



RAN 4060/86-000  
**PATENTE DE INVENCION**

(10) ES	(11) NUMERO 4060 217	(10) A 1
(21)	(22) FECHA DE PRESENTACION 19 DIC. 1977	

(30) PRIORIDADES: (31) NUMERO 752.510	(32) FECHA 20 Diciembre 1976	(33) PAIS U.S.A.
---	---------------------------------	---------------------

(37) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
--------------------------	----------------------------------	--

(54) TITULO DE LA INVENCION

"UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN NUCLEOSIDO PIRIMIDINICO"

(71) SOLICITANTE (S)

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE., S.A.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

BASILEA (Suiza)

(72) INVENTOR (ES)

ALAN FREDERICK COOK

(73) TITULAR (ES)

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE., S.A.

(74) REPRESENTANTE

D. JAIME ISERN CUYAS, Agente Oficial de la Propiedad Industrial.

MEMORIA DESCRIPTIVA

El presente invento se refiere a nuevos nucleósicos pirimidínicos útiles como potentes agentes antitumorales. En particular, el presente invento se refiere a 5'-deoxi-5-fluorocitidina, 5'-deoxi-5-fluorouridina y a sus sales de adición de ácido, a un procedimiento para la preparación de estos compuestos, así como a los preparados farmacéuticos que los contienen y su preparación.

- Los compuestos del presente invento se preparan fácilmente a partir de 5-fluorocitidina o 5-fluorouridina respectivamente siguiendo procedimientos análogos a los conocidos en el arte para la conversión de citidina o uridina a los compuestos 5'-deoxi correspondientes. Así pues, el nucleósido de partida puede halogenarse en la posición 5' después de acetilización de los grupos 2', 3'-dihidroxi utilizando grupos protectores convencionales. El compuesto 5'-halo resultante se reduce luego al compuesto 5'-deoxi, que de nuevo es desprotegido mediante hidrólisis en forma de por sí conocida para obtener los productos finales 5'-deoxi deseados. Por último, si se desea, puede hacerse reaccionar la 5'-deoxi-5-fluorocitidina y 5'-deoxi-5-fluorouridina con un ácido aceptable en farmacia en forma de por sí conocida para obtener sales aceptables en farmacia. El término "sales farmacéuticamente aceptables" significa que incluyen sales atóxicas tales como las formadas con ácidos elegidos del grupo constituido por ácidos minerales inorgánicos y ácidos orgánicos, tal como el clorhidrato, bromhidrato, fosfato, sulfato, nitrato, acetato, formato, maleato, fumarato o benzoato.

Los grupos protectores de 2',3'-hidroxi preferidos son grupos de alquilideno, cicloalquilideno y aralquilideno que pueden estar ulteriormente substituidos, tal como del grupo de anisilideno, ciclohexilideno, metoximetilideno o, más preferentemente, el isopropilideno o bencilideno.

La conversión de 5-fluorocitidina o 5-fluorouridina a la forma cetálica del 2', 3'-dihidroxi protegido puede llevarse a cabo utilizando procedimientos de por sí conocidos. Así pues, en una modalidad preferida, se trata el fluoronucleósido con un ácido sulfónico orgánico tal como ácido p-toluensulfónico y un agente cetalizante tal como 2,2-dimetoxipropano en un disolvente orgánico apropiado tal como un disolvente cetónico, por ejemplo acetona. La reacción se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre alrededor de 0 y 60°C, más preferentemente a la temperatura del ambiente.

La introducción del substituyente 5'-halo puede llevarse a cabo sobre los 5-fluoronucleósidos de partida en forma conocida. Los halógenos preferidos para esta son yodo y bromo. Así pues, por ejemplo, el grupo de yodo puede introducirse mediante reacción del compuesto de substrato deseado con un agente yodante apropiado tal como metiyoduro trifenilfosfítico que puede utilizarse con un disolvente orgánico aprótico polar tal como dimetilformamida (DMF) a una temperatura comprendida entre 0 y 100°C, más preferentemente a la temperatura del ambiente. La introducción de un grupo 5'-bromo puede llevarse a cabo mediante el empleo de un agente bromante apropiado tal como

trifenilfosfina más tetrabromuro de carbono. La bromación puede llevarse a cabo en disolvente aprótico polar tal como DMF a una temperatura comprendida entre 10 y 100°C.

- La conversión de los intermediarios 5'-halo preparados tal como se ha indicado anteriormente a los compuestos 5'-deoxi correspondientes puede llevarse a cabo fácilmente mediante hidrogenación catalítica utilizando un catalizador de metal notable que puede estar soportado tal como paladio sobre carbón, paladio sobre sulfato de bario, paladio, níquel, etc. en un disolvente polar prótico tal como un alcohol, de preferencia metanol. La reacción se lleva a cabo a una temperatura en la gama de 0 a 60°C, de preferencia a la temperatura del ambiente y a una presión comprendida entre 1 y 5 atm. más preferentemente a la presión atmosférica. La reacción se lleva a cabo en presencia de una base orgánica, de preferencia una tri-alquilamina inferior tal como trietilamina.
5. 10. 15.

- Otros agentes reductores apropiados que pueden utilizarse para convertir los compuestos 5'-halo en los compuestos 5'-deoxi correspondientes incluyen hidruros metálicos complejos tal como hidruro de tributil-estaño, cianoborohidruro sódico o trietilborohidruro lítico. Puede utilizarse una temperatura comprendida entre 0 y 100°C. Los disolventes apropiados para cada uno de dichos agentes son bien conocidos en el arte.
20. 25.

La separación de los grupos protectores cetálicos, de estar presentes, puede llevarse a cabo fácilmente mediante hidrólisis utilizando procedimientos bien conocidos en el arte. Así pues, por ejemplo, se disocia

el grupo isopropilidénico utilizando tratamiento de ácido trifluoroacético a la temperatura del ambiente.

- La 5'-deoxi-5-fluorocitidina, la 5'-deoxi-5-fluorouridina y sus sales de adición de ácido aceptables en farmacia exhiben actividad contra el carcinoma de Ehrlich y el sarcoma 180 en ratones con una gama muy amplia de dosificación tanto oral como parenteralmente y son útiles como agentes antitumorales. Pueden utilizarse como medicamentos en forma de preparados farmacéuticos, con liberación directa o retardada del ingrediente activo que los contengan en asociación con un material de vehículo farmacéutico compatible. Este material de vehículo puede ser un material de vehículo inerte orgánico o inorgánico apto para administración enteral, percutánea o parenteral tal como, por ejemplo, agua, gelatina, goma arábiga, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, aceites vegetales, polialquilenglicoles, vaselina, etc. Los preparados farmacéuticos pueden adoptar forma sólida (por ejemplo de pastillas, grageas, supositorios o cápsulas), forma semi-sólida (por ejemplo de pomadas) o forma líquida (por ejemplo de soluciones, suspensiones o emulsiones). Los preparados farmacéuticos pueden esterilizarse y/o pueden contener coadyuvantes adicionales tal como agentes conservadores, estabilizantes, fijantes o emulgentes, agentes mejoradores del sabor, sales para variar la presión osmótica o sustancias que actúen como tampones. Los preparados farmacéuticos pueden prepararse en forma convencional.

#### Prueba antitumoral

Se disolvieron en agua los compuestos para ad-

ministración a animales.

Prueba del sarcoma 180

- Se implantaron subcutáneamente, mediante trocar, pequeños trozos de tumor (20-30 mg) en la región inguinal derecha de ratones albinos de 18-20 g. Los fragmentos se obtuvieron de donadores que portaban firmes tumores subcutáneos implantados 7-10 días previamente. El tratamiento empezó el día de la implantación y se prosiguió una vez por día durante un total de 8 tratamientos.
5. Después de transcurridos 8 días de la implantación se sacrificaron los animales y los tumores se extirparon y pesaron. Se calculó la relación del peso medio de los tumores del grupo testigo sin tratar (C) dividido por el peso medio de los tumores del grupo tratado (T). El porcentaje de inhibición de crecimiento de tumor se calculó a partir de la fórmula:
10. 15.

$$\% \text{ de inhibición} = 100 \frac{(C-T)}{C}$$
. El compuesto se consideró activo con una dosis particular cuando el % de inhibición  $\geq 50\%$ .

20. Prueba del carcinoma de Ehrlich

- La forma sólida de este tumor se produjo mediante implantación subcutánea de 0,5 cc de una suspensión salino-diluida de células tumorales ascíticas 1-10 derivada de ratones donadores albinos de 18-20 g implantados con una anterioridad de 7-10 días. Los procedimientos de tratamiento y evaluación fueron idénticos a los utilizados para el Sarcoma 180.
- 25.

En la Tabla 1 que sigue se resumen los resultados obtenidos de experimentos utilizando los compues-

tos del presente invento y compuestos representativos del arte anterior.

Tabla 1: Efecto de nucleósidos pirimidínicos frente al tumor sarcoma 180 en ratones

Dosis x 8 (mg/kg)	5'-deoxi-5-fluorocitidina			5'-deoxi-5-fluorouridina		
	Animales probados	Supervivientes	Inhibición %	Animales probados	Supervivientes	Inhibición %
400 i.p.	16	14	95			
200	16	14	93	16	15	88
100	16	16	86	16	16	88
50	16	15	72	16	15	89
25	16	16	64	16	14	67
12.5	8	8	37	8	7	43
400 p.o.	16	16	92	16	15	90
200	16	13	82	16	15	90
100	16	14	76	16	16	83
50	16	16	65	16	16	80
25	16	15	76	16	16	75
12,5	24	23	62	16	16	73
6,25	8	7	26	15	15	68
3,12				16	16	51
1,56				8	8	30

Tabla 2:

Efecto de nucleósidos pirimidínicos frente al carcinoma de Ehrlich en ratones

Compuesto	Dosis x 8 (mg/kg)	Animales probados	Supervi- vientes	Inhibición [%]
5'-deoxi-5-fluoro citi- citudina	400 i.p.	15	14	91
	200	24	23	72
	100	16	16	65
	50	24	23	57
	25	15	15	45
	800 p.o.	8	8	99
	400	16	16	95
	200	24	24	80
	100	24	24	71
	50	16	16	58
25	16	16	37	
5'-deoxi-5-fluoro- uridina	400 i.p.	16	14	98
	200	24	22	86
	100	24	20	71
	50	24	23	59
	25	24	22	43
	800 p.o.	8	8	99
	400	16	16	98
	200	16	16	90
	100	15	15	70
	50	8	8	56
25	8	8	27	
5'-deoxiuridina	200 i.p.	8	8	9
	100	8	8	41
2',5'-dideoxi-5- fluorouridina	400 i.p.	16	14	81
	200	16	14	68
	100	16	16	37
	200 p.o.	8	8	34

EJEMPLO 1

25. Se agitó a la temperatura del ambiente, duran-  
te 2 horas, una suspensión de 5-fluorocitidina (92 g) y  
monohidrato de ácido p-toluensulfónico (80 g) en acetona  
(1500 cc) y 2,2-dimetoxipropano (200 cc). Se adicionó  
bicarbonato sódico sólido en exceso y se agitó la mezcla  
hasta que se neutralizó por completo el ácido. Se separa-

- ron por filtración los sólidos y se lavaron con acetona y se evaporó el filtrado y las lavazas hasta sequedad. Se trituró el residuo con acetato etílico caliente (700 cc) y comenzó lentamente la cristalización. Después de almacenarse durante una noche se recogió el sólido, se lavó con acetato de etilo y se secó en vacío. Rendimiento = 99,5 g (94%) de 2',3'-O-isopropiliden-5-fluorocitidina. Se recristalizó una muestra en metanol/acetato de etilo, punto de fusión 182-184°C.
- 5.
10. Se almacenó a la temperatura del ambiente y durante 1 hora y media una solución de 2',3'-O-isopropiliden-5-fluorocitidina (32 g) y metiyoduro de trifenilfosfito (60 g) en dimetilformamida (DMF, 300 cc, seca). Se adicionó metanol (100 cc) y al cabo de 30 minutos se evaporó la solución hasta obtener un aceite y se repartió entre acetato de etilo (700 cc) y tiosulfato sódico acuoso (5%, 700 cc). Se lavó una vez la fase de acetato etílico con tiosulfato acuoso (700 cc) y dos veces con agua (700 cc), y se evaporó hasta obtener un aceite. Se disolvió este material en acetato de etilo caliente (400 cc) y se adicionó hexano a la solución caliente hasta que comenzó la cristalización. Después de almacenarse a 0°C se recogieron los cristales, se lavaron con hexano, y se secaron en vacío. Se obtuvo una segunda partida de cristales de las aguas madres. Rendimiento total = 30,1 g (69%) de 5'-deoxi-5'-yodo-2',3'-O-isopropiliden-5-fluorocitidina, punto de fusión 192-194°C.
- 15.
- 20.
- 25.
- Se trató una solución de 5'-deoxi-5'-yodo-2',3'-O-isopropiliden-5-fluorocitidina (48 g) en metanol (500 cc) y trietilamina (20 cc) con hidrógeno a la pre-

- sión atmosférica en presencia de carbón paladiado (5%, 25 g) durante 30 minutos a la temperatura del ambiente. Durante este tiempo se agitó la suspensión utilizando un vibrador. Luego se separó el catalizador mediante filtración a través de Celite <sup>R</sup>, y se evaporó el filtrado hasta sequedad y se trituró con acetato de etilo (200 cc). Los cristales, después de almacenarse durante una noche, se separaron mediante filtración, y se evaporó el filtrado hasta aproximadamente 100 cc y se almacenaron de nuevo durante una noche. Se separó una segunda partida de cristales mediante filtración y se evaporó el filtrado hasta sequedad, bombeado en vacío, lo que dio 31 g (93%) de 5'-deoxi-2',3'-O-isopropilideno-5-fluorocitidina en forma de una espuma. Este material se caracterizó por la formación de una sal picrato cristalina, punto de fusión 168-170°C.
- La 5'-deoxi-2',3'-O-isopropilideno-5-fluorocitidina (31 g) se trató con ácido trifluoroacético al 90% (200 cc) durante 40 minutos. Se evaporó la solución hasta sequedad, se evaporó repetidamente con porciones de etanol para separar agua residual y ácido trifluoroacético y se disolvió en acetato de etilo (400 cc). Se adicionó trietilamina hasta alcalinidad y después de unos pocos minutos comenzó la cristalización. Después de almacenarse durante una noche se recogieron los cristales, se lavaron con acetato de etilo y se secaron en vacío. Rendimiento = 14 g (49%) de 5'-deoxi-5-fluorocitidina. Se obtuvo material adicional mediante cromatografía de las aguas madres sobre una columna de gel de sílice (600 g) que se eluyó con acetato de etilo (4 litros) seguido de acetato de

etilo/metanol (5:1, v/v, 4 litros).

- Las fracciones apropiadas se evaporaron hasta sequedad y se aplicaron a una columna Dowex 50<sup>R</sup> (H<sup>+</sup>) (2,3 x 60 cm). Después de un lavado preliminar con agua se recuperó el material requerido mediante elución con amoníaco acuoso (1N). Se evaporaron hasta sequedad las fracciones amoniacales y el residuo se recristalizó en etanol. De este modo se obtuvieron 6,7 g de 5'-deoxi-5-fluoro-citidina adicionales. Rendimiento total = 20,7 g (78%); punto de fusión 209-211°C (descomposición).

#### EJEMPLO 2

- Se agitó a la temperatura del ambiente, durante 50 minutos, una suspensión de 5-fluorouridina (50 g) y monohidrato de ácido p-toluensulfónico (39,3 g) en acetona (750 cc) y 2,2-dimetoxipropano (94 cc). Se adicionó bicarbonato sódico sólido en exceso a la solución límpida y se agitó la mezcla hasta neutralidad. Se separaron por filtración los sólidos y se lavaron con acetona, y se combinó el filtrado y las lavazas y se evaporó hasta sequedad. El sólido residual se recristalizó en acetato de etilo (2 litros), lo que dió 48 g (83%) de 2',3'-O-isopropiliden-5-fluorouridina, punto de fusión 196-197°C.

- Se trató una solución de 2',3'-O-isopropiliden-5-fluorourisina (46,4 g) en DMF (250 cc, seca) con metiyoduro de trifenilfosfito (86,7 g) y se almacenó a la temperatura del ambiente durante 50 minutos. Se adicionó metanol (250 cc) y al cabo de 30 minutos se evaporó la solución hasta obtener un aceite y se repartió entre acetato de etilo (1 litro) y tiosulfato

sódico acuoso (5%, 1 litro). Se lavó la fase de acetato de etilo con agua (2 x 1 litro), se secó durante una noche sobre sulfato sódico y se evaporó hasta sequedad. El aceite se cristalizó en acetato de etilo (350 cc). Rendimiento = 52,9 g (85%) de 5'-deoxi-5'-yodo-2',3'-O-isopropiliden-5-fluorouridina; punto de fusión 202-203°C.

- Se trató una solución de 5'-deoxi-5'-yodo-2',3'-O-isopropiliden-5-fluorouridina (24 g) en metanol (800 cc) y trietilamina (15 cc) con hidrógeno a la presión atmosférica en presencia de carbón paladiado (12 g, 5%) durante 90 minutos a la temperatura del ambiente. Se agitó la reacción durante este tiempo utilizando un vibrador. Se separó el catalizador mediante filtración a través de Celite <sup>(R)</sup> y se lavó con metanol, se evaporó hasta sequedad el filtrado y lavazas combinados y se trituró con acetato de etilo (200 cc) durante 1 hora y se separaron por filtración los cristales. Se evaporó el filtrado hasta aproximadamente la mitad del volumen, se almacenó durante una noche y se filtró de nuevo para separar una segunda partida de cristales. Se evaporó el filtrado hasta sequedad, se bombeó en vacío y se trató, durante una hora, la 5'-deoxi-2',3'-O-isopropiliden-5-fluorouridina [UV (CH<sub>3</sub>OH) :  $\lambda_{max}$  204 nm ( $\epsilon$  10900) y 267 nm ( $\epsilon$  8670). IR (KBr): 3380, 3200, 1710, 1670 cm<sup>-1</sup>] con ácido trifluoroacético acuoso (90%, 200 cc). El producto se evaporó hasta sequedad, se coevaporó repetidamente con etanol para separar el agua y el ácido trifluoroacético y se recristalizó en acetato de etilo, lo que dió 1,35 g (79% de 5'-deoxi-5-fluorouridina; punto de fusión 189-190°C.

EJEMPLO 3

FORMULACION PARA PASTILLAS POR GRANULACION EN

HUMEDO

		<u>mg/past.</u>	<u>mg/past.</u>
5.	1. 5'-deoxi-5-fluorouridina o 5'-deoxi-5-fluorocitidina	250	500
	2. Almidón pregelatinizado	25	50
	3. Almidón modificado	25	50
	4. Almidón de maíz	25	50
10.	5. Acido estearico	2,5	2,5
	6. Estearato de magnesio	<u>1,5</u>	<u>3,0</u>
		329,0	655,5

Procedimiento

15. 1. Se mezclan los productos 1, 2, 3 y 4. Se granula con agua, se seca durante una noche y se moltura.
2. Se adiciona el producto 5 y 6 como una mezcla previa. Se mezcla durante 5 minutos. Se comprime a una presión apropiada.

EJEMPLO 4

20. FORMULACION PARA PASTILLAS POR GRANULACION EN

HUMEDO

		<u>mg/past.</u>	<u>mg/past.</u>
	1. 5'-deoxi-5-fluorouridina o 5'-deoxi-5-fluorocitidina	250	500
25.	2. Polivinil-pirrolidona	25	50
	3. Almidón modificado	25	50
	4. Almidón de maíz	25	50
	5. Estearato de magnesio	<u>2,5</u>	<u>5,0</u>
		327,5	655,0

Procedimiento

1. Se mezclan los productos 1, 3 y 4 en una mezcladora apropiada. Se granula con el producto 2 en alcohol. Se seca durante una noche y se moltura.
5. 2. Se adiciona el producto 5 en la granulación de la etapa 1 y se comprime en una prensa apropiada.

EJEMPLO 5

FORMULACIONES PARA CAPSULAS

		<u>mg/cápsula</u>	<u>mg/cáps.</u>
10.	1. 5'-deoxi-5-fluorouridina o 5'-deoxi-5-fluorocitidina	250	500
	2. Almidón de maíz	50	50
	3. Estearato de magnesio	2	5
	4. Talco	<u>10</u>	<u>20</u>
15.		312 mg	575 mg

Procedimiento

1. Se mezclan los productos 1 y 2 en una mezcladora apropiada durante 10 minutos.
2. Se adicionan los productos 3 y 4 a la mezcla de la
20. etapa 1 y se mezcla durante 5 minutos.
3. Se envasa con una máquina apropiada.

EJEMPLO 6

Formas de dosificación parenteral en seco:

- (1) Se disuelve un total de cinco gramos de
25. 5'-deoxi-5-fluorocitidina o de 5'-deoxi-5-fluorouridina en 75 cc de agua destilada, se somete la solución a una filtración bacteriológica y luego se divide asépticamente en 10 viales estériles. Luego se liofiliza la solución para obtener 500 mg de sólido seco estéril por

vial.

- (2) Se sellan en el receptáculo cristales limpios, exentos de hilazas, de 5'-deoxi-5-fluorocitidina o 5'-deoxi-5-fluorouridina en la cantidad de 500 mg por vial o ampolla y se esteriliza por calor.

- Las formas de dosificación secas antes citadas se reconstituyen antes del empleo con la adición de un disolvente acuoso estéril apropiado tal como agua para inyección o cloruro sódico isotónico o dextrosa al 5% para administración parenteral.

= . =

#### REIVINDICACIONES

- Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones.

1. Un procedimiento para la preparación de un nucleósido pirimidínico elegido del grupo constituido por 5'-deoxi-5-fluorocitidina, 5'-deoxi-5-fluorouridina y sus sales de adición de ácido aceptables en farmacia que se caracteriza porque se separa mediante hidrólisis el grupo 2',3'-O-protector de la 5'-deoxi-5-fluorocitidina o la 5'-deoxi-5-fluorouridina 2',3'-cetalizada, y porque, si se desea, se hace reaccionar la 5'-deoxi-5-fluorocitidina o -uridina resultante con un ácido aceptable en farmacia.

2. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el grupo 2',3'-O-protector que se separa mediante hidrólisis es preferentemente un grupo de alquilideno, cicloalquilideno o aral-

quilideno que puede estar substituido.

3. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque más especialmente el citado grupo 2',3'-O-protector es el grupo isopropilidénico.

5.

4. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque en una forma preferente de realización se hidroliza con ácido trifluoroacético la 5'-deoxi-2',3'-O-isopropiliden-5-fluorocitidina o 5'-deoxi-2',3'-O-isopropiliden-5-fluorouridina.

10.

5. Un procedimiento para la preparación de un nucleósido pirimidínico.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 16 páginas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

15.

Madrid, a 19 DIC. 1977

p. a.

JAIMÉ ISERN

p. p.

Firmado: JOSE F. NIETO