



19 ES	11 NUMERO	10 A 1
	21 441.860	
	22 FECHA DE PRESENTACION	
	16-10-1975	

PATENTE DE INVENCION

80 PRIORIDADES:	82 FECHA	83 PAIS
81 NUMERO		
515.134	16-10-1974	Estados Unidos

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07D//A61K	

64 TITULO DE LA INVENCION

UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS ALCALOIDES VINCA DIMERICOS.

71 SOLICITANTE (S)

E.I.L. LILLY AND COMPANY

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

307 East McCarty Street, INDIANAPOLIS, Indiana, Estados Unidos

72 INVENTOR (ES)

George Joseph Cullinan de nacionalidad estadounidense,

73 TITULAR (ES)

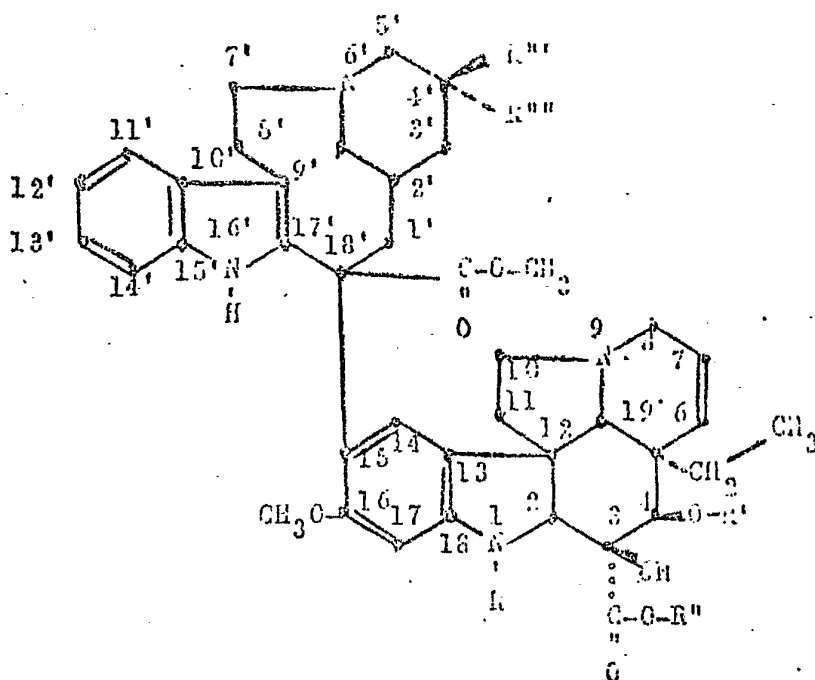
74 REPRESENTANTE

D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU



1 La invención se refiere a un procedimiento pa
ra preparar nuevos ácidos 3-carboxílicos y ácidos 4-desace-
til-3-carboxílicos y ésteres, de vinblastina, vincristina y
leurosidina.

5 La invención prevee un procedimiento para pre-
parar un compuesto de la fórmula



20 en donde R es CH₃, CH=O o hidrógeno;
R' es hidrógeno o acetilo;
R'' es hidrógeno, alquilo de C₂-C₅, mono o di-
hidroxialquilo de C₂-C₅, monohalógenoalquilo
de C₂-C₅, monoalcanoiloxi(C₂-C₄)alquilo de C₂-
25 C₅, eritilo, metalilo, alilo, propargilo o 2-
butin-1-ol;
uno de R'' y R''' es hidroxilo y el otro es etil-
lo; con la condición de que únicamente uno de
R' y R'' puede ser hidrógeno cuando R es CH₃;
30 y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo formadas



1 con un ácido no tóxico, caracterizado por hacer reaccionar
vinblastina, leurosidina, vincristina o una mezcla de 4-de
sacetil vincristina y 1-desformil-4-desacetil vincristina
5 con una base diluída para formar ácido 4-desacetilvinblasti
nóico, ácido 4-desacetil-leurosidinóico o ácido 1-desformil-
4-desacetil-vincristinóico y

cuando R' va a ser acetilo o en el producto
deseado, acetilar los ácidos así formados en
presencia de piridina y formular opcionalmen-
10 te la posición 1 en dicho ácido vincristinói-
co antes o después de la acetilación.

y opcionalmente esterificar el ácido así formado y, si se
desea, hacer reaccionar el ácido o éster así obtenido con
un ácido seleccionado para proveer una sal de adición farma
15 céuticamente aceptable.

Se ha encontrado que varios alcaloides que se
presentan en forma natural, obtenibles de la Vinca rosea
son activos en el tratamiento de males experimentales en
animales. Entre estos se encuentran la leurosina (Patente
20 de los Estados Unidos No. 3.370.057), la vincaleucoblastina
(vinblastina) (Patente de los Estados Unidos No. 3.097.137),
la leurosidina (vinrosidina) y la leurocristina (vincristi-
na) (ambas en la Patente de los Estados Unidos No. 3.205.220).
Dos de estos alcaloides, la vinblastina y la leurocristina
25 son vendidos ahora como medicamentos para el tratamiento de
males, particularmente las leucemias y enfermedades rela-
cionadas, en seres humanos. De estos compuestos vendidos,
la leurocristina es un agente más activo y útil en el trata
miento de leucemias, pero es también el menos abundante de
30 los alcaloides antineoplásticos de la Vinca rosea.



1 La modificación química de los alcaloides de
la Vinca ha sido bastante limitada. En primer lugar, las es-
2 tructuras moleculares involucradas son extremadamente com-
3 plejas y las reacciones químicas que afectan una función es-
4 pecífica de la molécula son difíciles de desarrollar. En se-
5 gundo lugar se han recuperado de las fracciones de Vinca ro-
sea, alcaloides que carecen de propiedades quimioterapéuti-
cas deseables, y una determinación de sus estructuras ha
conducido a la conclusión de que estos compuestos están ín-
10 timamente relacionados con los alcaloides activos. De esta
manera, la actividad antineoplástica parece estar limitada
a estructuras muy específicas y la oportunidad de obtener
medicamentos más activos mediante la modificación de estas
estructuras, parecería ser correspondientemente ligera. En-
15 tre las modificaciones positivas de los alcaloides fisioló-
gicamente activos ha estado la preparación de la dihidrovin-
blastina (Patente de los Estados Unidos No. 3.352.868) y el
reemplacamiento del grupo acetilo en C-4 (carbón No. 4 de
sistema cíclico de vinblastina - ver la estructura numerada
20 anteriormente) con grupos alcanóilo superiores o con grupos
acilo no relacionados. (Ver la Patente de los Estados Uni-
dos No. 3.392.173). Varios de estos derivados son capaces
de prolongar la vida de los ratones inoculados con leuce-
25 mia P1534. Uno de los derivados en los cuales un grupo clo-
roacetilo reemplazó al grupo acetilo C-4 de la vinblastina
fue también un intermediario útil para la preparación de
compuestos de vinblastina estructuralmente modificados en
los cuales un grupo N,N-dialquilglicilo reemplazó al grupo
30 acetilo C-4 de la vinblastina (ver la Patente de los Esta-
dos Unidos 3.387.001). Un compuesto intermediario, a saber

**POOR
QUALITY**



1 la 4-desacetilvinblastina, se produjo durante las reaccio-
nes químicas que conducen a estos últimos derivados. Este
intermediario, en el cual se omitió el grupo acilo en C-4,
que conduce a un grupo hidroxilo esterificado, se ha estimado
5 que es un material tóxico que tiene poca actividad quimio-
terapéutica in vivo contra el sistema de leucemia en los mú-
ridos P1534 por Hargrove, Lloydia, 27, 340 (1964). Se des-
cribe también en ese artículo la vinblastina de ácido desa-
cetilvinblastinónico con el grupo de éster metílico en C-3
10 sustituido por un grupo carboxilo y que tiene un hidroxilo en
C-4 en lugar de acetoxi.

Neuss y otros, Tetrahedron Letters, 1968,
15 783-7, describió la formación de desoxivinblastina que care-
ce de un grupo 4'-hidroxilo y sus derivados que carecen de un
grupo carbometoxi en C-18'.

Las nuevas amidas C-3 de vinblastina fueron
descritas por Sweeney, Cullinan, Poore y Gerzon en el 650.
Annual Meeting of the American Association for Cancer Re-
search, celebrado en Houston, Texas, el 27-30 de marzo de
20 1974 (Proceedings, Abstract 146).

El material de partida para el procedimiento
presente es la vinblastina, la leurosídina o la vincristi-
na. Con referencia a la fórmula I, la vinblastina es el com-
puesto en donde en C-1 existe un sustituyente metilo; en
25 C-3 el sustituyente es carboxilato de metilo; en C-4 es un
grupo acetoxi; en C-4' el sustituyente en la posición R''
es hidroxilo y el otro sustituyente es un grupo etilo.

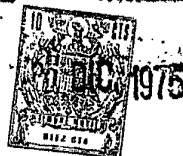
La leurosídina y la vinblastina son estereo-
isómeros que varían únicamente en la orientación de los gru-
30 pos etilo e hidroxilo unidos en C-4'.



1
5
10
15
20
25
30

dimetiletilo, 2-hidroxi-1,1-dimetiletilo, 2-hidroxibutilo, 3-hidroxipropilo, 4-hidroxibutilo, 5-hidroxipentilo, 2,3-dihidroxi-2-metilpropilo y grupos similares. Los grupos halogenoalquilo de C_2-C_5 que representa R" incluyen 2-cloroetilo, 2-bromoetilo, 2-cloropropilo, 2-bromobutilo, 3-cloropropilo, 2-cloropentilo, 2-bromo-3-metilbutilo, 4-bromobutilo y similares. Los grupos monoalcanoiloxi(C_2-C_4)alquilo de C_2-C_5 que representa R" incluyen 2-acetoxi-1-etilo, 2-propionoxi-1-propilo, 3-acetoxi-1-propilo, 2-isobutiloxi-2-butilo, 2-acetoxi-2-pentilo, 2-butiloxi-1-pentilo, 2-propionoxi-3-metil-1-propilo, isobutiloxi-2-butilo, 2-acetoxi-2-pentilo, 2-butiloxi-1-pentilo, 2-propionoxi-3-metil-1-pentilo y similares.

Los ácidos no tóxicos útiles para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de las bases de amina representadas por la fórmula I anterior incluyen sales derivadas de ácidos inorgánicos tales como: ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido nitroso, ácido de fósforo, y similares, así como también sales de ácidos orgánicos no tóxicos incluyendo mono y dicarboxilatos alifáticos, alcanosatos fenilo sustituidos, hidroxialcanosatos y alcanodiosatos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, etc. Dichas sales farmacéuticamente aceptables incluyen de esta manera el sulfato, el piro-sulfato, el bisulfato, el sulfito, el bisulfito, el nitrato, el fosfato, el fosfato monoácido, el fosfato diácido, el metafosfato, el pirofosfato, el cloruro, el bromuro, el yoduro, el acetato, el propionato, el decanoato, el caprilato, el acrilato, el formiato, el isobutirato, el ca-



1 prato, el heptanoato, el propiolato, el oxalato, el malona
to, el succinato, el suberato, el sebacato, el fumarato,
el maleato, el butin-1,4-dioato, el hexin-1,6-dioato, el
benzoato, el clorobenzoato, el metilbenzoato, el dinitro-
5 benzoato, el hidroxibenzoato, el metoxibenzoato, el ftala
to, el tereftalato, el bencensulfonato, el toluensulfonato,
el clorobencensulfonato, el xilensulfonato, el fenilaceta
to, el fenilpropionato, el fenilbutirato, el citrato, el
lactato, el 2-hidroxibutirato, el glicolato, el malato, el
10 tartrato, el metansulfonato, el propansulfonato, el nafta
len-1-sulfonato, el naftalen-2-sulfonato y sales similares.

Los compuestos se preparan de conformidad con
los siguientes procedimientos generales. La vinblastina, la
leurosidina o la vincristina se trata con una base diluida,
15 hidrolizando por lo tanto el grupo éster en la posición 3
para producir un grupo de ácido carboxílico como una sal bá
sica e hidrolizando también el grupo éster en la posición
4, dejando un grupo hidroxilo. En el caso de la vincristina,
el grupo formilo en la posición 1 también es hidrolizado.
20 De esta manera, los productos de la hidrólisis son ya sea
ácido 4-desacetilvinblastinóico, ácido 4-desacetil-leurosi
dinoíco o ácido 1-desformil-4-desacetil vincristinóico. La
acetilación en piridina reconstituye el grupo 4-acetilo pa
ra producir ácido vinblastinóico, ácido leurosidinóico o
25 ácido 1-desformilvincristinóico. El último compuesto puede
formilarse con ácido fórmico al 97 por ciento y anhídrido
acético para producir el ácido vincristinóico. Inversamen
te, el ácido 1-desformil-4-desacetil-vincristinóico puede
formilarse antes de la acetilación, formando de esta manera
30 el ácido 4-desacetilvincristinóico como un intermediario.



1
5
10
15
20
25
30

La formación de los ésteres superiores de los ácidos anteriores, tales como los ésteres etílico, butílico, 2-cloracetílico, 2-acetoxipropílico e hidroxietílico, se lleva a cabo tratando el ácido libre con una solución del alcohol deseado en presencia de un catalizador ácido. Los ésteres del ácido vincristinóico, leurosidinóico y vinblastinóico y de sus análogos 4-desacetílicos se preparan todos sustancialmente en la misma forma. Los ésteres monoalcanoiloxi- (C_2-C_4) alquílicos de C_2-C_5 se preparan generalmente mediante esterificación del éster monohidroxi alquílico de C_2-C_5 correspondiente, utilizando un agente de acilación normal tal como un anhídrido de ácido, un anhídrido mixto, un cloruro de acilo en presencia de una base orgánica, etc. En general, los ésteres se aíslan en la forma de sus sales sulfato, preparadas mediante la acidificación de una solución de la base a un pH en la escala de 2-4, con ácido sulfúrico diluido y evaporando después los constituyentes volátiles para dejarla sal sulfato como residuo. En general, las sales sulfato son amorfas y los compuestos están identificados por su espectro de resonancia magnética nuclear y por un espectro de ion molecular llevados a cabo sobre la base libre.

Existe un procedimiento alternativo para la preparación del ácido 4-desacetilvincristinóico y para el ácido 1-desformil-4-desacetilvincristinóico. Mediante este procedimiento, se oxida la 4-desacetilvinblastina preparada mediante el método de Hargrove Lloydia, 27, 340 (1964) con ácido crómico en anhídrido acético a bajas temperaturas mediante el procedimiento de la Patente de Sud-Africa 72/8535 para producir una mezcla de 4-desacetilvincristina y



3

1 l-desformil-4-desacetilvincristina. Sorprendentemente, esta
reacción ocurre sin oxidar el 4-hidroxilo a la cetona co-
rrespondiente. El tratamiento de esta mezcla con una base
diluída produce el ácido l-desformil-4-desacetil-vincristi-
5 nómico deseado.

Los compuestos en los cuales R y R" son dife-
rentes de hidrógeno, tienen una utilidad potencial como me-
dicamentos contra los tumores, según se muestra por su ca-
pacidad para detener las celdas cultivadas en la fase mitó-
10 tica (metafase) del ciclo de la célula sin un efecto aparen-
te en las otras etapas del ciclo de la célula. La mayoría
de los alcaloides de indoldihidroindol (diméricos) contra
los tumores conocidos de la Vinca rosea, tienen la capaci-
dad de provocar una detención de la metafase, incluyendo la
15 vinblastina (vincaleucoblastina), la vincristina y la leuro-
sidina. Los alcaloides de la vinca monoméricos no poseen
una actividad de detención de la metafase y no son antim-
tóticos. Además, los compuestos han mostrado ser activos
contra tumores transplantados en ratones. De interés parti-
20 cular es la actividad elevada mostrada por el sulfato de 4-
desacetilvincristinoato de etilo contra el sarcoma osteogé-
nico de Ridgeway cuando se administra durante diez días por
la ruta intraperitoneal después de la inoculación del tumor
a niveles de dosis de 0,15 a 0,5 mg/kg de peso del ratón.
25 Se obtienen resultados similares contra el linfosarcoma de
Gardner. El compuesto mostró también actividad a 0,5 mg/kg.
contra el tumor mamario de C₃H en una cantidad de 0,5 mg/kg.
de nivel de dosis. El sulfato de vinblastinoato de etilo ha
mostrado también actividad en el sistema de tumor de linfo-
30 sarcoma de Gardner. Los resultados obtenidos con el sulfato

23 DIC. 1977



1

5

10

15

20

25

30

de 4-desacetilvincristinoato de etilo se resumen en la tabla 1 siguiente. En la tabla, la columna 1 da el nombre del compuesto; la columna 2, el tumor transplantado; la columna 3, el nivel de dosis o la escala de nivel de dosis y el número de días en que se administró la dosis; y en la columna 4, el porcentaje de inhibición de desarrollo del tumor. (ROS es una abreviatura del sarcoma osteogénico de Ridge-way; GLS del linfosarcoma de Gardner; y C₃H es un tumor mamario). Los niveles de dosis más elevados que aquellos enlistados en la tabla usualmente producen toxicidad.

Tabla 1

Compuesto	Tumor	dosis mg/kg. x días	Por ciento de inhibición
sulfato de 4-des acetilvincristi- noato de etilo	GLS	0,2 x 8	85
		0,25 x 8	87
		0,3 x 8	100
		0,4 x 8	100
		0,5 x 8	100
	ROS	0,15 x 10	58
		0,2 x 10	65
		0,25 x 10	100
		0,3 x 10	84
		0,4 x 10	100
sulfato de 4-des acetilvinblasti- noato de 2-hidroxi etilo	C ₃ H	0,5 x 9	43
	GLS	0,5 x 8	100
		1,0 x 8	91

Además de su actividad contra los tumores, los compuestos de conformidad con la fórmula I anterior, diferentes a los ésteres alquílicos e hidroxialquílicos del ácido vincristinóico y del ácido vinblastinóico son también útiles como in



1 intermediarios. Por ejemplo, los compuestos 4-desacetílicos
pueden convertirse mediante acetilación al éster de vin-
cristinoato o de vinblastinoato original. Los compuestos
de conformidad con la fórmula I anterior, en los cuales R
5 es hidrógeno o en los cuales R" es hidrógeno en general no
son activos en la prueba de inhibición mitótica y son simi-
larmente inactivos para inhibir el desarrollo de tumores
transplantados en ratones. Estos compuestos son sin embar-
go intermediarios porque los compuestos en los cuales R" es
10 H, los ácidos vinblastinóico, leurosidinóico y vincristi-
nóico se convierten mediante esterificación a compuestos
útiles. Similarmente, los compuestos en los cuales R es hi-
drógeno, los derivados de 1-desformil vincristina pueden
formilarse para producir ácido vincristinóico, otro inter-
15 mediario útil, o los ésteres de desacetilvincristinoato y
los ésteres de vincristinoato.

Además de la utilidad anterior como agentes
antimitóticos, los ácidos libres que incluyen los ácidos
desacetílicos son intermediarios útiles para la preparación
20 de material radioactivamente clasificado porque pueden re-
esterificarse con alcohol metílico radioactivo de conformi-
dad con el procedimiento anterior. Además, es posible, a
través del empleo del ácido desmetildesacetilvinblastinói-
co, metilar o formilar el compuesto en el nitrógeno N-1
25 con un grupo formilo o metilo radioactivamente clasificado
y emplear metanol isotópicamente clasificado para reesteri-
ficar el grupo de ácido carboxílico o viceversa, haciendo
de esta manera posible la preparación de una vincristina,
leurosidina o vinblastina doblemente clasificadas.



1

Ejemplo 1

PREPARACION DEL ACIDO 4-DESACETIL VINBLASTINOICO

5

10

15

20

25

30

Se convirtieron diez gramos de sulfato de vinblastina a la base libre correspondiente mediante tratamiento con álcali, seguido por extracción de la base en dicloruro de metileno, secando y evaporando el dicloruro de metileno. La vinblastina residual se disolvió en 200 ml. de etanol anhidro en un matraz de 2 litros equipado con un condensador de reflujo. La solución de etanol se calentó mientras se agregaban 956 ml. de hidróxido de sodio acuoso 1 normal desde un embudo de goteo, junto con 50 ml. de etanol anhidro, adicionales. Se requirió etanol extraordinario para mantener la homogeneidad en la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se puso a reflujo durante media hora, después de que se hubo agregado el hidróxido de sodio. Se agregó después cloruro de sodio a la solución caliente y la capa acuosa se extrajo con cuatro porciones de dicloruro de metileno. Los extractos de cloruro de metileno se combinaron y se secaron. La evaporación del disolvente al vacío produjo 6,9 g. de un sólido color canela, amorfo, que consiste de una mezcla de vinblastina y de ácido 4-desacetil-vinblastinóico, como la sal de sodio.

Dos gramos del ácido 4-desacetil-vinblastinóico impuro, como la sal de sodio, preparado de esta manera, se disolvieron en metanol anhidro y se agregó agua a la solución al punto de turbidez. El pH de la solución resultante se ajustó a aproximadamente 3,9 mediante la adición de ácido sulfúrico acuoso al 1 por ciento. Los disolventes se separan después mediante evaporación al vacío. El sólido resultante, que comprende sulfato de ácido 4-de



1 sacetilvinblastinóico, se disolvió en una mezcla disolven-
te de etanol-agua con calentamiento, y la solución calien-
te se filtró. Por enfriamiento, precipitó un sólido color
5 canela claro, el cual se recogió mediante filtración. El
sulfato de ácido 4-desacetil vinblastinóico así preparado
tuvo las siguientes características físicas $pK_a = 4,65,$
 $6,3, 7,5$ y $8,5$ (en dimetilformamida al 80 por ciento).
 $\Lambda(EtOH, \text{máx.}) = 215 \text{ mu} (E = 12,5 \times 10^3), 267 \text{ mu.} (E =$
10 $4,0 \times 10^3)$ con resaltos a 284 y 294 y a aproximadamente 314
mu.

Análisis calculado: C, 60,55; H, 6,62; N, 6,57;

Encontrado: C, 60,80; H, 6,86; N, 6,64

El análisis en cuanto a sodio fue cero.

Ejemplo 2

15 PREPARACION DE SULFATO DE ACIDO VINBLASTINOICO

Se preparó una suspensión de 2,1 g. de ácido
4-desacetil vinblastinóico como la sal de sodio, en 25 ml.
de piridina anhidra. Se agregaron aproximadamente 25 ml.
de anhídrido acético. El recipiente de reacción se equipó
20 con un tubo de secado y se agitó a temperatura ambiente du-
rante 4 días. Se agregó metanol, y la mezcla de reacción
se evaporó a sequedad. Este procedimiento de secado se re-
pitió varias veces. El residuo que contiene ácido vinblas-
tinóico formado en la reacción anterior se disolvió en clo-
25 roformo y la solución de cloroformo se extrajo cuatro ve-
ces con agua. La solución de cloroformo se secó después y
el cloroformo se evaporó. El residuo resultante se disol-
vió en metanol y se agregó agua al punto de turbidez. El
30 pH de la solución acuosa de metanol se ajustó a 2,2 median-
te la adición de ácido sulfúrico acuoso al 1 por ciento.



1 La solución resultante se evaporó a sequedad utilizando el
azeotropo de benceno para separar agua. El residuo se di-
solvió en isopropanol, y las impurezas que cristalizaron se
separaron mediante filtración. La evaporación del filtrado
5 en dos cristalizaciones sucesivas produjo 200 mg. de sul-
fato de ácido vinblastinóico como un sólido amorfo color ca-
nela. El compuesto mostró una banda mejorada a 1740 cm^{-1} en
el espectro infrarrojo, que muestra un incremento en el gru-
po éster. El compuesto tuvo valores de pKa a 5,2 y 7,7 (66
10 por ciento de DMF).

Ejemplo 3

PREPARACION DE SULFATO DE VINBLASTINOATO DE ETILO

15 Se prepararon a 0°C ., quinientos ml. de una
solución etanólica saturada de ácido clorhídrico. Se agre-
garon tres g. de ácido 4-desacetilvinblastinóico como la
sal de sodio. El recipiente de reacción se equipó con un tu-
bo de secado y se dejó reposar a temperatura ambiente en
la oscuridad durante aproximadamente tres días. El etanol
se evaporó después, y el residuo resultante se disolvió en
20 agua. La capa acuosa se hizo básica con hidróxido de amo-
nio 14 normal. Se separó el vinblastinoato de etilo que es
insoluble en la solución básica, y se extrajo con varias
porciones de dicloruro de metileno. Los extractos de diclo-
ruro de metileno se separaron, se combinaron y se secaron.
25 La evaporación del disolvente produjo 4-desacetilvinblasti-
noato de etilo como un sólido amorfo color canela. Los es-
pectros infrarrojo y de resonancia magnética nuclear del
compuesto estuvieron de acuerdo con la estructura postula-
da.

30 El sólido color canela se disolvió en 25 ml.



1
5
10
15
20
25
30

de piridina anhidra que se había saturado previamente con nitrógeno y se agregaron 25 ml. de anhídrido acético. La reacción resultante se colocó en un recipiente sellado y se dejó reposar a temperatura ambiente en la oscuridad durante 7 días. Se separaron los constituyentes volátiles mediante evaporación al vacío. Se agregó metanol y la solución se evaporó a sequedad nuevamente. Este procedimiento de adición de metanol y de evaporación se repitió varias veces. El residuo se cromatografió después sobre gel de sílice utilizando una mezcla disolvente de acetato de etilo etanol (2:1), como el eluyente. Las fracciones que contiene vinblastinoato de etilo, según se determina por la cromatografía en capa delgada, se recogieron y se combinaron, y el disolvente se separó de las fracciones combinadas mediante evaporación. Un espectro infrarrojo del polvo amorfo color canela resultante estuvo de acuerdo con la estructura asignada ya que tuvo una banda mejorada a 1740 cm^{-1} . El compuesto tuvo picos de resonancia magnética nuclear como sigue: $\delta = 2,11$ (OOCCH_3), $1,33$ (triplete para OCH_2CH_3), $4,28$ (cuartete para OCH_2CH_3), con $J_{ab} = 7\text{ Hz}$. El resto del espectro de resonancia magnética nuclear estuvo de acuerdo con la estructura postulada. El espectro de masas produjo un ion molecular, $m/e = 824$, en coincidencia con una fórmula empírica postulada $\text{C}_{47}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_9$. La base libre de vinblastinoato de etilo así obtenida se disolvió en metanol y se agregó agua al punto de turbidez. El pH de la solución se ajustó a aproximadamente 3 con ácido sulfúrico acuoso al 1 por ciento, y la solución resultante se evaporó a sequedad utilizando el azcotropo de benceno para separar el agua. La recristalización del residuo en etanol anhidro produjo

POOR
QUALITY



1 un sólido de color crema que tiene un pKa = 4,6, 6,0 y 7,45
(66 por ciento de DMF). El rendimiento del sulfato de vin-
blastinoato de etilo fue de 204 mg.

5 Siguiendo el procedimiento anterior, se este-
rificó la sal de sodio del ácido 4-desacetilvinblastinóico
con metanol saturado con ácido clorhídrico anhidro para pro-
ducir 4-desacetilvinblastinoato de metilo (4-desacetilvin-
blastina). El compuesto fué idéntico en todos aspectos a
una muestra auténtica de 4-desacetilvinblastina preparada
10 mediante hidrólisis de vinblastina.

Ejemplo 4

PREPARACION DE SULFATO DE VINBLASTINOATO DE n-BUTILO

15 Siguiendo el procedimiento del ejemplo pre-
vio, se saturaron 473 ml. de n-butanol con ácido clorhídri-
co anhidro a 0°C. Se agregaron tres g. de la sal de sodio
del ácido 4-desacetilvinblastinóico, y la mezcla de reac-
ción se dejó reposar a temperatura ambiente en la oscuri-
dad durante tres días. Se aisló 4-desacetilvinblastinoato
de n-butilo y se purificó mediante el procedimiento del
20 ejemplo previo. El compuesto se acetiló en piridina seca
como en el ejemplo previo y se obtuvo mediante cromatogra-
fía el vinblastinoato de n-butilo así preparado. El compues-
to tuvo las siguientes características físicas. Picos del
espectro de resonancia magnética nuclear delta 2,11 (OOCH₃),
25 0,94 (multiplete para OCH₂CH₂CH₂CH₃) ≈ 1,1-1,8 (multiplete
para OCH₂CH₂CH₂CH₃), 4,19 multiplete para OCH₂C₃H₇). El res-
to del espectro de resonancia magnética nuclear estuvo de
acuerdo con la estructura postulada. El análisis del espec-
tro de masa produjo un ion molecular m/e = 852 de acuerdo
30 con la fórmula empírica postulada C₄₉H₆₄N₄O₉.



1 La sal sulfato del vinblastinoato de n-butilo se preparó mediante el procedimiento del ejemplo previo y fundió con descomposición en la escala de 225-240°C.

Ejemplo 5

5 PREPARACION DE ACIDO 4-DESACETIL-1-DESFORMIL VINCRISTINOICO

10 Se preparó una solución de 620 mg. de vincristina en 30 ml. de etanol anhidro, al cual se habían agregado 55 ml. de hidróxido de sodio acuoso 1 normal. La solución se calentó a la temperatura de reflujo durante una hora y después se dejó enfriar. La solución se extrajo tres veces con dicloruro de metileno. Los extractos de dicloruro de metileno se combinaron, se secaron, y el dicloruro de metileno se separó de los mismos por evaporación. La sal de sodio del ácido 4-desacetil-1-desformilvincristinóico así
15 obtenida fue un polvo amorfo color canela que pesa 386 mg. El espectro infrarrojo mostró una banda de carbonilo a 1735 cm^{-1} , y no mostró banda a 1695 cm^{-1} , mostrando una ausencia del grupo N-formilo.

Ejemplo 6

20 PREPARACION DE 4-DESACETIL-1-DESFORMIL VINCRISTINOATO DE ETILO (22-etil-23-desmetil-4-desacetil-1-desformilvincristina).

25 Siguiendo el procedimiento del ejemplo 3, el ácido desacetildesformilvincristinóico como la sal de sodio, se esterificó con ácido clorhídrico etanólico para producir 4-desacetil-1-desformilvincristinoato de etilo. El compuesto se obtuvo como un sólido amorfo color canela que
30 tiene una banda mejorada en el infrarrojo a 1735 cm^{-1} , que indica un número incrementado de grupos éster presentes en la molécula. El análisis del espectro de masa dió un ion



1 molecular m/e = 768 de acuerdo con la fórmula empírica
 $C_{44}H_{56}N_4O_8$

Ejemplo 7

PREPARACION DE 4-DESACETILVINCRISTINOATO DE ETILO

5 Se disolvió 4-desacetil-1-desformilvincristi-
 noato de etilo obtenido en el ejemplo 6, en 18 ml. de áci-
 do fórmico al 97 por ciento al cual se habían agregado 3
 ml. de anhídrido acético. La mezcla de reacción se dejó re-
 10 posar bajo condiciones anhidra en la oscuridad a temperatu-
 ra ambiente, durante aproximadamente cuatro horas. Los cons-
 tituyentes volátiles se separaron después mediante evapora-
 ción, y el residuo se disolvió en agua. La solución acuosa
 se hizo básica con hidróxido de amonio 14 normal, y la capa
 15 básica se extrajo tres veces con dicloruro de metileno. Los
 extractos de dicloruro de metileno se combinaron y se seca-
 ron. La evaporación del dicloruro de metileno produjo 106
 mg. de un sólido amorfo color canela que comprende 4- desa-
 cetilvincristinoato de etilo formado en la reacción ante-
 20 rior. El compuesto se purificó mediante cromatografía sobre
 gel de sílice, utilizando etanol como el eluyente. El espec-
 tro infrarrojo del compuesto mostró bandas fuertes de 1740
 cm^{-1} (grupo éster) y a 1695 cm^{-1} . El espectro de resonancia
 magnética nuclear (N-formilo) del compuesto estuvo de acuer-
 do con la estructura postulada, y el espectro molecular dió
 25 un ion molecular m/e = 796 de acuerdo con la fórmula empí-
 rica $C_{45}H_{56}N_4O_9$. La sal sulfato se preparó mediante el pro-
 cedimiento del ejemplo 3, y fue un sólido amorfo color canela.
 30 la.

Ejemplo 8

PREPARACION DE SULFATO DE 4-DESACETILVINBLASTINOATO DE 2-



1 HIDROXIETILO

5 Siguiendo el procedimiento del ejemplo 1, se convirtieron 5 g. de sulfato de vinblastina a 4-desacetilvinblastinato de sodio. La sal de sodio amorfa se disolvió en etilenglicol y esta solución se agregó a una solución de etilenglicol saturada con ácido clorhídrico a 0°C. La mezcla de reacción resultante se selló en un matraz y se dejó permanecer a temperatura ambiente durante 16 horas. El matraz de reacción se abrió después y se agregaron 750 ml. de agua. El 4-desacetilvinblastinato de 2-hidroxi-etilo formado en el procedimiento anterior se aisló de la mezcla de reacción mediante el procedimiento del ejemplo 3 para la preparación del éster etílico correspondiente. El sólido residual obtenido contuvo 4-desacetilvinblastinato de 2-hidroxi-etilo, el cual se purificó además mediante cromatografía sobre gel de sílice utilizando una mezcla disolvente de acetato de etilo-etanol 1:1 como el eluyente. Las fracciones que se determinó contenían el éster deseado, mediante cromatografía en capa delgada, fueron combinadas, y el disolvente se evaporó de las mismas. La sal sulfato del 4-desacetilvinblastinato de 2-hidroxi-etilo se preparó mediante el procedimiento del ejemplo 3. La base libre dió un espectro de ion molecular m/e = 798 de acuerdo con la fórmula empírica $C_{45}H_{58}N_4O_9$.

25

Ejemplo 9

PREPARACION DE 4-DESACETIL VINCRISTINA Y 1-DESFORMIL-4-DESACETIL VINCRISTINA

30

Se disolvieron dos gramos de sulfato de 4-desacetilvinblastina en una mezcla de 230 ml. de acetona y 50 ml. de ácido acético glacial. Se preparó una segunda so



1
5
10
15
20
25
30

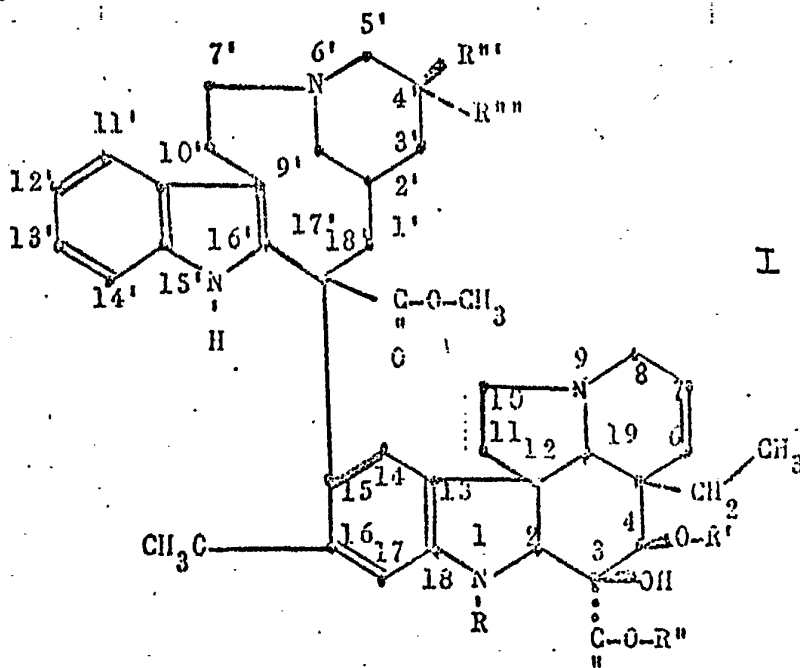
lución disolviendo 1 g. de trióxido de cromo en 300 ml. de anhídrido acético y 30 ml. de ácido acético glacial que contiene huellas de agua. La solución de trióxido de cromo se enfrió a -60°C . La solución de sulfato de 4-desacetilvinblastina se agregó después lentamente a la solución fría de trióxido de cromo durante un período de aproximadamente 15 minutos. La mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante aproximadamente 30 minutos a 60°C ., agregándose después lentamente hidróxido de amonio 14 normal, hasta que el pH fue de 9,2. Se agregó después 1 litro de agua, y la solución se evacuó para separar la acetona. La capa acuosa se extrajo cuatro veces con dicloruro de metileno. Los extractos de dicloruro de metileno se combinaron, se secaron y el dicloruro de metileno se evaporó al vacío para dejar un polvo amorfo color canela que comprende una mezcla de 4-desacetil vincristina y 1-desformil-4-desacetilvincristina formada en la reacción anterior. El residuo, un polvo amorfo color canela, se cromatografió sobre gel de sílice utilizando una mezcla disolvente de benceno-cloroformo-trietilamina (100-50-7,5), como el eluyente. Se combinaron fracciones que contienen los derivados de vincristina según se determina mediante cromatografía en capa delgada y el disolvente se evaporó de los mismos al vacío. Se obtuvieron 130 mg. de 1-desformil-4-desacetilvincristina que tiene las siguientes características físicas: Pico de espectro infrarrojo a 1730 cm^{-1} (que indica un grupo éster). No hubo pico que corresponda a un grupo formilo. El espectro infrarrojo fue idéntico al espectro infrarrojo de la 1-desformil-4-desacetil vincristina preparada a partir de la vincristina. Espectro ion molecular $m/e = 754, 413, 355, 154$.

1 tinoato de 2-cloroetilo mediante cromatografía en capa del-
gada. La evaporación del disolvente produjo un polvo amorfo
blanco que tiene los siguientes datos físico-químicos:
máximo de absorción infrarroja en 1735 cm^{-1} . Espectro de -
5 ion molecular $m/e = 816, 758, 475, 154$ de acuerdo con -
 $C_{45}H_{57}ClN_4O_8$. La sal sulfato se preparó como antes.

En resumen, la Patente de Invención que se so-
licita, deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

10 1. Un procedimiento para la preparación de nue-
vos derivados alcaloides vinca diméricos de fórmula:



en donde R es CH_3 , $CH=O$, o H,

R' es H o acetilo,

R'' es H, alquilo de C_2-C_5 , mono o dihidroxial-
quilo de C_2-C_5 , monohalógenoalquilo de C_2-C_5 ,
monoalcanoiloxi (C_2-C_4) alquilo de C_2-C_5 , ero-
tilo, metalilo, alilo, propargilo o 2-butin-
1-ol;

1

uno de R'' y R''' es hidróxilo y el otro es etilo; con la condición de que únicamente uno de R' y R'' puede ser hidrógeno cuando R es CH₃;

5

y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo formadas con ácidos no tóxicos;

10

caracterizado por hacer reaccionar un compuesto de fórmula I donde R, R', R'', R''' son como se definen anteriormente, y R'' es metilo, con una base diluida para formar el correspondiente ácido donde R es metilo o hidrógeno; R' es hidrógeno; R'' es hidrógeno; R''' y R'''' son como se definen anteriormente; y cuando R'' va a ser acetilo en el producto deseado, acetilar los ácidos así formados en presencia de piridina y opcionalmente formilar la posición 1 en el ácido vincristinóico antes o después de la acetilación, y opcionalmente esterificar el ácido así formado y, si se desea, hacer reaccionar el ácido o el éster así obtenido con un ácido seleccionado para proporcionar una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable.

15

20

2. Un procedimiento, según la reivindicación 1, para preparar ácido 4-desacetilvinblastinóico, caracterizado por hacer reaccionar vinblastina con hidróxido de sodio en etanol a temperatura de reflujo.

25

3. Un procedimiento, según la reivindicación 1, para preparar ácido 4-desacetil-1-desformil vincristinóico, caracterizado por hacer reaccionar vincristina con hidróxido de sodio en etanol a temperatura de reflujo.

30

4. Un procedimiento, según la reivindicación 2, para preparar sulfato de ácido 4-desacetilvinblastinóico, caracterizado por hacer reaccionar ácido 4-desacetilvinblastinóico como la sal de sodio con ácido sulfúrico en agua y

1 metanol.

5 5. Un procedimiento, según la reivindicación 2, -
para preparar sulfato de ácido vinblastinóico, caracteriza-
do por hacer reaccionar ácido 4-desacetilvinblastinóico, -
como la sal de sodio, con anhídrido acético, en presencia -
de piridina para formar ácido vinblastinóico, y hacer reac-
cionar el ácido resultante con ácido sulfúrico en metanol.

10 6. Un procedimiento, según la reivindicación 2, -
para preparar sulfato de vinblastinoato de etilo, caracte-
rizado por hacer reaccionar ácido 4-desacetilvinblastinóico -
como la sal de sodio con ácido clorhídrico etanólico para -
formar 4-desacetilvinblastinoato de etilo, hacer reaccionar
15 el vinblastinoato resultante con anhídrido acético en piri-
dina para formar vinblastinoato de etilo, y hacer reaccio-
nar el vinblastinoato de etilo con ácido sulfúrico en meta-
nol.

20 7. Un procedimiento, según la reivindicación 6, -
para preparar 4-desacetilvinblastinoato de metilo, caracte-
rizado por hacer reaccionar ácido 4-desacetil vinblastinói-
co como la sal de sodio con metanol saturado con cloruro de
hidrógeno.

25 8. Un procedimiento, según la reivindicación 6, -
para preparar sulfato de vinblastinoato de n-butilo, excep-
to que se utilizó n-butanol saturado con ácido clorhídrico
en lugar de etanol saturado con cloruro de hidrógeno.

9. Un procedimiento, como en la reivindicación 3,
para preparar 4-desacetil-1-desformilvincristinoato de eti-
lo, caracterizado por hacer reaccionar ácido 4-desacetil-1-
desformilvincristinóico con etanol saturado con cloruro de
30 hidrógeno.

1 10. Un procedimiento, según la reivindicación 9,
para preparar 4-desacetilvincristinoato de etilo, caracteri-
zado por hacer reaccionar 4-desacetil-1-desformil-vincristi-
noato de etilo con ácido fórmico y anhídrido acético.

5 11. Un procedimiento, según la reivindicación 2,
para preparar sulfato de 4-desacetilvinblastinoato de 2-hi-
droxietilo, caracterizado por hacer reaccionar ácido 3-des-
cetilvinblastinóico como la sal de sodio, con etilenglicol
10 saturado con ácido clorhídrico para formar 4-desacetilvin-
blastinoato de 2-hidroxietilo y hacer reaccionar el compues-
to resultante con ácido sulfúrico.

15 12. Un procedimiento, según la reivindicación 2,
para preparar 4-desacetilvinblastinoato de 2-cloroetilo, ca-
racterizado por hacer reaccionar ácido 4-desacetilvinblas-
tinóico, como la sal de sodio, con 2-cloroetanol saturado -
con cloruro de hidrógeno gaseoso.

20 13. Se reivindica por último como objeto sobre -
el que ha de recaer la Patente de Invención que se solici-
ta: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVA-
DOS ALCALOIDES VINCA DIMERICOS.

25 Todo conforme queda descrito y reivindicado en
la presente memoria descriptiva que consta de veintiseis -
páginas mecanografiadas.

Madrid, 16 Octubre 1.975
BERNARDO UNGRIA
P.P.

