



CONFEDERAZIONE SVIZZERA

UFFICIO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

⑪ CH 648 311 A5

⑤① Int. Cl.⁴: C 07 D 461/00
A 61 K 31/475

Brevetto d'invenzione rilasciato per la Svizzera ed il Liechtenstein
Trattato sui brevetti, del 22 dicembre 1978, fra la Svizzera ed il Liechtenstein

// (A 61 K 31/475, 31:365)
(C 07 D 461/00, 307:88)

⑫ FASCICOLO DEL BREVETTO A5

⑫① Numero della domanda: 3718/82

⑫② Data di deposito: 16.06.1982

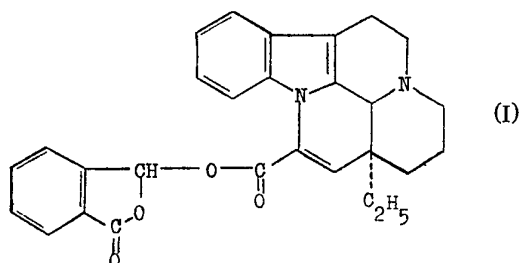
⑫③ Priorità: 21.07.1981 IT 23039/81

⑫④ Brevetto rilasciato il: 15.03.1985

⑫⑤ Fascicolo del
brevetto pubblicato il: 15.03.1985⑦③ Titolare/Titolari:
Ausonia Farmaceutici S.r.l., Pomezia/Roma (IT)⑦② Inventore/Inventori:
De Vincentiis, Leonardo, Roma (IT)⑦④ Mandatario:
Dipl.-Ing. W. Steudtner, Hegnau, Volketswil

⑤④ Composto ad attività eumetabolica cerebrale.

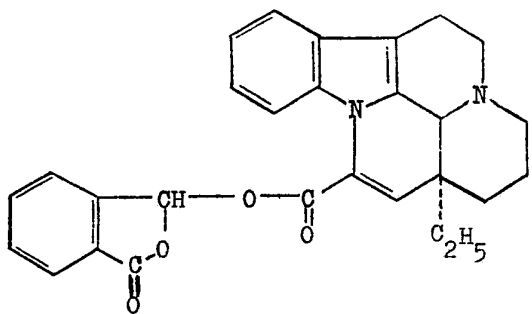
⑤⑦ Si descrive il 13a-etil-2,3,5,6,13a,13b-esaidro-1H-indolo-[3,2,1-de]pirido[3,2,1-ij][1,5]naftiridin-12-carbossilato di ftalidile, di formula I



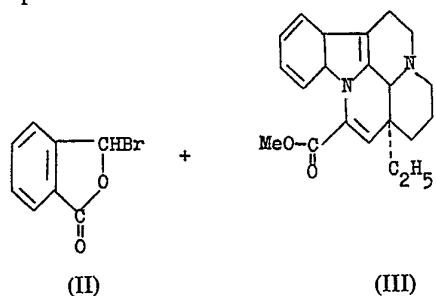
e un procedimento per la sua preparazione. Il composto I si presta alla prevenzione e alla terapia di affezioni cerebrovascolari e di sindromi organiche e funzionali da alterata circolazione cerebrale.

RIVENDICAZIONI

1. Come composto, il 13a-etil-2,3,5,6,13a,13b-esaidro-1H-indolo[3,2,1-de]pirido[3,2,1-ij][1,5]naftiridin-12-carbossilato di ftalidile, di formula I



2. Procedimento per la preparazione del composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che si fa reagire la bromoftalide II con un sale metallico dell'acido apovincaminico III secondo lo schema:



dove Me rappresenta un metallo alcalino, o l'equivalente d'un metallo alcalino-terroso.

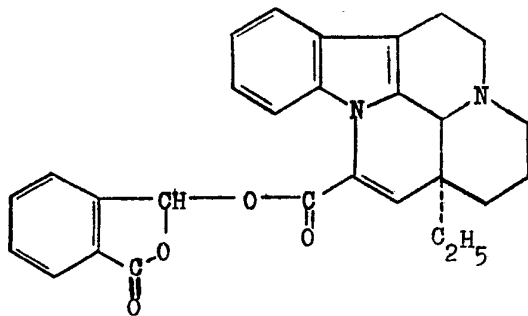
3. Procedimento secondo la rivendicazione 2, caratterizzato dal fatto che si impiega il sale potassico dell'acido apovincaminico.

4. Procedimento secondo le rivendicazioni 2-3, caratterizzato dal fatto che si opera in solventi aprotici polari.

5. Procedimento secondo la rivendicazione 4, caratterizzato dal fatto che si opera in dimetilformamide.

6. Composizioni farmaceutiche ad attività eumetabolica cerebrale, caratterizzate dal fatto che in qualità di principio attivo contengono il composto di cui alla rivendicazione 1.

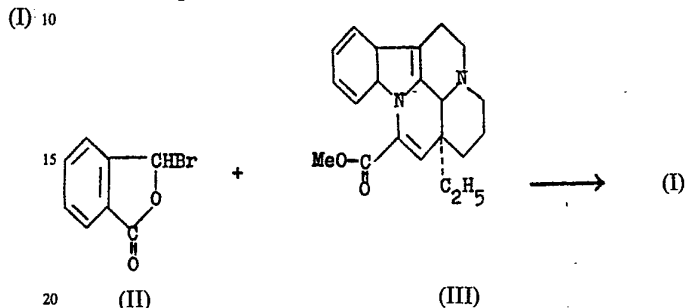
Oggetto dell'invenzione è un derivato della vincamina, e precisamente il 13a-etil-2,3,5,6,13a,13b-esaidro-1H-indolo[3,2,1-de]pirido[3,2,1-ij][1,5]naftiridin-12-carbossilato di ftalidile, di formula I



Il composto I (che può anche essere definito apovincaminato di ftalidile, e che verrà indicato per brevità anche con la sigla AP 698) è apparso dotato di interessanti proprietà eumetaboliche cerebrali, favorite anche dalla bassa tossicità e da una favorevole farmacocinetica. Pertanto, l'in-

venzione riguarda anche composizioni farmaceutiche atte alla terapia di affezioni cerebrovascolari e di sindromi organiche e funzionali da alterata circolazione cerebrale, contenenti in qualità di principio attivo il composto di formula I.

Infine, costituisce oggetto dell'invenzione un procedimento per la preparazione di AP 698, caratterizzato dal fatto che si fa reagire la bromoftalide II con un sale metallico dell'acido apovincaminico III, secondo lo schema:



dove Me rappresenta un metallo alcalino, o l'equivalente d'un metallo alcalino-terroso.

Nella forma di realizzazione preferita del procedimento secondo l'invenzione, Me rappresenta potassio. La reazione viene opportunamente condotta in solventi polari aprotici, quali dimetilsolfossido, acetonitrile, dimetilformamide, esametilsforotriammide, a temperature comprese fra 0°C e 60°C, di preferenza a temperatura ambiente.

L'esempio che segue illustra il procedimento in oggetto, senza tuttavia limitare la portata dell'invenzione.

Esempio

Grammi 5 (0,0138 moli) di sale potassico dell'acido apovincaminico sono sciolti in N,N-dimetilformammide (ml 40); vi si aggiungono g 3,09 (0,0138 moli) di bromoftalide e una punta di spatola di ioduro di potassio come catalizzatore.

Si lascia reagire a temperatura ambiente. Si controlla la reazione con T.L.C. (eluente acetato/benzene 70:30).

Al termine (circa 1 ora) si evapora il solvente, si lava il residuo con H₂O e si estrae con acetato di etile. Si secca la fase organica, si evapora il solvente, si cristallizza il residuo da etanolo, filtrando con carbone a caldo, su celite. Si ottengono 3,35 g (55%) di un prodotto cristallino a p.f. 190°C, i cui dati analitici corrispondono a quelli calcolati per un composto di formula I.

Analisi: per C₂₈H₂₆N₂O₄ (PM 454,3)

Calc.	%	C	74,00	H	5,72	N	6,16
Trov.	%	C	73,83	H	5,84	N	6,02

Anche i dati spettrali confermano la struttura del composto ottenuto.

Spettro I.R. in nujol mull; i valori di assorbimento delle bande di stretching sono date in numero d'onda (cm⁻¹)

stretching	C = O del lattone	1775 forte
»	C = O dell'estere	1748 forte
»	C = C dell'alchene	1630 media
»	C = C degli aromatici	1600 media
»	C - O due bande	970 forte 960 forte

Spettro N.M.R. in CDCl₃ con riferimento interno TMS.

I valori di chemical shift sono dati in δ.

0,9 (t, 3H, -CH₂-CH₃); 1,8 (q, 2H, -CH₂-CH₃); 4,1 (s, 1H, in C_{13b}); 6,25 (s, 1H = CH-); 7-8 (m, 8H aromatici, 1H O-CH-O).

Le caratteristiche farmaco-tossicologiche di AP 698 si possono così riassumere.

1. Tossicità

La tossicità per somministrazioni singole di AP 698 è stata studiata nel ratto trattando gli animali, per via orale ed intraperitoneale, con vari livelli di dose di AP 698.

I valori di DL_{50} , determinati con il metodo di Litchfield e Wilcoxon (J. Pharmacol. Exp. Therap., 1949, 96, 99) sono riportati nella tabella I.

TABELLA I

Tossicità acuta di AP 698 nel ratto

Prodotto	Via di somm.	DL_{50} mg/kg (lim. fid. 95%)
AP 698	os i.p.	>3000 684 (638-720)

2. Proprietà farmacologiche

2.1. Effetto sulle alterazioni dell'elettrogenesi per ischemia cerebrale nel coniglio

L'attività del prodotto AP 698 è stata studiata in animali nei quali il fenomeno ischemico veniva provocato con occlusione, per 3 minuti e 30 secondi, del tronco brachio-cefalico destro e dell'arteria succlavia sinistra.

Gli effetti dell'ischemia a livello cerebrale venivano quindi evidenziati mediante ECoG, con derivazione fronto-occipitale, per mezzo di elettrodi permanenti precedentemente impiantati nelle opportune aree corticali dei conigli ed adottando il «FAT system» descritto da Borzeix et al. (10th Salzburg Conference, 1980). Dall'insieme dei parametri presi in esame è emerso che il prodotto AP 698, somministrato per via endovenosa al termine della manovra ischemica, possiede un effetto terapeutico dose-dipendente, già evidente con gli 0,5 mg/kg (tabella II). Negli animali trattati infatti si è osservato un recupero dell'ECoG e della reattività corticale alla stimolazione più rapido che non nei controlli ed un ritorno in tempi più brevi ad un tracciato comparabile a quello registrato nello stesso animale prima della manovra ischemica.

Anche l'analisi quantitativa dei tracciati ha permesso di constatare che AP 698 è in grado di sopprimere o attenuare un certo numero di modificazioni ECoG conseguenti all'ischemia sperimentale ed osservate nel corso della fase post-ischemica.

In particolare, a differenza di quanto si verifica nei controlli, nei trattati con AP 698 si osserva che:

- la frequenza del ritmo theta non viene accelerata, l'ampiezza non viene ridotta tra i 10 ed i 20 minuti ed i relativi tempi di rappresentazione non sono dispersi.
- Il ritmo beta risulta meno ridotto rispetto a quello dei controlli.
- I valori dei rapporti

theta + beta

delta + alfa

tra il 14° ed il 25° minuto, diminuiscono in misura inferiore a quella dei controlli.

TABELLA II

Effetto di AP 698 sull'evoluzione post-ischemica dell'attività elettrica cerebrale nel coniglio sveglio.

Prodotto	Dose mg/kg i.v.	Tempo necessario per ricomparsa di:						
		E C° G Corteccia ant.	Corteccia post.	Ampiezza normale	Risposta evocata	Inizio Reattiv.	Reatt. normale	Tracciato normale
Controlli	—	1'25"	1'14"	25'51"	25'19"	8'48"	>60'	>60'
AP 698	0,25	1'	40"	19'20"	21'20"	18'27"	19'	>60'
	0,50	39"	29"	18'53"	13'	4'	25'	23'30"
	1,00	1'8"	46"	10'13"	16'30"	6'34"	12'53"	13'25"

2.2. Modificazioni della mortalità provocata da ipossia ipobarica

Le esperienze sono state condotte su topi rinchiusi dentro gabbie nelle quali la pressione veniva progressivamente ridotta fino ad un livello (190 mmHg) che provocava la morte degli animali.

Dopo aver determinato il tempo di sopravvivenza dei controlli, sono stati studiati gli effetti di vari livelli di dose di AP 698.

Nella tabella III sono schematizzati i risultati ottenuti; da essi emerge chiaramente come il prodotto in esame sia in grado di prolungare in modo altamente significativo il tempo di sopravvivenza, con un chiaro effetto protettivo sulla ipossia ipobarica indotta nel topo.

TABELLA III

Effetto protettivo di AP 698 sulla mortalità da ipossia ipobarica nel topo.

Dose (mg/kg i.v.)	n. animali	Tempo di sopravvivenza (valori medi in sec. $\pm$ e.s.)	Variazione %	Grado di significatività (*)
—	12	72,5 $\pm$ 3,5	—	—
16	12	67,5 $\pm$ 2,5	— 6,9	N.S.
25,6	12	116,3 $\pm$ 13,5	+ 60,4	0,01
41,0	12	157,9 $\pm$ 33,2	+117,8	0,01

(*) Secondo il testo di Mann-Whitney (ad 1 coda)

2.3. Effetto sulla muscolatura liscia

Impiegando quale modello sperimentale l'ileo isolato di coniglio, AP 698 ha dimostrato di possedere una notevole attività miorilassante, decisamente superiore a quella evidenziata, nelle stesse condizioni sperimentali, per la vincamina.

Questa superiore attività, sul tono e sull'ampiezza delle contrazioni, è stata riscontrata sia sulla muscolatura in condizioni basali, sia sulla muscolatura resa ipertonica con sodio o con serotonina.

3. Farmacocinetica

È stata studiata tanto la farmacocinetica dell'idrolisi enzimatica «in vitro» quanto quella «in vivo» nel ratto dopo somministrazione orale di AP 698, marcato con tritio.

Dai riscontri effettuati, sono stati evidenziati i seguenti aspetti cinetici peculiari, rispetto a quelli già noti della Vincamina:

a) l'idrolisi enzimatica «in vitro» determinata incubando AP 698 con plasma di ratto e misurando mediante gascromatografia l'acido apovincaminico formatosi ha fatto registrare una emivita di 7,3 min.

b) Le prove «in vivo» nel ratto hanno consentito di ritrovare nel plasma sia AP 698 inalterato, sia acido apovincaminico: l'emivita di AP 698 inalterato è risultata di 72 minuti, mentre quella dell'acido apovincaminico che si forma «in vivo» da AP 698 è risultata di 7,5 ore.

Pertanto la presenza di persistenti livelli di acido apovincaminico conseguenti a somministrazione di AP 698 possono essere interpretati come un fattore di maggiore attività e latenza, come pure di minore tossicità di AP 698 rispetto alla Vincamina.

Il composto secondo la presente invenzione può essere somministrato per via orale o parenterale.

Esempi di formulazioni farmaceutiche sono i seguenti:

- capsule da 5 mg a 50 mg
- compresse da 5 mg a 50 mg
- fiale i.m./i.v. da 5 mg a 15 mg
- gocce dall'1% al 5%.