

16



24 86 99

P A T E N T E  
D E  
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE N<sub>1</sub>-GLICOSIDOS DE LA 5-FLUOCITOSINA Y SUS SALES CON ACIDOS MEDICINALMENTE ACEPTABLES", a favor de la firma suiza F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE. SOCIETE ANONYME, residente en BASILEA (Suiza).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

- La invención se refiere a nuevos N<sub>1</sub>-glicósidos de la 5-fluocitosina y sus sales con ácidos medicinalmente aceptables. Más particularmente se refiere a N<sub>1</sub>-ribósidos y a N<sub>1</sub>-2'-deoxirribósidos de 5-fluocitosina, como por ejemplo la
5. 1-beta-D-ribofuranosil-5-fluocitosina (a la que se puede referir asimismo como a 5-fluocitidina) y la 1-beta-D-2'-deoxirribofuranosil-5-fluocitosina (a la que se puede referir asimismo como a 2'-deoxi-5-fluocitidina) y a sales medicinalmente aceptables de estos compuestos.
10. La invención se refiere también a un procedimiento



24 86 99

- para preparación de  $N_1$ -glicósidos de 5-fluocitosina y a sus sales con ácidos medicinalmente aceptables que consiste en hacer reaccionar un éster O-acílico de  $N_1$ -glicósidos de 5-fluouracilo con un agente tiazador en un medio básico, tratando el O-aciléster de  $N_1$ -glicósidos de 4-tio-5-fluouracilo obtenido con amoníaco en exceso y, en caso deseado, convirtiendo el producto reaccional en una sal con un ácido. Los ésteres O-acílicos utilizados en el procedimiento son, por ejemplo, ésteres alcanóilicos inferiores, como ésteres acéticos, o ésteres aralcanóilicos, como ésteres benzoílicos.
5. O-acil-ésteres de  $N_1$ -ribósidos de 5-fluouracilo y O-acil-ésteres de  $N_1$ -2'-deoxirribósidos de 5-fluouracilo son materiales de partida preferidos. Particularmente preferidos son O-acil-ésteres de 5-fluouridina y 2'-deoxi-5-fluouridina, vg.
10. 2',3',5'-tri-O-benzoil-5-fluouridina o 3',5'-di-O-benzoil-2'-deoxi-5-fluouridina. Es ventajoso usar como agente tiazador pentasulfuro de fósforo, y como medio básico piridina o quinolina. El tratamiento con amoníaco es llevado a cabo, preferentemente, con calentamiento.
15. Los  $N_1$ -glicósidos de 5-fluocitosina son compuestos básicos que forman sales de adición con ácidos inorgánicos y orgánicos. Se puede hacer reaccionar, por ejemplo, los compuestos con aproximadamente una proporción equimolecular del ácido fuerte inorgánico u orgánico apropiado, para obtener sales como los hidrohaluros, vg. clorhidrato, bromhidrato, etc., sulfato, nitrato, picrato, etc.
20. Los N-glicósidos de 5-fluocitosina son útiles como antimetabolitos, impidiendo el metabolismo de ácido nucleíco, y como agentes bacteriostáticos, siendo activos por ejemplo contra las bacterias grampositivas como *Staphylococcus aureus* y *Lactobacillus leichmannii*, y bacterias gramnegati-
25. 30.

24 86 99



vas como *Proteus vulgaris* y contra los hongos, tales como *Paecilomyces varioti* y *Penicillium digitatum*. Las sustancias pueden ser administradas en la forma de la base, o de una de las sales de adición ácidas medicinalmente aceptables de las mismas.

5.

Los ejemplos siguientes son ilustrativos de la invención. Todas las temperaturas constan en grados centígrados.

E J E M P L O 1

- Una mezcla bien agitada que contiene 21,4 g (0,037 moles) de 2',3',5'-tri-benzoil-5-fluouridina, 28 g de penta-sulfuro de fósforo, 350 ml de piridina y 0,8 ml de agua es calentada al reflujo. La solución anaranjada, clara, es tratada a gotas con agua adicional hasta que se mantenga una solución anaranjada turbia. Al cabo de 6 1/2 horas a temperatura de reflujo es enfriada la mezcla reaccional y vertida en una suspensión de agua helada enérgicamente agitada. El precipitado granuloso que se forma es separado por filtración. El material sólido así obtenido es disuelto en 600 ml de cloroformo y separado por filtración de una pequeña cantidad de material insoluble. La solución de cloroformo es lavada dos veces con agua y secada sobre sulfato sódico. Entonces es concentrada al vacío la solución clorofórmica. El residuo sólido crudo es cristalizado de dos litros de etanol caliente; rendimiento 15,7 g (72%), punto de fusión 182-184°.
- Una parte alícuota de la 2',3',5'-tri-0-benzoil-4-tio-5-fluouridina cruda es recristalizada de etanol; punto de fusión 183,5-184°.

- 12 g de 2',3',5'-tri-0-benzoil-4-tio-5-fluouridina son calentados con 200 ml de amoníaco etanólico (solución saturada a 0°) en un tubo sellado durante 15 horas a 85°. El

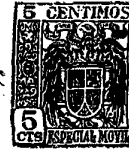
30.

24 86 99



- material se disuelve paulatinamente. La solución verdosa entonces es concentrada a sequedad al vacío. Se adiciona agua y se separa por filtración el material insoluble. El filtrado acuoso es sometido a destilación por vapor para expulsar el
5. benzoato de etilo. La solución de agua residual es extraída tres veces con cloroformo, tratada con carbón vegetal y la capa acuosa es concentrada a sequedad al vacío. El material es codestilado con tolueno para eliminar los últimos vestigios de agua. Al jarabe, así obtenido, que contiene
10. 5-fluocitidina, es adicionado etanol, y la mezcla es tratada con cloruro de hidrógeno gaseoso, mientras que se enfría moderadamente. Primero se forma una solución clara y entonces un fino precipitado blanco. Después de enfriamiento y filtración, se obtiene 5,2 g de clorhidrato de 5-fluocitidina
15. cruda; punto de fusión 173-174°.
- La cromatografía de intercambio de iones demuestra que el material producido de este modo contiene un aproximadamente 55% de 5-fluocitidina pura. El resto es citidina y posiblemente una pequeña cantidad de 5-etoxicitidina.
20. Se hace pasar 0,15 g de clorhidrato de 5-fluocitidina cruda, disuelto en 2 ml de HCl 1-n a través de una columna de 1,1 cm x 17 cm de resina intercambiadora de iones Dowex 50-X2, 100-200 mallas (una resina intercambiadora de cationes intensamente ácida que consiste en copolímeros de estireno-divinil-benceno (2% de divinilbenceno) interenlazado
25. que contiene agrupaciones de ácido sulfónico como grupos funcionales). La columna es eluída con HCl 1-n, recogiendo fracciones de 20 ml por media hora. La evaporación de la fracción 3 produce un residuo vidrioso que es cristalizado
30. de una mezcla de 10 ml de etanol y 3 ml de metanol. El

24 86 99



clorhidrato de 5-fluocitidina funde a 177-179°.

Para obtener la base de 5-fluocitidina en forma pura, se lleva a cabo el siguiente proceso:

- Dowex 50-X2 (una resina intercambiadora de cationes intensamente ácida, antes descrita), 100-200 mallas, es lavada consecutivamente con ácido clorhídrico, agua y amoníaco acuoso (30 ml de amoníaco concentrado en 100 ml de agua) y lavada otra vez a neutralidad con agua, para producir la forma de amonio de la resina.
5. Una solución de 3,03 g de clorhidrato de 5-fluocitidina cruda en 12 ml de agua es hecha pasar a través de una columna de 2,2 cm x 40 cm de la resina antes descrita. El material adsorbido a la resina es eluido con agua destilada y aproximadamente 20 ml de fracciones son recogidas cada media hora. Las fracciones individuales son examinadas con respecto a absorción ultravioleta a longitudes de onda de 280 y 300 milimicras en HCl 0,1-n. Las cifras en la tabla I representan la absorción total de las fracciones (obtenidas por multiplicación del valor de extinción x la dilución de la muestra x el volumen de la muestra. Cuando la elución con agua ya no da material que presente absorción ultravioleta en la fracción 142, se continúa la elución con amoníaco 0,02-n.
- 10.
- 15.
- 20



16

9

24 86 99

TABLA I

Fracción	Absorción total		$\frac{300}{280}$	Identificación
	280 m $\mu$	300 m $\mu$		
Material de partida	115,000	67,000	0.592	
1-3	--	--	--	NH <sub>4</sub> Cl  1) 5.66 mM 5-fluocitidina  2) 2.81 mM citidina
4	990	1,120	1.13	
5	97	117	1.2	
6-9	--	--	--	
10-55	45,000	43,800	0,973	
56-90	7,520	7,320	0.986	
91-142	3,480	3,330	0,96	
143-185	5,860	2,190	0.374	
186	740	200	0.27	
187-202	37,700	8,285	0.22	
1) (=1.48 g calculado como base, o 1.69 g calculado como clorhidrato) 2) (=0.572 g calculado como base, o 0.786 g calculado como clorhidrato)				

Se combinan las fracciones 10-90 y se las evapora a sequedad al vacío. El residuo parecido a vidrio es extraído con 37 ml de etanol caliente. La solución obtenida es separada por filtración de algún material pardo insoluble.

5. Al enfriar se precipitan cristales que son filtrados y lavados con etanol y éter. Rendimiento 0,89 g. La substancia, 5-fluocitidina, empieza a fundir a unos 190°, siendo resolidificada y fundida otra vez a 199-200°. Una prueba recristalizada de etanol da características similares de punto de fusión. El licor madre es evaporado a sequedad y el residuo
- 10.



24 86 99

- es cristalizado de modo similar, dando 0,12 g de material idéntico. Las fracciones 91 a 142, después de un tratamiento similar, dan un rendimiento adicional de 20 mg de 5-fluocitidina, para dar un rendimiento total de 1,03 g de base cristalina (33% del teórico basado en 2',3',5'-tri-O-benzoil-4-tio-5-fluouridina).
- 5.
- Las fracciones 187-202 producen, después de evaporación y cristalización de 100 ml de metanol y 100 ml de éter de petróleo, 0,42 g de agujas arracimadas que funden a 214-215°. La comparación del espectro ultravioleta y un punto de fusión mixto con una muestra auténtica establece la identidad del material que funde a 214-215°, con la citidina.
- 10.
- El compuesto de partida, la 2',3',5'-tri-O-benzoil-5-fluouridina que no forma parte de la presente invención de suyo es nuevo, pudiendo ser sintetizado por el método descrito a continuación :
- 15.
- A una solución de 65 g (500 mM) de 5-fluouracilo en 2350 ml de hidróxido sódico acuoso (que contiene 8 g (200 mM) de NaOH) es adicionada una solución de 136 g (500 mM) de cloruro mercúrico en 452 ml de etanol. El pH de la mezcla es ajustado a 5,1 por adición de 450 ml de hidróxido sódico acuoso 1-n, después de lo cual se precipita di-5-fluouracilo de mercurio. Se deja reposar la mezcla durante la noche a 4° y entonces se filtra el producto cristalino, liberándolo del cloro por lavado con agua, seguidamente con etanol y, finalmente, con éter dietílico. Rendimiento 98,3 g (85,7%).
- 20.
- 750 ml de éter anhidro son enfriados a 0° y saturados con HCl seco gaseoso (son absorbidos unos 275 g de HCl).
- 25.
- 30.



16  
24 86 99

- 35,3 g (0,07 moles) de 1-0-acetil-2,3,5-tri-0-benzoil-beta-D-ribosa [preparada mediante la modificación de Kissmann y otros de la síntesis de Fletcher, J.A.C.S. 77, 21 (1955); J.A.C.S. 76, 763 (1954)]7, previamente secada a 50° al vacío
5. son disueltos en la solución fría de HCl-éter. Entonces se adiciona 28 ml de cloruro de acetilo y la mezcla es almacenada a 0° durante ocho días. Durante este período, al cabo de tres días, se vuelve a saturar la solución fría con HCl gaseoso; rendimiento unos 15 g.
10. Entonces la solución es evaporada al vacío debajo de 50° hasta que quede remanente un jarabe. El residuo es extraído tres veces con porciones de 125 ml de benceno seco. El disolvente es eliminado cada vez al vacío. Finalmente, se disuelve el jarabe residual en 190 ml de tolueno seco,
15. siendo adicionado paulatinamente a una suspensión seca de di-5-fluouracilo de mercurio, de modo siguiente: se suspende bajo agitación 16 g (0,035 moles) de di-5-fluouracilo de mercurio en 255 ml de tolueno. Se separa por destilación 100 ml de tolueno a presión atmosférica. Se deja enfriar
20. algo la mezcla y se adiciona 100 ml de tolueno seco. Se separa por destilación como antes 85 ml de tolueno. A esta suspensión de di-5-fluouracilo de mercurio es paulatinamente adicionada a unos 100° la solución toluénica de 1-0-acetil-2,3,5-0-benzoil-beta-D-ribosa.
25. Entonces se trata la mezcla así obtenida al reflujo a 108° durante 1 3/4 horas. La mezcla reaccional es filtrada al punto de ebullición y el filtrado es enfriado en el refrigerador durante dos días. La 2',3',5'-tri-0-benzoil-5-fluouridina cruda precipitada es separada por filtración y secada al vacío. Rendimiento 18 g (52%).
- 30.



5. La 2',3',5'-tri-0-benzoil-5-fluouridina cruda es purificada, disolviendo 10 g del material crudo en 350 ml de cloroformo en un frasco de tres golletes de un litro de capacidad provisto de un grifo de detención en el fondo y conectado con un condensador de reflujo. La solución es calentada a 50° bajo agitación. Se adiciona a la solución clara que resulta a gotas 100 ml de yoduro potásico bajo agitación. La mezcla es agitada durante 15 minutos. Se deja se pararse las dos fases, manteniendo la temperatura a unos 10. 45-50°. La capa de cloroformo más pesada es separada y la fase acuosa es decantada.

15. La fase clorofórmica es dos veces lavada con porciones de 150 ml de agua a 50°. La fase clorofórmica lavada es tratada, mientras está aún caliente, con sulfato sódico hasta que la mezcla se aclara, y filtrada. El filtrado es evaporado a unos 100 ml al vacío y el residuo es enfriado durante la noche en el refrigerador.

20. Se separa por filtración la 2',3',5'-tri-0-benzoil-5-fluouridina purificada, siendo lavada con un poco de cloroformo helado, filtrada por aspiración y secada al vacío; rendimiento 6,5 g (65%); punto de fusión 215-217°.

25. La 5-fluocitidina y sus sales medicinalmente aceptables son útiles como agentes antibacterianos y antifungosos, siendo activas por ejemplo contra Paecilomyces varioti, Bacillus simplex, Sarcina lutea, Bacillus subtilis, Penicillium digitatum, Staphylococcus aureus, Lactobacillus leichmannii y similares.

#### E J E M P L O 2

30. Una mezcla de 3,6 g (0,05 moles) de 2'-deoxi-5-fluouridina cruda (aproximadamente 90% pura), 100 ml de piridi-



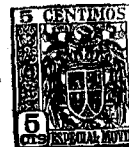
24 86 99

na anhidra y 4,2 g (0,03 moles) de cloruro de benzoílo son calentados a 55-60° durante 60 horas. La solución amarilla que resulta es enfriada y vertida en chorrito fino en una suspensión de agua helada enérgicamente agitada. Se preci-

5. pita inmediatamente un sólido blanco fino. La mezcla es agitada durante una hora y entonces es filtrada la suspensión. El material sólido así obtenido es repetidas veces lavado con agua fría, alcohol frío y, finalmente, con éter. La 3',5'-di-0-benzoil-2'-deoxi-5-fluouridina cruda (6 g)
10. así obtenida funde a 235-236,5°. De recristalización de acetato de etilo y seguidamente de metanol, resulta la 3',5'-di-0-benzoil-2'-deoxi-5-fluouridina cristalina que funde a 236,5-237,5°.

- Una mezcla eficazmente agitada que contiene 5,5 g
15. (0,012 moles) de 3',5'-di-0-benzoil-2'-deoxi-5-fluouridina, 10,4 g (0,047 moles) de pentasulfuro de fósforo y 150 ml de piridina es calentada a temperatura de reflujo, durante cuyo tiempo se forma una solución clara anaranjada. Entonces es adicionada a gotas agua hasta que la solución se hace
20. permanentemente turbia (0,5 ml de agua). El tratamiento al reflujo es continuado durante cinco horas adicionales. La solución turbia parda es enfriada a unos 70° y una mitad de la piridina es separada por destilación al vacío. El residuo siruposo es vertido en chorrito fino en una suspensión
25. de agua helada y agitado durante media hora, en cuyo lapso se vuelve granuloso el semisólido. Después de filtración el sólido es recogido en un volumen grande de cloruro de metileno, lavado con agua, y secado sobre sulfato sódico. La solución de cloruro de metileno es concentrada para obtener la
30. 3',5'-di-0-benzoil-4-tio-2'-deoxi-5-fluouridina como sólido

24 86 99



ligeramente amarillo. El compuesto es recristalizado de etanol absoluto; punto de fusión 210-211°.

- Una solución de 1 g de 3',5'-di-O-benzoil-4-tio-2'-deoxi-5-fluouridina cruda en 20 ml de amoníaco líquido es
5. calentada bajo nitrógeno en un autoclave forrado de vidrio durante 6 horas a 70-80° (se utiliza amoníaco líquido en lugar de amoníaco alcohólico para evitar la introducción del grupo alcoxi). Después de la evaporación del amoníaco al vacío a 60°, es obtenido un residuo sólido de color canela
10. conteniendo 2'-deoxi-5-fluocitidina cruda que es recogido con 15 ml de agua. Algún material insoluble es separado por filtración y la solución acuosa es extraída tres veces con porciones de a 20 ml de éter. La capa acuosa es liberada del éter por evaporación parcial al vacío y acidulada al rojo Congo con 1,3 ml de ácido clorhídrico 1-n.
15. Se hace pasar esta solución que contiene clorhidrato de 2'-deoxi-fluocitidina crudo a través de una columna de 2,5 cm x 35 cm de Dowex 50-X2 en la forma de amonio (identificada más particularmente en el ejemplo 1) y cromatografiada con agua a una razón de flujo de unos 20 ml por fracción
20. por media hora. Las fracciones 6 a 11 (130 ml) son combinadas, dando una absorción total en el ultravioleta de 6090 a 280 milimicras (en HCl 0,1-n) y una proporción de  $\frac{300}{280} = 0,94$ . La cromatografía en papel produce con isopropanol-HCl sólo
25. una mancha. La evaporación de las fracciones 6-11 al vacío da 305 mg de un residuo vidrioso que es disuelto en 20 ml de etanol caliente. Después de filtración la solución es enfriada y mezclada con 25 ml de éter de petróleo. Después de reposar durante la noche se precipitan cristales que son separados por filtración, lavados con una solución 1:2 de etanol-
- 30.



24 86 99

5. -éter de petróleo y, finalmente con éter de petróleo. Rendimiento 77 mg de 1-beta-D-2'-deoxirribofuranoxil-5-fluocitidina (2'-deoxi-5-fluocitidina), punto de fusión 180-182°. El licor madre da, después de la adición de 95 ml de éter de petróleo, un segundo rendimiento de 50 mg para un rendimiento total de 127 mg (24,3% del teórico).

10. El material de partida, la 2'-deoxi-5-fluouridina que no forma parte de esta invención, a su vez es nuevo, pudiendo ser preparado de acuerdo con el procedimiento descrito a continuación:

15. Se hacen crecer células de *Streptococcus fecalis* (ATCC 8043) en un medio de ensayo de ácido fólico AOAC [Lepper, Official and Tentative Methods of the Association of Official Agricultural Chemists, Washington, D.C., 7ª edición, 784 (1950)] suprido con 2 mg por litro de timina [Prusoff, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 85, 564 (1954)]7.

20. Al cabo de 20 horas de incubación a 37°, las células son recogidas mediante centrifugación. Las células recogidas son lavadas tres veces con cuatro volúmenes de solución compensadora de fosfato potásico ( $\frac{M}{b}$  de solución acuosa de  $KH_2PO_4$  ajustada al pH 8,0 por adición de KOH acuoso 2-n) y se pesa las células húmedas. Las células, finalmente, son suspendidas en la solución tampón de fosfato potásico anterior y trituradas en un homogeneizador a base de tejido de vidrio.

25. Una cantidad de preparación de enzima equivalente a 4,06 g de células húmedas es completada a 105 ml con la solución tampón de fosfato potásico antes identificada. 200 mg (1,54 mM) de 5-fluouracilo y 1,50 g (6,16 mM) de timidina son disueltos en 15 ml de la solución tampón de fosfato potásico antes referida. Las dos soluciones son mezcladas, ha

30.

24 86 99<sup>16</sup>



5. siendo un volumen total de 120 ml. La mezcla es incubada a 37° durante 18 horas. Después de este tiempo la acción de enzima es detenida por la adición de cuatro volúmenes de acetona y un volumen de éter dietílico exento de peróxido. Los sólidos precipitados son eliminados por filtración y el filtrado es evaporado bajo nitrógeno a presión reducida hasta que haya quedado eliminado esencialmente todo disolvente orgánico volátil. Quedan remanentes aproximadamente 20 ml de solución acuosa. Esta solución es diluída a 100 ml con agua destilada.
- 10.

- La solución es evaporada otra vez al vacío a 5 ml y alcalinizada por adición de 20 ml de solución de hidróxido sódico acuoso 1-n, produciendo al efecto una mezcla que contiene sales sódicas de: N-deoxirribosida de 5-fluouracilo, timina, timidina y 5-fluouracilo. Esta mezcla es purificada por adsorción a una resina intercambiadora de iones y subsiguiente elución mediante soluciones tampón de acidez gradualmente creciente, a cuyo efecto los componenets de pirimidina de la mezcla son eluídos en el orden siguiente:
- 15.

20. timidina, timina, 5-fluouracilo y 2'-deoxi-5-fluouridina.

- La purificación tiene lugar, haciendo pasar la mezcla alcalina antes mencionada a través de una columna de 2,2 cm x 27 cm de Dowex 1-X4 [Dow Chemical Co, Midland, Michigan; una resina intercambiadora de aniones de un copolímero interenlazado de estireno con divinilbenceno (4% de este último) que contiene grupos de amonio cuaternario como grupos funcionales] 100-200 mallas, convertida previamente en la forma de formiato y lavada a neutralidad. La columna entonces es eluída con 280 ml de solución tampón de formiato amónico acuoso (pH 9,8), presentando una normalidad de 0,1 con res-
- 25.
- 30.



24 86 99

- pecto al ión de formiato. La elución contiene ningún material de absorción ultravioleta. La elución es continuada con solución tampón de formiato amónico acuoso (pH 7,4), presentando una normalidad de 0,1 con respecto al ión de formiato a una razón de flujo de 46 ml por hora. Entonces se sigue aún continuando la elución con solución tampón de formiato amónico acuoso (pH 6,5) que presenta una normalidad con respecto al ión de formiato de 0,1 con una razón de flujo de 60 ml por hora. En intervalos de 30 minutos son separadas fracciones y examinadas individualmente con respecto a la absorción ultravioleta a longitudes de onda de 260 milimicras y 280 milimicras (pH 14).

- El examen de los espectros ultravioletas de las fracciones individuales y la cromatografía en papel de las fracciones individuales demuestran que las fracciones 6 a 17, inclusive, sólo contienen timina y timidina, mientras que las fracciones 34 a 48, inclusive, contienen los compuestos de flúor. Por esta razón, las fracciones 34 a 48 son combinadas y evaporadas a sequedad al vacío. El residuo obtenido es disuelto en 30 ml de la fase superior de una mezcla de dos fases obtenida al mezclar 60 volúmenes de acetato de etilo, 35 volúmenes de agua y 5 volúmenes de ácido fórmico. Entonces se construye una columna de 4,4 cm x 49 cm, mojando 285 g de polvo de celulosa (sin ceniza, grado standard) con la fase superior del sistema de acetato de etilo-agua-ácido fórmico antes mencionado y haciendo entrar la celulosa húmeda en el tubo de absorción mediante una varilla. Entonces se hace pasar la solución de 30 ml a través de la columna. La elución es llevada a cabo con la fase superior del mismo sistema de acetato de etilo-agua-ácido fórmico, antes mencio

24 86 99



nado, a una razón de flujo de 40 ml por hora, recogiendo las fracciones en intervalos de media hora. Las fracciones son examinadas individualmente con respecto a absorción ultravioleta a longitudes de onda de 260 y 280 milimicras (pH 14).

TABLA II

Fracciones	Absorción total 260 mp	(pH 14) 280 mp	Proporción me- dia, 280 mp/ 260 mp	m.M	
				C	D
1-56	0	0	-	-	-
57-93	1405	3735	2.61	0.57	0.01
94	0	0	-	-	-
95-96	118	124	1.05	des- pre- cia- ble.	0.02
97-104	2075	1905	0.92	-	0.38 <sup>a)</sup>

a) 0,39 mM de deoxirribosa, cuando se ensaya por el método de Stumpf, J. Biol. Chem. 169, 367 (1947).  
 C = 5-fluouracilo  
 D = 2'-deoxi-5-fluouridina

5. Las fracciones 97 a 104 son combinadas y evaporadas a sequedad al vacío a 45°. El residuo, la 2'-deoxi-5-fluouridina, es obtenido como un vidrio incoloro. El vidrio incoloro es recogido en etanol y evaporado a sequedad tres veces hasta que resulta un residuo cristalino. Este es recristalizado de acetato de butilo; punto de fusión 152-153°.
- 10.

La 2'-deoxi-5-fluocitidina y sus sales medicinalmente aceptables son útiles como agentes antibacterianos y antifungos, siendo útil por ejemplo contra Paecilomyces varioti, Ba-

24 86 99



Bacillus simplex, Corynebacterium simplex, Sarcina lutea, Bacillus subtilis, Penicillium digitatum, Staphylococcus aureus, Proteus vulgaris, Lactobacillus leichmannii y similares.

TABLA III

Datos espectofotométricos

Compuesto	Medio	Máximo		Mínimo		$\frac{280}{260}$	$\frac{300}{280}$
		$\lambda$ (m $\mu$ )	$\epsilon 10^{-3}$	$\lambda$ m $\mu$	$\epsilon 10^{-3}$		
I	0.1N HCl	284-5	11.2	244	1.69	2.45	0.595
	0.1N NaOH	275-6	7.80	256-7	5.84	1.22	0.265
II	0.1N HCl	290	11.7	248-9	1.77	3.04	0.973
	0.1N NaOH	281	8.15	260-1	5.79	1.39	0.447
III	1N HCl	290	11.8	247	1.42	3.05	0.877
IV	0.1N HCl	289	11.4	250	1.70	3.03	0.963

I = clorhidrato de 5-fluocitidina (crudo)  
 II = 5-fluocitidina (pura)  
 III = clorhidrato de 5-fluocitidina (pura)  
 IV = 5-fluo-2'-deoxicitidina

5. La invención, dentro de su esencialidad, puede ser desarrollada en otras formas de realización que difieran en detalle de la indicada a título de ejemplo, a las cuales alcanzará igualmente la protección que se recaba. Podrá, pues, realizarse con los medios y aparatos más adecuados, por quedar todo ello comprendido dentro del espíritu de las reivindicaciones.
- 10.



24 86 99

N O T A

Descrito el invento se declaran nuevas las siguientes reivindicaciones, con prioridad estadounidense Serial No 729 060, depositada el 17 de abril de 1958:

5. 1. Procedimiento para la preparación de  $N_1$ -glicósidos de la 5-fluocitosina y sus sales con ácidos medicinalmente aceptables que consiste en hacer reaccionar un éster O-acílico de  $N_1$ -glicósidos de 5-fluouracilo con un agente tiazador en un medio básico, en tratar el éster O-acílico de  $N_1$ -glicósidos de 4-tio-5-fluouracilo obtenido con amoníaco en exceso y en caso deseado, en convertir el producto reaccional en una sal con un ácido.
10. 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el cual el material de partida es un éster O-acílico de  $N_1$ -ribosidas de 5-fluouracilo, o un éster O-acílico de  $N_1$ -2'-deoxirribosidas de 5-fluouracilo.
15. 3. Procedimiento según las reivindicaciones 1 o 2, en el cual el éster O-acílico es un éster benzoílico.
20. 4. Procedimiento según las reivindicaciones 1 o 2, en el cual se utiliza pentasulfuro de fósforo como agente tiazador.
25. 5. Procedimiento según la reivindicación 1 que consiste en hacer reaccionar 2',3',5'-tri-O-benzoil-5-fluouridina con pentasulfuro de fósforo en un medio básico para producir la 2',3',5'-tri-O-benzoil-4-tio-5-fluouridina y en tratar esta última con un exceso de amoníaco para obtener la 5-



24 86 99

-fluocitidina.

6. Procedimiento según la reivindicación 1, que consiste en hacer reaccionar 3',5'-di-0-benzoil-2'-deoxi-5-fluouridina con pentasulfuro de fósforo en un medio básico para obtener la 3',5'-di-0-benzoil-4-tio-2'-deoxi-5-fluouridina y en tratar esta última con un exceso de amoníaco para obtener la 2'-deoxi-5-fluocitidina.

7. Procedimiento para la preparación de N<sub>1</sub>-glicósidos de la 5-fluocitosina y sus sales con ácidos medicinalmente aceptables.

Según se describe y reivindica en la presente memoria que consta de dieciocho hojas foliadas, escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 16 de abril de 1.959.

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE. SOCIETE ANONYME

p. a.

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE.

S. M.