



ESPAÑA

20 SET. 1978

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la memoria e junta.

PATENTE DE INVENCION

| | | | | | |
|----|----|----|-----------------------|----|----|
| 10 | ES | 11 | NUMERO | 10 | A1 |
| | | 21 | 466127 | | |
| | | 22 | FECHA DE PRESENTACION | | |
| | | | 18 Enero 1.978 | | |

| | | | | | |
|----|--------------|----|---------|----|----------------|
| 30 | PRIORIDADES: | 32 | FECHA | 33 | PAIS |
| 31 | NUMERO | | | | |
| | 760,595 | | 19-1-77 | | Estados Unidos |

| | | | | | |
|----|---------------------|----|-----------------------------|----|-----------------------------------|
| 47 | FECHA DE PUBLICIDAD | 51 | CLASIFICACION INTERNACIONAL | 62 | PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA |
| | | | CO4D | | |

| | |
|----|--|
| 54 | TITULO DE LA INVENCION |
| | "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE 1-FORMIL-INDOL-DIHI-DROINDOL DIMERO". |

| | |
|----|-----------------------|
| 71 | SOLICITANTE (S) |
| | ELI LILLY AND COMPANY |

| | |
|--|---|
| | DOMICILIO DEL SOLICITANTE |
| | 307 East McCarty Street - Indianapolis, Indiana 46206 - ESTADOS UNIDOS. |

| | |
|----|--|
| 72 | INVENTOR (ES) |
| | Gerald Lee Thompson, de nacionalidad estadounidense. |

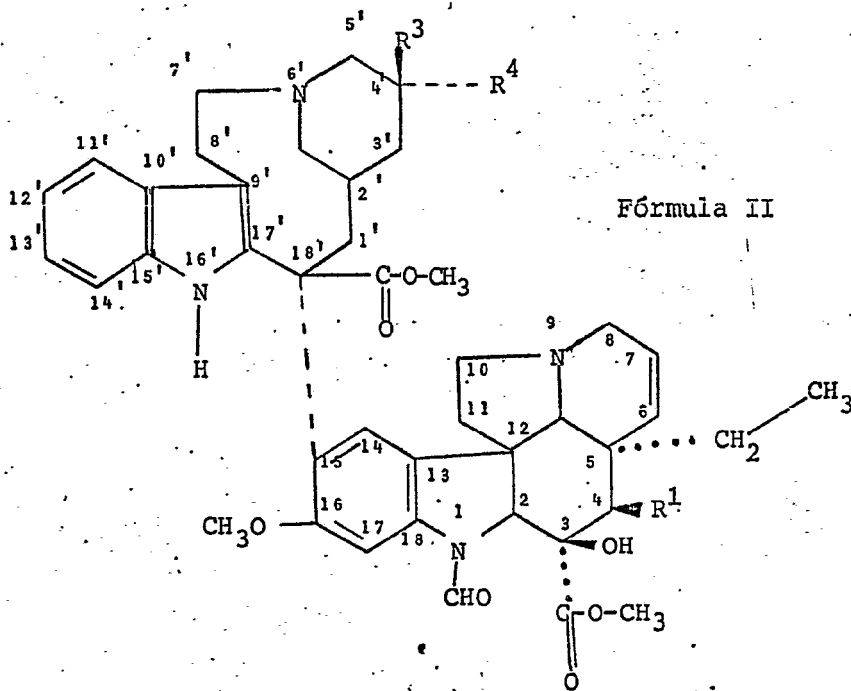
| | |
|----|--------------|
| 73 | TITULAR (ES) |
| | |

| | |
|----|----------------------------|
| 74 | REPRESENTANTE |
| | D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU |

1 Esta invención se refiere a derivados de 4'-desoxi-VLB
"A" y 4'-desoxi-VLB "B", producidos por oxidación de las mismas.

La invención proporciona un procedimiento para la prepara-
ción de 1-formil-indol-dihidroindol dímero de fórmula:

5



10

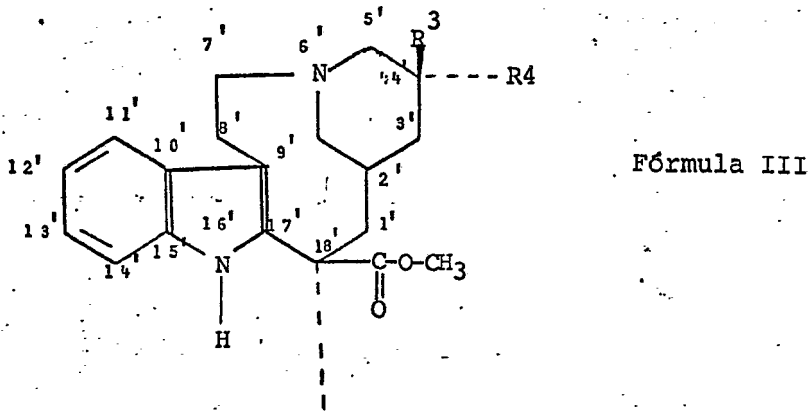
15

donde R^1 es OH u $O-C-CH_3$; uno de los radicales R^3 y R^4 es H

20

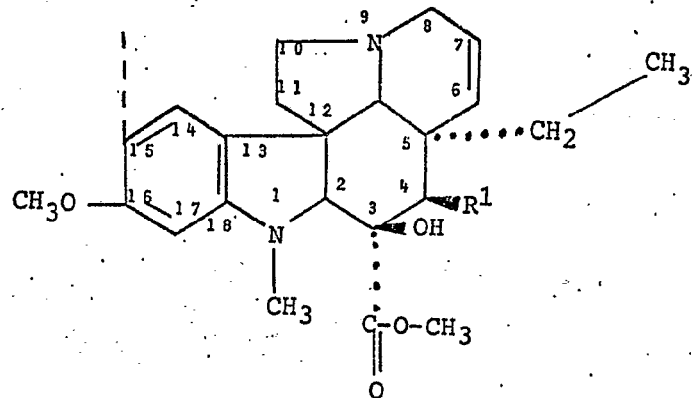
y el otro es C_2H_5 ; y sales farmacéuticamente aceptables de los
mismos; cuyo procedimiento se caracteriza por hacer reaccio-
nar 1-metil-indol-dihidroindol dímero de fórmula:

25



30

Fórmula III

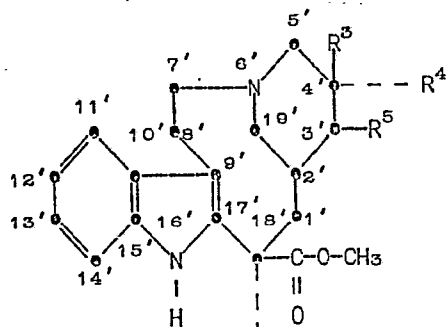


1
5
10
donde R¹, R³ o R⁴ son los descritos anteriormente, con un agente oxidante a base de ácido crómico, en una mezcla de reacción a baja temperatura y recuperar la base libre o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

15
20
25
Se ha encontrado que diversos alcaloides naturales que se obtienen de la Vinca rosea son activos en el tratamiento de los tumores experimentales en animales. Entre éstos se encuentran la leurosina (patente estadounidense número 3.370.057), la vincalcoblastina (vinblastina) que será denominada en lo que sigue VLB (patente estadounidense n° 3.097.137), la leurosidina (vinrosidina) y la leurocristina (VCR o vincristina) (ambas en la patente estadounidense n° 3.205.220), 4'-desoxi-VLB "A" y "B", Tetrahedron Letters, 783 (1968) (también está descrita en esta referencia la desacetil-leurosinhidrazida); 4-desacetoxivinblastina (patente estadounidense 3.954.773); 4-desacetoxi-3'-hidroxivinblastina (patente estadounidense 3.944.554); leurocolombina (patente estadounidense 3.890.325); leuroformina (N-formil-leurosina, véase la patente belga 811.110) y vincadiprina (patente estadounidense 3.887.565). Dos de estos alcaloides, VLB y leurocristina, se venden ahora como drogas para el tratamiento de los tumores malignos en el hombre, especialmente las leucemias y enfermedades afines.

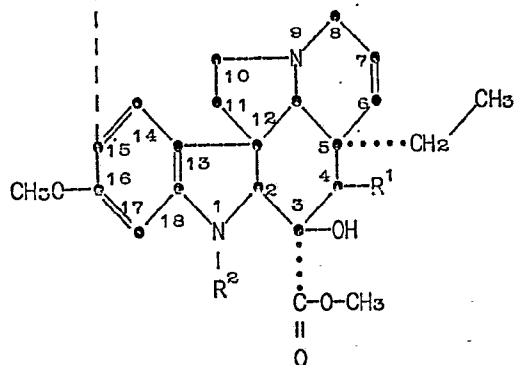
30
Los alcaloides del indol-dihidroindol dímero que se obtienen de la Vinca rosea pueden ser representados por la fórmula I.

1



Formula I

5



10

15

20

En la fórmula I donde R¹ es acetoxi, R² es metilo, R³ es hidroxilo, R⁴ es etilo y R⁵ es H, está representada la VLB; donde R¹ es acetoxi, R² es formilo, R³ es hidroxilo, R⁴ es etilo y R⁵ es H, está representada la vincristina; donde R¹ es acetoxi, R² es metilo, R³ es etilo, R⁴ es hidroxilo y R⁵ es H, está representada la leurosina; donde R¹ es acetoxi, R² es metilo, R³ y R⁵ son H y R⁴ es etilo, está representada la 4'-desoxi-VLB "A"; donde R¹, R² y R⁵ son los mismos que en la 4'-desoxi-VLB "A" pero R³ es etilo y R⁴ es hidrógeno, está representada la 4'-desoxi-VLB "B"; y donde R¹ es acetoxi, R² es metilo, R³ es etilo y R⁴ y R⁵ unidos forman un anillo α-epóxido, está representada la leurosina.

25

30

Entre los alcaloides citados, la vincristina es la más útil y el menos asequible a partir de la vinca. Recientemente, Jovanovics y colaboradores, patente estadounidense N°3.899.493, han puesto a punto un método oxidativo para convertir la VLB relativamente más abundante en vincristina por oxidación con ácido crómico a bajas temperaturas (-60°C). Existen otros alcaloides relativamente abundantes como la leurosina en la fracción indol-dihidroindol dímero de la vinca y sería conveniente

1 convertir directa o indirectamente estos alcaloides en vincristina o en una droga de actividad oncolítica comparable. Se sabe que la leurosina puede convertirse en 4'-desoxi-VLB "B" (junto con cantidades variables de 4'-desoxi-VLB "A") por tratamiento con níquel Raney en etanol absoluto a reflujo; véase Neuss, 5 Gorman, Cone y Huckstep, Tetrahedron Letters, 783-7 (1968). Aunque la leurosina ha presentado actividad oncolítica en tumores experimentales en ratones, la respuesta clínica es limitada. Se ha indicado que la 4'-desoxi-VLB "A" y la 4'-desoxi-VLB 10 "B" carecen de actividad reproducible en tumores experimentales en ratones.

Un objeto de esta invención es convertir la leurosina a través de la 4'-desoxi-VLB "A" y "B" en derivados oncolíticamente activos de 4'-desoxi-VLB "A" y "B", convirtiendo así 15 indirectamente el alcaloide relativamente abundante leurosina en una droga de mayor utilidad clínica potencial.

Un compuesto de fórmula I donde R^4 es etilo, R^1 es acetoxi, R^2 es CHO y R^3 y R^5 son hidrógeno se denomina 4'-desoxivincristina; un compuesto donde R^1 es hidroxilo pero los 20 otros grupos son los mismos se denomina 4'-desoxi-4-desacetilvincristina. Como no se conoce un alcaloide compañero de la vincristina con una configuración inversa de hidrógeno y etilo en la posición 4' con respecto a la encontrada en la vincristina, los compuestos donde R^3 es etilo y R^4 es hidrógeno serán remitidos a la leurosidina que tiene la misma configuración 25 en la posición 4' que la 4'-desoxi-VLB "B" y serán denominados derivados de 1-formil-leurosina; es decir, 4'-desoxi-1-formil-leurosidina (o 4'-desoxiepivincristina) y 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosidina, donde R^1 es acetoxi e hidroxilo respectivamente. En cada uno de los nombres anteriores, 30 se sobreentiende que el grupo 1-metilo de la leurosidina ha

1 sido sustituido por un grupo formilo y que se ha omitido el término "1-desmetil" para simplificar la nomenclatura.

5 Los ácidos no tóxicos útiles para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen las sales derivadas de ácidos inorgánicos como clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromhídrico, yodhídrico, nitroso, fosforoso y similares así como las sales de ácidos orgánicos no tóxicos que incluyen ácidos monocarboxílicos y dicarboxílicos alifáticos, ácidos 10 fenilalcanoicos, hidroxialcanoicos y alcanodioicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, etc. Por lo tanto, estas sales farmacéuticamente aceptables incluyen los sulfatos, piro-sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, nitratos, fosfatos, monohidrógeno-fosfatos, dihidrógeno-fosfatos, 15 metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formiatos, isobutiratos, capratos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, 20 dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, tereftalatos, bencenosulfonatos, toluensulfonatos, clorobencenosulfonatos, xilensulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, 2-hidroxibutiratos, glicolatos, malatos, tartratos, metanosulfonatos, propanosulfonatos, 25 naftalen-1-sulfonatos, naftalen-2-sulfonatos y sales similares.

30 Los compuestos de esta invención de Fórmula I donde R^2 es formilo se preparan por oxidación con ácido crómico a baja temperatura de 4'-desoxi-VLB "A" o 4'-desoxi-VLB "B" en condiciones ácidas, v.g. trióxido de cromo y ácido acético.

1 La 4'-desoxi-VLB "A" o "B" o sus derivados 1-formílicos
pueden hidrolizarse a los correspondientes derivados 4-desace-
tilados en condiciones ácidas o básicas. Estos derivados 4-
desacetilados de la 4'-desoxi-VLB "A" y "B" pueden ser oxi-
5 dados después a baja temperatura (-60°C) con trióxido de cro-
mo sin convertir el grupo 4-hidroxi en una cetona para dar
4'-desoxi-4-desacetilvincristina y 4'-desoxi-4-desacetil-1-
formil-leurosídina.

10 El método preferido de llevar a cabo la reacción de hi-
drólisis anterior hace uso de carbonato sódico en metanol a
la temperatura de reflujo. Puede emplearse hidrato de hidra-
zina. Otras bases que pueden emplearse son t-butóxido potási-
co, metóxido o etóxido sódico o potásico, piridina, trietil-
amina (u otra amina terciaria), urea y similares, en disol-
15 ventes orgánicos polares como los alcoholes inferiores. Tam-
bién puede emplearse hidróxido sódico y potásico diluido,
por ejemplo en metanol, pero debe adoptarse la precaución
de no operar con concentraciones de base o a temperaturas de
reacción a las cuales sean afectados otros grupos hidroliza-
20 bles de la 4'-desoxivincristina o de la 4'-desoxi-1-formil-
leurosídina. También pueden emplearse bases que operan solamen-
te en disolventes no polares; por ejemplo hidruro sódico o
de litio en benceno, éter, tetrahidrofurano, etc o la sal
sódica de dimetilsulfóxido en DMSO. Pueden utilizarse tempe-
25 raturas que oscilan entre la temperatura ambiente (25°C) y
el punto de ebullición del disolvente particular. Por otra
parte, la hidrólisis puede realizarse en condiciones ácidas,
v.g. en metanol absoluto saturado de cloruro de hidrógeno
anhidro a 0°C.

30 Más específicamente, los compuestos de esta invención

1 pueden prepararse de acuerdo con los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

Preparación de 4'-desoxivincristina

5 Se disuelven 582 mg de trióxido de cromo en 5,8 ml de ácido acético y 0,6 ml de agua. Esta solución oxidante se agrega gota a gota a lo largo de 5 minutos a una solución agitada de 462 mg de 4'-desoxi-VLB "A" en 58 ml de acetona y 2,9 ml de ácido acético glacial, a una temperatura de unos -50°C. La mezcla de reacción se agita a esta temperatura durante unos 30 minutos y después se enfría a -65°C, a cuya temperatura la mezcla de reacción se apaga con 12 ml de solución acuosa de hidróxido amónico 14N. Después la mezcla de reacción alcalinizada se vierte sobre 400 ml de una mezcla de agua y hielo y la capa acuosa se extrae con 150 ml de éter, seguido de tres extracciones con 150 ml de cloroformo cada una. Se combinan las capas orgánicas y las capas combinadas se lavan con solución acuosa diluída de bisulfito sódico, se separan y se secan. Por evaporación de los disolventes orgánicos queda como residuo la 4'-desoxivincristina. Para purificar más el compuesto deseado se cromatografía el residuo sobre 50 g de sílice de actividad I. El cromatograma se desarrolla como sigue: 300 ml de acetato de etilo/metanol 3:1 seguidos de 300 ml de acetato de etilo/metanol 1:1. Después de una fracción inicial de 100 ml, se recogen fracciones de 20 ml. Se combinan las fracciones 8 a 20. Por evaporación de los disolventes de las fracciones combinadas se obtienen 279 mg de un sólido de color tostado pálido que es un material prácticamente de una mancha (puro) por cromatografía en capa fina.

30

La 4'-desoxivincristina en forma de base libre así prepa-

1 da presenta las siguientes características físicas:

Espectro de masas: m/e 808 (M^+), 806, 707.

Espectro infrarrojo: 3465, 1745, 1687, 1220 cm^{-1} .

Espectro ultravioleta: 210, 222, 255, 290, 298 nm.

5 Espectro de RMN a 100 MHz: singletes de metilo a 3,88, 3,67 y 2,07 δ .

La 4'-desoxivincristina en forma de sólido de color tostado se disuelve en acetona y la solución acetónica se trata con 0,96 ml de ácido sulfúrico 0,36M (al 2 % en volumen) en etanol absoluto. Se obtiene una solución verde que se mantiene a unos 0°C durante la noche. Se induce la cristalización rascando las paredes de la vasija o sembrando y el sulfato de 4'-desoxivincristina cristalino sólido se separa por filtración. La torta del filtro se lava con acetona fría. El sulfato es algo soluble en acetona de manera que se evapora el filtrado a sequedad y el residuo resultante se recristaliza en etanol. El sulfato de 4'-desoxivincristina cristalino así obtenido en el etanol se separa por filtración y la torta del filtro se lava con etanol. El rendimiento total de sulfato de 4'-desoxivincristina es 266 mg.

25 De forma similar pueden oxidarse 794 mg de 4'-desoxi-VLB "B" con 900 mg de trióxido de cromo en 10 ml de ácido acético glacial y 1 ml de agua para dar 4'-desoxi-1-formil-leurosina. Por cromatografía en capa fina del residuo obtenido directamente de la mezcla de reacción antes de purificar se observa la presencia de una mancha principal y una mancha minoritaria además de trazas de otros componentes. Por recristalización del residuo en etanol anhidro se obtiene un material cristalino prácticamente de una mancha que se aísla por filtración y los cristales se lavan con etanol frío.

1 Por cromatografía de la base libre cristalina así obtenida sobre 50 g de sílice, empleando un sistema disolvente de dicloruro de metileno/acetato de etilo 1:1 que contiene 20, 30, 45 y 60 % en volumen de metanol como eluyente, de la
5 siguiente forma:

| <u>Sistema</u> | <u>Cantidad</u> |
|----------------|-----------------|
| 1:1 20 % | 200 |
| 1:1 30 % | 100 |
| 1:1 45 % | 100 |
| 1:1 60 % | 400 |

10

se obtienen las siguientes fracciones:

| <u>Fracción</u> | <u>Volumen del eluato</u> |
|-----------------|---------------------------|
| 1 | 160 ml |
| 2 | 100 ml |
| 3 | 50 ml |
| 4 | 50 ml |
| 5 | 50 ml |
| 6 | 120 ml |
| 7 | 120 ml. |

15

20

Se combinan las fracciones 4 a 7 para dar 597 mg de un residuo de color tostado que a su vez da 435 mg de 4'-desoxi-1-formil-leurosidina cristalina blanca (cristalizada en etanol). El compuesto presenta las siguientes características físicas:

25

Espectro de masas: m/e 808 (M^+), 806, 777, 775, 336, 138, 136.

Espectro infrarrojo: ν ($CHCl_3$) 3470, 1743, 1690, 1222 cm^{-1} .

30

Espectro ultravioleta: (C_2H_5OH) 210, 222, 254, 290, 298.

Espectro de RMN a 100 MHz: singletes de metilo a 3,87,

1 3,65 y 2,07 δ .

$pK'_a = 9,0$ y $4,9$ (en DMF al 66 %).

El sulfato se prepara disolviendo 435 mg de la base libre en 10 ml de etanol caliente y agregando 1,5 ml de
5 ácido sulfúrico al 2 % en etanol. Al enfriar se deposita el sulfato de 4'-desoxi-1-formil-leurosidina cristalino.

EJEMPLO 2

Preparación de 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosidina

10 Se mezclan alrededor de 744 mg de 4'-desoxi-1-formil-leurosidina con 10 ml de metanol anhidro y la mezcla se calienta a la temperatura de reflujo, a la cual el compuesto se disuelve para dar una solución transparente. Se añaden 200 mg de carbonato sódico sólido y la mezcla de reacción se agita durante 7,2 horas aproximadamente, transcurridas
15 las cuales la cromatografía en capa fina de los componentes crudos de la mezcla de reacción indica que ha desaparecido prácticamente la totalidad de la 4'-desoxi-1-formil-leurosidina de partida. Se separa el disolvente por evaporación y el residuo que contiene la 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-
20 leurosidina formada en la reacción anterior se reparte entre agua y dicloruro de metileno. Se separa la capa orgánica y se seca y el disolvente se separa por evaporación dando 506 mg de un sólido blanco que es 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosidina prácticamente pura.

25 El compuesto presenta las siguientes características físicas:

Espectro de masas: m/e 766 (M^+), 764, 735, 254, 252, 205, 138.

30 Espectro infrarrojo: ν ($CHCl_3$) 3450, 1734, 1680, 1596, 1495, 1456, 1434 cm^{-1} .

1 Espectro de RMP a 100 MHz: (CDCl₃) incluye N-formilo a δ 8,80, singletes de metilo a 3,89 (C₁₆-OCH₃) y 3,66 (C₁₈-CO₂-CH₃), multiplete ensanchado a 3,82 (C₃-CO₂CH₃) y ningún N-CH₃ alrededor de 2,75 (u OCOCH₃ alrededor de 2,06).

5 El sulfato correspondiente se forma como en los ejemplos anteriores empleando acetona como disolvente y 0,26 ml de ácido sulfúrico al 2 % en etanol. Pueden emplearse otros disolventes si se prefiere utilizar un disolvente en el que la base sea fácilmente soluble pero el sulfato sustancialmente insoluble.

10

La 4'-desoxi-4-desacetilvincristina y su sulfato se preparan de forma totalmente análoga a partir de 4'-desoxivincristina.

EJEMPLO 3

15

Método alternativo de preparación de 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosídina

20

Se prepara una mezcla de reacción que contiene 1,48 g de 4'-desoxi-VLB "B", 1 g de carbonato sódico y 100 ml de metanol y se calienta a reflujo en atmósfera de nitrógeno. Por cromatografía en capa fina de una parte alícuota tomada al cabo de 2 horas se observa que la reacción de hidrólisis para separar el grupo 4-acetilo se ha completado a la mitad. Después de dejar en reposo a la temperatura ambiente durante la noche, la mezcla de reacción se calienta de nuevo a reflujo durante 8,5 horas. La cromatografía en capa fina de una parte alícuota empleando como disolvente una mezcla de éter/dietilamina/tolueno/metanol 20:1:1:1 indica que la reacción es completa. Se separa el disolvente de la mezcla de reacción por evaporación y el residuo resultante se disuelve en una mezcla de dicloruro de metileno y agua. Se separa la fase

25

30

1 de dicloruro de metileno y se seca. Por evaporación del di-
cloruro de metileno se obtiene un residuo que, según la cro-
matografía en capa fina, contiene una sustancia muy polar
5 además de la 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina esperada. El
residuo, que pesa 1,33 g, se disuelve en benceno. El mate-
rial muy polar es prácticamente insoluble en benceno y se
separa por filtración. El filtrado se evapora a sequedad y
el residuo, que pesa 500 mg, se cromatografía sobre gel de
10 sílice Woelm empleando el sistema disolvente éter/dietilami-
na/tolueno 20:1:1 (con cantidades crecientes de metanol) como
eluyente. El progreso de la cromatografía se sigue por cromatografía en capa fina y las fracciones que contienen 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina se combinan para dar 348 mg de la base después de evaporar el disolvente. El residuo se trata con 1,28 ml de ácido sulfúrico al 2 % en metanol (0,36M) y la solución resultante se filtra para dar 315 mg de sulfato de 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina.

15 La 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina presenta las siguientes características físicas:

20 Espectro de masas: m/e 752 (M^+), 750, 693, 691, 555, 338, 240, 138.

Espectro infrarrojo: ν ($CHCl_3$) 3455, 1724, 1610, 1497, 1457, 1431 cm^{-1} .

25 Espectro de RMP a 100 MHz: δ CDCl_3 9,43 (s ancho, 1, C_3 -OH), 7,92 (s ancho, 1, N-H de indol), 7,47-7,63 (m, 1, C_{11}' -H), 7,06-7,31 (m, 3, C_{12}' - C_{14}' -H), 6,58 (s, 1, C_{14} -H), 6,10 (s, 1, C_{17} -H), 5,78-5,87 (m, 2, $C_{6,7}$ -H), 4,10 (m, 1, C_4 -H), 3,83 (s, 3, C_{16} -OCH₃), 3,78 (s, 3, C_3 -CO₂CH₃), 3,70 (s, 1, C_2 -H), 3,58 (s, 3, C_{18} -CO₂CH₃), 2,75 (s, 3, N-CH₃), 30 0,76-1,06 (m, 6, $C_{21,21}'$ -H).

1 Se combinan 834 mg de 4'-desoxi-4-desacetil-leurosídina
obtenidos de los filtrados que incluye material filtrado s6-
lido. El material combinado probablemente contiene 30-40 %
del material altamente polar antes citado. El material combi-
5 nado se disuelve en 100 ml de acetona conteniendo 7 ml de
ácido acético. La solución se agita durante 15 minutos a la
temperatura ambiente y después se enfría a -65°C en un baño
de acetona y hielo seco en atmósfera de nitrógeno. Se disuel-
ven 1110 mg de trióxido de cromo en 13 ml de ácido acético
10 glacial y 2 ml de agua. Esta solución se agrega gota a gota
a la solución de 4'-desoxi-4-desacetil-leurosídina. La mezcla
de reacción se agita a una temperatura comprendida entre -60
y -65°C durante una hora y después se apaga por adición de
15 35 ml de solución acuosa de hidróxido amónico 14M. A conti-
nuación la mezcla de reacción se vierte en hielo y la suspen-
sión acuosa resultante se extrae varias veces con cloroformo.
Los extractos clorofórmicos se combinan, se lavan con agua y
se secan. Por separación del cloroformo a vacío se obtienen
20 794 mg de un residuo que, por cromatografía en capa fina, se
demuestra que contiene un material esencialmente de una mancha
además de la impureza original de R_f muy bajo. Este residuo
se cromatografía sobre gel de sílice Woelm empleando un elu-
yente inicial constituido por una mezcla disolvente de éter
25 etílico/dietilamina/tolueno 20:1:1 conteniendo 0,9 % de meta-
nol. El eluyente se emplea en porciones de 150 ml. El porcen-
taje de metanol se aumenta para cada porción de eluyente su-
cesiva de 150 ml hasta llegar al 15 %. Se combinan las frac-
ciones que por cromatografía en capa fina resultan contener
30 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosídina para dar 293 mg de
4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosídina pura después de

1 evaporar el disolvente. El sulfato se prepara como antes.

La 4'-desoxi-4-desacetilvincristina puede prepararse como antes por hidrólisis de 4'-desoxi-VLB "A" para dar 4'-desoxi-4-desacetil-VLB y después oxidación de este compuesto con CrO₃ en ácido acético a -60°C.

Los compuestos de esta invención, representados por la Fórmula I anterior, especialmente aquéllos donde R¹ es acetoxi, son agentes antitumorales muy potentes. El compuesto 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina también es un agente oncolítico. Para poner de manifiesto la actividad de estas drogas frente a los tumores transplantados en ratones, se utilizó un protocolo que implica la administración de la droga por vía intraperitoneal a una dosis dada, durante 7-10 días después de la inoculación del tumor o, alternativamente, el primero, quinto y noveno días después de la inoculación.

La Tabla I contiene los resultados de varios experimentos en los que se trataron con éxito tumores transplantados en ratones con un compuesto de esta invención.

En la tabla, la columna 1 da el nombre del compuesto; la columna 2, el tumor transplantado; la columna 3, la dosis o la gama de dosis y el número de días de administración de la dosis; la columna 4, la vía de administración y la columna 5, el porcentaje de inhibición del crecimiento del tumor o porcentaje de prolongación del tiempo de supervivencia, v.g. B16 (SOR es la abreviatura para sarcoma osteogénico de Ridgeway; LSG es la abreviatura de linfosarcoma de Gardner; P1534(J) y L1210 son leucemias; CA755 es un adenocarcinoma y B16 es un melanoma).

TABLA I

| | Compuesto | Tumor | mg/kg x días | Vía | Porcentaje de inhibición o prolongación del tiempo de supervivencia |
|----|--|-------|------------------|-----|---|
| 1 | 4'-desoxi-1-desmetil-1-formil-leurosídina en forma de base libre | B16 | 0,9 x 3 | IP | tóxico |
| 5 | | 755 | 0,25-0,6 x 3 | " | 98-146 |
| | | | 0,6 x 3 | " | 54 |
| | | | 0,4 x 3 | " | 73 |
| | | | 0,25 x 3 | " | 47 |
| 10 | | | 0,2-0,3 x 10 | " | tóxico |
| | | | 0,06-0,135 x 10 | " | 33-93 |
| | | | 0,03-0,09 x 9 | " | 8-72 |
| | | | 0,18 x 10 | " | tóxico |
| | | | 0,08-0,18 x 10 | " | 9-46 |
| 15 | Sulfato de 4'-desoxi-1-desmetil-1-formil-leurosídina | LSG | 0,25-0,6 x 3 | " | 73-100 |
| | | | 0,18 x 3 | " | 100 |
| | | | 0,4 x 3 | " | 100 |
| | | | 0,6 x 3 | " | tóxico |
| | | | 0,25 x 3 | " | tóxico |
| 20 | | | 0,4-0,6 x 3 | " | tóxico |
| | | | 0,25 x 3 | " | 65* |
| | | | 0,4 x 3 | " | 100 |
| | | | 0,18 x 3 | " | 93 |
| | | | 0,25 x 3 | " | tóxico |
| 25 | Sulfato de 4'-desoxivincristina | B16 | 0,30-0,9 x 3 | " | 36-143* |
| | | 755 | 0,25-1,8 x 9-10 | " | tóxico |
| | | | 0,06-0,13 x 9-10 | " | 15-100 |
| | | | 0,9 x 3 | " | tóxico |
| 30 | | | 0,1-0,3 x 3 | " | 36-100 |
| | | | 0,4-0,6 x 3 | " | tóxico |

TABLA I

| | <u>Compuesto</u> | <u>Tumor</u> | <u>mg/kg x días</u> |
|----|--|------------------|-------------------------|
| 1 | | | |
| 5 | 4'-desoxi-1-desmetil-1-formil-leurosina en forma de base libre | B16 | 0,9 x 3 |
| | | | 0,25-0,6 x 3 |
| | | 755 | 0,6 x 3 |
| | | | 0,4 x 3 |
| | | | 0,25 x 3 |
| | | | 0,2-0,3 x 10 |
| 10 | | | 0,06-0,135 x |
| | | | 0,03-0,09 x 9 |
| | | | P1534(J) 0,18 x 10 |
| | | | P1534(J) 0,08-0,18 x 10 |
| | | LSG 0,25-0,6 x 3 | |
| 15 | Sulfato de 4'-desoxi-1-desmetil-1-formil-leurosina | LSG | 0,18 x 3 |
| | | | 0,4 x 3 |
| | | | 0,6 x 3 |
| | | | 0,25 x 3 |
| | | | 0,4-0,6 x 3 |
| 20 | | L1210 | 0,25 x 3 |
| | | | 0,4 x 3 |
| | | SOR | 0,18 x 3 |
| | | | 0,25 x 3 |
| | | | 0,4-0,6 x 3 |
| 25 | Sulfato de 4'-desoxivincristina | B16 | 0,30-0,9 x 3 |
| | | 755 | 0,25-1,8 x 9-10 |
| | | | 0,06-0,13 x 9-10 |
| | | | 0,9 x 3 |
| | | | 0,1-0,3 x 3 |
| 30 | | LSG | 0,4-0,6 x 3 |

TABLA I

| | <u>Tumor</u> | <u>mg/kg x días</u> | <u>Vía</u> | <u>Porcentaje de inhibición o prolongación del tiempo de supervivencia</u> |
|------|--------------|---------------------|------------|--|
| psi- | B16 | 0,9 x 3 | IP | tóxico |
| | | 0,25-0,6 x 3 | " | 98-146 |
| | 755 | 0,6 x 3 | " | 54 |
| | | 0,4 x 3 | " | 73 |
| | | 0,25 x 3 | " | 47 |
| | | 0,2-0,3 x 10 | " | tóxico |
| | | 0,06-0,135 x 10 | " | 33-93 |
| | | 0,03-0,09 x 9 | " | 8-72 |
| | P1534 (J) | 0,18 x 10 | " | tóxico |
| | P1534 (J) | 0,08-0,18 x 10 | " | 9-46 |
| | LSG | 0,25-0,6 x 3 | " | 73-100 |
| | LSG | 0,18 x 3 | " | 100 |
| | | 0,4 x 3 | " | 100 |
| | | 0,6 x 3 | " | tóxico |
| | | 0,25 x 3 | " | tóxico |
| | L1210 | 0,4-0,6 x 3 | " | tóxico |
| | | 0,25 x 3 | " | 65* |
| | SOR | 0,4 x 3 | " | 100 |
| | | 0,18 x 3 | " | 93 |
| | | 0,25 x 3 | " | tóxico |
| | B16 | 0,30-0,9 x 3 | " | 36-143* |
| | 755 | 0,25-1,8 x 9-10 | " | tóxico |
| | | 0,06-0,13 x 9-10 | " | 15-100 |
| | | 0,9 x 3 | " | tóxico |
| | | 0,1-0,3 x 3 | " | 36-100 |
| | LSG | 0,4-0,6 x 3 | " | tóxico |

TABLA I (continuación)

| Compuesto | Tumor | mg/kg x días | Vía | Porcentaje de inhibición o prolongación del tiempo de supervivencia |
|--|----------|---------------|----------|---|
| Sulfato de 4'-desoxi-4-desacetil-1-desmetil-1-formil-leurosídina | B16 | 0,15-0,6 x 3 | IP | 31-62** |
| | LSG | 0,6 x 3 | | tóxico |
| Sulfato de 4'-desoxi-4-desacetil-leurosídina | 755 | 0,25-0,40 x 3 | | 94-100 |
| | | 0,18 x 3 | | 95 |
| | B16 | 0,6 x 3 | " | tóxico |
| | | 0,4 x 3 | " | 37 |
| LSG | 0,25 x 3 | " | 32 | |
| | 0,6 x 3 | " | tóxico** | |
| | 0,3 x 3 | " | 103** | |
| LSG | 0,15 x 3 | " | 77** | |
| | 0,9 x 3 | " | tóxico | |
| | 0,6 x 3 | " | 63 | |
| | | 0,4 x 3 | " | tóxico. |

* Uno o más supervivientes por tiempo indefinido

** Tratamiento retardado, aplicado al quinto, noveno y decimotercero días.

1

TABLA I (continuación)

| | <u>Compuesto</u> | <u>Tumor</u> | <u>mg/kg x días</u> |
|----|--|--------------|---------------------|
| 5 | Sulfato de 4'-desoxi-4-desacetil-1-desmetil-1-formil-leurosidina | B16 | 0,15-0,6 x 3 |
| | | LSG | 0,6 x 3 |
| | | | 0,25-0,40 x 3 |
| | | | 0,18 x 3 |
| 10 | Sulfato de 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina | 755 | 0,6 x 3 |
| | | | 0,4 x 3 |
| | | | 0,25 x 3 |
| | | B16 | 0,6 x 3 |
| | | | 0,3 x 3 |
| 15 | | LSG | 0,15 x 3 |
| | | | 0,9 x 3 |
| | | | 0,6 x 3 |
| | | | 0,4 x 3 |

* Uno o más supervivientes por tiempo indefinido

** Tratamiento retardado, aplicado al quinto, noveno y decimotercero día

20

25

30

TABLA I (continuación)

| Tumor | mg/kg x días | Vía | Porcentaje de inhibición o prolongación del tiempo de supervivencia |
|-------|---------------|-----|---|
| B16 | 0,15-0,6 x 3 | IP | 31-62** |
| LSG | 0,6 x 3 | | tóxico |
| | 0,25-0,40 x 3 | | 94-100 |
| | 0,18 x 3 | | 95 |
| 755 | 0,6 x 3 | " | tóxico |
| | 0,4 x 3 | " | 37 |
| | 0,25 x 3 | " | 32 |
| B16 | 0,6 x 3 | " | tóxico** |
| | 0,3 x 3 | " | 103** |
| | 0,15 x 3 | " | 77** |
| LSG | 0,9 x 3 | " | tóxico |
| | 0,6 x 3 | " | 63 |
| | 0,4 x 3 | " | tóxico. |

tiempo indefinido

al quinto, noveno y decimotercero días.

1 Al utilizar los nuevos compuestos de esta invención
como agentes antitumorales, puede seguirse la vía parente-
ral u oral de administración. Para la dosis oral, se mezcla
una cantidad adecuada de una sal farmacéuticamente aceptable
5 de una base de Fórmula II con un ácido no tóxico, por ejem-
plo el sulfato, con almidón o con otro excipiente y la mez-
cla se introduce en cápsulas de gelatina telescópicas que
contienen cada una de ellas de 7,5 a 50 mg de ingredientes
activos. Análogamente, la sal activa antineoplástica puede
10 mezclarse con almidón, un ligante y un lubricante y la mez-
cla comprimirse en tabletas que contienen cada una de 7,5 a
50 mg de sal. Las tabletas pueden ser rayadas si se han de
utilizar dosis menores o fraccionadas. Sin embargo se prefie-
re la administración por vía parenteral. Para este fin, se
15 emplean soluciones isotónicas que contienen 1-10 mg/ml de
una sal de un indol-dihidroindol de Fórmula II, tal como el
sulfato. Los compuestos se administran a razón de 0,01 a
1 mg/kg y preferiblemente de 0,1 a 1 mg/kg de peso corporal
del mamífero, una o dos veces a la semana o cada dos semanas
20 según la actividad y la toxicidad de la droga. Otro método
para llegar a una dosis terapéutica se basa en el área de la
superficie corporal, administrándose una dosis comprendida
entre 0,1 y 10 mg/m² de superficie corporal del mamífero,
cada 7 o 14 días.

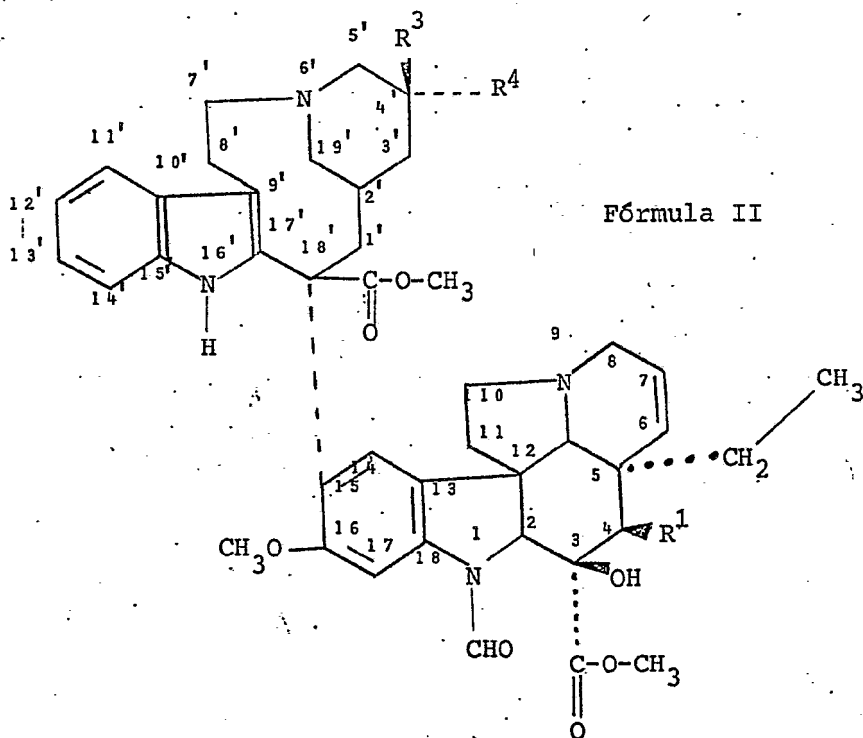
25 Al utilizar un compuesto de esta invención clínicamen-
te, el médico debe administrar el compuesto inicialmente por
la misma vía y en el mismo vehículo y probablemente frente
a los mismos tipos de tumores indicados para la vincristina
o la VLB. Las dosis empleadas reflejarán la diferencia en las
30 dosis halladas en el tratamiento de tumores experimentales

1 en ratones, siendo las dosis de los compuestos de esta inven-
ción inferiores a las utilizadas con la vincristina y la VLB.
En ensayos clínicos, como en el caso de otros agentes anti-
5 tumorales, debe prestarse especial atención al efecto de los
compuestos oncolíticos de esta invención frente a los 10 tu-
mores "señal" indicados en la página 266 de la obra "The
Design of Clinical Trials in Cancer Therapy" editada por
Staquet (Futura Publishing Company, 1973).

10 En resumen, la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de 1-formil-
indol-dihidroindol dímero de fórmula:

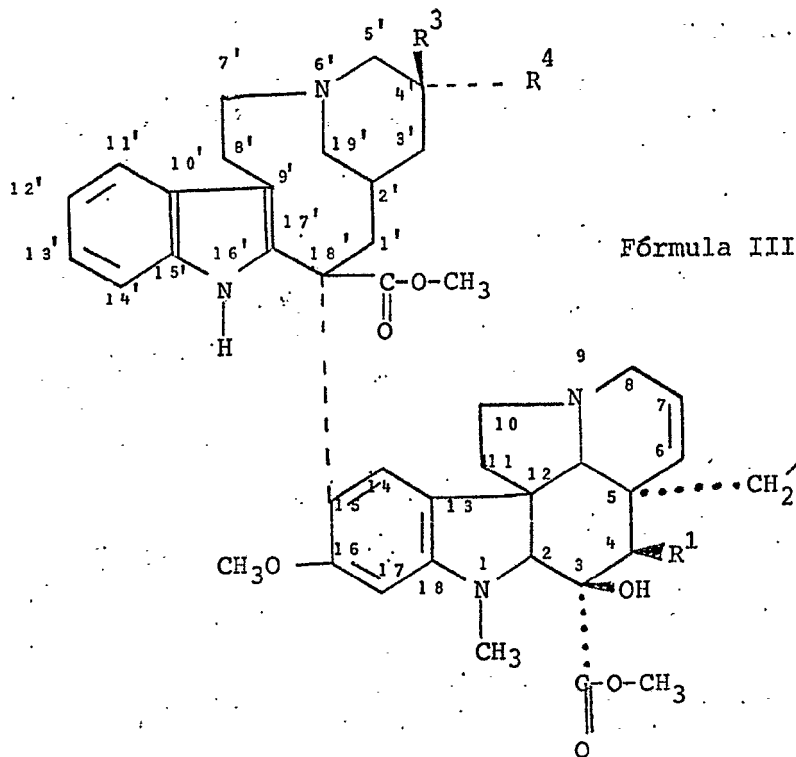


donde R^1 es OH u $O-C-CH_3$; y uno de los radicales R^3 y R^4 es

H y el otro es C_2H_5 y sales farmacéuticamente aceptables del

30 ~~30~~

1 mismo; cuyo procedimiento se caracteriza por hacer reaccionar
5 1-metil-indol-dihidroindol dímero de fórmula:



10

15

donde R^1 , R^3 o R^4 son los descritos anteriormente, con un agente oxidante a base de ácido crómico, en una mezcla de reacción a baja temperatura y recuperar la base libre o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

20

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, para la preparación de 1-formil-indol-dihidroindol dímero de Fórmula II, donde el agente oxidante a base de ácido crómico está constituido por trióxido de cromo y ácido acético.

25

3. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 o 2 para la preparación de un 1-formil-indol-dihidroindol dímero de Fórmula II donde la reacción tiene lugar entre -50° y -65°C .

4. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 a 3 para la preparación de un 1-formil-indol-dihidroindol dímero

1 de Fórmula II, donde la mezcla de reacción comprende acetona y ácido acético.

5 5. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 a 4 para la preparación de 4'-desoxivincristina caracterizado por hacer reaccionar 4'-desoxi-VLB "A" con trióxido de cromo y ácido acético.

10 6. Un procedimiento según la Reivindicación 5 para la preparación de sulfato de 4'-desoxivincristina caracterizado por hacer reaccionar 4'-desoxi-VLB "A" con trióxido de cromo y ácido acético y recuperar el producto en forma de sulfato.

15 7. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 a 4 para la preparación de 4'-desoxi-1-formil-leurosidina, caracterizado por hacer reaccionar 4'-desoxi-VLB "B" con trióxido de cromo y ácido acético.

20 8. Un procedimiento según la Reivindicación 7 para la preparación de sulfato de 4'-desoxi-1-formil-leurosidina, caracterizado por hacer reaccionar 4'-desoxi-VLB "B" con trióxido de cromo y ácido acético y recuperar el producto en forma de sulfato.

25 9. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 a 4 para la preparación de 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosidina, caracterizado por hacer reaccionar 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina con trióxido de cromo y ácido acético.

30 10. Un procedimiento según la Reivindicación 9 para la preparación de sulfato de 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosidina, caracterizado por hacer reaccionar 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina con trióxido de cromo y ácido acético y recuperar el producto en forma de sal.

30
X

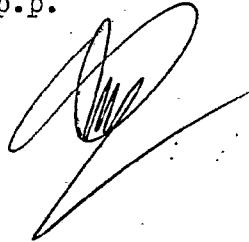
1 11. Se reivindica por último como objeto sobre el que
ha de recaer la Patente de Invención que se solicita por:
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE 1-FORMIL-INDOL-DIHI
5 DROINDOL DIMERO.

5 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la pre-
sente memoria descriptiva que consta de veintidos páginas
mecanografiadas.

Madrid, 18 de Enero de 1.978

BERNARDO UNGRIA

P.P.

10 

10

15

20

25

30

