



ESPAÑA

20 JUL. 1978

Concedido el Registro de acuerdo
con los datos que figuran en la pre-
sente descripción y según el con-
tenido de la Memoria adjunta.

PATENTE DE INVENCION

10 ES	11 NUMERO 464.142	10 A1
	21	
	22 FECHA DE PRESENTACION 15-11-1977	

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07H/A61K	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	---	--------------------------------------

54 TITULO DE LA INVENCION "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR ISOCOFORMICINA"
--

71 SOLICITANTE (S) ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI

DOMICILIO DEL SOLICITANTE No. 14-23, 3-chome, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo, Japon
--

72 INVENTOR (ES) Hanao Umezawa, Tomio Takeuchi, Shinichi Kondo, Masami Shimazaki

73 TITULAR (ES)

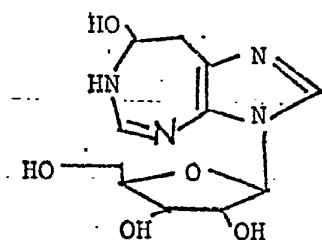
74 REPRESENTANTE DON FERNANDO DE ELZABURU MARQUEZ (P.-67.590)
--

jga

POOR
QUALITY

1 La presente invención se refiere a un nuevo compuesto orgánico y, más en particular, se refiere a un nuevo nucleósido de anillo de siete miembros y a un procedimiento para su producción.

5 El nuevo compuesto, 3-β-D-ribofuranosil-3,6,7,8-tetrahidroimidazo[4,5-d][1,3]diazepin-7-ol, denominado isocoformicina, puede representarse por la fórmula:



15 El nuevo compuesto de la presente invención, la isocoformicina, es un análogo de la coformicina, que es el más potente inhibidor de la adenosina-desaminasa jamás conocido [M. Ohno, N. Yagisawa, S. Shibahara, S. Kondo, K. Maeda y H. Umezawa, J. Am. Chem. Soc., 96, 4326 (1974)]. Recientemente, Woo y Dion informaron sobre el aislamiento de un potente inhibidor de adenosina y ara-A-desaminasa, la 2'-desoxicoformicina, a partir del caldo de fermentación de una cepa de Streptomyces antibioticus [P. W. K. Woo y H.W. Dion, J. Heterocyclic Chem. 11,641 (1974)]. La isocoformicina es el primer nucleósido sintético con un anillo de siete miembros como resto de base.

20

25

Las constantes físicas de la isocoformicina son las siguientes:

- (1) p.f. : 185-190°C(desc.)
- (2) $[\alpha]_D^{25}$: -58° (3,0, H₂O)
- (3) UV : λ_{max}^{MeOH} 281nm(9600)
- 30

- 1 (4) EM : 284(M+), 266(M-H₂O), 252, 193, 163, 149
135, 134, 121
- (5) IR(KBr) : 3300, 2900, 1720, 1630, 1485, 1440,
1390, 1280, 1200, 1040~1100cm⁻¹
- 5 (6) ¹H-RMN(D₂O, 100MHz): δ 3,52(2H, m, 8-CH₂), 4,27(2H, m, 5'-CH₂), 4,6~5,1(3H, 2', 3', 4'-H), 5,84(1H, m, 7-CH), 6,27(1H, d-d, 1'-H), 7,47(1H, s), 8,18(1H, d)
- 10 (7) ¹³C-RMN(D₂O, XL-100) desplazamiento químico (ppm) de un tms externo, utilizando dioxano (67,4 ppm) como patrón interno:

15		C ₁ ' 88,5 PPM	C ₂ 146 PPM
		C ₂ ' 71,5	C ₅ 134
		C ₃ ' 74,1	C ₇ 74,5
		C ₄ ' 86,4	C ₈ 36,6
		C ₅ ' 62,6	C ₉ 125
			C ₁₀ 133

- 20 (8) Cromatografía de capa delgada sobre gel de sílice:

R_f = 0,12 en EtOAc-MeOH-H₂O (4:1:1)

R_f = 0,31 en n-BuOH-EtOH-CHCl₃-17%NH₄OH(4:5:2:2)

25 El nuevo compuesto de la presente invención, la isocoformicina (III), es útil debido a su aptitud para inhibir fuertemente la desaminación de la formicina, del arabinósido de adenina, de la cordicepina y de sus derivados farmacéuticamente aceptables, por la adenosina-desaminasa presente en los mamíferos y aves.

30 Las actividades inhibitoras de la isocoformicina

1 sobre la adenosina-desaminasa, se determinaron utilizando
formicina y adenosina como sustrato. Tres ml de una so-
lución de adenosina o formicina en tampón de fosfato 0,05
5 M (12 mg/ml, pH 7,5 y 6,5, respectivamente), se pusieron
en una cubeta de cuarzo de 1 cm de longitud y se añadie-
ron 0,1 ml de una solución que contenía una cantidad co-
nocida de isocoformicina en agua destilada. Se inició la
reacción mediante la adición de 0,1 ml de solución de en-
zima (adenosina-desaminasa de intestino de ternera: 1 mg/
10 ml de acetato amónico 0,025 M o Takadiastasa-Y : 4 mg/ml
de agua destilada) y en un espectrofotómetro Beckmann --
equipado con el registrador Gilford, se registraron las
disminuciones, durante 2 minutos, de las densidades ópti-
cas a 265 nm en el caso de la adenosina o a 295 nm en el
15 caso de la formicina. La concentración del inhibidor pa-
ra una inhibición del 50% (DI_{50}) se calculó a partir de
la diferencia de las densidades ópticas, como se muestra
en la Tabla 1.

20

25

30

Tabla 1. DI_{50} (moles/litro)

Enzimas Substratos	Adenosina-desaminasa de intestino de ter- nera a 25°C		Takadiastasa-Y a 45°C	
	Adenosina	Formicina	Adenosina	Formicina
Inhibidores Isocoformicina 9-β-D-ribofuranosil-6- hidroximetil-1,6- dihidropurina	$8,6 \times 10^{-8}$	$3,5 \times 10^{-8}$	$1,1 \times 10^{-6}$	$2,0 \times 10^{-6}$
	$5,8 \times 10^{-6}$	$2,6 \times 10^{-6}$	$2,8 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-4}$

1 Como se ha indicado en la Tabla 1, la actividad
inhibidora de la isocoformicina contra la desaminación de
la formicina o de la adenosina, es más intensa que la de
la 9- -D-ribofuranosil-6-hidroximetil-1,6-dihidropurina
5 conocida como inhibidor de la adenosina-desaminasa.

 La isocoformicina es también útil como un fuer-
te agente sinérgico de la formicina y del arabinósido de
la adenina, para sus actividades antitumorales. La isoco-
formicina mostró un fuerte efecto sinérgico con la formi-
10 cina en la inhibición de las multiplicaciones celulares
en cultivos de tejidos. El efecto inhibidor de la formi-
cina con o sin isocoformicina, sobre las multiplicaciones
de las células L-1210 leucémicas del ratón, medido por el
método de Lowry [O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. I.
15 Farr y R. J. Randall, J. Biol: Chem. 193, 265 (1951)] se
indica en la Tabla 2.

20

25

30

Tabla 2.- Inhibición de las multiplicaciones de las células L-1210 leucémicas del ratón, con formicina e isocofornicina.

Nº	Formicina µg/ml	Isocofornicina µg/ml	Inhibición (%)
1	0,0	0,0	0
2	0,20	0,0	8
3	0,0	0,20	0
4	0,0	0,50	-4
5	0,20	0,20	42
6	0,20	0,50	55

1 Además, se ha observado una notable prolonga-
ción del período de supervivencia de los ratones a los
que se han implantado células L-1210 leucémicas de ratón,
después del tratamiento con formicina combinada con iso-
5 coformicina, por vía intraperitoneal, como se muestra en
la Tabla 3.

10

15

20

25

30

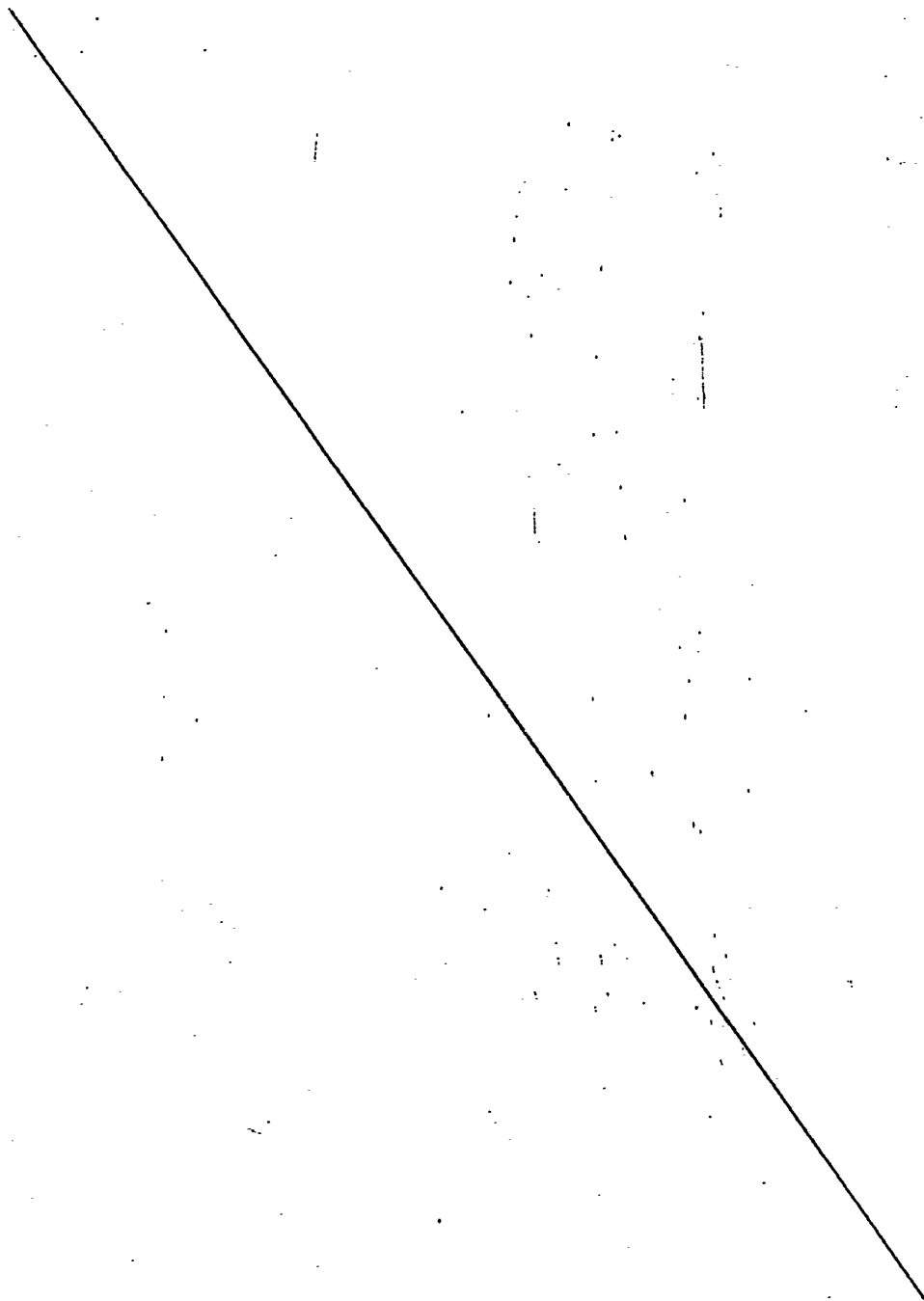


Tabla 3.- Índices de prolongación del período de supervivencia de ratones con L-1210, por tratamientos por formicina con o sin isocoformicina.

Nº	Isocoformicina	Formicina (50 microgramos/ml)			
		Sin		Con	
		Período de supervivencia	T/C %	Período de supervivencia	T/C %
1	50 µg/m	8,0 días	93	15,0 días	174
2	25	10,0	93	15,0	174
3	12,5	8,5	116	14,0	163
4	6,2	9,0	99	12,0	140
5	3,1	9,0	105	14,0	163
6	1,5	8,0	93	12,5	145
7	0	8,6	100	10,5	122

1 Cada una de las dosis se inyectó intraperitonealmente, dos horas después de la implantación de 10^5 células L-1210, una vez al día durante 10 días.

5 El nuevo compuesto de la invención, la isocoformicina, tiene también aptitud para mantener la actividad de la formicina contra las bacterias gram negativas. Por ejemplo, en un medio de agar nutriente, que contenía formicina en la concentración de 50 microgramos/ml, se midió el diámetro de inhibición frente al *Escherichia coli* NIHJ mediante el método del disco (8 mm), para las siguientes
10 concentraciones de isocoformicina.

Isocoformicina (microgramos/ml)	Diámetro (mm)
200	36,0
40	32,0
10	25,0
2,5	22,0

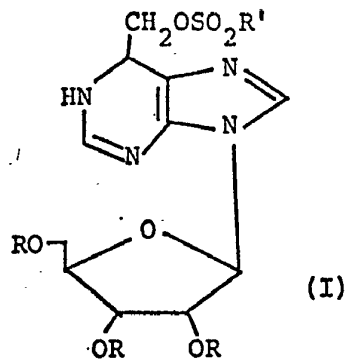
15 La isocoformicina propiamente dicha no tiene actividad inhibidora sin la formicina, contra el *Escherichia coli* NIHJ a la concentración de 2 mg/ml.

La isocoformicina de la presente invención se prepara de las siguientes maneras.

25 Un método (al que se hace referencia en lo que sigue como Método A) consiste en tratar un sulfonato de 9- β -D-ribofuranosil-6-hidroximetil-1,6-dihidropurina con protección en los grupos hidroxilo del resto de ribosa, de la fórmula

1

5



10

15

en la que los radicales R son iguales o diferentes, y representan un miembro seleccionado del grupo consistente en un resto acilo de un ácido graso no sustituido o sustituido por halógeno, que tiene de 2 a 12 átomos de carbono, benzoilo, benzoilo sustituido por alcoholo inferior (C_1 a C_4), por alcoxi inferior (C_1 a C_4), o por halógeno, isopropilideno, tritilo, y tritilo sustituido por alcoholo inferior (C_1 a C_4), por halógeno o por alcoxi inferior (C_1 a C_4);

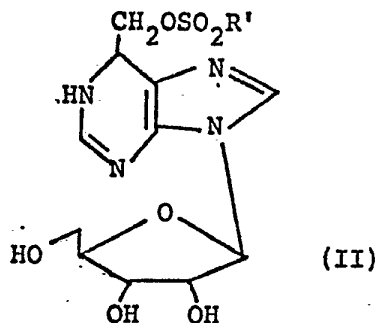
20

R' representa un grupo alcoholo inferior (C_1 a C_4) no sustituido o sustituido por alcoxi inferior (C_1 a C_4), fenilo, fenilo sustituido por alcoholo inferior (C_1 a C_4), o por halógeno, bencilo y para-nitrobencilo, con una base.

25

Otro método, (al que se hace referencia en lo que sigue como Método B) consiste en desbloquear los grupos protectores representados por R en el compuesto (I), para preparar un compuesto de la fórmula:

30



07127

1 en la que R' representa lo mismo que en el compuesto (I);
y tratar el compuesto (II) con una base.

5 Generalmente, los alcohilsulfonatos o arilsulfonatos de los alcoholes, se hidrolizan fácilmente para dar los alcoholes originales, cuando se tratan con una base acuosa y, de aquí, que los autores del presente invento intentaran primero, sin éxito, la solvolisis anhidra del sulfonato (I). Después de numerosos y tenaces esfuerzos, los autores del presente invento han encontrado, sorprendentemente, que cuando se trata el sulfonato (I) en 1,2-
10 -dimetoxietano, con una solución acuosa de hidróxido sódico, se detecta un nuevo compuesto en el cromatograma de capa delgada, y el compuesto se convierte gradualmente en otro nuevo compuesto que muestra λ_{\max} a 280 nm. El primero es el sulfonato (II) desbloqueado, y el último es la isocoformicina.

15 El tratamiento con base en el Método A, se realiza bien sea en un sistema heterogéneo o en un sistema homogéneo, a una temperatura de 0 a 50°C.

20 En el método heterogéneo, el sulfonato (I) se disuelve en un disolvente orgánico inmiscible con agua, tal como cloruro de metileno, 1,2-dicloroetano, epiclorhidrina, 1,1,2,2-tetracloroetano, cloroformo, benceno y tolueno, y se trata con una base orgánica o inorgánica, preferiblemente en presencia de un reactivo de transferencia de fase, tal como halogenuro de tetra-n-alcoholamonio, en el cual el alcoholito tiene de 3 a 12 átomos de carbono, o halogenuro de tetra-n-alcoholfosfonio, en el cual el alcoholito tiene de 3 a 12 átomos de carbono.

30 Las condiciones de reacción preferibles son las

1 siguientes:

El sulfonato (I) se disuelve en cloruro de metileno y se añaden a la solución, más de 10 equivalentes de hidróxido sódico 0,5 N. Seguidamente, se añaden aproximadamente 0,05 equivalentes del reactivo de transferencia de fase, a la mezcla de reacción, y la mezcla de reacción heterogénea se agita vigorosamente a la temperatura ambiente, hasta que no se detecta en el cromatograma de capa delgada, ningún sulfonato (I) de partida.

10 Como base se emplean bases inorgánicas, tales como hidróxidos de metal alcalino o de metal alcalino-terreo, por ejemplo, hidróxido sódico, potásico, cálcico, bórico y magnésico, o un alcoholato de metal alcalino, -- por ejemplo metóxido o etóxido sódicos y potásicos, o hidróxidos de aluminio, bases orgánicas, por ejemplo, 1,8-
15 -diazabicyclo[5,4,0]-undeceno-7, morfolina, ciclohexilamina, piperidina, tiomorfolina y una resina cambiadora de iones básica.

En el método homogéneo, el tratamiento con la
20 base se realiza sin el reactivo de transferencia de fase, en un disolvente orgánico miscible con agua, tal como acetona, dioxano, 1,2-dimetoxietano, tetrahidrofurano, acetonitrilo, sulfóxido de dimetilo o dimetilformamida. Como base se emplean también las mencionadas arriba.

25 En el Método B, el desbloqueo se realiza por tratamiento a la temperatura ambiente del sulfonato (I) con un amoníaco alcohólico, tal como amoníaco metanólico o etanólico, o con una resina cambiadora de aniones, cuando R en el sulfonato (I) representa acilo, benzoilo o benzoilo sustituido, o con un reactivo débilmente ácido, tal
30

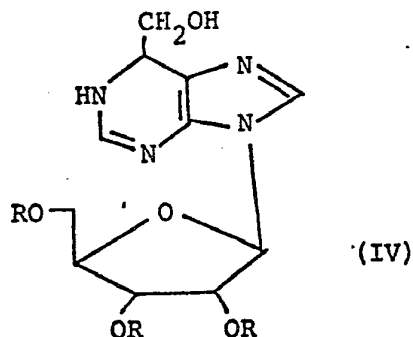
1 como ácido acético, ácido trifluoroacético, o una resina
cambiadora de iones ácida, cuando R en el sulfonato (I) re-
presenta isopropilideno, tritilo o tritilo sustituido.

5 El compuesto (II) se aísla y se trata en un me-
dio acuoso, con la base arriba mencionada. El tratamien-
to con la base se lleva a cabo a una temperatura de 0 a
50°C, preferiblemente a la temperatura ambiente.

10 El sulfonato (I) es un compuesto conocido cuan-
do R' es metilo (M. Ohno y otros, J. Amer. Chem. Soc. 96,
4326 (1974)).

El sulfonato (I) se prepara haciendo que la - -
9-β-D-ribofuranosil-5-hidroximetil-1,6-dihidropurina con
los grupos hidroxilo del resto de ribosa protegidos, de la
fórmula:

15



20

en la que R representa lo mismo que en el compuesto (I),
reaccione con un reactivo de la fórmula



25

en la que R' representa lo mismo que en el compuesto (I)
y X representa halógeno o imidazol, tal como cloruro de --
mesilo, halogenuro de fenilsulfonilo, halogenuros de para-
-metil-sulfonilo o para-halofenilsulfonilo, halogenuro de
bencilsulfonilo, halogenuro de para-nitrobencilsulfonilo,
alcohilsulfonilimidazoles, alcóxialcohilsulfonilimidazoles,
30 para-alcohilsulfonilimidazoles o para-halofenilsulfonilimi

1 dazoles, bencilsulfonilimidazol, o para-nitrobencilsulfo-
nilimidazol.

5 La reacción se realiza a la temperatura ambien-
te, en un disolvente orgánico inerte, tal como acetona,
1,2-dimetoxietano, o dioxano, preferiblemente en presen-
cia de una base débil, tal como carbonato sódico o potás-
sico y piridina, en una atmósfera de gas inerte.

10 El sulfonato (I) se prepara también por trata-
miento del compuesto (IV) con hidruro sódico, en tetrahi-
drofurano o 1,2-dimetoxietano anhidros, seguido por la --
adición del reactivo (V).

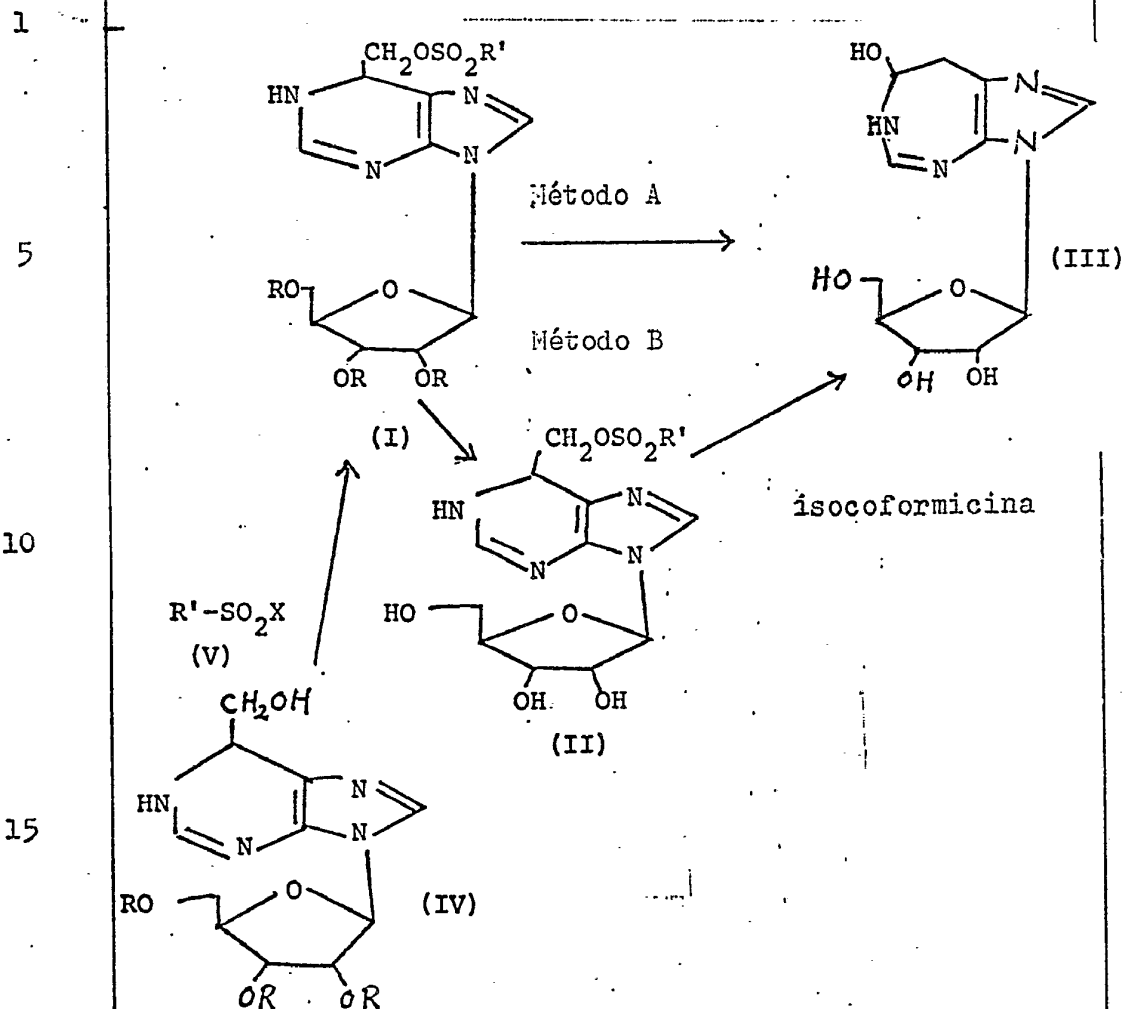
15 El compuesto (IV) se prepara a partir de 9-(2',
3',5'-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)purina, por el méto-
do de Linschitz y Connolly [H. Linschitz, J.S. Connolly,
J. Am. Chem. Soc., 90, 2980(1968)] [M. Ohno, N. Yagisa-
wa, S. Shibahara, S. Kondo, K. Maeda y H. Umezawa, J. Am.
Chem. Soc., 96, 4326(1974)]. El compuesto desacetilado
(IV) se sabe que es un inhibidor de adenosina-desaminasa.
[B. Evans, R. Walfenden, J. Am. Chem. Soc., 92, 4751 --
20 (1970)].

Por lo tanto, los procedimientos globales para
la preparación de la isocoformicina, pueden indicarse me-
diante la siguiente fórmula de reacción:

25

30

07127



20 en las que R, R' y X representan lo mismo que se ha mencionado anteriormente.

El aislamiento del producto, la isocoformicina, se realiza, por ejemplo, de la manera siguiente:

25 Después de la reacción del compuesto (I) o (II) con una base, la solución alcalina acuosa liberada del disolvente orgánico se neutraliza con ácido acético y se diluye con agua hasta aproximadamente cinco veces su volumen. La solución se carga en una columna de una resina cambiadora de cationes (que puede ser Dowex 50W. o Amberlite IR120) y se revela el cromatograma con amoníaco acuoso.

30 La evaporación del eluato que tiene λ_{max} . a 280

1 nm, proporciona un polvo amarillo de isocoformicina bruta.
La purificación adicional mediante cromatografía en colum-
na de gel de sílice o de celulosa, proporciona la isoco-
formicina pura. La isocoformicina se recrystaliza en agua
5 o en una combinación de agua en un disolvente orgánico --
adecuado, por ejemplo metanol, etanol y acetona.

Los siguientes ejemplos se incluyen con fines
de ilustración.

10 Ejemplo 1 - 6-mesiloximetil-9-(2',3',5'-tri-O-
-acetil-β-D-ribofuranosil)-1,6-dihidropurina (I).

El alcohol (IV) que se preparó a partir de 9-
-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)purina por el
método de Linschitz y Connolly [*J. Am. Chem. Soc.*, 90,
2979 (1968)] se disolvió en acetona anhidra (60 ml) y se
15 añadió carbonato potásico anhidro (4,5 gramos). Seguida-
mente, se añadió cloruro de mesilo (0,57 ml, 840 mg) todo
de una vez, a la temperatura ambiente, bajo atmósfera de
argón, y se agitó la mezcla vigorosamente hasta que no se
detectó ningún material de partida por cromatografía de
20 capa delgada (aproximadamente 2 horas).

Los materiales inorgánicos se separaron por fil-
tración y se lavaron con acetona de nueva aportación. El
filtrado y las aguas de lavado combinados, se evaporaron
bajo presión reducida para dejar una espuma amarilla del
mesilato (I, R=acetilo, R'=metilo):
25 rendimiento 1,65g (95%); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 297 nm (ϵ 3900), 290
nm (ϵ 4300 at pH 1); $[\alpha]_D^{24}$ -17° (c 1,5, MeOH); MS: 393
(M⁺ -OMs), 349(393-Ac), 333(393-OAc), 259(triacetilribosa);
IR(KBr): 3400,1745,1610,1580,1360,1230,1175,1050 cm⁻¹ ;
30 ¹H-NMR (CDCl₃): δ 2,11(9H,s,Ac), 3,01(3H,s, SCH₃), 4,30 -

1 4,50 (5H,m,5'-CH₂, -CH₂OMs, H₄), 5,34(1H,t,6-CH), 5,50-6,00
(3H,m, H₁, H₂, H₃), 7,10(1H,s), 7,50(1H,s)

Ejemplo 2 - 6-tosiloximetil-9-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-1,6-dihidropurina (I)

5 El alcohol (IV, 215 mg) se disolvió en 1,2-dimetoxietano seco (10 ml) y se añadió hidruro sódico (76 mg), todo de una vez, a la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó bajo atmósfera de argón, durante una hora, y se añadió tosylimidazol (400 mg), agitándose seguidamente durante 4 horas, momento en el cual no se mostraba la presencia de ningún material de partida por cromatografía de capa delgada. Se añadió tampón de fosfato -- (0,4 M, pH 6,5, 50 ml) y se extrajo con cloroformo (25 ml x 2), se lavó con bicarbonato sódico al 5% y agua, y se secó sobre sulfato sódico. La separación del disolvente proporcionó el tosilato (I, R = acetilo, R' = para-metilfenilo) en forma de espuma amarilla (211 mg, 82%).

10

15

Ejemplo 3 - Isocoformicina

20 El mesilato (I, 410 mg) obtenido en el Ejemplo 1 se disolvió en 1,2-dimetoxietano (10 ml) y se añadió hidróxido sódico 1 N (10 ml). Seguidamente, la solución -- parda y homogénea se añadió durante 16 horas a la temperatura ambiente, momento en el cual no se detectó nada de mesilato (I) por cromatografía de capa delgada.

25 El disolvente orgánico se separó bajo presión reducida. La solución acuosa residual se neutralizó con ácido acético a pH 7 y se diluyó con agua hasta 50 ml. Seguidamente, se cargó en una columna de Dowex 50WX2 (forma NH₄⁺, 80 ml) y se reveló el cromatograma con NH₄OH 0,5 N.

30 Las fracciones que tenían λ_{max.} a 280 nm se mezclaron to

1 -- das ellas y se concentraron para dar un polvo amarillo --
(100 mg). Finalmente, se obtuvo un polvo incoloro de iso-
coformicina (51 mg, 21%) mediante cromatografía sobre gel
de sílice con EtOAc-MeOH (5:1 en volumen).

5 Ejemplo 4 - Isocoformicina (III)

El tosilato (I, 211 mg) obtenido en el Ejemplo
2 se disolvió en acetonitrilo (10 ml) y se añadió hidró-
xido bórico 0,5 N (10 ml). La solución parda homogénea
se agitó seguidamente durante 4 horas, momento en el cual
10 no se detectó nada de tosilato (I) en el cromatograma de
capa delgada. Después de tratar la mezcla de reacción
como en el Ejemplo 2, se obtuvo la isocoformicina (21 mg,
20%).

Ejemplo 5 - Isocoformicina (III)

15 El mesilato (I, 68 mg) obtenido en el Ejemplo
1, se disolvió en 1,2-dicloroetano (4 ml) y se añadió hi-
dróxido sódico 1 N (1 ml). Después de la adición de bro-
muro de tetra-n-butilamonio (6 mg) como reactivo de trans-
ferencia de fase, la mezcla de reacción heterogénea se
20 agitó vigorosamente a la temperatura ambiente, durante 3
horas. El mesilato inalterado se recuperó de la capa or-
gánica (30 mg, 44%). La isocoformicina (14 mg, 35%; ó
62% corregido) se aisló de la fase acuosa, de la misma ma-
nera que se ha descrito en el Ejemplo 3.

25 Ejemplo 6 - 9-β-D-ribofuranosil-5-mesiloxime
til-1,6-dihidropurina (II).

El mesilato (I , 1,65 g) producido por el méto-
do descrito en el Ejemplo 1 se trató con amoníaco metanó-
lico al 20% (20 ml) durante una hora, a la temperatura --
30 ambiente, y la evaporación del disolvente proporcionó una

1 - espuma parda (1,4 g).

Se obtuvo una muestra analítica mediante cromatografía en columna de gel de sílice con EtOAc-MeOH (5:1 en volumen): UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 285 nm (ϵ 3760); $[\alpha]_D^{25}$ -38° (c 1,0, MeOH); $^1\text{H-NMR}(\text{D}_2\text{O}, 100\text{MHz})$: δ 3,55(3H,s,SCH₃), 4,26(2H,m,5'-CH₂), 4,67(1H,m,4'H), 4,75(1H,m,3'H), 4,83(2H,m,-CH₂OMs), 5,10(1H,m,2'H), 5,72(1H,t,6-CH), 6,18(1H,d,1'H), 7,64(1H,s,2-H), 8,11(1H,s,8-H).

Ejemplo 7 - Isocoformicina (III)

10 El mesilato (II, 1,4 g) obtenido en el Ejemplo 6 se trató con hidróxido sódico 1N (40 ml) durante una hora, a la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido acético a pH 7, y se diluyó con agua hasta 200 ml.

15 Seguidamente, se cargó a una columna de IRi20 (NH₄⁺:H⁺= 1:1, 100 ml) y el cromatograma se reveló con -- NH₄OH 0,5 N, para dar un polvo amarillo (553 mg). El polvo se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna de Avicell con EtOAc-MeOH-H₂O (5:1:1 en volumen) para ofrecer un polvo incoloro de isocoformicina (400 mg, 40% a partir del alcohol (IV)).

20

25

30

1

REIVINDICACIONES

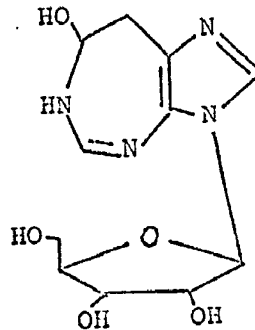
5

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

10

1ª.- Un procedimiento para la preparación de isocofornicina de la fórmula:

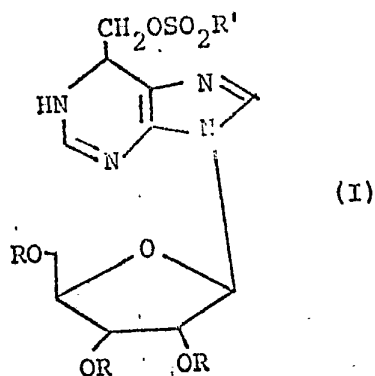
15



20

que comprende desbloquear los grupos protectores del resto de ribosa de un sulfonato de 9- β -D-ribofuranosil-6-hidroximetil-1,6-dihidropurina con los grupos hidroxilo del resto de ribosa protegidos, de la fórmula:

25



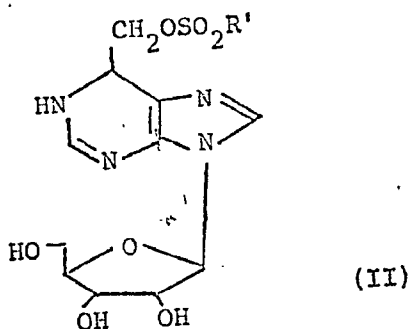
30

en la que los radicales R son iguales o diferentes y re-

030278

1 presentan un miembro seleccionado del grupo consistente
 en un resto acilo de un ácido graso no sustituido o sus-
 tituido por halógeno, que tiene de 2 a 12 átomos de car-
 bono, benzoilo, benzoilo sustituido por alcoholo inferior,
 5 por alcoxi inferior o por halógeno, isopropilideno, triti-
 lo, y tritilo sustituido por alcoholo inferior, por haló-
 geno o por alcoxi inferior; R' representa un grupo alcohili-
 lo inferior no sustituido o sustituido por alcoxi inferior,
 fenilo, fenilo sustituido por alcoholo inferior o por ha-
 10 lógeno, bencilo y para-nitrobencilo, para preparar un com-
 puesto de la fórmula

15



20

en la que R' representa lo mismo que en el compuesto (I);
 y tratar el compuesto (II) con una base.

25

2ª.- El procedimiento de acuerdo con la reivindi-
 cación 1ª, en el cual el desbloqueo se realiza por trata-
 miento del sulfonato con un amoníaco alcohólico o con una
 resina cambiadora de aniones.

3ª.- El procedimiento de acuerdo con la reivindi-
 cación 1ª, en el cual el desbloqueo se realiza por trata-
 miento del sulfonato con un reactivo débilmente ácido.

30

4ª.- El procedimiento de acuerdo con la reivindi-
 cación 3ª, en el cual el reactivo débilmente ácido es un
 miembro seleccionado del grupo consistente en ácido acéti-

1 co, ácido propiónico, ácido trifluoroacético y una resina
cambiadora de iones ácida.

5 5ª.- El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el cual el tratamiento con la base se realiza en una atmósfera de gas inerte.

10 6ª.- El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el cual la base es un miembro seleccionado del grupo que consiste en un hidróxido de metal alcalino y un hidróxido de metal alcalino-térreo, un alcoholato de metal alcalino, 1,8-diazabicyclo[5,4,0]-undeceno-7, morfolina, ciclohexilamina, piperidina, tiomorfolina y una resina cambiadora de iones básica.

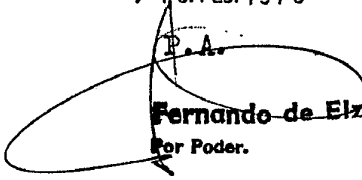
15 7ª.- "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR ISOCOFORMICINA".

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y con los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de VEINTIDOS hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 10.FEB.1978

20


P.A.
Fernando de Elzaburu
Por Poder.

25

30

030278

VAL