Den foreliggende opfindelse angår en særlig fremgangsmåde til fremstilling af VLB-3-spiro-5"-oxazolidin-2",4"-dion eller ikke-toxiske syreånditionssaltele heraf.

Adskillige naturligt forekommende alkaloider udvundne af Vinca rosea er konstateret virksomme i behandlingen af ekspumentelt fremkaldte maligne tilstande hos dyr. Blandt disse er leurosin (U.S.A.-patentskrift nr. 3 370 057), vincaleukoblastin (vinblastin), som herefter vil blive betegnet med forkortelsen VLB (U.S.A.-patentskrift
nr. 3 097 137), leuroformin (belgisk patentskrift nr. 811 110),
leurosidin (vinrosidin) og leurocristin (vincristin) (begge i U.S.A.-
patentskrift nr. 3 205 220); deoxy-VLB "A" og "B", Tetrahedron
Letters, 783 (1958); 4-desacetoxyvinblastin (U.S.A.-patentskrift
nr. 3 954 773); 4-desacetoxy-3'-hydroxyvinblastin (U.S.A.-pa-
tentskrift nr. 3 944 554); leurocolomin (U.S.A.-patentskrift nr.
3 890 325) og vincadiolin (U.S.A.-patentskrift nr. 3 887 565). To
af disse alkaloider, VLB og vincristin, bliver nu markedsført som
medikament til behandling af maligne tilstande, specielt leukæmier
og beslægtede sygdomme hos mennesker. Vincristin er det mest akti-
ve og nyttige af de to medikamenter ved behandling af leukæmii, men
er samtidig det mindst udbredte af de nævnte anti-neoplasma-Vinca
rosea-alkaloider. Disse alkaloider indgives normalt intravenøst.

Kemisk modifikation af vinca-alkaloiderne er kun lykkedes i begræn-
set omfang. For det første er de pågældende molekylstrukturer yderst
komplicerede, og kemiske reaktioner, som berører en specifik, funkti-
onel gruppe i molekylet uden at omdanne andre grupper, er vanske-
lige at udføre. For det andet har man udvundet eller produceret
alkaloider uden ønskelig kemoterapeutisk effekt ud fra vinca rosea-
fraktioner eller -alkaloider, og fastlæggelsen af disses struktur-
former har ført til den slutning, at disse forbindelser er nært
beslægtede med de aktive alkaloider. Anti-neoplasma-effekter synes
t være begrænset til helt specielle strukturførmere, og mulige-
derne for at opnå mere effektive medikamenter ved at modificere
disse strukturer synes at være beskedne. Blandt de mere heldige
modifikationer af fysiologisk aktive alkaloider har været frem-
stillingen af dihydro-VLB (U.S.A.-patentskrift nr. 3 352 868) og
udskiftningen af acetylgruppen ved C-4 (carbonatom nr. 4 i vinca-
alkaloidringsystemet, se den nummererede strukturførmel i indled-
nningen til krav 1) med en højere alkanoylgruppe eller med ikke-
beslægtede acylygrupper. (Se U.S.A.-patentskrift nr. 3 392 173).
Adskillige af disse derivater er i stand til at forlænge leveti-
den hos mus indpodet med P 1534-leukæmi. Et af derivaterne, i hvil-
eket en chloracetylgruppe erstatter acetylgruppen ved C-4-atomet
i VLB, er ligeledes anvendeligt som mellemprodukt ved fremstillingen
af strukturelt modificerede VLB-forbindelser, i hvilke en N,N-di-
alkylglycylgruppe erstatter acetylgruppen ved C-4-atomet i VLB
(se U.S.A.-patentskrift nr. 3 387 001). C-3-carboxamid-derivat
af VLB, vincristin, vincadiolin, m.fl. er ligeledes blevet frem-
stillet og har vist sig at være effektive anti-tumor-medikamenter (belgisk patentskrift nr. 813 168). Disse forbindelser er særlig interessante, fordi f.eks. 3-carboxamiderne af VLB er mere effektive over for Ridgeway's osteogeniske sarcom og Gardeners lymphosarcom end VLB, hvoraf de er derivater. Visse af amidderivaterne nærmer sig faktisk vincristin i effektivitet overfor disse tumorer. Et af disse amider, 4-desacetyl-VLB-C-3-carboxamid (også kaldet vinodesin) er for tiden under klinisk afprøvning på mennesker og er blevet fundet aktivt over for visse leukämier. Anvendt på mennesker synes vincresin at være mindre neurotoxisk end vincristin.

Det har overraksende vist sig, at når vinodesin omsættes med dimethylcarbonat i nærværelse af natriumhydrid, dannes der et 3-spiro-5'-oxazolidin-2',4'-dion-derivat af VLB, som har antitumorvirkning.

Ikke-toxiske syrer anvendelige til fremstilling af farmaceutisk acceptable syreadditionssalte af den omhandlede forbindelse omfat-ter salte afledt af uorganiske syrer, såsom saltsyre, salpetersyre, phosphorsyre, svovlsyre, hydrogenbromidsyre, hydrogieniodidsyre, salpetersyrling, phosphorsyrling og lignende, såvel som salte af ikke-toxiske organiske syrer omfattende alifatiske mono- og dicarboxylsy-rer, phenyl-substituerede alkanoater, hydroxyalkanoater og alkandioa-ter, aromatiske syrer, alifatiske og aromatiske sulfonsyrer, etc. Så- danne farmaceutisk acceptable salte omfatter således sulfat, pyrosul- fat, bisulfat, sulfit, bisulfit, nitrat, phosphat, monohydrogenphos- phat, dihydrogenphosphat, metaphosphat, pyrophosphat, chlorid, bro- mid, iodid, acetat, propionat, decanoat, caprylat, acrylat, formiat, isobutyrat, caprat, heptanoat, propiolat, oxalat, malonat, succinat, suberat, sebacat, fumarat, maleat, butyn-1,4-dioaat, hexyn-1,6-dioaat, benzoat, chlorbenzoat, methylbenzoat, dinitrobenzoat, hydroxybenzoat, methoxybenzoat, phthalat, terephthalat, benzensulfonat, toluensulfonat, chlorbensulphonat, xylensulfonat, phenylacetat, phenylpropionat, phenylbutyrat, citrat, lactat, 2-hydroxybutyrat, glycolat, malat, tartrat, methansulfonat, propansulfonat, naphthalen-1-sul- fonat, naphthalen-2-sulfonat og lignende salte.

Ved gennemførelsen af omsætningen ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen suspenderer man natriumhydrid i et inert organisk opløsningsmiddel såsom tetrahydrofuran, og vinodesin sættes til

Farmakologisk acceptable syreadditionssalte af den omhandlede forbindelse fremstilles ved at blande en opløsning af forbindelsen på fri baseform med 1 mol af den ønskede ikke-toxiske syre i et inert opløsningsmiddel. Hvis salthet er opløseligt, genvindes det ved afdampning af opløsningsmidlet under vakuum. Hvis salthet er uopløseligt i reaktionsmediet, vil det bundfældes og kan isoleres ved filtrering. Visse af de uorganiske salte fremstilles på en noget afvigende måde. For eksempel fremstilles sulfatsaltet ved at opløse den frie baseform i den mindst mulige mængde polært opløsningsmiddel, såsom ethanol, og derpå justere denne opløsning pH til ca. 4,0 ved dråbe for dråbe at tilsætte en 2% vandig svovlsyre i ethanol. Sulfatsaltet indvindes ved fordamning af opløsningsmidlerne til tørhed. Hydrochloridet kan fremstilles på lignende måde ved at sætte en alkoholisk opløsning af HCl til en alkoholisk opløsning af den frie base. De som ovenfor beskrevet fremstillede syreadditionssalte kan renges ved velkendte metoder såsom chromatografi eller omkrystalisation.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen illustreres nærmere ved følgende specifikke eksempler:

**EKSEMPEL 1**

**Fremstilling af VLB-3-spiro-5"-oxazolidin-2",4"-dion**

I 20 ml tetrahydrofuran blev fremstillet en suspension af 208,0 mg natriumhydrid (i form af en 50% oliedispersion). Hertil blev sat 200,9 mg vindesin (VLB-C-3-carboxamid). Efter at opløsningen var blevet omrørt ved stuetemperatur i 25 minutter, blev 4,0 ml dimethylcarbonat tilsat. Reaktionsblanding blev derpå omrørt ved stuetemperatur i 4,5 timer, hvorefter de flygtige bestanddele blev fjernet ved fordamning. Vand blev tilsat, og den vandige opløsning gjort sur ved fortyndet saltsyre. Den sure fase blev ekstraheret tre
gange med methylenchlorid og methylenchloridekstrakterne bortholdt. Den vandige fase blev derpå gjort basisk med 10% vandig natriumhydroxid. VLB-3-spiro-5'-oxazolidin-2",4"-dion, som er uoploselig i det basiske lag, udskiltes og blev ekstraheret med 4 portioner methylenchlorid. Methylenchlorid-ekstrakterne blev filteret, og opløsningsmidlet fjernet ved fordampning. Inddampningsresten på 98,4 mg blev behandlet ved preparativ TLC på silicagel under anvendelse af et 1:1-ethylacetat-methanol-opløsningsmiddelsystem. Man iagttog 4 bånd, idet det fjerde bånd indeholdt 4-desacetyl VLB-3-spiro-5'-oxazolidon-2",4"-dion. Båndet blev mekanisk fraskilt og elueret fra silicagelen. Bortdampning af elueringsmidlet førte til en inddampningsrest på 10,9 mg med følgende fysiske kendetegn:
NMR i deuterochloroform: δ ved 0,90, 2,87, 3,57, 3,65, 3,84, 3,95, 5,5-6,0, 6,08, 8,5.
IR-spektrum: maxima ved: 3680, 3470, 1810, 1735, 1620, 1505, 1460, 1435, 1335, 1010 og 910 cm⁻¹.
Feltdesorption: molekylære ioner: 779, 753, 735.

Oxazolidindioner, som mangler en substituent ved ring-nitrogenatomet, kan eksistere i tautomere former, i hvilke hydrogenet ved ring-nitrogenatomet kan enolisere hver af de i ringen tilstedevarsende carbonylgrupper til dannelse af en hydroxy-oxazolinon. Særligt kan en oxazolidin-2,4-dion tautomерisere til enten en 2-hydroxy-3-oxazolin-4-on eller en 4-hydroxy-3-oxalin-2-on. Man mener, at den ifølge ovenstående eksempel fremstillede forbindelse indeholder mindst to, hvis ikke alle tre sådanne tautomere former.

EKSEMPEL 2

Fremstilling af salte.

Salte af den omhandlede forbindelse fremstilles som følger:

Den frie base opløses i den mindst mulige mængde ethanol. pH sænkes til 4,0-0,2 ved dråbevis tilføring af 2 % ssovlsyre i ethanol. pH bestemmes ved at udtage en delmængde svarende til 2 dråber, fortynde til 1 ml med vand og derpå bestemme pH med et pH-meter. Den sure
ethanoliske opløsning inddampes til tørhed. Inddampningsresten indeholdende sulfatsaltet kan om ønsket omkrystalliseres fra methanol eller ethanol.

De omhandlede forbindelser er blevet påvist som værende effektive over for i mus transplanterede tumorer in vivo, samt i stand til at fremkalde metafasestandsning i ovarioceller (Kinesisk hamster) dyrket i vævskultur. Ved påvisningen af de omhandlede forbindelserseffektivitet over for i mus transplanterede tumorer blev anvendt en procedure, hvorved forbindelsen blev indgivet - oftest intraperitonealt - i et fastlagt dosisniveau i 7 til 10 dage efter indpodningen med tumoren.

Den omhandlede forbindelse giver ved intraperitoneal indgivelse i doser på 0,2-0,8 mg/kg forlængelse af overlevelsesstiden på 62-92% hos mus transplanteret med tumoren Bl6 (en melanom). Der var 0-3 langtidsoverlevende, der overlevede i 60 dage, indtil forsøget blev afsluttet.

Ved anvendelsen af den omhandlede forbindelse som antitumormiddel på pattedyr kan man indgive den enten parenteralt eller peroralt. Ved peroral dosering blandes en passende mængde af et farmaceutisk acceptabelt salt af forbindelsen, dannet med en ikke-toxisk syre, med stivelse eller en anden excipiens, og blandingen fyldes på teleskopiske gelatinekapsler hver indeholdende mellem 7,5 og 50 mg af forbindelsen. Tilsvarende kan et farmaceutisk acceptabelt salt blandes med stivelse, et bindemiddel og et smøremiddel, og blandingen kan slås til tablettier med delekørv, dersom mindre doser eller opdelte doser skal anvendes. Ved parenteral brug foretrækkes intravenes indgift, omend man ved mindre pattedyr såsom mus anvender intraperitoneal indgift. Ved patenteral indgift anvendes isotoniske opløsninger, der rummer 1-10 mg/ml af et salt af den omhandlede forbindelse. Forbindelsen gives i et omfang svarende til fra 0,01 til 1 mg/kg, fortiniusvis fra 0,1 til 1 mg/kg, dyrelegemsvægt en eller to gange om ugen eller hveranden uge. En alternativ metode til fastlæggelse af den terapeutiske dosering baseres på legemsoverfladen og består i dosering af mellem 0,1 og 10 mg/m² dyrelegemsoverflade hver 7. eller 14. dag.
Patentkrav:

Fremgangsmåde til fremstilling af VLB-3-spiro-5"-oxazolidin-2",4"-dion med formlen

![Chemical Structure]

eller ikke-toxiske syreadditionssalte heraf, kendte ved, at man i nærve af natriumhydrid omsætter vindesin med dimethylcarbonat og, om ønsket, omdanner den opnåede forbindelse til et salt.

Fremdragne publikationer: