

MINISTERIO DE INDUSTRIA  
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

9 MAR. 1978

ES

11

21

22

NUMERO	460433
FECHA DE PRESENTACION	5 de Julio de 1977

AI



ESPAÑA

**CONCEDIDA**

**PATENTE DE INVENCION**

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D//AGAK	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	--	--------------------------------------

64 TITULO DE LA INVENCION
"PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE DERIVADOS N-GLICOSILICOS DE HALO METIL-V-TRIAZOLES"

71 SOLICITANTE (S)
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
Serrano, 150 Madrid-6

72 INVENTOR (ES)
D. Ramón Madroñero Pelaez, Dña, Rosario Alonso Fernández, D. Federico Gómez de las Heras, D. Antonio Contreras Jimenez y D. Gregorio Alonso Cortiguera)

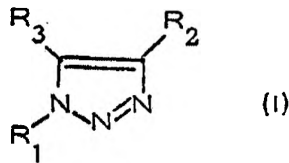
73 TITULAR (ES)
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

74 REPRESENTANTE
D. JAVIER TRUEBA GUTIERREZ



### MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de derivados N-glicosídicos de v-triazol, caracterizados por la fórmula general (I) siguiente

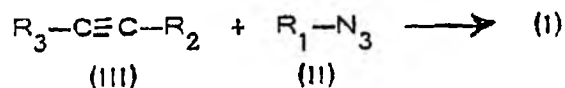


en la que el sustituyente  $R_1$  representa siempre un radical glicosídico que puede tener sus grupos hidroxilo libres o acilados total o parcialmente; y  $R_2$  y  $R_3$  representan, indistintamente, hidrógeno o un radical halometílico, con la condición de que al menos uno de ellos ha de ser un radical halometílico. El término glicosilo empleado para indicar la significación del radical  $R_1$  ha de entenderse en un sentido amplio, tanto en lo que respecta al número de átomos de carbono que pueda contener, al número de sus grupos hidroxilo libres o acilados, a la distribución de estos grupos a lo largo del esqueleto hidrocarbonado o a la presencia de otras funciones o ramificaciones en dicho esqueleto; en tal sentido, y como ejemplos representativos, pero no únicos, de estas posibilidades, pueden mencionarse los radicales glicosídicos correspondientes a las hexosas, pentosas, desoxicetosas o aminohexosas. También la expresión hidroxilo acilado ha de tomarse en un sentido amplio que incluya los grupos acilo habitualmente empleados en la química de azúcares, sobradamente conocidos por los especialistas. Por último, la expresión radical halometílico que se emplea para indicar la significación de los radicales  $R_2$  y/o  $R_3$  se refiere al grupo  $-CH_2X$ , siendo X fluor, cloro, bromo o yodo.

El procedimiento a que se refiere la presente invención se caracteriza porque un compuesto de fórmula general (II), en la que el sustituyente



yente  $R_1$  tiene la misma significación ya indicada, se hace reaccionar con un compuesto acetilénico de fórmula general (ii), en la que los sustituyentes  $R_2$  y  $R_3$  tienen la misma significación antes indicada, en el seno de un disolvente inerte adecuado, a temperatura comprendida dentro del intervalo 90-120°C, o fundiéndolos juntos para mantener luego la masa fundida dentro de este mismo intervalo de temperaturas.



Ha de entenderse que, aunque en los ejemplos que se dan para ilustrar la invención el disolvente empleado sea el tolueno, cualquier líquido orgánico inerte frente a los reactivos y frente al producto final, capaz de mantener una mezcla homogénea y una temperatura de reacción dentro del intervalo óptimo señalado, conduce a resultados igualmente satisfactorios.

Del mismo modo, aunque el método de aislamiento suponga en todos los ejemplos ilustrativos la utilización de una técnica cromatográfica, ésto no debe considerarse factor limitativo de la invención.

Los compuestos de fórmula general (i) que pueden obtenerse utilizando el procedimiento a que se refiere esta invención no aparecen descritos en la bibliografía científica previa, y ofrecen una considerable potencialidad como agentes citostáticos. Como ilustración de este aspecto, puede mencionarse que sus efectos sobre células HeLa y KB, cultivadas "in vitro" en medios adecuados, es claramente inhibitorio y que, con las diferencias lógicas que marca la naturaleza de los sustituyentes, las dosis de inhibición 50 ( $DI_{50}$ ) se encuentran muchas veces comprendidas dentro del intervalo 1-6 µg/ml. Del mismo modo, los estudios de actividad "in vivo", realizados para muchos de los compuestos que pueden obtenerse con el procedimiento de la presente invención sobre diversos sistemas tumorales, tales como "P-388" (leucemia linfocítica) o "ECA" (carcinoma ascítico de Ehrlich), conducen a valores de la relación T/C



(indicativa del porcentaje de supervivencia) del orden del 133 al 160 %.

Todo ello, como el especialista conoce, de acuerdo con la normativa del National Cancer Institute de los Estados Unidos sobre desarrollo e investigación de fármacos, universalmente aceptada, hace de estos productos y de las variaciones lógicas que el método de preparación permite excelentes candidatos a nuevos fármacos para el tratamiento y control de situaciones cancerosas.

Incluso, y aunque el objeto principal de la patente que se solicita suponga la preparación de los compuestos de fórmula (I), estos resultados de actividad sugieren también la posibilidad de acciones antiviróticas.

Por último, la amplia gama de posibles variaciones en el sustituyente glicosídico  $R_1$  que ofrece el procedimiento a que se refiere esta invención, introduce un aliciente mas, en cuanto a un aprovechamiento médico de los productos, por lo que tiene de positivo en una modulación de propiedades fisicoquímicas reguladoras de la solubilidad, absorción, penetración celular o distribución en tejidos.

Los Ejemplos siguientes, que ilustran el procedimiento a que se refiere esta invención, no deben considerarse limitativos de la misma. En todos ellos, las temperaturas se expresan en  $^{\circ}\text{C}$ .

### EJEMPLOS

#### EJEMPLO 1

4-Bromometil-1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-v-triazol  
(I,  $R_1 = 2,3,4,6$ -Tetra-O-acetil-glucopiranosil;  $R_2 = \text{CH}_2\text{Br}$ ;  $R_3 = \text{H}$ )

A una disolución de 3 g de bromuro de propargilo en 20 ml de tolueno anhidro se agregan 6,46 g de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-glucopiranosil-1-azida y la mezcla resultante se mantiene a reflujo durante 5-6 horas. Al cabo de este tiempo, se elimina el disolvente al vacío y se disuel-



ve la masa bruta de la reacción en la mínima cantidad de cloroformo. La solución obtenida se aplica sobre placas de capa fina preparativa de gel de sílice PF<sub>254</sub> (unas cuarenta). Después de unos siete desarrollos consecutivos con una mezcla de acetato de etilo/éter de petróleo (1:2) se separan tres bandas fundamentales que, observadas a la luz ultra-violeta, se trabajan de la forma usual en esta técnica.

El producto aislado de la banda central, mucho mas intensa, es el deseado. Recristalizado de metanol, funde a 152-153°C.

Análisis:

Calculado para C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Br: C 41,46 %, H 4,50 %, N 8,53 %, Br 15,9 %

Encontrado: C 41,20 %, H 4,50 %, N 8,68 %, Br 16,0 %

Actividad citostática:

1. Sobre células HeLa: DI<sub>50</sub> 5 µg/ml
2. Sobre células KB: DI<sub>50</sub> 6 µg/ml
3. Frente a P-388, in vivo: T/C 163 %
4. Frente a ECA, in vivo: T/C 135 %.

EJEMPLO 2

4,5-Bis(bromometil)-1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-v-triazol

(I, R<sub>1</sub> = 2,3,4,6-Tetra-O-acetil-glucopiranosil; R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = CH<sub>2</sub>Br)

Se suspenden 0,607 g de azida de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo en 15 ml de tolueno anhidro y, a continuación, se añaden 3,04 g de 1,4-dibromo-butino-2 anhidro. La mezcla de reacción se mantiene a reflujo durante 17 horas (temperatura del baño entre 105 y 110°C). Al cabo de este tiempo, se elimina el disolvente a vacío, se disuelve el residuo en la mínima cantidad de cloroformo y la disolución resultante se aplica sobre placas de cromatografía preparativa de gel de sílice PF<sub>254</sub> (unas 12 placas de 20 x 20 cm). Se eluyen con acetato de etilo/éter de petróleo (1:1), con lo que se consigue su separación en



tres bandas, visibles a la luz ultravioleta. De ellas, la mas próxima al origen es la que corresponde al producto deseado. Recristalizado de etanol, se obtiene como un sólido blanco de pf. 154-156°C.

Análisis:

5    Calculado para  $C_{18}H_{24}N_3O_9Br_2$ : C 36,86 %, H 4,10 %, N 7,17 %, Br 28,3 %  
Encontrado:                                    C 37,01 %, H 3,98 %, N 7,22 %, Br 28,9 %

Actividad citostática:

1. Sobre células HeLa:  $DI_{50}$  0,9  $\mu$ g/ml.
2. Sobre células KB:  $DI_{50}$  1,5  $\mu$ g/ml.

10

EJEMPLO 3

4-Clorometil-1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-v-triazol  
(I,  $R_1 = 2,3,4,6$ -tetra-O-glucopiranosilo;  $R_2 = CH_2Cl$ ;  $R_3 = H$ )

15

Sobre 6,46 g de azida de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilo en 25 ml de tolueno se agregan 3 g de cloruro de propargilo. La mezcla de reacción se mantiene a reflujo durante 17 horas, controlando la temperatura del baño de calefacción entre 125 y 130°C. Al cabo de este tiempo, se enfría la masa de reacción, se filtra el precipitado blanco que se forma y, disuelto en la mínima cantidad de cloroformo, se cromatografía de forma similar a la descrita en los ejemplos anteriores, empleando para el desarrollo una mezcla de acetato de etilo/éter de petróleo 1:2. Por carbonización de la placa, se observan tres bandas, dos de las cuales (las mas próximas al origen) son mayoritarias y corresponden al producto indicado en el epígrafe y a su isómero de posición con el grupo clorometilo en la posición 5 del anillo de v-triazol.

20

25

El aislamiento de ambos isómeros se lleva a cabo por cristalización fraccionada, utilizando etanol. El 4-clorometil isómero funde a 169-170°C. El 5-clorometil isómero permanece en las aguas madres de la cristalización y puede purificarse por cromatografía, identificándose como la banda mas próxima al origen, P.f. 129-130°C

30



Análisis:

Calculado para  $C_{17}H_{22}O_9N_3Cl$ : C 45,49%, H 4,91%, N 9,38%, Cl 7,91%

Encontrado para

el isómero 4-clorometílico: C 45,49%, H 4,65%, N 9,56%, Cl 8,15%

el isómero 5-clorometílico: C 45,40%, H 4,60%, N 9,25%, Cl 7,53%.

Actividad citostática:

Sobre células HeLa

isómero 4-clorometílico:  $DI_{50}$  14  $\mu$ g/ml

isómero 5-clorometílico:  $DI_{50}$  30  $\mu$ g/ml.

EJEMPLO 4

4- y 5-Bromometil-1-(2,3,5-tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranosil)-v-triazoles (I,  $R_1 = 2,3,5$ -tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranosilo;  $R_2 = CH_2Br$ ;  $R_3 = H$  y II,  $R_1 = 2,3,5$ -tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranosilo;  $R_2 = H$ ;  $R_3 = CH_2Br$ )

Se suspenden 5,06 g de azida de 2,3,5-tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranosilo en 15 ml de tolueno anhidro y se agregan a esta suspensión 6,04 g de bromuro de propargilo. Esta mezcla de reacción se mantiene a reflujo durante 16 horas, controlando la temperatura del baño entre 120 y 125°C. Al cabo de este tiempo, se elimina el disolvente a vacío y la masa residual se cromatografía sobre capa fina preparativa utilizando como eluyente acetato de etilo/éter de petróleo 1:2. A la luz ultravioleta se observan 3 manchas, de las que las mas próximas al origen corresponden a los productos buscados. Ambos productos muestran consistencia siruposa, aunque adquieren mayor textura al tratarlos con éter de petróleo. Ninguno de ellos pudo cristalizarse, pero su identidad y estructura quedó confirmada por RMN.

Análisis:

Calculado para  $C_{29}H_{24}O_7N_3Br$ : C 57,42%, H 3,98%, N 6,92%, Br 13,2%

Encontrado para



el isómero 4-bromometílico: C 57,70%, H 4,21%, N 6,61%, N 13,06%

el isómero 5-bromometílico: C 57,69%, H 4,28%, N 6,67%, N 13,06%

Actividad citostática:

Sobre células HeLa

5 Isómero 4-bromometílico:  $DI_{50}$  6  $\mu$ g/ml

Isómero 5-bromometílico:  $DI_{50}$  8  $\mu$ g/ml

EJEMPLO 5

4-Clorometil-1-(2,3,5-tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranosil)-v-triazol

(I,  $R_1$  = 2,3,5-tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranosilo;  $R_2$  =  $CH_2Cl$ ;  $R_3$  = H)

10 Se suspenden 6,24 g de azida de 2,3,5-tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranosilo en 15 ml de tolueno anhidro y se agregan a continuación 3,82 g de cloruro de propargilo. La mezcla se mantiene a reflujo durante 10 horas controlando la temperatura del baño entre 100 y 105°C. Se evapora luego el disolvente a vacío y la masa residual se disuelve en cloro-  
15 formo y se cromatografía sobre capa fina preparativa desarrollando seis veces consecutivas con acetato de etilo/éter de petróleo (1:3). Se observan cinco bandas a la luz ultravioleta, de las que la mas intensa que ocupa el segundo lugar a partir del origen es la que corresponde al producto. El sirupo obtenido al evaporar los disolventes de elución se re-  
20 cristaliza de n-propanol obteniéndose un sólido de color blanco, de p. f. 110-112°C.

Análisis:

Calculado para  $C_{29}H_{24}O_7N_3Cl$ : C 61,98%, H 4,27%, N 7,48%, Cl 6,30%

Encontrado: C 62,31%, H 3,99%, N 7,89%, Cl 6,34%

25 Actividad citostática:

1. Sobre células HeLa:  $DI_{50}$  30  $\mu$ g/ml

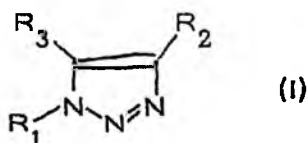
2. Sobre células KB:  $DI_{50}$  35  $\mu$ g/ml.

30 En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes: \_\_\_\_\_

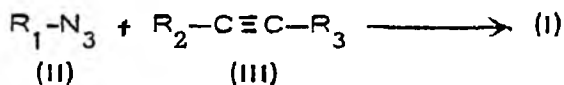


### REIVINDICACIONES

5 1ª. Un procedimiento para la preparación de derivados N-glicosídicos de v-triazol, caracterizados por la fórmula general (I) siguiente



10 en la que el sustituyente  $R_1$  representa siempre un radical glicosídico que puede tener sus grupos hidroxilo libres o acilados total o parcialmente; y  $R_2$  y  $R_3$  representan, indistintamente, hidrógeno o un radical halometílico, con la condición de que al menos uno de ellos sea un radical halometílico; caracterizado porque un compuesto de fórmula general (II), en  
15 la que el sustituyente  $R_1$  tiene la misma significación ya indicada, se hace reaccionar con un compuesto acetilénico de fórmula general (III), en la que los sustituyentes  $R_2$  y  $R_3$  tienen la significación también antes indicada



20 2ª. Un procedimiento, según la Reivindicación 1ª, caracterizado porque el componente glicosídico de fórmula general (II) que interviene posee en su radical  $R_1$  un esqueleto carbonado de cinco o más eslabones que, según lo casos, soporta los grupos hidroxilo libres o acilados  
25 u otras funciones, o no llevar ninguna sustitución.

30 3ª. Un procedimiento, según la reivindicación 1ª, caracterizado porque el radical halometílico a que se refiere la significación de los sustituyentes  $R_2$  y/o  $R_3$  del componente (III) puede ser un radical fluo-



rometífico, clorometífico, bromometífico o yodometífico.

5 4ª. Un procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la reacción se lleva a cabo por simple calefacción de los reactivos (II) y (III) a una temperatura comprendida dentro del intervalo 90-120°C.

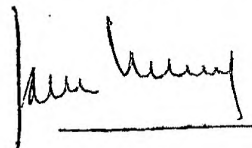
10 5ª. Un procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1ª, 2ª o 3ª, caracterizado porque la reacción se lleva a cabo calentando una solución de los dos reactivos (II) y (III) a una temperatura comprendida dentro del intervalo 90-120°C.

15 6ª. Un procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1ª, 2ª, 3ª o 5ª, caracterizado porque el disolvente empleado en la reacción es el tolueno.

20 7ª. Un PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE DERIVADOS N-GLICOSILICOS DE HALOMETIL-v-TRIAZOLES.

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente Memoria Descriptiva, que consta de diez páginas mecanografiadas

Madrid, 30 de Julio de 1977



25

  
30