



A1 416.029 761016 C 07 H 19/16

nº 416.029

P A T E N T E D E I N V E N C I Ó N

por VEINTE años

cuyo privilegio se solicita para España, sus territorios y plazas de soberanía, a favor de:

KOHJIN CO., LTD.

entidad japonesa, domiciliada en 1-1, 1-Chome, Shimbashi, Minato-Ku, Tokyo, Japón, relativa a:

"PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR 2-TIOADENOSINAS S-SUBSTITUIDAS Y SUS DERIVADOS"

=====

Inventores: Kiyomi Kikugawa, Hideo Suehiro, Kazuhiro Iizuka, Leiko Sugata, Motonobu Ichino y Tokuro Nakamura

Prioridades: Solicitudes de patente en Japón nos. 60464/72, 129619/72, 129620/72, 11159/73, 27985/73 y 32703/73 de fechas 19 Junio 1972, 26 Diciembre 1972, 26 Diciembre 1972, 29 Enero 1973, 12 Marzo 1973 y 23 Marzo 1973, respectivamente.



MEMORIA DESCRIPTIVA

5. La presente invención se refiere a un procedimiento para producir 2-tioadenosinas S-substituidas haciendo reaccionar una 2-tioadenosina con un haluro representado por la fórmula general RX. - - - - -

10. Además, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir 5'-monofosfato de 2-tioadenosina S-substituída y su sal haciendo que un agente fosforilante actúe sobre una 2-tioadenosina S-substituída. También se refiere a la preparación de un vasodilator vascular coronario e inhibidor de agregación para plaquetas sanguíneas que comprende los compuestos arriba descritos. -- - - -

15. Hasta ahora, no se han examinado suficientemente los efectos farmacéuticos de las tioadenosinas 2-substituidas de este tipo debido a la dificultad de su producción, si bien se esperan excelentes efectos farmacéuticos. Además, como proceso para producir los citados compuestos, se conoce un proceso que consiste en condensar 2-metil ó etil tioadenina ó 2-iso-propil ó n-propil tio-6-cloropurina y ribosa (M.H. 20. Maguire y otros, "Journal of Medicinal Chemistry", vol. 14, p. 415, 1971) o un proceso que consiste en hacer reaccionar



2-cloroadenosina con un metil, etil, n-propil ó iso-propil mercaptano (la misma referencia; H.J. Schaeffer & H.J. Thomas, "Journal of the American Chemical Society", vol. 80, p. 3738, 1958). No obstante, estos procesos implican cierto número de etapas y son demasiado complicados para ser prácticos en la producción de los compuestos citados. En el último proceso, es difícil obtener un mercaptano correspondiente y los compuestos que tienen un alquilo inferior no presentan una suficiente actividad inhibitoria de agregación sobre las plaquetas sanguíneas. - - - - -

5.

10.

Michael y otros ya han encontrado que el 2-metilicadenosina-5'-monofosfato presenta una actividad inhibitoria de agregación sobre las plaquetas sanguíneas con baja toxicidad ("Nature", vol. 222, p. 1073, 1969; patente británica. n° 1.226.699; y patente estadounidense n° 3.678.162). No obstante, este compuesto no presenta una actividad suficiente de inhibición de agregación sobre las plaquetas sanguíneas. - - - - -

15.

Por consiguiente, el objetivo de la presente invención es proporcionar 2-tioadenosinas S-substituidas nuevas y 5'-monofosfatos de 2-tioadenosina S-substituidas nuevas y su sal, un procedimiento efectivo para producir los compuestos fácilmente y con elevado rendimiento y un vasodilatador vascular coronario e inhibidor de agregación, útiles para las plaquetas sanguíneas. - - - - -

20.

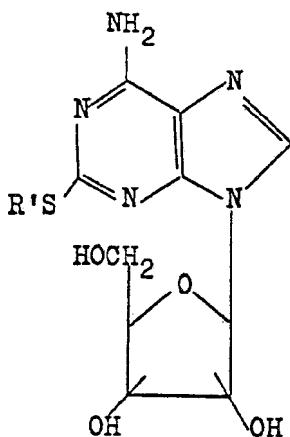
25.

Las 2-tioadenosinas S-substituidas preparadas de acuerdo con la presente invención están representadas por



la siguiente fórmula general: - - - - -

5.



10.

en la que R representa un grupo alilo, un grupo alilo sustituido, un grupo bencilo, un grupo bencilo sustituido, un grupo dialquilaminoalquilo, un grupo alquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono, un grupo cicloalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono o un grupo cicloalquilalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono. - - - - -

15.

Ejemplos del grupo alilo sustituido son un grupo alilo sustituido por un grupo metilo en la posición β - ó γ -, por ejemplo, un grupo trans-crotilo ó β -metalilo y similares.

20.

Ejemplos del grupo bencilo sustituido son un grupo p-clorobencilo, un grupo p-nitrobencilo y similares. Ejemplos del grupo dialquilaminoalquilo son un grupo dietilaminoetilo y similares. - - - - -

25.

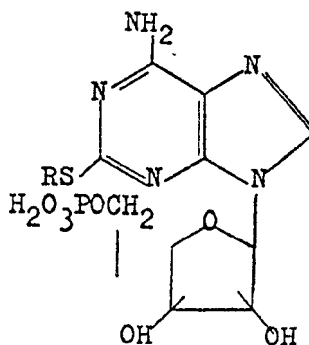
Ejemplos del grupo alquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono son un grupo n-amilo, un grupo iso-amilo, un grupo n-hexilo, un grupo n-heptilo, un grupo n-octilo, un grupo n-nonilo, un grupo n-decilo, un grupo 2-etilhexilo y simila-

18 JUN 1973
SECRET
R112 678

res. Ejemplos del grupo cicloalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono, son un grupo ciclopentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo cicloheptilo y similares. Ejemplos del grupo cicloalquilalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono son un grupo ciclohexilmetilo y similares. - - - - -

Los 5'-monofosfatos de 2-tioadenosina S-substituida se representan por la siguiente fórmula general: - - - - -

10.

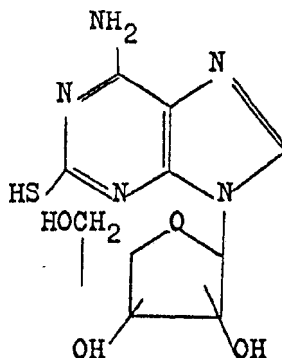


15.

y su sal, donde R es como se ha definido anteriormente. - -

Las 2-tioadenosinas S-substituidas preparadas según la presente invención pueden obtenerse haciendo reaccionar una 2-tioadenosina representada por la siguiente fórmula estructural: - - - - -

20.





con un haluro representado por la fórmula general: - - - - -



5. en presencia de un álcali. R' representa un grupo alquilo, un grupo cicloalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono o un grupo cicloalquilalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono, un grupo alilo, un grupo alilo sustituido, un grupo bencilo, un grupo bencilo sustituido y un grupo dialquilaminoalquilo. - - - - -

10. Los haluros usados ventajosamente en la invención incluyen metilyoduro, propilbromuro, bencilbromuro, p-clorobencilcloruro, p-nitrobencilbromuro, alilbromuro, dietilaminoetilcloruro, trans-1-cloro-2-buteno, β-metalilcloruro, n-amilbromuro, isoamilbromuro, n-hexilbromuro, n-octilbromuro, n-nonilbromuro, n-decilbromuro, n-heptilbromuro, ciclopentilcloruro, ciclohexilbromuro, ciclohexilmetilbromuro, 2-etil-
15. n-hexilbromuro, etc. - - - - -

20. Para la realización de la reacción entre 2-tioadenosina y un haluro, se hace reaccionar la 2-tioadenosina con un haluro a una temperatura de 0°C a 100°C en agua o en un disolvente orgánico en presencia de un álcali. - - - - -

25. Como disolvente de la reacción, puede utilizarse cualquier disolvente siempre que disuelva tanto la 2-tioadenosina como el haluro y no reaccione con los materiales de partida o el producto resultante. Por ejemplo, preferentemente se utiliza agua o un alcohol. - - - - -



Como álcali, se utiliza un metal alcalino, un hidróxido de metal alcalino (por ejemplo, hidróxido sódico, hidróxido potásico, etc.) y aminas orgánicas (por ejemplo piridina, trietilamina, etc.). - - - - -

5. Se utiliza el haluro en una cantidad desde equimolar a un exceso molar de diez veces, en base a la 2-tioadenosina. Se utiliza el álcali en una cantidad desde equimolar a un exceso molar de diez veces en base a la 2-tioadenosina, pero se prefiere una cantidad equimolar. - - - - -

10. Se realiza la reacción a una temperatura de 0°C a 100°C durante un período de 30 minutos a 100 horas. El producto de reacción suele obtenerse como precipitado de la solución de reacción. Si no se forma precipitado alguno, se puede separar el producto y depurarlo o purificarlo con facilidad según un método de uso común tal como cromatografía en columna, cromatografía en papel y similares o se puede obtener el producto como materia cristalina neutralizando y concentrando la solución de reacción y tratándola con un disolvente apropiado. - - - - -

15. El procedimiento de la invención es excelente en el sentido de que el producto final puede obtenerse con procesos sencillos con buen rendimiento. - - - - -

20. La 2-tioadenosina de partida puede prepararse, por ejemplo, haciendo reaccionar 2-cloroadenosina con una sal ácida de metal alcalino de H₂S según se describe en la soli-

25. - - - - -



cidad de patente japonesa nº 86773/71. - - - - -

5. Los 5'-monofosfatos de 2-tioadenosina S-substituida se producen por fosforilación de un grupo hidroxil situado en la posición 5' de una correspondiente 2-tioadenosina S-substituida. - - - - -

10. En el procedimiento de la invención, un agente fosforilante puede hacerse actuar sobre el material de partida, en el cual los grupos hidroxil de las posiciones 2'- y 3'- están protegidos con grupos protectores de uso común tales como un grupo acetilo, benzoilo, isopropilideno, etc. Alternativamente, puede fosforilarse selectivamente un grupo hidroxil en la posición 5' haciendo actuar, bajo condiciones apropiadas de reacción, un agente fosforilante sobre el material de partida en el cual los grupos hidroxil en las posiciones 2' y 3' no están protegidos. - - - - -

20. Como agente fosforilante a aplicar a una 2-tioadenosina S-substituida cuyos grupos hidroxil en las posiciones 2' y 3' están protegidos, se utilizan el oxiclорuro fosforoso, el pentacloruro fosforoso, el oxiclорuro fosforoso parcialmente hidratado, el cloruro de pirofosforilo o similares en presencia o ausencia de un disolvente orgánico apropiado según el método fosforilante practicado comunmente para nucleosidos. - - - - -

25. Además, puede fosforilarse selectivamente un grupo hidroxil en la posición 5' de una 2-tioadenosina S-substituida cuyos grupos hidroxil en las posiciones 2' y 3' no están



- protegidos. O sea, un grupo hidroxilo en la posición 5' del material de partida en el cual los grupos hidroxilo en las posiciones 2' y 3' no están protegidos, puede fosforilarse selectiva y cuantitativamente aplicando oxiclóruo fosforoso, oxiclóruo fosforoso parcialmente hidratado, pentaclóruo fosforoso o clóruo de pirofosforilo al material de partida en presencia o ausencia de un disolvente orgánico tal como m-cresol, acetonitrilo, trietilfosfato, etilacetato, piridina o similares. - - - - -
- 5.
10. En la presente invención, se utiliza el agente fosforilante en una cantidad equimolar o un exceso molar con respecto al material de partida y, apropiadamente, en una cantidad de 2 a 10 veces la cantidad equimolar. La reacción suele realizarse a una temperatura de aproximadamente -25°C a aproximadamente +30°C durante un período de 1 a 10 horas. El producto de reacción así obtenido se convierte en un derivado de 5'-fosfato añadiendo al mismo agua helada para hidrolizarlo. Cuando el producto así hidrolizado es un derivado de 2',3'-isopropilideno, el grupo isopropilideno puede eliminarse, por ejemplo, hidrolizando a 60°C durante 1 hora a pH 2, mientras que cuando el producto hidrolizado es un derivado de 2', 3'-di-O-acetilo, los grupos acetilo pueden eliminarse, por ejemplo, hidrolizando a 37°C durante 24 horas a pH 10. El 5'-monofosfato de 2-tioadenosina S-substituida así obtenido puede recogerse como un compuesto de tipo H o como una sal farmacológicamente aceptable tal como un compuesto tipo sal Li, sal 2Li, sal Na, sal 2Na, sal K, sal 2K,
- 15.
- 20.
- 25.



sal NH_4 , sal 2NH_4 , sal Ba o tipos similares. - - - - -

Las 2-tioadenosinas preparadas según la presente invención son útiles como vasodilatador coronario e inhibidor de agregación para plaquetas sanguíneas y, en cuanto a las actividades farmacológicas, se puede hacer referencia a la siguiente bibliografía: M. H. Maguire y otros, "Journal of Medicinal Chemistry", vol. 14, p. 415, 1971, J. A. Argus y otros, "British Journal of Pharmacology" vol. 41, p. 592, 1971, R. Einstein y otros, "European Journal of Pharmacology", vol. 19, p. 246, 1972, G.V.R. Born y otros, "Nature", vol. 205, p. 678, 1965, F. Michael y otros, "Nature", vol. 222, p. 1073, 1969 y M.A. Packham y otros, "American Journal of Physiology", vol. 223, p. 419, 1972. - - - - -

- 5.
- 10.

Las 2-tioadenosinas S-sustituidas obtenidas según la presente invención demostraron una inhibición del 30 al 100% de una agregación inducida por adenosina-5'-difosfato (10^{-5}M) o de una agregación inducida por colágeno de una suspensión de plaquetas sanguíneas de conejo y ser humano (medida según el método de Born y Cross, descrito en "Journal of Physiology", vol. 168, p. 178, 1963) a un nivel de 10^{-4}M tal como se ilustra en los siguientes ejemplos en la Tabla II y la Tabla III. - - - - -

20.

Los 5'-monofosfatos de 2-tioadenosina S-sustituida obtenidos por la presente invención demostraron una inhibición del 30-90% de una agregación inducida por adenosina-5'-difosfato (10^{-5}M) de una suspensión de plaquetas sanguíneas según el método arriba descrito, utilizando una suspensión

25.



8 JUN. 1973

que contenía plaquetas del ser humano o del conejo a un nivel de $10^{-5}M$ tal como se ilustra en el siguiente ejemplo en la Tabla IV. Esta actividad inhibitoria de 5'-monofosfatos de 2-tioadenosina S-substituida no se disipa sino que dura incluso cuando se trata en plasma a 37°C durante 120 minutos. Los compuestos preparados según la presente invención presentan una acción inhibitoria de agregación más fuerte sobre plaquetas sanguíneas que el compuesto homólogo, el 5'-monofosfato de 2-metiltioadenosina. Por lo tanto, los compuestos preparados según la invención son de un valor útil extremadamente grande como fármaco. - - - - -

La 2-tioadenosina S-substituida de partida puede prepararse haciendo reaccionar 2-tioadenosina con un hidrocarburo halogenado, haciendo reaccionar una 2-tio-6-benzoiladenina S-substituida con un haluro de 2,3,5-tri-O-acil-β-ribofuranosilo o haciendo reaccionar una 2-tio-6-cloropurina S-substituida con tetra-O-acetil-ribofuranosa, tal como se describe en las solicitudes de patente japonesa nos. 60464/72, 57366/72, 59423/72, 59422/72 y 57365/72. - - - - -

20. Ejemplo 1 de referencia

2-Benciltioadenosina:

Se mezclaron 10 m moles de 2-benciltio-6-cloropurina y 10 m moles de tetra-O-acetil-ribofuranosa y se hicieron reaccionar entre sí a 140-160°C durante 20 minutos a presión reducida. A continuación se añadieron 100 ml de metanol absoluto que contenía amoníaco y se trató todo a 0°C



5. durante 2 dias. Después de concentrar la mezcla, se añadió etanol a la misma para obtener un producto cristalino. La recrystalización a partir de agua-etanol dió 3,1 g (un rendimiento del 74%) del producto deseado con un punto de fusión de 151-154°C. - - - - -

Valor R_f en cromatografía de papel (disolvente: n-butanol/agua = 84:16) : 0,73

UV: λ_{max} (pH 1) 272,5 $m\mu$ (ϵ : 17000)
 λ_{max} (pH 7) 235 $m\mu$ (ϵ : 24100)
 10. 278 $m\mu$ (ϵ : 16000)
 λ_{max} (pH 13) 234 $m\mu$ (ϵ : 24600)
 278 $m\mu$ (ϵ : 16000)

Análisis elemental:

Calculado para $C_{17}H_{19}O_4N_5S \cdot 1/2H_2O \cdot 1/2C_2H_5OH$:
 C, 51,29; H, 5,49; N, 16,61; S, 7,60%
 15. Hallado: C, 51,40; H, 5,52; N, 16,73; S, 7,45%

Ejemplo 2 de referencia

2-Benciltioadenosina:

20. Se añadieron 10 m moles de 2-benciltio-6-benzoiladenina a 50 ml de una solución al 50% de etanol, y a la misma se añadieron 10 m moles de sublimado corrosivo. Al añadir a la misma 0,4 ml de una solución de sosa cáustica al 10%, se obtuvo una sal HgCl de 2-benciltio-6-benzoiladenina, precipitada. El precipitado así formado se filtró, se secó



y se añadió a 200 ml de xileno anhidro. A continuación, se añadieron gradualmente 100 ml de una solución de xileno que contenía 12 m moles de bromuro de 2,3,5-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranosilo y se trató a reflujo durante 3 horas. En-

5. tonces, se concentró el filtrado resultante, se disolvió en cloroformo, se lavó con una solución al 30% de yoduro potásico y a continuación con agua, se secó y se concentró hasta la sequedad. Al residuo se añadieron 100 ml de un metanol absoluto que contenía amoníaco y, después de tratamiento durante 2 días a 0°C, se concentró la mezcla a lo que siguió la adición a la misma de etanol para obtener un producto cristalino. La recristalización a partir de agua-etanol rindió 2,52 g (60% de rendimiento) del producto deseado que tenía un punto de fusión de 152-154°C. - - - - -
- 10.

15. Valor R_f en cromatografía de papel (disolvente: n-butanol/agua = 84:16) 0,73

UV:	λ max	(pH	1)	272,5	m μ	(ϵ : 17000)
	λ max	(pH	7)	235	m μ	(ϵ : 24100)
				278	m μ	(ϵ : 16000)
20.	λ max	(pH	13)	234	m μ	(ϵ : 24600)
				278	m μ	(ϵ : 16000)

Análisis elemental:

Calculado para $C_{17}H_{19}O_4N_5S \cdot 1/2H_2O \cdot 1/2C_2H_5OH$:

C, 51,29; H, 5,49; N, 16,61; S, 7,60%

25. Hallado: C, 51,30; H, 5,71; N, 16,71; S, 7,34%



Ejemplo 3 de referencia

2-Tioadenosina

Se disolvieron 2,0 g de 2-cloroadenosina en una solución de 20 ml de sulfuro de hidrógeno anhidro y 1,5 g de sodio metálico en 80 ml de dimetilformamida al que siguió la reacción en estado anhidro a una temperatura de 80°C durante 5 horas. Se diluyó la mezcla resultante de reacción con 80 ml de agua y se neutralizó con ácido acético. A continuación se concentró la mezcla y se disolvió en 75 ml de una mezcla de n-butanol y agua (2:1) y se añadieron a la misma 25 ml de ácido acético. Los cristales que se formaron al dejar reposar se filtraron para obtener 2,1 g (rendimiento del 100%) de 2-tioadenosina. Se obtuvo un producto puro disolviendo la 2-tioadenosina en amoníaco acuoso diluido y ajustando el pH de la solución con ácido acético a 4. - - -

Punto de fusión: 196-199°C (con descomposición) - - - - -

UV:	λ_{\max}	(pH	1)	238,5	m μ	(ϵ : 13800)
				293	m μ	(ϵ : 18400)
	λ_{\max}	(pH	3,2)	239	m μ	(ϵ : 19300)
20.	λ_{\max}	(pH	13)	243	m μ	(ϵ : 19100)
				283	m μ	(ϵ : 14000)
	λ_{\min}	(pH	1)	220,5	m μ	(ϵ : 9400)
				256,5	m μ	(ϵ : 2800)
	λ_{\min}	(pH	3,2)	251,5	m μ	(ϵ : 3100)
25.	λ_{\min}	(pH	13)	227	m μ	(ϵ : 12500)
				259	m μ	(ϵ : 7100)

pKa: 7,8



Rotación específica: $\left[\alpha \right]_D^{25^\circ C} = -43,6^\circ$ (c:0,5, dimetilformamida)

Análisis elemental:

Calculado para $C_{10}H_{13}O_4N_5S.H_2O$:

C, 37,89; H, 4,77; N, 22,09; S, 10,12%

5. Hallado: C, 37,67; H, 4,88; N, 21,82; S, 10,22%

El espectro de resonancia magnética nuclear del producto se correspondía totalmente con su estructura. - - - -

Ejemplo 1

2-Benciltioadenosina:

- 10. Se disolvieron 100 mg de 2-tioadenosina en 1,26 ml de agua que contenía 0,315 m mol de hidróxido sódico, y 54,0 mg (0,315 m mol) de bromuro bencílico se añadieron a la misma y se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente para provocar la reacción. El precipitado formado
- 15. fue filtrado y recristalizado de agua-etanol. Así se obtuvieron 99,7 mg (rendimiento del 68%) del producto deseado con un punto de fusión de 151-155°C. - - - - -

Valor R_f en cromatografía de papel: (disolvente: n-butanol/agua = 84:16) 0,73

- 20. UV: λ_{max} (pH 1) 272,5 $m\mu$ (ϵ : 16400)
- λ_{max} (pH 7) 235 $m\mu$ (ϵ : 23900)
- 278 $m\mu$ (ϵ : 15900)
- λ_{max} (pH 13) 234 $m\mu$ (ϵ : 24600)
- 278 $m\mu$ (ϵ : 15900)



Análisis elemental:

Calculado para $C_{17}H_{19}O_4N_5S \cdot 1/2H_2O \cdot 1/2C_2H_5OH$:

C, 51,29; H, 5,49; N, 16,61; S, 7,60%

Hallado: C, 51,28; H, 5,66; N, 16,81; S, 7,25%

5. Ejemplo 2

2-p-Clorobenciltioadenosina:

Se disolvieron 100 mg (0,315 m mol) de 2-tioadenosina en 1,26 ml de agua que contenía 0,315 m mol de hidróxido sódico, y se añadieron 50,7 mg (0,315 m mol) de p-clorobencilcloruro a la misma y se agitó durante la noche a temperatura ambiente para la reacción. El precipitado formado fue filtrado y recristalizado a partir de agua-etanol. Así se obtuvieron 89 mg (rendimiento del 64%) del producto deseado con un punto de fusión de 209-210°C. - - - - -

15. Valor R_f en cromatografía de papel: (disolvente: n-butanol/agua = 84:16) 0,79

UV: λ_{max} (pH 1) 272 $m\mu$ (ϵ : 16400)

λ_{max} (pH 7) 233,5 $m\mu$ (ϵ : 28800)

278 $m\mu$ (ϵ : 16400)

20. λ_{max} (pH 13) 278 $m\mu$ (ϵ : 15800)

Análisis elemental:

Calculado para $C_{17}H_{18}O_4H_5SCl \cdot 1/3C_2H_5OH$:

C, 48,30; H, 4,58; N, 15,94; S, 7,30%

Hallado: C, 48,00; H, 4,79; N, 15,79; S, 7,12%



Ejemplo 3

2-p-Nitrobenziltioadenosina:

Se disolvieron 200 mg (0,630 m mol) de 2-tioadenosina en 2,7 ml de agua que contenía 0,7 m mol de hidróxido sódico. A esta disolución se añadieron 163 mg (0,7 m mol) de p-nitrobenzilibromuro y, después de calentar a 70°C durante 10 minutos, se agitó la solución a temperatura ambiente durante la noche para reaccionar. El precipitado formado fue filtrado, lavado con cloroformo y recristalizado a partir de agua-etanol para obtener 211 mg (rendimiento del 72%) del producto deseado con un punto de fusión de 131-132°C. - - -

Valor R_f en cromatografía de papel: (disolvente: n-butanol/agua = 84:16): 0,67

(disolvente: n-butanol/ácido acético/agua = 2:1:1) 0,82

UV:	λ_{max}	(pH 1)	272 $m\mu$	(ϵ : 21800)
	λ_{max}	(pH 7)	233 $m\mu$	(ϵ : 24700)
			277 $m\mu$	(ϵ : 23800)
	λ_{max}	(pH 13)	233 $m\mu$	(ϵ : 23300)
			278 $m\mu$	(ϵ : 22300)

Análisis elemental:

Calculado para $C_{17}H_{18}O_6S \cdot 1/2H_2O \cdot 1/2C_2H_5OH$:

C, 46,34; H, 4,75; N, 18,01%

Hallado: C, 46,34; H, 4,72; N, 17,94%



Ejemplo 4

2-Aliltioadenosina:

Se disolvieron 100 mg (0,315 m mol) de 2-tioadenosina en 1,26 ml de agua que contenía 0,315 m mol de hidróxido sódico y se añadieron a la mezcla 38 ml (0,315 m mol) de alil bromuro y se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente. El precipitado así formado fue filtrado y recristalizado con etanol para obtener 90 mg (rendimiento del 76%) del producto deseado con un punto de fusión de 161-163°C. - -

10. Valor R_f en cromatografía de papel: (disolvente: n-butanol/agua = 84:16) 0,61

UV: λ_{max} (pH 1) 272 m μ (ϵ : 16100)

λ_{max} (pH 7) 235 m μ (ϵ : 21400)

278 m μ (ϵ : 15000)

15. λ_{max} (pH 13) 234 m μ (ϵ : 21700)

278 m μ (ϵ : 14900)

Análisis elemental:

Calculado para $C_{13}H_{17}O_4N_5S \cdot 3/4C_2H_5OH$:

C, 46,57; H, 5,79; N, 18,73; S, 8,57%

20. Hallado: C, 46,26; H, 6,08; N, 18,79; S, 8,15%

Ejemplo 5

Clorhidrato de 2-dietilaminoetiltioadenosina:

Se disolvieron 100 mg (0,135 m mol) de 2-tioadenosi



- na en 1,26 ml de agua que contenía 0,630 m mol de hidróxido sódico, y se añadieron a la mezcla 54,2 mg (0,315 m mol) de clorhidrato de dietilamino etilcloruro y se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente para reaccionar. A
5. continuación se neutralizó la solución de reacción con ácido clorhídrico y se realizó una cromatografía preparativa en papel seguida de extracción de la mancha del producto. A continuación se pasó el extracto a través de una columna Dowex 1 (Cl⁻) y se cristalizó el producto deseado de isopropanol.
10. La recristalización de etanol rinde 66 mg (50,0% de rendimiento) del producto deseado con un punto de fusión de 217-218°C (d). - - - - -

Valor R_f en cromatografía de papel: (disolvente: n-butanol/agua = 84:16) 0,18

15. (disolvente: n-butanol/ácido acético/agua = 2:1:1) 0,62

UV:	λ _{max}	(pH 1)	270,5 mμ	(ε: 15400)
	λ _{max}	(pH 7)	232 mμ	(ε: 24200)
			275 mμ	(ε: 15800)
20.	λ _{max}	(pH 13)	235 mμ	(ε: 21500)
			278 mμ	(ε: 15400)

Análisis elemental:

Calculado para C₁₆H₂₀O₄N₆S.HCl

- C, 44,18; H, 6,25; N, 19,32%
25. Hallado: C, 44,28; H, 6,21; N, 19,58%



18 JUN. 1973

Ejemplo 6

2-(trans-Crotil)tioadenosina:

5. Se disolvieron 200 mg (0,63 m mol) de 2-tioadenosina en 2,52 ml (0,63 m mol) de NaOH 0,25N, y se añadieron a la mezcla 57 mg (0,63 m mol) de trans-1-cloro-2-buteno y se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente. El precipitado formado fue recristalizado de agua para obtener 141,5 mg (rendimiento del 64%) del producto deseado. Punto de fusión 90-93°C. - - - - -

10. UV: λ_{max} (pH 1) 272 m μ
 λ_{max} (pH 7) 235, 278 m μ
 λ_{max} (pH 13) 234, 278 m μ

Análisis elemental:

Calculado para C₁₄H₁₉O₄N₅S:

15. C, 47,58; H, 5,42; N, 19,82%
Hallado: C, 47,42; H, 5,36; N, 19,91%

Ejemplo 7

2-(β -Metalil)tioadenosina:

20. Se disolvieron 200 mg (0,63 m mol) de 2-tioadenosina en 2,52 ml (0,63 m mol) de NaOH 0,25N, y se añadieron a la mezcla 57 mg (0,63 m mol) de β -metalilcloruro. A continuación, se añadieron 5,0 ml de etanol y se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente para reaccionar. Después de concentrar la solución de reacción, se lavó el



residuo resultante con éter de petróleo y se cristalizó de agua. La recristalización de agua rindió 159,3 mg (70,0% de rendimiento) del producto deseado. Punto de fusión 116-121°C. -----

- 5. UV: λ_{max} (pH 1) 272 m μ
- λ_{max} (pH 7) 235, 278 m μ
- λ_{max} (pH 13) 234, 278 m μ

Análisis elemental:

Calculado para C₁₄H₁₉O₄N₅S:

- 10. C, 47,58; H, 5,42; N, 19,82%

Hallado: C, 47,45; H, 5,44; N, 19,95%

Ejemplo 8

2-Metiltioadenosina:

- 15. Se disolvieron 100 mg (0,315 m mol) de 2-tioadenosina en 1,26 ml de agua que contenía 0,315 m mol de hidróxido sódico, y se añadieron a la mezcla 44,7 mg (0,315 m mol) de metilyoduro. Entonces se agitó la mezcla durante 30 minutos a temperatura ambiente y el precipitado formado fue filtrado y recristalizado de agua para dar 86 mg (rendimiento del 85%) del producto deseado. Punto de fusión 228-229,5°C. --
- 20.

Valor R_f en cromatografía de papel: (disolvente: n-butanol/agua = 84:16) 0,43

- UV: λ_{max} (pH 1) 270 m μ (ϵ : 17300)



λ_{max} (pH 7)	235	m μ (ϵ : 22300)
	277	m μ (ϵ : 15600)
λ_{max} (pH 13)	234,5	m μ (ϵ : 22300)
	277	m μ (ϵ : 15400)

5. Análisis elemental:

Calculado para $C_{11}H_{15}O_4N_5S \cdot 1/2H_2O$:

C, 40,99; H, 4,96; N, 21,73; S, 9,93%

Hallado: C, 40,77; H, 4,86; N, 21,71; S, 9,81%

Ejemplo 9

10. 2-n-Propiltioadenosina:

Se disolvieron 100 mg de 2-tioadenosina en 1,26 ml de agua que contenía 0,315 m mol de hidróxido sódico, y se añadieron a la mezcla 39 mg (0,315 m mol) de n-propilbromuro. A continuación se agitó la mezcla durante la noche a

15. temperatura ambiente para reaccionar. El p̄recipitado formado fue filtrado y recristalizado de agua para dar 100 mg (rendimiento del 77%) del producto deseado. Punto de fusión 168-170°C. - - - - -

Valor R_f en cromatografía de papel: (disolvente:

20. n-butanol/agua = 84:16) 0,75

UV: λ_{max} (pH 1)	269	m μ (ϵ : 17500)
λ_{max} (pH 7)	235	m μ (ϵ : 22000)
	275	m μ (ϵ : 14000)
λ_{max} (pH 13)	235	m μ (ϵ : 22100)
	275	m μ (ϵ : 13900)



Análisis elemental:

Calculado para $C_{18}H_{19}N_5O_4S$:

C, 52,77; H, 4,91; N, 17,06%

Hallado: C, 52,47; H, 4,95; N, 16,78%

5. Ejemplo 10

2-(n-Amiltio)adenosina:

10. Se disolvieron 200 mg (0,63 m mol) de 2-tioadenosina en 8 ml de agua que contenía 2,1 m moles de hidróxido sódico, y se añadieron a la mezcla 952 mg (6,3 m moles) de n-amil bromuro. A continuación se agitó la mezcla durante 4 días a 25°C para reaccionar. El precipitado formado fue filtrado y recristalizado de agua para dar 211,5 mg (rendimiento del 91%) del producto deseado con un punto de fusión de 179-181°C. -----

15. UV: λ_{max} (pH 1) 272 m μ
 λ_{max} (pH 7) 237 m μ , 278 m μ
 λ_{max} (pH 13) 236 m μ , 279 m μ

Análisis elemental:

Calculado para $C_{15}H_{23}O_4N_5S$:

20. C, 48,76; H, 6,27; N, 18,95%

Hallado: C, 48,65; H, 6,21; N, 19,08%

Ejemplo 11

2-(iso-Amiltio)adenosina:

Se disolvieron 200 mg (0,63 m mol) de 2-tioadenosi-



18 JUN. 1973

na en una mezcla de 8,1 ml de agua y 18 ml de etanol que con
tenía 2,1 m moles de hidróxido sódico y se añadieron 952 mg
(6,3 m moles) de isoamilbromuro. A continuación se agitó
la mezcla durante 2 días a temperatura ambiente. Después de
5. neutralizar la solución de reacción con ácido clorhídrico
seguido de concentración, se lavó el concentrado con éter de
petróleo y se cristalizó de etanol-agua. La recristaliza-
ción de etanol-agua rinde 174 mg (rendimiento del 73%) del
producto deseado con un punto de fusión de 125,5-127,5°C. -

10. UV: λ_{\max} (pH 1) 273 m μ
 λ_{\max} (pH 7) 237 m μ , 278 m μ
 λ_{\max} (pH 13) 237 m μ , 279 m μ

Análisis elemental:

Calculado para $C_{15}H_{21}O_4N_5S \cdot 1/4EtOH$:

15. C, 49,11; H, 5,99; N, 18,49%
Hallado: C, 49,02; H, 6,26; N, 18,59%

Ejemplo 12

2-(n-Hexiltio)adenosina:

Se disolvieron 200 mg (0,63 m mol) de 2-tioadenosi-
20. na en una mezcla de 8,1 ml de agua y 16 ml de etanol que con
tenía 2,1 m moles de hidróxido sódico, y se añadieron a la
mezcla 1040 mg (6,3 m moles) de n-hexilbromuro. A continua-
ción se agitó la mezcla durante la noche a 25°C para reaccio-
nar. Se neutralizó la solución de reacción con HCl y se
25. concentró. El concentrado resultante se lavó con éter de



petróleo y se cristalizó de etanol-agua. La recristalización de etanol-agua (10:170) rindió 99 mg (rendimiento del 83%) del producto deseado con un punto de fusión de 166-169°C. - - - - -

5. UV: λ_{max} (pH 1) 273 m μ
 λ_{max} (pH 7) 237 m μ , 278 m μ
 λ_{max} (pH 13) 237 m μ , 279 m μ

Análisis elemental:

Calculado para C₁₅H₂₅O₄N₅S:

10. C, 50,11; H, 6,57; N, 18,26%

Hallado: C, 50,25; H, 6,42; N, 17,79%

Ejemplo 13

2-(n-Heptiltio)adenosina:

15. Se disolvieron 200 mg (0,63 m mol) de 2-tioadenosina en una mezcla de 8,1 ml de agua y 25 ml de etanol que contenía 2,1 m moles de hidróxido sódico, y a la misma se añadieron 1128 mg (6,3 m moles) de n-heptilbromuro. La mezcla se dejó reaccionar durante la noche a 25°C. Se neutralizó la solución de reacción con HCl. Después de concentración, se lavó el concentrado con éter de petróleo y se cristalizó de etanol-agua. La recristalización de etanol-agua rindió 134 mg (rendimiento del 54%) del producto deseado con un punto de fusión de 155-157,5°C. - - - - -

20. UV: λ_{max} (pH 1) 272 m μ



λ_{\max} (pH 7) . 237 m μ , 278 m μ
 λ_{\max} (pH 13) 237 m μ , 279 m μ

Análisis elemental:

Calculado para C₁₇H₂₇O₄N₅S:

5. C, 51,37; H, 6,85; N, 17,62%
 Hallado: C, 51,86; H, 6,87; N, 17,24%

Ejemplo 14

2-(n-Octiltio)adenosina:

10. Se disolvieron 200 mg (0,63 m moles) de 2-tioadenosina en una mezcla de 8,1 ml de agua y 30 ml de etanol que contenía 2,1 m moles de hidróxido sódico, y se añadieron a la misma 1217 mg (6,3 m moles) de n-octilbromuro. Entonces se reaccionó la mezcla durante la noche a 25°C. Se concentró la solución de reacción y se lavó el concentrado con éter
 15. de petróleo. Se cristalizó el residuo de etanol-agua. La recristalización de etanol-agua rindió 206,5 mg (rendimiento del 80%) del producto deseado con un punto de fusión de 155-158°C. - - - - -

20. UV: λ_{\max} (pH 1) 272 m μ
 λ_{\max} (pH 7) 237 m μ , 278 m μ
 λ_{\max} (pH 13) 237 m μ , 279 m μ

Análisis elemental:

Calculado para C₁₈H₂₉O₄N₅S:



C, 52,53; H, 7,10; N, 17,02%
Hallado: C, 52,87; H, 7,10; N, 16,62%

Ejemplo 15

2-(n-Noniltio)adenosina:

5. Se disolvieron 200 mg (0,63 m moles) de 2-tioadenosina en una mezcla de 8,1 ml de agua y 40 ml de etanol que contenía 2,1 m moles de hidróxido sódico y 1305 mg (6,3 m moles) de bromuro de n-nonilo se añadieron a la misma. La solución homogénea resultante se hizo reaccionar durante 2
10. días a 25°C y la solución de reacción se concentró hasta la sequedad, se lavó con éter de petróleo y se cristalizó a partir de etanol-agua. La recristalización a partir de etanol-agua proporcionó 250,5 mg (rendimiento del 93%) del producto deseado que tenía un punto de fusión de 146-151°C. - - -
15. UV: λ_{max} (pH 1) 272 m μ
 λ_{max} (pH 7) 237 m μ , 278 m μ
 λ_{max} (pH 13) 237 m μ , 279 m μ

Análisis elemental:

Calculado para C₁₉H₃₁O₄N₅S:

20. C, 53,63; H, 7,34; N, 16,46%
Hallado: C, 54,04; H, 7,28; N, 16,04%



Ejemplo 16

2-(n-Deciltio)adenosina:

Se disolvieron 200 mg (0,63 m mol) de 2-tioadenosina en una mezcla de 8,1 ml de agua y 50 ml de etanol que tenía 2,1 m moles de hidróxido sódico y se añadieron a la misma 1394 mg (6,3 m moles) de bromuro de n-decilo. La mezcla se hizo reaccionar entonces durante 2 días a 25°C. Después de concentración, el concentrado se lavó con éter de petróleo y se cristalizó a partir de etanol-agua. La recristalización a partir de etanol-agua proporcionó 247,8 mg (89,5% de rendimiento) del producto deseado que tenía un punto de fusión de 145-150°C. - - - - -

5. UV: λ_{\max} (pH 1) 273 μ
 λ_{\max} (pH 7) 237 μ , 278 μ
10. λ_{\max} (pH 13) 236 μ , 279 μ

Análisis elemental:

Calculado para $C_{20}H_{33}O_4N_5S$:

C, 54,65; H, 7,57; N, 15,93%

Hallado: C, 54,85; H, 7,68; N, 16,06%

20. Ejemplo 17

2-(Ciclopentiltio)adenosina:

Se disolvieron 200 mg (0,63 m moles) de 2-tioadeno-



5. sina en 8,1 ml de agua que contenía 2,1 moles de hidróxi-
do sódico y se añadieron a los mismos 659 mg (6,3 m moles)
de cloruro de ciclopentilo. La mezcla se agitó entonces du-
rante 4 días a 25°C para que reaccionara. El precipitado
formado se filtró y se recristalizó a partir de etanol para
obtener 185 mg (rendimiento del 80%) del producto deseado
que tenía un punto de fusión de 223-224,5°C. - - - - -

UV: λ_{max} (pH 1) 273 $m\mu$
 λ_{max} (pH 7) 237 $m\mu$, 278 $m\mu$
 10. λ_{max} (pH 13) 236 $m\mu$, 279 $m\mu$

Análisis elemental:

Calculado para $C_{15}H_{21}O_4N_5S$:

C, 49,03; H, 5,76; N, 19,06%

Hallado: C, 48,79; H, 5,72; N, 19,15%

15. Ejemplo 18

2-(Ciclohexiltio)adenosina:

20. Se disolvieron 200 mg (0,63 m moles) de 2-tioadeno-
sina en una mezcla de 8,1 ml de agua y 20 ml de etanol que
contenía 2,1 m moles de hidróxido sódico y se añadieron a
los mismos 1027 mg (6,3 m moles) de bromuro de ciclohexilo
y se hicieron reaccionar durante 2 días a 50°C. Después de
concentración hasta la sequedad el residuo se lavó con éter
de petróleo y se recristalizó a partir de etanol. La recris-
talización a partir de etanol-agua proporcionó 99,4 mg (ren-
25. dimiento del 41,4%) del producto deseado que tenía un punto



de fusión de 225-227,5°C. -----

UV: λ_{\max} (pH 1) 273 m μ
 λ_{\max} (pH 7) 237 m μ , 278 m μ
 λ_{\max} (pH 13) 236 m μ , 279 m μ

5. Análisis elemental:

Calculado para $C_{16}H_{23}O_4N_5S \cdot 1/4H_2O$:

C, 49,79; H, 6,14; N, 18,15%

Hallado: C, 49,73; H, 5,97; N, 18,19%

Ejemplo 19

10. 2-(Ciclohexilmetiltio)adenosina:

Se disolvieron 200 mg (0,63 m moles) de 2-tioadenosina en 8,1 ml de agua que contenía 2,1 m moles de hidróxido sódico y se añadieron a los mismos 1116 mg (6,3 m moles) de bromuro de ciclohexilmetilo y se agitó todo durante 4 días

15. a 25°C para la reacción. El precipitado formado se filtró y se recristalizó a partir de agua-etanol para dar 178 mg (rendimiento del 71%) del producto deseado con un punto de fusión de 226,5-228,5°C. -----

UV: λ_{\max} (pH 1) 273 m μ
20. λ_{\max} (pH 7) 237 m μ , 278 m μ
 λ_{\max} (pH 13) 236 m μ , 279 m μ

Análisis elemental:

Calculado para $C_{17}H_{25}O_4N_5S$:



C, 51,62; H, 6,37; N, 17,70%
Hallado: C, 51,71; H, 6,34; N, 17,81%

Ejemplo 20

2-(2-Etil-n-hexil)tioadenosina:

5. Se disolvieron 200 mg (0,63 m moles) de 2-tioadenosina en 8,1 ml (2,1 m moles) de NaOH al 0,25 N y se añadieron a los mismos 1217 mg (6,3 m moles) de bromuro de 2-etil-n-hexilo. Además se añadieron a los mismos 30 ml de etanol y se hicieron reaccionar durante la noche a temperatura ambiente. Después de concentración, el concentrado se lavó con éter de petróleo y se recrystalizó a partir de etanol-agua. La recrystalización a partir de etanol-agua proporcionó 150 mg (rendimiento del 58%) del producto que tenía un punto de fusión de 151,5-153,5°C. - - - - -

15. UV: λ_{max} (pH 1) 272 μ
 λ_{max} (pH 7) 235, 278 μ
 λ_{max} (pH 13) 234, 278 μ

Análisis elemental:

Calculado para $C_{18}H_{29}O_4N_5S$:

20. C, 52,83; H, 7,10; N, 17,02%

Hallado: C, 52,71; H, 7,23; N, 17,23%



Ejemplo 21

Sal b4rica de 5'-monofosfato de 2-isoamiltioadenosina:

- Se dispersaron 0,739 gramos (2 m moles) de 2-isoamiltioadenosina en una mezcla de 2 ml de acetonitrilo y 0,73 ml de piridina y se a~adieron a los mismos, bajo refrigeraci3n, 0,816 ml (8,8 m moles) de oxiclорuro fosforoso. Adem4s, se a~adieron a los mismos 0,072 moles (4 m moles) de agua y la reacci3n se llev3 a cabo durante 6 horas. Entonces, se detuvo la reacci3n por adici3n a la misma de agua helada y, despu3 de hidr3lisis, la soluci3n hidrolizada se adsorbi3 en 20 g de carb3n activo. Despu3 de lavado con agua, la columna de carb3n activo se sometió a eluci3n con 800 ml de amoniaco-etanol (1:1) al 10%. El eluato resultante se concentr3 a la sequedad y el residuo se fraccion3 y purific3 en una columna de celulosa (1,7 x 40 cm) eluyendo con un solvente de n-propanol-amoniaco-agua (20:10:3). El precipitado formado por adici3n de una soluci3n etan3lica de yoduro b4rico se recogió por centrifugaci3n. Despu3 de purificaci3n repetida a partir de agua-etanol se obtuvo sal b4rica de 5'-monofosfato de 2-isoamiltioadenosina con un rendimiento del 95%.

UV: λ_{max} (pH 1) 273 m μ (ϵ : 14000)

- Valor R_f en cromatografía de papel (solvente: n-propanol/amoniaco/agua = 20:10:3) monomancha 0,72
- Migraci3n de electroforesis: (pH 7,5; tamp3n fosfa-



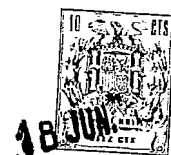
to 0,05 M; 1000 V; 1 hora; control 5'-AMP: +4,7
cm) monomancha +3,2 cm

5. Se liberó ácido fosfórico inorgánico con un rendimiento al 100% cuando el producto se trató con 5'-nucleotidasa de *Crotalus Atrox* Venom o con fosfomonoesterasa de membrana mucósica intestinal de vacas. - - - - -

Ejemplo 22

Sal amónica de 5'-monofosfato de 2'-isoamiltioadenosina:

10. Se enfriaron en un baño de acetona y hielo seco 0,779 gramos (2 m moles) de 2',3'-O-isopropilideno-2-isoamiltioadenosina y se añadieron a los mismos 1,5 g (6 m moles) de cloruro de pirofosforilo. La mezcla resultante se calentó a 20°C y la agitación se prosiguió durante 4 horas. Después de ello, la mezcla se enfrió de nuevo en el baño de acetona-hielo seco y se añadieron a la misma 1,5 ml de agua.
15. Entonces, la mezcla se calentó de nuevo a 20°C y se añadieron a la misma 50 ml de agua a lo que siguió la agitación durante 5 horas a 20°C. A la solución se le añadió entonces una solución de hidróxido amónico 1M para ajustar el
20. pH a 8,5. El precipitado formado se filtró y el filtrado se concentró. El concentrado resultante se colocó en una columna de celulosa y se eluyó con un solvente de n-propanol-amoniaco-agua (20:10:3). Se recogieron fracciones que contenían el producto deseado y se concentraron hasta la
25. sequedad. Con la adición de acetona al residuo, se obtuvo



un polvo bruto que luego se reprecipitó a partir de metanol-acetona para dar sal amónica de 5'-monofosfato de 2'-iso-amiltioadenosina con un rendimiento del 60%. - - - - -

5. El polvo así obtenido presentó prácticamente la misma actividad respecto a un enzima que el producto obtenido en el Ejemplo 21. - - - - -

Ejemplo 23

5'-Monofosfato de 2-n-amiltioadenosina:

10. Se suspendieron 370 mg (1 m moles) de 2-n-amiltioadenosina en una mezcla de 1 ml de acetonitrilo y 0,39 ml de piridina y se añadieron a los mismos bajo refrigeración 0,400 ml (4,4 m moles) de oxiclорuro fosforoso. Además, se añadieron a los mismos 0,036 ml (2 m moles) de agua y la reacción se realizó durante 6 horas. Entonces se añadió

15. agua helada para parar la reacción y el precipitado formado se recogió por centrifugación. Se realizó una cromatografía preparatoria en papel utilizando como solvente isopropanol-amoniaco-agua (7:1:2) y se recogieron y concentraron fracciones cuyo valor R_f era de 0,50. El concentrado

20. resultante se disolvió en 1 ml de agua y se añadió ácido clorhídrico al mismo para formar precipitado. El precipitado así formado se recogió por centrifugación, se lavó con agua y se secó para dar 5'-monofosfato de 2-n-amiltioadenosina con un rendimiento del 90%. - - - - -

25. UV: λ_{max} (pH 1) 273 m μ (ϵ_p : 14000)



λ_{max} (pH 7) 236 m μ (ϵ_p :20000)
 278 m μ (ϵ_p :14000)
 λ_{max} (pH 13) 236 m μ (ϵ_p :20500)
 278 m μ (ϵ_p :13900)

5. Valor R_f en cromatografía de papel (solvente: isopropanol/amoníaco/agua = 7:1:2) monomancha 0,50
 Migración en electroforesis: (pH 7,5; tampón fosfato 0,05 M; 1000 V; 1 hora; control: 5'-AMP, +4,7 cm) +3,2 cm
10. Liberación de ácido fosfórico inorgánico por 5'-nucleotidasa de Crotalus Atrox Venom: 98 moles %
 Contenido de ácido fosfórico inorgánico: 0,3 mol%

Análisis elemental:

Calculado para $C_{15}H_{24}O_7N_5SP \cdot 2H_2O$:

15. C, 38,38; H, 6,01; N, 14,92; P, 6,60%
 Hallado: C, 38,40; H, 6,28; N, 14,75; P, 6,71%

Ejemplo 24

Sal de bario de 5'-monofosfato de 2-aliltioadenosina:

20. Se suspendieron 0,752 gramos (2 m moles) de 2-aliltioadenosina en una mezcla de 2 ml de acetonitrilo y 0,78 ml de piridina y se les añadieron bajo refrigeración 0,816 ml (8,8 m moles) de oxiclóruo fosforoso. Además se les añadieron 0,072 ml (4 m moles) de agua y la reacción se realizó durante 6 horas. Después de ello, se añadió agua helada para parar la reacción e hidrolizar. La solución así
- 25.



- hidrolizada se adsorbió en 20 g de carbón activo y se lavó con agua. La solución así hidrolizada se adsorbió en 20 g de carbón activo y se lavó con agua. La columna de carbón activo se sometió a elución con 800 ml de amoníaco acuoso-
5. -etanol (1:1) al 10% y el eluato se concentró hasta la sequedad. El residuo resultante se colocó entonces en una columna de celulosa (1,7 x 40 cm) y el eluido con un solvente de isopropanol-amoníaco-agua (7:1:2). Las fracciones cuyo valor R_F determinado por cromatografía de papel en el mismo sistema solvente era de 3,2 se recogieron y concentraron. Al concentrado se le añadió una solución en etanol de yoduro bórico y el precipitado formado se recogió por centrifugación. Después de precipitación repetida con agua-etanol se obtuvo 1,00 g (rendimiento aproximadamente del 90%) sal
10. de bario de 5'-monofosfato de 2-*alilitio*adenosina. - - - - -
- 15.

UV: λ_{max} (pH 1) 272 m μ (ϵ_p : 16000)
 λ_{max} (H₂O) 234 m μ (ϵ_p : 20400)
277 m μ (ϵ_p : 14400)
 λ_{max} (pH 13) 278 m μ (ϵ_p : 15000)

20. Valor R_F en cromatografía de papel (solvente: isopropanol/amoníaco/agua = 7:1:2) 0,32
- Migración en electroforesis: (pH 7,5; 0,05 tampón fosfato; 1000 V, 1 hora; control: 5'-monofosfato de adenosina +8,0 cm) +6,7 cm
25. Liberación o desprendimiento de ácido fosfórico inorgánico por 5'-nucleotidasa de *Crotalus Atrox*



Venom: 104 mol %

Contenido de ácido fosfórico inorgánico: 0 mol %

Análisis elemental:

Calculado para $C_{13}H_{16}O_7N_5SP.Ba.2H_2O$

5. C, 26,43; H, 3,41; N, 11,86%

Hallado: C, 26,69; H, 3,23; N, 11,70%

Ejemplo 25

2-Benciltioadenilato bórico:

10. Se suspendieron 0,844 gramos de 2-benciltioadenosina en una mezcla de 2 ml de acetonitrilo y 0,78 ml de piridina. Entonces se le añadió gradualmente bajo agitación y en un baño de agua helada 0,816 g (8,8 m moles) de oxicluro fosforoso. Después se añadieron 0,072 ml (4 m moles) de agua y la reacción se realizó durante 6 horas. Entonces
15. se añadió agua helada para parar la reacción y el precipitado formado con la hidrólisis se recogió por centrifugación. El precipitado se colocó en una columna de celulosa (1,7 x 40 cm) y se eluyó con un solvente de isopropanol-amoníaco-agua (7:1:2). Las fracciones cuyo valor R_f era de 0,34 como se determinó por cromatografía de papel en el mismo sistema solvente se recogieron y concentraron. Al concentrado se le añadió una solución etanólica de yoduro bórico y el precipitado formado se recogió por centrifugación. Después del lavado con etanol se obtuvieron 1,08 g (rendimiento de
20. aproximadamente 90%) de 2-benciltioadenilato bórico. - - -
- 25.



UV: λ_{\max} (pH 1) 273 m μ (ϵ_p : 13900)
 λ_{\max} (H₂O) 234 m μ (ϵ_p : 20100)
278 m μ (ϵ_p : 13400)
 λ_{\max} (pH 13) 278 m μ (ϵ_p : 13700)

5. Valor R_f en cromatografía de papel (solvente: iso-
propanol/amoníaco/agua = 7:1:2) 0,34

Migración en electroforesis: (pH 7,5; tampón fos-
fato 0,05M; 1000 V, 1 hora; control ácido 5'-ade-
nílico: +2,0 cm) +1,5 cm

10. Liberación o desprendimiento de ácido fosfórico
inorgánico por 5'-nucleotidasa de Crotalus Atrox
Venom 96 mol %

Contenido de ácido fosfórico inorgánico 2,5 mol %

Análisis elemental:

15. Calculado para C₁₇H₁₈O₇N₅SP.Ba.2H₂O:

C, 31,86; H, 3,46; N, 10,93; P, 4,83%

Hallado: C, 31,88; H, 3,11; N, 11,00; P, 4,97%

Ejemplo 26

20. Se sintetizaron los compuestos indicados en la
Tabla I según el procedimiento descrito en el Ejemplo 21 ó
22 utilizando las correspondientes 2-tioadenosinas S-substi-
tuidas. Los resultados se tabulan en la Tabla I. - - - - -

Tabla I

Producto	Rendimiento (%)	UV (μm max, pH 1, $\times 10^{-3}$)	R_f	Migración	
2-n-Hexiltioadenosina-5'-monofosfato (Ba)	82	273	13,8	0,74	0,69
2-n-Heptiltioadenosina-5'-monofosfato (Li ₂)	78	273	14,6	0,75	0,69
2-n-Octiltioadenosina-5'-monofosfato (Ba)	85	272	13,9	0,78	0,69
2-n-Noniltioadenosina-5'-monofosfato (Ba)	85	273	14,8	0,84	0,68
2-n-Deciltioadenosina-5'-monofosfato (H)	75	272	13,6	0,85	0,67
2-(2-Etil-n-hexil)tioadenosina-5'-monofosfato (Ba)	68	273	13,9	0,79	0,68
2-Ciclopentiltioadenosina-5'-monofosfato (Ba)	69	273	14,8	0,82	0,69



2-Ciclohexiltioadenosina-5'- -monofosfato (Ba)	70	273	15,1	0,82	0,70
2-Ciclohexilmetiltioadenosina- -5'-monofosfato (Ba)	68	272	14,8	0,83	0,72
2-p-Clorobenciltioadenosina-5'- -monofosfato (Ba)	72	272	13,6	0,92	0,65
2-p-Nitrobenciltioadenosina-5'- -monofosfato (Ba)	78	273	22,0	0,86	0,65
2-trans-Crotiltioadenosina-5'- -monofosfato (Ba)	69	273	14,2	0,70	0,72
2-β-Metaliltioadenosina-5'-mo- nofosfato (Na ₂)	53	273	13,8	0,69	0,72

X Valor R_f en cromatografía de papel (disolvente: n-propanol/amoniaco/agua = 20:10:3)

XX

Migración en electroforesis (pH 7,5, tampón fosfato, migración relativa basada en adenosina-5'-monofosfato).

El análisis elemental de los compuestos anteriores con respecto a C, H, N y P se correspondía completamente con los valores calculados.





Tabla II

Inhibición de agregación de plaquetas de conejo por 2-tioadenosinas S-substituidas

Compuesto	Inhibición de agregación inducida por ADP		Inhibición de agregación inducida por colágeno	
	$10^{-4}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-5}M$
	2-Benciltioadenosina	85%	36%	92%
2-(p-Clorobencil)-tioadenosina	86	0	88	31
2-(p-Nitrobencil)-tioadenosina	88	0	95	30
2-Aliltioadenosina	77	23	62	0
2-(trans-Crotil)tioadenosina	58	29	80	30
2-(β -Metalil)tioadenosina	84	32	97	28
2-Dietilaminoetil-tioadenosina	33		86	



Tabla III

Inhibición de agregación de plaquetas de conejo por 2-tioadenosinas S-sustituidas

Compuesto	Inhibición de agregación inducida por ADP		Inhibición de agregación inducida por colágeno	
	$10^{-4}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-5}M$
	2-n-Amiltioadenosina	78%	34%	89%
2-i-Amiltioadenosina	70	38	98	0
2-n-Hexiltioadenosina	80	7	94	20
2-n-Heptiltioadenosina	80	0	94	15
2-n-Octiltioadenosina	67	11	93	20
2-n-Noniltioadenosina	37	0	91	15
2-n-Deciltioadenosina	35	0	86	9
2-(2-Etil-n-hexil)-tioadenosina	90	51	92	78
2-Ciclopentiltioadenosina	100	67	90	55
2-Ciclohexiltioadenosina	100	79	93	87
2-Ciclohexilmetiltioadenosina	99	17	96	56

Tabla IV

Inhibición de agregación de plaquetas inducidas por ADP por 5'-monofosfatos de 2-tioadenosina S-substituidas

Compuesto	Disolvente	Conc. molar	% Inhibición	
			Conejo (10 ⁻⁵ M ADP)	Hombre (3 x 10 ⁻⁶ M ADP)
2- <u>n</u> -Amilitio AMP XX	Sal de baño de DMSO X	10 ⁻⁴	83	
	Sal amónica salina	0,8 x 10 ⁻⁴	80	
		0,8 x 10 ⁻⁵	54	84
2-Alilitio AMP		0,8 x 10 ⁻⁶	22	54
	Sal de bario de DMSO	10 ⁻⁴	82	
	Sal amónica salina	0,9 x 10 ⁻⁴	80	
Sal disódica de AMP		0,9 x 10 ⁻⁵	59	86
		0,9 x 10 ⁻⁶	37	31
	salina	10 ⁻⁴	52	
Adenosina		10 ⁻⁵	35	
		10 ⁻⁶	5	
	DMSO	10 ⁻⁴	66	
	salina	10 ⁻⁴	71	
		10 ⁻⁵	61	94
		10 ⁻⁶	37	41

X DMSO = Dimetilsulfóxido

XX AMP = 5'-monofosfato de adenosina



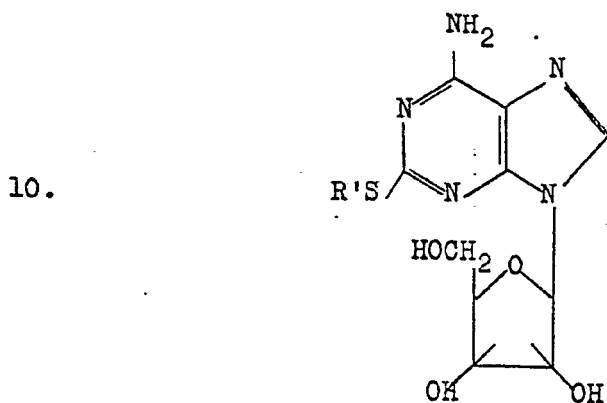


N O T A

Se declaran de novedad y propiedad para España, sus territorios y plazas de soberanía, las siguientes: - - - - -

R E I V I N D I C A C I O N E S

5. 1.- Procedimiento para producir 2-tioadenosinas S-substituidas y sus derivados, representadas por la fórmula general: - - - - -



15. en que R' se elige del grupo formado por un grupo alquilo, un grupo cicloalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono o un grupo cicloalquilalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono, un grupo alilo, un grupo alilo sustituido, un grupo bencilo, un grupo bencilo sustituido y un grupo dialquilaminoalquilo, caracterizado porque comprende hacer reaccionar 2-tioadenosina con un haluro representado por la fórmula general: - - - - -
- 20.

R'X

18 JUN 1973

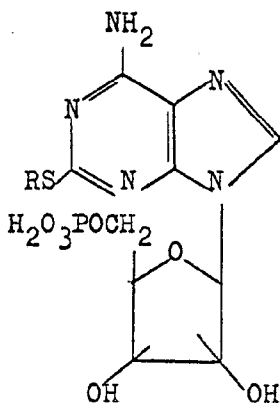
en que R' es como se ha definido anteriormente y X representa un átomo de halógeno elegido entre el cloro, el bromo y el yodo. - - - - -

5. 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la reacción se conduce en presencia de álcali.-

10. 3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la reacción se conduce en presencia de un solvente orgánico inerte para la 2-tioadenosina y el haluro R'X ó en presencia de agua. - - - - -

4.- Procedimiento para producir 2-tioadenosinas S-substituidas y sus derivados y, más particularmente, para producir un 5'-monofosfato de 2-tioadenosina S-substituida, representado por la siguiente fórmula general: - - - - -

15.



20.

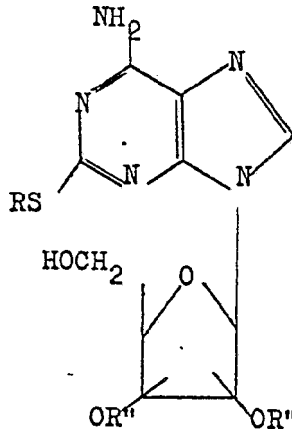
y sus sales, en que R se elige del grupo formado por un grupo alquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono, un grupo cicloalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono, un grupo cicloalquilalquilo que tiene 5 ó más átomos de carbono, un gru

25.



po bencilo, un grupo bencilo p-substituido, un grupo alilo, un grupo alilo substituido y un grupo dialquilaminoalquilo, caracterizado porque comprende hacer reaccionar un agente fosforilante con una 2-tioadenosina S-substituida representada por la siguiente fórmula general: - - - - -

5.



10.

en que R es igual que el definido anteriormente y R'' representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector. - - - - -

15.

5.- Procedimiento para producir 2-tioadenosinas S-substituidas y sus derivados y, más particularmente, para producir una sal de 5'-monofosfato de 2-tioadenosina S-substituida según la reivindicación 4, caracterizado porque el 5'-monofosfato de 2-tioadenosina S-substituida se convierte en su sal. - - - - -

20.

6.- Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque el grupo protector se elige del grupo formado por un grupo acetilo, un grupo benzoilo y un grupo isopropilideno. - - - - -

25.

7.- Procedimiento según la reivindicación 4, carac-



terizado porque la reacción de fosforilación es seguida de hidrólisis. - - - - -

5. 8.- Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque dicho agente fosforilante se elige del grupo formado por oxiclорuro fosforoso, oxiclорuro fosforoso parcialmente hidratado y cloruro de pirofosforilo. - - - - -

10. 9.- Procedimiento según la reivindicación 4 ó 5, caracterizado porque R" representa un átomo de hidrógeno y la fosforilación se realiza en un solvente elegido entre meta-cresol, acetonitrilo, fosfato de trietilo, acetato de etilo, piridina y una mezcla de los mismos. - - - - -

10.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la reacción se realiza a una temperatura de 0° a 100°C durante un período de 30 minutos a 100 horas.

15. 11.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el álcali se elige del grupo compuesto por un metal alcalino, un hidróxido de metal alcalino y aminas orgánicas. - - - - -

20. 12.- Procedimiento según la reivindicación 4 ó 5, caracterizado porque la fosforilación se realiza a una temperatura de -25° a 30°C durante un período de 1 a 10 horas utilizando el agente de fosforilación en una cantidad molar en exceso de 2 a 10 por mol del material de partida. - - -

13.- "PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR 2-TIOADENOSINAS



S-SUBSTITUIDAS Y SUS DERIVADOS". -----

Todo ello conforme se describe y reivindica en la presente memoria que consta de cuarenta y ocho hojas, foliadas y mecanografiadas por una sola de sus caras.

MADRID, 18 JUN. 1973

P.A. M. CURELL SUÑOL

Curell