

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

6 NOV. 1978

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

ES

11

21

22

NUMERO

466.128

FECHA DE PRESENTACION

18-1-78

AI

**PATENTE DE INVENCION**

30 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
853.979	25-11-1977	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 4--DESACETIL-INDOL-DIHIIDROINDOL 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

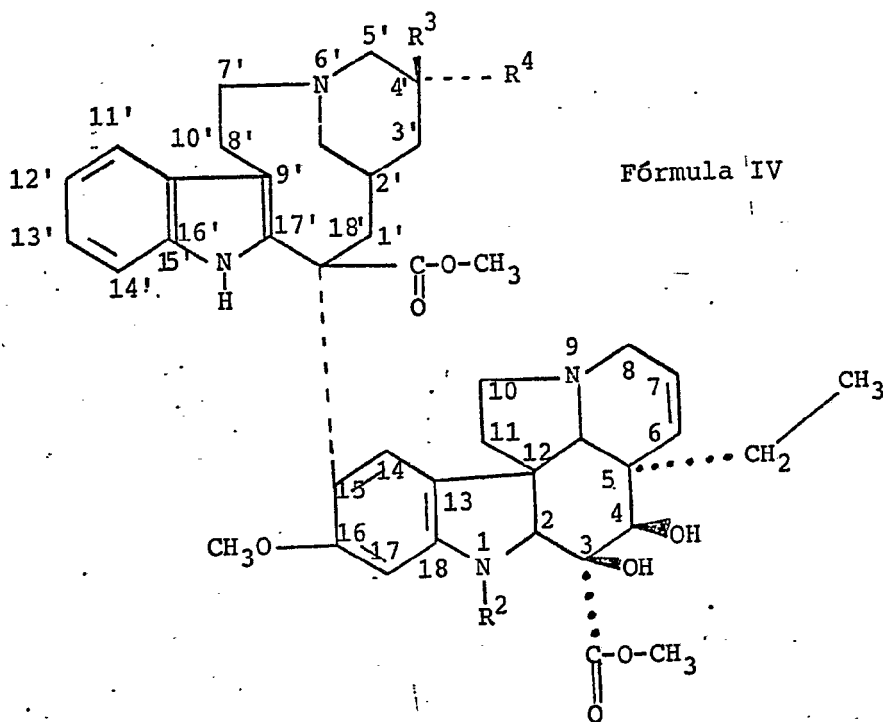
DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU

1

Esta invención se refiere a derivados de 4'-desoxi-VLB "A" y 4'-desoxi-VLB "B" producidos por hidrólisis de los mismos.

5

La invención proporciona un procedimiento para la preparación de 4-desacetil-indol-dihidroindol dímero de fórmula:

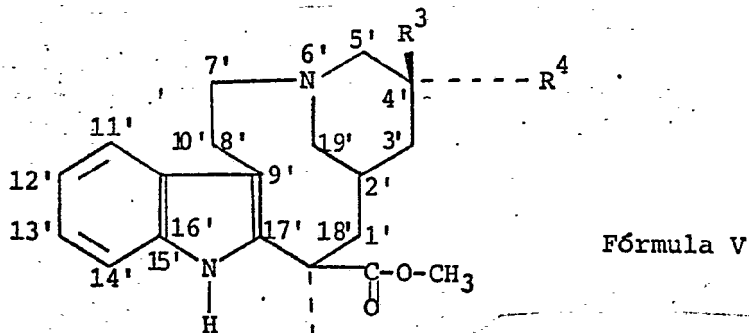


15

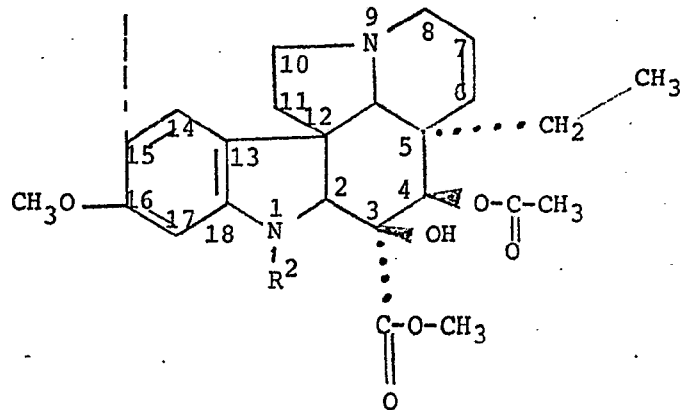
20

donde  $R^2$  es  $CH_3$  o  $CHO$ ; uno de los radicales  $R^3$  y  $R^4$  es H y el otro es  $C_2H_5$ ; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos; cuyo procedimiento consiste en hidrolizar un 4-acetoxi-indol-dihidroindol dímero de fórmula:

25



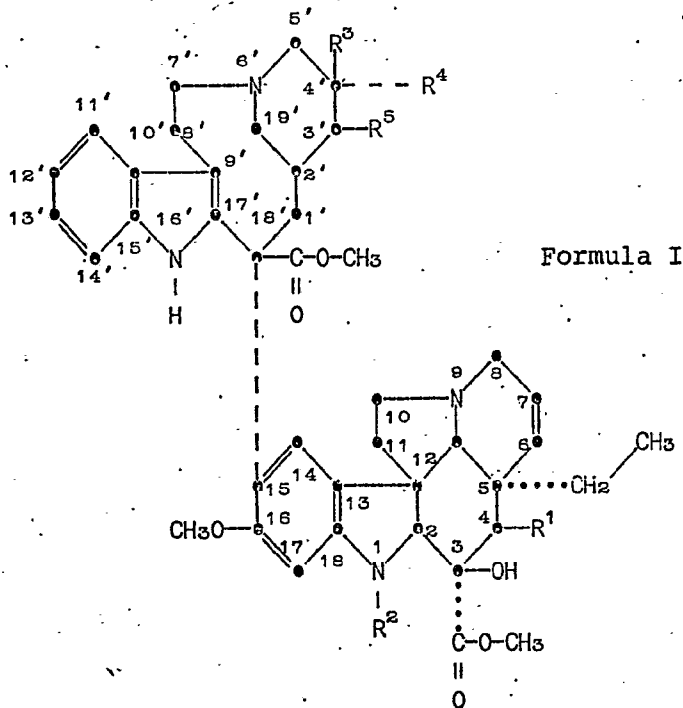
30



1  
5  
donde R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son los descritos anteriormente, en una mezcla de reacción y recuperar la base libre 4-desacetilada o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

10  
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 malignos experimentales en animales. Entre éstos se encuentran la leurosina (patente estadounidense 3.370.057) la vincaleucoblastina (vinblastina) que será denominada en lo que sigue VLB (patente estadounidense 3.097.137), la leurosidina (vinrosidina) y la leurocristina (VCR o vincristina) (ambas en la patente estadounidense 3.205.220), 4'-desoxi-VLB "A" y "B", Tetrahedron Letters, 783 (1968) (también está descrita en esta referencia la desacetil-leurosinhidrazida); 4-desacetoxi-vinblastina (patente estadounidense 3.954.773); 4-desacetoxi-3'-hidroxivinblastina (patente estadounidense 3.944.554); leurocolombina (patente estadounidense 3.890.325), leuroformina (N-formil-leurosina, patente belga 811.110) y vincadiolina (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 de indol-dihidroindol dímero que se obtienen de la Vinca rosea pueden ser representados por la fórmula I.



En la fórmula I donde R<sup>1</sup> es acetoxi, R<sup>2</sup> es metilo, R<sup>3</sup> es hidroxilo, R<sup>4</sup> es etilo y R<sup>5</sup> es H, está representada la VLB; donde R<sup>1</sup> es acetoxi, R<sup>2</sup> es formilo, R<sup>3</sup> es hidroxilo, R<sup>4</sup> es etilo y R<sup>5</sup> es H, está representada la vincristina; donde R<sup>1</sup> es acetoxi, R<sup>2</sup> es metilo, R<sup>3</sup> es etilo, R<sup>4</sup> es hidroxilo y R<sup>5</sup> es H, está representada la leurosina; donde R<sup>1</sup> es acetoxi, R<sup>2</sup> es metilo, R<sup>3</sup> y R<sup>5</sup> son H y R<sup>4</sup> es etilo, está representada la 4'-desoxi-VLB "A"; donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>5</sup> son los mismos que en la 4'-desoxi-VLB "A" pero R<sup>3</sup> es etilo y R<sup>4</sup> es hidrógeno, está representada la 4'-desoxi-VLB "B" y donde R<sup>1</sup> es acetoxi, R<sup>2</sup> es metilo, R<sup>3</sup> es etilo y R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> unidos forman un anillo α-epóxido, está representada la leurosina.

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

1 leurosina en la fracción indol-dihidroindol dímero de la vin-  
ca y sería conveniente convertir directa o indirectamente  
estos alcaloides en vincristina o en una droga de actividad  
oncolítica comparable. Se sabe que la leurosina puede conver-  
5 tirse 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, Gorman, Cone y Huckstep,  
Tetrahedron Letters 783-7 (1968). Aunque la leurosina ha re-  
presentado actividad oncolítica en tumores experimentales en  
10 ratones, la respuesta clínica es limitada. Se ha indicado  
que la 4'-desoxi-VLB "A" y la 4'-desoxi-VLB "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 oncolí-  
15 ticamente activos de la 4'-desoxi-VLB "A" y "B", convirtién-  
do así 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 ace-  
toxi,  $R^2$  es CHO y  $R^3$  y  $R^5$  son hidrógeno se denomina 4'-desoxi-  
20 vincristina; un compuesto donde  $R^1$  es hidroxilo pero los otros  
grupos son los mismos que en el caso anterior, se denomina  
4'-desoxi-4-desacetil-vincristina. Como no se conoce un al-  
caloide compañero de la vincristina con una configuración  
inversa de hidrógeno y etilo en la posición 4' con respecto  
25 a la encontrada en la vincristina, los compuestos donde  $R^3$  es  
etilo y  $R^4$  es hidrógeno serán remitidos a la leurosina que  
tiene la misma configuración en la posición 4' que la 4'-  
desoxi-VLB "B" y serán denominados derivados de l-formil-  
leurosina; es decir, 4'-desoxi-l-formil-leurosina (o  
30 4'-desoxiepivincristina) y 4'-desoxi-4-desacetil-l-formil-  
leurosina, donde  $R^1$  es acetoxi o hidroxilo respectivamente.

1 En cada uno de los nombres anteriores, se sobreentien-  
de que el grupo 1-metilo de la leurosidina ha sido sustituí-  
do por un grupo formilo y que se ha omitido el término "1-  
desmetil" para simplificar la nomenclatura.

5 Los ácidos no tóxicos 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, bromhídri-  
co, yodhídrico, nitroso, fosforoso y similares así como las  
10 sales de ácidos orgánicos no tóxicos que incluyen ácidos mono-  
carboxílicos y dicarboxílicos: alifáticos, ácidos fenil-alcanoí-  
cos, hidroxialcanoicos y alcanodioicos, ácidos aromáticos,  
ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, etc. Por lo tanto,  
estas sales farmacéuticamente aceptables incluyen los sulfa-  
15 tos, piro sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, nitra-  
tos, fosfatos, monohidrógeno-fosfatos, dihidrógeno-fosfatos,  
metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, ace-  
tatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, for-  
miatos, isobutiratos, capratos, heptanoatos, propiolatos,  
20 oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumara-  
tos, maleatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, di-  
nitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos,  
tereftalatos, bencenosulfonatos, toluensulfonatos, cloroben-  
cenosulfonatos, xilensulfonatos, fenilacetatos, fenilpropio-  
natos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, 2-hidroxibutiratos,  
25 glicolatos, malatos, tartratos, metanosulfonatos, propanosul-  
fonatos, naftalen-1-sulfonatos, naftalen-2-sulfonatos y sales  
similares.

30 Los compuestos de esta invención de Fórmula I donde  
R<sup>2</sup> es formilo se preparan por oxidación con ácido crómico a  
baja temperatura de 4'-desoxi-VLB "A" o de 4'-desoxi-VLB "B"

1 en condiciones ácidas, v.g. trióxido crómico y ácido acético.

La 4'-desoxi VLB "A" y "B" o sus derivados 1-formílicos pueden hidrolizarse a los correspondientes derivados 4-desacetilados en condiciones ácidas o básicas. Estos derivados 4-desacetilados de 4'-desoxi-VLB "A" y "B" pueden oxidarse después a baja temperatura (-60°C) con trióxido de cromo sin convertir el grupo 4-hidroxi en una cetona para dar 4'-desoxi-4-desacetilvincristina y 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosidina.

10 El método preferido de llevar a cabo la reacción de hidrólisis anterior hace uso de carbonato sódico en metanol a la temperatura de reflujo. Puede emplearse hidrato de hidrazina. Otras bases que pueden emplearse son t-butóxido potásico, metóxido o etóxido sódico o potásico, piridina, 15 trietilamina (u otra amina terciaria), urea y similares, en disolventes orgánicos polares como los alcoholes inferiores. También pueden emplearse hidróxido sódico o hidróxido potásico diluidos, en metanol por ejemplo, pero debe adoptarse la precaución de no operar con concentraciones de la base o 20 a temperaturas de reacción a las cuales sean afectados otros grupos hidrolizables de la 4'-desoxivincristina o de la 4'-desoxi-1-formil-leurosidina. También pueden utilizarse bases que operan solamente en disolventes no polares, es decir, 25 hidruro de sodio o de litio en benceno, éter, tetrahidrofurano, etc o la sal sódica del dimetilsulfóxido en DMSO. Pueden emplearse temperaturas comprendidas entre la temperatura ambiente (25°C) y el punto de ebullición del disolvente particular. Por otra parte, la hidrólisis puede realizarse en 30 condiciones ácidas, por ejemplo en metanol absoluto saturado de cloruro de hidrógeno anhidro a 0°C.

1 Más específicamente, los compuestos de esta inven-  
ción 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  
10 -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 se apaga la reacción con 12 ml de hidróxido amó-  
nico acuoso 14N. La mezcla de reacción alcalinizada se vier-  
te después sobre 400 ml de una mezcla de agua y hielo y la  
15 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 so-  
lución acuosa diluída de bisulfito sódico, se separan y se  
secan. Por evaporación de los disolventes orgánicos queda  
20 como residuo la 4'-desoxivincristina. Para purificar más el  
compuesto deseado se cromatografía el residuo en 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  
25 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 claro que es un material de  
prácticamente una mancha (puro) por cromatografía en capa  
30 fina.

1            La 4'-desoxivincristina en forma de base libre así preparada presenta las siguientes características físicas:

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

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

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

Espectro de RMN a 100 MHz: singletes de metilo a 3,88, 3,67 y 2,07  $\delta$ .

10           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 sólido cristalino se separa por filtración. La torta del filtro se lava con acetona fría. El sulfato es algo soluble en acetona de manera que el filtrado se evapora a sequedad y el residuo resultante se recristaliza en etanol. El sulfato de 4'-desoxivincristina cristalino así obtenido en etanol se filtra y la torta del filtro se lava con etanol. El rendimiento total de sulfato de 4'-desoxivincristina es 266 mg.

15           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-leurosídina. Por cromatografía en capa fina del residuo obtenido directamente de la mezcla de oxidación antes de la purificación se observa la presencia de una mancha principal y una 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

20

25

30

1 por filtración y los cristales se lavan con etanol frío.

5 Por cromatografía de la base libre cristalina así obtenida sobre 50 g de sílice empleando como sistema disolvente dicloruro de metileno/acetato de etilo 1:1 conteniendo 20, 30, 45 y 60 % en volumen de metanol como eluyente, como se indica a continuación:

<u>Sistema</u>	<u>Cantidad</u>
1:1 20 %	200
1:1 30 %	100
10 1:1 45 %	100
1:1 60 %	400

se obtienen las siguientes fracciones:

<u>Fracción</u>	<u>Volumen de eluato</u>
1	160 ml
15 2	100 ml
3	50 ml
4	50 ml
5	50 ml
20 6	120 ml
7	120 ml

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

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

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

30 Espectro ultravioleta: ( $C_2H_5OH$ ) 210, 222, 254, 290,

1 298.

Espectro de RMN a 100 MHz: singletes de metilo a 3,87, 3,65 y 2,07  $\delta$ .

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

5

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

EJEMPLO 2

10

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

15

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 formar una solución transparente. Se añaden 200 mg de carbonato sódico sólido y la mezcla de reacción se agita durante 7,2 horas aproximadamente, en cuyo momento la cromatografía en capa fina de los componentes crudos de la reacción indica que prácticamente ha desaparecido la totalidad de la 4'-desoxi-1-formil-leurosidina de partida.

20

Se separa el disolvente por evaporación y el residuo que contiene la 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosidina formada en la reacción anterior se reparte entre agua y dicloruro de metileno. La capa orgánica se separa 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:

30

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

1                   Espectro infrarrojo:  $\nu$  ( $\text{CHCl}_3$ ) 3450, 1734, 1680, 1596, 1495, 1456, 1434  $\text{cm}^{-1}$ .

5                   Espectro de RMP a 100 MHz: ( $\text{CDCl}_3$ ) contiene N-formilo a  $\delta$  8,80, singletes de metilo a 3,89 ( $\text{C}_{16}\text{-OCH}_3$ ) y 3,66 ( $\text{C}_{18}\text{-CO}_2\text{CH}_3$ ), multiplete ensanchado a 3,82 ( $\text{C}_3\text{-CO}_2\text{CH}_3$ ) y ningún N- $\text{CH}_3$  alrededor de 2,75 (u  $\text{OCOCH}_3$  alrededor de 2,06).

10                   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 utilizarse otros disolventes si se prefiere emplear un disolvente en el que la base sea fácilmente soluble pero el sulfato sea prácticamente insoluble.

15                   La 4'-desoxi-4-desacetilvincristina y sus sulfatos se preparan de forma totalmente análoga a partir de 4'-desoxivincristina.

### EJEMPLO 3

#### Método alternativo de preparación de 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosidina

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 hasta la mitad aproximadamente. Después de permanecer en reposo durante 25                   la noche a la temperatura ambiente, 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 30                   indica que la reacción es completa. Se separa el disolvente

1 de la mezcla de reacción por evaporación y el residuo re-  
sultante se disuelve en una mezcla de dicloruro de metileno  
y agua. Se separa la fase de dicloruro de metileno y se seca.  
Por evaporación del dicloruro de metileno se obtiene un re-  
5 siduo que, por cromatografía en capa fina, resulta contener  
una sustancia muy polar además de la 4'-desoxi-4-desacetil-  
leurosidina esperada. El residuo, que pesa 1,33 g, se disuel-  
ve en benceno. El material altamente polar es prácticamente  
insoluble en benceno y se separa por filtración. Se evapora  
10 el filtrado a sequedad y el residuo, que pesa 500 mg, se cro-  
matografía sobre gel de sílice Woelm empleando como sistema  
disolvente una mezcla de éter/dietilamina/tolueno 20:1:1  
(con cantidades crecientes de metanol) como eluyente. El pro-  
greso de la cromatografía se sigue por cromatografía en capa  
15 fina, combinándose las fracciones que se demuestra que con-  
tienen 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina para dar 348 mg de  
la base por evaporación del 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  
20 de 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina.

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

Espectro de masas: m/e 752 ( $M^+$ ), 750, 693, 691,  
25 555, 338, 240, 138.

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

Espectro de RMP a 100 MHz:  $\delta$   $CDCl_3$  9,43 (s ancho, 1,  
30  $C_3-OH$ ), 7,92 (s ancho, 1, N-H indólico), 7,47-7,63 (m, 1,  
 $C_{11}'-H$ ), 7,06-7,31 (m, 3,  $C_{12}',-14}'-H$ ), 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,

1 C<sub>4</sub>-H), 3,83 (s, 3, C<sub>16</sub>-OCH<sub>3</sub>), 3,78 (s, 3, C<sub>3</sub>-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,70  
(s, 1, C<sub>2</sub>-H), 3,58 (s, 3, C<sub>18</sub>-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,75 (s, 3, N-CH<sub>3</sub>),  
0,76-1,06 (m, 6, C<sub>21,21</sub>-H).

5 Se combina la 4'-desoxi-4-desacetil-leurosídina  
(834 mg) obtenida a partir de los filtrados y que contiene  
material filtrado sólido. El material combinado probablen-  
te contiene 30-40 % del material altamente polar antes ci-  
tado. El material combinado se disuelve en 100 ml de aceto-  
na conteniendo 7 ml de ácido acético. La solución se agita  
10 durante 15 minutos a la temperatura ambiente y después se  
enfria a -65°C en un baño de acetona y hielo seco en atmós-  
fera de nitrógeno. Se disuelven 1110 mg de trióxido de cromo  
en 13 ml de ácido acético glacial y 2 ml de agua. Esta solu-  
ción se agrega gota a gota a la solución de 4'-desoxi-4-des-  
15 acetil-leurosídina. La mezcla de reacción se agita a una tem-  
peratura comprendida entre -60 y -65°C durante una hora y  
después se apaga por adición de 35 ml de una solución acuosa  
de hidróxido amónico 14 M. A continuación la mezcla de  
20 reacción se vierte sobre hielo y la suspensión acuosa resul-  
tante 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 794 mg de un  
residuo que, por cromatografía en capa fina, se demuestra  
25 que contiene un material esencialmente de una mancha además  
de la impureza original de R<sub>f</sub> muy bajo. Este residuo se cro-  
matografía sobre gel de sílice Woelm empleando como eluyente  
inicial una mezcla disolvente de éter etílico/dietilamina/to-  
lueno 20:1:1 conteniendo 0,9 % de metanol. El eluyente se  
30 emplea en porciones de 150 ml. El porcentaje de metanol se  
aumenta para cada porción de eluyente sucesiva de 150 ml has-

1 ta llegar al 15 %. Se combinan las fracciones que según la  
cromatografía en capa fina contienen 4'-desoxi-4-desacetil-  
1-formil-leurosidina para dar 293 mg de 4'-desoxi-4-desacetil-  
1-formil-leurosidina pura después de evaporar el disolvente.  
5 El sulfato se prepara como antes.

La 4'-desoxi-4-desacetilvincristina puede prepararse  
como antes por hidrólisis de la 4'-desoxi-VLB "A" para dar  
4'-desoxi-4-desacetil-VLB y después oxidación de este com-  
puesto con  $\text{CrO}_3$  en ácido acético a  $-60^\circ\text{C}$ .

10 Los compuestos de esta invención representados por  
la Fórmula I anterior, especialmente aquéllos donde  $\text{R}^1$  es  
acetoxi, son agentes antitumorales muy potentes. El compues-  
to 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina es también un agente  
15 oncolítico. Para poner de manifiesto la actividad de estas  
drogas contra los tumores transplantados en ratones, se uti-  
lizó un protocolo que implicaba la administración de la dro-  
ga por vía intraperitoneal a una dosis dada durante 7-10  
días después de la inoculación del tumor o, alternativamente,  
20 el primero, el quinto y el noveno días después de la inocu-  
lación.

La Tabla I da los resultados de varios experimentos  
en los que los tumores transplantados en ratones fueron tra-  
tados con éxito con un compuesto de esta invención.

25 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.  
30 B16. (SOR es la abreviatura para sarcoma osteogénico de

1 Ridgeway; LSG es la abreviatura de linfosarcoma de Gardner;  
P1534(J) y L1210 son leucemias; CA755 es un adenocarcinoma  
y B16 es un melanoma).

5

10

15

20

25

30

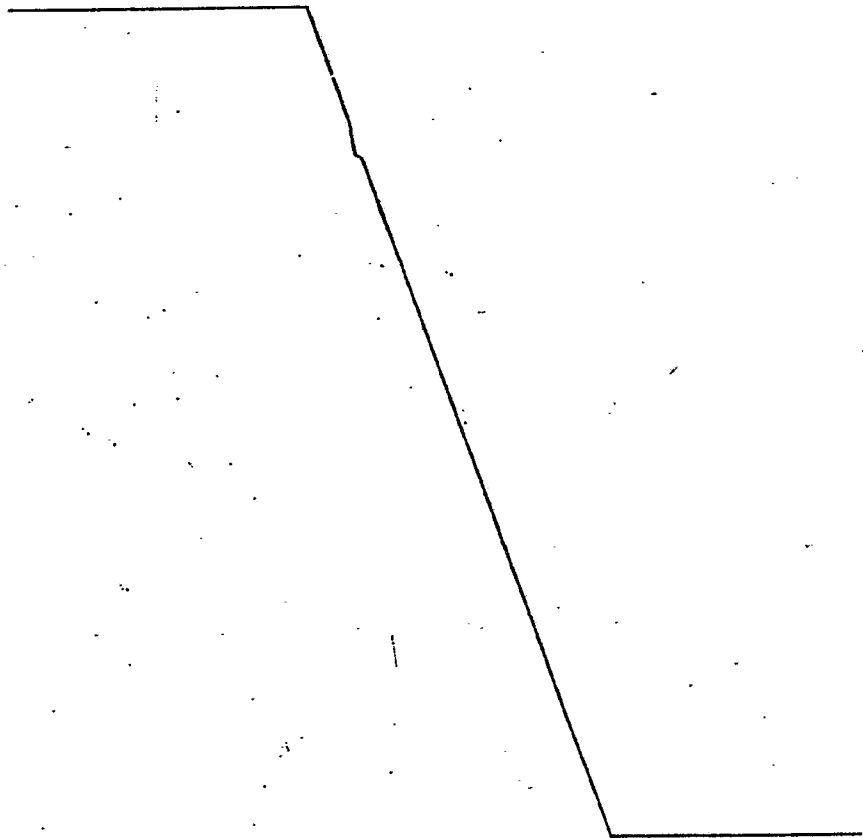


TABLA I

	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
		P1534(J)	0,18 x 10	"	tóxico
		P1534(J)	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
		LSG	0,18 x 3	"	100
			0,4 x 3	"	100
			0,6 x 3	"	tóxico
			0,25 x 3	"	tóxico
20		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
25	Sulfato de 4'-desoxi-vincristina	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>	<u>Vía</u>
1				
5	4'-desoxi-1-desmetil-1-formil-leurosidina en forma de base libre	B16	0,9 x 3	IP
			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 10	"
			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-leurosidina	LSG	0,18 x 3	"
			0,4 x 3	"
			0,6 x 3	"
			0,25 x 3	"
20		L1210	0,4-0,6 x 3	"
			0,25 x 3	"
		SOR	0,4 x 3	"
			0,18 x 3	"
			0,25 x 3	"
25	Sulfato de 4'-desoxi-vincristina	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	"
			0,12-0,25 x 3	"

TABLA I

<u>mg/kg x días</u>	<u>Vía</u>	<u>Porcentaje de inhibición o prolongación del tiempo de supervivencia</u>
0,9 x 3	IP	tóxico
0,25-0,6 x 3	"	98-146
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
(J) 0,18 x 10	"	tóxico
(J) 0,08-0,18 x 10	"	9-46
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
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
0,30-0,9 x 3	"	36-143*
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
0,4-0,6 x 3	"	tóxico
0,18-0,25 x 3	"	62-84

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-leurososidina	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
Sulfato de 4'-desoxi-4-desacetil-leurososidina	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

\* Uno o más supervivientes por tiempo indefinido

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

TABLA I (continuación)

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

\* Uno o más supervivientes por tiempo indefinido

20 \*\* Tratamiento retardado, aplicado al quinto, noveno y decimotercero d:

25

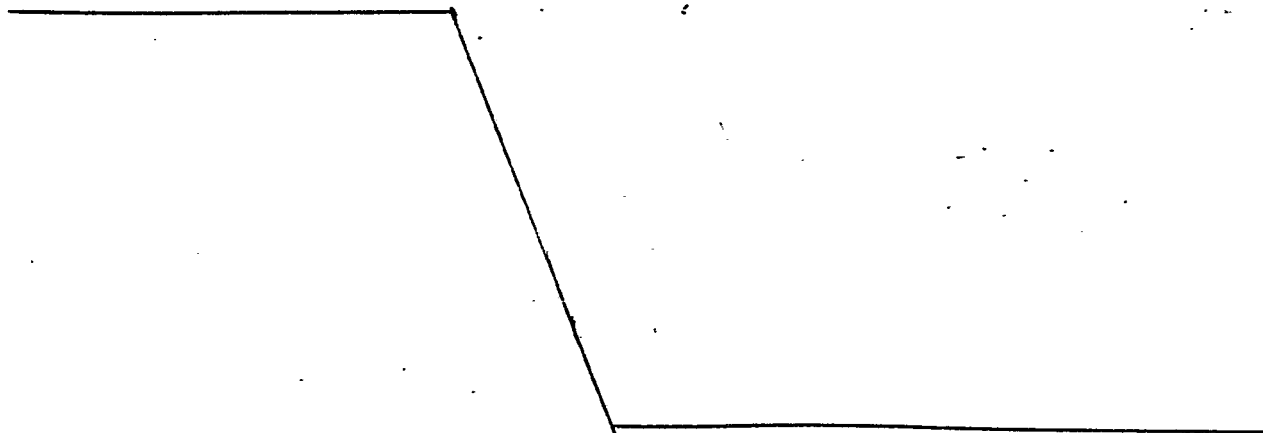
30

TABLA I (continuación)

<u>Tumor</u>	<u>mg/kg x días</u>	<u>Vía</u>	<u>Porcentaje de inhibición o prolongación del tiempo de supervivencia</u>
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

hoy al quinto, noveno y decimotercero días.



1 Al utilizar los nuevos compuestos de esta invención como agentes antitumorales puede seguirse la vía parenteral u  
oral de administración. Para la dosis oral, se mezcla una  
5 cantidad adecuada de una sal farmacéuticamente aceptable de una base de Fórmula II con un ácido no tóxico, por ejemplo el sulfato, con almidón o con otro excipiente y la mezcla se introduce en cápsulas de gelatina telescópicas que contienen cada una de ellas de 7,5 a 50 mg de ingredientes activos. Aná-  
10 logamente, la sal activa antineoplástica puede mezclarse con almidón, un ligante y un lubricante y la mezcla 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 prefiere la administración por vía parenteral. Para este fin, se emplean soluciones  
15 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 según la actividad y la  
20 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/m<sup>2</sup> de superficie corporal del mamífero, cada 7 o 14 días.

25 Al utilizar un compuesto de esta invención clínicamente, 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 dosis halladas en el tratamiento de tumores experimentales en  
30 ratones, siendo las dosis de los compuestos de esta invención

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

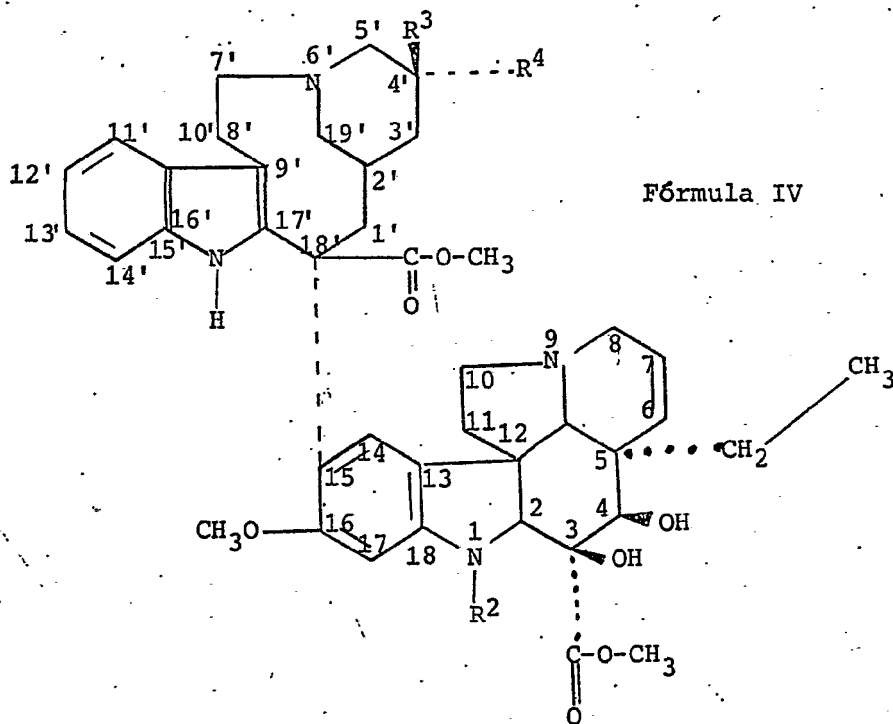
En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

10

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de 4-desacetil-indol-dihidroindol dimerò de fórmula:

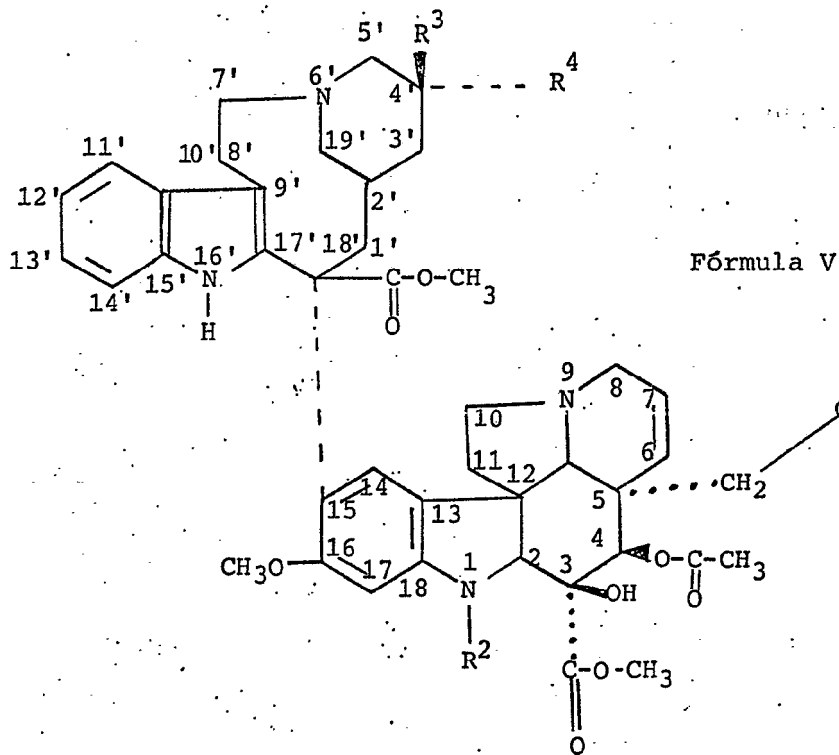
15



20

25

donde R<sup>2</sup> es CH<sub>3</sub> o CHO; uno de los radicales R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> es H y el  
otro es C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> y sus sales farmacéuticamente aceptables, cuyo  
procedimiento se caracteriza por hidrolizar un 4-acetoxi-indol-  
30 dihidroindol dimerò de fórmula:



donde  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^4$  son los descritos anteriormente, en una mezcla de reacción y recuperar la base libre 4-desacetilada o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1 para la preparación de un 4-desacetil-indol-dihidroindol dímero donde se hidroliza un 4-acetoxi-indol-dihidroindol dímero con carbonato sódico en una mezcla de reacción.

3. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 o 2, para la preparación de un 4-desacetil-indol-dihidroindol dímero donde se hidroliza un 4-acetoxi-indol-dihidroindol dímero en metanol anhidro.

4. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 a 3 para la preparación de 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leurosidina, caracterizado por hidrolizar con carbonato sódico en metanol anhidro la 4'-desoxi-1-formil-leurosidina.

5. Un procedimiento según la Reivindicación 4 para la

1 preparación de sulfato de 4'-desoxi-4-desacetil-1-formil-leu-  
rosidina, caracterizado por hidrolizar con carbonato sódico  
en metanol anhidro las 4'-desoxi-1-formil-leurosidas y  
recuperar el producto en forma de sulfato.

5 6. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 a 3  
para la preparación de 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina,  
caracterizado por hidrolizar con carbonato sódico la 4'-deso-  
xi-VLB "B" en metanol anhidro.

10 7. Un procedimiento según la Reivindicación 6 para la  
preparación de sulfato de 4'-desoxi-4-desacetil-leurosidina,  
caracterizado por hidrolizar con carbonato sódico la 4'-deso-  
xi-VLB "B" en metanol anhidro y recuperar el producto en for-  
ma de sulfato.

15 8. Se reivindica por último como objeto sobre el que  
ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: "UN  
PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE 4-DESACETIL-INDOL-  
DIHIDROINDOL DIMERO".

20 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la pre-  
sente Memoria descriptiva, que consta de veintidós páginas  
mecanografiadas.

Madrid, 18 de enero de 1978

BERNARDO UNGRIA

P.D.



25

30