15). I (+)- e (-)-retinil eteri 11a-c sono ottenuti con una resa del 30 %.

**(-)-7-{[(2E)-4(Retini lossi)but-2-enil]ossi}-
deacetammido-tiometilcolchicina (-)-11b**

$[\alpha]_D^{25} -106.2^\circ$ (c. 0.65 CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.00 (s, 6H, 2CH_3 -15"), 1.40-1.65 (m, 4H, CH_2 -13", CH_2 -14"), 1.70 (s, 3H, CH_3 -11"), 1.81 (s, 3H, CH_3 -7"), 1.85 (m, 1H, CHH -6), 1.94 (s, 1H, CH_3 -3"), 2.00 (m, 2H, CH_2 -12"), 2.3-2.5 (m, 3H, CHH -6, CH_2 -5), 2.43 (s, 3H, S- CH_3), 3.61 (s, 3H, OCH_3 -1), 3.67 (m, 1H, CHH -1'), 3.85-4.0 (m, 4H, CHH -1', CH_2 -4', H-7), 3.91 (s, 6H, OCH_3 -2, OCH_3 -3), 4.06 (d, 2H, CH_2 -1", J = 6.7 Hz), 5.58 (t, 1H, H-2", J = 6.7 Hz), 5.72 (m, 2H, H-2', H-3'), 6.05-6.30 (m, 4H, H-4", H-6", H-8", H-9"), 6.53 (s, 1H, H-4), 6.57 (dd, 1H, H-5", J=15.1, 11.2 Hz), 7.03 (d, 1H, H-11, J=10.3 Hz), 7.20 (d, 1H, H-12, J=10.3 Hz), 7.50 (s, 1H, H-8).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 400 MHz) ppm: 12.7, 12.8, 15.1, 19.2, 21.7, 28.9 (2C), 29.6, 33.0, 34.2, 37.6, 39.6, 56.0, 61.0, 61.2, 66.6, 69.6, 69.8, 78.8, 107.2, 124.8, 124.9, 125.8, 126.5, 127.7, 128.7, 129.0, 129.2, 129.8, 130.1, 134.4, 135.1, 135.9, 136.4, 137.2, 137.4, 137.0, 137.8, 141.2, 149.2, 150.7, 153.5, 158.5, 182.4.

**Preparazione of (+)- and (-)-7-(Alchil-ossi)-
deacetamidocolchicina (12-14a), 7-(Alchil-ossi)-**

deacetamidotiometilcolchicina (12-14b) and 7-(Alchil-ossi)-deacetammido benziltio-colchicina (12-14c).

La reazione dei sali di litio dei (+) e (-)-colchicoli 4a-c con una serie di alchilbromuri (1-bromo-nonano, 1-bromo-dodecano, 1-bromo-esadodecano, bromuro di geranile e bromuro di farnesile) fornisce i rispettivi (+)- e (-)-alchil eteri 12-14(a-c).

Procedura: Ad una soluzione di (+) o (-)-colchicolo (4a, 4b or 4c) (2.7 mmol) in THF (20 ml) raffreddata a -20 °C viene addizionata una soluzione di LDA (4 mmol) in THF (6 ml). La risultante miscela viene mantenuta sotto agitazione magnetica a 0 °C per 30 minuti e poi a t.a. per 1 h. Una soluzione di alchil bromuro (4 mmol) in DMF (15 ml) viene addizionata e la soluzione agitata a t.a. per 15 h. Dopo rielaborazione il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna (gel di silice, etere dietilico/cloroformio/etere di petrolio 50:40:10). I (+)- e (-)-alchil eteri 12-14(a-c) sono ottenuti con una resa del 40 %.

(-)-7-(Geranil-ossi)-deacetamidotiometilcolchicina

(-)-13b

$[\alpha]_D^{25}$ -221.8° (c. 0.3 CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 1.50 (s, 3H, CH₃-7'), 1.55

(s, 3H, CH₃-7'), 1.63 (s, 3H, CH₃-3'), 1.77-2.05 (m, 5H, CHH-6, CH₂-4',), 2.25-2.5 (m, 3H, CHH-6, CH₂-5), 2.42 (s, 3H, S-CH₃), 3.63 (s, 3H, OCH₃-1), 3.67 (m, 1H, CHH-1'), 3.85-4.0 (m, 4H, CHH-1', H-7), 3.89 (s, 6H, OCH₃-2, OCH₃-3), 5.00 (t, 1H, H-6', J = 6.9 Hz), 5.28 (t, 1H, H-2', J = 6.3 Hz), 6.53 (s, 1H, H-4), 7.02 (d, 1H, H-11, J=10.3 Hz), 7.18 (d, 1H, H-12, J=10.3 Hz), 7.53 (s, 1H, H-8).

¹³C-NMR (CDCl₃ 400 MHz) ppm: 15.1, 16.4, 17.6, 25.6, 26.2, 29.6, 37.7, 39.5, 55.9, 60.9, 61.1, 66.2, 78.5, 107.1, 120.2, 123.8, 124.9, 125.8, 129.1, 131.5, 134.3, 135.2, 137.3, 140.6, 141.1, 149.4, 150.6, 153.4, 158.4, 182.4.

Esempio 2: *Studio degli effetti di dosi crescenti di colchicina e di diversi composti coniugati retinolo-colchicina secondo la presente invenzione sulla proliferazione e la migrazione di cellule stellate umane sia in condizioni di controllo che dopo stimolazione con 10 ng/ml di PDGF-BB.*

MATERIALI E METODI

Isolamento e coltura delle cellule stellate di fegato umano.

Le HSC umane sono state isolate da sezioni chirurgiche (10-20 g) di fegato umano normale non utilizzabile per trapianto. In breve, dopo una

digestione combinata dei pezzi chirurgici con collagenasi e pronasi le HSC sono state separate dalle altre cellule non-parenchimali del fegato mediante ultra-centrifugazione su gradienti di stractan (CellsepTM isotonic solution, Larex Inc, St. Paul, MN, USA). Le cellule sono state mantenute in coltura in fiasche di plastica (Falcon, Becton Dickinson, Lincoln, New Jersey, USA) in Iscove's modified Dulbecco's medium, con l'aggiunta di 0.6 U/ml di insulina, glutamina (2 mM), aminoacidi non essenziali (0.1 mM), piruvato di sodio (1 mM), soluzione antimicotica ed antibatterica (tutto fornito dalla GIBCO BRL Laboratories, Grand Island, New York, USA), e con siero fetale bovino al 20% (v/v) (Imperial Laboratories, Andover, UK). Le cellule sono state coltivate in atmosfera costituita da aria umidificata al 95% di O₂ e 5% di CO₂, con una temperatura costante di 37 °C. Le cellule appena isolate e coltivate in successive sottocolture sono state caratterizzate come precedentemente descritto. Gli esperimenti descritti sono stati condotti utilizzando HSC fra il terzo ed il quinto passaggio seriale, con un rapporto di distribuzione di 1:3. Gli esperimenti sono stati condotti utilizzando tre differenti linee cellulari.

Determinazione della sintesi di DNA

La sintesi di DNA è stata valutata tramite il metodo dell'incorporazione di [methyl-³H]-timidina nel materiale cellulare precipitato con acido tricloroacetico. In breve, le cellule sono state coltivate in piastre da 24 pozzetti, alla densità di 2×10^4 cellule/pozzetto, con medium di coltura completo contenente il 20% di siero fetale bovino (FBS). Una volta raggiunta la confluenza (circa 1×10^5 cellule/pozzetto), le cellule sono state rese quiescenti con l'incubazione in mezzo di coltura privo di siero e insulina (*serum-free/insulin-free* : SFIF) per 48 ore. Le cellule sono state quindi incubate con o senza agonisti, alle dosi e secondo le modalità indicate, per 20 ore. Le cellule sono state poi incubate per 4 ore con $1.0 \mu\text{Ci/ml}$ di [methyl-³H]-timidina (6.7 Ci/mM). Alla fine del periodo di *pulsing* la [methyl-³H]-timidina incorporata è stata misurata come riportato in letteratura. Il numero di cellule è stato valutato in tre diversi pozzetti per ogni disco e il risultato finale dell'esperimento è stato espresso come cpm/ 10^5 cellule.

Analisi della migrazione cellulare

La migrazione cellulare è stata analizzata come descritto nella letteratura. In breve, gli

esperimenti sono stati condotti usando la tecnica delle camere di Boyden, provviste di filtri di policarbonato con pori di 8 μm . I filtri sono stati pre-trattati con collagene umano di tipo I (20 $\mu\text{g/ml}$) per 30 min a 37 °C e successivamente inseriti tra la camera superiore e quella inferiore. Le HSC, coltivate fino alla confluenza, sono state incubate in SFIF per 48 ore e quindi sono state trattate per 10 min con concentrazioni crescenti di donatori di NO. Le cellule sono state, quindi, ri-sospese mediante una blanda tripsinizzazione (0.05% tripsina/EDTA) ed una aliquota della sospensione cellulare (210 μl), corrispondente a circa 4×10^4 cellule, è stata inserita nella camera superiore e incubata a 37 °C per 6 ore. Nella camera inferiore erano presenti SFIF (controllo) o PDGF-BB (10 ng/ml) con o senza la stessa concentrazione di donatori di NO impiegata nel periodo di pre-incubazione. Dopo fissazione con metanolo al 96% e colorazione con ematossilina di Harris, le cellule migrate sul lato inferiore del filtro sono state quantificate come numero di cellule in 10 *high-power fields* (HPF). Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti in triplicato. L'analisi di ogni triplicato è stata ripetuta due volte, in sedute diverse, e con diverse

preparazioni di HSC. Possibili effetti citotossici sono stati controllati con il test di esclusione del trypan blu. Questo test ha costantemente indicato una vitalità cellulare superiore al 90%.

Analisi statistica dei dati

I risultati relativi agli esperimenti indicati nelle Tabelle 2 e 3 sono espressi come media $\pm$ deviazione standard e sono relativi a 18 determinazioni per punto sperimentale (n=18). L'analisi statistica è stata effettuata con l'analisi della varianza (ANOVA) e quando il valore di F era significativo con il Test di Duncan.

Esperimenti

In un primo gruppo di esperimenti (Tabella 2) sono stati valutati gli effetti di dosi crescenti di colchicina e di diversi composti coniugati retinolo-colchicina sulla proliferazione (valutata mediante l'incorporazione di timidina triziata nel DNA cellulare) di cellule stellate umane sia in condizioni di controllo che dopo stimolazione con 10 ng/ml di PDGF-BB. In un secondo gruppo di esperimenti (Tabella 3) sono stati valutati gli effetti di dosi crescenti di colchicina e di diversi composti

coniugati retinolo-colchicina sulla migrazione di cellule stellate umane sia in condizioni di controllo che dopo stimolazione con 10 ng/ml di PDGF-BB. La valutazione dei composti in esame mediante il suddetto disegno sperimentale permette una valutazione rapida del potenziale antifibrogenico di un numero elevato di composti. Per tutti i composti elencati nelle Tabelle 2 e 3 è stato accuratamente escluso un effetto tossico.

Proliferazione cellulare (TABELLA 2): Come previsto, la stimolazione con PDGF-BB ha indotto in tutti gli esperimenti un significativo aumento della proliferazione cellulare rispetto al controllo (C). La co-incubazione con tre concentrazioni molari decrescenti di colchicina (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M) ha indotto a tutte le concentrazioni una significativa riduzione della proliferazione. Tutti i composti retinolo-colchicina elencati nella Tabella 1 hanno indotto almeno ad una delle concentrazioni molari (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M) testate una significativa riduzione della proliferazione cellulare. Inoltre i composti 1a, 3a, 4c, (-)-6b, (+)-6b, (-)-11b, (+)-11b, (-)-13b, (+)-13b (risultati evidenziati in giallo nella tabella) hanno indotto una significativa inibizione della proliferazione indotta da PDGF-BB in

modo dose-dipendente. Una minoranza dei composti testati ha determinato una riduzione significativa della proliferazione basale (confronto con Controllo).

Migrazione cellulare (TABELLA 3): Come previsto, la stimolazione con PDGF-BB ha indotto in tutti gli esperimenti un significativo aumento della migrazione cellulare rispetto al controllo (C). La co-incubazione con tre concentrazioni molari decrescenti di colchicina (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M) ha indotto a tutte le concentrazioni una significativa riduzione della migrazione. Tutti i composti retinolo-colchicina elencati nella Tabella 2 hanno indotto almeno ad una delle concentrazioni molari (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M) testate una significativa riduzione della migrazione cellulare. Inoltre i composti 6b, 11b, 13b, (-)-6b, (+)-6b, (-)-11b, (+)-11b, (-)-13b, (+)-13b (risultati evidenziati in giallo nella tabella) hanno indotto una significativa inibizione della migrazione indotta da PDGF-BB in modo dose-dipendente. Una minoranza dei composti testati ha determinato una riduzione significativa della proliferazione basale (confronto con Controllo).

TABELLA 2

Effetti sulla proliferazione cellulare

(* = $P < 0.05$ o livello di significatività

più alto vs. Controllo)

(** = $P < 0.05$ o livello di significatività più alto vs.

PDGF-BB)

Nome Composto		C	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	PDGF	10 ⁻⁶ +BB	10 ⁻⁷ +BB	10 ⁻⁸ +BB
Colchicina	Media	1901	494*	494*	1643	24868	6746**	8061**	17765**
	SD	445	54	75	487	3405	921	75	3900
1a	Media	547	502	424	643	42279	9102**	13287**	33849**
	SD	108	127	50	93	3561	3475	624	6426
1c	Media	462	338	452	473	14304	6313**	7986**	13048
	SD	33	47	55	229	1971	1058	1104	1765
2b	Media	1002	803	1154	1100	14521	6232*	15250	17451
	SD	52	131	74	40	40	114	185	196
3a	Media	473	272*	326	498	7788	616**	3260**	9499
	SD	13	80	172	151	791	226	654	737
3c	Media	76	95	94	94	2480	683**	2200	2827
	SD	6	32	8	14	181	77	1225	100
4c	Media	480	304*	284*	572	3251	649**	1468**	1816**
	SD	90	64	103	64	732	148	92	119
6a	Media	1018	817	1189	1004	3740	916**	4071	4326
	SD	60	189	128	252	1177	80	201	236
6b	Media	754	726	881	987	10484	1823**	7652**	11987
	SD	58	98	91	187	623	489	565	2156
8c	Media	581	367	457	524	1809	356**	1601	1589
	SD	619	392	635	417	1705	484	2146	2371
11b	Media	482	184*	351	460	1808	173**	1034**	1641
	SD	55	86	112	137	286	73	206	123
13b	Media	402	301*	298*	395	2604	501**	1625**	2620
	SD	21	16	52	32	40	151	300	280
(-)-6b	Media	340	157*	104*	330	981	134**	452**	517**
	SD	143	14	19	68	90	14	48	93
(+) -6b	Media	174	168	274	180	1599	1065**	1294	1167
	SD	28	11	91	82	245	17	169	81
(-)-11b	Media	726	148*	272*	338*	2332	266**	1218**	1733**
	SD	44	9	15	145	131	57	255	130
(+) -11b	Media	440	153*	201	268*	2737	634**	2138**	2068**
	SD	294	18	206	58	453	282	433	460
(-)-13b	Media	748	655	758	747	3630	846**	1366**	2792**
	SD	152	71	40	41	897	243	59	452
(+) -13b	Media	791	638	722	772	4098	1139**	3284**	3466*
	SD	125	84	22	117	525	271	259	268

TABELLA 3

Effetti sulla migrazione cellulare

(*= P<0.05 o livello di significatività più alto vs.

Controllo)

(**= P<0.05 o livello di significatività più alto vs.

PDGF-BB)

Nome Composto		C	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	PDGF	10 ⁻⁶ +BB	10 ⁻⁷ +BB	10 ⁻⁸ +BB
Colchicina	Media	28	15*	19	22	50	7**	29**	35**
	SD	4	6	9	8	3	3	2	5
2b	Media	7	9	6	17	17	16	16	16
	SD	2	2	3	1	5	3	2	2
6b	Media	31	10*	14*	13*	57	22**	28**	38**
	SD	4	5	6	3	8	2	3	4
11b	Media	30	2*	14*	26	62	4**	33**	39**
	SD	2	1	2	1	2	1	3	4
13b	Media	42	43	62	38	94	41**	68**	67**
	SD	5	5	6	4	2	1	3	1
(-)-6b	Media	7	8	6	7	17	0**	2**	4**
	SD	1	1	0	1	2	0	1	1
(+) -6b	Media	7	6	5	9	17	5**	4**	3**
	SD	1	0	1	3	2	2	2	1
(-)-11b	Media	30	5*	15*	29	98	14**	68**	64**
	SD	5	1	2	6	8	2	3	8
(+) -11b	Media	16	19	16	19	43	19**	25**	28**
	SD	5	4	5	3	6	5	5	6
(-)-13b	Media	3	4	7	4	32	2**	20**	31**
	SD	1	1	2	1	3	3	2	5
(+) -13b	Media	1	1	1	1	6	2**	3**	2**
	SD	1	1	1	1	1	0	1	1

Riferimenti Bibliografici

1. (a) Lebeau, L.; Ducray, P.; Mioskowski, C.

Synthetic Comm. 1997, 27, 293-296. (b) Danieli,

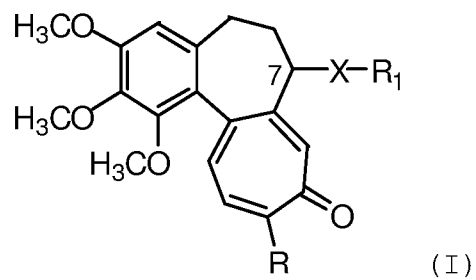
B.; Lesma, G.; Passarella, D.; Prosperi, D.;

Silvani, A. *Helv. Chim Acta* 1999, 82, 1502-1508.

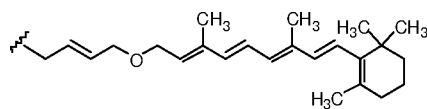
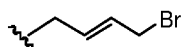
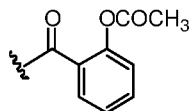
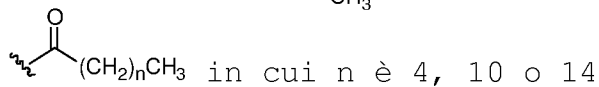
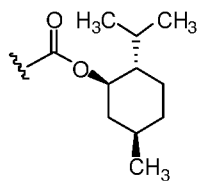
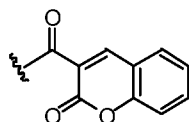
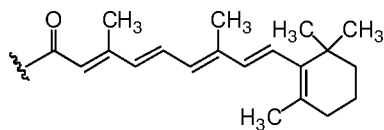
- (c) Shi, Q.; Verdier-Pinard, P.; Brossi, A.; Hamel, E.; McPhail, A. T.; Lee, K.-H. *J. Med. Chem.* 1997, 40, 961-966. (d) Shi, Q.; Verdier-Pinard, P.; Brossi, A.; Hamel, E.; Lee, K.-H. *Biorg. Med. Chem.* 1997, 5, 2277-2282. (e) Velluz, L.; Muller G. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1954, 194-200
2. Brossi, A.; Sharma, P. N.; Atwell, L.; Jacobson, A. E.; Iorio, M. A.; Molinari, M.; Chignell, C-F. *J. Med. Chem.* 1983, 26, 1365-1369.
3. (a) Bombardelli. E.; PCT Int Appl 1997, WO9747577. (b) Al-Tel, T. H.; Abu Zarga, M. H., Sabri, S. S.; Freyer, A. J.; Shamma, M. *Journal of Natural Product*, 1990, 53, 623-629.

RIVENDICAZIONI

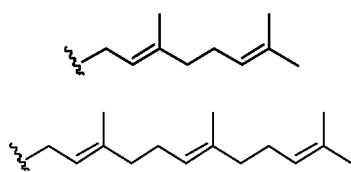
1. Composti derivati della colchicina aventi formula generale (I):



di configurazione $(aR, 7S)$, $(aS, 7R)$; $(aR, 7S)$ o $(aS, 7R)$,
il gruppo R è scelto tra OCH_3 , SCH_3 o SCH_2Ph , X è scelto
tra NH o O, R_1 è scelto tra

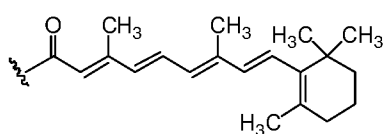


$-(CH_2)_nCH_3$ in cui n è 8, 11 o 15



e R_1 è H quando X è NH e R è SCH_2Ph , oppure quando X è O e R è SCH_3 o SCH_2Ph ;

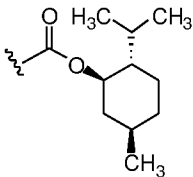
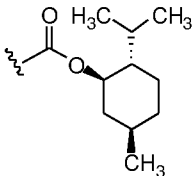
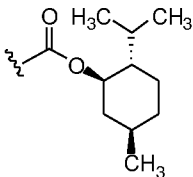
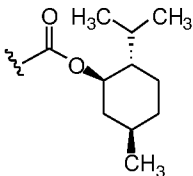
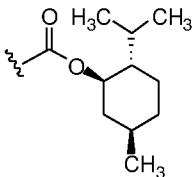
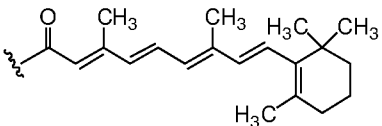
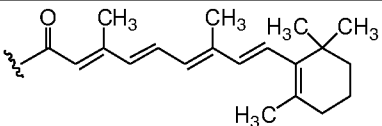
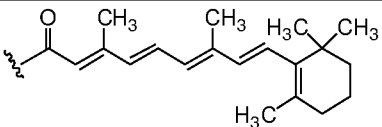
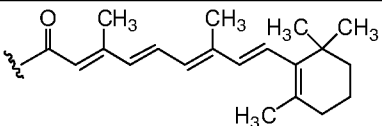
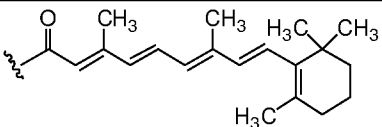
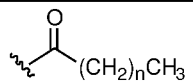
a condizione che quando R_1 è

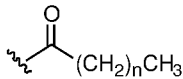
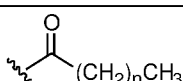
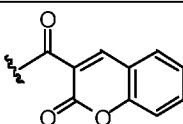
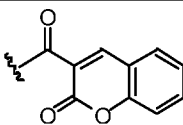
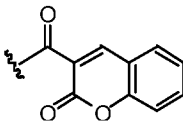
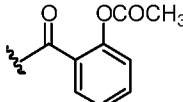
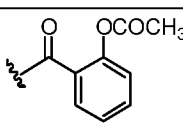
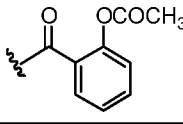
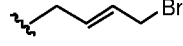
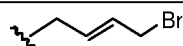
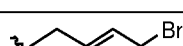
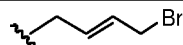
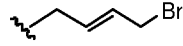
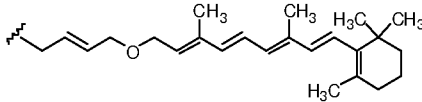
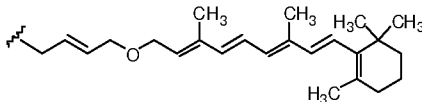
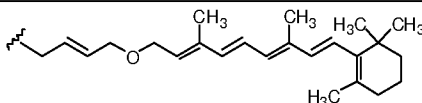


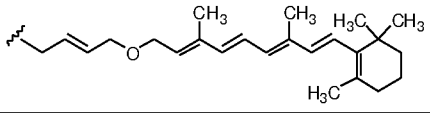
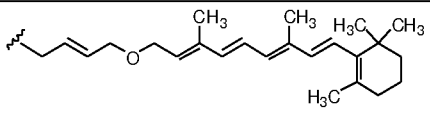
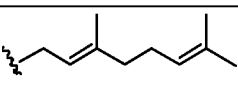
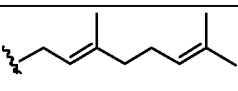
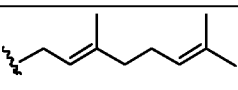
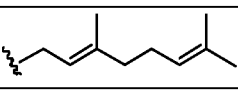
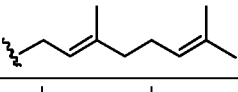
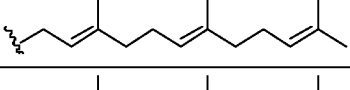
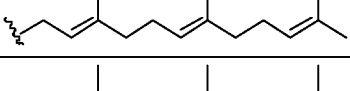
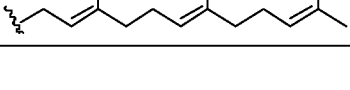
e X è NH allora R è diverso da OCH_3 .

2. Composti secondo la rivendicazione 1 scelti tra i composti aventi le seguenti formule:

Prodotto	R	X	R_1	Configurazione
1c	SCH_2Ph	NH	H	(aR, 7S)
2b	SMe	NH		(aR, 7S)
2c	SCH_2Ph	NH		(aR, 7S)
3a	OMe	NH		(aR, 7S)
3b	SMe	NH		(aR, 7S)
3c	SCH_2Ph	NH		(aR, 7S)
4c	SCH_2Ph	O	H	(aR, 7S), (aS, 7R)

(-) -4b	SMe	O	H	<i>(aR, 7S)</i>
(+) -4b	SMe	O	H	<i>(aS, 7R)</i>
5a	OMe	O		<i>(aR, 7S), (aS, 7R)</i>
5b	SMe	O		<i>(aR, 7S), (aS, 7R)</i>
5c	SCH₂Ph	O		<i>(aR, 7S), (aS, 7R)</i>
(-) -5b	SMe	O		<i>(aR, 7S)</i>
(+) -5b	SMe	O		<i>(aS, 7R)</i>
6a	OMe	O		<i>(aR, 7S), (aS, 7R)</i>
6b	SMe	O		<i>(aR, 7S), (aS, 7R)</i>
6c	SCH₂Ph	O		<i>(aR, 7S), (aS, 7R)</i>
(-) -6b	SMe	O		<i>(aR, 7S)</i>
(+) -6b	SMe	O		<i>(aS, 7R)</i>
7a	OMe	O	 n = 4, 10, 14	<i>(aR, 7S), (aS, 7R)</i>

7b	SMe	O	 $n = 4, 10, 14$	(aR, 7S), (aS, 7R)
7c	SCH ₂ Ph	O	 $n = 4, 10, 14$	(aR, 7S), (aS, 7R)
8a	OMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
8b	SMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
8c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
9a	OMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
9b	SMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
9c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
10a	OMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
10b	SMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
10c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
(-)-10b	SMe	O		(aR, 7S)
(+)-10b	SMe	O		(aS, 7R)
11a	OMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
11b	SMe	O		(aR, 7S), (aS, 7R)
11c	SCH ₂ Ph	O		(aR, 7S), (aS, 7R)

(-)-11b	SMe	O		(aR, 7S)
(+)-11b	SMe	O		(aS, 7R)
12a	OMe	O	$-(CH_2)_nCH_3$ n = 8, 11, 15	(aR, 7S) , (aS, 7R)
12b	SMe	O	$-(CH_2)_nCH_3$ n = 8, 11, 15	(aR, 7S) , (aS, 7R)
12c	SCH₂Ph	O	$-(CH_2)_nCH_3$ n = 8, 11, 15	(aR, 7S) , (aS, 7R)
13a	OMe	O		(aR, 7S) , (aS, 7R)
13b	SMe	O		(aR, 7S) , (aS, 7R)
13c	SCH₂Ph	O		(aR, 7S) , (aS, 7R)
(-)-13b	SMe	O		(aR, 7S)
(+)-13b	SMe	O		(aS, 7R)
14a	OMe	O		(aR, 7S) , (aS, 7R)
14b	SMe	O		(aR, 7S) , (aS, 7R)
14c	SCH₂Ph	O		(aR, 7S) , (aS, 7R)

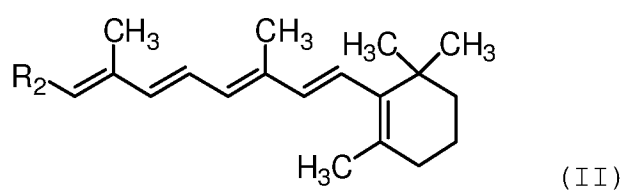
3. Composti come definiti in ognuna delle rivendicazioni 1-3, per l'uso in campo medico.

4. Composizione farmaceutica comprendente uno o più composti come definiti in ognuna delle rivendicazioni precedenti come principio attivo assieme ad uno o più eccipienti o adiuvanti farmaceuticamente accettabili.

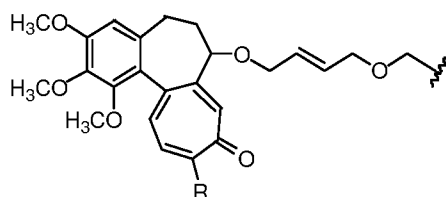
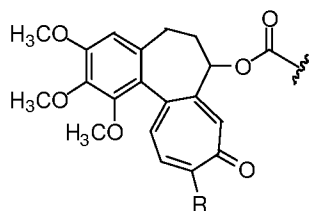
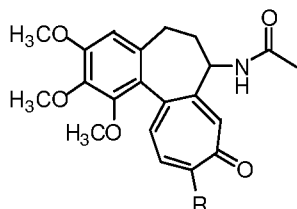
5. Uso dei composti e della composizione come definiti in ognuna delle rivendicazioni precedenti per la

preparazione di un medicamento da impiegare nella terapia antifibrotica delle malattie epatiche croniche.

6. Composti derivati del retinolo aventi la seguente formula generale (II):

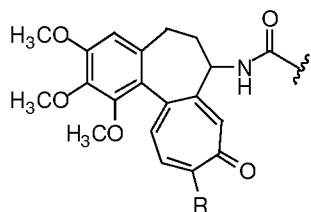


in cui R_2 è scelto tra



di configurazione $(aR, 7S)$, $(aS, 7R)$; $(aR, 7S)$ o $(aS, 7R)$,

dove il gruppo R è scelto tra OCH_3 , SCH_3 o SCH_2Ph ,
a condizione che quando R_2 è



di configurazione $(aR, 7S)$, allora R è

diverso da OCH_3 .

7. Uso dei composti come definiti nella rivendicazione 6 per la preparazione di un medicamento per la terapia antifibrotica in cui il retinolo funge da carrier.

8. Composizione farmaceutica comprendente uno o più composti come definiti nella rivendicazione 6 come principio attivo assieme ad uno o più eccipienti o adiuvanti farmaceuticamente accettabili.

9. Uso dei composti e della composizione come definiti nelle rivendicazioni 6 e 8 per la preparazione di un medicamento per la prevenzione e la cura delle malattie epatiche.

10. Uso secondo la rivendicazione 9 in cui la malattia epatica è la fibrosi epatica.

11. Uso del retinolo come veicolo di farmaci antifibrotici.

Roma, 19 Febbraio 2007

p.p. : Francesco FRINGUELLI 16%, Oriana PIERMATTI
16%, Massimo PINZANI 26%, Ferdinando PIZZO 16%,
Angelo VEDOVELLI 26%

BARZANÒ & ZANARDO ROMA S.p.A.

SG