

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

20 DIC. 1978

Concedido el Registro de acuerdo
con los artículos 10 y 21 en la pre-
sente de... y según el con-
tenido de la Memoria adjunta.

NUMERO	47158
FECHA DE PRESENTACION	10-7-78

10 A 1

RAN 4060/86-001
PATENTE DE INVENCION

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

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	63 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07D; A61K	nº 465.217 de fecha 19 Diciembre 1977

64 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. 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

10. posición 5' directamente utilizando métodos convencionales. El compuesto 5'-halo resultante se reduce luego al compuesto 5'-deoxi, mediante hidrogenación catalítica o con un agente reductor tal como un hidruro metálico complejo. Por último, si se desea, puede hacerse reaccionar

15. 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

20. 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.

25.

La introducción del sustituyente 5'-halo puede

- llevarse a cabo de forma conocida, sobre los 5-fluoro-nucleósidos de partida. Los halógenos preferidos para esta finalidad son yodo y bromo. Así pues, por ejemplo, el grupo de yodo puede introducirse mediante reacción del
5. compuesto de sustrato 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
10. 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 un disolvente aprótico polar tal como DMF a una temperatura comprendida
15. 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
20. 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,
25. 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.

Otros agentes reductores apropiados que pueden utilizarse para convertir los compuesto 5'-halo en los compuestos 5'-deoxi correspondientes incluyen hidruros metálicos complejos tal como hidruro de tributyl-estaño, 5. 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.

- La 5'-deoxi-5-fluorociridina, la 5'-deoxi-5-
10. -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
15. 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),
20. 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
25.

- 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.
- 5.

Prueba antitumoral

Se disolvieron en agua los compuestos para administración a animales.

Prueba del sarcoma 180

10. 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. 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:
- 15.
- 20.

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

Prueba del carcinoma de Ehrlich

La forma sólida de este tumor se produjo mediante implantación subcutánea de 0,5 cc de una suspensión sa-

lino-diluida de células tumorales ascíticas 1-10 derivada de ratones donadores albinos de 18-20 g implantados con una anterloridad de 7-10 días. Los procedimientos de tratamiento y evaluación fueron idénticos a los utilizados para el Sarcoma 180.

En la Tabla I que sigue se resumen los resultados obtenidos de experimentos utilizando los compuestos 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	Super- viven- tes	Inhibición %	Animales probados	Super viven- tes	Inhibi- ción %
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 v	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.	5'-deoxi-5-fluoro- citidina	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
10.		400	16	16	95
		200	24	24	80
		100	24	24	71
		50	16	16	58
		25	16	16	37
		800 p.o.	8	8	99
15.	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	
20.	5'-deoxiuri- dina	200 i.p.	8	8	9
		100	8	8	41
	2',5'-didoxi- -5-fluorouridi- na	400 i.p.	16	14	81
		200	16	14	68
		100	16	16	37
25.		200 p.o.	8	8	34

Ejemplo 1

Se trató 5'-deoxi-5'-yodo-5-fluorocitidina (1,5 g) en metanol (30 cc) y trietilamina (1 cc) con hidrógeno a la presión atmosférica en presencia de

carbón paladiado (0,75 g, 10%) durante 90 minutos y a la temperatura del ambiente. Durante este tiempo se agitó la suspensión utilizando un vibrador. Se separó el catalizador mediante filtración y se lavó con metanol, y el filtrado y las lavazas combinados se evaporaron hasta sequedad y se disolvieron en agua (100 cc). Se aplicó la solución acuosa a una columna Dowex 50[®] (H⁺) (2,3 x 30 cm) y después de un lavado preliminar con agua (1 litro) se obtuvo el material requerido mediante elución con hidróxido amónico acuoso (2N, 2 litros). Se evaporó el eluato amoniacal hasta sequedad y el residuo se co-evaporó con etanol (2 x 200 cc) y se cristalizó en el mismo disolvente para obtener 5'-deoxi-5-fluoro-citidina; 0,685 g (69%); punto de fusión 207-208°C.

15. El material de partida se obtuvo siguiendo los dos métodos distintos siguientes:

(a) a partir de 5-fluorocitidina

Se trató una solución de 5-fluorocitidina (2,61 g) en DMP (50 cc) con metiyoduro de trifenilfosfito (5,42 g) durante 5 horas a la temperatura del ambiente. Debido a que la cromatografía de capa delgada de la mezcla reaccional indicó la presencia de material de partida, se adicionó una porción adicional de metiyoduro de trifenilfosfito (5,42 g) y se dejó que prosiguiera la reacción durante 90 minutos más. Se adicionó metanol (10 cc) y al cabo de 15 minutos se evaporó la solución hasta obtener un aceite, se disolvió en acetato de etilo/metanol (1:1, v/v, 30 cc) y se aplicó a una columna de gel de sílice (600 g). La columna se eluyó con acetato de etilo/metanol (10:1,

v/v) y se recogieron fracciones de 20 cc. Se combinaron las fracciones 190-280, se evaporó hasta un sólido amarillo y se disolvió en agua (30 cc). Se aplicó la solución a una columna Dowex 50 (H⁺) (2,3 x 40 cm) y después de lavado preliminar se eluyó la columna con hidróxido amónico 2N. Se evaporó el eluato hasta 200 g de una masa cristalina (5,4%). La recrystalización en etanol dió material puro (punto de fusión 187-189°C).

10. (b) a partir de 5'-deoxi-5'-yodo-2',3'-O-isopropiliden-5-fluorocitidina

15. Se almacenó a la temperatura del ambiente, durante 70 minutos, una solución de 5'-deoxi-5'-yodo-2',3'-O-isopropiliden-5-fluorocitidina (20 g) en ácido trifluoroacético/agua (9:1, v/v, 100 cc). Se evaporó la solución hasta sequedad, se co-evaporó con etanol (2 x 200 cc) y se disolvió en acetato de etilo (200 cc). Se adicionó trietilamina hasta neutralidad y después de almacenarse durante una noche se recogieron los cristales y se secaron. Rendimiento = 16,8 g (93%).

20. EJEMPLO 2

25. Se hidrogenó a la presión atmosférica y en presencia de carbón paladiado (5%, 145 mg) una solución de 5'-deoxi-5'-yodo-5-fluorouridina (291 mg) en metanol (10 cc) y trietilamina (0,5 cc). Al cabo de una hora y media se separó el catalizador mediante filtración y se evaporó el filtrado hasta sequedad y se disolvió en una cantidad mínima de acetato de etilo caliente. Con el enfriamiento se depositaron cristales de yoduro de trietilamonio. Estos se separaron por filtración y se evaporó el filtrado

hasta sequedad y se recristalizó en etanol. Rendimiento de 5'-deoxi-5-fluoro-uridina = 130 mg (68%).

El material de partida se obtuvo mediante los dos procedimientos distintos siguientes:

5. (a) a partir de 5-fluorouridina

Se trató una solución de 5-fluorouridina (2,62 g) en DMF (50 cc) con metilioduro de trifenilfosfito (5,42 g) durante 1 hora y tres cuartos a la temperatura del ambiente. Se adicionó metanol (10 cc) y al cabo de 30 minutos se evaporó la solución hasta obtener un aceite, se disolvió en acetato de etilo (30 cc) y se aplicó a una columna de gel de sílice (500 g). Se eluyó la columna con acetato de etilo y se recogieron fracciones de 20 cc. Se combinaron las fracciones 61-130, se evaporó hasta sequedad y se disolvió en acetato de etilo caliente (50 cc). La adición de hexano (10 cc) dió material cristalino. Después de almacenamiento a la temperatura del ambiente se recogieron los cristales, se lavaron con hexano y se secaron en vacío. Se obtuvo una segunda cosecha de las aguas madres. Rendimiento total = 1,13 g (30%); punto de fusión 174,5-175,5°C.

(b) a partir de 5'-deoxi-5'-yodo-2',3'-O-isopropilideno-5-fluorouridina

Se trató 5'-deoxi-5'-yodo-2',3'-isopropilideno-5-fluorouridina (4 g) con ácido trifluoroacético/agua (9:1, v/v, 30 cc) durante 15 minutos y a la temperatura del ambiente. Se evaporó la solución hasta sequedad, se co-evaporó con etanol (2 x 100 cc) y se recristalizó el residuo en acetato de etilo. Rendimiento = 1,865 g (88%).

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

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/cápsula</u>
10.	1. 5'-deoxi-5-fluorouridina	250	500
	o 5'-deoxi-5-fluorocitidina		
	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 etapa 1 y se mezcla durante 5 minutos.
20. 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 reduce en la posición 5' la 5'-deoxi-5'-halo-5-fluorocitidina o la 5'-deoxi-5'-halo-5-fluorouridina, 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 la reducción se lleva a cabo mediante hidrogenación catalítica.

3. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la reducción se

efectúa mediante hidruros metálicos complejos.

4. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque en una forma preferente de realización se reduce la 5'-deoxi-5'-yodo-5-fluorocitidina o la 5'-deoxi-5'-yodo-5-fluorouridina.
- 5.


5. Un procedimiento para la preparación de un nucleosido pirimidico.

- Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 14 páginas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.
- 10.

Madrid, a 10 JUL. 1978

p. a.

p. p. JAIME ISERN


Firmado: JOSE F. NIETO