

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2002-3083**
 (22) Přihlášeno: **12.03.2001**
 (30) Právo přednosti: **17.03.2000 IT MI00A000554**
 (40) Zveřejněno: **11.12.2002**
(Věstník č. 12/2002)
 (47) Uděleno: **18.07.2012**
 (24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **29.08.2012**
(Věstník č. 35/2012)
 (86) PCT číslo: **PCT/EP2001/002739**
 (87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2001/068597**

(11) Číslo dokumentu:

303 386

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:
C07C 323/41 (2006.01)
C07C 323/44 (2006.01)
A61K 31/165 (2006.01)
A61K 31/17 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

WO 97/01570; US 4 533 675; WO 97/47577.

M.L. GELMI, ET AL 1999 JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, 42, 5272-5276, XP002170300.

(73) Majitel patentu:

INDENA S. P. A., Milano, IT

(72) Původce:

Bombardelli Ezio, Milano, IT

Pontiroli Alessandro, Milano, IT

(74) Zástupce:

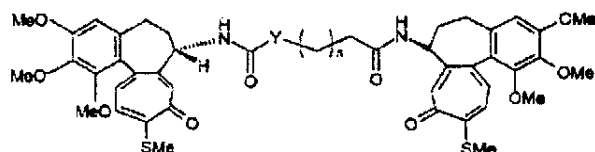
JUDr. Zdeňka Korejzová, Spálená 29, Praha 1, 11000

(54) Název vynálezu:

N-deacetylthiokolchicinové deriváty

(57) Anotace:

N-deacetylthiokolchicinové deriváty obecného vzorce I, kde n znamená celé číslo 0 až 8, Y znamená skupinu CH₂ a v případě, že n = 1 může také znamenat skupinu NH, jsou látky s antiproliferativním účinkem, které je možné použít ve formě farmaceutického prostředku, který rovněž tvoří součást řešení, k léčení nádorových onemocnění nebo revmatoidní artritidy. Součástí řešení tvoří také použití derivátů vzorce I pro výrobu uvedených farmaceutických prostředků.



(I)

CZ 303386 B6

N-deacetylthiokolchicinové deriváty

Oblast techniky

Vynález se týká N-deacetylthiokolchicinových derivátů s protinádorovým účinkem. Součástí řešení tvoří rovněž farmaceutický prostředek s obsahem těchto látek a použití uvedených látek pro výrobu farmaceutického prostředku s antiproliferativním účinkem.

Dosavadní stav techniky

Kolchiciny a thiokolchiciny jsou známé protinádorové látky, které jsou schopné destabilizovat mikrotubuly interakcí s tubulinem.

Kolchicin se v současné době používá při léčení zánětlivých stavů střeva a příbuzných zánětlivých stavů, avšak jeho použití je omezeno na akutní fáze vzhledem k jeho vysoké toxicitě pro zažívací soustavu.

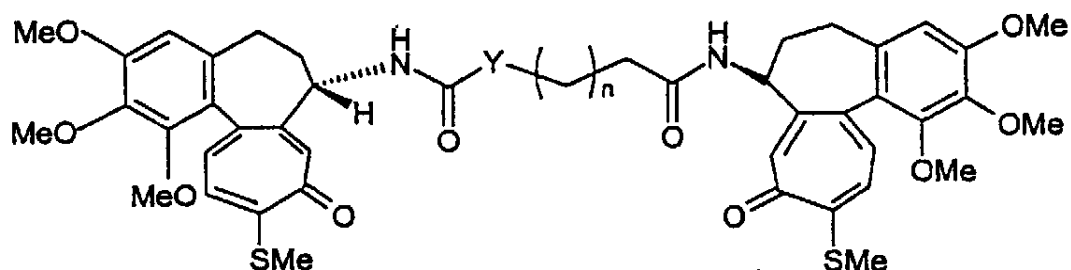
Byla studována řada kolchicinových a thiokolchicinových derivátů s ohledem na jejich možné použití jako protinádorových látek, avšak snahy výzkumných pracovníků byly až dosud neúspěšné vzhledem k velmi omezenému terapeutickému indexu zkoumaných látek.

Pouze jeden z kolchicinových derivátů, demecolcin byl až dosud používán klinicky při léčení leukémií, avšak s malým úspěchem.

Nyní bylo zjištěno, že existuje skupina příbuzných látek s antiproliferativním účinkem, zejména na buňky, které mají fenotyp s odolností proti celé řadě protinádorových látek, přičemž poměr účinnosti na citlivé buňky a účinnosti na odolné buňky je přibližně 1:1.

Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří N-deacetylthiokolchicinové deriváty obecného vzorce I



(I),

kde

n znamená celé číslo 0 až 8,

Y znamená skupina CH_2 a v případě, že $n = 1$, může také znamenat skupinu NH a Me je methyl.

Sloučeniny podle vynálezu mají vysokou antimitotickou účinnost a současně mají příznivý terapeutický index, takže je možno je použít pro léčení různých forem nádorů a také pro léčení dege-

nerativní revmatoidní artritidy, které je charakterizována přílišnou proliferací a abnormální migrací leukocytů.

5 Sloučeniny obecného vzorce I mají cytotoxicitu, srovnatelnou s cytotoxicitou nejúčinnějších protinádorových látek, mají však daleko širší spektrum účinku, zvláště proti typům buněk, které jsou odolné proti účinku známých látek.

10 Sloučeniny obecného vzorce I, v němž Y znamená skupinu CH_2 , je možno připravit tak, že se nechá reagovat N-deacetylthiokolchicin s reaktivními deriváty dikarboxylových kyselin v bezvodých rozpouštědlech. Jako příklady vhodných reaktivních derivátů dikarboxylových kyselin je možno uvést chloridy, reaktivní anhydridy nebo estery, zvláště N-hydroxysukcinyldiestery, které je možno získat reakcí uvedených kyselin s N-hydroxysukcinimidem. Reakce se s výhodou provádí v rozpouštědle, například ethyletheru, dioxanu nebo tetrahydrofuranu v přítomnosti bází, například triethylaminu.

15 Na druhé straně je možno sloučeniny obecného vzorce I, v němž Y znamená skupinu NH a $n=1$ připravit tak, že se nechá reagovat N-deacetylthiokolchicin s N-hydroxysukcinimidem v přítomnosti aminů a kondenzačních činidel, jako dicyklohexylkarbodiimidu DCC ve vhodném aprotickém rozpouštědle, s výhodou v chlorovaném uhlovodíku jako methylenchloridu nebo chloroformu. Uvedené látky je také možno získat jako vedlejší produkty při reakci mezi N-hydroxysukcinyldiestery dikarboxylových kyselin a N-deacetylthiokolchicinem.

20 Účinnost uvedených látek byla vyhodnocena na řadě nádorových buněk, které jsou odolné proti řadě účinných látek, což se označuje jako fenotyp MDR. Sloučeniny podle vynálezu jsou zvláště účinné na různé buněčné linie tlustého střeva typu MDR.

V následující tabulce je jako příklad uvedena účinnost dvou sloučenin podle vynálezu, jejich účinnost je srovnávána s biologickou účinností thiokolchicinu a taxolu jako diferenční sloučeninou.

30

Tabulka

Sloučeniny	IC ₅₀ nM		
	MCF7	MCF7-ADRr	MCF7-ADRr/MCF7
Tiocol 39 (př. 1)	12	43	3,58
Tiocol 43 (př. 4)	21	36	1,71
Tiocol 54 (př. 2)	2,6	2,8	1,07
Thiokolchicin	0,02	400	20000

35

Cytotoxická účinnost byla vyhodnocena podle publikace M. C. Alley a další, Cancer Research 48, 589 až 601, 1998.

40 Svrchu uváděná vysoká cytotoxická účinnost sloučenin podle vynálezu se týká jak běžně citlivých buněčných linií, tak buněčných linií, které jsou odolné proti různým protinádorovým látkám.

45 Z uvedených důvodů je možno sloučeniny podle vynálezu použít k léčení stavů, při nichž dochází k patologické proliferaci, zejména k léčení nádorů různého původu, revmatoidní artritidy nebo jiných degenerativních patologických stavů, u nichž je indikováno podávání antiproliferativních látek.

K tomuto účelu budou sloučeniny obecného vzorce I podávány ve formě farmaceutických prostředků, vhodných pro perorální, parenterální, nitrokožní nebo transdermální podání. Dávky sloučenin obecného vzorce I se budou pohybovat v rozmezí 1 až 100 mg/m² tělesného povrchu v závislosti na způsobu podání. Sloučeniny se budou s výhodou podávat perorálně.

Jako příklady vhodných farmaceutických prostředků je možno uvést kapsle, tablety, krémy, roztoky nebo granuláty.

Praktické provedení vynálezu bude osvětleno následujícími příklady, které však nemají sloužit k omezení rozsahu vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Příprava sloučeniny vzorce I, v němž Y znamená CH₂ a n=2 (Tiocol 39)

100 mg, 0,27 mmol N-deacetylthiokolchicinu s molekulovou hmotností 373 g/mol se rozpustí v 6 ml bezvodého dioxanu při teplotě místnosti pod dusíkem. Pak se přidá 46 mg, 0,135 mmol kyseliny adipové, aktivované ve formě N-hydroxysukcinyldiesteru a 40 µl, 0,27 mmol bezvodého triethylaminu s molekulovou hmotností 101 g/mol a hustotou 0,726 g/ml. Směs se míchá 48 hodin pod dusíkem při teplotě místnosti a analyzuje se pomocí TLC při použití směsi chloroformu a methanolu 95:5. Rozpouštědlo se odpaří a produkt se izoluje rychlou chromatografií na oxidu křemičitém při použití směsi chloroformu a methanolu 75:1. Výtěžek je 85 %.

Příklad 2

Příprava sloučeniny vzorce I, v němž Y znamená NH a n=1, (Tiocol 54)

K roztoku 1 g deacetylthiokolchicinu ve 40 ml bezvodého methylenchloridu se přidá 154 mg N-hydroxysukcinimidu, 276 mg DCC a 476 µl diisopropylethylaminu. Směs se vaří alespoň 2 dny v dusíkové atmosféře pod zpětným chladičem. Průběh reakce se sleduje pomocí TLC při použití směsi methylenchloridu a ethanolu 95:5. Pak se směs odpaří na malý objem, který se rozpustí v ethylacetátu. Produkt se nechá krystalizovat a pak se dále čistí rychlou chromatografií při použití směsi ethylacetátu a hexanu 7:3 nebo methylenchloridu a ethanolu 95:5. Tímto způsobem se získá 500 mg produktu.

¹H NMR (DMSO-d₆-300 MHz): 8,80 d, 7,82 br s, 7,75 – 7,60 s, 7,37, 7,18, 6,59, 4,90 m, 4,66 m, 4,52 dd, 3,96 s ppm. ¹³C-NMR (CDCl₃), 182,5, 181,9, 172,2, 158,0, 175,5, 157,1, 153,8, 153,7, 153, 152,3, 151,3, 151,2, 141,6, 141,5, 139,4, 139,3, 135,5, 135,5, d, 134,8, 134,7, 129,0, 128,4 (d). MS (m/e) 866,4 [(M+Na)+].

Příklad 3

Příprava sloučeniny vzorce I, v němž Y znamená CH₂ a n=6 (Tiocol 33)

200 mg, 0,54 mmol N-deacetylthiokolchicinu s molekulovou hmotností 373 g/mol se rozpustí ve 12 ml bezvodého dioxanu pod dusíkem při teplotě místnosti. Přidá se 91,8 mg, 0,27 mmol kyseliny sebakové, aktivované formou N-hydroxysukcinyldiesteru s molekulovou hmotností 396 g/mol a 75 µl, 0,54 mmol bezvodého triethylaminu s molekulovou hmotností 101 g/mol a hustotu

- 0,726 g/ml. Směs se míchá 48 hodin pod dusíkem při teplotě místnosti a průběh se sleduje pomocí TLC s použitím chloroformu a methanolu 95:5, po 20 hodinách se směs zahřeje na 50 °C a rozpouštědlo se odpaří. Surový reakční produkt se čistí rychlou chromatografií na oxidu křemičitém, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu 40:1, čímž se získá 30 mg směsi výsledné látky s $R_f=0,3$ a sloučeniny z příkladu 2.

Příklad 4

- 10 Příprava sloučeniny vzorce I, v němž Y znamená CH_2 a $n=0$ (Tiocol 43)

Postup A

- 15 190 mg, 0,512 mmol N-deacetylthiokolchicinu s molekulovou hmotností 373 g/mol se rozpustí v 6 ml bezvodého dioxanu pod dusíkem při teplotě místnosti. Přidá se 80 mg, 0,256 mmol kyseliny jantarové, aktivované ve formě N-hydroxysuccinyl diesteru s molekulovou hmotností 312 g/mol a 70 μl , 0,512 mmol bezvodého triethylaminu s molekulovou hmotností 101 g/mol a hustotou 0,726 g/ml. Směs se míchá 48 hodin při teplotě místnosti pod dusíkem a průběh reakce se sleduje pomocí TLC při použití směsi chloroformu a methanolu 95:5. Rozpouštědlo se odpaří, 20 odparek se smísí s ethylacetátem k odstranění zbývajících N-deacetylthiokolchicinu a triethylaminu (produkt je v tomto rozpouštědle nerozpustný). Výtěžek je 45 %.

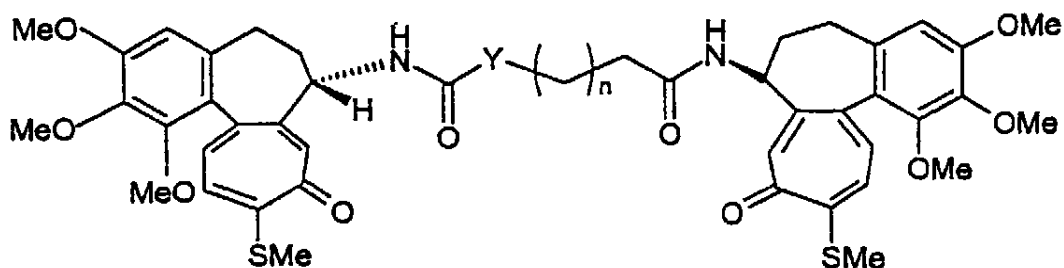
Postup B

- 25 100 mg, 0,21 mmol N-deacetyl-N-succinylthiokolchicinu s molekulovou hmotností 473 g/mol se rozpustí v 8 ml bezvodého methylenchloridu pod dusíkem při teplotě místnosti. Přidá se 93 mg, 0,21 mmol BOP (benzotriazol-1-yl-oxy-tris(dimethylamino)fosfonium hexafluorofosfát) s molekulovou hmotností 442,3 g/mol a 60 μl , 0,42 mmol bezvodého triethylaminu s molekulovou hmotností 101 g/mol a hustotou 0,726 g/ml. Po 10 minutách se ke směsi přidá ještě 80 mg, 30 0,42 mmol N-deacetylthiokolchicinu s hustotou 0,726 g/ml a směs se míchá 48 hodin při teplotě místnosti pod dusíkem, průběh reakce se sleduje pomocí TLC při použití chloroformu a methanolu 95:5. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se smísí s ethylacetátem k odstranění zbývajících N-deacetylthiokolchicinu a triethylaminu (produkt je v tomto rozpouštědle nerozpustný). Výtěžek je 45 %.

35

PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. N-deacetylthiokolchicinové deriváty obecného vzorce I



(I),

kde

10

n znamená celé číslo 0 až 8,

Y znamená skupinu CH_2 a v případě, že $n = 1$, může také znamenat skupinu NH a Me je methyl.

15

2. Deriváty podle nároku 1, obecného vzorce I, v němž Y znamená CH_2 .

3. Deriváty podle nároku 1, obecného vzorce I, v němž Y znamená NH.

20

4. Farmaceutický prostředek, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že jako účinnou složku obsahuje deriváty podle nároků 1 až 3.

5. Použití derivátů podle nároků 1 až 3 pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení nádorů a revmatoidní artritidy.

25

Konec dokumentu

30