

6 JUL 1964

301738

P- 26.729

S 3538

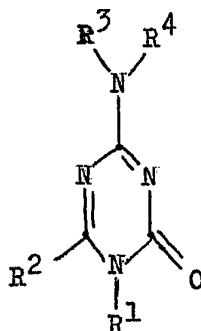


MEMORIA DESCRIPTIVA  
para solicitar  
PATENTE DE INVENCION  
en  
E S P A Ñ A  
por VEINTE años

a nombre de CESKOSLOVENSKA AKADEMIE VED, entidad checoeslo-  
vaca, establecida en Praga, Checoslovaquia, por:

" UN PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE 1-GLICOSIL-5-AZACITO-  
SINAS "

-----  
La presente invención se refiere a un procedimiento  
para la fabricación de 1-glicosil-5-azacitosinas de fórmula  
general I;



(I)

10 en donde R<sup>1</sup> representa un residuo glicosílico o peracilglico



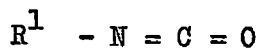
sílico y  $R^2$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo alcohilo conteniendo 1-4 átomos de carbono; en la misma fórmula,  $R^3$  y  $R^4$  ( $R^3$  puede ser idéntico o diferente a  $R^4$ ) representan átomos de hidrógeno o grupos alcohilo que contienen 1-4 átomos de carbono ó grupos aralcohilo, por ejemplo, un grupo bencilo sustituido eventualmente en el anillo benecénico.

Se ha sabido que algunos compuestos del grupo de los llamados antimetabolitos, por ejemplo 6-mercaptopurina, 5-fluorouracilo, 6-azauridina, 5-iodo-2'-desoxiuridina e hidroxibencilbencimidazol, exhiben propiedades de eficaces quimioterápicos suprimiendo el crecimiento de tejidos carcinomatosos malignos o inhibiendo el desarrollo de la infección de virus.

Nosotros hemos registrado importantes propiedades cancerostáticas y virológicas con 1-glicosil-5-azacitosinas que no han sido hasta ahora descritas en la bibliografía. Hemos también desarrollado un procedimiento general ventajoso para la preparación de los compuestos citados anteriormente. Se ha registrado un efecto pronunciado en el metabolismo de los ácidos nucleicos de sistemas biológicos de crecimiento rápido, especialmente con 5-azacitosina (1- $\beta$ -D-ribofuranosil-5-azacitosina).

Para hacer comprensiva la exposición, se refiere el procedimiento de esta invención a la preparación de 1-glicosil-5-azacitosina, cuyo procedimiento comprende la reacción de acilglicosil isocianatos de la fórmula general II;

30



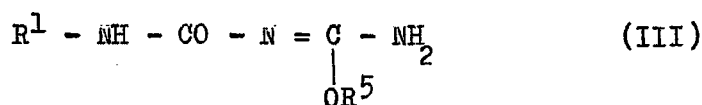
(II)  
301738



en donde R<sup>1</sup> representa un grupo peracilglicosilo con O-alcohilisoureas de la fórmula general V:



5 en donde R<sup>5</sup> representa un grupo alcoholilo que contiene 1-4 átomos de carbono, formando de tal modo 1-acilglicosil-4-alcohilisobiurets de la fórmula general III:

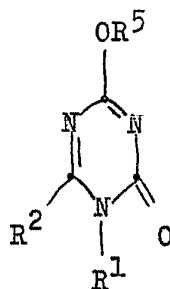


10 en donde R<sup>1</sup> representa lo mismo que en la fórmula II y R<sup>5</sup> representa lo mismo que en la fórmula V; condensando los últimos derivados con ortoesteres de ácidos alifáticos de la fórmula general VI:



15

en donde R<sup>2</sup> representa lo mismo que en la fórmula I y R<sup>6</sup> representa un grupo etilo o metilo, formando de este modo 1-acilglicosil-4-alcoxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,3,5-triazinas de la fórmula general IV:



(IV)

20

25

en donde R<sup>1</sup> representa lo mismo que en la fórmula II, R<sup>2</sup> representa lo mismo que en la fórmula I, y R<sup>5</sup> representa lo mismo que en la fórmula V; reaccionando los últimos derivados con un compuesto de la fórmula general VII:



30



en donde  $R^3$  y  $R^4$  representan lo mismo que en la fórmula I, formando de tal modo derivados de l-acilglicosilo de 5-azacitosina; y, finalmente, sometiendo los últimos derivados a una alcoholólisis con ventaja por acción de metanol en presencia de metóxido de sodio.

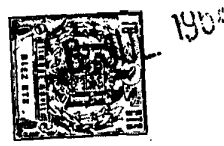
De acuerdo con el procedimiento dado por la invención, los derivados l-acilglicosilo de 5 azacitosina pueden ser transformados en las l-glicosil-5-azacitosinas correspondientes también por amonólisis, preferentemente por acción de amoníaco en etanól.

Además, el tratamiento de acilglicosil isocianatos de la fórmula general II con O-alcoholisoureas de la fórmula general V se realiza, de acuerdo con el procedimiento de la invención en relaciones equimoleculares en frío en un disolvente inerte, preferentemente cloroformo.

La condensación usada en el proceso creado por la invención, de los isobiurets de la fórmula general III con ortoesteres de ácidos alifáticos de la fórmula general VI, se lleva a cabo a temperaturas elevadas (pero inferiores al punto de ebullición del ortoéster empleado) en corriente de un gas inerte.

Finalmente, de acuerdo con el procedimiento de la invención, el tratamiento de alcoxitriacinas de la fórmula general IV con un compuesto de la fórmula general VII se realiza a temperatura ambiente en un medio de un alcohol que contiene hasta seis átomos de carbono.

El procedimiento creado por la invención descrita arriba no afecta a la configuración del centro glicosídico, de tal forma que la configuración del producto final es la misma que la del producto de partida de la fórmula



general II.

De acuerdo con la naturaleza de los grupos acilo empleados para la protección de las funciones hidroxilo, la sustitución del agrupamiento  $OR^5$  (véase la fórmula general IV) por el agrupamiento  $-N(R^3)(R^4)$  (véase la fórmula general I) puede conseguirse con eliminación simultánea de los grupos acilo protectores. De otra manera, estos grupos acilo protectores pueden ser eliminados por los métodos conocidos usuales.

El procedimiento creado por la invención se describe con más detalle en los siguientes ejemplos que son ilustrativos pero no limitativos de la misma.

Ejemplo I

Una solución de 2,3,5-tri-O-acetil- $\beta$ -D-ribofuranosil-isocianato bruto (3,01 gr.) en cloroformo seco (50 ml.) se trata en ausencia de la humedad atmosférica, enfriando y agitando, con una solución de O-metilisourea (0,65 gr) en cloroformo seco (10 ml.). La solución se deja reposar a temperatura ambiente durante una hora, se lava con dos porciones de 20 ml. de agua, se seca con sulfato sódico anhidro y se evapora a presión reducida. El jarabe espeso residual se disuelve en benceno (10 ml.) y la solución se precipita con petróleo ligero (50 ml.), para dar el 1-(2',3',5'-tri-O-acetil- $\beta$ -D-ribofuranosil)-4-metilisobiuret vítreo,  $\lambda_{C_2H_5OH}^{max.}$  221  $\mu$  (log.  $\xi$  4,25). Rendimiento 3,0 gr. (80% de la cantidad teórica).

Ejemplo 2

Se disuelve 1-(2',3',5'-Tri-O-acetil- $\beta$ -D-ri-



bofuranosil)-4-metil-isobiuret (3,75 gr.) en ortoformiato de etilo caliente (30 ml.) y la solución resultante se calienta en una corriente lenta de nitrógeno seco a 135-140°C durante diez horas. Después de enfriar, la solución se precipita con petróleo ligero (75 ml.), el jarabe resultante se disuelve en benceno seco (10 ml.) y la solución se precipita de nuevo con petróleo ligero (50 ml.). Se decanta el líquido que sobrenada y se seca el jarabe residual a presión reducida para dar la 1-(2', 3', 5'-tri-0-acetil- $\beta$  -D-ribofuranosil)-4-metoxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,3,5-triacina vítrea.  $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3 \text{CN}}$  253 m $\mu$  (log.  $\xi$  3,36). Rendimiento 2,0 gr (52%).

#### E j e m p l o 3

Se disuelve 1-(2',3',5'-Tri-0-acetil- $\beta$  -D-ribofuranosil)-4-metoxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,3,5-triacina (3,85 gr.) en 30 ml. de metanol previamente saturado a 0°C con amoníaco gaseoso. La solución se deja reposar a temperatura ambiente en un recipiente cerrado durante doce horas. Se recoge el precipitado resultante para dar 1- $\beta$  -D-ribofuranosil-5-azacitosina-(5-azacitidina) cristalina, p.f. 227-230°C (descomposición). Rendimiento 1,7 gr. (70 %).

#### E j e m p l o 4

Una solución de 2,3,4-tri-0-acetil- $\beta$  -D-ribopiranosil isocianato bruto (3,01 gr.) en cloroformo seco (50 ml.) se trata, con eliminación de la humedad atmosférica, enfriando y agitando, con una solución de 0-metilisourea (0,70 gr.) en cloroformo seco (10 ml.). La

7 7 7 7 7



solución se deja reposar a temperatura ambiente durante una hora, se lava con dos porciones de 20 ml. de agua, se seca con sulfato sódico anhidro y se evapora a presión reducida. El jarabe espeso resultante se disuelve en benceno (10 ml.) y la solución se precipita con petróleo ligero (50 ml.). Se deja reposar la mezcla en un refrigerador a -15°C durante la noche. El 1-(2',3',4'-tri-O-acetil-β-D-ribopiranosil)-4-metilisobiuret cristalino resultante se recoge y se lava con éter. Rendimiento 3,2 gr. (85%).  
P.F. 189-192°C;  $\lambda_{\text{max}}^{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$  221 mμ (log. Σ 4,28).

#### E j e m p l o 5

Se disuelve 1-(2',3',4'-Tri-O-acetil-β-D-ribopiranosil)-4-metil-isobiuret (3,75 gr.) en ortoformiato de etilo caliente (50 ml.). La solución se calienta en una corriente lenta de nitrógeno a 135-140°C durante diez horas, se enfría y se precipita con petróleo ligero (200 ml.). La mezcla se deja reposar durante la noche en un refrigerador. El líquido que sobrenada se decanta, el residuo se tritura con benceno caliente (30 ml.) y la mezcla se deja reposar a temperatura ambiente durante la noche. Los cristales resultantes se recogen y se lavan con benceno para dar 1-(2',3',4'-tri-O-acetil-β-D-ribopiranosil)4-metoxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,3,5-triacina, p.f. 196-198°C (etanol)  $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN}}$  253 mμ (log. Σ 3,39).  
Rendimiento 1,6 gr. (40%).

#### E j e m p l o 6

Se disuelve 1-(2',3',4'-Tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-4-metoxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,3,5-triacina



(3,85 gr.) en 60 ml de etanol previamente saturado a 0°C con amoníaco gaseoso. La solución se deja reposar en un recipiente cerrado a temperatura ambiente durante 150 minutos y se evapora a presión reducida. El residuo se tritura con éter absoluto (100 ml.) y se decanta el éter. El producto residual se tritura seguidamente con etanol absoluto (200 ml.) y la mezcla se evapora a presión reducida. Se repite el proceso una vez más y el residuo se disuelve en metanol absoluto (50 ml.). La solución se deja reposar durante la noche y se recogen los cristales resultantes de 1- $\beta$ -D-ribopiranosil-5-azacitosina, p.f. 250-252°C (descomposición). Rendimiento 1,48 gr (61 %).

#### E j e m p l o 7

Una solución de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil isocianato (3,75 gr.) en cloroformo seco (50 ml.) se trata con eliminación de la humedad atmosférica, enfriando y agitando, con una solución de O-metil-isourea (0,70 gr.) en cloroformo seco (10 ml.). La solución se deja reposar a temperatura ambiente durante una hora, se lava con dos porciones de 20 ml. de agua, se seca con sulfato sódico anhidro y se evapora a presión reducida. El jarabe espeso residual se disuelve en benceno seco (20 ml) y la solución se precipita con petróleo ligero (60 ml.). Se decanta el líquido que sobrenada y el residuo se seca a presión reducida para dar 1-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-4-metilsobiuret vítreo  $\lambda_{\text{max.}}^{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$  221 m $\mu$  (log.  $\Sigma$  4,26). Rendimiento 3,8 gr. (85%).



### E j e m p l o 8

5 Se disuelve 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-4-metilsobiuret (4,47 gr.) en ortoformiato de etilo caliente (50 ml.) y la solución se calienta en una corriente lenta de nitrógeno seco a 135-140°C durante diez horas. Al enfriar se separa 1-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-4-metoxi-2-oxo-1,2-dihidro-10 1,3,5-triacina cristalina. La mezcla se deja reposar durante la noche en un refrigerador, se reúne el producto y se lava con éter. Rendimiento: 1,97 gr. (43 %) de 1-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-4-metoxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,3,5-triacina, p.f. 232-235°C (etanol),  
 $\lambda$   $\frac{\text{CH}_3\text{ON}}{\text{max.}}$  254 m $\mu$  (log  $\Sigma$  3,40).

15

### E j e m p l o 9

Se disuelve 1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-4-metoxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,3,5-triacina (4,57 gr.) en 80 ml. de etanol previamente saturado 20 a 0°C con gas amoníaco. La solución se deja reposar en un recipiente cerrado a temperatura ambiente durante 90 minutos y se evapora a presión reducida. El residuo se tritura con éter absoluto (100 ml.) y se decanta el líquido que sobrenada. El residuo se conserva en metanol absoluto (80 ml.) durante la noche. Al día siguiente se recogen 25 1,65 grs. (60 %) de 1- $\beta$ -D-glucopiranosil-5-azacitosina, p.f. 259-260°C (descomposición).

La presente solicitud que corresponde a la presentada en Checoslovaquia, con fecha 29 de Octubre de 30 1.963, bajo el N<sup>o</sup> PV 5916-63, se acoge a los beneficios



del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

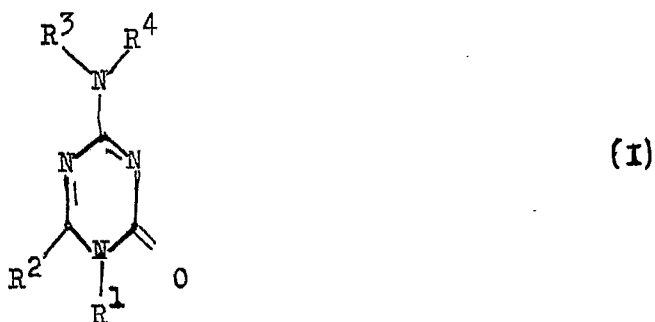
5

- N O T A -

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de la presente solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

1.- Un procedimiento para la obtención de 1-glicosil-5-azacitosinas de la fórmula general I:

15

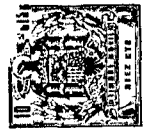


20 en donde R<sup>1</sup> representa un residuo glicosílico ó peracil - glicosílico y R<sup>2</sup> representa un átomo de hidrógeno o un grupo alcohol que contiene 1-4 átomos de carbono; en la misma fórmula R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> (R<sup>3</sup> puede ser igual o diferente a R<sup>4</sup>) representa átomos de hidrógeno o grupos alcohol conteniendo 25 do 1-4 átomos de carbono, ó grupos aralcoholes, por ejemplo, un grupo bencilo eventualmente sustituido en el anillo bencénico, cuyo procedimiento comprende actuar sobre los esteres de los isocianatos de glicosilo de fórmula general:

30



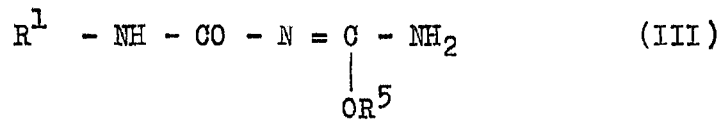
301738



donde R<sup>1</sup> es un peracilglucosilo, con O-alcoholisouréas de la fórmula general V,



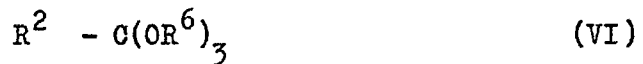
5 donde R<sup>5</sup> representa un grupo alcoholito conteniendo 1-4 átomos de carbono, formando así 1-acilglucosil-4-alcoholisobiuirets de la fórmula general III,



10

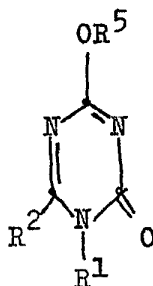
donde R<sup>1</sup> representa un residuo peracilglucosílico y R<sup>5</sup> representa lo mismo que en la fórmula V; condensando los últimos derivados con ortoésteres de ácidos alifáticos de la fórmula general VI,

15



donde R<sup>2</sup> representa lo mismo que en la fórmula I y R<sup>6</sup> representa un grupo metilo o etilo, formando así 1-acilglucosil-4-alcoxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,3,5-triacinas de fórmula general IV,

20



(IV)

25

donde R<sup>1</sup> y R<sup>5</sup> representa lo mismo que en la fórmula III y R<sup>2</sup> representa lo mismo que en la fórmula I; haciendo reaccionar los últimos derivados con un compuesto de fórmula general VII,

30

304738



6 JUL  
(VII)



donde  $R^3$  y  $R^4$  representan lo mismo que en la fórmula I, formando así 1-acilglicosil derivados de 5-azacitosina; y, finalmente, sometiendo los últimos derivados a una al  
 5 coholisis, preferentemente por acción de metanol en presencia de metóxido de sodio ó a una amonólisis, preferentemente con amoníaco en etanol.

2.- Un procedimiento de acuerdo con el punto 1 que comprende hacer reaccionar acilglicosil isocianatos  
 10 de la fórmula general II con O-alcohol-isoureas de la fórmula general V en proporciones equimoleculares en un di-solvente frío e inerte, preferentemente en cloroformo.

3.- Un procedimiento de acuerdo con el punto 1 que comprende la condensación de isobiurets de la fórmula  
 15 general III con ortoésteres de ácidos alifáticos de la fórmula general VI a temperaturas elevadas (pero inferiores al punto de ebullición de los ortoésteres empleados) en corriente de un gas inerte.

4.- Un procedimiento de acuerdo con el punto 1 que comprende hacer reaccionar alcoxitriacinas de la fórmula  
 20 general IV con un compuesto de la fórmula general VII a temperatura ambiente en medio de alcohol que contiene hasta seis átomos de carbono.

5.- Un procedimiento para la obtención de 1-glicosil-5-azacitosinas.  
 25

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

3 738

6 JUL 

La presente Memoria consta de trece hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

6 JUL 1964

Alberto G. Estaburo  
Por Poder

301738

PPR.

11.09