



| | | | | | | |
|----|----|----|-----------------------|-------------------|----|----|
| 10 | ES | 11 | NUMERO | 461098 | 10 | A1 |
| | | 21 | | | | |
| | | 22 | FECHA DE PRESENTACION | 28 Julio de 1.977 | | |

PATENTE DE INVENCION

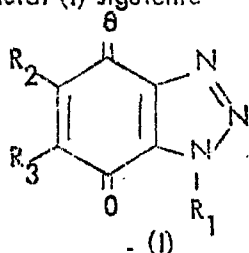
| | | |
|---|--|--------------------------------------|
| 30 PRIORIDADES: | | |
| 31 NUMERO | 32 FECHA | 33 PAIS |
| 47 FECHA DE PUBLICIDAD | 51 CLASIFICACION INTERNACIONAL CO7D | 62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA |
| 64 TITULO DE LA INVENCION "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE DERIVADOS N-GLICOSIDICOS DE QUINONAS HETEROCICLICAS DE γ -TRIAZOL" | | |
| 71 SOLICITANTE (S) Consejo Superior Investigaciones Científicas | | |
| DOMICILIO DEL SOLICITANTE Serrano, 150 | | |
| 72 INVENTOR (ES) D. Gregorio Alonso Cortiguera, Da. Mercedes Fuertes González, Da. Ma. Teresa García López, D. Federico Gómez de las Heras Martín Maestro, D. José Ma. Infante Redondo y D. Manfredo Stud Schlüter | | |
| 73 TITULAR (ES) Consejo Superior Investigaciones Científicas | | |
| 74 REPRESENTANTE D. Javier Trueba Gutiérrez | | |



MEMORIA DESCRIPTIVA

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

5



10

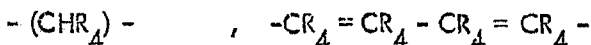
15

20

25

en la que R_1 representa un radical glicosídico de cadena abierta o cíclico, que puede tener sus grupos hidroxilo libres o bien protegidos total o parcialmente mediante funciones ester, éter, etc. 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, a la presencia de dobles o triples enlaces en el esqueleto, al número de sus hidroxilos libres o protegidos, a la distribución de estos grupos a lo largo del esqueleto hidrocarbonado, a la presencia de otras funciones o ramificaciones en dicho esqueleto o a la ausencia de sustituyentes en algunas posiciones. 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 aminocetosas. También la expresión hidroxilo protegido debe tomarse en un sentido amplio que incluye grupos acilo, isopropiliden, benziliden y demás grupos protectores habitualmente empleados en la química de azúcares, sobradamente conocidos por los especialistas.

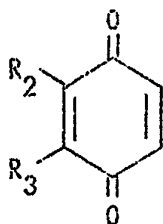
R_2 y R_3 representan indistintamente hidrógeno, grupos alquilo lineales o ramificados, grupos arilo con o sin sustituyente, grupos aralquilo, o bien, reunidos, una cadena seleccionada dentro de las siguientes



en las que R_4 tiene la misma significación que acaba de darse para R_2 y R_3 .

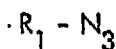
El procedimiento a que se refiere la presente invención se caracteriza porque un compuesto de fórmula general (II) siguiente

30



(II)

5 en la que R_2 y R_3 mantienen la significación mencionada, se hace reaccionar con una azida de glicosilo de fórmula general (III) siguiente



(III)

10 en la que R_1 mantiene la significación mencionada, en el seno de un disolvente inerte adecuado. Un disolvente inerte adecuado es cualquier líquido orgánico inerte frente a los reactivos y frente al producto final, capaz de mantener una mezcla homogénea, por ejemplo los ésteres, como acetato de etilo, los éteres, como el éter dietílico, 1,2-dimetoxietano, dioxano, los hidrocarburos, como hexano, ciclohexano, benceno, tolueno o xileno, y otros disolventes comunes como nitrometano, acetonitrilo, etc. La temperatura no es crítica para la reacción, La preparación de I se ha llevado a cabo a temperaturas que van desde la ambiente hasta la de reflujo de tolueno. Sin embargo, se ha observado que el empleo de temperaturas elevadas favorece la formación de diferentes productos secundarios y de descomposición. El tiempo de reacción depende de la temperatura, la utilización de una mayor temperatura acorta el tiempo necesario para que se complete la reacción. Por ejemplo a temperatura ambiente pueden ser necesarios de 20 a 60 días y a temperatura de reflujo de acetato de etilo 26 horas.

25 Aunque el método de aislamiento suponga en todos los ejemplos ilustrativos la utilización de una técnica cromatográfica, ello no debe considerarse factor limitativo de la invención.

30 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, pueden mencionarse que su efecto sobre células HeLa, cultivadas "in vitro" en medios adecuados, es claramente inhibitorio y



que, con las diferencias lógicas que marcan la naturaleza de los sustituyentes, las dosis de inhibición 50 (DI_{50}) que se encuentran muchas veces comprendidas dentro del intervalo 1-6 μ g/ml.

5. Esto, 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.

10. Por último, la amplia gama de posibles variaciones en el sustituyente glicosídico R_1 , y en los sustituyentes sobre el anillo quinónico R_2 y R_3 que ofrece el procedimiento a que se refiere esta invención, introduce un aliciente más, en cuanto a un aprovechamiento médico de los productos, por lo que tiene de positivo en una modulación de las propiedades fisicoquímicas reguladoras de la solubilidad, absorción, penetración celular o distribución en tejidos.

15. Los ejemplos siguientes, que ilustran el procedimiento a que se refiere esta invención, no deben considerarse limitativos de la misma.

EJEMPLO 1

1- (2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-nafto [2,3-d] triazol-4,9-diona
(1, $R_1 = 2,3,4,6$ -tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, $R_2, R_3 = CH = CH - CH = CH$).

20. Una mezcla de 0,568 g (0,003 moles) de 1,4-naftoquinona, y 1,120 g (0,003 moles) de azida de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo en 20 ml de acetato de etilo se deja estar a temperatura ambiente durante 50 días. Al cabo de este tiempo, se elimina el disolvente a vacío y el residuo, disuelto en la mínima cantidad de cloroformo, se aplica sobre placas de cromatografía preparativa de gel de sílice (unas 20 placas de 20x20 cm) PF₂₅₄. Después de unos cinco desarrollos consecutivos con una mezcla de cloroformo-acetato de etilo 9:1, se observa a la luz ultravioleta la separación de tres bandas fundamentales que se recogen en la forma usual utilizada en esta técnica. La banda de recorrido intermedio conduce al producto deseado. Rescristalizado de acetato de etilo-éter de petróleo se obtiene como un sólido amarillo de pf. 193-194°C.

Análisis

Calculado para $C_{24}H_{23}N_3O_{11}$: C, 54,44%; H, 4,34%; N, 7,93%
Encontrado: C, 54,32%; H, 3,91%; N, 7,59%



Actividad citostática

Sobre células HeLa: DI_{50} 0,9 μ g/ml

EJEMPLO 2

1-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-nafto[2,3-d]triazol-4,9 diona

5 (1, R_1 = 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, R_2, R_3 = CH=CH-CH=CH).

Una mezcla de 0,568 g (0,003 moles) de 1,4-naftoquinona y 1,120 g (0,003 moles) de azida de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo en 20 ml de acetato de etilo se calienta a reflujo durante 26 horas. Pasado este tiempo, se elimina el disolvente a vacío y el residuo se cromatografía por capa fina preparativa de forma análoga a la indicada en el ejemplo anterior. De esta manera se ob-
10 tiene el producto deseado que es idéntico en todas sus propiedades al descrito en el ejemplo 1.

EJEMPLO 3

1-(2,3,5-Tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-nafto[2,3-d]triazol-4,9-diona (1, R_1 =

15 2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosilo, R_2, R_3 = CH=CH-CH=CH).

Una mezcla de 0,568 g (0,003 moles) de 1,4-naftoquinona y 1,461 g (0,003 moles) de azida de 2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofurano-
20 sa en 20 ml de acetato de etilo se deja estar a temperatura ambiente durante 60 días. Transcurrido este tiempo, se elimina el disolvente a vacío y el residuo, disuelto en la mínima cantidad de acetato de etilo, se cromatografía sobre unas 25 placas preparativas que se desarrollan empleando una mezcla de cloroformo-acetato de etilo 20:1 durante 3 ve-
ces consecutivas. La banda de menor recorrido, visualizado con luz ultravioleta de 254 nm, se recoge y eluye de la manera usual y se recromatografía sobre unas 15 pla-
cas, desarrollando el cromatograma dos veces consecutivas en una mezcla de acetato
25 de etilo-ciclohexano 1:2. La banda fundamental conduce al producto deseado que se cristaliza de alcohol isopropílico para obtener un sólido amarillo de $pf=99-100^{\circ}C$.

Análisis

Calculado para $C_{36}H_{25}N_3O_9$: C, 67,18%; H, 3,88%; N, 6,53%

Encontrado: C, 67,17%; H, 3,90%; N, 6,10%

30 Actividad citostática

Sobre células HeLa: DI_{50} 2,5 μ g/ml.



EJEMPLO 4

1-(2,3,5-Tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)nafto [2,3-d] triazol-4,9-diona (1, R₁=
2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosilo, R₂, R₃ = CH=CH-CH=CH).

Una mezcla de 0,568 g (0,003 moles) de 1,4-naftoquinona y 1,461 g
5 (0,003 moles) de azida de 2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa en 20 ml de acetato de etilo se mantuvo a reflujo durante 26 horas. Al cabo de este tiempo se elimina el disolvente a vacío, obteniéndose el producto deseado puro, idéntico en todos los aspectos al descrito en el ejemplo anterior, mediante las técnicas cromatográficas y cristalización de manera análoga a las allí indicadas.

10 EJEMPLO 5

1-(2,3,5-Tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-nafto [2,3-d] triazol-4,9-diona (1, R₁=
2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosilo, R₂, R₃ = CH=CH-CH=CH).

Una mezcla de 0,568 g (0,003 moles) de 1,4-naftoquinona y 1,461 g
15 (0,003 moles) de azida de 2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa en 20 ml de tolueno anhídrido se mantuvo a reflujo durante 17 horas. Pasado este tiempo se elimina el disolvente a vacío y la masa bruta de reacción se trató de forma similar a la indicada en los ejemplos 3 y 4. De esta manera se obtuvo el producto deseado, idéntico en todas sus propiedades al allí descrito.

EJEMPLO 6

20 1-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5 ó 6-metil-benzotriazol-4,7-diona
(1, R₁ = 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, R₂ = H, R₃ = CH₃ o R₂ = CH₃,
R₃ = H).

Una mezcla de 0,244 g (0,002 moles) de 2-metil-1,4-benzoquinona y
0,740 g (0,002 moles) de azida de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranososa en 15
25 ml de acetato de etilo se calienta a reflujo durante 26 horas. Al cabo de este tiempo se elimina el disolvente a vacío y el residuo, disuelto en la mínima cantidad de acetato de etilo, se cromatografía sobre 10 placas de gel de sílice preparativa PF₂₅₄. Después de tres desarrollos consecutivos con una mezcla de acetato de etilo-éter de petróleo 1:1, se observa a la luz ultravioleta la separación de dos bandas fundamentales. Por elución de la banda de menor recorrido se obtiene un aceite rojizo que se purifica por cromatografía preparativa, desarrollando una vez el cromatograma con una mezcla de acetato de etilo-éter de petróleo 1:1. Elución de la banda
30



mayoritaria conduce al producto deseado que se cristaliza de cloroformo-ciclohexano, pf 155°C.

Análisis

Calculado para $C_{21}H_{23}N_3O_{11} \cdot 2/3 CHCl_3$: C, 45,37%; H, 4,12%; N, 7,32%

5

Encontrado:

C, 45,45%; H, 4,35%; N, 7,52%

Actividad citostática

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

EJEMPLO 7

10

1-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5 ó 6-metil-benzotriazol-4,7-diona (I, $R_1 = 2,3,4,6$ -tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo, $R_2 = H, R_3 = CH_3$ o $R_2 = CH_3, R_3 = H$).

15

Una mezcla de 0,244 g (0,002 moles) de 2-metil-1,4-benzoquinona y 0,740 g (0,002 moles) de azida de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranososa en 15 ml de tolueno anhidro se calienta a reflujo durante 17 horas. Pasado este tiempo, se elimina el disolvente a vacío. El producto deseado, idéntico en todas sus propiedades al descrito en el ejemplo 6, se obtiene mediante tratamiento cromatográfico del producto bruto de reacción y cristalización, de forma análoga a la indicada en aquel ejemplo.

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

20

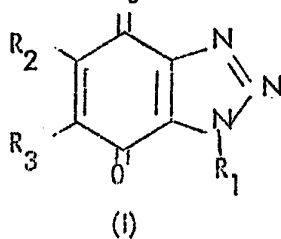
REIVINDICACIONES

Se reivindica como de nueva y propia invención la propiedad y explotación exclusiva de:

25

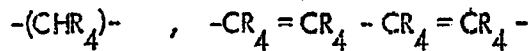
1.- "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE DERIVADOS N-GLICOSIDICOS DE QUINONAS HETEROCICLICAS DE v-TRIAZOL", caracterizados por la fórmula general (I) siguiente

30

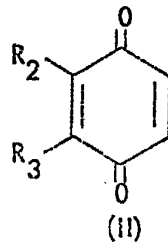




5 en la que el sustituyente R_1 representa siempre un radical glicosídico de cadena abierta o cíclica, que puede tener sus grupos hidroxilos libres o protegidos total o parcialmente mediante funciones ester o éter; y R_2 y R_3 representan indistintamente hidrógeno, grupos alquilo lineales o ramificados, grupos arilo con o sin sustituyentes, grupos aralquilo, o bien, reunidos una cadena seleccionada dentro de las siguientes



10 en las que R_4 tiene la misma significación que acaba de darse para R_2 y R_3 ; caracterizado porque un compuesto de fórmula general (II) siguiente



15 en la que R_2 y R_3 mantienen la significación mencionada, se hace reaccionar con una azida de glicosilo de fórmula general (III) siguiente



(III)

20 en la que R_1 mantiene la significación mencionada, en el seno de un disolvente inerte adecuado.

25 2.- Un procedimiento según reivindicación 1, caracterizado porque el sustituyente R_1 del componente glicosídico de fórmula general (III) posee cinco o más átomos de carbono, que, según los casos, lleva unidos grupos hidroxilo libres o protegidos con funciones ester o éter, o llevan unidos otras funciones, o no están funcionalizados, o contienen dobles o triples enlaces.

30 3.- Un procedimiento según reivindicación 1, caracterizado porque R_1 es un resto de tetraacetilglucosa o tribenzoilribosa.



4.- Un procedimiento según reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de fórmula general (II) es 2-metil-1,4-benzoquinona.

5.- Un procedimiento, según reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de fórmula general (II) es 1,4-naftoquinona.

6.- Un procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, caracterizado porque el disolvente empleado en la reacción es acetato de etilo.

7.- Un procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, caracterizado porque el disolvente empleado en la reacción es tolueno.

8.- "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE DERIVADOS N-GLICOSIDICOS DE QUINONAS HETEROCICLICAS DE v-TRIAZOL", tal y como se describe en el cuerpo de esta memoria y reivindicaciones que consta de nueve páginas escritas por una cara.