

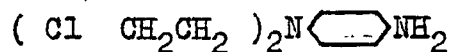
253027

M E M O R I A D E S C R I P T I V A

que se acompaña a una solicitud de patente de invención por veinte años, para España y sus Posesiones, por PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN COMPUESTO NEUTRALIZADOR DE TUMORES, a favor de la razón social NATIONAL RESEARCH DEVELOPMENT CORPORATION, de nacionalidad inglesa, residente en Londres, calle de Tilney nº 1 (Inglaterra).

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un compuesto nuevo de materia dotada de una actividad neutralizadora de tumores.

Las mostazas nitrogenadas, por ejemplo de la fórmula



10 poséen una actividad neutralizadora de tumores, pero resultan terapéuticamente insatisfactorias porque su acción no es selectiva, originando por ello perjuicio a los tejidos normales, perjuicio que es de la misma clase que el que originan a los tumores. Un objeto de la presente invención consiste en ofrecer compuestos de tipo de la mostaza nitrogenada, dotados de una selectividad tal que no resultan tóxicos en la medida adecuada para ser administrados, por ejemplo,

253027 290



15

por vía intramuscular o por vía intraperitoneal, en cantidad suficiente para que surta efectos útiles en la neutralización de los tumores.

20

Las nuevas composiciones de materia que se ofrecen en la presente invención comprenden un compuesto neutralizador de tumores, siendo este compuesto un éster de un derivado monobásico de un ácido bibásico, en cuyo derivado se sustituye una función ácida del ácido bibásico, por un grupo fenil p-(N.N.-di-2-bromo-etilamino) que se enlaza a través de un átomo de azufre o de nitrógeno, esterificándose el otro por medio de un grupo esterificador, R, que contiene una cantidad de átomos de carbono diferente de (n+1) en la que n es la valencia de dicho átomo de azufre o nitrógeno, llevando por lo menos un grupo hidróxilo libre cuando el ácido bibásico es ácido sulfhídrico.

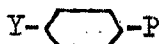
25

30

La invención incluye dentro de sus ámbitos, composiciones inyectables neutralizadoras de tumores, que comprenden uno o más de tales compuestos, y un excipiente fluido compatible con los mismos, y donde el compuesto o compuestos está o están disueltos o en suspensión.

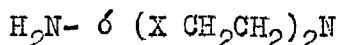
35

Un compuesto neutralizador de tumores, como el que se describe, puede prepararse mediante un procedimiento realizado según la invención, comprendiendo la reacción de una amina de la fórmula general:



40

con un intermediario de la fórmula general Q-R, en cuya fórmula Y representa un grupo amino de la fórmula



siendo X un átomo halógeno, representando P un grupo funcional en el que dicho átomo de azufre o nitrógeno enlaza con el anillo benzénico de la amina, y representando Q un grupo



45

seleccionado para reaccionar con el grupo P, procurando así el residuo derivado del ácido bibásico en el éster, y, si fuera necesario, convertir posteriormente el grupo amino mediante fases de hidroxietilación (utilizando por ejemplo, óxido de etileno o unepihalohidrina) y halogenación, y/o la fase de cambio halogénico utilizando, por ejemplo, bromuro de litio. El citado grupo amino corresponde a la Y de la fórmula general.

50

55

Mediante el proceso precedente, puede introducirse en primer término, bien el grupo N.N.-di-2-haloetilamino, o el requerido en la paraposición del mismo, siendo el último el que se utiliza de acuerdo como el más convenientemente preferido. En cada caso, un término análogo de cloro del compuesto requerido, puede formarse inicialmente y convertirse al citado compuesto que se requiere, por medio de un cambio halogénico.

60

La selección de los grupos P y Q para la preparación del compuesto que se desea, está implícita en la habilidad específica, no presentando dificultad una vez que se han apreciado los principios de la invención.

65

Los procedimientos preferidos del método son aquellos en que:

70

- (1) - El ácido bibásico es ácido sulfúrico, P es un grupo mercaptano y Q es un átomo halogénico.
- (2) - El ácido bibásico es ácido carbónico, el citado átomo de azufre; y

75

- (a) - P es un grupo cloro thiocarbonil -S.CO.Cl, y Q es un grupo hidróxilo, o más preferentemente
- (b) - P es un grupo mercaptano y Q es un grupo cloroformico CL.CO.O-, ó

253027 29

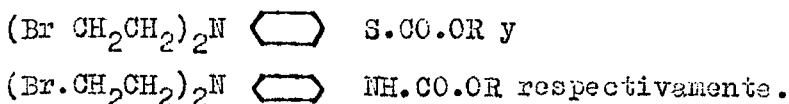


(3) - El ácido bibásico es ácido carbónico, el citado átomo es un átomo nitrogenado, y

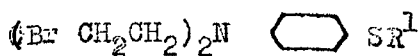
(a) P es un grupo isocianático y Q es un grupo hidróxilo, o más preferentemente,

(b) P es un grupo amino, -NH₂, y Q es un grupo clorofórmico Cl.CO.O-.

Los referidos compuestos presentan actividad neutralizadora de tumores en gradación variada, actuando algunos de ellos en forma tal que contienen el desarrollo cuando se utilizan aisladamente, y originando otros una regresión efectiva. Una clase de compuestos que se prefiere especialmente a causa de su elevado porcentaje de regresiones obtenido y de su baja toxicidad, es la de los ésteres de ácido thiolcarbónico HS.CO.OH y ácido carbámico H₂N.CO.OH, en cuyo ácido el grupo thiol tiene su átomo de hidrógeno, o el grupo amido tiene uno de sus átomos de hidrógeno substituído por medio del citado grupo amino-fenil. Los ésteres de estos derivados monobásicos de ácido carbónico tienen la fórmula general



y los ésteres mayormente preferidos de estas fórmulas generales son aquéllos en los que R representa un grupo alquilo inferior, o un esteroide, o grupo glicósido substituído o no substituído (por ejemplo un grupo 1:2-3:4 di-o-isopropilideno). Otra es la clase de los ésteres de la fórmula general



(en los que el ácido bibásico es el ácido sulfídrico) y en los que el grupo R¹ representa un grupo glicósido que puede tener uno o más de sus grupos hidroxílicos esterificados o

253027 29



eterificados (por ejemplo acetilados o metilados) siempre que por lo menos uno de los grupos hidroxílicos esté en libertad. Los ésteres mayormente preferidos de esta clase son los glucósidos.

Los compuestos que tienen una actividad de contención inferior o dan origen a un porcentaje de regresiones inferior que aquéllos de las clases que se prefieren especialmente, precisamente citados, pueden utilizarse juntamente con otro, o con aquéllos de las clases preferentes citadas para acrecentar el efecto mediante una acción sinérgica. Además, debe tenerse en cuenta que, como los compuestos tienen a ejercer sus acciones tóxicas de diferentes maneras, el efecto neutralizador de tumores de los compuestos puede aumentarse utilizando dos o más en conjunción, sin aumentar simultáneamente el efecto tóxico total.

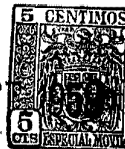
Los ejemplos siguientes, en los que la temperatura viene expresa en grados centígrados, se dan para aclarar la invención:

EJEMPLO I

Se hizo reaccionar 2:3:4:6- Tetra-0-acetil bromo glucosa, con p-(N.N-di-2-cloroetilamino) thiofenol para producir p-(N.N-di-2-cloroetilamino)fenil 2:3:4:6-tetra -0-acetil-B-D-glucothiósido. Se calentó el glucothiósido (4 g.) con bromuro de litio (8 g) é isobutil metil ketona (25 c.c.) a reflujo durante 5 horas. El producto aceitoso se extrajo con isopropanol caliente, estando enfriándose la solución durante toda la noche a 0°C para dar p-(N.N-di-bromoetilamino)fenil 2:3:4:6-tetra-0-acetil B-D glucothiósido, prismas incoloros (3.5 g. 76%) punto de fusión 119-120°C, $\alpha_D^{25} -41$ (c,2 en cloroformo). (Resultado: C, 21.22; Br, 23.64. $C_{24}H_{32}O_9$ NSBr necesita C, 21.48; Br 23.84%).

253027

2900



140

145

150

155

Se añadió una solución de sodio (4 mg) en metanol seco (0.5 cc) a una solución del compuesto tetra-acético (1.0g) en metanol seco (30 cc) a 20°C. Después de aproximadamente dos horas a -20° la mezcla reaccionante se trasladó a un refrigerador manteniéndose aproximadamente a 0° toda la noche. El resto del álcali que quedaba se neutralizó mediante la anexión de bióxido de carbono sólido ligeramente desmenuzado. El disolvente fué eliminado a presión reducida (con temperatura del baño de agua no superior a 40°) y el residuo disuelto en etanol. Esta solución se trató con carbón vegetal filtrándose a través del Kieselgur y diluida con petróleo ligero caliente (40-60°). Permaneciendo toda la noche el p-(N.N.-di-2-bromoetilamino)fenil B-D-glucotioésido cristaliza aparentemente como agujas de hemihidrato sedosas (0.45 g., 60%) punto de fusión 78-79°. (Resultado: C, 38.04; H, 4.91; O, 17.26; Br, 31.54. $C_{16}H_{23}O_5Br_2$, $1/2H_2O$ necesita C, 37.66; H, 4.74; O, 17.25; Br, 31.33%. $C_{16}H_{23}O_5NSBr_2$ necesita C, 38.33; H, 4.62; O, 15.96; Br, 31.89%).

EJEMPLO II

160

165

Se añadió rápidamente una solución en cloroformo (20 cc) de cloroformo de colessterina (6.0 g.) a una solución debidamente agitada de p-(N.N.-di-2-cloroetilamino) tiofenol (3,2 g) é hidróxido potásico (0,75 g.) en cloroformo-etanol (60 cc. 2:1) en atmósfera de nitrógeno; la mezcla reaccionante se agitó durante 24 horas a la temperatura ambiente, se lavó con agua (3X50 cc) y el extracto de cloroformo seco se concentró hasta obtener un aceite color amarillo pálido. Esto se disolvió en isobutil metil ketina (40 cc) y la solución se trató a reflujo con bromuro de litio (12g) durante seis horas. Continuando, dió un producto amarillo aceitoso que

253027

29



170

crystalizó cuando se apartó a 0° C durante 2 días, con petróleo ligero (punto de ebullición de 100 á 120 °C), etanol (40 cc.1:1). El producto (5.9 g) -punto de fusión 99°-103°- cristalizó 5 veces a partir de petróleo ligero (punto de fusión, o mejor dicho, punto de ebullición 60-80°C) para dar S-p(N.N-di-2-bromoetilamino)fenil O-tiol-carbonato de coles-

175

terina como agujas fibrosas incoloras (2.0 g.) punto de fusión 115°C $\frac{23}{D} - 30$ (c.3 en cloroformo). (Resultado: Br. 21.19 $C_{38}H_{57}O_2NSBr_2$ necesita Br 21.26%; Absorción ligera máx. 2760 Å; E = 29,000.

EJEMPLO III

Metil N-p-(N.N-di-2-bromoetilamino)fenil uretano

180

El término análogo de dicloro (punto de fusión 99-100°) que se prepara, del p-(N.N-di-cloroetilamino) anilina y metil cloroformiato dió este bibromuro al tratarse con bromuro de litio en isobutil metil cetona, con una producción del 60% en agujas finas incoloras, punto de fusión 111° de cloroformo y éter de petróleo. (Punto ebullición 60°-80°).

185

(Resultado: N, 7.61; Br. 41.67. $C_{12}H_{16}O_2 N_2 Br_2$ necesita N, 7.37); Br, 42.05%.

190

Se obtuvieron análogos resultados cuando el término análogo de dicloro se preparó de p-(N.N-di-cloroetilamino) fenil isocianato hidrocioruro y alcohol de metilo.

EJEMPLO IV

Isopropil N-p-(N.N.-di-2-bromoetilamino)fenil uretano

195

El término análogo de dicloro (preparado como en el ejemplo III pero utilizando cloroformiato isopropílico o alcohol isopropílico) reaccionó con bromuro de litio para dar bibromuro en placas rectangulares incoloras, punto de fusión 90°-91° de cloroformo y éter de petróleo (Punto fusión 60-80°). Resultado: N.6.95; Br; 39.22; $C_{14}H_{20}O_2H_2Br_2$

253027

29



necesita N, 6.86; Br; 39,16%). Es obvio señalar que al emplear el término (punto de fusión) nos referimos al "punto de ebullición".

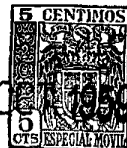
EJEMPLO V

Se añadió 1:2-3:4 -Di-O-isopropilideno galactosa 6-cloroformiato (9.5 g.) a una solución de p-(N.N.-di-2-cloroetilamino)thiofenol (J.Chem. Soc. 1958,2600) (8.9 g.) e hidróxido potásico (2.0 g.) en cloroformo-etanol (150.c.c. 2:1) en una atmósfera de nitrógeno. Después de agitar la mezcla re-actora durante 20 horas a la temperatura ambiente, se lavó con agua (3 x 100 cc) se secó (MgSO₄) y se concentró para dar un aceite amarillo. Esto se extrajo en etanol caliente permitiéndose entonces que permaneciera a una temperatura aproximada de 5° toda la noche. El producto cristalino de color amarillento pálido (15.0 g) punto fusión 99-100° se filtró recristalizando de etanol para dar 1:2-3:4-di-O-isopropilideno galactosa 6- α -S-p-(NN-di-cloroetilamino)fenil thiolcarbonato, en rombos grandes de color amarillento pálido (14.2 g. 74%) punto fusión 104-105° α - 47 (c,5 en cloroformo). (Resultado: C, 51.78; H, 6.19; Cl. 13.33 C₂₃H₃₁O₇ NSCl₂ necesita C, 51.49; H, 5.83; cl 13,22%) Absorción ligera máx: 2730 Å , E = 27.300.

Se calentaron juntamente los anteriormente citados thiolcarbonato (4.0 g), bromuro de litio e isobutil metil ketona (60 cc) en un baño de vapor a 96-100° durante 6 horas para dar 1:2-3:4-di-O-isopropilideno galactosa 6 S-p-(NN-di-2-bromoetilamino)fenil thiolcarbonato en rombos de color amarillento pálido (3.9 g 84%) punto fusión 106-107° elevado a 107-108 en una recristalización ulterior de cloroformo y éter de petróleo (punto ebullición 40-60°) α - 40 (c, 5 en cloroformo). (Resultado: O, 17.81; Br, 25.58

253027

29



230

$C_{23}H_{31}O_7$ NSBr₂ necesita 0,17.91; Br, 25.57%) Absorción lóg-
ra máx. 2750 Å ; E = 30.000.

EJEMPLO VI

235

Se añadió p-(N-N-Di-2-2-cloroetilamino)thiofenol (10 g)
en éter (250 cc.) y piridina (3.2 g.) a una solución de fos-
geno (10 g) en éter (250cc) pasando a su través una corriente
de fosgeno. Después de una hora la solución se filtró y con-
centró hasta producir un aceite crudo $(ClCH_2CH_2)_2N.C_6H_4-S-$
CO.Cl.

240

La reacción de parte del aceite (2 g.) con 2:4-dinitro-
fenol (1.2 g.) y piridina (0.5 g.) en benceno (80 cc) con-
tinuó durante una hora por medio de la evaporación de la so-
lución filtrada, dando un aceite que cristalizó de etanol-
petróleo-acetona para dar 2:4-dinitrofenil p-(N.N-di-2-clo-
roetilamino)thiocarbonato, punto de fusión 114.115°. (Resul-
tado: C, 44.5; H, 3.6; N, 9.0 Cálculado: 44.35, 3.3, 9.6%.

245

La reacción de otra parte de 2 g. del aceite con 1 g.
de metil p -amino benzoato por procedimiento parecido, dió:
 $(Cl CH_2CH_2)_2N.C_6H_4S.Co.NH.C_6H_4COOCH_3$ punto de fusión 143°.
(Resultado: C, 53.4; H, 4.8; Cl. 16,3, necesita:53.4. 4.7,
16.5%.

250

Los productos podrían convertirse a los correspondien-
tes compuestos de bromo, tal como se expone en los ejemplos
precedentes.

255

Los compuestos preparados según los ejemplos citados,
se probaron examinando su acción sobre el sarcoma de la rata
Walker 256 que se desarrolla en las ratas de este tipo. El
tumor estaba situado en el costado de la rata. Se adminis-
traron los medicamentos cuando el tumor tenía un desarrollo
de aproximadamente un peso de 5 gr. en una cantidad superior
a 1/3 de la dosis media mortal por inyección intramuscular

260

253027.

29



265

o intraperitoneal de preparados en agua o aceite de arakis dependiendo de la solubilidad, diariamente, durante un periodo de 5 á 10 días, dándose fin a la aplicación del medicamento cuando el tumor cesó en su desarrollo. En un 80% á 100% de las pruebas de cada compuesto, el tumor disminuyó ininterrumpidamente según la aplicación de inyecciones, desapareciendo por completo en el plazo de un mes.

270

Experimentos por separado demuestran que la dosis mortal media en las ratas Wistar están por encima de 300/400 mg/kg.

Finalmente sólo resta decir, que en la presente invención cabe cuantas variantes de realización sean factibles, ya que no se limita con carácter estricto a los ejemplos ilustrados.

275

NOTA - Descrito suficientemente lo que antecede, sólo resta consignar que lo que se declara propio y nuevo de la firma solicitante es lo contenido en las siguientes:

REIVINDICACIONES

280

1 - Procedimiento para la preparación de un compuesto neutralizador de tumores, caracterizado por ser dicho compuesto un éster de un derivado monobásico de un ácido bibásico, en cuyo derivado uno de los átomos de hidrógeno sustituíbles, del ácido bibásico, es substituído por un grupo p-(N.N.-di-2-bromo-etilamino)fenil que se enlaza a través de un átomo de azufre o de nitrógeno, esterificándose el otro por medio de un grupo esterificador, R, que contiene una cantidad de átomos de carbono diferente de (n+1) en la que n es la valencia de dicho átomo de azufre o nitrógeno, llevando por lo menos un grupo hidróxilo libre cuando el ácido bibásico es ácido sulfrídrico, comprendiendo el

285

290



citado procedimiento la reacción de una amina de la fórmula general



con un intermediario de la fórmula general Q-R en la cual Y representa un grupo amino de la fórmula $\text{H}_2\text{N}-$ ó $(\text{X CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$ siendo X un átomo halógeno, representando P un grupo funcional en el que dicho átomo de azufre o nitrógeno enlaza con el anillo bencénico de la amina, y representando Q un grupo seleccionado para reaccionar con el grupo P, procurando así el residuo del derivado del ácido bibásico en el éster y, si fuera necesario, convertir posteriormente el grupo amino Y mediante fases de hidroxietilación y halogenación y/o la fase de cambio halogénico.

2 - Procedimiento, según reivindicación 1^a caracterizado porque el ácido bibásico es ácido sulfúrico, P es un grupo mercaptano y el grupo Q es un átomo halogénico.

3 - Procedimiento según reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque el ácido bibásico es ácido carbónico, el citado átomo es un átomo de azufre, el grupo P es un grupo mercaptano y el grupo Q es un grupo de cloroformiato Cl.CO.O-

4 - Procedimiento según reivindicaciones de 1 a 3, caracterizado porque el ácido bibásico es ácido carbónico, el citado átomo es un átomo de azufre, el grupo P es un grupo de cloruro thiocarbonil, $-\text{S.CO.Cl}$, y el grupo Q es un grupo hidróxilo.

5 - Procedimiento, según reivindicaciones de 1 a 4, caracterizado porque el ácido bibásico es ácido carbónico, el citado átomo es un átomo de nitrógeno, el grupo P es un grupo de isocianato y el grupo Q es un grupo hidróxilo.

6 - Procedimiento, según reivindicaciones de 1 a 5, caracterizado porque el ácido bibásico es ácido carbónico;

253027

12

29



325 el citado átomo es un átomo de nitrógeno, el grupo P es un grupo amino, $-NN_2$ y el grupo Q es un grupo de cloroformiato Cl.CO.O.

7 - Procedimiento, según reivindicaciones de 1 a 6, caracterizado porque el grupo Y es un grupo di-(2-bromoetil) amino.

330 8 - Procedimiento, según reivindicaciones de 1 a 7, caracterizado porque el grupo R como intermediario, es un alquilo inferior o un grupo esteroide, y el ácido bibásico es un ácido carbónico.

335 9 - Procedimiento, según reivindicaciones de 1 a 8 caracterizado porque el grupo R como intermediario, es un grupo glicósido y el ácido bibásico es ácido sulfúrico.

10 - Procedimiento, según reivindicaciones de 1 a 9, caracterizado porque el grupo R como intermediario, es un grupo glucósido.

340 11 - Procedimiento, según reivindicaciones de 1 a 10 caracterizado porque reacciona el cloroformiato de colesteryl con p-(N.N -di-2-cloroetilamino) thiofenol haciéndose reaccionar el producto con bromuro de litio para producir S-p-(N-N-di-2-bromoetilamino)fenil O-colesteril thiocarbonato.

345 12 - Procedimiento, según reivindicaciones de 1 a 11, caracterizado por el hecho de que 1:2-3:4-di-O-isopropilideno galactosa 6-cloroformiato, reacciona con p-(N.N.- di-2-cloroetilamino)thiofenol y el producto es reaccionado con bromuro de litio para producir 1:2-3:4-di-O-isopropilideno galactosa 6- $\left[\begin{array}{c} \text{S-p-(N-N-di-2-bromoetilamino)fenil} \\ \text{thiolcarbo} \end{array} \right]$ bonato.

350 13 - PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN COMPUESTO NEUTRALIZADOR DE TUMORES.

253027 290



355

Todo según queda descrito en la presente memoria, que consta de trece hojas foliadas y mecanografiadas por una sola cara, con un total de trescientas cincuenta y seis líneas.

Madrid 29 octubre 1959

P.a. *Marañón*