440135

C07D//A61K

MEMORIA DESCRIPTIVA

DE

PATENTE DE INVENCION

EN

ESPAÑA

por veinte años

a favor de Funai Pharmaceutical Industries, Ltd.

con domicilio en of nº 40, Tsurigane-cho 2-chome, Higashi-ku Osaka-shi, Osaka-fu, Japan

de nacionalidad Japonesa

por "PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR S-INOSILCISTEINA".

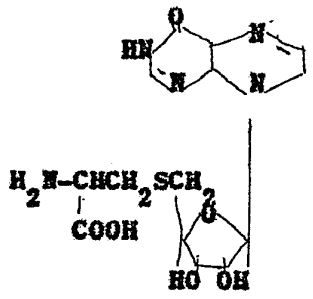
de la que es inventor, Eiichi Sakakibara, Iwao Hashimoto, Mitsuru Hirohashi

Reivindicandose prioridad de la Patente depositada en Japon con fecha 22 de Agosto de 1974 nº 49-95527

POOR QUALITY

La presente invención se refiere a un nuevo derivado de inosina y al procedimiento para producirla.

Los actuales inventores han sintetizado una amplia variedad de derivados de inosina y examinado sus efectos farmacológicos. Se ha comprobado, ahora, que la S-inosilcisteina (5'-S-(2 -amino-2-carboxietil)-5'- tioinosina; representada por la fórmula (III) siguiente, exhibe una notable actividad proliferadora de células y es muy útil en el tratamiento de lesiones de tejidos, úlceras y similares.



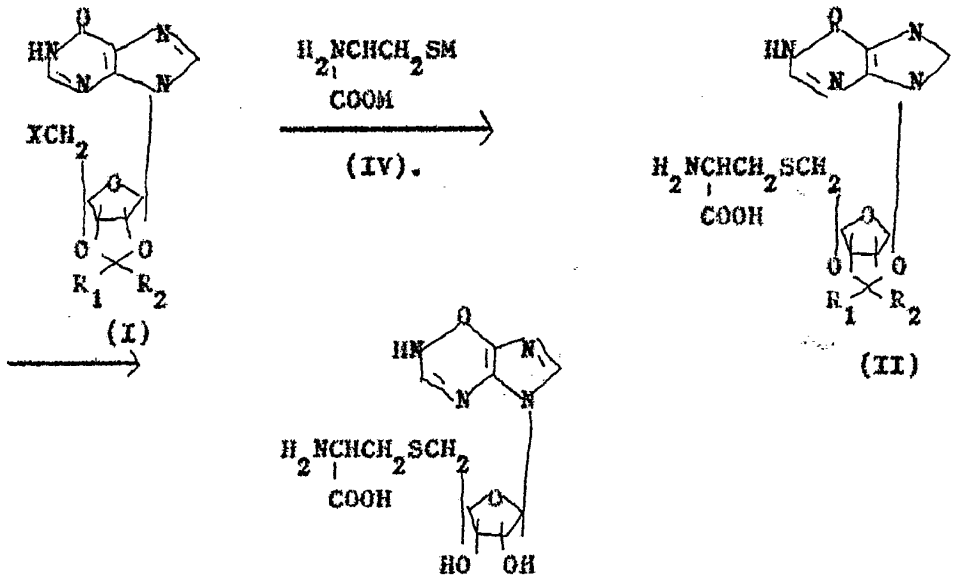
(III)

Por lo tanto, el principal objetivo de la presente invención es proporcionar una nueva S-inosilcisteina que es útil en el tratamiento de lesiones de tejidos, úlceras y similares.

Otro objetivo de la invención es proporcionar un procedimiento con el fin de producir S-inosilcisteina.

De acuerdo con la presente invención, la S-inosilcisteina de la fórmula (III) se prepara haciendo reaccionar 2',3'-O-derivados de inosina protegidos de la fórmula (I) con sales metalicas alcalinas de cisteina de la fórmula (IV) para producir S-(2',3'-O- inosil protegido) cisteina de la fórmula (II) y retirando, despues, el grupo de pro-

tección, de acuerdo con la siguiente esquema:



En donde R_1 y R_2 representan un átomo de hidrógeno, un grupo alkilo o arilo inferior, exceptuando que R_1 y R_2 son átomos de hidrógeno; M representa un metal alcalino; y X representa un átomo de halógeno o el grupo de Y-O-(Y representa un grupo arilsulfonilo o un grupo alkilsulfonilo inferior).

Los grupos protectores de los grupos de 2- y 3- hidroxi del compuesto representado por la fórmula (I) a utilizar como material de partida de acuerdo con la presente invención, incluyen un grupo isopropilideno en el que R_1 y R_2 son grupos metilos y otros grupos alkilideno, arilideno que pueden retirarse fácilmente en condiciones poco rigurosas.

El procedimiento para producir S-(2',3-O inosil protegida) cisteína de la fórmula (II) de 2',3-O derivados de inosina protegida de la fórmula (I) y sales metálicas alca-

lineas de cisteina de la fórmula (IV) es, sistancialmente, como sigue:

En caso de que X del compuesto de la formula (I) sea el grupo Y-O-, del compuesto de la fórmula (I) - se hace reaccionar con las sales de cisteina en amoniaco líquido o, alternativamente, con cistina en un disolvente de alcohol en presencia de alcholato metalico alcalino para producir el compuesto de la fórmula (II). Ejemplos de este solvente de alcohol son el metanol, el etanol, el isopropanol y el t-butanol. - Las sales de cisteina puede producirse haciendo reaccionar sistina o S-boncil-cisteina con metales alcalinos en amoniaco líquido.

En caso de que X del compuesto de la fórmula (I) repre sente un átomo de halogeno, el compuesto de la formula (I) se hace reaccionar con cisteina en un solvente de alcohol en presencia de alcoholato metalico alcalino, para producir el compuesto de la fórmula (II).

La reacción en solventes de alkohol se lleva a efecto preferentemente a la temperatura ambiente a la temporatura de reflujo, y la reacción en amoniaco líquido se lleva a cabo generalmente en condiciones frias, preferentemente a una temperatura de 80º a -30º C.

La eliminación de los grupos protectores del compuesto de la fórmula (II) asi obtenido puede efectuarse facilmente por cualquier procedimiento conocido, por ejemplo: Hidrolizaandolos con ácidos organicos tales como acido formico dilnido o con acidos minerales tales como el acido hidroclorico diluido o el acido sulfurido diluido.

La S-inosilcisteina de la presente invención posee exce

lentes actividades proliferadoras de células y antiulcerosas. Estos efectos se ilustran más abajo, en comparación con los de los compuestos afines conocidos.

(A) Actividad proliferadora de células.

(a) Efecto de la S-inosilcisteina sobre la proliferación de las células del corazón de un embrión de pollo.

Experimento 1.

Procedimiento: Los corazones extirpados de embriones de pollo de 13 dias de existencia se cortaron en trozos de 1 a 2 mm. de diámetro en condiciones esterilizadas. Despues de lavarlos con sal purgante tamponada con fosfato libre de calcio y libre de magnesio (PBS), los trozos de los corazones se sometieron a tratamiento con una solución de tripsina al 0,1% en PBS liberada de iones de calcio y de magnesio, y se desechó la fracción sobrenadante. El residuo fué tratado con una solución de tripsina al 0,1% en PBS liberada de iones de calcio y de magnesio, y las fracciones sobrenadantes conteniendo células aisladas fueron recogidas. El procedimiento se repitió tres veces. Las fracciones sobrenadantes se combinaron y diluyeron con un medio frío de cultivo (F12) que contenia un 10% de suero de ternero fetal, penicilina G sódica (100 unidades por ml) y estreptomicina sulfatada (1 µg por ml) y se centrifugaron a 150X G. El comprimido resultante se lavó dos veces con el medio de cultivo y se diluyó con precaución con el mismo medio de cultivo para proporcionar una suspensión que contenia 200.000 células por ml. Y se vertió 1 ml. de la suspensión en cada uno de los 28 tubos de cultivo que se dividieron igualmente en 7 grupos. Las células se cultivaron a 37ºC de temperatura en una incubadora. Después de un dia de incubación, se retiró el medio de cul-

tivo de los tubos y se añadió a él 1 ml. de cada medio de cultivo conteniendo el compuesto que se muestra en la tabla I. Despues de tres dias más de incubación, se retiró el medio de cultivo y las células se trataron entonces con 1 ml. de ácido cítrico 0.1 M conteniendo 0,1% de violeta cristalina. Se contó el número de células con un hemocitómetro por cuadruplicado después de vigorosa agitación.

†Ham, R. G., Proc. Nat. Acad. Sci., 53, 288 (1965).

Resultado: Los resultados se muestran en la tabla I.

TABLA I.

Compuesto probado (50 µg/ml)	Número de células ± S.E. (X104 células)	Porcentaje de desarrollo (%)
Control	50.9 ± 4.1	100.0
(1) S-inosil-L-cisteína	65.4 ± 1.6	128.5
(2) inosina	54.1 ± 1.0	106.3
(3) adenosina	44.1 ± 5.6	86.6
(4) L-cisteína	50.5 ± 1.3	99.2
(5) inosina+L-cisteína	57.8 ± 1.8	113.6
(6) adenosina+L-cisteína	49.8 ± 0.2	97.8

Experimento 2.

Procedimiento: Se utilizó el procedimiento de cultivo para las células de corazones de embriones de pollos descrito en el Experimento 1. Después de 3 dias de incubación, se retiró el medio de cultivo y se le añadió 1 ml. de cada medio de cultivo conteniendo los compuestos mostrados en la Tabla II. Después de un dia más incubación, se contó el numero de células.

Resultado: Los resultados se muestra en la tabla II.

TABLA II.

Compuesto probado (20 µg/ml)	Numero de células ± S.E. (X 104 células)	Porcentaje de desarrollo (%)
Control	81.6 ± 2.0	100.0
(1) S-inosil-L-cisteína	97.8 ± 3.8	119.9
(7) S-inosil-L-homocisteina	78.2 ± 7.5	95.8
(8) S-adenosil-L-cisteína	74.8 ± 4.7	91.7
(9) S-adenosil-L-homocisteina	71.5 ± 3.4	87.6
(10)S-guanosil-L-homocisteina	69.2 ± 1.8	84.8

(b) Efecto de la S-inosilcisteína en la proliferación de las células de corazones de embriones de pollos en presencia de un inhibidor de desarrollo.

Experimento 3.

Procedimiento: Se utilizó el procedimiento de cultivo para las células de corazones de embriones de pollos descrito en el Experimento 1. Después de un dia de incubación, se retiró el medio de cultivo y se le añadió 1 ml. de cada medio de cultivo conteniendo KCN (1.7 µg por ml) y los compuestos indicados en la tabla III.

Resultado: Los resultados se muestran en la tabla III.

TABLA III.

Compuesto probado (50 µg/ml)	Número de células ± S.E. (X104 células)	Porcentaje de desarrollo. (%)	Porcentaje de desarrollo (%) con respecto al control de la tabla I +
Control	32.0 ± 5.0	100.0	62.9
(1) S-inosil-L-cisteina	50.9 ± 1.5	159.1	100.0
(2) inosina	37.2 ± 4.4	116.3	73.1
(3) adenosina	33.3 ± 1.9	104.1	65.4
(4) L-cisteina	41.9 ± 6.3	130.9	82.3
(5) inosina + L-cisteina	42.3 ± 3.7	132.2	83.1
(6) adenosina + L-cisteina	36.0 ± 4.0	112.5	70.7

† Este experimento y el nº 1 se llevaron a cabo simultáneamente.

Experimento 4.

Procedimiento: Igual que el del Experimento 2, excepto que se añadío KCN (1.7 µg por ml.) a cada medio de cultivo.

Resultado: Los resultados se muestra en la tabla IV.

TABLA IV.

Compuesto probado (20 µg/ml)	Número de células ± S.E. (X104 Células)	Porcentaje de desarrollo (%)	Porcentaje de desarrollo (%) con respecto al control de la tabla II +
Control	32.0 ± 5.0	100.0	62.9
(1) S-inosil-L-cisteina	50.9 ± 1.5	159.1	100.0
(2) inosina	37.2 ± 4.4	116.3	73.1
(3) adenosina	33.3 ± 1.9	104.1	65.4
(4) L-cisteína	41.9 ± 6.3	130.9	82.3
(5) inosina + L-cisteina	42.3 ± 3.7	132.2	83.1
(6) adenosina + L-cisteína	36.0 ± 4.0	112.5	70.7

+ Este experimento y el nº 1 se llevaron a cabo simultaneamente.

Experimento 4.

Procedimiento: Igual que el del Experimento 2, excepto que se añadió KCN (1.7 µg por ml.) a cada medio de cultivo.

Resultado: Los resultados se muestran en la tabla IV.

TABLA IV.

Compuesto probado (20 µg/ml)	Número de células ± S.E. (X104 células)	Porcentaje de desarrollo (%)	Porcentaje de desarrollo (%) con respecto al control de la tabla II+
Control	65.8 ± 0.8	100.0	80.6
(1) S-inosil-L-cisteína	85.6 ± 0.4	130.1	104.9
(7) S-inosil-L-homocisteína	73.5 ± 1.7	117.1	90.1
(8) S-adenosil-L-cisteína	64.2 ± 3.0	97.6	78.7
(9) S-adenosil-L-homocisteína	65.2 ± 1.8	99.1	79.9
(10)S-guanosil-L-homocisteina	66.3 ± 1.4	100.8	81.3

+ Este experimento y el nº 2 se llevaron a cabo simultaneamente.

Experimento 5.

Procedimiento: Igual que el del Experimento 2, excepto que se añadió 6-mercaptopurina (5µg por ml.) a cada medio de cultivo.

Resultados: Los resultados se muestran en la tabla V.

TABLA V.

Compuesto probado (20 µg/ml)	Número de células ± S.E. (X10⁴ células)	Porcentaje de desarrollo (%)	Porcentaje de desarrollo (%) con respecto al control de la tabla II+
Control	68.3 ± 0.4	100.0	83.7
(1) S-inosil-L-cisteína	85.8 ± 2.9	125.6	105.1
(7) S-inosil-L-homocisteína	65.3 ± 3.7	95.6	80 .0
(8) S-adenosil-L-cisteína	70.7 ± 1.2	103.5	86.6
(9) S-adenosil-L-homocisteína	75.7 ± 1.6	110.8	92.8
(10) S-guanosil-L-homocisteína	72.3 ± 5.5	105.9	88.6

+ Este experimento y el nº 2 se llevaron a cabo simultáneamente.

Como puede verse en las tablas I a V, la capacidad de aceleración de la proliferación de células causada por la S-inosilcisteína de la presente invención es superior a las de los compuestos afines conocidos (2) a (10).

(8) Actividad antiulcerosa.

(a) Efecto de la S-inosilcisteína sobre la úlcera de la ligación del píloro.

Experimento 6.

Procedimiento: Ratas machos Wister (kearl Gifu-Lab.), de 7 semanas, fueron los animales utilizados. Después de ayunar durante 48 horas, se dividieron las ratas que pesaban de 210 a 230 gramos en 6 grupos de 6 animales. El píloro del estómago fué ligado bajo anestesia ligera con sodio

pentobarbital (25 mg por kg., i.p.). Inmediatamente después de la ligación, se administró oralmente una sal purgante fisiológica a un grupo y se administró oralmente una solución de cada compuesto probado)50 mg. por kilo) a los 5 grupos restantes. Después de que estas ratas se dejaron sin dieta y agua durante 10 horas desde la ligación, el estómago fué retirado bajo los efectos de la anestesia con sodio pentobarbital (30 mg. por kilo, i.p.). Se aspiró el contenido gástrico y se fijó el estómago por medio de una inyección de 10 ml. de una solución de formalina al 2% en el lúmen. El estómago se abrió a lo largo de su mayor curatura. La gravedad de la lesión del rumen, esto, es, el grado de úlcera, se expresó como índice ulceroso de acuerdo con el procedimiento de Yokotani (Folia pharmacol. Japón, 56, 1373 (1960).

Resultado: Los resultados se muestran en la tabla VI.

TABLA VI.

Compuesto probado (50 mg/kg., p.o.)	índice medio de úlcera ± S.E.	Porcentaje de inhibición (%) +
Control (purgante salino fisiológico)	13.9 ± 0.5	---
(1) S-inosil-L-cisteína	8 .1 ± 1.1	42
(7) S-inosil-L-homocisteína	12.3 ± 1.1	12
(8) S-adenosil-L-cisteína	12.1 ± 1.2	13
(9)S-adenosil-L-homocisteina	11.3 ± 0.7	19
(10)S-guanosil-L-homocisteina	15.0 ± 1.8	8

+ El porcentaje de inhibición se calculó como sigue:

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \frac{\text{Indice de úlcera (control) - Indice de úlcera (compuesto probado)}}{\text{Indice de úlcera (control)}} \times 100$$

Experimento 7.

Procedimiento: El mismo que se describe en el nº 6. El efecto de la S-inosil-L-cisteína sobre la úlcera péctica fué examinado bajo administración intramuscular.

Resultado: Los resultados se muestran en la tabla VII.

Tabla VII

Compuesto probado (50 mg/kg., i.m.	Indice medio de úlcera ± S.E.	Porcentaje de inhibición (%) +
Control (purgante salino fisiológico)	12.5 ± 2.6	---
(1) S-inosil-L-cisteína	5.1 ± 1.6	59

+ El porcentaje de inhibición se calculó como sigue:

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \frac{\text{Indice ulceroso (control) - indice ulceroso (compuesto probado)}}{\text{Indce ulceroso (control)}} \times 100.$$

(b) Efecto de la S-inosilcisteína en la secreción gástrica.

Experimentos:

Procedimiento: Las ratas se ligaron de la misma manera que el Experimento 6 y se dividieron en 2 grupos de 10 animales. Inmediatamente después, de la ligación, se les administró oralmente un purgante salino fisiológico o una solución de S-inosil-L-cisteína. Después, las ratas se dejaron sin dieta ni agua durante 5 horas desde la ligación, el esófago fué ligado y se retiró el estómago bajo las anestesia de sodio de pentobarbital (30 mg. por kg., i.p.). Se recogió el contenido gástrico y se centrifugó a 2.000 rpm duran-

te 10 minutos. Fué medido el volumen de sobrenadante y se determinó su pH con un medidor de pH (hitach-Horiba, tipo M-5). Se determinaron el HCl libre, el HCl total y la acidez total del sobrenadante mediante valoración con 1/50 N-NaoH, utilizando una solución de Töpfer y una solución de fenolftaleína como indicador.

Resultado: Los e resultados se muestran en la tabla VIII.

TABLA VIII

Compuesto probado (50 mg/kg, p.o.)	Volumen (ml ± S.E.)	% de Inhibición.+	pH	HCl libre mEg/l ± S.E.	% de Inhibición+	HCl total mEg/l ± S.E.	Porcentaje de inhibición (%)	Acidez total mEg/l ± S.E.	Porcentaje de inhibición (%)
Control	8.6 ± 0.5	---	1.38±0.03	67.0±4.2	---	95.6 ± 4.2	---	106.0 ± 3.6	---
(1) S-inosil-L-cisteina	5.3 ± 0.5	38	1.50±0.06	42.8±6.0	36	73.8 ± 6.4	23	83.2 ± 6.2	22

TABLA VIII

Compuesto probado (50 mg/kg, p.o.)	Volumen (ml ± S.E.)	% de Inhibición.+	pH	HCl libre mEg/l ± S.E.	% de Inhibición+	mEg/l ± S
Control	8.6 ± 0.5	---	1.38±0.03	67.0±4.2	---	95.6 ± 4
(1) S-inosil-L-cisteina	5.3 ± 0.5	38	1.50±0.06	42.8±6.0	36	73.8 ± 6.

HCl total		Acidez total	
mEg/1 ± S.E.	Porcentaje de inhibición (%)	mEg/1 ± S.E.	Porcentaje de inhibición (%)
95.6 ± 4.2	---	106.0 ± 3.6	---
73.8 ± 6.4	23	83.2 ± 6.2	22

+ El porcentaje de inhibición se calculó como sigue:

$$\text{Porcentaje de Inhibición (\%)} = \frac{\text{Valor de control - Valor del compuesto probado}}{\text{Valor de control}} \times 100$$

Como puede verse en las Tablas VI a VIII, la capacidad antiulcerosa producida por la S-inosilcisteína de la presente invención es superior a las de los compuestos afines conocidos (7) a (10).

A continuación se describirá la invención con referencia a los siguientes ejemplos, los cuales se dan tan sólo a fines ilustrativos, pero no en sentido limitado.

EJEMPLO 1.

S-(2', 3'-O-isopropilideneinosil)-L-cisteína:

Procedimiento A: En un recipiente equipado con un tubo secador envuelto en cal sódica, se colocó hidróxido sódico, que se había enfriado con anhidrido carbónico sólido-acetona, en aproximadamente 1 lt. de amoníaco líquido, a lo cual se agregaron 6,6 g. de L-cistina. A la mezcla así obtenida se le añadió sodio metálico en tal cantidad que la solución se tornó azul pálida. Después, se añadió una pequeña cantidad de L-cistina pra decolorar la mezcla.

A esta solución se añadieron 21,1 g. de 2', 3'-O-isopropilideno-5'-O-(p-toluenosulfonil) inosina. Después de+ agitar dirante 4 horas, se dejó e reposar la mezcla toda la noche a la temperatura ambiente, de modo que el amoníaco se evaporara. El residuo así obtenido fué vertido en hielo-agua y la mezcla resultante se aciduló semanalmente añadiendo ácido hidroclórico concentrado. A esto se añadió etanol para separar los cristales, que fueron recogidos por filtración. La recristalización del agua permite 16,6 g. del pro-

ducto deseado con una temperatura de fusión de 195º C a 198º C (descomposición). Este producto volvió a recristalizarse para que diera cristales blancos con una temperatura de fusión de 205º C a 208ºº C (descomposición).

Análisis elemental: como $C_{16}H_{21}N_5O_6S \cdot H_2O$

Calculado (%): C, 44,75 ; H, 5,40 ; N, 16,31

Hallado (%) % C, 44,61 ; H, 5,32 ; N, 15,97

Procedimiento B: Se disolvieron 176 mg. de hidrocloruro de L-cisteína y 100 mg. de sodio metálico en 20 ml. de etanol y a la solución resultante se añadieron 463 mg. de 2', 3'-O-isopropilideno-5'-O-(p-tolueno-sulfonil) inosina. La mezcla así obtenida se sometió a reflujo durante 5 horas. Despues de enfriarse, se recogieron los cristales mediante filtración, los cuales se disolvieron en 3 ml. de ácido acético. A esta solución se añadió etanol para separar los cristales, los cuales se recogieron por filtración. Esta fué crometografiada sobre una gela de silice y se obtuvieron 82 mg. del producto deseado, con una temperatura de fusión de 193º C a 197º C (descomposición). La cromatografía sobre papel del producto fué idética a la de la muestra obtenida por el procedimiento A.

Procedimiento C: Se disolvieron 180 mg. de hidrocloruro de L-cisteína y 100 mg. de sodio metálico en 20 ml. de etanol y a la solución resultante se le añadierón 270 mg. de 5'-cloro-5'-deoxi-2', 3'-O-isopropilideneinosina. La mezcla asi obtenida fué sometida a reflujo durante 5 horas. Despues de envfriarse, a la mezcla de reacción se le añadieron 3 m. de ácido acético y el solvente fué evaporado bajo presión reducida para proporcionar el residuo. A éste se le añadió etanol caliente y los precipitados se recogieron por

filtración. Esta sustancia fué cromatografiada sobre una gela de sílice y se obtuvieron 250 mg. del producto deseado con una temperatura de fusión de 195º C a 199º C)descomposición). La cromatografía sobre papel de este compuesto era idéntica a la de la muestra obtenida por el kprocedimiento A.

Procedimiento D: En un recipiente igual al descrito en el Procedimiento A, se colocaron alrededor de 200 ml. de amoniaco líquido y luego se le añadieron 210 mg. de L-cistina. A la mezcla asi obtenida se le añadió sódio metálico en tal cantidad que la solución se tornó azul pálida. Luego, se añadió una pequeña cantidad de L-cistina para descolorar la mezcla.

A esta solución se añadieron 560 mg. de 2', 3'0-isopropilideno-5'-O-metanosulfonilinosina,. El amoníaco líquido se evaporó mediante agitación durante un periodo de 6 horas. El residuo así obtenido fué vertido en hielo-agua y la solución resultante se aciduló semanalmente añadiendo ácido hidroclórico concentrado. A ello se añadió etanol para separar los cristales, que fueron recogidos por filtración. Esta fué cromatografiada sobre una gela de sílice, obteniendose 150 mg. del producto deseado con una temperatura de fusión de 198º C a 203ºC (descomposición). La cromatografia sobre papel de este compuesto fué identica a la del ejemplo obtenido por el procedimiento A.

Ejemplo 2.

S-inosil-L-cisteína:

Procedimiento A: 2,0 g. de S-(2',3'-O-isopropilidenoinosil) -L-cisteina obtenida en el Ejemplo 1 se disolvieron en 10 m. de solución de ácido fórmico al 60%. La solución resul-

tante se dejó reposar a la temperatura ambiente durante 6 dias. Después, se le añadió etanol para separar los cristales, que fueron recogidos por filtración. Este producto fué cromatografiado sobre una gela de sílice y se obtuvieron 1.4 g. de cristales con una temperatura de fusión de 227º C a 230º C (descomposición).

Análisis elemental: como $C_{18}H_{17}N_5O_6S$

Calculado (%): C, 42,04; H, 4,62; N, 18,86.

Hallado (%) : C, 42,35; H, 4,95; N, 18,41.

Procedimiento B: En un recipiente tal y como el descrito en el procedimiento A, se colocaron 200 ml. de amoniaco líquido y a la solución resultante se añadieron 1,0 g. de L-cistina. A la mezcla asi obtenida se añadió sódico metálica en tal cantidad que la solución se tornó azul pálida. Después, se añadió una pequeña cantidad de L-cistina para descolorar la mezcla.

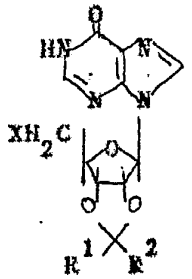
A esta solución se añadieron 3,4 g. de 2',3'-O-bencilideno-5'-O-metanosulfonilinosina. El amoniaco liquido se evaporó mediante agitación durante un periodo de 6 horas. El residuo así obtenido fué vertido en hielo-agua y la solución resultante se aciduló seguidamente, añadiéndole ácido hidroclorico concentrado. A ello se añadió etanol para separarlos cristales, los cuales fueron recogidos por filtracción. Este producto fué recristalizado de metanol-agua y se obtuvieron 0,8 g. de S-(2',3'-O-bencilidenoinosil)-L-cisteína, con una temperatura de fusión de 176º C a 179º C, que fué disuelta en 5 ml. de solución de ácido acético al 30% y la solución resultante se hizo reaccionar a 70º C durante seis horas. Despues de terminar la reacción, la solución se evaporó bajo presión reducida hasta la sequedad,

para obtener el residuo, el cual fué cromatografiado sobre una gela de sílice y se obtuvieron 05 g. de cristales con una temperatura de fusión de 221º C a 225º C (descomposición). La cromatografía sobre papel del producto fué idéntica a la de la muestra obtenida por el procedimiento A del Ejemplo 2.

N O T A:

Se reivindican como propios y nuevos, para que sean objeto de una Patente de Invención en España, por veinte años, reivindicandose prioridad de la Patente depositada en Japon con fecah 22 de Agosto de 1974 nº 49-95527, los puntos siguientes:

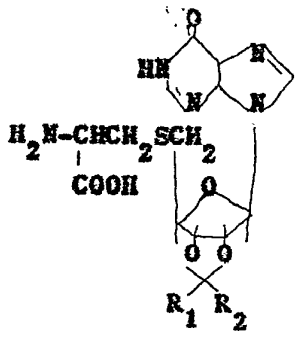
1.- Procedimiento para producir S-inosilcisteina, que comprende hacer reaccionar 2', 3'-O- derivados de inosina protegida de la fórmula (I)



(I)

donde R^1 y R^2 representan un átomo de hidrógeno, grupo arilo o alkilo inferior, excepto que R_1 y R_2 son átomos de hidrogeno, y X representa un átomo de halógeno o el grupo de Y-O- (Y representa un grupo arilsulfonil o sulfonil alkilico inferior),

con sales metálicas alcalinas de cisteína para producir S-(2', 3'--O-inosil protegida) cisteína de la fórmula (II),



(II)

donde R_1 y R_2 son según se ha definido anteriormente, y, despues, retirar dicho grupo protector.

2.- Procedimiento para producir S-inosilcisteina, de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los 2', 3'-O-derivados de inosina protegida de la fórmula (I), en que X es el grupo de Y-O-(donde Y es según se ha definido en la reivindicación 1), se hacen reaccionar con sal metálica alcalina de cisteina en amoniaco líquido para producir S-(2',3'-O-inosil protegida) cisteina.

3.- Procedimiento para producir S-inosilcisteina, de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los 2',3' - derivados de inosina protegida de la fórmula (I), en que X es el grupo de Y-O-(donde Y es según se define en la reivindicación 1), se hacen reaccionar con cisteina en solvente de alcohol en presencia de alcoholato metálico alcalino para producir S-(2',3'-O-inosil protegido) cisteina.

4.- Procedimiento para producir S-inosilcisteina, de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los derivados 2',3'-O-inosina protegida de la fórmula (I), en que X es un átomo de halogeno, se hacen reaccionar con cisteina en solvente de alcohol en presencia de alcoholato metalico alcalino para producir S-(2', 3'-inosil protegido) cisteina.

5.- Procedimiento para producir S-inosilcisteina, de acuerdo con las reivindicaciones 1, 2 o 3, en el que Y es un grupo p-toluenosulfonil o metanosulfonil.

6.- Procedimiento para producir S-inosilcisteina, de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 4, en el que el átomo de halógeno es un átomo de cloro.

7.- Procedimiento para producir S-inosilcisteina, de acuerdo con las reivindicaciones 3 o 4, en el que la reacción se lleva a cabo a la temperatura ambiente a la temperatura de reflujo.

8.- Procedimiento para producir S-inosilcisteina, de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la reacción se lleva a cabo a la temperatura de -80ºC a -30ºC.

9.- Procedimiento para producir S-inosilcisteina, de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la eliminación del grupo protector se lleva a cabo por hidrólisis con ácidos orgánicos o inorgánicos.

10.- PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR S-INOSILCISTEINA.

Todo conforme se describe en la Memoria que antecede, se ilustra como ejemplo de ejecución y se reivindica en su Nota.

Esta Memoria consta de veintidos hojas foliadas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 8 de Agosto de 1975

FUNAI PHARMACEUTICAL INDUSTRIES, LTD.

P.A.