



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Int. Cl.³: C 07 D 519/04
A 61 K 31/435



Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

PATENTSCHRIFT A5

11

634 849

21 Gesuchsnummer: 3365/78

22 Anmeldungsdatum: 29.03.1978

30 Priorität(en): 30.03.1977 US 782644

24 Patent erteilt: 28.02.1983

45 Patentschrift veröffentlicht: 28.02.1983

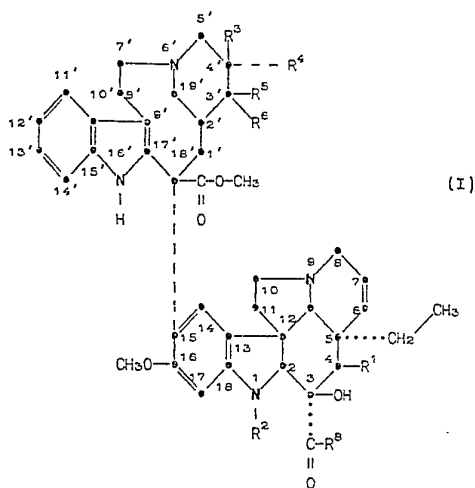
73 Inhaber:
Eli Lilly and Company, Indianapolis/IN (US)

72 Erfinder:
Gerald Lee Thompson, Indianapolis/IN (US)
Gloria Crosland Paschal, Indianapolis/IN (US)

74 Vertreter:
E. Blum & Co., Zürich

54 In 3'-Stellung oxygenierte Derivate von 4'-Desoxy-vincalculoblastin "A" und "B" sowie verwandte 1-Formylverbindungen.

57 Dimere Indol-Dihydroindole weisen die folgende Formel auf



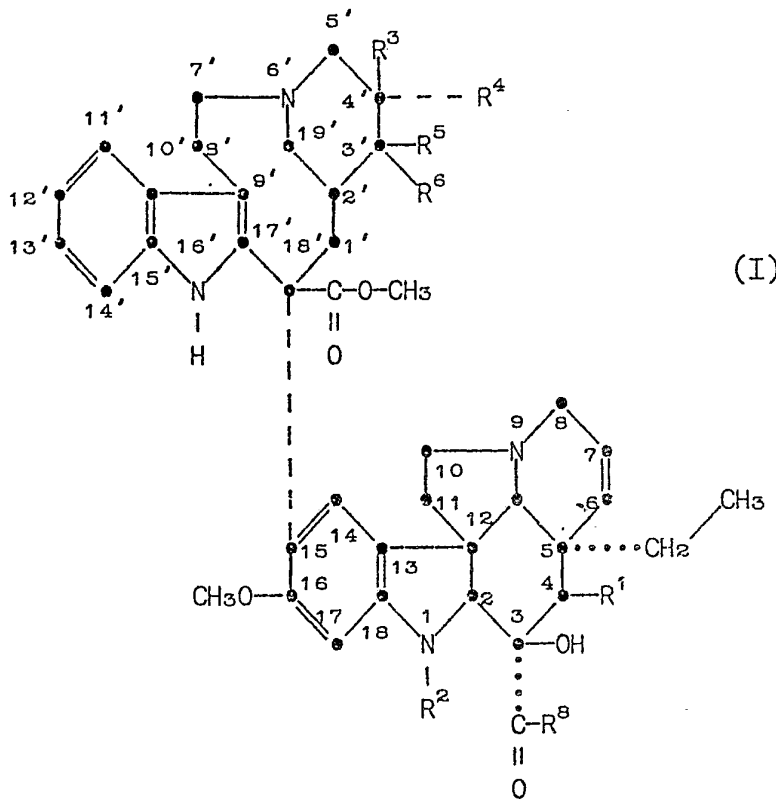
worin die Substituenten in Anspruch 1 definiert sind. Die neuen Verbindungen der Formel I können auch als Salze vorliegen.

Verschiedene Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel I sind beschrieben.

In Arzneimitteln, die gegen Tumoren wirksam sind, ist als Wirkstoffkomponente eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon enthalten.

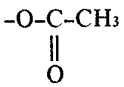
PATENTANSPRÜCHE

1. Dimeres Indol-Dihydroindol der allgemeinen Formel

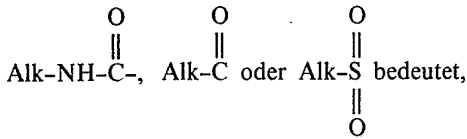


(I)

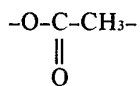
worin
R¹ eine der Gruppen OH oder



bedeutet,
R² eine der Gruppen -CH₃ oder -CHO bedeutet,
einer der Reste R³ und R⁴ Wasserstoff und der andere eine
-C₂H₅-Gruppe bedeutet,
einer der Reste R⁵ und R⁶, einzeln genommen, Wasserstoff
und der andere eine OR⁷-Gruppe bedeutet oder R⁵ und R⁶
zusammengenommen Sauerstoff bedeuten,
wobei R⁷ Wasserstoff oder eine der Gruppen



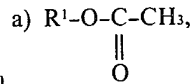
R⁸ in dem Falle, wenn R¹ eine Hydroxylgruppe oder eine



Gruppe ist, eine der Gruppen -OCH₃, -NH₂, -NH-CH₃,
-NH-CH₂-CH₂-O-Alk oder -NH-CH₂-CH₂-S-Alk bedeutet
oder in dem Falle, wenn R¹ eine Hydroxylgruppe ist, eine der
Gruppen -NH-NH₂, N₃, -NH-CH₂-CH₂-OH oder
-NH-CH₂-CH₂-SY bedeutet, worin Y entweder ein Wasser-
stoffatom oder eine Bindung ist, die die Schwefelatome in
zwei Resten der Formel I, worin Y eine Bindung ist, mitein-

ander verbindet, und Alk eine (C₁-C₃)-Gruppe bedeutet, oder
ein Salz davon.

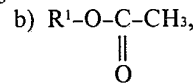
35 2. Verbindungen nach Anspruch 1, in deren Formel
bedeutet:



40

R²-CH₃, R³-C₂H₅, R⁴ Wasserstoff,
R⁵-OH, R⁶ Wasserstoff und R⁸-OCH₃
(3'-α-Hydroxy-4'-desoxyeurossidin),

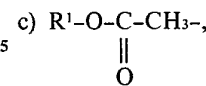
45



50

R²-CH₃, R³-C₂H₅, R⁴ Wasserstoff,
R⁵ + R⁶ Sauerstoff und R⁸-OCH₃ (3'-Oxo-4'-desoxyeurossidin),

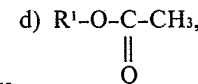
55



60

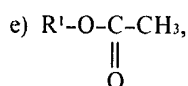
R²-CH₃, R³-C₂H₅, R⁴ und R⁵ je Wasserstoff,
R⁶ - OH und R⁸ -OCH₃ (3'-β-Hydroxy-4'-desoxyeurossidin),

65

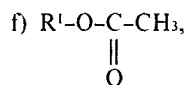


70

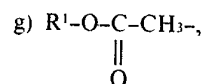
R²-CH₃, R³ Wasserstoff, R⁴-C₂H₅, R⁵ + R⁶ Sauerstoff und
R⁸-OCH₃ (3'-Oxo-4'-desoxyvincalocoblastin),



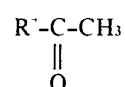
R^2-CH_3 , R^3 Wasserstoff, $R^4-C_2H_5$, R^5 Wasserstoff, R^6-OH und R^8-OCH_3 (3' β -Hydroxy-4'-desoxy-vincal leukoblastin),



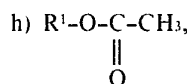
R^2-CH_3 , R^3 Wasserstoff, $R^4-C_2H_5$, R^5-OH , R^6 Wasserstoff und R^8-OCH_3 (3' α -Hydroxy-4'-desoxy-vincal leukoblastin),



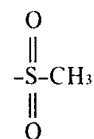
R^2-CH_3 -, $R^3-C_2H_5$, R^4 Wasserstoff, R^5-OR^7 , worin



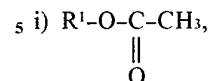
ist, R^6 Wasserstoff und R^8-OCH_3 (3' α -Acetoxy-4'-desoxy-leurosidin),



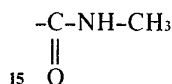
R^2-CH_3 , $R^3-C_2H_5$, R^4 Wasserstoff, R^5-OR^7 , worin R^7



ist, R^6 Wasserstoff und R^8-OCH_3 (3' α -Mesyloxy-4'-desoxy-leurosidin),

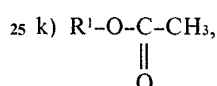


10 R^2-CH_3 , $R^3-C_2H_5$, R^4 Wasserstoff, R^5-OR^7 , worin R^7



ist, R^6 Wasserstoff und R^8-OCH_3 (3' α -(N-Methyl-carbamoyloxy)-4'-desoxy-leurosidin),

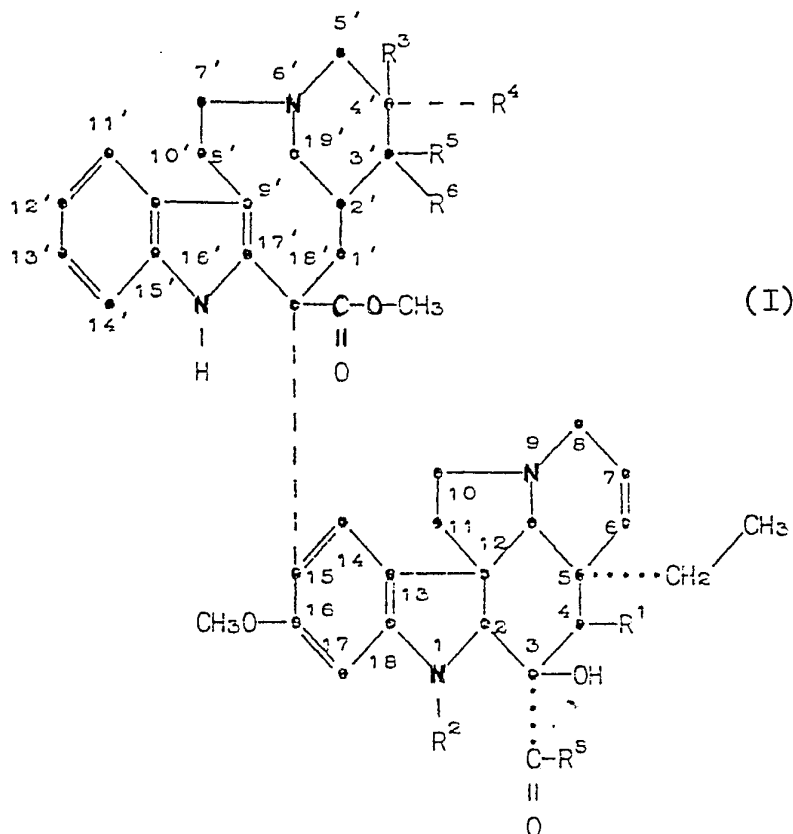
20 j) R^1-OH , R^2-CH_3 , $R^3-C_2H_5$, R^4 Wasserstoff, R^5-OH , R^6 Wasserstoff und $R^8-NH-NH_2$ (4-Desacetyl-3' α -hydroxy-4'-desoxy-leurosidin-C-3-carboxhydrazid) und



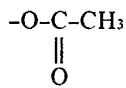
30 R^2-CHO , $R^3-C_2H_5$, R^4 Wasserstoff, R^5-OH , R^6 Wasserstoff und R^8-OCH_3 (3' α -Hydroxy-4'-desoxy-1-desmethyl-1-formyl-leurosidin), sowie Salze dieser Verbindungen.

3. Sulfatsalze von Verbindungen gemäss Anspruch 1 oder 2.

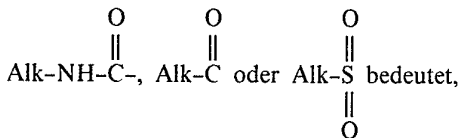
35 4. Gegen Tumoren wirksame Arzneimittel, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoffkomponente mindestens eine neue Verbindung der Formel



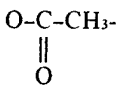
worin
R¹ eine der Gruppen OH oder



bedeutet,
R² eine der Gruppen -CH₃ oder -CHO bedeutet,
einer der Reste R³ und R⁴ Wasserstoff und der andere eine
-C₂H₅-Gruppe bedeutet,
einer der Reste R⁵ und R⁶, einzeln genommen, Wasserstoff
und der andere eine OR⁷-Gruppe bedeutet oder R⁵ und R⁶
zusammengenommen Sauerstoff bedeuten,
wobei R⁷ Wasserstoff oder eine der Gruppen



R⁸ in dem Falle, wenn R¹ eine Hydroxylgruppe oder eine



Gruppe ist, eine der Gruppen -OCH₃, -NH₂, -NH-CH₃,
-NH-CH₂-CH₂-O-Alk oder -NH-CH₂-CH₂-S-Alk bedeutet
oder in dem Falle, wenn R¹ eine Hydroxylgruppe ist, eine der
Gruppen -NH-NH₂, N₃, -NH-CH₂-CH₂-OH oder
5 -NH-CH₂-CH₂-SY bedeutet, worin Y entweder ein Wasser-
stoffatom oder eine Bindung ist, die die Schwefelatome in zwei
Resten der Formel I, worin Y eine Bindung ist, miteinander
verbindet, und Alk eine (C₁-C₃)-Gruppe bedeutet, oder ein
pharmazeutisch annehmbares Salz davon enthalten.

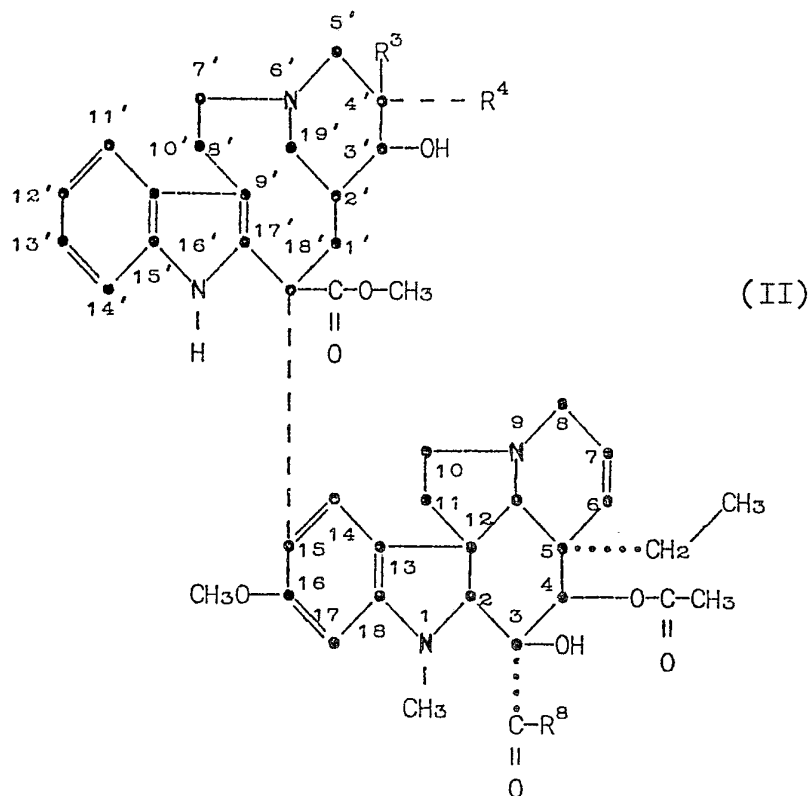
10 5. Verfahren zur Herstellung von 3'-α-Hydroxy-4'-desoxy-
leurosidin, dadurch gekennzeichnet, dass man Leurosin mit
Raneynickel in einem Lösungsmittel reduziert.

6. Verfahren gemäss Anspruch 5, dadurch gekenn-
zeichnet, dass man Leurosin mit W-4-Raneynickel in einem
15 niedrigmolekularen Alkanol bei Rückflusstemperatur redu-
ziert.

7. Verfahren zur Herstellung von 3'-Oxo-4'-desoxy-
leurosidin, dadurch gekennzeichnet, dass man 3'-α-Hydroxy-
4'-desoxyleurosidin mit einem milden Oxidationsmittel in
20 einem Reaktionsgemisch umsetzt.

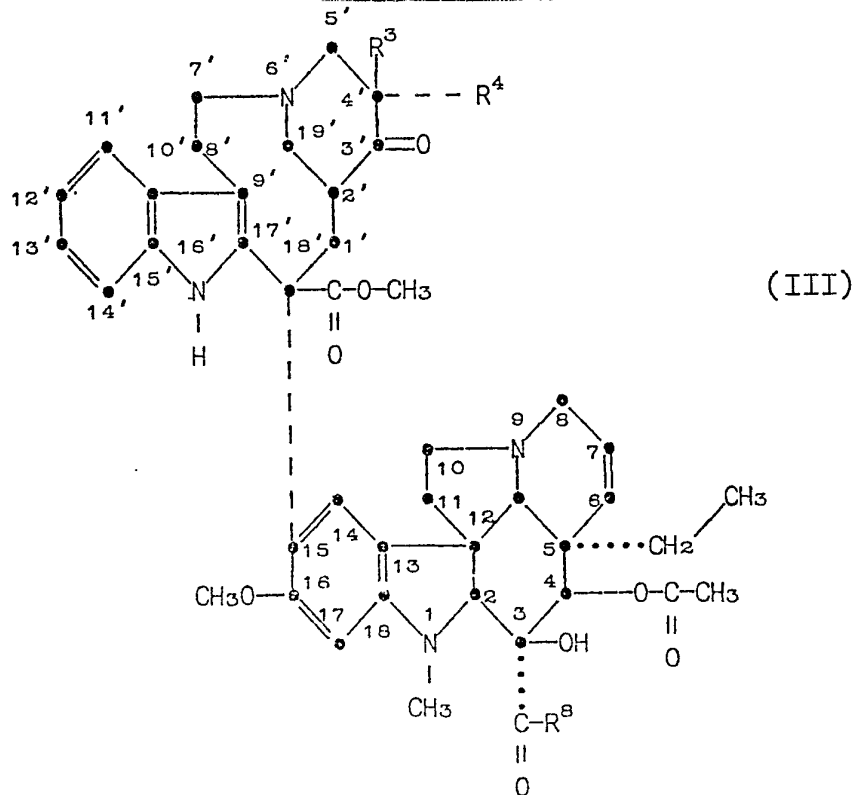
8. Verfahren gemäss Anspruch 7, dadurch gekenn-
zeichnet, dass man 3'-α-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin mit
N-Chlorsuccinimid und Dimethylsulfid in einem Gemisch
aus Toluol und Methylenchlorid bei 0 bis 25°C umsetzt.

25 9. Verfahren zur Herstellung eines 3'-Hydroxy-4'-desoxy-
indoldihydroindol-Dimeren der Formel



worin
einer der Reste R³ und R⁴ Wasserstoff und der andere eine
C₂H₅-Gruppe und R⁸ eine der Gruppen -OCH₃, -NH₂,
-NH-CH₃, -NH-CH₂-CH₂-O-Alk oder -NH-CH₂-CH₂-S-Alk

bedeutet, wobei Alk eine (C₁-C₃)-Alkyl-Gruppe bedeutet,
dadurch gekennzeichnet, dass man die 3'-Oxoverbindung
der Formel



worin

R^3 , R^4 und R^8 die oben angegebene Bedeutung besitzen, mit einem Reduktionsmittel in einem Reaktionsmedium umsetzt.

10. Verfahren gemäss Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass man als Reduktionsmittel Natriumborhydrid verwendet.

Die Erfindung betrifft 3'-Hydroxy- und 3'-Ketoderivate von 4'-Desoxy-vincaläuboblastin (Desoxy-VLB «A»), 4'-Desoxy-leurososidin (Desoxy-VLB «B»), 4'-Desoxyvincristin und 4'-Desoxy-1-desmethyl-1-formylleurososidin und verwandte 4-Desacetyl- und C-3-Carboxamid-Derivate, die sich als Antitumormittel bei Säugetieren eignen, sowie ein Verfahren zu ihrer Herstellung aus Leurososin als Ausgangsmaterial.

Verschiedene natürlich vorkommende, aus *Vinca rosea* erhältliche Alkaloide haben sich als bei der Behandlung von experimentell erzeugten bösartigen Tumorerkrankungen bei Tieren aktiv erwiesen. Unter diesen Alkaloiden sind zu nennen: Leurososin (US-PS 3 370 057), Vincaläuboblastin (Vincblastin), das im folgenden als VLB bezeichnet wird (US-PS 3 097 137), Leurososidin (Vinrososidin) und Leurocristin (VCR oder Vincristin) (beide in US-PS 3 205 220), Desoxy-VLB «A» und «B», [Tetrahedron Letters, 783 (1968)] (Desacetylleurososinhydrazid ist dort ebenfalls erwähnt), 4-Desacetylvincblastin (US-PS 3 954 773); 4-Desacetyl-3'-hydroxyvincblastin (US-PS 3 944 554); Leurocolombin (US-PS 3 890 325), Leuroformin (N-Formylleurososin, siehe BE-PS 811 110) und Vincadiolin (US-PS 3 887 565). Zwei dieser Alkaloide, VLB und Leurocristin, werden gegenwärtig als Arzneimittel für die Behandlung von bösartigen Tumorerkrankungen bei Menschen, insbesondere von Leukämien und verwandten Krankheiten vertrieben.

Die dimeren Indol-Dihydroindol-Alkaloide, die aus *Vinca rosea* erhältlich sind, können durch die weiter unten angege-

bene Formel I wiedergegeben werden. Für die Verbindung VLB besitzen die einzelnen Reste in Formel I die folgende Bedeutung: R^1 = Acetoxygruppe, R^2 = Methylgruppe, R^3 = Hydroxylgruppe, R^4 = Ethylgruppe, R^5 und R^6 = Wasserstoff und R^8 = Methoxygruppe; für die Verbindung Vincristin haben die Reste die folgende Bedeutung: R^1 = Acetoxygruppe, R^2 = Formylgruppe, R^3 = Hydroxylgruppe, R^4 = Ethylgruppe, R^5 und R^6 = Wasserstoff und R^8 = Methoxygruppe; für Leurososin besitzen die Reste die folgende Bedeutung: R^1 = Acetoxygruppe, R^2 = Methylgruppe, R^3 = Ethylgruppe, R^4 = Hydroxylgruppe, R^5 und R^6 = Wasserstoff und R^8 = Methoxygruppe; für Desoxy-VLB «A» besitzen die Reste die folgende Bedeutung: R^1 = Acetoxygruppe, R^2 = Methylgruppe, R^3 , R^5 und R^6 = Wasserstoff, R^4 = Ethylgruppe, und R^8 = Methoxygruppe; für Desoxy-VLB «B» besitzen die Reste R^1 , R^2 , R^5 , R^6 und R^8 dieselbe Bedeutung wie für die Verbindung Desoxy-VLB «A», während der Rest R^3 eine Ethylgruppe und der Rest R^4 ein Wasserstoffatom bedeuten; für Leurososin besitzen die Reste die folgende Bedeutung: R^1 = Acetoxygruppe, R^2 = Methylgruppe, R^3 = Ethylgruppe, R^4 und R^5 bilden zusammengenommen einen α -Epoxidring, R^6 = Wasserstoff und R^8 = Methoxygruppe.

Leuroformin hat die gleiche Struktur wie Leurososin mit der Ausnahme, dass R^2 eine Formylgruppe statt einer Methylgruppe bedeutet. Leurocolombin und Vincadiolin sind 2'-Hydroxy-VLB bzw. 3'-Hydroxy-VLB. 4-Desacetyl-VLB besitzt die gleiche Struktur wie VLB mit der Abweichung, dass R^1 ein Wasserstoffatom statt eine Acetoxygruppe bedeutet; 3'-Hydroxy-4-desacetyl-VLB kann auch 4-Desacetyl-vincadiolin genannt werden.

Neuss, Gorman, Cone und Huckstep haben Leurososin mit Raneynickel in absolutem Ethanol behandelt und vorwiegend Desoxy-VLB «B» zusammen mit geringen Mengen an Desoxy-VLB «A» erhalten, d.h. durch die Hydrierung wurde der Epoxidsauerstoff aus dem Leurososin entfernt und eine gewisse Racemisierung erzielt. Ausserdem wurde von Neuss, Huckstep und Cone irrtümlich berichtet, dass Leurososin das 3'-Hydroxy-desoxy-VLB «B» (β -Ethylgruppe an C-4') sei.

Es wurde nun von Wenkert, Hagaman, Lal, Gutowski, Miller und Neuss (Helv. Chim. Acta, 58, 1560; 1975) gefunden, dass Leurosidin eine 4'-Hydroxyverbindung ist, die mit VLB isomer ist (α -Hydroxy- β -ethyl an C-4' statt β -Hydroxy- α -ethyl wie in VLB), vgl. auch N. Langlais und P. Potier, Tetrahedron Letters, 1099 (1976), die Leurosidin durch Teilsynthese hergestellt haben.

Die chemische Modifizierung der Vincaalkaloide ist verhältnismässig begrenzt geblieben. Erstens sind die Molekülstrukturen, mit denen man es zu tun hat, äusserst komplex, weshalb chemische Umsetzungen, die nur eine spezifische Funktion des Moleküls betreffen, schwierig zu entwickeln sind. Zweitens wurden aus Fraktionen von *Vinca rosea* Alkaloide gewonnen, die die erwünschten chemotherapeutischen Eigenschaften nicht besaßen, und eine Aufklärung ihrer Struktur hat zu dem Schluss geführt, dass diese Verbindungen mit den aktiven Alkaloiden nahe verwandt sind. Somit scheint die neoplastische Aktivität auf ganz spezifische Strukturen beschränkt zu sein, und die Aussichten, stärker aktive Arzneimittel durch Modifizierung dieser Strukturen zu erhalten, sind dementsprechend nur gering. Unter den erfolgreichen Modifikationen der physiologisch aktiven Alkaloide sind die Herstellung von Dihydro-VLB nach US-PS 3 352 868 sowie der Ersatz der Acetylgruppe an C-4 (Kohlenstoffatom 4 des VLB-Ringsystems gemäss der unten angegebenen numerierten Struktur) durch höhermolekulare Alkanoylgruppen oder mit nicht verwandten Acylgruppen (US-PS 3 392 173) zu nennen. Mehrere dieser Derivate sind in der Lage, die Lebensdauer von Mäusen zu verlängern, die mit P1534-Leukämie beimpft worden sind. Eines der Derivate, in dem die C-4-Acetylgruppe von VLB durch eine Chloracetylgruppe ersetzt ist, erwies sich ausserdem als wertvolles Zwischenprodukt bei der Herstellung von strukturmassig modifizierten VLB-Verbindungen, in denen die C-4-Acetylgruppe durch eine N,N-Dialkylglycylgruppe ersetzt ist (vgl. US-PS 3 387 001). Während der Umsetzungen, die zu den letztgenannten Derivaten führten, wurde eine Zwischenverbindung, nämlich 4-Desacetyl-VLB hergestellt. Dieses Zwischenpro-

dukt, in dem die C-4-Acylgruppe fehlte und eine Hydroxylgruppe unverestert blieb, wurde als toxisches Material mit geringer chemotherapeutischer In-vivo-Aktivität gegenüber dem P1534-Mäuseleukämie-System bezeichnet (vgl. Har-grove, Lloydia, 27, 340; 1964).

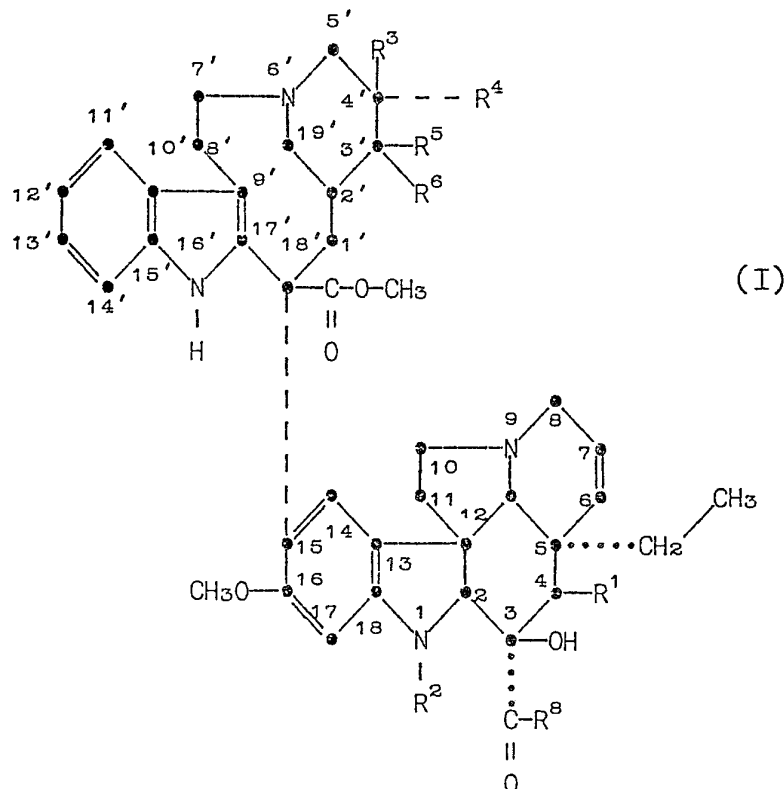
Eine der neueren und erfolgreichen chemischen Modifizierungen des dimeren Indol-Dihydroindol-Alkaloids aus *Vinca* besteht aus dem Ersatz der Esterfunktion an C-3 durch eine Amid- oder Hydrazidfunktion, normalerweise unter gleichzeitigem Verlust der Acetylgruppe an C-4, die jedoch ersetzt werden kann. Amide der Alkaloide VLB, Leurosidin, Vincristin, Desoxy-VLB «A» und «B», Leurocolombin, Vincadiolin, 4-Desacetoxy-VLB und 3'-Hydroxy-4-desacetoxy-VLB sind in der BE-PS 837 390 beschrieben.

Zwei der obigen Alkaloide, VLB und Vincristin, werden gegenwärtig zur Behandlung von malignen Tumorerkrankungen beim Menschen vertrieben. Von diesen beiden ist das Vincristin das nützlichste und am schlechtesten zugängliche. Vor kurzem ist von Jovanovics et al., US-PS 3 899 493, eine oxidative Methode zur Überführung des relativ besser erhältlichen VLB in Vincristin entwickelt worden, bei der mit Chromsäure bei niedrigen Temperaturen (-60°C) oxidiert wird. Es gibt auch noch andere, verhältnismässig reichlich vorkommende Alkaloide in der dimeren Indol-Dihydroindol-Fraktion von *Vinca*, wie Leurosin, und es wäre daher wünschenswert, diese unmittelbar oder mittelbar in Vincristin oder ein Präparat von vergleichbarer onkolytischer Aktivität umzuwandeln.

Bekanntlich kann Leurosin durch Behandeln mit Raney-Nickel in absolutem Ethanol unter Rückfluss in Desoxy-VLB «B» zusammen mit unterschiedlichen Mengen an Desoxy-VLB «A» überführt werden, vgl. Neuss, Gorman, Cone und Huckstep, Tetrahedron Letters, 783-7; 1968.

Aufgabe der Erfindung ist, onkolytisch aktive Alkaloide, die bisher noch nicht zugänglich waren, zur Verfügung zu stellen.

Gegenstand der Erfindung ist ein dimeres Indol-Dihydroindol der allgemeinen Formel

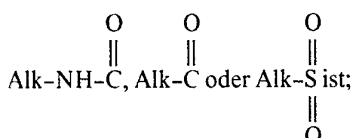


worin

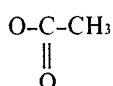
R¹ OH oder $\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$;



R² CH₃ oder CHO bedeuten,
einer der Reste R³ und R⁴ Wasserstoff und der andere eine
Ethylgruppe bedeuten;
einer der Reste R⁵ und R⁶, einzeln genommen, Wasserstoff
und der andere die Gruppe OR⁷ oder R⁵ und R⁶ zusammenge-
nommen Sauerstoff bedeuten,
wobei R⁷ ein Wasserstoffatom, einer der Reste



R⁸, in dem Falle, wenn R¹ OH oder



bedeutet, OCH₃, NH₂, NH-CH₃, NH-CH₂-CH₂-O-Alk oder
5 NH-CH₂-CH₂-S-Alk bedeutet oder in dem Falle, dass R¹ eine
Hydroxylgruppe ist, NH-NH₂, N₃, NH-CH₂-CH₂-OH oder
NH-CH₂-CH₂-SY bedeutet, wobei Y entweder ein Wasser-
stoffatom oder eine Bindung bedeutet, die die Schwefelatome
in zwei Resten der Formel I, in denen Y eine Bindung
10 bedeutet, miteinander verbindet; und Alk (C₁-C₃)-Alkyl
bedeutet;
oder ein Salz davon.

Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein Antitumor-
mittel, das als Wirkstoffkomponente mindestens eine neue
15 Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehm-
bares Salz davon enthält.

Bevorzugte neue Verbindungen sind in der Tabelle, in
welcher die Substituenten definiert sind, angegeben.

Das erfindungsgemässe Verfahren zur Herstellung von
20 3'-α-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin ist dadurch gekenn-
zeichnet, dass man Leurosin mit Raneynickel in einem
Lösungsmittel reduziert.

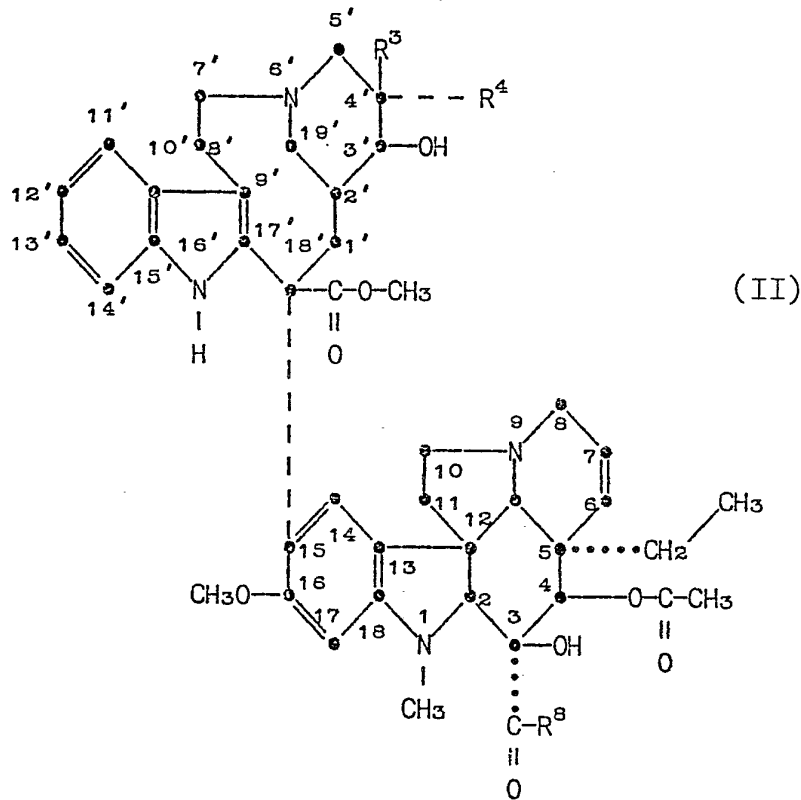
Trivialname	Definitionen der in Formel I enthaltenen Substituenten							
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸
Leurosin	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	β C ₂ C ₅	α —O—	α	β H	-	OCH ₃
3'-α-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin,	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	C ₂ H ₅	H	OR ⁷	H	H	OCH ₃
3'-Oxo-4'-desoxyleurosidin,	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	C ₂ H ₅	H	—O—	-	-	OCH ₃
3'-β-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin,	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	C ₂ H ₅	H	H	OR ⁷	H	OCH ₃
3'-Oxo-4'-desoxy-VLB,	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	H	C ₂ H ₅	—O—	-	-	OCH ₃
3'-β-Hydroxy-4'-desoxy-VLB,	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	H	C ₂ H ₅	H	OR ⁷	H	OCH ₃
3'-α-Hydroxy-4'-desoxy-VLB,	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	H	C ₂ H ₅	OR ⁷	H	H	OCH ₃
3'-α-Acetoxy-4'-Desoxyleurosidin,	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	C ₂ H ₅	H	OR ⁷	H	*	OCH ₃
3'-α-Mesyloxy-4'-desoxyleurosidin,	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	C ₂ H ₅	H	OR ⁷	H	**	OCH ₃
3'-α-(N-Methyl-carbamoyloxy)-4'- desoxyleurosidin,	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	CH ₃	C ₂ H ₅	H	OR ⁷	H	***	OCH ₃
4-Desacetyl-3'-α-hydroxy-4'-desoxy- leurosidine-C-3-carboxhydrazid,	OH	CH ₃	C ₂ H ₅	H	OR ⁷	H	H	-NHNH ₂
3'-α-Hydroxy-4'-desoxy-1-des- methyl-1-formyl-leurosidin	$\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	-CHO	C ₂ H ₅	H	OR ⁷	H	H	OCH ₃

* is $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$; ** is $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{S}}-\text{CH}_3$; *** is $\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{N}}-\text{CH}_3$

Das Verfahren zur Herstellung von 3'-Oxo-4'-desoxyeu-
rosidin ist dadurch gekennzeichnet, dass man 3'- α -Hydroxy-
4'-desoxyeu-rosidin mit einem milden Oxidationsmittel in

einem Reaktionsgemisch umsetzt.

Das Verfahren zur Herstellung von 3'-Hydroxy-4'-desoxy-
indol-Dihydroindol-Dimeren der Formel

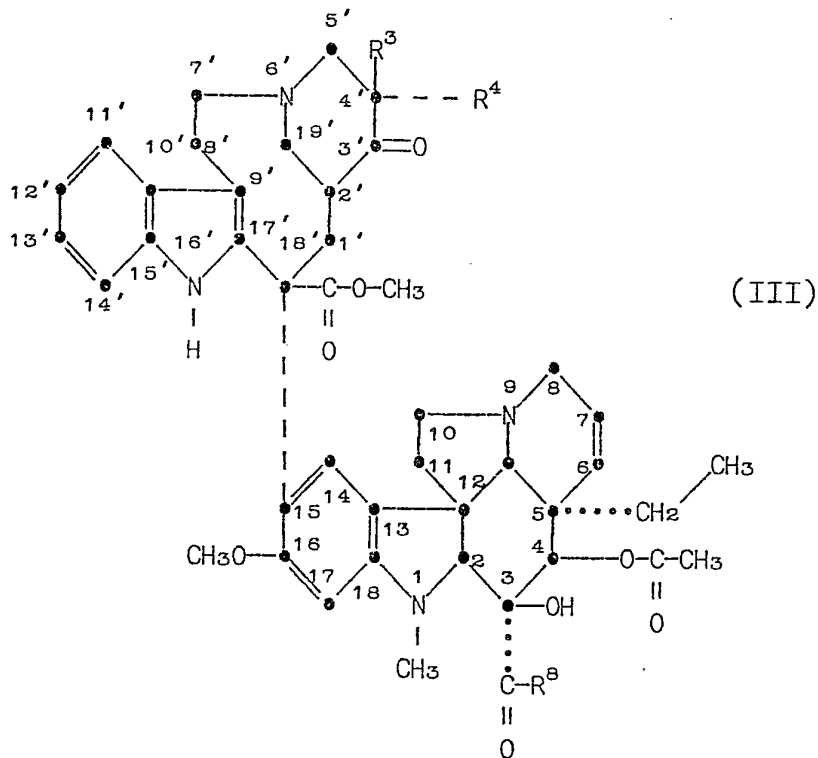


worin

einer der Reste R^3 und R^4 Wasserstoff und der andere eine
Ethylgruppe bedeutet und R^8 eine der Gruppen OCH_3 , NH_2 ,
 $NH-CH_3$, $NH-CH_2-CH_2-O-Alk$ oder $NH-CH_2-CH_2-S-Alk$

bedeutet, worin Alk (C_1-C_3)-Alkyl bedeutet,

³⁵ ist dadurch gekennzeichnet, dass man die 3'-Oxo-Verbin-
dung der Formel

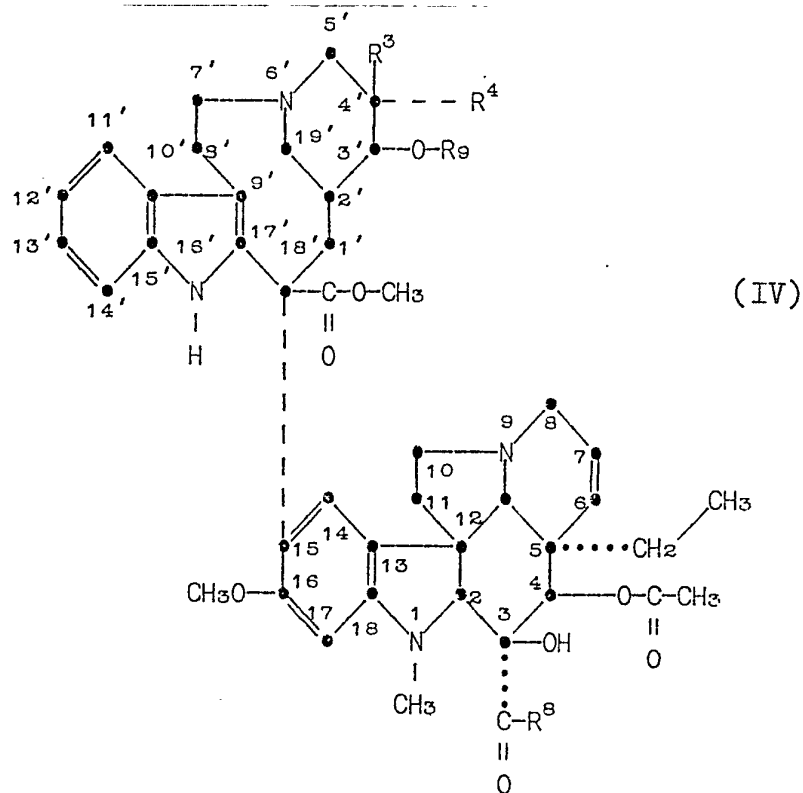


worin R^3 , R^4 und R^8 die oben beschriebene Bedeutung
besitzen, in einem Reaktionsmittel mit einem Reduktions-
mittel umsetzt.

3'-Oxo-4'-desoxy-VLB kann hergestellt werden, indem

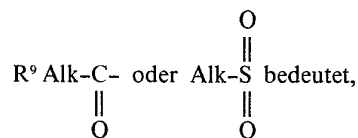
⁶⁵ man 3'-Oxo-4'-desoxyeu-rosidin in einem milden basischen
Reaktionsgemisch umsetzt.

4'-Desoxyindol-Dihydroindol-Dimeren der Formel

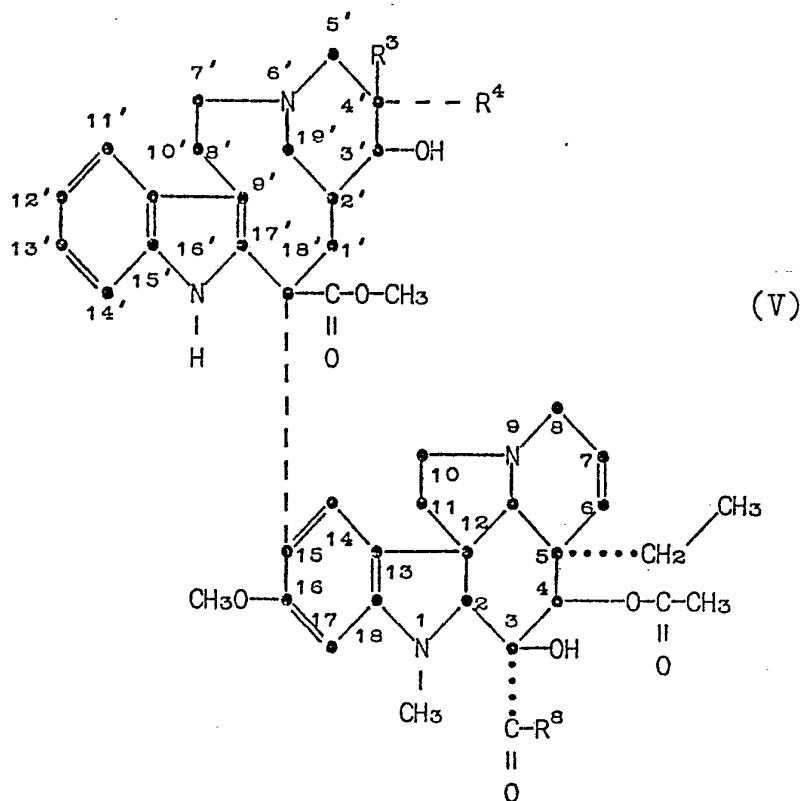


worin
einer der Reste R^3 und R^4 Wasserstoff und der andere eine
Ethylgruppe bedeutet,

R^8 eine der Gruppen OCH_3 , NH_2 , $NH-CH_3$, $NH-CH_2-CH_2-$
O-Alk oder $NH-CH_2-CH_2-S$ -Alk und



wobei Alk (C_1-C_3)-Alkyl bedeutet, kann erhalten werden, indem, man ein 3'-Hydroxy-4'-desoxyindol-Dihydroindol-Dimeres
der Formel



worin R^3 , R^4 und R^8 die oben angegebene Bedeutung besitzen, mit einer Verbindung der allgemeinen Formel R^9-R^{10} , worin R^{10} OR⁹, OH oder X und X F, Cl, Br oder I bedeutet und R^9 die oben angegebene Bedeutung besitzt, in einem Reaktionsgemisch umgesetzt.

3'- α -(N-Alkyl-carbamoyloxy)-4'-desoxyleurosidin wird vorzugsweise hergestellt, indem man 3'- α -Hydroxy-4'-desoxyleurosidin mit einem Alkylisocyanat in Benzol bei 30°C bis 50°C umsetzt.

4-Desacetyl-3'- α -hydroxy-4'-desoxyleurosidin-C-3-carboxhydrazid kann erhalten werden indem man 3'- α -Hydroxy-4'-desoxyleurosidin mit Hydrazin in einem Reaktionsgemisch umsetzt und 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-1-desmethyl-1-formylleurosidin wird vorzugsweise hergestellt, indem man 3'- α -Hydroxy-4'-desoxyleurosidin in einem Reaktionsgemisch oxidiert.

In den obigen Formeln umfasst der (C₁-C₃)-Alkyl-Rest eine Methyl-, Ethyl-, n-Propyl- oder Isopropylgruppe.

Ferner sind bei R^2 = Methyl, R^3 = H und R^4 = Ethyl die Verbindungen Derivate von 4'-Desoxy-VLB, das auch Desoxy-VLB «A» genannt wird; bei R^2 = Methyl, R^3 = Ethyl und R^4 = H die Verbindungen Derivate von 4'-Desoxyleurosidin, das auch Desoxy-VLB «B» genannt wird; bei R^2 = Formyl, R^3 = H und R^4 = Ethyl die Verbindungen Derivate von 4'-Desoxyvincristin und bei R^2 = Formyl, R^3 = Ethyl und R^4 = H der Verbindungen Derivate von 4'-Desoxy-1-formylleurosidin. Verbindungen mit R^1 = OH werden als 4-Desacetylderivate bezeichnet. In den Stammalkaloiden selbst, wie beispielsweise 4'-Desoxy-VLB, 4'-Desoxy-vincristin usw. bedeutet R^8 eine Methoxylgruppe. Wenn in derartigen Verbindungen die Methoxylgruppe durch eine Amidogruppe ersetzt wird, d.h. wenn R^8 beispielsweise NH₂ oder NH-CH₃ bedeutet, wird die erhaltene Verbindung als C-3-Carboxamid oder N-Methyl-C-3-carboxamid bezeichnet, wobei bei jeder dieser Bezeichnungen stillschweigend der Ausdruck «C-3-Descarbomethoxy» mitgemeint, jedoch wegen der Kürze nicht mitangegeben ist. Analog ist unter der Bezeichnung 4'-Desoxy-1-formylleurosidin zu verstehen, dass die 1-Methyl-Gruppe des Leurosids durch eine Formylgruppe ersetzt worden, dass aber die Bezeichnung «1-Desmethyl» aus Vereinfachungsgründen weggelassen worden ist.

Ungiftige Säuren, die sich zur Herstellung pharmazeutisch annehmbarer Säureadditionssalze aus den Verbindungen gemäss der Erfindung eignen, sind beispielsweise Salze, die sich von anorganischen Säuren ableiten, wie Salzsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Bromwasserstoff- oder Jodwasserstoffsäure, salpetriger Säure, phosphoriger Säure und dgl., sowie Salze, die sich von ungiftigen organischen Säuren ableiten, wie beispielsweise von aliphatischen Mono- und Dicarbonsäuren, phenylsubstituierten Alkan-, Hydroxyalkan- und Alkandicarbonsäuren, aromatischen Säuren, aliphatischen und aromatischen Sulfonsäuren usw. Derartige pharmazeutisch annehmbare Salze sind u.a. die Sulfate, Pyrosulfate, Bisulfate, Sulfite, Bisulfite, Nitrate, Phosphate, Monohydrogenphosphate, Dihydrogenphosphate, Metaphosphate, Pyrophosphate, Chloride, Bromide, Jodide, Acetate, Propionate, Decanoate, Caprylate, Acrylate, Formiate, Isobutyrate, Caprate, Heptanoate, Propiolate, Oxalate, Malonate, Succinate, Suberate, Sebacate, Fumarate, Maleate, Benzoate, Chlorbenzoate, Methylbenzoate, Dinitrobenzoate, Hydroxybenzoate, Methoxybenzoate, Phthalate, Terephthalate, Benzolsulfonate, Toluolsulfonate, Chlorbenzolsulfonate, Xylolsulfonate, Phenylacetate, Phenylpropionate, Phenylbutyrate, Citrate, Lactate, 2-Hydroxybutyrate, Glycolate, Malate, Tartrate, Methansulfonate, Propansulfonate, Naphthalin-1-sulfonate und Naphthalin-2-sulfonate.

Die Verbindungen gemäss der Erfindung werden vorzugsweise hergestellt, indem man Leurosine mit W^4 -Raneynickel in absolutem Alkohol nach der Vorschrift von Neuss, Gorman, Cone und Huckstep, Tetrahedron Letters, 783 (1968) behandelt. Dabei wird neben Desoxy-VLB «A» und Desoxy-VLB «B», die beide von den Autoren gefunden wurden, ein neues Material erhalten, das als 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-VLB «B» oder vorzugsweise als 3'- α -Hydroxy-4'-desoxyleurosidin bezeichnet wird. Die Reduktion kann auch in Essigester, Tetrahydrofuran, Toluol oder einem anderen geeigneten Lösungsmittel durchgeführt werden. Die Oxidation dieser Verbindung ergibt 3'-Keto-4'-desoxyleurosidin, ein Schlüssel-Zwischenprodukt. Die bevorzugte Reduktion des 3'-Ketons mit Natriumborhydrid ergibt 3'- β -Hydroxy-4'-desoxyleurosidin, den epimeren Alkohol. Das 3'-Keton kann auch zu einem 4'-Ethylderivat epimerisiert werden, das der 4'-Desoxy-VLB- oder Desoxy-VLB-«A»-Reihe angehört. Die Reduktion dieses epimeren Ketons ergibt sowohl 3'- β -Hydroxy-4'-desoxy-VLB als auch in geringeren Mengen 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-VLB.

Die Acylate gemäss der Erfindung können aus einer der oben genannten 3'-Hydroxy-Verbindungen nach Standardverfahren hergestellt werden, d.h. unter Verwendung eines Anhydrids in Gegenwart eines tertiären Amids. Carbamate werden z.B. durch Umsetzung des Alkohols mit einem Alkylisocyanat hergestellt. Die C-3-Amide, -Hydrazide und dgl. können nach dem Verfahren gemäss BE-PS 837 390 hergestellt werden. Verbindungen, die der Vincristinreihe oder 1-Formylleurosidinreihe angehören (Verbindungen gemäss der obigen Formel II, in der R^2 eine CHO-Gruppe ist), werden vorzugsweise durch Oxidation der entsprechenden Verbindung aus der VLB- oder Leurosidinreihe, in der R^2 eine Methylgruppe ist, unter Anwendung des Verfahrens gemäss US-PS 3 899 493 mit Chromsäure bei niedrigen Temperaturen hergestellt.

Es ist nicht sofort offensichtlich, warum Neuss, Gorman, Cone und Huckstep Tetrahedron Letters, 783 (1968) bei der Umsetzung von Leurosine mit Raneynickel in wasserfreiem Ethanol kein 3'-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin gefunden haben. Der einzige Unterschied zwischen dem Verfahren gemäss der Erfindung und demjenigen von Neuss et al. besteht, soweit ersichtlich, in der Verwendung von vorhydriertem Raneynickel der Aktivität W^4 anstelle des Raneynickels der Aktivität W^1 , wie es von Neuss et al. verwendet wurde. Die Ausbeuten an 3'-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin betragen 10 bis 20% bei Verwendung des aktiveren Raneynickels, und diese Menge an der Verbindung ist zu gross, als dass sie während der früheren Umsetzung von Neuss et al. bei Verwendung des weniger aktiven Raneynickels hätte übersehen werden können. Es kann daher lediglich angenommen werden, dass das weniger aktive Raneynickel, wenn überhaupt, weitaus geringere Mengen an dem 3'-Hydroxyderivat ergeben hat und dass die Verbindung, wenn sie überhaupt vorhanden war, in einer solchen geringen Menge vorlag, dass sie nicht entdeckt werden konnte.

Die Erfindung wird im folgenden anhand von Beispielen erläutert.

Beispiel 1

3'- α -Hydroxy-4'-desoxyleurosidin

Einer Suspension aus 10,0 g hochgereinigtem Leurosine in 700 ml 95%igem Ethanol wurde in einem mit Stopfen, mechanischem Rührer und Kühler ausgestatteten 1-l-Dreihalsrundkolben etwa 16 g Raneynickel der Aktivität W^4 zugesetzt, und das Reaktionsgemisch wurde unter Rühren etwa eine Stunde lang auf Rückflusstemperatur erhitzt, wonach Dünnschichtchromatographie (unter Verwendung eines Systems aus 1:1:1 Methylenchlorid/Essigester/Ethanol) anzeigte,

dass kein Leurosins übriggeblieben und zwei nur schwach aufgetrennte Produkte mit niedrigem R_f-Wert vorhanden waren. Das Umsetzungsgemisch wurde gekühlt und filtriert. Der Katalysator wurde mit 95%igem Ethanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde aus dem Filtrat durch Eindampfen auf ein Volumen von etwa 150 ml entfernt. Das erhaltene Gemisch wurde durch Erhitzen erneut gelöst. Zusätzliches Ethanol wurde bis zu einem Gesamtvolumen von 300 ml zugesetzt, und die Lösung wurde kristallisieren gelassen. Das kristalline Material bestand vorwiegend aus Desoxy-VLB «B» (4'-Desoxyleurosidin). Die Mutterlauge wurde im Vakuum konzentriert, wobei man 4,5 g eines Rückstandes erhielt, der an 250 g Silicagel (Woelm Aktivität I) wie folgt chromatographiert wurde: Der Rückstand wurde in Methylendichloridlösung auf die Säule aufgegeben. Das Chromatogramm wurde mit einem Lösungsmittelgemisch aus Diethylether/Toluol/Diethylamin (20:1:1), das von 1,8 auf 45% ansteigende Mengen Methanol enthielt, entwickelt. Die ersten 1,75 l Eluat wurden verworfen. Die nächsten 100 ml ergaben 468 mg an praktisch reinem 3'-α-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin, das mit einer geringen Menge (weniger als 5%) des entsprechenden 6,7-Dihydroderivats verunreinigt war. Die nächsten 200 ml Eluat ergaben 648 mg an sehr reinem 3'-α-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin. Die Verbindung besass die folgenden physikalischen Eigenschaften:

PK.: (66% DMF) 8,19; 5,17;

UV-Spektrum: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} = 215 (\epsilon 4,51 \times 10^4)$, 263, 288, 297 nm;

IR-Spektrum: $\nu^{\text{CHCl}_3} = 3450, 1730, 1230 \text{ cm}^{-1}$;

Rotation: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +7,1^\circ (\text{CH}_3\text{OH})$;

Massenspektrogramm: m/e 810, 751, 469, 355, 282, 154;

Magnetisches Protonenresonanzspektrum (100 Megahertz):

$\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ 7,95 (brs, 1H, Indol-N-H), 7,38-7,57 (m, 1H, H₁₁); 7,0-7,2 (m, 3H, H₁₂, ₁₃', ₁₄'); 6,52 (s, 1H, H₁₄); 6,09 (s, 1H, H₁); 5,74-5,95 (brdd, J = 4, 10, 1H, H₇); 5,45 (s, 1H, H₄); 5,30 (brd, J = 10, 1H, H₆); 3,79 und 3,80 (2s, 6H, C-24- und -25-Methylgruppen); 3,75 (s, 1H, H₂); 3,59 (s, 3H, C-18'-CO₂CH₃); 2,69 (s, 3H, N-CH₃); 2,65 (s, 1H, H₁₉); 2,07 (s, 3H, CH₃CO₂); 0,80 und 0,95 (2t, J = 7,3, 6H, C-21- und -21'-Methylgruppen).

Das Sulfat des 3'-α-Hydroxy-4'-desoxyleurosidins wurde hergestellt, indem man 695 mg der Base in 5 ml wasserfreiem Ethanol löste und 2,38 ml 2%ige Ethansulfonsäure (Volumen/Volumen) zusetzte. Es bildete sich eine unmittelbare Ausfällung des Sulfats, das abfiltriert wurde. Der Filterrückstand wurde mit Ethanol gewaschen, und man erhielt 666 mg eines flockigen weissen Festkörpers, der aus 3'-α-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin bestand.

Beispiel 2

3'-Oxo-4'-desoxyleurosidin

Ein Gemisch aus 494 mg N-Chlorsuccinimid und 10 ml wasserfreiem Toluol wurde mit einem Magnetrührer bei Umgebungstemperatur 5 bis 10 Minuten in einem 25-ml-Dreihalskolben, der mit Stopfen, Serumkappe und Gaseinlassrohr ausgestattet war, gerührt. Daraufhin wurde das Gemisch auf etwa 0°C gekühlt und mit 345 mg Dimethylsulfid versetzt. Dieses neue Gemisch wurde bei etwa 0°C 30 Minuten lang gerührt. Danach wurde mit einer Pipette eine Lösung aus 500 mg 3'-α-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin in 2,5 ml Methylendichlorid zugesetzt. Weitere 1,5 ml Methylendichlorid wurden verwendet, um die Lösung aus der Pipette zu waschen. Dieses Reaktionsgemisch wurde unter Stickstoff 6 Stunden lang bei 0°C gerührt. Danach wurden 375 Triethylamin hinzugegeben und das Gemisch bei Umgebungstemperatur etwa 30 Minuten lang gerührt. Danach wurde weiteres Methylendichlorid hinzugegeben und die organische Lösung

mit Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und noch zweimal mit Methylendichlorid extrahiert. Die Methylendichloridphasen wurden vereinigt, getrocknet und im Vakuum zu einem dicken, gelben Öl eingedampft. Dünnschichtchromatographie ergab kein Material in dem dicken Öl, das dem Ausgangsmaterial entsprochen hätte. Der ölige Rückstand wurde an 20 g Silicagel (Woelm Aktivität I) chromatographiert. Die Verbindung wurde in einem 1:1-Gemisch aus Methylendichlorid und Essigester mit einem Gehalt von 2% Methanol aufgegeben. Die Eluierung wurde mit demselben Lösungsmittelgemisch durchgeführt, das in 150-ml-Fractionen von 2 bis 6% ansteigende Methanolvolumen enthielt. Die ersten zehn Fractionen besaßen ein Volumen von 20 ml, die restlichen ein solches von 10 ml. Die Fractionen 18 bis 25 enthielten nach Dünnschichtchromatographie ein einziges Material, das aus 108 mg 3'-Oxo-4'-desoxyleurosidin mit den folgenden physikalischen Eigenschaften bestand:

UV-Spektrum: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} = 215 (\epsilon 4,73 \times 10^4)$, 265, 287, 296 nm;

IR-Spektrum: $\nu^{\text{CHCl}_3} = 3460, 1735, 1720, 1230 \text{ cm}^{-1}$;

Massenspektrogramm: m/e 808, 749, 649, 282, 152;

Magnetisches Protonenresonanzspektrum (100 Megahertz):

$\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ 8,01 (brs, 1H, Indol-N-H); 7,45-7,63 (m, 1H, C(11')-H); 7,05-7,25 (m, 3H, C(12'-14')-H₇); 6,52 (s, 1H, C(14)-H); 6,12 (s, 1H, C(17)-H); 5,75-5,95 (brdd, J = 4 und 10; 1H, C(7)-H); 5,45 (s, 1H, C(4)-H); 5,29 (brd, 1H, C(6)-H); 3,84 und 3,78 (2s, 6H, C(24, 25)-CH₃); 3,73 (s, 1H, C(2)-H); 3,60 (s, 3H, C(18')-CO₂CH₃); 2,75 (s, 3H, N-CH₃); 2,64 (s, 1H, C(19)-H); 2,08 (s, 3H, CH₃CO₂); 0,81 und 0,92, (2t, J = 7,3, 6H, C(21, 21')-CH₃).

Das Sulfat wurde aus einer Lösung der freien Base in Ethanol unter Verwendung von 2%iger ethanolischer Schwefelsäure hergestellt.

Beispiel 3

3'-β-Hydroxy-4'-desoxyleurosidin

Eine Lösung aus etwa 12 mg Natriumborhydrid in 1 ml wasserfreiem Ethanol, die mit einem Magnetrührer mehrere Minuten bei Umgebungstemperatur gerührt und anschließend auf etwa -20°C gekühlt worden war, wurde tropfenweise mit einer Lösung aus etwa 15 mg 3'-Oxo-4'-desoxyleurosidin in 1 ml Ethanol versetzt. 15 Minuten nach Beendigung der Zugabe ergab die Dünnschichtchromatographie eine beträchtliche Reduktion der Oxogruppe. Das Rühren wurde weitere 25 Minuten bei etwa -20°C sowie weitere 20 Minuten unter Erwärmen von -20°C auf Umgebungstemperatur fortgesetzt. Danach wurde Chloroform zugegeben und die erhaltene organische Phase abgetrennt. Die organische Phase wurde dreimal mit Wasser, das dekantiert wurde, gewaschen. Die organische Phase wurde danach getrocknet und das Lösungsmittel entfernt, wonach man 19 mg eines weissen festen Rückstandes erhielt. Dünnschichtchromatographie ergab eine etwa 70%ige Reduktion der eingesetzten 3'-Oxoverbindung.

Die obige Reaktion wurde unter Verwendung von 159 mg der 3'-Oxoverbindung in 2,5 ml Ethanol wiederholt. Weitere 1,5 ml wurden verwendet, um restliches Keton in die Lösung zu waschen. Zum Suspendieren des Borhydrids wurden 2 ml Ethanol verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde nur bis 0°C gekühlt und bei dieser Temperatur etwa 1,3 Stunden gerührt. Danach zeigte die Dünnschichtchromatographie, dass die Umsetzung zu 80 bis 90% vollständig abgelaufen war. Nach weiterem einstündigem Rühren war der Fleck in dem Dünnschichtchromatogramm, der dem Ausgangsmaterial entsprach, praktisch verschwunden. Das Umsetzungsgemisch wurde danach, wie zuvor beschrieben, aufgearbeitet und der weisse feste Rückstand an Silicagel in einem

Lösungsmittelgemisch von Methylendichlorid/Essigester (1:1) mit steigendem Methanolgehalt chromatographiert. Die nach Dünnschichtchromatographie das während der obigen Umsetzung gebildete 3'- β -Hydroxy-4'-desoxy-*leurosidin* enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt, und man erhielt daraus 102,5 mg kristallines Material. Die auf diese Weise hergestellte Verbindung besass die folgenden physikalischen Eigenschaften:

IR-Spektrum: $\nu^{\text{CHCl}_3} = 3460, 1735, 1230 \text{ cm}^{-1}$;
 pK_a: (66% DMF) 8,1; 4,9;
 UV-Spektrum: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} = 215 (\epsilon 4,72 \times 10^4)$, 260, 288, 296 nm;
 Massenspektrogramm: m/e 810, 779, 751, 469, 355, 282, 154;
 Magnetisches Protonenresonanzspektrum (100 Megahertz): $\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ 9,74 (brs, 1H, C(3)-OH); 8,04 (brs, 1H, Indol-N-H); 7,42-7,60 (m, 1H, C(11')-H); 7,03-7,23 (m, 3H, C(12'-14')-H); 6,59 (s, 1H, C(14)-H); 6,12 (s, 1H, C(17)-H); 5,74-5,96 (brdd, J = 4 und 10, 1H, C(7)-H); 5,48 (s, 1H, C(4)-H); 5,29 (brd, J = 10, 1H, C(6)-H); 3,79 und 3,80 (2s, 6H, C(24, 25)-CH₃); 3,74 (s, 1H, C(2)-H); 3,60 (s, 3H, C(18')-CO₂CH₃); 2,70 (s, 3H, N-CH₃); 2,65 (s, 1H, C(19)-H); 1,09 (s, 3H, CH₃CO₂); 0,81 und 0,96 (2t, J = 7,3, 6H, C(21, 21')-CH₃).

Das Sulfat wurde mit 2%iger ethanolischer Schwefelsäure, wie oben angegeben, hergestellt.

Beispiel 4

3'-Oxo-4'-desoxy-VLB

Eine Lösung aus 400 mg 3'-Oxo-4'-desoxy-*leurosidin* in 10 ml Methanol in einem 50-ml-Rundkolben, der in einem Eisbad auf etwa 0°C gekühlt wurde, wurde mit 10 ml Dimethylamin versetzt. Der Kolben wurde mit einem Stopfen verschlossen, und das Umsetzungsgemisch wurde mit einem Magnetrührer 6 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dünnschichtchromatographie unter Verwendung eines Lösungsmittelsystems aus Essigester, Methylendichlorid und Methanol (1:1:1) ergab eine etwa 50%ige Umsetzung. Das Lösungsmittel und das Dimethylamin wurden durch Verdampfen im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde an 50 g Silicagel (Woelm Aktivität I) in einem Lösungsmittel aus gleichen Teilen Essigester und Methylendichlorid mit einem Gehalt von 1% Methanol chromatographiert. Als Elutionsmittel wurden 100-ml-Fraktionen eines Lösungsmittelsystems aus Essigester/Methylendichlorid (1:1), das aufeinanderfolgend 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 und 15% Methanol enthielt, und danach 200 ml desselben Lösungsmittels mit einem Gehalt von 20% Methanol verwendet. Eluatfraktionen von 15 ml wurden gesammelt. Die Fraktionen 17 bis 34 wurden vereinigt, und man erhielt daraus 114 mg eines weissen, kristallinen Rückstandes aus während der obigen Umsetzung gebildetem 3'-Oxo-4'-desoxy-VLB. Die Fraktionen 43 bis 60 wurden vereinigt, und man erhielt daraus 168 mg Ausgangsmaterial. Das auf diese Weise hergestellte 3'-Oxo-4'-desoxy-VLB besass die folgenden physikalischen Eigenschaften:

Massenspektrogramm: m/e 808, 749, 649, 152;
 Magnetisches Protonenresonanzspektrum (100 Megahertz): $\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ 8,04 (brs, 1H, Indol-N-H); 7,46-7,61 (m, 1H, C(11')-H); 7,03-7,28 (m, 3H, C(12'-14')-H); 6,57 (s, 1H, C(14)-H); 6,11 (s, 1H, C(17)-H); 5,75-5,95 (brdd, J = 4 und 10, 1H, C(7)-H); 5,46 (s, 1H, C(4)-H); 5,31 (brd, J = 10, 1H, C(6)-H); 3,79 (s, 6H, C(24, 25)-CH₃); 3,74 (s, 1H, C(2)-H); 3,61 (s, 3H, C(18')-CO₂CH₃); 2,72 (s, 3H, N-CH₃); 2,66 (s, 1H, C(19)-H); 2,09 (s, 3H, CH₃CO₂); 0,93 und 0,81 (2t, J = 7,3, 6H, C(21, 21')-CH₃).

Beispiel 5

3'- β -Hydroxy-4'-desoxy-VLB und 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-VLB

Ein Gemisch aus 100 mg Natriumborhydrid und 3 ml wasserfreiem Ethanol in einem 25-ml-Kolben, der in einem Eisbad auf 0°C gekühlt wurde, wurde mit einer Lösung aus 200 mg 3'-Oxo-4'-desoxy-VLB in 5 ml wasserfreiem Ethanol tropfenweise versetzt. Das Umsetzungsgemisch wurde etwa 1,5 Stunden bei 0°C gerührt. Dünnschichtchromatographie unter Verwendung eines Lösungsmittelsystems aus Essigester/Methylendichlorid/Methanol (1:1:1) ergab die Anwesenheit eines neuen Materials von hohem R_f-Wert sowie von Spuren Ausgangsmaterial. Danach wurden weitere 50 mg Borhydrid zugesetzt und das Umsetzungsgemisch weitere 1,5 Stunden gerührt. Danach wurden 8 ml wasserfreies Methanol zugesetzt und das Umsetzungsgemisch über Nacht bei 0°C stehengelassen. Das Umsetzungsgemisch wurde daraufhin auf Umgebungstemperatur erwärmt und bei dieser Temperatur etwa 1 Stunde lang gerührt. Danach wurde es mit je etwa 10 ml Wasser und Methylendichlorid versetzt. Die Methylendichloridphase wurde abgetrennt, und die wässrige Phase wurde zweimal mit Methylendichlorid extrahiert. Die Methylendichloridphasen wurden vereinigt, einmal mit Wasser gewaschen und anschliessend getrocknet. Entfernung des Methylendichlorids im Vakuum ergab 176 mg eines weissen Rückstandes. Der Rückstand wurde an 19 g Silicagel (Woelm Aktivität I) in einem Lösungsmittelsystem aus Methylendichlorid und Essigester (1:1) mit einem Gehalt von 2% Methanol chromatographiert. Das Chromatogramm wurde mit 75-ml-Anteilen desselben Lösungsmittelsystems entwickelt, das aufeinanderfolgend 2, 3, 4, 5, 7, 10 und 15% Methanol enthielt. Es wurden Fraktionen von 15 ml Volumen gesammelt. Die Fraktionen 12 bis 27 wurden vereinigt, und man erhielt daraus 116 mg 3'- β -Hydroxy-4'-desoxy-VLB mit den folgenden physikalischen Eigenschaften:

pK_a: (66% DMF) 7,10; 5,10;
 UV-Spektrum: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} = 215 (4,32 \times 10^4)$, 260, 288, 296 nm;
 IR-Spektrum: $\nu^{\text{CHCl}_3} = 3450, 1734, 1230 \text{ cm}^{-1}$;
 Massenspektrogramm: m/e 810, 779, 751, 651, 469, 282, 154;
 Magnetisches Protonenresonanzspektrum (100 Megahertz): $\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ 8,05 (brs, 1H, Indol-N-H); 7,42-7,59 (m, 1H, C(11')-H); 7,00-7,24 (m, 3H, C(12'-14')-H); 6,64 (s, 1H, C(14)-H); 6,12 (s, 1H, C(17)-H); 5,75-5,95 (brdd, J = 4 und 10, 1H, C(7)-H); 5,47 (s, 1H, C(4)-H); 5,30 (brd, J = 10, 1H, C(2)-H); 3,60 (s, 3H, C(18')-CO₂CH₃); 2,70 (s, 3H, N-CH₃); 2,65 (s, 1H, C(19)-H); 2,09 (s, 3H, CH₃CO₂); 0,70-1,00 (m, 6H, C(21, 21')-CH₃).

Die Fraktionen 33 bis 40 wurden vereinigt und nach Eindampfen im Vakuum erhielt man aus ihnen 16 mg 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-VLB. Die Verbindung besass die folgenden physikalischen Eigenschaften:

Massenspektrogramm: m/e 810, 779, 751, 651, 469, 355, 282, 154;
 Magnetisches Protonenresonanzspektrum (100 Megahertz): $\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ 8,06 (brs, 1H, Indol-N-H); 7,43-7,59 (m, 1H, C(11')-H); 7,08-7,23 (m, 3H, C(12'-14')-H); 6,57 (s, 1H, C(14)-H); 6,10 (s, 1H, C(17)-H); 5,75-5,97 (brdd, J = 4 und 10, 1H, C(7)-H); 5,47 (s, 1H, C(4)-H); 5,31 (brd, J = 10, 1H, C(6)-H); 3,81 (s, 6H, C(24, 25)-CH₃); 3,75 (s, 1H, C(2)-H); 3,64 (s, 3H, C(18')-CO₂CH₃); 2,73 (s, 3H, N-CH₃); 2,65 (s, 1H, C(19)-H); 2,10 (s, 3H, CH₃CO₂); 0,81 und 0,98, (2t, J = 7,3, 6H, C(21, 21')-CH₃).

*Beispiel 6**3'- α -Acetoxy-4'-desoxy-leurosidin*

Etwa 100 mg 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-leurosidin und 30,4 mg p-Dimethylaminopyridin wurden in 2 ml Methylenchlorid gelöst. Danach wurden 0,94 ml Essigsäureanhydrid hinzugegeben und das Umsetzungsgemisch bei Umgebungstemperatur etwa 2 Stunden lang gerührt. Das Umsetzungsgemisch wurde danach mit Methylenchlorid verdünnt. Danach wurde Wasser hinzugegeben. Die organische Phase wurde abgetrennt und zweimal mit wässrigem Natriumbicarbonat gewaschen. Die wässrige Phase wurde basisch gemacht und danach die alkalische Phase zweimal mit Methylenchlorid extrahiert. Sämtliche Methylenchloridphasen und -extrakte wurden vereinigt und getrocknet. Verdampfung des Lösungsmittels ergab 104 mg eines Rückstandes aus 3'- α -Acetoxy-4'-desoxy-leurosidin. Der Rückstand wurde durch Chromatographie an 10 g Silicagel (Woelm Aktivität I) chromatographiert, wobei als Elutionsmittel ein Lösungsmittelgemisch aus Essigester/Methylenchlorid (1:1) in 50-ml-Anteilen verwendet wurde, das von 2 bis 20% allmählich ansteigende Mengen Methanol enthielt. Die gesammelten Fraktionen besaßen ein Volumen von je 10 ml. Fraktionen 19 bis 32 wurden vereinigt, und man erhielt aus ihnen 54 mg gereinigtes 3'- α -Acetoxy-4'-desoxy-leurosidin. Die Verbindung wies sowohl ein Massenspektrum als auch ein magnetisches Kernresonanzspektrum auf, das mit der vorgeschlagenen Struktur in Übereinstimmung war. In ähnlicher Weise wurden 3'- β -Acetoxy-4'-desoxy-VLB hergestellt. Massenspektren und magnetische Kernresonanzspektren waren mit den vorgeschlagenen Strukturen in Übereinstimmung.

*Beispiel 7**3'- α -Mesyloxy-4'-desoxy-leurosidin*

Eine Lösung von etwa 200 mg 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-leurosidin in 4 ml Pyridin, die auf etwa 0°C abgekühlt worden war, wurde unter Rühren tropfenweise aus einer Mikrospritze mit 0,106 ml (157 mg) Mesylchlorid (Methansulfonylchlorid) versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde das Umsetzungsgemisch eine weitere Stunde gerührt und danach durch Zusatz von Eis abgeschreckt. Danach wurden Methylenchlorid und Wasser zugesetzt. Die Methylenchloridphase wurde abgetrennt und zweimal mit Wasser gewaschen. Die Lösungsmittel wurden im Vakuum entfernt. Danach wurde Benzol zugesetzt und das Lösungsmittel wiederum im Vakuum entfernt. Dünnschichtchromatographie unter Verwendung eines Lösungsmittelsystems aus Benzol/Chloroform/Methanol (2:2:1) ergab kein zurückgebliebenes Ausgangsmaterial, jedoch zwei Produkte. Der auf diese Weise erhaltene Rückstand wurde chromatographisch an Silicagel (Woelm Aktivität I) gereinigt. Das schneller laufende Material wurde in mehreren Fraktionen gesammelt, die vereinigt wurden. Entfernung des Lösungsmittels und Überführung des Rückstandes in das entsprechende Sulfat ergab 53,4 mg 3'- α -Mesyloxy-4'-desoxy-leurosidinsulfat.

*Beispiel 8**3'- α -(N-Methyl-carbamoyloxy)-4'-desoxy-leurosidin*

Eine Lösung aus 90 mg 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-leurosidin in 0,5 ml Benzol wurde tropfenweise unter Rühren mit 0,10 ml Methylisocyanat versetzt. Das Umsetzungsgemisch wurde allmählich auf etwa 40°C erhitzt. Danach wurde es etwa 2,5 Stunden bei dieser Temperatur gehalten und anschliessend über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Der Verlauf der Umsetzung wurde durch Dünnschichtchromatographie verfolgt. Weitere 0,05 ml Methylisocyanat wurden hinzugegeben und das Umsetzungsgemisch erneut etwa 2 Stunden auf etwa 40°C erhitzt. Danach wurde es zur Trockene eingedampft, und man erhielt 57,3 mg eines

Rückstandes aus Ausgangsmaterial und 3'- α -(methyl-carbamoyloxy)-4'-desoxy-leurosidin. Der Rückstand wurde an Silicagel (Woelm Aktivität I) in Benzol/Chloroform (1:1) mit ansteigenden Mengen Methanols chromatographiert. Die das Produkt enthaltenden Fraktionen erwiesen sich durch Dünnschichtchromatographie als vom Ausgangsmaterial verschieden; sie wurden vereinigt und eingedampft, und man erhielt 48 mg der Verbindung 3'- α -(N-Methyl-carbamoyloxy)-4'-desoxy-leurosidin. Erneute Chromatographie des Produktes an Silicagel in einem Lösungsmittel, bestehend aus Ether, Diethylamin und Toluol (20:1:1) mit von 0,5 bis 15% ansteigenden Mengen Methanols ergab ein gereinigtes Produkt. Das Sulfat wurde unter Verwendung von 2%iger ethanolschwefelsäure hergestellt.

*Beispiel 9**4-Desacetyl-3'- α -hydroxy-4'-desoxy-leurosidin-C-3-carbox-hydrazid*

Eine Lösung aus 300 mg 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-leurosidin in 9 ml wasserfreiem Methanol wurde 6 ml 97%igem Hydrazin versetzt und das Reaktionsgefäß mit Stickstoff gespült und mit Stickstoff gegenüber der Atmosphäre abgeschlossen. Das Umsetzungsgemisch wurde über das Wochenende auf etwa 65°C erhitzt. Eindampfen des Produktes zur Trockene und zweimalige Extraktion des Rückstandes mit Ethanol führten zu einer restlosen Entfernung des überschüssigen Hydrazins. Dünnschichtchromatographie ergab ein Material, das zwei Flecken lieferte. Die Verbindung wurde durch Chromatographie an Silicagel (Woelm Aktivität I) unter Verwendung eines Lösungsmittelgemisches aus Benzol und Chloroform (2:1) mit einem Gehalt von 1% Triethylamin und ansteigenden Mengen Methanol gereinigt. Die Fraktionen, die gemäss Dünnschichtchromatographie das 4-Desacetyl-3'- α -hydroxy-4'-desoxy-leurosidin-C-3-carbox-hydrazid enthielten, wurden vereinigt. Massenspektroskopische Daten sowie das NMR- und IR-Spektrum stimmten mit der vorgeschlagenen Struktur überein. Das Hydrazid wurde nach dem Verfahren gemäss BE-PS 837 390 in das Azid überführt und das Azid mit Methylamin zu 4-Desacetyl-3'- α -hydroxy-4'-desoxy-leurosidin-C-3-N-methyl-carboxamid umgesetzt.

In analoger Weise wurden das N-Ethyl-, N-Propyl-, N-(β -Hydroxyethyl)-, N-(β -Methoxyethyl)-, Bis [N-(β -sulfidoethyl)-], N-(β -Mercaptoethyl)- und N-(β -Methylmercaptoethyl)-amid sowie analoge Amide der folgenden Verbindungen hergestellt: 4-Desacetyl-3'- α -hydroxy-4'-desoxy-leurosidin, 4-Desacetyl-3'- β -hydroxy-4'-desoxy-leurosidin, 4-Desacetyl-3'- α -hydroxy-4'-desoxy-1-formyl-leurosidin, 4-Desacetyl-3'- α -hydroxy-4'-desoxy-VLB, 4-Desacetyl-3'- β -hydroxy-4'-desoxy-VLB, 4-Desacetyl-3'- α -hydroxy-4'-desoxy-vincristin, 4-Desacetyl-3'- β -hydroxy-4'-desoxyvincristin sowie die Acylate und Mesylate usw. davon sowie 4-Desacetyl-3'-keto-4'-desoxy-leurosidin, 4-Desacetyl-3'-oxo-4'-desoxy-VLB, 4-Desacetyl-3'-oxo-4'-desoxy-1-formylleurosidin und 4-Desacetyl-3'-oxo-4'-desoxyvincristin.

Das primäre Amid jeder der oben genannten Verbindungen kann auf zwei verschiedenen Wegen hergestellt werden; entweder kann das Azid mit Ammoniak umgesetzt oder das Hydrazid selbst kann mit Raneynickel nach Ainsworth, US-PS 2 756 235 hydriert werden.

*Beispiel 10**3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-1-desmethyl-1-formylleurosidin*

Eine Lösung von 203 mg 3'- α -Hydroxy-4'-desoxy-leurosidin in Aceton wurde mit etwa 0,12 ml wässriger 2,2m-Schwefelsäure, die durch Verdünnen von 2,5 ml 18m-Schwefelsäure mit 19,9 ml Wasser hergestellt worden war, versetzt. Die Lösung wurde auf etwa -50°C gekühlt und mit einer wei-

teren Lösung aus 225 mg Chromtrioxid in 2,5 ml Essigsäure und 0,25 ml Wasser unter Rühren mit einem Magnetrührer während 5 Minuten tropfenweise versetzt. Man erhielt ein dunkles, offensichtlich homogenes Reaktionsgemisch. Das Umsetzungsgemisch wurde weitere 20 Minuten bei -50°C gerührt und anschliessend sorgfältig auf -65°C gekühlt, und bei dieser Temperatur wurden 5 ml 14 n wässriges Ammoniumhydroxid zugesetzt. Das erhaltene Gemisch wurde in 125 ml Eiswasser gegossen. Danach wurde die erhaltene wässrige Phase dreimal mit Chloroform extrahiert. Die organischen Extrakte wurden vereinigt, mit verdünnter wässriger Natriumbisulfatlösung gewaschen und getrocknet. Eindampfen der organischen Lösung im Vakuum ergab 190 mg eines gründlichen Feststoffs. Bei der Dünnschichtchromatographie fehlte nicht nur der Fleck, der für den Ausgangsalcohol zu erwarten war, sondern es trat ein neuer Hauptfleck auf. Der grünliche Rückstand wurde deshalb an 20 g Siliciumdioxid chromatographiert. Das Chromatogramm wurde mit 30-ml-Anteilen eines Lösungsmittels aus Benzol und Chloroform im Verhältnis 2:1, das aufeinanderfolgend 6, 9, 13,5, 20, 30 und 45% Methanol enthielt, entwickelt. Die gesammelten Fraktionen besaßen ein Volumen von je 10 ml. Die Fraktionen 14 bis 22 wurden vereinigt und ergaben nach Verdampfen des Lösungsmittels 131 mg eines hellgrünen Feststoffes, der aus dem bei der Umsetzung gebildeten $3'\alpha$ -Hydroxy-4'-desoxy-1-desmethyl-1-formylleurosidin bestand. Die Verbindung erwies sich nach Dünnschichtchromatographie als einheitlich (ein Fleck) und besaß die folgenden physikalischen Eigenschaften:

IR-Spektrum (in Chloroform): 3480, 1746, 1692 und 1220 cm^{-1} ;

UV-Spektrum: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} = 215$ ($\epsilon = 3,75 \times 10^4$), 222, 256, 298 nm;
NMR: $\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ 8,79 (CHO), 8,03 (Indol-NH); kein Signal für NCH_3 .

Die Verbindung wurde mit 2%iger (Volumen/Volumen) ethanolischer Schwefelsäure in das entsprechende Sulfat umgewandelt.

Während der Herstellung der Hydrazidderivate der in 3'-Stellung oxygenierten Derivate von 4'-Desoxyleurosidin und 4'-Desoxy-VLB sowie der entsprechenden 1-Formylverbindungen führt die oben angegebene Reaktionsfolge Hydrazin-Azid-Amid normalerweise zur Bildung eines 4-Desacetylderivats, weil die ursprünglich an C-4 vorhandene Acetylgruppe während einer oder mehrerer dieser Umsetzungen hydrolysiert wird. Die meisten dieser 4-Desacetylamide können mit einem aliphatischen Anhydrid oder Säurechlorid nach der Vorschrift der US-PS 3 392 173 zu dem entsprechenden C-4-Acylat rückacyliert werden.

Beispiel 11

Herstellung von Salzen

Andere Salze, einschliesslich derer mit anorganischen Anionen, wie beispielsweise Chlorid, Bromid, Phosphat,

Nitrat und dgl., sowie solcher mit organischen Anionen, wie Acetat, Chloracetat, Trichloracetat, Benzoat, Alkyl- oder Arylsulfonat und dgl., werden aus den Verbindungen gemäss der Erfindung nach einem Verfahren hergestellt, das dem in Beispiel 1 für die Herstellung des Sulfats angegebenen analog ist, indem man die entsprechende Säure in einem geeigneten Verdünnungsmittel anstelle der 2%igen ethanolischen Schwefelsäure des Beispiels 1 einsetzt.

Die Verbindungen gemäss der Erfindung besitzen gegenüber transplantierten Tumoren in Mäusen eine Aktivität *in vivo* und führen zu einer Hemmung der zweiten Kernteilungsphase (Metaphasenhemmung) in Ovarienzellen des Chinesischen Hamsters, die nach einem Verfahren, das demjenigen von Siminoff, Applied Microbiology 9, 66-72 (1961) nachgebildet wurde, in einer Gewebekultur gehalten wurden.

Zum Nachweis der Aktivität der Arzneimittel gemäss der Erfindung gegenüber transplantierten Tumoren in Mäusen wurde das Arzneimittel normalerweise auf intraperitonealem Wege in einer bestimmten Dosis 3 bis 10 Tage nach der Beimpfung mit dem Tumor verabreicht.

In der folgenden Tabelle I sind die Ergebnisse verschiedener Versuche zusammengefasst, bei denen Mäuse mit transplantierten Tumoren erfolgreich mit einer Verbindung gemäss der Erfindung behandelt wurden. In der Tabelle sind in Spalte 1 die Namen der Verbindungen, in Spalte 2 die Abkürzungen der Bezeichnungen der transplantierten Tumoren, in Spalte 3 die Dosen und die Anzahl der Tage, während deren die Dosis verabfolgt wurde, in Spalte 4 der Bewertungstag nach jeder Verabfolgung und in Spalte 5 die prozentuale Inhibierung des Tumorwachstums bzw. die prozentuale Verlängerung der Überlebenszeit angegeben. (GLS ist eine Abkürzung für das Gardner-Lymphosarcom, WA-256 ASCITES ist die Ascitesform des Walkerrattenkarzinoms 256, B-16 und P-388 sind Melanom- bzw. Leukämie-

stämme.) Bei der Verwendung der neuen Verbindungen gemäss der Erfindung als Antitumormittel in Säugetieren wird zweckmässigerweise die parenterale Verabreichungsweise gewählt. Bei der parenteralen Verabreichung wird die intravenöse Verabfolgung bevorzugt, wenngleich bei kleineren Säugetieren, wie Mäusen, auch die intraperitoneale Verabfolgung angewandt werden kann. Bei der parenteralen Verabreichung werden gewöhnlich isotonische Lösungen verwendet, die 1 bis 10 mg/ml eines Salzes der Alkaloidbase gemäss Formel I enthalten. Die Verbindungen können in einer Menge von 0,01 bis 15 mg/kg und vorzugsweise von 0,1 bis 1 mg/kg Körpergewicht des Säugetieres ein- oder zweimal in der Woche oder alle zwei Wochen verabfolgt werden, was sowohl von der Aktivität als auch der Toxizität des Arzneimittels abhängt. Eine alternative bevorzugte Methode zur Erzielung einer therapeutischen Dosis bezieht sich auf die Körperoberfläche, wobei eine Dosis im Bereich von 0,1 bis 10 mg/m² Säugetierkörperoberfläche alle 7 oder 14 Tage angewandt wird.

Tabelle I

Verbindung	Tumor	Dosis mg/kg × Tage	Tag	% Inhibierung bzw. Verlängerung der Überlebensdauer
3' α -Hydroxy-4'-desoxy- 1-desmethyl-1-formyl- leurosidin-sulfat	GLS	12 × 10	7	100
			11	84
		6 × 10	7	94
			11	100
		3 × 10	7	93
		11	85	

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Verbindung	Tumor	Dosis mg/kg × Tage	Tag	% Inhibierung bzw. Verlängerung der Überlebensdauer
		1,5 × 10	7	59
			11	51
		1,8 × 19	8	74
			15	toxisch
			22	toxisch
			7	67
3'- α -Mesyloxy-4'-desoxy- leurosidin-sulfat	GLS	3,0 × 10	11	49
		1,5 × 10	7	36
		0,75 × 10	11	15
			7	16
			11	13
3'- α -Hydroxy-4'-desoxy- leurosidin-C-4-carbox- hydrazid	GLS	12 × 10	7	100
			11	85
		6 × 10	7	94
			11	100
		3 × 10	7	100
			11	87
		1,5 × 10	7	37
			11	33
3'- α -Hydroxy-4'-desoxy- leurosidin-sulfat	B-16	9 × 3		36
	WA-256	6 × 10		toxisch
	ASCITES	3 × 10		5*
		1,5 × 10		479*
	P-388	7,5 × 10		102
		3,75 × 10		79
3'-Oxo-4'-desoxy- leurosidin-sulfat	P-388	7,5 × 10		38

*4 von 5 unbegrenzt Überlebende