

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

ES

11	NUMERO	10	A1
21	461.695		
22	FECHA DE PRESENTACION		
	3 AGOSTO 1977		

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:	32	FECHA	33	PAIS
31	NUMERO				
	---		---		---

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

64 TITULO DE LA INVENCION

"Procedimiento de preparar composiciones antraquinónicas anticáncer"

71 SOLICITANTE (ES)

ALLIED CHEMICAL CORPORATION

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Morris Township, Morris County, New Jersey, U.S.A.

72 INVENTOR (ES)

Robert C. HOARE

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

M. Curell Suñol

P... 5400-1493Sp
EX-US-IV

UNE A-4 MOD. 3106

UTILICESE COMO PRIMERA PAGINA DE LA MEMORIA

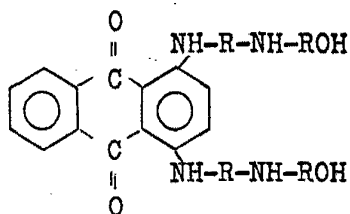
P A T E N T E D E I N V E N C I O N

por VEINTE años

5. solicitada en España a favor de ALLIED CHEMICAL CORPORATION, de nacionalidad norteamericana, domiciliada en Morris Township, Morris County, New Jersey, U.S.A., por "Procedimiento de preparar composiciones antraquinónicas anticáncer".

MEMORIA DESCRIPTIVABREVE SUMARIO DE LA INVENCION

10. Esta invención se refiere a la producción y uso de agentes que mejoran las enfermedades provocadas por el cáncer, tales como la leucemia, en los mamíferos. El ingrediente esencial activo, producido o utilizado en una cantidad eficaz, es un compuesto o derivado de antraquinona de la fórmula - - - - -



en que R es alquileno que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o sus sales farmacéuticamente aceptables. - - - - -

DESCRIPCION DETALLADA

5. Esta invención se refiere a la preparación y uso de un compuesto de antraquinona. - - - - -

10. El compuesto de la anterior fórmula en que R es etilo ha demostrado actividad contra la leucemia en ratones utilizados como animales normales de ensayo. Sería de esperar que cada uno de los compuestos de la anterior fórmula y sus sales farmacéuticamente aceptables presentaran actividad contra una amplia gama de enfermedades provocadas por el cáncer y especialmente enfermedades provocadas por el cáncer de la sangre, tales como la leucemia, en animales normales de ensayo y en el hombre a dosis substancialmente inferiores a las tóxicas. - - - - -

15. La composición preparada a partir de dichos compuestos es una composición de antraquinona de la anterior fórmula o sus sales farmacéuticamente aceptables, dispersada en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los compuestos de antraquinona a los que se refiere la invención pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto elegido del grupo formado por quinzarina (1,4-hidroxiantraquinona) y leucoquinzarina con una amina de la fórmula $NH_2-R-NH-R-OH$ en que R es alquileno de 1-4 carbonos. Preferentemente R es

- etilo. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de ácido, por ejemplo las de ácido clorhídrico, cítrico, succínico, maleico, tartárico, acético y ácidos similares. De las sales de ácido se prefieren el acetato y el cloruro. Tales sales son farmacéuticamente aceptables en el sentido de no tener una actividad o toxicidad substancialmente diferentes en comparación con la base. - - - - -
- 5.

- La invención incluye, en su aspecto reivindicado, un procedimiento de preparación de composiciones que incluyen dichos compuestos. - - - - -
- 10.

- Pueden prepararse disoluciones del ingrediente activo principal como base libre o como sal en agua o en agua mezclada adecuadamente con, por ejemplo, surfactantes. El compuesto preferido, en que R es etilo en la anterior fórmula, es ligeramente soluble en agua. Por ejemplo, puede convertirse en un acetato parcial que tiene un pH en disolución acuosa de unos 7,4 que, al analizarlo, demuestra tener aproximadamente 1,5 de residuos de ácido acético/núcleos antraquinona. Puede también producirse un diacetato que tiene un pH en disolución acuosa de unos 6,2. El diacetato es soluble en agua en un grado de unos 400 mg/mililitro de agua. La base o las distintas sales pueden hacerse aún más solubles por medio de la adición, a la composición, de surfactantes tales como hidroxipropilcelulosa. Pueden también prepa-
- 15.
- 20.
- 25.

rarse dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos, así como en aceites. Bajo condiciones ordinarias de almacenaje y de uso, estas preparaciones contienen un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos. - - - - -

Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse en formas adecuadas para uso inyectable, formas que incluyen disoluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos la forma debe ser estéril y debe ser fluida en el grado en que exista fácil inyectabilidad. Debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y de almacenaje y debe conservarse contra la acción contaminante de los microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un medio disolvente o de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. La adecuada fluidez puede mantenerse, por ejemplo, por medio del uso de un recubrimiento tal como lecitina, por medio de un mantenimiento del requerido tamaño de partícula en el caso de la dispersión y por medio del uso de surfactantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede realizarse por medio de varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo parabenos, clorobutanol, benzalcohol, fenol, ácido sórbico, time-

rosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo azúcares o cloruro sódico. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede realizarse por medio del uso, en las composiciones, de agentes que retrasen la absorción, por ejemplo monoestearato de aluminio y gelatina. - - - - -

5.

Se preparan disoluciones inyectables estériles por incorporación del ingrediente o los ingredientes activos principales en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con otros varios ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, a lo que sigue esterilización filtrada. De manera general, se preparan dispersiones incorporando los distintos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio básico de dispersión y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. - - - - -

10.

15.

En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son el secado al vacío y la técnica de secado por congelación que proporcionan un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una disolución previamente esterilizada por filtración del mismo. Los polvos pueden también esterilizarse mediante el uso de un gas, por ejemplo óxido de etileno, y la subsiguiente incorporación, con los ingredientes adicio-

20.

25.

nales requeridos y el apropiado tamaño de partícula, en el polvo básico para la posterior reconstitución con el líquido deseado de suspensión que, desde luego, debe ser también estéril a su vez. - - - - -

5. Tal como se utiliza aquí, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardantes isotónicos y de absorción y similares. La utilización de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocida en la técnica. Excepto en cualquier medio o agente convencional que sea incompatible con el ingrediente activo, su uso en las composiciones preparadas y utilizadas según la presente invención se prevé dentro del alcance de la invención. - - - - -
- 10.
- 15.

Pueden también incorporarse, en las composiciones preparadas y utilizadas según la invención, ingredientes activos suplementarios. - - - - -

20. Es especialmente ventajoso formular composiciones según la invención en forma de dosis unitarias para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La "forma de dosis unitarias", tal como se utiliza en la presente memoria y en las reivindicaciones, designa unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para los ani

males y el hombre a tratar, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de un material activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Las especificaciones para las nuevas formas de dosis unitarias de la invención vienen dictadas y dependen directamente de (a) las características peculiares del material activo y el efecto terapéutico particular a lograr y (b) las limitaciones inherentes a la técnica de la formación de composiciones de tal material activo para el tratamiento de enfermedades en seres vivos que se hallan enfermos y cuya salud corporal está perjudicada, como se revela en detalle en esta memoria, siendo, aquéllas, características de la presente invención. - - - - -

La dosificación del ingrediente activo principal para el tratamiento de las condiciones indicadas depende de la edad, del peso y del estado del paciente que se trate, del estado particular y su severidad y de la forma particular del ingrediente activo y la vía de administración. Una dosis diaria de unos 1 a unos 100 mg/kg, por sí sola o en dosis divididas de hasta 5 veces por día, abarca la gama eficaz para el tratamiento de la mayoría de estados en que el compuesto es eficaz y substancialmente no tóxico. Para un paciente de 75 kg, esto se traduce en de unos 75 y unos 7.500 mg/día. Si la dosis se divide, por ejemplo, en 3 dosis individuales, éstas irán de unos 25 a unos 2.500 mg del ingrediente activo. La gama preferida es de unos 2 a unos

50 mg/kg de peso corporal/día, siendo la más preferida de unos 2 a unos 30 mg/kg/día. - - - - -

5. El ingrediente activo principal se combina para la administración conveniente y eficaz, en cantidades eficaces, con un vehículo farmacéuticamente adecuado, en forma de dosis unitaria como se ha revelado anteriormente. Una forma de dosis unitaria puede, por ejemplo, contener el ingrediente activo principal en cantidades que van de unos 0,1 a unos 400 mg, siendo preferidos de unos 1 a unos 30 mg.

10. Expresado en proporciones, el ingrediente activo se halla en general presente entre unos 0,1 y unos 400 mg/ml de vehículo. - - - - -

15. En el caso de composiciones que contienen ingredientes activos suplementarios, las dosis se determinan con referencia a la dosis y a la forma de administración usuales de dichos ingredientes. - - - - -

20. Se alcanzan regresión y curación de cánceres, por ejemplo, utilizando administración intraperitoneal. Pueden administrarse o bien una sola dosis intravenosa o bien dosis reducidas diariamente. Son frecuentemente suficientes dosis diarias hasta unos 5 o 10 días. Es también posible omitir una dosis diaria o una dosis en días separados por otro u otros. Como puede verse de los regímenes de dosificación, la cantidad de ingrediente activo principal adminis-

- trada es una cantidad suficiente para facilitar la regresión y la curación de la leucemia o similares, en ausencia de efectos secundarios perjudiciales excesivos de naturaleza citotóxica respecto a los anfitriones que sufren del cáncer.
5. En los siguientes datos, utilizando ratones y siendo la base de la anterior fórmula en que R es etilo, puede verse que existe cierta toxicidad a unos 50 mg/kg y que tiene lugar una mayor toxicidad de unos 50 a unos 100 mg/kg. No obstante, se hallan dentro de la gama preferida dosis diarias de hasta 100 mg/kg, especialmente cuando se administran a regímenes diferentes y para varios de los compuestos de antraquinona y sales de dentro del alcance de la presente invención. - - - - -
- 10.

- Tal como se utiliza aquí, la expresión "cáncer" designa enfermedades de la sangre tales como leucemia, así como otras enfermedades de sólidos y/o no sólidos tales como los melancarcinomas, los carcinomas de pulmón y los tumores mamarios. Por "regresión" y "curación" se designa la detención y el retraso del crecimiento del tumor u otras manifestaciones de la enfermedad en comparación con el curso de la enfermedad en ausencia de tratamiento. En muchos de los siguientes ejemplos, se utilizan ratones como animales normales de ensayo para demostrar los niveles de eficacia y de toxicidad de los compuestos preparados y utilizados según la presente invención. Se halla dentro del alcance de la presente invención, sin embargo, tratar mamíferos superiores
- 15.
- 20.
- 25.

incluyendo los humanos con los nuevos compuestos preparados y utilizados según la invención para ayudar a la mejora y a la regresión de las enfermedades provocadas por el cáncer. A partir de los datos de ensayo con mamíferos inferiores es de esperar que los compuestos preparados y utilizados según la invención sean igualmente eficaces por debajo de niveles substancialmente tóxicos. - - - - -

Los siguientes ejemplos indican la forma y el procedimiento de preparar y de utilizar los compuestos según la invención. También incluyen datos de ensayo que ilustran la eficacia de los compuestos preparados y utilizados según la invención en el tratamiento de tumores del tipo leucemia en animales normales de ensayo. - - - - -

Ejemplo 1 - Preparación de la base

Se introdujeron 121 gramos de paraleucoquiniracina ó 2,3-dihidro-1,4-dihidroxi-antraquinona con 300 cc de disolvente, a base de alcohol etílico, en un matraz de 1 litro. La mezcla se agitó para formar una suspensión uniforme y en la suspensión se introdujeron 124 g de N-aminoetiletanolamina. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, se calentó a 75-80°C y se mantuvo a esta temperatura durante seis horas. Mientras se mantenía la temperatura a 75-80°C, la mezcla se aireó hasta que el producto leuco se oxidó como lo indicó el que el producto

estuviera completamente en disolución. La disolución se enfrió a 10°C, se filtró, se lavó con alcohol etílico y se secó bajo vacío. El rendimiento fue de 138 gramos. - - - - -

5. Otras bases que se hallan dentro del alcance de esta invención pueden prepararse con substitución de la N-aminoetiletanolamina por N-aminometilmetanolamina, N-aminopropilpropanolamina o N-aminobutilbutanolamina. - - - - -

Ejemplo 2 - Preparación de sales

10. Cualquiera de las bases del Ejemplo 1 puede neutralizarse con un ácido tal como ácido acético o ácido clorhídrico para formar una sal. Se añade un exceso de ácido acético acuoso diluido al compuesto seco del Ejemplo 1 (derivado de N-aminoetiletanolamina). La mezcla se calienta a unos 50°C y se mantiene a esta temperatura durante 15. unas 2 horas. Se añade un exceso de cloroformo y después de separación de fases se descarta la fase orgánica. Entonces la sal se seca al vacío. - - - - -

Ejemplo 3 - Preparación de composición inyectable

20. Se disuelven 10 gramos de sal acetato del Ejemplo 2 en 1 litro de disolución salina, creando una disolución con 10 mg/ml de ingrediente activo. Una dosis de 5 ml de esta composición proporciona así 50 mg de ingrediente activo.

5. Pueden prepararse disoluciones de las distintas bases y sales preparadas y utilizadas según la invención con la mayor parte de los disolventes aceptables farmacéuticamente. Particularmente con las bases libres, un surfactante tal como la hidroxipropilcelulosa, mejora la solubilidad. - - - - -

Ejemplo 4 - Preparación de composición en polvo

10. Se dispersan 10 gramos de la base libre del Ejemplo 1, preparada utilizando N-aminoetiletanolamina, en 190 gramos de glicerina. Una dosis de 1 gramo de este polvo proporciona así 50 mg de ingrediente activo. - - - - -

15. Pueden también prepararse polvos con la mayor parte de los agentes de dispersión normales farmacéuticamente aceptables. El polvo puede combinarse entonces con otros agentes, según se desee, y encapsularse por técnicas convencionales. - - - - -

Ejemplo 5

20. El día 0 seis ratones macho de la cepa CDF₁ se inyectaron intraperitonealmente con 10⁶ células de leucemia linfoide L-1210. Empezando el día 1 y diariamente durante un total de 9 días, cada ratón se trató por inyección intraperitoneal de 250 mg/kg de peso corporal del compuesto del Ejemplo 1 en un vehículo de hidroxipropilcelulosa vendido co

mo Klucel. Después de 5 días sobrevivían dos de los seis. El tiempo medio de supervivencia fue de 6,5 días para los animales ensayados y de 9,9 días para los controles. - - -

Ejemplos 6 - 11

5. Se repitió el ensayo del Ejemplo 5 para grupos de 6 ratones y para un grupo de controles a las dosis indicadas en la Tabla 1. Los tiempos medios de supervivencia se indican en la Tabla 1. El ensayo se detuvo después de 30 días. - - - - -

Tabla 1 - Leucemia linfoide (L-1210)

<u>Ejemplo</u>	<u>Dosis mg/kg peso corporal</u>	<u>Supervivencia a 5 días</u>	<u>Tiempo medio de supervivencia</u>	<u>Curas aparentes **</u>
5	250	2/6	6,5	
6	125	4/6	6,8	
7	62,5	5/6	21,8	2
Control	0		9,9	
8 ^{***}	95,0	6/6	7,3	
9 ^{***}	62,5	6/6	11,3	
10 ^{***}	42,0	6/6	11,3	
11 ^{***}	28,0	6/6	18,3	2
Control	0		8,4	

^{**}Cepa de ratones BDF₁

^{***}Ratones supervivientes hasta el final del ensayo.

Resulta de estos ensayos que las dosis de 62,5 mg/kg de peso corporal y superiores empiezan a presentar cierta toxicidad para los ratones bajo este régimen de ensayo. Se hallan tiempos de supervivencia substancialmente mejores en comparación con los controles (sólo inoculados) a dosis de unos 28 a unos 62,5 mg/kg de peso corporal. - - - - -

5.

Ejemplo 12

Se inocularon seis ratones macho, cepa CDF₁, con leucemia linfocítica P388, aplicada intraperitonealmente a 10⁶ células en fluido ascítico. Empezando el primer día después de la inoculación y luego diariamente durante 9 días, se aplicó el compuesto del Ejemplo 1 a un nivel de dosis de 128 mg/kg de peso corporal en disolución salina con "Tween-80". Después de 5 días sobrevivieron 4 de los 6 ratones y el tiempo medio de supervivencia de los 6 ratones fue de 5,9 días. - - - - -

10.

15.

Ejemplos 13 - 29

Se repitió el Ejemplo 12 con grupos de seis ratones a cantidades de dosis diferentes con los resultados ilustrados en la Tabla 2. Este ensayo se detuvo después de 30 días. - - - - -

20.

Tabla 2 - Leucemia linfocítica (P388)

<u>Ejemplo</u>	<u>Dosis mg/kg peso corporal</u>	<u>Supervivencia a 5 días</u>	<u>Tiempo medio de supervivencia</u>	<u>Curas aparentes</u>
12	128	4/6	5,9	
13	64	6/6	6,4	
14	32	6/6	8,8	
15	16,0	6/6	29,7	3
16	8,0	6/6	29,9	4
17	4,0	6/6	29,7	3
Control	0		10,8	
<hr/>				
18	128	6/6	6,4	
19	64	4/6	6,3	
20	32	6/6	7,8	
21	16,0	6/6	10,1	
22	8,0	6/6	21,0	%
23	4,0	6/6	29,7	3
Control	0		11,0	
<hr/>				
24	128	2/6	5,0	
25	64	6/6	6,2	
26	32	5/6	8,0	
27	16,0	6/6	28,8	2
28	8,0	6/6	23,0	
29	4,0	6/6	19,8	
Control	0		10,8	

NOTA: El símbolo "%" indica, en esta tabla y en las posteriores, que los únicos animales supervivientes se juzgaron después de autopsia como "sin contagio" de tumor. - - - -

Estos ensayos demuestran una actividad substancial en la gama de 4,0-16,0 mg/kg de peso corporal. A una dosis

5.

de 32,0 mg/kg y especialmente 64,0 mg/kg, la toxicidad de la droga parece superar los efectos benéficos. - - - - -

Ejemplo 30

Se inocularon intraperitonealmente otros 10 ratones macho, cepa BDF₁, con una dosis no especificada del homogenato de tumor melancarcinoma B-16. Empezando el primer día después de la inoculación y en días alternos posteriores los ratones se trataron con inyecciones intraperitoneales de 128 mg/kg de peso corporal del compuesto del Ejemplo 1 en disolución salina con "Tween-80". Las inyecciones tuvieron lugar intraperitonealmente en los supervivientes los días 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 y 17. El tiempo medio de supervivencia fue de 5,2 días en comparación con los 21,3 días del control. La valoración acabó el día 60. - - - - -

15.

Ejemplos 31 - 47

Se repitió el Ejemplo 30 a los niveles de dosis indicados en la Tabla 3 con los resultados indicados en la Tabla 3. - - - - -

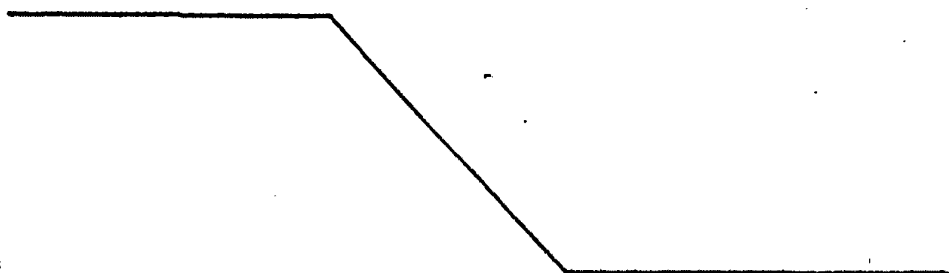


Tabla 3 - Melanocarcinoma (B-16)

<u>Ejemplo</u>	<u>Dosis mg/kg peso corporal</u>	<u>Superviven- cia a 5 días</u>	<u>Tiempo medio de supervi- vencia</u>	<u>Curas aparentes</u>
30	128	3/10	5,2	
31	64,0	8/10	6,1	
32	32,0	10/10	10,8	
33	16,0	10/10	59,8	8
34	8,0	10/10	59,8	6
35	4,0	10/10	59,8	6
Control	0		21,3	
36	128	4/10	5,4	
37	64,0	8/10	7,1	
38	32,0	10/10	11,1	
39	16,0	10/10	51,0	sólo supervi- vientes con tumor
40	8,0	10/10	60,0	10
41	4,0	10/10	43,0	%
Control	0		25,2	
42	128	10/10	9,3	
43	64,0	8/10	16,8	
44	32,0	10/10	37,0	
45	16,0	10/10	34,0	
46	8,0	10/10	36,0	
47	4,0	10/10	32,0	
Control	0		18,8	
48 ³³³³	128		7,0	
49 ³³³³	64,0		12,0	
50 ³³³³	32,0		31,0	
51 ³³³³	16,0		31,0	
52 ³³³³	8,0		26,3	1
53 ³³³³	4,0		27,0	
Control	0		30,3	

* El suero de los Ejemplos 30-41 se diluyó a 10:1 antes de la inoculación en los Ejemplos 42-53. También se omitió el surfactante Tween-80.

5. ** En los Ejemplos 48-53, las inyecciones se dieron los días 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 y 17.

Ejemplo 54

10. Se inocularon intraperitonealmente seis ratones macho, cepa CDF₁, con 10⁵ células de leucemia linfoide L-1210. Empezando el primer día después de la inoculación y diariamente durante un total de 9 días, los ratones se inocularon con inyecciones intraperitoneales de 128 mg/kg de peso corporal del compuesto del Ejemplo 1 en disolución salina. Cinco de los seis ratones sobrevivieron al quinto día y el tiempo medio de supervivencia era de 6,1 días. El ensayo se detuvo después de 30 días. - - - - -

15.

Ejemplos 55 - 77

20. Se repitió el Ejemplo 54 a los niveles de dosis indicados en la Tabla 4. En los Ejemplos 62-69 las inyecciones fueron subcutáneas. En los Ejemplos 70-77 los compuestos se administraron oralmente. - - - - -

Tabla 4 - Leucemia Linfoide (L-1210)

<u>Ejemplo</u>	<u>Dosis mg/kg peso corporal</u>	<u>Superviven- cia a 5 días</u>	<u>Tiempo medio de supervi- vencia</u>	<u>Curas aparentes</u>
54 <u>IP</u>	128	5/6	6,1	
55	64,0	6/6	7,8	
56	32,0	6/6	11,0	
57	16,0	6/6	15,3	%
58	8,0	6/6	16,0	
59	4,0	6/6	12,8	3
60	2,0	6/6	12,7	
61	1,0	6/6	11,3	
62 <u>SC</u>	128	6/6	10,3	3
63	64,0	6/6	11,8	
64	32,0	6/6	11,8	
65	16,0	6/6	10,4	
66	8,0	6/6	8,4	%
67	4,0	6/6	8,3	3
68	2,0	6/6	8,4	
69	1,0	6/6	8,2	
70 <u>Oral</u>	512	6/6	8,1	
71	256	6/6	9,0	
72	128	6/6	8,8	
73	64,0	6/6	8,8	
74	32,0	6/6	8,4	
75	16,0	6/6	8,4	
76	8,0	6/6	9,2	
77	4,0	6/6	9,2	
Control	0		8,0	

Quando se administró intraperitonealmente, el com-
puesto demostró una substancial actividad a dosis de 16,0 y
8,0 mg/kg de peso corporal. Se observó una actividad más li

mitada en esta serie de ensayos particulares cuando se inyectaron las mismas dosis o dosis más altas subcutáneamente o cuando se introdujeron por administración oral. - - - - -

Ejemplo 78

5. Se inocularon 10 ratones macho, cepa BDF₁, con homogenato de carcinoma Lewis de pulmón, intravenosamente y a dosis no especificada. Empezando el primer día después de la inoculación y durante un total de 9 días, los ratones se trataron con 32 mg del compuesto del Ejemplo 1 por kg de peso corporal. Después de 5 días sobrevivieron los 10 ratones. El tiempo medio de supervivencia fue de 8,2 días. - -
- 10.

Ejemplos 79 - 89

15. Se repitió el Ejemplo 78 a los niveles de dosis indicados en la Tabla 5. En los Ejemplos 84-89, se utilizaron para la inoculación fragmentos de tumores en vez de homogenato de tumores. Estos ensayos se detuvieron después de 60 días. - - - - -

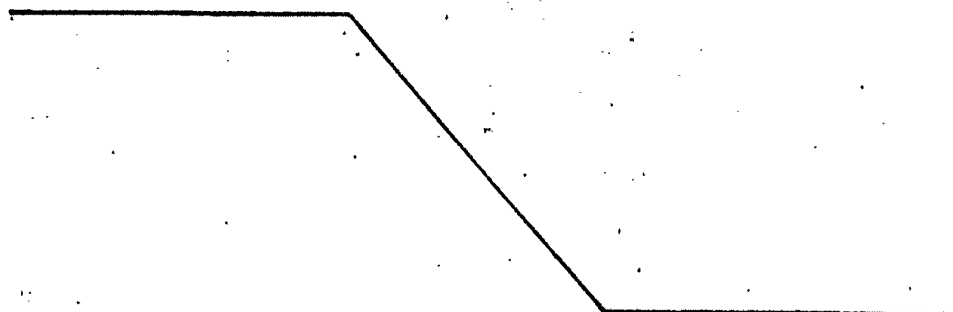


Tabla 5 - Carcinoma Lewis de pulmón

<u>Ejemplo</u>	<u>Dosis mg/kg peso corporal</u>	<u>Superviven- cia a 5 días</u>	<u>Tiempo medio de supervi- vencia</u>	<u>Curas aparentes</u>
78	32,0	10/10	8,2	
79	16,0	10/10	18,0	
80	8,0	10/10	32,0	%
81	4,0	10/10	23,3	%
82	2,0	10/10	25,0	%
83	1,0	10/10	22,8	
Control	0		22,7	
<hr/>				
84	32,0	10/10	8,4	
85	16,0	10/10	11,0	
86	8,0	10/10	28,0	
87	4,0	10/10	27,0	
88	2,0	10/10	39,0	
89	1,0	10/10	50,3*	
Control	0		24,0	

Para este tumor, el efecto fue apreciable en la gama de dosis de 2,0-8,0 mg/kg aunque los resultados no son tan espectaculares como para otros tumores. El alto valor en el Ejemplo 89 es algo contradictorio con la curva de toxicidad basada en el cambio de peso corporal, que tiene una punta a una dosis de 2,0 mg/kg. - - - - -

Ejemplo 90

Se inocularon intraperitonealmente seis ratones hembra, cepa CDF₁, con 10⁶ células de leucemia linfocítica P388. El primer día después de la inoculación y los días 5 y

9, con un total de 3 días, los ratones se trataron con 512 mg/kg de peso corporal del compuesto del Ejemplo 1 en disolución salina con surfactante "Tween-80". Los ensayos se detuvieron después de 30 días. El tiempo medio de supervivencia fue de 2,1 días. - - - - -

5.

Ejemplos 91 - 102

Se repitió el Ejemplo 90 a los niveles de dosificación indicados en la Tabla 6 con los resultados indicados.

Tabla 6 - Ratones hembra

<u>Ejemplo</u>	<u>Dosis mg/kg peso corporal</u>	<u>Supervivencia a 5 días</u>	<u>Tiempo medio de supervivencia</u>	<u>Curas aparentes</u>
90*	512	0/6	2,1	
91*	256	0/6	2,7	
92*	128	2/6	5,0	
93*	64,0	5/6	7,8	
94*	32,0	6/6	29,7	1
95*	16,0	6/6	26,0	1
Control	0		11,1	
96**	64,0	4/6	6,3	
97**	32,0	6/6	8,7	
98**	16,0	6/6	34,9	4
99**	8,0	6/6	28,0	1
100**	4,0	6/6	22,3	
101**	2,0	6/6	24,0	
102**	1,0	5/6	17,9	
Control	0		10,5	

* Los Ejemplos 90-95 implicaron la inyección en los días 1, 5 y 9 solamente.

Los Ejemplos 96-102 y sus controles se prosiguieron hasta el día 35. Las inyecciones fueron diarias durante 9 días.

Estos ensayos demuestran una actividad substancial, particularmente a dosis de unos 16,0 mg/kg. - - - -

5.

Ejemplo 103

10.

Se inocularon 10 ratones macho, cepa BDF₁, con la misma cantidad inespecificada de homogenato de tumor de melanocarcinoma B-16 como en los Ejemplos 30-41, diluido a 1:10 como en los Ejemplos 42-53, intraperitonealmente. Empezando el primer día después de la inoculación y en días alternos después durante un total de 9 inyecciones, los ratones se inyectaron con 125 mg/kg de peso corporal del compuesto del Ejemplo 1 en disolución salina con hidroxipropilcelulosa, vendida como Klucel. Los diez ratones sobrevivían después de 5 días. El tiempo medio de supervivencia era de 8,4 días. El ensayo se detuvo después de 60 días. - - -

15.

Ejemplos 104 - 107

Se repitió el Ejemplo 103 a las dosis indicadas en la Tabla 7. - - - - -

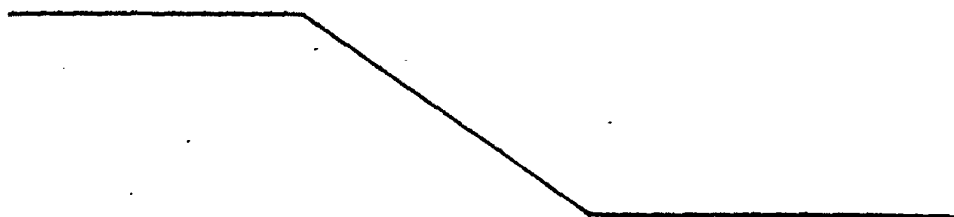


Tabla 7

<u>Ejemplo</u>	<u>Dosis mg/kg peso corporal</u>	<u>Supervivencia a 5 días</u>	<u>Tiempo medio de supervivencia</u>	<u>Curas aparentes</u>
103	125	10/10	8,4	
104	62,5	10/10	16,0	2
105	31,2	10/10	49,0	2
106	16,6	10/10	43,3	2
107	8,3	10/10	42,8	
Control	0		18,7	

En estos ensayos, se observaron resultados substanciales en la gama de dosis de 8,3-31,2 mg/kg. Estos resultados refuerzan aún la actividad contra melancarcinoma ilustrada en los Ejemplos 30-53. - - - - -

5.

Ejemplo 108

Se inocularon 10 ratones macho, cepa CDF₁, con un homogenato diluido de tumor Colon 26 (identificación C6 del National Cancer Institute). Se inyectaron con 125 mg/kg de peso corporal del compuesto del Ejemplo 1 en disolución de hidroxipropilcelulosa, vendida como Klucel, los días 1, 5 y 9 después de la inoculación. Esta valoración se prosiguió durante 70 días. Los 10 ratones sobrevivían el quinto día y el tiempo medio de supervivencia fue de 27,0 días en comparación con 26,5 para los controles. - - - - -

Ejemplos 109 - 112

Se repitió el Ejemplo 108 a las dosis indicadas en la Tabla 8. -----

Tabla 8 - Tumor C6

<u>Ejemplo</u>	<u>Dosis mg/kg peso corporal</u>	<u>Supervivencia a 5 días</u>	<u>Tiempo medio de supervivencia</u>	<u>Curas aparentes</u>
108	125	10/10	27,0	
109	35,2	10/10	32,0	
110	31,2	10/10	29,0	
111	16,6	10/10	29,0	
112	8,3	10/10	33,8	
Control	0		26,5	

5. Estos ensayos demuestran cierta eficacia contra este tumor particular. Se halló un grado menor de toxicidad a la dosis de 125 mg/kg en comparación con algunos de los otros Ejemplos. -----

Ejemplo 113

10. Se inocularon diez ratones macho, cepa CD8F₁, con homogenato de tumor mamario de CD8F₁ entre unos 500 y 1000 mg de tamaño, subcutáneamente. Los días 1, 8, 15 y 22 después de la inoculación, los ratones se trataron con una inyección de 125 mg/kg de peso corporal del compuesto del Ejem

plo 1 en hidroxipropilcelulosa (Klucel) intraperitonealmente. Ocho de los diez ratones sobrevivían el quinto día. Después de 36 días, los ratones fueron muertos y se determinó que el peso medio del tumor era de 630 mg. - - - - -

5.

Ejemplos 114-117

Se repitió el Ejemplo 113 a las dosis ilustradas en la Tabla 8. - - - - -

Tabla 8 - Tumor mamario de CD8F₁ - Peso del tumor

<u>Ejemplo</u>	<u>Dosis mg/kg peso corporal</u>	<u>Supervivencia a 5 días</u>	<u>Peso medio del tumor (mg)</u>
113	125	8/10	630
114	62,5	9/10	989
115	31,2	10/10	423
116	16,6	10/10	1354
117	8,3	10/10	1002
Control	0		1665

10.

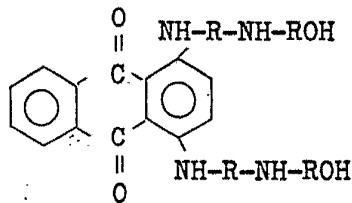
Estos resultados indican una substancial inhibición del crecimiento del tumor a muchos niveles o dosis y una disminución evidente de los tamaños de tumor en algunos casos. -

A los efectos consiguientes se declaran de novedad y propiedad para España, sus territorios y plazas de soberanía, las reivindicaciones que siguen. - - - - -

REIVINDICACIONES

1.- Procedimiento de preparar composiciones antraquinónicas anticáncer, caracterizado porque comprende las etapas de -----

5. (A) hacer reaccionar un compuesto del grupo formado por quinizarina (1,4-hidroxi-antraquinona) y leucoquinizarina con una amina que tiene la fórmula $NH_2-R-NH-R-OH$ en que R es una cadena alquílica de 1-4 átomos de carbono, formando un compuesto antraquinónico de la fórmula -----



10. (B) neutralizar químicamente, en su caso, dicho compuesto antraquinónico por reacción con una sal o ácido no tóxicos y farmacéuticamente aceptables; y -----
15. (C) incorporar dicho compuesto antraquinónico o dicha sal no tóxica y farmacéuticamente aceptable del mismo en un vehículo no tóxico y farmacéuticamente aceptable. -----

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por actuar de modo que R sea etilo. - - - - -

5. 3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho compuesto antraquinónico se neutraliza con un ácido elegido del grupo del ácido acético y del ácido clorhídrico. - - - - -

4.- Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque dicho compuesto antraquinónico se neutraliza con ácido acético, formándose una sal de acetato. - - - - -

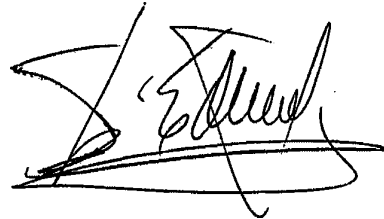
10. 5.- Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque dicha neutralización forma una sal de diacetato. - - - - -

15. 6.- Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque dicha neutralización forma una sal de acetato parcial. - - - - -

7.- "PROCEDIMIENTO DE PREPARAR COMPOSICIONES ANTRAQUINONICAS ANTICANCER". - - - - -

20. Todo ello conforme se describe y reivindica en la presente memoria que consta de veintiocho hojas foliadas y mecanografiadas por una sola de sus caras.

BARCELONA, 3 AGOSTO 1977
P.A. M.CURELL SUÑOL



ngi.