



Int. Cl.: C07C 11/16

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

por "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE FLUORHIDRATO, CLORHIDRATO O BROMHIDRATO DE 2,2'-ANHIDRO-1-BETA-D-ARABINO-FURANOSIL-5-FLUOROCITOSINA", a favor de la firma suiza F.HOFFMANN-LA ROCHE & CIE. S.A., residente en BASILEA (Suiza).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

El presente invento se refiere a nuevas sales halo-
hidrato de la 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabino-furanosil-5-fluoro-
citosina (2,2'-anhidro-ara-FC) y a los procedimientos para su
preparación. Los compuestos de la presente invención
5. son útiles como agentes antileucémicos. inmunorrepresivos, o
antineoplásticos activos oral o parentéricamente o como in-
termediarios en la preparación de otras sales de adición de
ácido del compuesto de base arriba citado.

El procedimiento para la preparación de fluorhidra-
10. to, clorhidrato o bromhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-ara-



binofuranosil-5-fluorocitosina comprende hacer reaccionar 5-fluorocitidina con el reactivo de Vilsmeier-Haack que comprende N,N'-dimetilformamida y un fluoruro, cloruro o bromuro de ácido, estando presente el citado reactivo en la concentración en la proporción de unos 3 a unos 6 moles por mol de 5-fluorocitidina y luego adicionar agua o un alcohol inferior de C₁-C₇ en una cantidad que no exceda sustancialmente la cantidad necesaria para descomponer el citado reactivo de Vilsmeier-Haack, con lo cual el citado fluorhidrato, clorhidrato o bromhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina se obtiene directamente en forma cristalina de la mezcla de reacción.

Ahora se ha descubierto que es posible obtener las nuevas sales halohidrato de la 2,2'-anhidro-ara-FC en forma cristalina directamente de la mezcla de reacción por tratamiento de tal mezcla con una cantidad específica de agua o con un alcohol inferior de C₁-C₇. De esta forma se proporciona un procedimiento extremadamente eficiente y económico.

Como se ha indicado antes, las nuevas sales halohidrato son el fluorhidrato, el clorhidrato y el bromhidrato. El halohidrato preferido es el clorhidrato. El término alcohol inferior de C₁-C₇ indica que incluye alcoholes de cadena ramificada o rectilínea con 1 a 7 átomos de carbono incluyendo por ejemplo, metanol, etanol, n-propanol, i-propanol, t-butanol, n-hexanol y similares. Los alcoholes inferiores preferidos tienen de 1 a 4 átomos de carbono. El metanol representa un alcohol inferior más preferido.



La preparación de las sales halohidrato antes citadas de la 2,2'-anhidro-ara-FC del presente invento, se realiza por reacción de 5-fluoro-citidina con los reactivos de Vilsmeier-Haack. Estos reactivos se forman al combinar

5. N,N'-dimetilformamida con un haluro de ácido apropiado respectivo. Haluros de ácido apropiados incluyen, por ejemplo, el bromuro de tionilo, el fluoruro de tionilo, el cloruro de tionilo, el oxiclорuro de fósforo, el oxibromuro de fósforo y el oxifluoruro de fósforo. Los detalles de la preparación

10. de los reactivos de Vilsmeier-Haack están contenidos en el documento de Kikugawa et al. J. Org. Chem. 37, 284-288(1972).

La reacción antes citada se conduce, convenientemente, a una temperatura en el intervalo de aproximadamente -10° a, aproximadamente, 80°C, más preferentemente en el

15. intervalo de aproximadamente +10° a 40°C. Si se desea, pueden emplearse disolventes en la mezcla de reacción. Los disolventes apropiados incluyen un exceso de la N,N'-dimetilformamida, cetonas orgánicas, tal como metil-etil-cetona, nitrilos, tal como acetonitrilo, hidrocarburos halogenados, tal

20. como cloroformo, ésteres, tal como acetato de etilo y similares. Los disolventes que reaccionan con los reactivos de Vilsmeier-Haack, que incluyen agua y alcoholes, no deben utilizarse durante la reacción.

Es evidente que la selección del haluro de ácido

25. anterior determinará la naturaleza del producto halohidrato 2,2'-anhidro-ara-FC formado. Así, el uso del oxiclорuro de fósforo proporcionará por ejemplo, el clorhidrato de 2,2'-anhidro-ara-FC.



El reactivo de Vilsmeier-Haack se utiliza en una cantidad dentro del intervalo de aproximadamente 3 moles a aproximadamente 6 moles por mol de 5-fluorocitidina. El uso de esta proporción de reactivos es importante para aislar con éxito la sal halohidrato de producto a partir de la mezcla de reacción en una forma cristalina.

Tras completar la adición de los reactivos, la mezcla de reacción se deja reposar convenientemente, a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 15 a 30° C por un período desde 1 hora a 72 horas. En este momento puede observarse en la mezcla de reacción un compuesto intermedio que tiene un máximo de absorción ultravioleta de 325nm.

La adición de 20 a 100 cc de agua por peso equivalente del haluro de ácido empleado (una cantidad que es suficiente para transformar los intermediarios anteriores y descomponer el exceso de reactivo de Vilsmeier-Haack) con refrigeración para prevenir que la temperatura se eleve por encima de aproximadamente 40°C producirá la cristalización del halohidrato de 2,2'-anhidro-ara-FC. Similarmente, la cristalización del producto deseado puede inducirse por adición de 60 a 500 cc de un alcohol inferior de C₁-C₇ por peso equivalente de haluro de ácido a la mezcla de reacción.

Los halohidratos de 2,2'-anhidro-ara-FC producidos anteriormente pueden ser fácilmente convertibles en el formato correspondiente y otras sales de adición de ácido aceptables farmacéuticamente por procedimientos de intercambio iónico bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, el



halohidrato puede disolverse en un exceso de agua y cromatografiarse a través de una columna de resina intercambiadora de iones tal como Dowex 50 W en la forma de hidrógeno seguido por elución con ácido fórmico acuoso al 3%.

5. Los halohidratos de 2,2'-anhidro-ara-FC del presente invento son útiles terapéuticamente como agentes anti-leucémicos, inmunorrepresivos o anti-neoplásticos activos oral o parentéricamente. Los regímenes de dosificación diaria apropiadamente divididos para utilización de los compuestos de la presente invención en la forma oral se encuentran en el intervalo de aproximadamente 500 a 2000 mg. Los regímenes de administración parentérica de los compuestos de la presente invención en dosificaciones divididas diarias se encuentran en el intervalo de aproximadamente 200 a 1500 mg. Se comprenderá evidentemente que la selección definitiva de los regímenes de dosificación convenientes serán determinados por el administrador de los medicamentos basándose en la identidad y la condición del sujeto y el requerimiento del tratamiento.
20. Los halohidratos de 2,2'-anhidro-ara-FC del presente invento pueden utilizarse en la forma de preparaciones farmacéuticas convencionales; por ejemplo, los compuestos antes citados pueden mezclarse con vehículos farmacéuticos inertes, convencionales, orgánicos o inorgánicos, apropiados para la administración parentética o entérica. Pueden administrarse en formas convencionales farmacéuticas, por ejemplo, tabletas, cápsulas, soluciones, suspensiones o emulsiones. Además, las composiciones farmacéuticas que
- 25.



contienen los compuestos de esta invención pueden someterse a expedientes convencionales farmacéuticos, tal como esterilización, y pueden contener excipientes farmacéuticos convencionales, tal como conservadores, agentes estabilizantes, 5. agentes humectantes, agentes emulsionantes, sales para el ajuste de la presión osmótica o amortiguadores. Las composiciones pueden asimismo contener otros materiales activos terapéuticamente.

La actividad quimioterapéutica de la 2,2'-anhidro-
10. -ara-FC como la sal formato se ha demostrado por su habilidad para prolongar el tiempo de supervivencia de los ratones con leucemia trasplantada utilizando la técnica de Burchenal et al., Cancer 2: 113-118 (1949). En tales pruebas, dosificaciones diarias de 200-300 mg/kg de 2,2'-anhidro-ara-FC ocasionan prolongación significativa del tiempo de superviven-
15. cia en ratones inoculados con L1210 leucémica así como también con su variante L1210/6-MP resistente a la mercaptopurina. En dosis diarias aproximadamente comparables tóxicamente, la 2,2'-anhidro-ara-FC fué más activa que ara-C, ara-
20. FC, anhidro-ara-C, o ara-FU. Adicionalmente, la 2,2'-anhidro-ara-FC es activa con una dosis única intraperitoneal u oral de 1.500 mg/kg, 24 a 48 horas después de la inoculación de las células leucémicas.

En los ejemplos siguientes, todas las temperaturas
25. se expresan en grados centígrados.

EJEMPLO 1

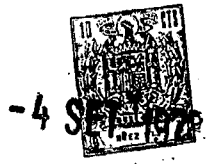
13 g de 5-fluorocitidina se disolvieron en 100 cc de dimetilformamida anhidra bajo agitación. Se adicionaron



- 100 cc de acetonitrilo y la mezcla se enfrió en agua helada. Se adicionó a gotas 50 g de oxiclорuro de fósforo en la solución agitada y enfriada por un período de aproximadamente 10 a 15 minutos a temperaturas por debajo de 40°. Cuando cesó la elevación de la temperatura se eliminó el baño de agua helada y la mezcla se dejó reposar por 6 horas a 20-30°. Luego se enfrió de nuevo y se adicionaron a gotas 25 cc de agua en la solución bajo agitación por debajo de 40°. Cuando la temperatura no se elevó por más tiempo, se dejó reposar por 24 horas a 20-30°, y la cristalización gruesa, que se presentó, se filtró por succión, se lavó con 100 cc de acetona y subsiguientemente con 50 cc de metanol y 20 cc de éter. El rendimiento fué de 8 g (58%) de clorhidrato de 2,2-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina. El producto recristalizó en 40 cc de agua. El producto carboniza por encima de 210° y no tiene punto de fusión preciso.
- $[\alpha]_D^{25} = -35,33, 1\%$ en HCl 0,1n. U.V.: dos máximos a 231 y 258, hombros a 246 nm.

- El material de partida puede prepararse como sigue :

- 117 g de 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil-D-ribosa se disolvieron en 800 cc de cloruro de metileno y 50 cc de éter absoluto. Se condujo dentro de la mezcla gas clorhídrico bajo enfriamiento con mezcla congelante y exclusión de humedad de -5 a +5° por dos horas. Se siguió el progreso de la reacción por cromatografía de capa delgada. La solución se evaporó en vacío a partir de un baño de agua caliente. El jarabe restante se disolvió en 100 cc de toluene.



no y el tolueno se evaporó en vacío. Se repitió el procedimiento con 100 cc de tolueno hasta que el residuo quedó substancialmente exento de ácido.

- Entretanto se cargó un matraz de tres cuellos y 5
5. Litros de capacidad, equipado con una camisa de calefacción, agitador mecánico y condensador descendente, con 4 litros de acetonitrilo, 28 g de fluorocitosina, y 112 g de cianuro mercurio y se calentó en una campana bajo agitación mientras se separaban por destilación 750-1000 cc del disolvente en
 10. un período de 2 a 3 horas. El cloruro de 2,3,5-tri-O-benzpirl-D-ribofuranosilo que entretanto quedó listo para ser utilizado, se disolvió en 200 cc de acetonitrilo y se adicionó a la solución caliente agitada por un período de 10 a 20 minutos. Resultó una solución límpida casi inmediatamente y la
 15. mezcla se dejó enfriar por la noche. A la mañana siguiente se separaron por destilación aproximadamente 2 litros del disolvente bajo agitación y el residuo se evaporó en vacío con un baño de agua para formar una masa semicristalina. Se diluyó con 800 cc de cloruro de metileno, se filtró del material no disuelto (aparentemente un complejo de cloruro mercurio-cianuro mercurio) y se lavó con 200 cc de cloruro de metileno. El filtrado se agitó con un litro de una solución acuosa al 15% de yoduro de potasio por 15 a 30 minutos y se filtró de nuevo con objeto de alcanzar una separación
 20. clara de las fases. Se separó la fase de cloruro de metileno, y se lavó primero con 200 cc de una solución acuosa al 15% de yoduro de potasio luego con 100 cc del mismo y finalmente con 500 cc de agua. Se secó sobre 50 g de sulfato de
 - 25.



- magnesio anhidro. La solución filtrada se instiló bajo agitación en 2 litros de tolueno caliente mientras que el cloruro de metileno se dejó destilar junto con algo del tolueno que se reemplazó por tolueno fresco. El producto precipitó gradualmente primero en forma gelatinosa, volviéndose luego cristalino (si es necesario bajo sembrado). Tras dejar enfriar, se filtró y se lavó sobre el filtro con 100 cc de etanol seguido por 100 cc de éter. Se secó a 90-100° a peso constante y el rendimiento fué de 76,9 g (58,5%) de O-tribenzoil-5-fluoreciticidina, punto de fusión = 202-204°.
5. 150 g de producto así obtenido se suspendieron en 1500 cc de metanol bajo agitación y se adicionaron 25 cc de una solución de metilato de bario de 1 a 1,5 normal. El sólido se llevó a solución por un período de 1/2 a 1 hora y la solución se dejó reposar por la noche. El metilato de bario se neutralizó exactamente con ácido sulfúrico 1N en una cantidad que corresponde exactamente a una titulación paralela de 25 cc de la solución de metilato de bario utilizada. La mezcla se evaporó en vacío, el residuo se liberó del benzoato de metilo por lavado repetido con cantidades pequeñas de acetato de etilo, y luego se disolvió en 300 a 500 cc de agua. Se filtró por succión del sulfato de bario finamente suspendido sobre una capa de cellite y carbón vegetal, y el filtrado se evaporó para constituir un jarabe que cristaliza mediante dilución con 2-propanol. Rendimiento: 56,5 g (82%), punto de fusión 193-195° de la 5-fluoreciticidina.
10. 15. 20. 25.

EJEMPLO 2

Un total de 5 g de clorhidrato de 2,2'-anhidro-



- 1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina se disolvió en 300 cc de agua y la solución se ajustó con piridina a un pH de 6. La solución se cromatografió luego sobre una columna Dowex 50 W (forma de hidrógeno), se lavó con 200 cc de agua destilada y el producto absorbido se eluyó con 500 cc de ácido fórmico acuoso al 3%. El eluato se ajustó con piridina a un pH de 3. Tras eliminación en vacío de los disolventes, el residuo recristalizó en metanol-éter para proporcionar formato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina idéntico en características físicas con el material preparado por Fox et al.

EJEMPLO 3

- Una solución de 13 g de 5-fluorocitidina en 100 cc de N,N'-dimetilformamida se enfrió a 0° y se instilaron 30 cc de oxicloriguro de fósforo en la solución a una temperatura mantenida por debajo de 40°. Tras reposo por 2 horas se adicionó un total de 40 cc de metanol con enfriamiento ocasionando una fuerte evolución de cloriguro de metilo y una elevación en temperatura hasta 50° precisando enfriamiento adicional. Tras dejar enfriar la solución, el producto, el clorigrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina cristalizó y se filtró después de 3 a 5 horas. El rendimiento total fué de 4 g. U.V.: dos máximos a 226 y 268 nm y un hombro a 244nm.

EJEMPLO 4

	<u>Formulación para pastillas</u>	<u>Por pastilla</u>
25.	Clorigrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina	100 mg



	<u>Formulación para pastillas</u>	<u>Por pastilla</u>
	clorhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-	
	arabinofuranosil-5-fluorocitosina	500 mg
	Almidon de maiz	30 mg
5.	Lactosa	88 mg
	Gelatina	12 mg
	Talco	15 mg
	Estearato de magnesio	<u>5 mg</u>
	Peso total	650 mg

10. Procedimiento :

1. Se mezclaron a fondo en un equipo mezclador apropiado clorhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina y lactosa y se granuló con una solución de gelatina al 10%.
15. 2. La masa húmeda se pasó a través de un tamiz número 12, y los gránulos se secaron por la noche sobre bandejas revestidas de papel.
3. Los gránulos secos se pasaron a través de un tamiz número 14 y se situaron en un mezclador apropiado. Se
20. 4. adicionaron el talco y el estearato de magnesio y se mezcló.
25. 4. La granulación se comprimió en pastillas con un peso apropiado de 650 mg cada una, utilizando punzones con un diámetro aproximado de 12,7 mm (1/2"). El grosor final de la pastilla fué de 5,1 mm aproximadamente.

EJEMPLO 6

Formulación para pastillas

Por pastilla



	Clorhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabino-	
	furanosil-5-fluorocitosina	250 mg
	Dihidrato de fosfato dicálcico, sin moler	235 mg
	Almidón de maíz	70 mg
5.	FD&C Yellow número 5- laca de aluminio al	
	25 %	2 mg
	Durkee 117	25 mg
	Estearato de calcio	<u>3 mg</u>
	Peso total	585 mg

10. Procedimiento :

1. Todos los ingredientes se mezclaron a fondo y se sometieron a una máquina Fitz(modelo D) velocidad media, utilizando un tamiz número 1A.
2. La mezcla se remezcló y se trocó.
15. 3. Los trociscos se tamizaron sobre un oscilador a través de un tamiz de mallas número 14 y se comprimió sobre una máquina "E".

EJEMPLO 7

Formulación de cápsula

20.		<u>Por cápsula</u>
	Clorhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabino-	
	furanosil-5-fluorocitosina	250 mg
	Lactosa	60 mg
	Almidón de maíz	35 mg
25.	Estearato de magnesio	<u>5 mg</u>
	Peso total	350 mg

Procedimiento :

1. Todos los ingredientes se mezclaron hasta una mezcla homogénea en un contenedor de medida apropiada.



- 2. Cápsulas de gelatina de cáscara dura, de 2 piezas, nº 2, se llenaron con el polvo hasta un peso de relleno aproximado a 350 mg utilizando una máquina encapsuladora Parke Davis. (Puede utilizarse cualquier tipo de máquina similar).
- 5.

EJEMPLO 8

Formulación parentérica

	Por cc.
Cada ampolla de 1 cc contiene :	
10. Clorhidrato de 2,2 ^l -anhidro-1-beta-D-arabi - nofuranosil-5-fluorocitosina	25 mg
Metilparaben, farmacoepa estadounidense	1,8 mg
Propilparaben, farmacoepa estadounidense	0,2 mg
Acido clorhídrico cantidad suficiente pH	4,5
15. Agua para inyección cantidad suficiente para	1 cc

Procedimiento (para 10.000 cc)

- 1. En un recipiente de vidrio claro o revestido de vidrio, se calentaron a 90° C 8.000 cc de agua para inyección. Luego se enfrió a 50-60°C, y se adicionaron 18 gramos
- 20. de metilparaben y 2 gramos de propilparaben y se disolvió con agitación. Luego se dejó enfriar la solución a la temperatura ambiente.
- 2. Los 250 gramos del clorhidrato de 2,2^l-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina se adicionaron
- 25. bajo una atmósfera de nitrógeno y se agitó hasta que se disolvió completamente.
- 3. El ácido clorhídrico se adicionó como una solución 1N hasta que el pH se ajustó a 4,5 más o menos 0,2.



4. Luego se adicionó suficiente agua para inyección con el fin de obtener un volumen total de 10.000 cc.
5. Luego se filtró esta solución a través de una candela 02 Selas, llena con ampollas de medida apropiada, gaseadas con nitrógeno y selladas. Se trató en una autoclave durante 30 minutos a 10 libras por pulgada cuadrada.

REIVINDICACIONES

- Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones con prioridad de la solicitud de patente estadounidense serial nº 286.491 del 5 de septiembre de 1972.

1. Un procedimiento para la preparación de fluorhidrato, clorhidrato o bromhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina, cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar 5-fluorocitidina con el reactivo de Vilsmeier-Haack que comprende N,N'-dimetilformamida y un fluoruro, cloruro o bromuro de ácido, estando presente el citado reactivo en la concentración en la proporción de unos 3 a unos 6 moles por mol de 5-fluorocitidina y luego adicionar agua o un alcohol inferior de C₁-C₇ en una cantidad que no exceda substancialmente la cantidad necesaria para descomponer el citado reactivo de Vilsmeier-Haack, con lo cual el citado fluorhidrato, clorhidrato, o bromhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina se obtiene directamente en forma cristalina de la mezcla de reacción.

2. Un procedimiento de conformidad con la rei-



vindicación 1, en el que la citada reacción se conduce a una temperatura comprendida entre unos 10° y unos 80° C.

3.- Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1 o 2, en el que la mezcla reaccional se deja reposar a una temperatura comprendida entre unos 15 y 30° C por un período de 1 a 72 horas antes de la adición de la citada agua o alcohol inferior de C₁-C₇.

4.- Un procedimiento, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el reactivo de Vilsmeier-Haack se obtiene a partir de oxicloriguro de fósforo y se obtiene la N,N'-dimetilformamida y el clorhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D-arabinofuranosil-5-fluorocitosina.

5.- Un procedimiento, de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que se utiliza de 20 a 100 cc de agua por equivalente de fluoruro, cloruro o bromuro de ácido.

6.- Procedimiento para la preparación de fluorhidrato, clorhidrato o bromhidrato de 2,2'-anhidro-1-beta-D arabinofuranosil-5-fluorocitosina.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 17 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 4 de Septiembre de 1973

p.a.

JAIME ISERN
p. p.

Firmado: JOSE F. NIETO