

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial

IN. -



ESPAÑA

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

10 ES	11	12	13
	NUMERO	480560	AI
	14	15	
	FECHA DE PRESENTACION	14-5-1.979	

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:	31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
	905.667	15-5-1.978	Estados Unidos
34 FECHA DE PUBLICIDAD	35 CLASIFICACION INTERNACIONAL	36 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA	
	C07D519/04 / A61K31/475		
37 TITULO DE LA INVENCION			
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN VINCADERIVADO DIMERO PUENTEADO.			
38 SOLICITANTE (S)			
ELI LILLY AND COMPANY			
DOMICILIO DEL SOLICITANTE			
307 East McCarty Street, INDIANAPOLIS, INDIANA 46206 - ESTADOS UNIDOS			
39 INVENTOR (ES)			
Robert Allen Conrad y Koert Gerzon, ambos de nacionalidad estadounidense, quienes cedieron sus derechos para España a la Cía., solicitante.			
40 TITULAR (ES)			
El mismo solicitante			
41 REPRESENTANTE			
DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU			

CADUCADO

POOR QUALITY

1           Se ha hallado que varios alcaloides naturales que  
se obtienen de la Vinca rosea (Catharanthus roseus don. -  
5           Catharanthus o alcaloides de la Vinca) son activos en el  
tratamiento de los tumores malignos experimentales en anima-  
les. Entre éstos se encuentran la leurosina (patente estado-  
unidense n° 3.370.057), la vincalencoblastina (vinblastina),  
a la que nos referiremos aquí como VLB (patente estadounidense  
10           n° 3.097.137), la leuroformina (patente belga 811.110),  
la leurosina (vinrosidina) y la leurocristina (a la que  
nos referiremos en adelante como vincristina (ambas en la  
patente estadounidense n° 3.205.220), la desoxi-VLB "A" y  
"B", Tetrahedron Letters, 783 (1958); la 4-desacetoxivinblas-  
tina (patente estadounidense n° 3.954.773); la 4-desacetoxi-  
15           3'-hidroxivinblastina (patente estadounidense n° 3.944.554);  
la leurocolombina (patente estadounidense n° 3.890.325) y  
la vincadiolina (patente estadounidense n° 3.887.565). Dos  
de estos alcaloides, la VLB y la vincristina, son vendidos  
ahora como fármacos para el tratamiento de los tumores o en-  
fermedades malignos, especialmente las leucemias y enferme-  
20           dades similares en el hombre. Los dos alcaloides comerciales  
se administran habitualmente por vía intravenosa.

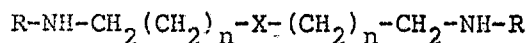
          La modificación química de los alcaloides de la Vinca  
ha sido bastante limitada. En primer lugar, las estructuras  
25           moleculares implicadas son extraordinariamente complejas y  
es difícil poner a punto reacciones químicas que modifiquen  
un grupo funcional específico de la molécula sin afectar a  
los otros grupos. En segundo lugar, se han recuperado o pro-  
ducido a partir de fracciones o alcaloides de la Vinca rosea  
30           alcaloides dímeros que carecen de propiedades quimioterapéu-  
ticas interesantes y una determinación de sus estructuras

1 ha conducido a la conclusión de que estos compuestos están  
estrechamente relacionados con los alcaloides activos, difi-  
riendo frecuentemente solo en la estereoquímica de un carbo-  
no individual. Por lo tanto, la actividad antineoplásica pare-  
5 ce estar limitada a estructuras básicas muy específicas y las  
oportunidades de obtener fármacos más activos por modifica-  
ción de estas estructuras parecerían correspondientemente  
escasas. Entre las modificaciones útiles de los alcaloides  
fisiológicamente activos se encuentran la preparación de 6,7-  
10 dihidro-VLB (patente estadounidense n° 3.352.868) y la susti-  
tución del grupo acetilo en C-4 (carbono n° 4 del sistema  
cíclico de la VLB - véase la estructura numerada dada más  
adelante) por un grupo alcanóilo superior o por grupos aci-  
lo no relacionados (véase la patente estadounidense núm.  
15 3.392.173). Varios de estos derivados C-4 son capaces de pro-  
longar la vida de los ratones inoculados con leucemia P1534.  
Uno de los derivados C-4 en el que un grupo cloroacetilo sus-  
tituye al grupo acetilo C-4 de la VLB es también un interme-  
diario útil para la preparación de compuestos de VLB estruc-  
20 turalmente modificados en los que un grupo N,N-dialquilgli-  
cilo sustituye al grupo acetilo C-4 de la VLB (véase la pa-  
tente estadounidense n° 3.387.001). También se han prepara-  
do los carboxamido- y carboxhidrazido-derivados C-3 de la  
VLB, vincristina, vincadiolina y otros compuestos y se ha  
25 hallado que son agentes antitumorales activos (véase la pa-  
tente belga n° 813.168). Estos compuestos son extraordina-  
riamente interesantes porque, por ejemplo, las 3-carboxamidas  
de la VLB son más activas contra el sarcoma osteogénico de  
Ridgeway y el linfosarcoma de Gardner que la propia VLB,  
30 que es el alcaloide básico del que derivan. De hecho, la

1 actividad de algunos de estos amido-derivados es similar a  
la de la vincristina contra estos tumores. En especial, la  
carboxamida C-3 de la 4-desacetil-VLB (vindesina) está sien-  
do sometida actualmente a pruebas clínicas en el hombre, don-  
5 de parece presentar menos neurotoxicidad que la vincristina  
y ser eficaz contra leucemias entre las que se encuentran  
las leucemias resistentes a la vincristina.

La patente belga n° 813.168 describe y reivindica  
bis-vinca-dímeros puenteados que pueden ser representados  
10 por la fórmula  $R-NH-CH_2-(CH_2)_n-S-S-CH_2-(CH_2)_n-NH-R$ , donde  
R es un resto de un vinca-alcaloide dímero que contiene un  
grupo carbonilo C-3, con actividad oncolítica y n es 1-5.  
Se ha hallado que los compuestos de esta estructura son el  
producto principal de la reacción de una vinca-carboxamida  
15 C-3 ( $R-N_3$ ) y  $NH_2-CH_2-CH_2-SH$  y se cree que son producidos  
por la oxidación causada por el aire del grupo carboxamido-  
etilmercaptano C-3, como en el sistema cisteína-cistina.  
Naturalmente, esta oxidación se limita a la formación de un  
enlace disulfuro a partir de una mercaptoalquilamina y no  
20 es generalmente aplicable a la síntesis de otros bis-dímeros  
puenteados de Catharanthus.

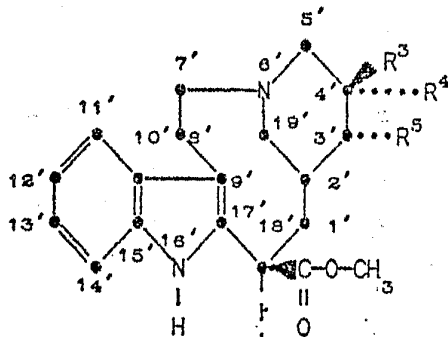
Esta invención proporciona un procedimiento para la  
preparación de nuevos vinca-dímeros puenteados [vinca-tetrá-  
25 meros (dímeros de indol-dihidroindoles)] de fórmula general:



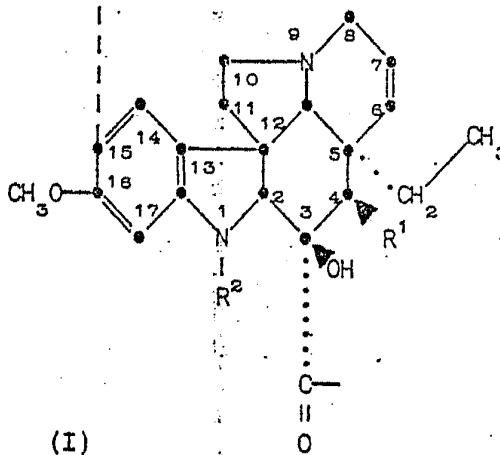
donde los grupos R son restos iguales o diferentes de un  
indol-dihidroindol-alcaloide de fórmula general:

1

5



10



15

(I)

20

donde

$R^1$  es OH u  $O-CO-CH_3$ ;

$R^2$  es  $CH_3$ , H o CHO;

tomados individualmente, uno de los grupos  $R^3$  o  $R^4$  es H u OH y el otro es  $C_2H_5$  y  $R^5$  es H; y cuando se toman unidos,  $R^4$  y  $R^5$  forman un anillo  $\alpha$ -epóxido y  $R^3$  es  $C_2H_5$ ;

25

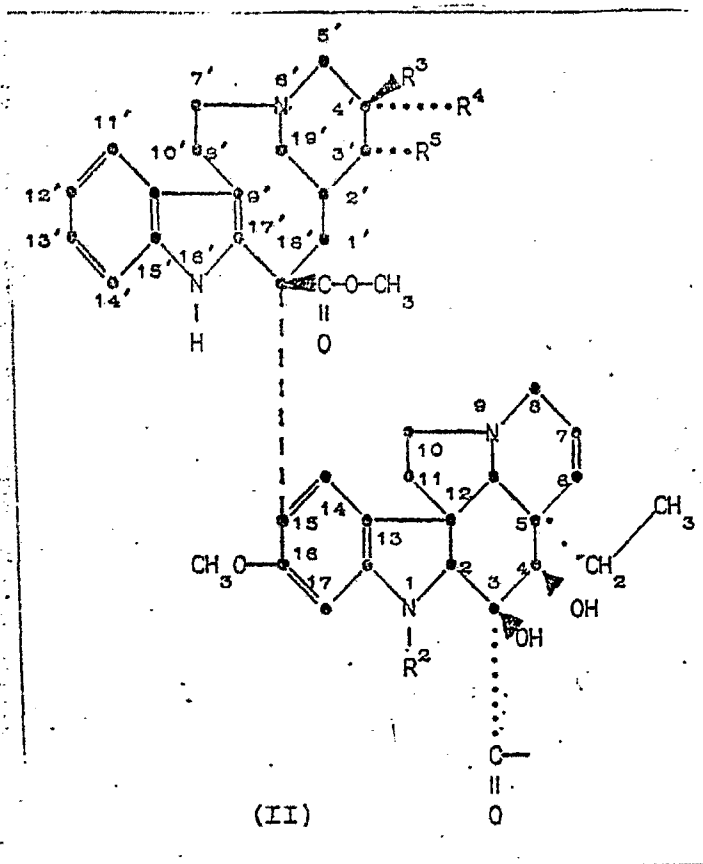
X es S, O, Se-Se, NH,  $N-\{(CH_2)_m-CH_2-NH-R\}$  o  $(CH_2)_p$ , donde p y n son cada uno de ellos 0, 1, 2, 3 o 4 y m es 1 o 2; y

30

sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los mismos;

1            cuyo procedimiento se caracteriza por hacer reaccio-  
nar una azida de fórmula  $R^6-N_3$ , donde  $R^6$  es el resto de un  
indol-dihidroindol-alcaloide de fórmula:

5



10

15

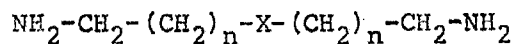
20

dónde

$R^2$  es  $CH_3$  o  $H$ ;

25

tomados individualmente, uno de los grupos  $R^3$  o  $R^4$   
es  $OH$  o  $H$  y el otro es  $C_2H_5$  y  $R^5$  es  $H$ ; y cuando se toman  
unidos,  $R^4$  y  $R^5$  forman un anillo  $\alpha$ -epóxido y  $R^3$  es  $C_2H_5$ ;  
con una diamina o una triamina de fórmula

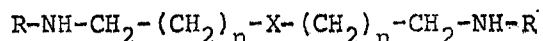


30

donde  $X$  y  $n$  son los definidos anteriormente, en una propor-

1 ción de 2 moles de  $R^6-N_3$  por mol de diamina cuando X es S,  
Se-Se, O, NH o  $(CH_2)_p$  y 3 moles de  $R^6-N_3$  por mol de triamina  
cuando X es  $N-(CH_2)_m-CH_2-NH_2$ , opcionalmente seguido de oxi-  
5 dación de un compuesto de fórmula I donde  $R^2$  es  $CH_3$  con  
 $CrO_3$  en ácido acético y acetona, a unos  $-60^\circ C$  y X es O, NH,  
 $(CH_2)_p$  o  $N-\{(CH_2)_m-CH_2-NH-R\}$ , donde p y m son los definidos  
anteriormente cuando se desean los compuestos de fórmula I  
donde  $R^2$  es CHO; opcionalmente seguido de reformilación  
cuando  $R^2$  es H, cuando se desean los compuestos de fórmula I  
10 donde  $R^2$  es CHO; y opcionalmente seguido de acetilación  
cuando  $R^1$  es OH, cuando se desean los compuestos de fórmula  
I donde  $R^1$  es O-CO- $CH_3$ .

El producto



15 donde R es el de fórmula I anterior, donde  $R^1$  es acetoxi,  
 $R^2$  es metilo,  $R^3$  es hidroxilo,  $R^4$  es etilo y  $R^5$  es H, re-  
presenta una amida de VLB; cuando  $R^1$  es acetoxi,  $R^2$  es for-  
milo,  $R^3$  es hidroxilo,  $R^4$  es etilo y  $R^5$  es H, representa  
una amida de vincristina; cuando  $R^1$  es acetoxi,  $R^2$  es meti-  
20 lo,  $R^3$  es etilo,  $R^4$  es hidroxilo y  $R^5$  es H, representa una  
amida de leurosídina; cuando  $R^1$  es acetoxi,  $R^2$  es metilo,  
 $R^3$  y  $R^5$  son H y  $R^4$  es etilo, representa una amida de desoxi-  
VLB "A"; cuando  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^5$  son los mismos que en la desoxi-  
VLB "A" pero  $R^3$  es etilo y  $R^4$  es hidrógeno, representa una  
25 amida de desoxi-VLB "B"; cuando  $R^1$  es acetoxi,  $R^2$  es metilo,  
 $R^3$  es etilo y  $R^4$  y  $R^5$  unidos forman un anillo  $\alpha$ -epóxido,  
representa una amida de leurosina; y cuando ambos grupos R  
son idénticos, representa una bis-amida.

30 Los compuestos de fórmula I donde, en el resto del  
indol-dihidroindol-alcaloide (R), R es H, son intermedia-

1 rios que son formilados para dar un agente oncolítico donde  
R<sup>2</sup> es CHO.

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

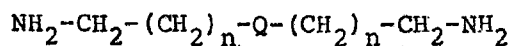
25 Son compuestos ilustrativos comprendidos por la fórmula I los siguientes:

30 disulfato de sulfuro de bis{β-(VLB-C-3 carboxamido)etilo}  
bis {γ-(4-desacetil-4'-desoxi-VLB-C-3 carboxamido)propil} éter

- 1 1,5-bis(4-desacetil-leurosidin-C-3 carboxamido)pentano  
1,2-bis(leurosin-C-3 carboxamido)etano  
diselenuro de bis{ $\gamma$ -(4'-desoxileurosidin-C-3 carboxamido)-  
propilo }  
5 disulfato de sulfuro de bis{ $\beta$ -(4'-desoxivincristin-C-3 carboxamido)etilo }  
disulfato de bis{ $\beta$ -(4-desacetil-4'-desoxi-1-desmetil-1-formil-leurosidin-C-3 carboxamido)etil}éter  
tri{ $\beta$ -(VLB-C-3 carboxamido)etil}amina  
10  $N^1$ -(4-desacetil-VLB-3-carbonil)- $N^2$ -(VLB-3-carbonil)octametilendiamina  
1,8-bis(4'-desoxi-VLB-C-3 carboxamido)octano  
1,11-bis(4-desacetilvincristin-C-3 carboxamido)undecano  
1,14-bis(4-desacetil-leurosin-C-3 carboxamido)tetradecano  
15 sulfuro de  $N^1$ -(4'-desoxileurosidin-3-carbonil)- $N^2$ -(4'-desoxi-VLB-3-carbonil)-bis( $\beta$ -aminoetilo)  
 $N^1$ -(4-desacetilvincristin-3-carbonil)- $N^2$ -(4-desacetil-VLB-3-carbonil)-bis( $\beta$ -aminoetil)éter  
diselenuro de  $N^1$ -(4-desacetil-VLB-3-carbonil)- $N^2$ -(4-desacetil-leurosidin-3-carbonil)-bis(4-aminobutilo).  
20

La primera etapa en la preparación de los compuestos de fórmula II se realiza mezclando la azida,  $R^6-N_3$ , en un disolvente inerte adecuado, habitualmente dicloruro de metileno, con la diamina o triamina de fórmula

25



donde Q tiene el significado dado anteriormente, en una proporción de 2 moles de azida por mol de diamina o 3 moles de azida por mol de triamina. La diamina o la triamina también se disuelven en un disolvente inerte, habitualmente dicloruro de metileno, antes de su adición. Como se ha seña-

30

1 lado anteriormente, como la azida normalmente no es purifi-  
cada sino que se utiliza tal como se aísla de la mezcla de  
reacción, es conveniente emplear para la reacción con la  
diamina o triamina el disolvente en el que ha sido aislada.  
5 La bis o tri-vinca-amida así producida se aísla por técnicas  
habituales.

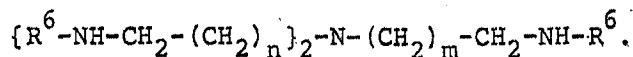
Los compuestos de fórmula I se preparan mediante el  
siguiente procedimiento de síntesis en el que el proceso  
anterior es la etapa final. Utilizando VLB como ejemplo del  
10 proceso de síntesis, se hace reaccionar VLB con hidrazina  
anhídrica en un disolvente inerte frente a ambos reactivos,  
tal como un alcohol inferior, en una vasija de reacción  
herméticamente cerrada. La mezcla de reacción se calienta  
habitualmente entre 40 y 100°C, durante periodos de 12 a  
15 48 horas, durante las cuales la reacción es prácticamente  
completa. El producto de la reacción es la carboxhidrazida  
C-3 de la 4-desacetil-VLB ya que la reacción de la hidrazi-  
na no solamente sirve para convertir el grupo éster C-3 en  
un grupo hidrazido sino que también, en las condiciones bá-  
20 sicas de reacción, sirve para hidrolizar el acetilo C-4 y  
formar un grupo hidroxilo. Otros grupos éster de la molé-  
cula no son afectados por las condiciones de reacción anterio-  
res, a excepción de que normalmente se produce una cierta  
cantidad del 18'-descarbometoxi-derivado. Sin embargo, el  
25 producto principal de la reacción es la carboxhidrazida C-3  
de la 4-desacetil-VLB. Los 4-desacetil-carboxhidrazido C-3  
derivados de la desoxi-VLB "A" y "B", de la leurosídina y  
de la leurosina se obtienen de forma similar. Las carboxhi-  
drazidas así producidas se convierten a continuación en las  
30 correspondientes azidas por tratamiento con nitrito sódico

1 en un ácido. El producto de esta reacción se utiliza normalmente tal como se ha aislado de la mezcla de reacción, ya que se ha encontrado que no es necesario purificar la azida por obtener rendimientos adecuados de la bis-amida deseada.

5 Por reacción de dos moles de las 4-desacetil-carboxazidas C-3 de VLB, leurosídina, desoxi-VLB "A" y "B", leurosina y otros alcaloides de estructura  $R^6-OCH_3$ , donde  $R^6$  es el representado por la fórmula II (con la excepción de que  $R^2$  es  $CH_3$  o H solamente), con la diamina  $NH_2-CH_2-(CH_2)_n-Q-(CH_2)_n-CH_2-NH_2$ , donde Q es el definido anteriormente a excepción del agrupamiento  $N-(CH_2)_m-CH_2-NH_2$ , bajo las condiciones habituales de reacción azida-amina de la patente belga n° 813.168 para la preparación de las monoamidas de los mismos vinca-alcaloides, se obtienen los productos deseados  $R^6-NH-CH_2-(CH_2)_n-Q-(CH_2)_n-CH_2-NH-R^6$ , que incluyen los productos de esta invención de fórmula  $R-NH-CH_2-(CH_2)_n-X-CH_2-(CH_2)_n-NH-R$ , siendo R el definido por la fórmula I donde  $R^1$  es OH,  $R^2$  es  $CH_3$  y X es el definido anteriormente excepto el agrupamiento  $N-\{(CH_2)_m-CH_2-NH-R\}$ , y los productos donde  $R^2$  es H siendo los mismos todos los demás grupos, que deben ser formilados ( $R^2$  es CHO) para obtener el agente oncolítico de esta invención.

Cuando se emplea una tetramina como reactivo

25  $NH_2-CH_2-(CH_2)_n-Q-(CH_2)_n-CH_2-NH_2$  donde Q es  $N-\{(CH_2)_m-CH_2-NH_2\}$ , se utilizan 3 moles de azida por mol de tetramina y el producto final es una tri-amida de estructura



30 La reacción con hidrazina de vincristina, leuroformina u otros alcaloides representados por  $R^6-OCH_3$ , donde  $R^2$  es CHO, da lugar no solamente a la hidrólisis del aceto-

1 xi C-4 para formar un grupo hidroxilo C-4 sino también a la  
desformilación en N-1. El producto de esta reacción, carboxi-  
2 drazida C-3 de la 1-desformil-4-desacetil-vincristina por  
ejemplo, puede ser transformado en la azida y después pueden  
5 hacerse reaccionar 2 o 3 moles de azida con 1 mol de  $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-}$   
 $(\text{CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ , donde Q y n tienen los significados  
dados anteriormente, para formar un compuesto de fórmula  
 $\text{R}^6\text{-NH-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH-R}^6$ , donde  $\text{R}^6$  tiene el sig-  
nificado antes indicado a excepción de que  $\text{R}^2$  es solamente  
10 H. Este compuesto debe ser después reformilado por los pro-  
cedimientos habituales para obtener el compuesto de esta  
invención,  $\text{R}^6\text{-NH-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH-R}^6$ , donde  $\text{R}^2$  es  
CHO.

15 Alternativamente, los compuestos de esta invención  
donde  $\text{R}^2$  (en  $\text{R}^6$ ) es CHO pueden ser preparados por oxidación  
a temperatura baja ( $-60^\circ\text{C}$ ) del compuesto correspondiente  
donde  $\text{R}^2$  es  $\text{CH}_3$  con  $\text{CrO}_3$  en ácido acético y acetona. Las  
bis-amidas que contienen un grupo oxidable (por ejemplo  
-S-, -S-S-, -Se-Se-) no son substratos adecuados para este  
20 procedimiento y deben prepararse por el método del párrafo  
anterior.

Los compuestos de fórmula I donde R representa dos  
radicales diferentes se preparan como sigue; se hace reac-  
25 cionar un mol de la azida  $\text{R}^6\text{-N}_3$  con un mol de la diamina  
 $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH}_2$  para formar una semi-amida,  
 $\text{R}^6\text{-NH-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ .

Los materiales de partida útiles en este procedimien-  
to de síntesis se preparan de acuerdo con los siguientes pro-  
cedimientos.

30

1                    Preparación de los materiales de partida

Carboxhidrazida C-3 de 4-desacetil-VLB

5                    En una vasija de reacción herméticamente cerrada,  
se calienta a unos 60°C, durante 18 horas aproximadamente,  
la VLB en etanol anhidro con un exceso de hidrazina anhidra.  
Se enfría la vasija de reacción, se abre, se saca su conte-  
nido y los constituyentes volátiles se evaporan a vacío.  
El residuo resultante, que contiene la carboxhidrazida C-3  
de 4-desacetil-VLB, se recoge en dicloruro de metileno, la  
10                   solución en dicloruro de metileno se lava con agua, se sepa-  
ra y se seca y se elimina el dicloruro de metileno por eva-  
poración a vacío. El residuo resultante se disuelve en una  
mezcla disolvente de cloroformo/benceno 1:1 y se cromatogra-  
15                   fia sobre gel de sílice. Para desarrollar el cromatograma  
se emplea como eluyente una mezcla de benceno/cloroformo/tri-  
etilamina. Las fracciones cromatográficas iniciales contie-  
nen los materiales de partida que no han reaccionado más  
la 4-desacetil-VLB producida como subproducto de reacción.  
Se halla que otras fracciones contienen la carboxhidrazida  
20                   C-3 de 4-desacetil-18'-descarbometoxi-VLB anteriormente  
descrita por Neuss y colaboradores, Tetrahedron Letters,  
1968, 783. Por cromatografía en capa fina se halla que las  
fracciones sucesivas contienen la carboxhidrazida C-3 de  
la 4-desacetil-VLB y estas fracciones se combinan y se eva-  
25                   poran los disolventes a vacío. El sólido resultante funde  
a unos 219-220°C con descomposición.

                    Siguiendo el procedimiento anterior, la 4-desacetil-  
VLB también puede hacerse reaccionar con hidrazina para  
formar carboxhidrazida C-3 de 4-desacetil-VLB y la leuro-  
30                   cristina o la 4-desacetil-leurocristina (que se obtienen

1 por el método de la patente estadounidense 3.392.173 de  
Hargrove) pueden hacerse reaccionar con hidrazina anhidra en  
etanol anhidro para formar la carboxhidrazida C-3 de 4-desace-  
5 til-1-desformil-leurocristina que se aísla en forma de polvo  
amorfo. Las 4-desacetil-C-3 carboxhidrazidas de las desoxi-  
VLB, de la leurosídina y de la leurosina se preparan de for-  
ma análoga.

Carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB

10 Se prepara una solución de 678 mg de carboxhidrazida  
C-3 de 4-desacetil-VLB en 15 ml de metanol anhidro. Se aña-  
den alrededor de 50 ml de ácido clorhídrico acuoso 1N y la  
solución resultante se enfría a unos 0°C. Después se agregan  
alrededor de 140 mg de nitrito sódico y la mezcla de reac-  
15 ción resultante se agita durante 10 minutos mientras se man-  
tiene la temperatura alrededor de 0°C. Por adición de nitri-  
to sódico la solución adquiere un color marrón rojizo oscuro.  
A continuación la mezcla de reacción se basifica por adición  
de un exceso de una solución acuosa fría de bicarbonato só-  
dico al 5 %. La solución acuosa se extrae tres veces con  
20 dicloruro de metileno. La carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB  
formada en la reacción anterior pasa al dicloruro de metile-  
no cuya capa se separa. La solución en dicloruro de metileno  
de la carboxazida C-3 de 4-desacetil-vinblastina así obteni-  
da se utiliza habitualmente sin purificarla más.

25 Las 4-desacetil-carboxamidas C-3 de 1-desformilvin-  
cristina, leurosídina, 4'-desoxi-VLB "A" y "B" y leurosina  
se preparan de forma análoga.

Esta invención es ilustrada además mediante los si-  
30 guientes ejemplos específicos.

EJEMPLO 1

Se hace reaccionar la carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con hexametildiamina en una relación molar de 2:1 para dar 1,6-bis(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)hexano que presenta las siguientes características físicas:

Espectro de masas, m/e: 768 (escisión del enlace  $\alpha$ ,  $\beta$  de hexametileno para dar esencialmente una especie N-metilvindesina).

Espectro infrarrojo,  $\nu$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 1730 y 1660  $\text{cm}^{-1}$ .

Valoración (DMF al 66 %),  $\text{pK}'_a$ : 5,27, 7,27.

Peso molecular osmótico en 1,2-dicloroetano = 1422 (calculado: 1588).

RMN  $^{13}\text{C}$ : 173,4 ppm (indica una amida secundaria); todos los demás picos son similares a los encontrados en la vindesina, con picos adicionales a 26,6, 29,3 y 39,0 ppm (puente de hexametileno).

PARTE A

Siguiendo el procedimiento anterior, se hace reaccionar la carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con sulfuro de bis(2-aminoetilo) en una relación molar de 2:1, para obtener sulfuro de bis( $\beta$ -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo) que presenta las siguientes características físicas:

Peso molecular osmótico = 1646 (calculado: 1592).

Espectro infrarrojo,  $\nu$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 1730 y 1660  $\text{cm}^{-1}$ .

Espectro de masas, m/e: 827 (especie-S-metilo).

Análisis elemental: azufre calculado 2,00, encontrado 1,75.

RMN  $^{13}\text{C}$ : igual que para la vindesina a excepción de picos a 173,7 ppm (amida secundaria) y picos extra a 38,6 y 32,9 ppm.

1

PARTE B

5

Siguiendo el procedimiento anterior, se hace reaccionar carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB en una relación molar de 2:1 con butilendiamina para formar 1,4-bis(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)butano con las siguientes características físicas:

Espectro de masas, m/e: 808 (butilamida), 767 (metilamida).

Valoración (DMF al 66 %):  $pK'_a$  6,6, 7,5.

10

Espectro infrarrojo,  $\nu$  ( $CHCl_3$ ): 1730, 1665  $cm^{-1}$ .

Peso molecular osmótico = 1195 (calculado: 1582).

PARTE C

15

Siguiendo el procedimiento anterior, se hace reaccionar la carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con diselenuro de bis( $\beta$ -aminoetilo) en una relación molar de 2:1 para formar diselenuro de bis( $\beta$ -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo), con las siguientes características físicas:

RMN  $^{13}C$ : igual que el de la vindesina pero con un pico de amida secundaria a 173,6 y picos extra a 39,6 y posiblemente 38,2 ppm.

20

Valoración (DMF 66 %):  $pK'_a$  5,10, 7,22.

Espectro infrarrojo,  $\nu$  ( $CHCl_3$ ): 1735 y 1670  $cm^{-1}$ .

Espectro de masas: picos a 873-875 y 815-817, (isótopos de  $^{78}Se$  y  $^{80}Se$ ).

25

PARTE D

30

Siguiendo el procedimiento anterior, se hace reaccionar carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con bis( $\beta$ -aminoetil)éter en una relación molar de 2:1 para formar bis( $\beta$ -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etil)éter con las siguientes características físicas:

1 Espectro infrarrojo,  $\nu$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 1730 y 1665  $\text{cm}^{-1}$ .  
Valoración (DMF al 66 %):  $\text{pK}'_a$  5,13, 7,21.  
Espectro de masas, m/e: 796.

PARTE E

5 Siguiendo el procedimiento anterior, se hace reaccionar la carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con bis( $\gamma$ -aminopropil)amina en una relación molar de 2:1 para formar bis( $\gamma$ -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)propil)amina con las siguientes características físicas:

10 \* Peso molecular osmótico = 1999 (calculado: 1603).  
\* Valoración (DMF al 66 %):  $\text{pK}'_a$  4,98, 7,17, 10,18.  
\* Espectro infrarrojo,  $\nu$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 1730 y 1660  $\text{cm}^{-1}$ .  
\* RMN  $^{13}\text{C}$ : igual al de la vindesina con una resonancia de amida a 174,2 y resonancias extra a 39,3 y 37,0 ppm.

PARTE F

15 Siguiendo el procedimiento anterior, se hace reaccionar la carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con tri( $\beta$ -aminoetil)amina en una relación molar de 3:1 para dar tri( $\beta$ -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etil)amina con las siguientes características físicas:

20 \* Peso molecular osmótico = 2262 (calculado: 2354).  
\* Espectro infrarrojo,  $\nu$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 1730 y 1660  $\text{cm}^{-1}$ .  
\* Valoración (DMF al 66 %):  $\text{pK}'_a$  5,2 y 7,25.

25 Otros tetrámeros de vinca en el que dos indol-dihidroindol-alcaloides dímeros están unidos a través de un grupo carboxilo C-3 para formar una bis-amida, estando enlazados los dos grupos amido por cadenas alquílicas que pueden estar interrumpidas por azufre, selenio, oxígeno o nitrógeno, se preparan de forma similar a la del procedimiento anterior.

EJEMPLO 2

Preparación de 1,4-bis(4-desacetil-vincristin-C-3 carboxamido)butano

Se disuelve 1 g de 1,4-bis(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)butano en 10 ml de dicloruro de metileno y 120 ml de acetona. La solución se enfría a  $-61^{\circ}\text{C}$ , se añaden 4 ml de ácido acético y después se añade gota a gota una solución de 2 g de óxido crómico, 2 ml de agua y 10 ml de ácido acético. La mezcla de reacción se agita a unos  $-60^{\circ}\text{C}$  durante hora y media y después se apaga por adición de hidróxido amónico acuoso 14N. La mezcla resultante se extrae con dicloruro de metileno, el extracto en dicloruro de metileno se separa y se seca y los disolventes se evaporan a vacío. El residuo resultante, que contiene 1,4-bis(4-desacetil-vincristin-C-3 carboxamido)butano, se purifica por cromatografía sobre sílice empleando como eluyente una mezcla disolvente de dicloruro de metileno/acetato de etilo/metano 1:1:1. Las fracciones que contienen 1,4-bis(4-desacetil-vincristin-C-3 carboxamido)butano así preparado presentan las siguientes características físicas:

Espectro de masas, m/e: 781 y 722, 371 y 355, 167, 154.

Espectro infrarrojo,  $\nu$  (cloroformo): 1740 y  $1685\text{ cm}^{-1}$ .

Otros compuestos de fórmula I donde  $\text{R}^2$  es formilo pueden ser preparados a partir del correspondiente compuesto donde  $\text{R}^2$  es metilo, mediante oxidación con ácido crómico a baja temperatura. Alternativamente, puede seguirse el procedimiento de la reacción 1, a excepción de que se emplea como material de partida la carboxazida C-3 de 1-desformil-4-desacetil-vincristina en lugar del correspondiente com-

1 puesto VLB y es necesaria una etapa de reformilación.

Los compuestos de fórmula I anterior donde R<sup>1</sup> es O-CO-CH<sub>3</sub> se preparan por acetilación del correspondiente derivado donde R<sup>1</sup> es OH, por el procedimiento de Hargrove, Lloydia, 27, 340 (1964) o mediante acetilación cuidadosa con 2 moles de anhídrido acético por mol de tetrámero, seguido de cromatografía para separar cualquier acetilación del grupo hidroxilo C-3.

10 EJEMPLO 3

Preparación de sales

15 Los sulfatos de las amidas anteriores se preparan disolviendo la amida determinada en etanol absoluto y ajustando el pH de la solución resultante a 3,0-3,5 aproximadamente, con ácido sulfúrico etanólico al 2 %. Otras sales, como las sales con iones inorgánicos como cloruro, bromuro, fosfato, nitrato y similares así como las sales con iones orgánicos como benzoato, metanosulfonato, maleato, tartrato y similares, se preparan de forma análoga.

20 Los compuestos de fórmula I y los que pueden prepararse por el procedimiento aquí descrito son activos in vivo contra los tumores transplantados a ratones. Para poner de manifiesto esta actividad de los fármacos de fórmula I, se utilizó un protocolo que implicaba la administración del fármaco, habitualmente por vía intraperitoneal, a unas dosis seleccionadas, todos los días durante 9 a 10 días, o cada cuatro días después de la inoculación del tumor.

25 La siguiente Tabla I contiene los resultados de los experimentos en los que unos ratones con linfosarcoma de Gardner (LSG), tumor de mama C<sub>3</sub>H, melanoma B16, leucemia P1534 (J), leucemia P388 o adenocarcinoma 755 transplanta-

1 dos, se trataron con un compuesto de fórmula I. En la tabla,  
la columna 1 contiene el nombre del compuesto; la columna  
2, el sistema de tumor empleado; la columna 3, el programa  
de dosificación y la columna 4, el porcentaje de inhibición  
5 del crecimiento del tumor o la duración de vida aumentada.

10 Cuando se utilizan los nuevos compuestos de fórmula  
I como agentes antitumorales en mamíferos, se emplea conve-  
nientemente la vía parenteral de administración. Dentro de  
la administración parenteral, se prefiere la vía intraveno-  
sa aunque con mamíferos más pequeños, como los ratones, pue-  
de utilizarse la vía intraperitoneal. Para la administración  
intravenosa, se emplean soluciones isotónicas que contienen  
1-10 mg/ml de una sal de una base alcaloidea de fórmula I.  
15 Los compuestos se administran en una proporción de 0,01 a  
1 mg/kg y preferiblemente de 0,1 a 1 mg/kg de peso corpo-  
ral del mamífero, una o dos veces a la semana o cada dos  
semanas, según la actividad y la toxicidad del fármaco. Otro  
método posible para determinar la dosis terapéutica se basa  
20 en la superficie corporal, con una dosis del orden de 0,1  
a  $10 \text{ mg/m}^2$  de superficie corporal del mamífero cada 7 o 17  
días.

25

30

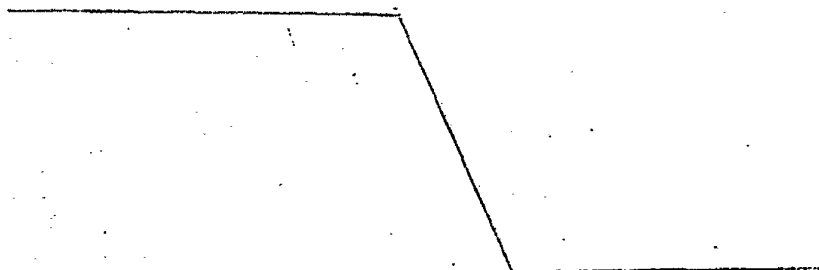


TABLA I

	<u>Nombre del compuesto</u>	<u>Tumor</u>	<u>mg/kg x n° de días</u>	<u>Porcentaje de in- hibición o prolon- gación del tiempo de supervivencia</u>
5	disulfato de 1,6-bis(4-desace- til-VLB-C-3 carboxamido)he- xano	P388	1,2 x 3 0,9 x 3	74 27
	disulfato de sulfuro de bis {β-(4-desacetil-VLB-C-3 car- boxamido)etilo }	P388	1,2 x 3 0,9 x 3 0,6 x 3	33 49 24
10	disulfato de diselenuro de bis{β-(4-desacetil-VLB- C-3 carboxamido)etilo }	755	1,8 x 3 1,2 x 3 0,9 x 3 0,6 x 3	89 31-42 21-62 26-32
		P1534(J)	1,8 x 3 1,2 x 3	66 21
15		C <sub>3</sub> H	2,5 x 3 2,0 x 3 1,5 x 3	tóxico 72 56
		ISG	2,5 x 3 2,0 x 3 1,5 x 3	72 57 29
20	disulfato de 1,4-bis(4- desacetil-VLB-C-3 car- boxamido)butano	ISG	0,4 x 9	40
	disulfato de bis{β-(4- desacetil-VLB-C-3 car- boxamido)etil}éter	P388	1,8 x 3 1,2 x 3 0,9 x 3 0,6 x 3	tóxico 85 77 53
25		ISG	0,4 x 9	62

1

5

10

15

20

25

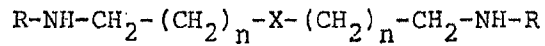
30

Cuando se utiliza un compuesto de fórmula I clínicamente, el médico clínico debe administrar inicialmente el compuesto por la misma vía y en el mismo vehículo y probablemente contra los mismos tipos de tumores que los indicados para la vincristina o la VLB. Los niveles de dosificación empleados deben reflejar la diferencia en los niveles de dosificación hallados en el tratamiento de los tumores experimentales en ratones, siendo en general los niveles de dosificación de los compuestos de fórmula I comparables a los utilizados con la vincristina y la VLB en los tumores sensibles a uno de estos dos fármacos o a ambos. En las pruebas clínicas, como ocurre con otros agentes antitumorales, debe prestarse atención especial al efecto de los compuestos oncolíticos de fórmula I sobre los diez 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).

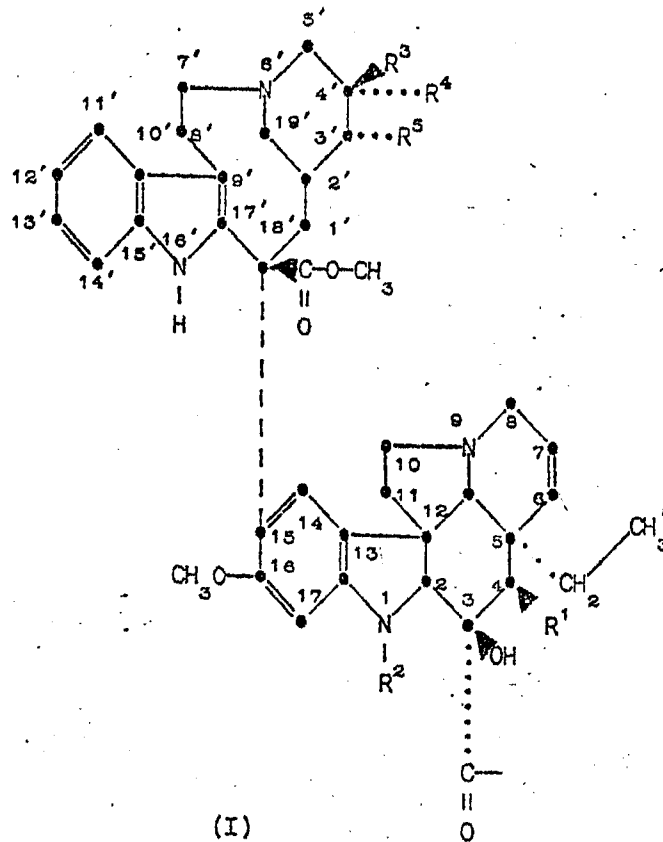
En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de un vinca-derivado dímero puenteado de fórmula general:



donde los grupos R son radicales iguales o diferentes de un indol-dihidroindol-alcaloide de fórmula general:



donde

$R^1$  es OH u O-CO-CH<sub>3</sub>;

$R^2$  es CH<sub>3</sub>, H o CHO;

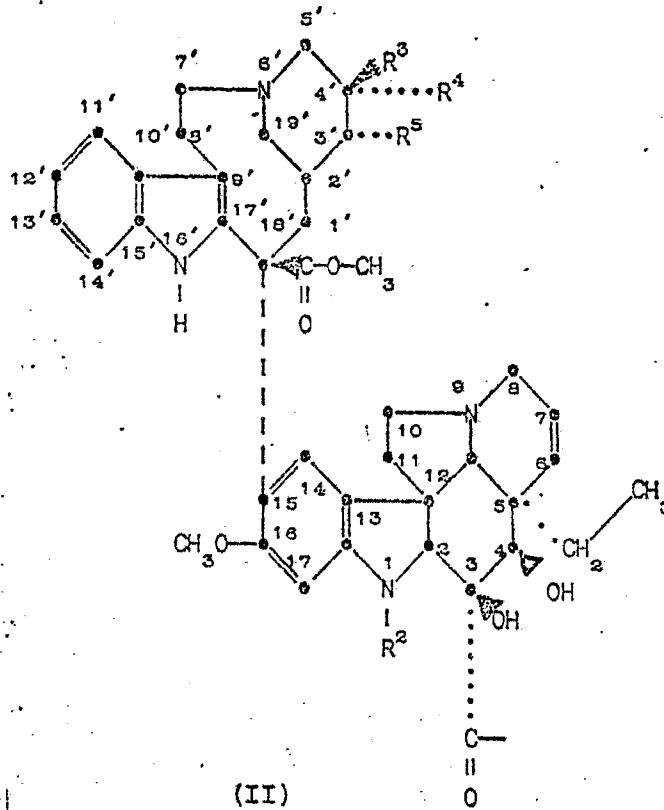
tomados individualmente, uno de los radicales  $R^3$  o

$R^4$  es H u OH y el otro es C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> y  $R^5$  es H y cuando  $R^4$  y  $R^5$

1 se toman unidos, forman un anillo  $\alpha$ -epóxido y  $R^3$  es  $C_2H_5$ ;  
X es S, O, Se-Se, NH, N- $[(CH_2)_m-CH_2-NH-R]$  o  $(CH_2)_p$ ,  
donde p y n son 0, 1, 2, 3 o 4 cada uno y m es 1 o 2 y  
sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables  
5 de los mismos;

cuyo procedimiento se caracteriza por hacer reaccionar  
una azida de fórmula  $R^6-N_3$ , donde  $R^6$  es el resto de un indol-  
dihidroindol-alcaloide de fórmula:

10



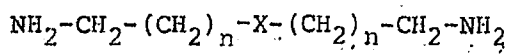
donde

$R^2$  es  $CH_3$  o H;

30

tomados individualmente, uno de los radicales  $R^3$  o  $R^4$

1 es OH o H y el otro es C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> y R<sup>5</sup> es H y cuando R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se toman unidos, forman un anillo α-epóxido y R<sup>3</sup> es C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; con una diamina o triamina de fórmula:



5 donde X y n son los definidos anteriormente, en una proporción de 2 moles de R<sup>6</sup>-N<sub>3</sub> por mol de diamina cuando X es S, Se-Se, O, NH o (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> y 3 moles de R<sup>6</sup>-N<sub>3</sub> por mol de triamina cuando X es N-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>; seguido opcionalmente de oxidación de un compuesto de fórmula I donde R<sup>2</sup> es CH<sub>3</sub> con CrO<sub>3</sub> en ácido acético y acetona alrededor de -60°C y X es O, NH, (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> o N-[(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-R], donde p y m son los definidos anteriormente cuando se desean los compuestos de fórmula I donde R<sup>2</sup> es CHO; opcionalmente seguido de reformilación cuando R<sup>2</sup> es H, cuando se desean los compuestos de fórmula I donde R<sup>2</sup> es CHO y opcionalmente seguido de acetilación cuando R<sup>1</sup> es OH, cuando se desean los compuestos de fórmula I donde R<sup>1</sup> es O-CO-CH<sub>3</sub>.

20 2. Un procedimiento según la Reivindicación 1 para la preparación de diselenuro de bis{β-(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo} que se caracteriza por hacer reaccionar carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con diselenuro de bis(β-aminoetilo) en una relación molar de 2:1.

25 3. Un procedimiento según la Reivindicación 1 para la preparación de bis{β-(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etil}éter que se caracteriza por hacer reaccionar carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con bis(β-aminoetil)éter en una relación molar de 2:1.

30 4. Un procedimiento según la Reivindicación 1 para la preparación de 1,6-bis(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)hexano que se caracteriza por hacer reaccionar carboxazida C-3

1 de 4-desacetil-VLB con hexametildiamina en una relación molar de 2:1.

5 5. Un procedimiento según la Reivindicación 1 para la preparación de 1,4-bis(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)-butano que se caracteriza por hacer reaccionar carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con butilendiamina en una relación molar de 2:1.

10 6. Un procedimiento según la Reivindicación 1 para la preparación de sulfuro de bis{ $\beta$ -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo} que se caracteriza por hacer reaccionar carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con sulfuro de bis(2-aminoetilo) en una relación molar de 2:1.

15 7. 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 UN VINCADERIVADO DIMERO PUENTEADO.

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

Madrid, 14 de Mayo de 1.979

BERNARDO UNGRIA  
P.D.

25