



N° 878.186

Classif. Internat. :

C07J/A61K

Mis en lecture le :

11-02-1980

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention ;

Vu la Convention d'Union pour la Protection de la Propriété Industrielle ;

Vu le procès-verbal dressé le 10 août 1979 à 14 h. 15

au Service de la Propriété Industrielle ;

ARRÊTE :

Article 1. — *Il est délivré à la Sté dite : KUREHA KAGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA,*

*8, 1-chome, Nihonbashi Horidome-cho, Chuo-ku, Tokyo (Japon)
repr. par le Cabinet Bede à Bruxelles*

un brevet d'invention pour : Nouveaux dérivés de chlorambucil, conjugués de chlorambucil et d'oestradiol,

qu'elle déclare avoir fait l'objet de demandes de brevet déposées au Japon le 14 août 1978, n° 98795/1978 et le 8 décembre 1978, n° 152175/1978.

Article 2. — *Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.*

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention (mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 11 février 1980.

PAR DÉLÉGATION SPÉCIALE :

VALPÊTEUR
Directeur

878188

EC 135

La société dite : KUREHA KAGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA

à Tokyo

(Japon)

Nouveaux dérivés de chlorambucil, conjugués de chlorambucil
et d'oestradiol"

C.I. : Demandes de brevets japonais n° 98795/1978 déposée le
14 août 1978 et n° 152175/1978 déposée le 8 décembre 1978.

7

La présente invention concerne de nouveaux dérivés de l'acide 4-{p-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl}butyrique (dérivés du Chlorambucil) possédant des propriétés antitumorales ainsi que procédé pour les préparer. Plus particulièrement elle concerne des dérivés de Chlorambucil obtenus par liaison chimique du Chlorambucil au groupe hydroxyle en position 17 de l'oestradiol ou l'un des dérivés de ce dernier, en présence d'un agent de liaison. L'invention concerne enfin les médicaments antitumoraux à base des nouveaux dérivés précités.

10 Comme il est bien connu, la plupart des médicaments antitumoraux exercent une action sur les cellules cancéreuses comme sur les cellules normales et, par suite, ils entraînent de sérieux effets secondaires. Il est ainsi difficile de les administrer pendant une longue durée en vue d'endommager complètement les cellules cancéreuses.

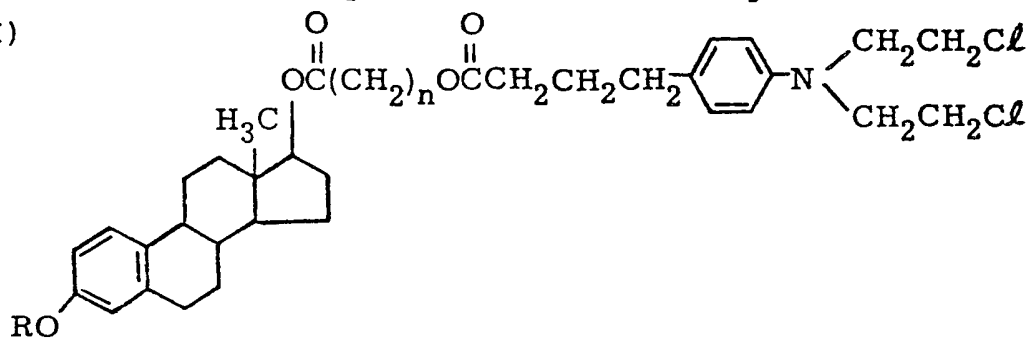
La demanderesse a entrepris des recherches pour pallier ces désavantages des médicaments antitumoraux connus et pour mettre au point de nouveaux médicaments antitumoraux présentant un effet thérapeutique élevé. En conséquence, la demanderesse a ainsi réussi à trouver de nouveaux dérivés d'oestradiol antitumoraux qui attaquent sélectivement certaines cellules cancéreuses tout en présentant peu d'effets secondaires.

Le but de l'invention est ainsi de préparer de nouveaux dérivés de Chlorambucil qui agissent sélectivement sur les 25 cellules cancéreuses.

Selon un autre objectif de l'invention, on propose un procédé pour préparer des nouveaux dérivés de Chlorambucil.

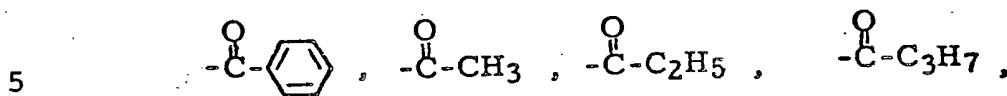
Un autre objectif encore de l'invention consiste à préparer des nouveaux médicaments antitumoraux à base des- 30 dits dérivés de Chlorambucil.

Les dérivés de Chlorambucil de l'invention sont des nouveaux composés répondant à la formule générale suivante (I)



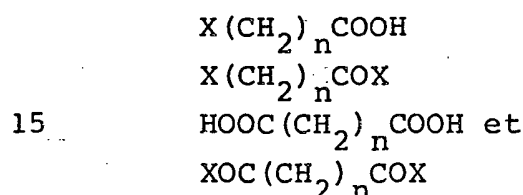
(I)

dans laquelle R. représente un atome d'hydrogène ou un groupe acyle tel que



et n est égal à 1 ou 2.

On peut préparer les dérivés de Chlorambucil de l'invention en liant le Chlorambucil au groupe hydroxyle en position 17 de l'oestradiol ou de dérivés de ce dernier, en présence d'un agent de liaison choisi parmi le groupe de composés répondant aux formules suivantes



dans lesquelles n est égal à 1 ou 2 et X représente un atome d'halogène.

Les dérivés de Chlorambucil de la présente invention sont des conjugués de Chlorambucil et d'oestradiol ou d'un dérivé de ce dernier par l'intermédiaire d'un agent de liaison. Les dérivés de Chlorambucil de l'invention ont une affinité particulière vis à vis des cellules cancéreuses et exercent un effet particulier dans l'attaque sélective de ces dernières cellules.

Les cellules cancéreuses spécifiques présentent des récepteurs pour les hormones stéroïdes, en particulier des dérivés d'oestradiol en tant que composants des dérivés de Chlorambucil de l'invention.

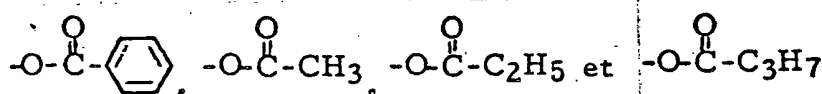
Les récepteurs peuvent être des cibles pour les dérivés de Chlorambucil de l'invention. Par suite, les dérivés de Chlorambucil de l'invention attaquent des cellules cancéreuses pourvues du récepteur vis à vis de l'oestradiol et de ses dérivés.

Ces cancers comprennent le cancer du sein, le carcinome prostatique, l'hépatome, le carcinome goitreux et endométrial. Les produits de l'invention sont particulièrement efficaces vis à vis du cancer du sein, du carcinome endométrial et du carcinome prostatique.

Les dérivés de Chlorambucil de l'invention se trouvent sélectivement distribués dans les cellules cancéreuses d'un organisme en vue d'attaquer lesdites cellules cancéreuses sans effets secondaires.

5 La caractéristique particulière de l'invention réside dans le fait que l'on effectue une liaison de l'oestradiol ou de l'un de ses dérivés au Chlorambucil sans perte des positions actives de l'oestradiol ou de son dérivé, ainsi que sans perte de la position active antitumorale du Chlorambucil.

10 Il est préférable de convertir le groupe OH en position 3 de l'oestradiol en un groupe acyloxy tel que



15 Le groupe acyloxy se reconvertit aisément en un groupe OH dans l'organisme du corps auquel il est administré, pour la fixation aux récepteurs des cellules.

Comme déjà mentionné ci-dessus, on peut préparer les
20 dérivés de Chlorambucil de l'invention en liant le Chlorambucil au groupe hydroxyle en position 17 de l'oestradiol ou de l'un de ses dérivés en présence d'un agent de liaison.

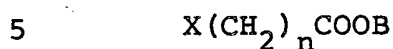
L'agent de liaison ne doit pas entraîner de toxicité par suite de ladite liaison.

25 Les agents de liaison optimaux pour effectuer la liaison de l'oestradiol ou de son dérivé avec le Chlorambucil comprennent le bromure de monobromoacétyle, le chlorure de monochloroacétyle, l'acide monochloroacétique, l'acide monobromoacétique et analogues.

30 On peut fixer le Chlorambucil et l'oestradiol ou son dérivé sur l'agent de liaison par des techniques convenables.

Par exemple, dans une technique, on fait tout d'abord réagir l'agent de liaison avec l'oestradiol ou un oestradiol
35 acylé, puis on fait réagir l'oestradiol ou son dérivé acylé ainsi modifié, avec le Chlorambucil. Dans une autre technique on fait tout d'abord réagir l'agent de liaison avec le Chlorambucil, puis on fait réagir le Chlorambucil modifié avec l'oestradiol ou un oestradiol acylé.

Dans la première technique précitée, l'agent de liaison réagit avec une position non-active de l'oestradiol ou d'un oestradiol acylé en fournissant un ester ayant la formule



dans laquelle B représente le fragment oestradiol ou oestradiol acylé dépourvu du groupe OH en position 17 et X représente un atome d'halogène. On fait ensuite réagir l'halogène de l'ester avec le Chlorambucil en obtenant le dérivé de
10 Chlorambucil de l'invention.

On illustre ci-après lesdites réactions avec plus de détails.

L'agent de liaison tel que le bromure de monobromoacétyle réagit avec le groupe OH en position 17 de l'oestradiol
15 ou d'un oestradiol acylé comportant un groupe acyle en position 3, dans un solvant tel que le tétrachlorure de carbone, le chloroforme, le tétrahydrofuranne, le diméthylsulfoxyde (DMSO), le diméthylformamide (DMF), la pyridine et l'acétone. Le produit réactionnel ainsi obtenu réagit consécutivement
20 avec le Chlorambucil dans un solvant tel que le diméthylsulfoxyde, le diméthylformamide, la pyridine, le toluène, le tétrachlorure de carbone, le chloroforme, le tétrahydrofuranne (THF). On peut utiliser le Chlorambucil sous la forme d'un acide ou de son sel de métal, tel que le sel d'argent ou un
25 sel de métal alcalin.

La température de chaque réaction s'étend généralement entre -30°C et 100°C, de préférence de -10°C à 80°C. La durée de la réaction s'étend généralement d'une demi-heure à 74 heures. On purifie le produit réactionnel par une méthode
30 de purification convenable en obtenant les dérivés de Chlorambucil de l'invention.

Dans la dernière technique précitée, on fait réagir l'agent de liaison avec le groupe carboxyle du Chlorambucil en obtenant un composé répondant à la formule



dans laquelle A représente le fragment du Chlorambucil dépourvu du groupe COOH en position 1. Ensuite, on fait réagir l'halogène (X) dudit composé avec le groupe OH en position 17 de l'oestradiol ou d'un oestradiol acylé comportant un groupe

acylé en position 3, en obtenant les dérivés de Chlorambucil de la présente invention.

Les solvants utilisés dans lesdites réactions sont respectivement les mêmes que ceux qui sont utilisés pour la réaction du Chlorambucil ou de l'oestradiol ou encore de l'oestradiol acylé.

La température de réaction et le temps de réaction peuvent être choisis dans les mêmes intervalles.

On peut acyler le groupe OH en position 3 du composant oestradiol du dérivé de Chlorambucil de l'invention avant ou après avoir relié le Chlorambucil à l'oestradiol en présence de l'agent de liaison, bien qu'il soit préférable d'acyler l'oestradiol avant de le lier.

Les réactions pour obtenir les produits acylés sont décrites ci-après avec plus de détails.

On fait réagir le groupe OH en position 3 de l'oestradiol avec un hydroxyde de métal alcalin dans un solvant tel que le THF pour le transformer en groupe ONa ou en groupe OK puis on fait réagir consécutivement le produit réactionnel avec un chlorure d'acyle, tel que le chlorure de benzoyle, le chlorure d'acétyle, le chlorure de propionyle, en obtenant l'oestradiol acylé. Ensuite, on fait réagir l'agent de liaison tel que le bromure de monobromoacétyle, avec le groupe OH en position 17 de l'oestradiol acylé dans un solvant tel que DMSO, DMF, pyridine, acétone et THF. Puis, on fait réagir l'oestradiol acylé modifié avec le Chlorambucil dans un solvant tel que DMSO, DMF, pyridine, toluène, tétrachlorure de carbone, chloroforme et THF.

La température de chaque réaction précitée est généralement comprise entre -30°C et 100°C, de préférence entre -10°C et 80°C. La durée de réaction s'étend généralement dans l'intervalle d'une demi-heure à 74 heures. On purifie le produit résultant par une technique de purification convenable en obtenant les dérivés de Chlorambucil de l'invention.

Certaines techniques de préparation des dérivés de Chlorambucil de l'invention seront décrites à l'aide de quelques exemples qui ne servent qu'à titre d'illustration seulement, les conditions desdites réactions pouvant être choisies comme désiré.

7

Les dérivés de Chlorambucil de l'invention répondent à la formule (I) et correspondent ainsi à des conjugués de Chlorambucil et d'oestradiol ou d'oestradiol acylé. Ce fait est confirmé par le spectre IR, le spectre UV, le spectre de RMN (résonance magnétique nucléaire), la CCM (chromatographie sur couche mince), le spectre de masse, l'analyse élémentaire et le point de fusion des produits.

Conformément aux essais de toxicité aigue, d'introduction du composé de l'invention dans des cellules sensibles aux estrogènes et d'effet antitumoral, on observe que les dérivés de Chlorambucil de l'invention ont une toxicité remarquablement faible, un pouvoir de fixation remarquablement élevé sur les cellules sensibles aux estrogènes, ainsi qu'un effet antitumoral élevé.

Les dérivés de Chlorambucil de l'invention sont particulièrement efficaces pour attaquer les tissus et cellules cancéreux présentant une sensibilité à l'oestradiol et, par suite, on peut les appliquer dans le cancer du sein, le carcinome prostatique, l'hépatome, le carcinome goitreux et endométrial. Les dérivés de Chlorambucil de l'invention sont également efficaces vis à vis du cancer gastrique, du cancer du rectum, du cancer laryngé, du cancer de l'oesophage, du cancer du poumon, du cancer de la peau et du leucosarcome, et présentent une toxicité remarquablement plus faible en comparaison des médicaments anticancéreux ou des drogues antitumorales connus tels que le Chlorambucil lui-même. Les dérivés de Chlorambucil de l'invention ne présentent pas la fonction sexuelle spécifique de l'oestradiol, malgré qu'ils soient eux-mêmes des dérivés de l'oestradiol. La raison n'en est pas déterminée dans l'état actuel. On considère que ses effets sont favorisés par un certain mécanisme inconnu accompagnant l'effet médical fondé sur le concept classique du récepteur.

Lorsque l'on utilise les dérivés de Chlorambucil de l'invention comme médications thérapeutiques, on peut préparer des compositions pharmaceutiques pour leur administration par les méthodes classiques pour les médicaments antitumoraux connus.

On peut présenter des dérivés de Chlorambucil de

l'invention dans des formes désirables pour l'injection, l'administration par voie orale, en suppositoires et pâtes ou pommades. Lorsqu'on les présente sous des formes solides en vue d'une administration par voie orale, telles que comprimés, pillules, granules, poudres, capsules, il est possible d'adjoindre dans la formulation un liant, un agent de dilution, une charge, un lubrifiant, une huile, un agent tensio-actif ou un agent de délitement. Lorsqu'on les présente sous des formes liquides en vue d'une administration par voie orale, la forme de présentation peut être une suspension aqueuse, une suspension huileuse, une solution, un sirop et un mélange à agiter. Lorsqu'on les présente sous la forme de suppositoires, la forme de présentation peut être préparée en utilisant une base hydrophobe ou hydrophile et un stabilisant, un agent de délitement ou un agent colorant. Lorsqu'on les présente sous une forme convenable pour une injection, on peut ajouter une solution aqueuse, un solubilisant, une substance nutritive, un stabilisant, un agent tensio-actif. Afin de maintenir ou d'améliorer l'effet médical, on peut incorporer comme on le désire, une base, un acide ou un sel. La quantité de l'ingrédient actif contenue dans la composition (préparation) est généralement de 0,001 % à 90 % en poids et, de préférence, de 0,01 % à 60 %.

On peut administrer les formes de présentation contenant les dérivés de Chlorambucil de l'invention en recourant à une administration par voie orale, une adsorption percutanée, une injection intramusculaire, une injection intrapéritonéale, une injection sous-cutanée, une injection intraveineuse, une injection intrarectale et une administration locale.

La dose du dérivé de Chlorambucil de l'invention est comprise entre environ 0,01 et 50 mg/kg/jour/adulte dans l'administration par voie orale, tandis qu'elle s'étend d'environ 0,001 à 20 mg/kg/jour/adulte dans l'injection intraveineuse.

Les dérivés de Chlorambucil de l'invention ont les caractéristiques suivantes :

(1) Lorsque le cancer se forme dans un tissu présentant son récepteur, le produit attaque sélectivement les cellules cancéreuses du tissu en détruisant lesdites cellules. Ainsi, ledit produit est efficace à faible dose seulement.

7

(2) Le produit entraîne des effets secondaires moins grands par comparaison avec ceux qui résultent de l'administration du Chlorambucil. Ainsi, on peut administrer ledit produit pendant une longue durée et, par suite, on peut détruire complètement les cellules cancéreuses.

(3) L'oestradiol ou l'oestradiol acylé utilisé comme composant véhiculeur du dérivé de Chlorambucil a une composition structurale unique et son activité physiologique est clairement connue. Ainsi, on peut administrer le produit sans aucune anxiété.

(4) La structure et l'activité du composant antitumoral du dérivé de Chlorambucil sont déjà connues. Ainsi, le produit peut être administré sans aucune anxiété.

(5) On peut étudier le récepteur des cellules cancéreuses. On peut choisir l'hormone stéroïde ou son dérivé, correspondant comme composant véhiculeur du dérivé de Chlorambucil.

On peut envisager la thérapeutique de divers cancers par un choix du composant véhiculeur.

(6) On peut administrer le dérivé de Chlorambucil par les formes classiques de présentation, telles que pour l'administration par voie orale, l'injection et la forme suppositoire.

Les produits de l'invention ont des caractéristiques excellentes et apportent ainsi une haute contribution aux êtres humains ainsi qu'au développement de la médecine. Par ailleurs, dans un autre domaine, les dérivés de Chlorambucil de l'invention peuvent également être utilisés comme stabilisants des hauts polymères, en particulier des polyoléfinés.

L'invention sera illustrée ci-après avec plus de détails par quelques exemples qui sont donnés à titre purement indicatif, sans nullement limiter l'invention dans son cadre et son esprit.

EXEMPLE 1 :

Préparation de 3-hydroxy-1,3,5(10)-estratriène-17 β -[4-
{ p-[bis(2-chloroéthyl) amino] phényl } butyryloxy]acétate.

1) Préparation de 3-hydroxy-1,3,5(10)-estratriène-17 β -
monobromoacétate.

On dissout 10 g de 1,3,5(10)-estratriène-3,17 β -diol dans

400 ml de tétrahydrofurane (THF) anhydre, puis on y ajoute 8,8 g de pyridine.

On ajoute goutte-à-goutte une solution de 22,5 g de bromure de monobromoacétyle dans 74 g de tétrachlorure de carbone, à la solution résultante à une température d'environ -5°C à -7°C. On abandonne le mélange pendant une nuit. Après la réaction, on sépare le précipité résultant par filtration. On chasse le solvant par distillation à partir du filtrat. On dissout le résidu dans de l'éther et on le recrystallise à partir d'éther en obtenant le 1,3,5(10)-oestratriène-3,17 β -bis (monobromoacétate). On dissout 2 g du produit dans 900 ml de méthanol et on refroidit la solution à -5°C. On ajoute goutte-à-goutte une solution de 0,24 g de K₂CO₃ dans 20 ml d'eau à la solution résultante. Après la réaction pendant 30 mn, on ajoute 1000 ml d'eau et on sépare et sèche le précipité résultant. On confirme que le produit est le 3-hydroxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -monobromoacétate par l'analyse élémentaire et le spectre IR.

II) Préparation du 3-hydroxy-1,3,5(10)-estratriène-17 β -[4 {p-[bis(2-chloroéthyl) amino] phényl} butyryloxy] acétate. (Conjugué de Chlorambucil-oestradiol).

On ajoute 200 mg de 4{p-[bis(2-chloroéthyl) amino]phényl} butyrate d'argent (sel d'argent du Chlorambucil) dans 10 ml de DMSO en obtenant une solution colloïdale blanche.

Puis, on ajoute 190,8 mg de 3-hydroxy-1,3,5(10)-estratriène-17 β -monobromoacétate et on agite le mélange à la température ambiante pendant 64 heures dans l'obscurité. La couleur du précipité change en vert jaunâtre. Une ajoute une petite quantité d'acétone et on sépare le précipité par filtration à travers un filtre G-4. La couleur du précipité change du vert jaunâtre en vert noirâtre par exposition à la lumière. Le filtrat est incolore et transparent. On chasse le DMSO par distillation sous pression réduite au bain-marie à 80°C et on ajoute 100 ml d'eau en précipitant les cristaux blancs.

On abandonne les cristaux pendant une heure pour éliminer le DMSO et on sépare les cristaux à travers un filtre G-4 avant de les laver abondamment avec de l'eau distillée et de les sécher sous pression réduite dans un dessiccateur. Le

rendement brut est de 330,5 mg.

Purification du produit

On dissout 330,5 mg des cristaux bruts dans un mélange de solvants composé de 50 parties en volumes de cyclohexane et 10 parties en volumes d'acétate d'éthyle. On fait passer lentement la solution à travers une colonne garnie de 40 g de gel de silice et on sépare graduellement le produit en obtenant 188,2 mg (rendement : 62,86 %) de produit pur.

Les résultats concernant l'analyse élémentaire, le point de fusion et le spectre IR du produit sont les suivants

Analyse élémentaire :

	C	H	N	Cl
Trouvé (%)	66,0	7,0	2,3	11,0
Calculé (%)	66,22	6,98	2,27	11,52

Point de fusion : semi-fondu à 25°C

Spectre IR (cm⁻¹)

3420, 2920, 2840, 1750, 1740, 1612, 1582, 1516,
1450, 1380, 1350, 1280, 1250, 1210, 1175, 1142,
1070, 1000, 960, 917, 867, 810, 800, 740,
655

EXEMPLE 2

Préparation de 3-benzoyloxy-1,3,5(10)-estratriène-17β -
4-{p-[bis(2-chloroéthyl) aminolphényl] butyryloxy]acétate.

On dissout 10 g de 1,3,5(10)- estratriène-3,17β-diol dans 10 ml de THF et on y ajoute 10 ml d'une solution aqueuse contenant 1,47 g de NaOH. On agite le mélange à la température ambiante pendant 30 minutes. Ensuite, on concentre le mélange réactionnel séché sous pression réduite au bain-marie à 80°C pour éliminer l'eau. On dissout le résidu dans du THF anhydre et on ajoute goutte-à-goutte 50 ml d'une solution en éther éthylique contenant 5,5 g de chlorure de benzoyle, à la solution résultante avant d'effectuer la réaction à la température ambiante pendant 16 heures. Après la réaction, on sépare le chlorure de sodium résultant par la méthode classique. On évapore le filtrat à siccité sous pression réduite. Afin d'éliminer le chlorure de benzoyle n'ayant pas réagi, on ajoute 200 ml d'une solution aqueuse de NaOH 0,1 N et on agite le mélange à la température ambiante pendant 15 minutes.

On sépare les cristaux blancs résultants à travers un filtre G-3 et on les lave abondamment avec de l'eau distillée et les sèche sous pression réduite dans un dessiccateur.

On analyse le produit par chromatographie sur couche mince d'un gel de silice avec un mélange de solvants développants (acétate d'éthyle et cyclohexane dans la proportion de 50 : 30 en volumes) en obtenant la tache principale de Rf : 0,34.

On recristallise les cristaux bruts à partir d'acétate d'éthyle et l'on obtient alors 8,6 g de cristaux blancs.

On confirme que le produit est le 17 β -hydroxy-1,3,5(10)-estratrién-3-benzoate à l'aide du point de fusion de l'analyse élémentaire et du spectre IR.

On dissout dans du THF, 7,0 g du produit résultant et on y ajoute 2,0 g de pyridine avant de refroidir le mélange à -5°C. On ajoute graduellement et goutte-à-goutte au mélange résultant, une solution contenant 15,5 g d'un mélange à 30 % de bromure de monobromoacétyle dans le tétrachlorure de carbone, dans 50 ml de THF. Après l'addition, on agite le mélange à -5°C pendant 2 heures, puis sur un bain de glace pendant 4 heures et on le maintient dans un réfrigérateur pendant 16 heures. Après la réaction, on sépare le précipité blanc résultant à travers un filtre G-4, on le sèche sous pression réduite au bain-marie à 30°C, on y ajoute 200 ml d'éther éthylique et on agite le mélange en obtenant 5,3 g de cristaux blancs.

Les résultats concernant l'analyse élémentaire et le point de fusion sont les suivants :

Analyse élémentaire :

	C	H	Br
Trouvé (%)	64,3	5,8	15,7
Calculé (%)	64,23	5,78	15,8
Point de fusion :	145 - 146°C		

On analyse le produit par chromatographie sur une couche mince de gel de silice avec un mélange de solvants développants (acétate d'éthyle et cyclohexane dans la proportion de 50 : 30 en volumes) en obtenant la tache unique de Rf : 0,77.

Dans le spectre IR, on ne trouve pas d'absorption fondée

sur le groupe OH et, par suite, il se confirme que le produit est le 3-benzoyloxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -monobromoacétate.

Spectre IR : (cm⁻¹)

5 2920, 1735, 1728, 1595, 1579, 1490,
1448, 1412, 1382, 1286, 1280, 1260,
1210, 1200, 1170, 1145, 1095, 1075,
1019, 1004, 897, 780, 700, 680,

On ajoute 182,3 mg de 3-benzoyloxy-1,3,5(10)-estratrién-
10 17 β -monobromacétate et 148,5 mg de 4-{p-[bis(2-chloroéthyl)
amino]phényl} butyrate d'argent dans 5 ml de DMSO
et on effectue la réaction à la température ambiante pendant
3 jours dans l'obscurité. Après la réaction, on sépare le
précipité de bromure d'argent par filtration et on ajoute
15 400 ml d'eau au filtrat. On sépare le précipité blanc résultant
par séparation centrifuge. On dissout le précipité dans
50 ml d'acétone et on sépare la substance insoluble par filtration
à travers un filtre G-4.

On évapore le filtrat à siccité sous pression réduite
20 en obtenant 165 mg d'un produit huileux.

On analyse le produit par chromatographie sur une couche mince de gel de silice avec un mélange de solvants développants (acétate d'éthyle et cyclohexane dans la proportion de 10 : 50 en volumes) en obtenant une tache principale de
25 Rf : 0,44.

Comme la substance n'ayant pas réagi subsiste dans le produit réactionnel, on chromatographie celui-ci sur du gel de silice avec un mélange de solvants (acétate d'éthyle et cyclohexane dans la proportion de 10 : 50 en volumes) en obtenant un produit purifié. Le produit purifié est un composé cristallisé blanc à 20°C. Les résultats de l'analyse élémentaire et le spectre IR du produit sont les suivants. Il se
30 confirme que le produit est le 3-benzoyloxy-1,3,5(10)-oestrién-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl) amino]phényl}butyryloxy]
35 acétate.

Analyse élémentaire :

	C	H	N	Cl
Trouvé (%)	68,5	6,60	1,99	9,79
Calculé (%)	68,33	6,53	1,94	9,86
Point de fusion (°C)	110 - 111			

7

Spectre IR : (cm^{-1})

2920, 2860, 1755, 1735, 1612, 1582,
1516, 1491, 1450, 1420, 1380, 1355,
1260, 1224, 1210, 1174, 1145, 1079,
1022, 1005, 960, 915, 890, 800,
740, 705,

EXEMPLE 3

Préparation du 3-propionyloxy-1,3,5(10)-estratriène-17 β -
4-[p-bis(2-chloroéthyl)amino]phényl] butyryloxy] acétate.

10

On dissout 10 g de 1,3,5(10)-oestratriène-3,17 β -diol dans 100 ml de THF et on ajoute 10 ml d'une solution aqueuse contenant 1,47 g de NaOH dans 10 ml d'eau, puis on agite le mélange à la température ambiante pendant 30 minutes. On concentre le produit réactionnel à siccité sous pression réduite au bain-marie à 80°C pour éliminer l'eau. On dissout le résidu dans du THF anhydre et on ajoute goutte-à-goutte une solution contenant 3,40 g de chlorure de propionyle dans 50 ml de THF anhydre, puis on effectue la réaction à la température ambiante pendant 16 heures. Après la réaction, on sépare le précipité de chlorure de sodium et on évapore le filtrat à siccité sous pression réduite, puis on fait recristalliser le résidu à partir d'éthanol en obtenant 9 g de cristaux blancs.

25 Il se confirme que le produit est le 17 β -hydroxy-1,3,5(10)-estratrién-3-propionate conformément à l'analyse élémentaire et au spectre IR.

On dissout 7,0 g du produit dans 70 ml de THF anhydre et on ajoute 3,0 de pyridine avant de refroidir le mélange à -5°C. On ajoute goutte-à-goutte au mélange résultant, une solution contenant 17,3 g d'un mélange de bromure de monobromo-acétyle à 30 % dans du tétrachlorure de carbone, dans 50 ml de THF. Après l'addition, on maintient le mélange à -5°C pendant 2 heures, puis dans un réfrigérateur pendant 16 heures pour laisser réagir ses constituants. Après la réaction, on sépare le précipité résultant par filtration. On évapore le filtrat à siccité sous pression réduite au bain-marie à 30°C, puis on ajoute 200 ml d'éther éthylique et on agite le mélange en obtenant 6,0 g de cristaux blancs. On concentre encore le

filtrat en obtenant 3,5 g de cristaux blancs. On recristallise lesdits cristaux à partir d'un mélange de solvants constitués par de l'éther et de l'éthanol.

5 Les résultats de l'analyse élémentaire sont les suivants.

Analyse élémentaire :

	C	H	Br
Trouvé (%)	61,5	6,5	17,9
Calculé (%)	61,43	6,45	17,78

10 Dans le spectre IR, on ne trouve pas d'absorption due au groupe OH et, par suite, il se confirme que le produit est le 3-propionyloxy-1,3,5(10)-oestratrién-17 β -monobromoacétate.

15 On disperse 1,0 g du produit et 0,91 g de 4-{p- bis(2-chloroéthyl)amino phényl}butyrate d'argent, jusqu'à dissolution dans 50 mg de DMSO et on effectue la réaction à la température ambiante pendant 3 jours dans l'obscurité. Après la réaction, on sépare le précipité de bromure d'argent par filtration et on ajoute 4 litres d'eau. On sépare le précipité
20 par séparation centrifuge et on dissout le précipité blanc obtenu dans 50 ml d'acétone, puis on sépare la substance insoluble par filtration à travers un filtre G-4. On évapore le filtrat à siccité sous pression réduite en obtenant 1,3 g d'un produit huileux.

25 On chromatographie le produit sur du gel de silice avec un mélange de solvants à base d'acétate d'éthyle et de cyclohexane dans la proportion de 10 : 50 en volumes, pour le purifier. Le produit purifié est un produit huileux visqueux à 20°C.

30 Les résultats de l'analyse élémentaire et le spectre IR sont les suivants.

Analayse élémentaire :

	C	H	N	Cl
trouvé (%)	67,1	7,0	2,1	11,0
35 Calculé (%)	66,0	6,99	2,08	10,56

Spectre IR : (cm⁻¹)

2916, 2840, 1750, 1740, 1610, 1512, 1488, 1441,
1415, 1379, 1361, 1270, 1210, 1200, 1170, 1140,
1068, 1004, 956, 931, 885, 817, 793, 735 cm⁻¹

7

Il se confirme que le produit est le 3-propionyloxy-1,3,5(10)estratrién-17 β - [4- {p- [bis(2-chloroéthyl) amino] phényl} butyryloxy]acétate.

EXEMPLE 4 :

- 5 Préparation du 3-acétoxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β - [4- {p- [bis(2-chloroéthyl) amino] phényl} butyryloxy]acétate.

On ajoute 1,0 g de 3-acétoxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -monobromoacétate obtenu dans le même mode opératoire
10 que dans l'Exemple 2, et 0,9 g de 4-{p-[bis(2-chloroéthyl) aminol]phényl}butyrate d'argent dans 50 ml de DMSO et on effectue la réaction à 25°C pendant 3 jours dans l'obscurité. Après la réaction, on sépare le précipité de bromure d'argent et on ajoute au filtrat 4 litres d'eau. On sépare le précipi-
15 té blanc résultant par séparation centrifuge. On dissout le précipité dans 50 ml d'acétone. On sépare la substance insoluble à travers un filtre G-4 et on évapore le filtrat à siccité sous pression réduite en obtenant 1,2 g d'un produit huileux. On chromatographie le produit sur du gel de silice
20 avec un mélange de solvants à base d'acétate d'éthyle et de cyclohexane dans la proportion de 10 : 50 en volumes. Le produit purifié est une substance huileuse visqueuse à 20°C.

Les résultats de l'analyse élémentaire sont les suivants

Analyse élémentaire :

25		C	H	N	Cl
	Trouvé (%)	66,0	6,9	2,0	10,9
	Calculé (%)	65,64	6,84	2,13	10,79

Dans le spectre IR, on ne trouve pas d'absorption due au groupe OH et, par suite, il se confirme que le produit est
30 le 3-acétoxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -[4- {p- [bis (2-chloroéthyl) amino]phényl}butyryloxy] acétate.

Spectre IR : (cm⁻¹)

2915, 2840, 1750, 1740, 1610, 1512,
1488, 1442, 1415, 1378, 1360, 1270,
35 1210, 1200, 1170, 1140, 1068, 1005,
956, 931, 885, 817, 793, 735

EXEMPLE 5 :

On ajoute 1 g de 3-acétoxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -monobromoacétate et 0,8 g de [4- {p- [bis(2-chloroéthyl)

amino]phényl}-butyrate de sodium à 50 ml de THF en les laissant réagir à 60°C pendant 24 heures.

Après la réaction, on sépare le précipité par filtration et on concentre le filtrat pour le sécher. On sépare le produit et on le purifie à l'aide d'une colonne de gel de silice avec un mélange de solvants à base d'acétate d'éthyle et de cyclohexane en obtenant 0,9 g du produit purifié. Le produit est le 3-acétoxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl}butyryloxy]acétate.

10 EXEMPLE 6 :

Préparation du 3-acétoxy-1,3,5(10)-oestratrién-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl}butyryloxy]acétate.

On ajoute 200 mg de[4-{p-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl}butyrate]d'argent (sel d'argent du Chlorambucil) dans 10 ml de DMSO en obtenant une solution colloïdale blanche. Puis, on ajoute à la solution colloïdale 190,8 mg de 3-hydroxy-1,3,5(10)oestratrién-17 β -monobromoacétate et on agite le mélange à la température ambiante pendant 64 heures dans l'obscurité. Après 64 heures, la couleur du précipité tourne au vert jaunâtre. On ajoute une faible quantité d'acétone au précipité et on sépare ce dernier par filtration à travers un filtre G-4. Le filtrat est incolore et transparent. On chasse par distillation le DMSO au bain-marie à 80°C, puis on ajoute 100 ml d'eau en précipitant des cristaux blancs. On abandonne le mélange pendant 1 heure et on distille ensuite le DMSO. On sépare les cristaux blancs par filtration à travers un filtre G-4, puis on les lave avec de l'eau distillée et on les sèche sous pression réduite dans un dessiccateur. Le rendement brut est de 330,5 mg.

On dissout 330,5 mg du produit brut dans un mélange de solvant à base de cyclohexane et d'acétate d'éthyle dans la proportion de 50 : 10 en volume. On fait passer lentement la solution à travers une colonne garnie de 40 g de gel de silice en séparant graduellement le produit, et l'on obtient ainsi 188,2 g (rendement 62,86 %) d'un produit pur.

Les résultats de l'analyse élémentaire et le point de fusion du produit sont les suivants.

Analyse élémentaire :

	C	H	N	Cl
Trouvé (%)	66,0	7,0	2,3	11,0
Calculé (%)	66,22	6,98	2,27	11,52

Point de fusion : semi-fondu à 25°C

- 5 Il se confirme que le produit est le 3-hydroxy-1,3,5(10)-estratrièn-17 β - [4- { p-[bis(2-chloroéthyl) amino]phényl}butyryloxy] acétate.

On dissout 50 mg du produit dans 1 ml de pyridine anhydre et on ajoute 1 ml d'anhydride acétique en les laissant réagir au réfrigérateur pendant 16 heures. Après la réaction on concentre le mélange réactionnel et on le sèche sous pression réduite au bain-marie à 30°C. On ajoute en mélange au résidu de l'eau distillée et on abandonne le mélange pendant 1 heure pour précipiter un produit huileux en écume colloïdale blanche. On élimine la pyridine de l'acide acétique avec de l'eau distillée et on lave le produit avec de l'eau à neutralité. On sépare le produit huileux à partir d'une solution aqueuse et on le concentre, puis le sèche dans un dessiccateur sous pression réduite en obtenant 45 mg d'un produit huileux.

On analyse ledit produit par chromatographie sur couche mince de gel de silice avec un mélange de solvants développants à base d'acétate d'éthyle et de cyclohexane dans la proportion de 30 : 50 en volumes en obtenant une seule tache de Rf : 0,78.

On chromatographie le produit sur du gel de silice avec un mélange de solvants à base d'acétate d'éthyle et de cyclohexane dans la proportion de 10 : 50 en volumes pour purifier le produit. Le produit purifié est un composé sous forme d'huile visqueuse à 20°C.

Les résultats de l'analyse élémentaire sont les suivants.

Analyse élémentaire :

	C	N	H	Cl
35 Trouvé (%)	66,0	6,5	2,0	10,9
Calculé (%)	65,64	6,84	2,13	10,79

Dans le spectre IR, on ne trouve pas d'absorption due au groupe OH et, par suite, il se confirme que le produit est le 3-acétoxy-1,3,5(10)-oestratrièn-17 β -yle [4- {p- [bis(2-

chloréthyl) amino phényl butyryloxy acétate.

Spectre IR : (cm^{-1})

2915, 2840, 1750, 1740, 1610, 1512,

1488, 1442, 1415, 1378, 1360, 1270,

5 1210, 1200, 1170, 1140, 1068, 1005,

956, 931, 885, 817, 793, 735.

EXEMPLE 7 :

Préparation du 3-propionyloxy-1,3,5(10)-oestratrién-17

4- p- bis(2-chloroéthyl) amino phényl butyryloxy acétate.

10

On dissout 50 mg de

dans 1 ml de pyridine anhydre et on ajoute 1,5 ml
d'anhydride propionique avant d'abandonner le mélange au ré-
15 frigérateur pendant 1 jour. On évapore le mélange réaction-
nel à siccité sous pression réduite au bain-marie à 30°C. On
adjoit en mélange au résidu de l'eau distillée et on aban-
donne le mélange pendant 2 heures en obtenant un produit hui-
leux colloïdal. On élimine la pyridine et l'acide acétique
20 avec de l'eau distillée et on lave le produit avec de l'eau
à neutralité. On sépare la phase aqueuse et on sèche la phase
huileuse sous pression réduite dans un dessiccateur en obte-
nant 40 mg d'un produit huileux.

On chromatographie ledit produit sur du gel de silice
25 avec un mélange de solvant à base d'acétate d'éthyle et de
cyclohexane dans la proportion de 10 : 50 en volumes pour le
purifier. Le produit purifié est un composé huileux visqueux.

Dans le spectre IR, on ne trouve pas d'absorption à
3600 - 3200 cm^{-1} . Par suite de ce résultat, il se confirme
30 que le produit est le 3-propionyloxy-1,3,5(10)-oestratrién-17 -
4- p- bis(2-chloroéthyl) amino phényl butyryloxy
acétate.

EXEMPLE 8 :

Préparation du 3-benzoyloxy-1,3,5(10)-estratrién-17

35 4- p- bis(2-chloroéthyl) amino phényl butyryloxy acétate.

On dissout 50 mg de 3-hydroxy-1,3,5(10)-estratrién-17
4- p- bis (2-chloroéthyl) amino phényl butyryloxy acétate
dans 1 ml de pyridine anhydre et on y ajoute 2 g

d'anhydride benzoïque avant d'abandonner le mélange au réfrigérateur pendant 1 jour. On évapore le mélange réactionnel à siccité sous pression réduite au bain-marie à 30°C. On adjoint en mélange de l'eau distillée au résidu et on abandonne le mélange pendant 1 heure et demi en obtenant un produit huileux colloïdal. On élimine la pyridine et l'acide acétique avec de l'eau distillée et on lave le produit avec de l'eau à neutralité. On sépare la phase aqueuse et on évapore la phase huileuse à siccité sous pression réduite dans un dessiccateur en obtenant 45 mg d'un produit huileux.

On chromatographie le produit sur du gel de silice avec un mélange de solvants à base d'acétate d'éthyle et de cyclohexane dans la proportion de 10 : 50 en volumes pour purifier le produit. Le produit purifié est un composé huileux visqueux.

Dans le spectre IR, on ne trouve pas de bande d'absorption à $3600 - 3200 \text{ cm}^{-1}$. De ce fait, il se confirme que le produit est le 3-benzoyloxy-1,3,5 (10)-estratrién-17 β - [4-{p-[bis(2-chloroéthyl) amino] phényl} butyryloxy]acétate.

ESSAI 1 :

Toxicités aiguës et activités antitumorales (in vivo)
des dérivés de Chlorambucil de l'invention :

(1) Toxicité aiguë (DL₅₀)

Dans la mesure de la DL₅₀, on utilise 8 souris femelles ICR-JCL (âgées de 5 semaines) constituant un groupe d'animaux destinés à être élevés dans une cage multiple transparente, et on dissout chaque médicament dans de l'huile d'olive pour l'administrer par voies d'injection intrapéritonéale (i.p.), administration par voie orale (p.o.) et injection sous-cutanée (s.c.), auxdites souris en une seule dose, pour déterminer ensuite les valeurs des DL₅₀ par la méthode graphique de Litchfield-Wilcoxon après 7 jours. Les résultats obtenus sont les suivants. La DL₅₀ du Clorambucil est respectivement de 20 mg/kg (i.p.), 80 mg/kg (p.o.) et de 26 mg/kg (s.c.). La DL₅₀ de l'échantillon n° 2 du Tableau I de l'invention est supérieure à 3000 mg/kg (i.p.) supérieure à 6000 mg/kg (p.o.) et supérieure à 3000 mg/kg (s.c.).

(2) Essai antitumoral (in vivo)

On implante par voie sous-cutanée des fragments de

cellules cancéreuses de sein humain présentant des récepteurs pour hormones stéroïdes, sous l'aisselle de souris BALB/C-nu/nu, (âgées de 5 semaines) pour former des tumeurs solides. 24 heures après l'implantation, on administre chaque dispersion ou solution de l'ingrédient actif dans de l'huile d'olive, par voie sous-cutanée ou orale alternativement tous les deux jours pendant 10 fois. 25 jours après l'implantation on excise les tumeurs. On mesure l'efficacité de l'inhibition des tumeurs d'après (A) chaque poids moyen des tumeurs excisées sur 10 souris (auxquelles on a administré l'ingrédient actif) et (B) chaque poids moyen des tumeurs excisées sur 10 souris témoins.

$$\text{Efficacité de l'inhibition des tumeurs (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

Aussi bien dans le cas de l'administration par voie sous-cutanée que dans l'administration par voie orale du Chlorambucil à la dose de 15 mg/kg, l'efficacité de l'inhibition est d'environ 50 à 70 %, tandis que dans les administrations correspondantes des dérivés de Chlorambucil de l'invention, les efficacités d'inhibition sont supérieures à 90 %. Lorsqu'on administre les dérivés de Chlorambucil de l'invention, toutes les souris survivent.

Dans les observations faites à l'autopsie, on constate de sérieux changements intervenus dans la rate, l'utérus et le thymus après l'administration du Chlorambucil, alors qu'on ne trouve aucun changement après l'administration de l'échantillon de l'invention.

TABLEAU I

DL₅₀

Echantillon N°	1	2	3	4
DL ₅₀ (mg/kg) (administration orale)	80	6000<	3000<	3000<
DL ₅₀ (mg/kg) (administration sous-cutanée)	26	2000<	2000<	2000<

TABLEAU II

Effet antitumoral

Echantillon n°	1		2		3		4		5
<u>Essai antitumoral</u>									
<u>Administration orale</u>									
<u>Dose (mg/kg)</u>	10	15	10	15	10	15	10	15	15
<u>Taux de survie*</u>	8/10	7/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
<u>Efficacité de l'inhibition (%)</u>	55	70	92	98	91	93	93	97	0
<u>Administration sous-cutanée</u>									
<u>Dose (mg/kg)</u>	5	10	5	10	5	10	5	10	10
<u>Taux de survie*</u>	9/10	7/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
<u>Efficacité d'inhibition (%)</u>	53	71	90	98	93	95	92	94	0

2

Notes :

Echantillon n° 1 : Chlorambucil

Echantillon n° 2 : 3-benzoyloxy-1,3,5(10)-estratriène-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl amino]phényl}butyryloxy]acétate.5 Echantillon n° 3 : 3-acétoxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl) amino]phényl}butyryloxy]acétate.Echantillon n° 4 : 3-propionyloxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -[4-{p-bis(2-chloroéthyl) amino]phényl}butyryloxy]acétate.

Echantillon n° 5 : Huile d'olive (témoin)

10

ESSAI 2 :

On procède conformément à l'essai 1, excepté que l'on administre chaque ingrédient actif sous la forme d'une dispersion, à savoir dispersée dans du Polysolvate 80 (émulsifiant) par injection intrapéritonéale dans l'essai de l'effet antitumoral. Les résultats sont les suivants :

20		Chlorambucil	3-hydroxy-1,3,5-(10)-estratrién-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl) amino]phényl}butyryloxy]acétate
	Dose (mg/kg)	5	0,5 5
25	Efficacité de l'inhibition (%)	30	91 97
	Essai de toxicité aiguë DL50	20	1000 <

30 ESSAI 3 :

Cet essai concerne la fonction de fixation du 3-hydroxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl) amino]phényl}butyryloxy]acétate sur les cellules sensibles aux oestrogènes.

35 On fait incuber de l'oestradiol marqué au tritium (^3H) avec de l'utérus de lapine pour le fixer sur ce dernier, puis on ajoute l'échantillon au système pour mesurer la quantité de ^3H -oestradiol libre qui a été remplacée par l'oestradiol ajouté. Les résultats sont montrés dans la Figure annexée.

On trouve que le ^3H -oestradiol libre augmente de la même façon que l'oestradiol lui-même. Ce fait montre que l'échantillon a une fonction de fixation sur les récepteurs d'oestrogènes.

5 On indique ci-après quelques exemples de compositions pharmaceutiques préparées selon l'invention.

COMPOSITION :

Formule 1 :

Ingrédient actif obtenu selon

10	l'exemple 3	50 parties en poids
	Mannitol	35 parties en poids
	Sorbitol	25 parties en poids
	Carboxyméthylcellulose	5 parties en poids
	Stéarate de magnésium	5 parties en poids
15	Talc	40 parties en poids

On mélange les constituants avant de les réduire en poudre et de les soumettre à une compression pour former un comprimé ayant un diamètre de 10 mm.

Formule 2 :

20 Ingrédient actif obtenu selon

	l'Exemple 2	100 parties en poids
	Lactose	500 parties en poids
	Ester d'acide gras d'un sucre	10 parties en poids
	Amidon	100 parties en poids
25	Eau (carboxyméthylcellulose sodique à 1 %)	100 parties en poids

On malaxe et extrude les constituants à travers une pastilleuse sous forme de granules que l'on sèche ensuite et tamise pour laisser subsister des particules de granulométrie comprises entre 0,70 mm et 1,65 mm pour préparer des granules en vue d'une administration par voie orale.

Formule 3 :

On remplit des capsules disponibles dans le commerce à l'aide des granules de la formule 2 pour préparer des capsules de 0,5 cm³.

Formule 4 :

Ingrédient actif obtenu selon

	l'Exemple 1	5 parties en poids
	Huile d'olive	95 parties en poids

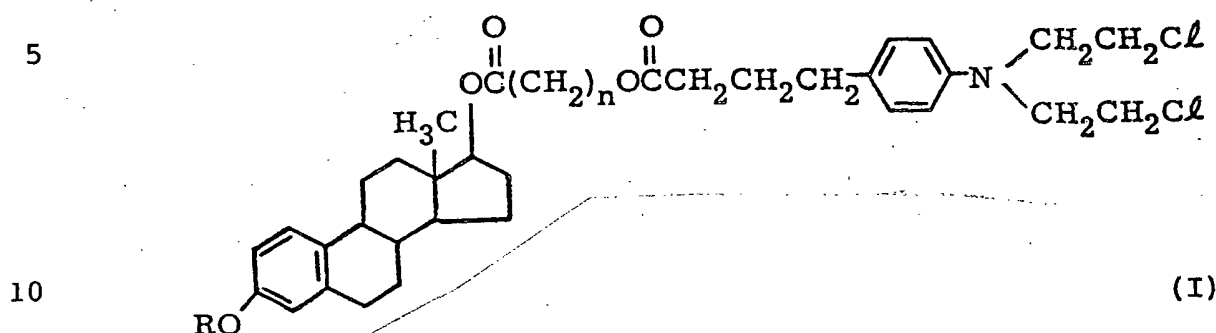
070100

25

On chauffe les constituants et on les mélange et les stérilise pour préparer un médicament pour injection.

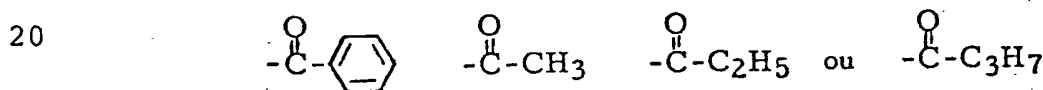
REVENDEICATIONS

1. Dérivés de Chlorambucil répondant à la formule générale suivante :



dans laquelle R représente un atome d'hydrogène ou un groupe acyle et n est égal à 1 ou 2.

2. Dérivés du Chlorambucil selon la revendication 1, dans lesquels R est un groupe de formule



3. Le 3-hydroxy ou 3-acyloxy-1,3,5(10)-estratrién-17β-[4-{p-[bis(2-chloroéthyl) amino] phényl} butyryloxy] acétate.

4. Le 3-benzoyloxy-1,3,5(10)-estratrién-17β-[4-{p-[bis(2-chloroéthyl) amino] phényl} butyryloxy] acétate.

5. Le 3-acétoxy-1,3,5(10)-estratrién-17β-[4-{p-[bis(2-chloroéthyl) amino] phényl} buryryloxy] acétate.

6. Le 3-propionyloxy-1,3,5(10)-estratrién-17β-[4-{p-bis(2-chloroéthyl) amino] phényl} byryryloxy] acétate.

7. Composition pharmaceutique notamment utile comme agent antitumoral renfermant un dérivé de Chlorambucil selon l'une quelconque des formules 1 à 6, et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

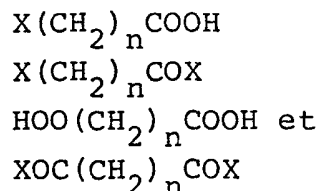
8. Composition pharmaceutique selon la revendication 7 dans laquelle l'ingrédient actif est le 3-hydroxy ou 3-acyloxy-1,3,5(10)-estratrién-17β-[4{p-[bis(2-chloroéthyl) amino] phényl} buryryloxy] acétate.

9. Composition pharmaceutique selon la revendication 7 caractérisée par le fait que l'ingrédient actif est le 3-benzoyloxy-1,3,5(10)-estratriné-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl}butyryloxy]acétate

10. Composition pharmaceutique selon la revendication 7 caractérisée par le fait que l'ingrédient actif est le 3-acétoxy-1,3,5(10)-estratrién-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl}butyryloxy]acétate.

11. Composition pharmaceutique selon la revendication 7 caractérisée par le fait que l'ingrédient actif est le 3-propionyloxy-1,3,5(10)-estratriné-17 β -[4-{p-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl}acétate.

12. Procédé pour préparer les dérivés de Chlorambucil répondant à la formule (I) définie comme spécifiée dans la revendication 1, caractérisé par le fait qu'il consiste à relier le Chlorambucil et le groupe hydroxyle en position 17 de l'oestradiol ou d'un oestradiol acylé en présence d'un agent de liaison choisi parmi le groupe comprenant les composés répondant aux formules



dans lesquelles n est égal à 1 ou 2 et X est un atome d'halogène.

13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé par le fait que ledit agent de liaison réagit tout d'abord avec le groupe hydroxyle en position 17 de l'oestradiol ou de l'oestradiol acylé dans un solvant, puis l'oestradiol ou l'oestradiol acylé modifié réagit avec le groupe carboxyle du Chlorambucil dans un solvant.

14. Procédé selon la revendication 12, caractérisé par le fait que ledit agent de liaison réagit tout d'abord avec le groupe carboxyle du Chlorambucil dans un solvant, puis le Chlorambucil modifié réagit avec le groupe hydroxyle en position 17 de l'oestradiol ou de l'oestradiol acylé dans un solvant.

15. Procédé selon la revendication 12, caractérisé par

079188

28

la fait que l'on acyle le dérivé du Chlorambucil ayant la formule (I), dans laquelle R est un groupe hydroxyle, avec un anhydride d'acide ou un halogénure d'acyle dans un solvant

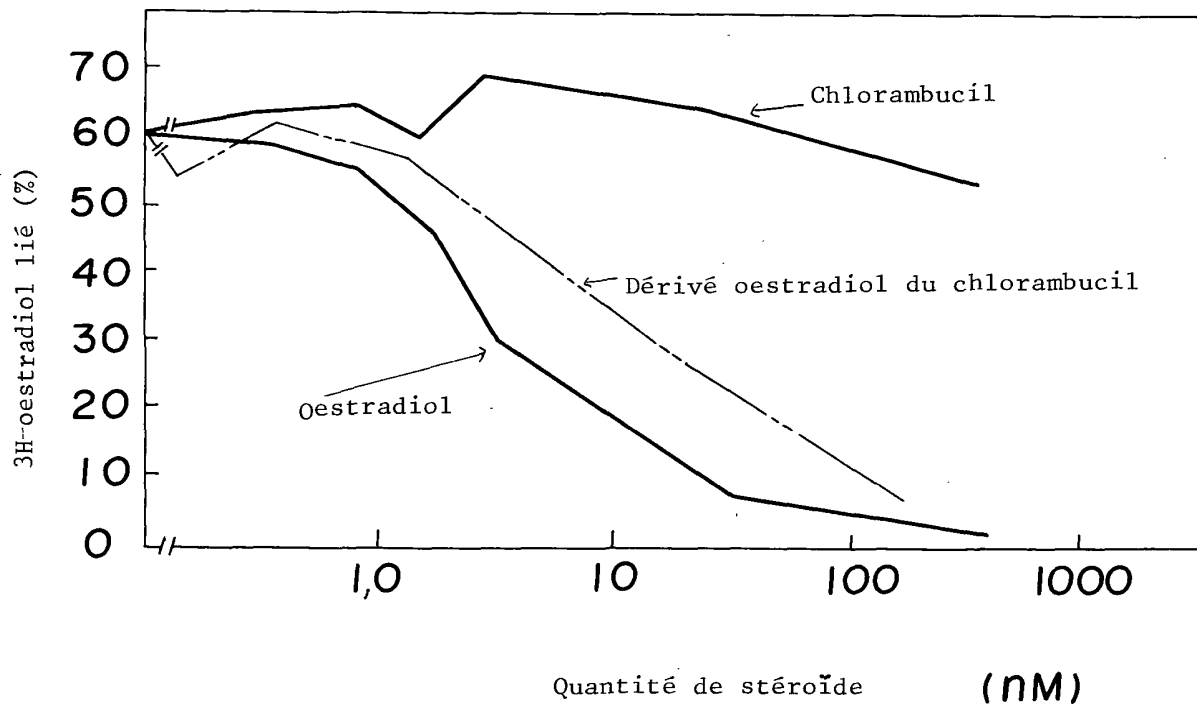
16. Procédé selon la revendication 12, caractérisé par
- 5 le fait que l'on convertit le Chlorambucil en sel d'argent ou en sel alcalin de Chlorambucil, puis on fait réagir le sel ainsi obtenu avec l'agent de liaison ou l'oestradiol ou l'oestradiol acylé modifié dans un solvant

Bruxelles, le 10 août 1979

P.PON. : KUREHA KAGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA

P.PON. : Cabinet BEDE, R. vanSchoonbeek





Bruxelles, le 10 août 1979

P.Pon. Kureha Kagaku Kogyo Kabushiki Kaisha

P.Pon. CABINET BEDE, R. van Schoonbeek

S. Homblen