

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA
Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

(10) ES	(11) NUMERO	484626 A1
(21)	(22) FECHA DE PRESENTACION	1 OCT. 1978

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES: (31) NUMERO 948.189	(32) FECHA 2 de octubre de 1.978	(33) PAIS EE. UU. de A.
(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D 405/04 // A61K 31/34, 31/505, 31/53	(63) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
(54) TITULO DE LA INVENCION PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR NUCLEOSIDOS DE PIRIMIDINA.		
(71) SOLICITANTE (ES) SLOAN-KETTERING INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE 1275 York Avenue, New York, N.Y. 10021, EE. UU. de A.		
(72) INVENTOR (ES) Carlos Lopez, Kyoichi A. Watanabe, Uri Reichmann, Jack J. Fox.		
(73) TITULAR (ES)		
(74) REPRESENTANTE D. JOSE MIGUEL GOMEZ-ACEBO Y POMBO.		

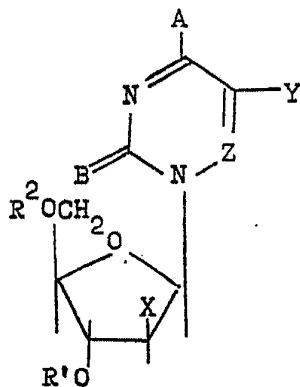
Esta invención se relaciona con un procedimiento para preparar nuevos nucleósidos 5-sustituídos de 1-(2'-deoxi-2'-sustituído- β -D-arabinofuranosil)pirimedina, de utilidad como agentes antivirales y anticancerígenos.

5 La 5-bromo- y/o 5-yodo-2'-deoxicitidina inhiben la réplica de virus simplex de herpes (HSV) (Schildkraut et al, Mol. Pharmacol., 11, 153 (1975); Greer et al, Ann. N.Y. Acad. Sci., 255, 359 (1975)) tan eficazmente como sus correspondientes análogos deoxiuridina. Los análogos deoxicitidina son menos tóxicos hacia las células no infectadas que la 5-yodo (o 5-bromo)-
10 2'-deoxiuridina, aparentemente como resultado de una cinasa de nuclexido de pirimidina inducida por virus que convierte las deoxicitidinas 5-halogenadas a los deoxicitidilatos 5-halogenados y desde aquí a los correspondientes deoxiuridinatos.

15 La 1- β -D-arabinofuranosilcitosina (ara-C), es un agente anticancerígeno conocido (Talley et al, Cancer, 20, 809 (1967)) y también inhibe la multiplicación de varios virus DNA en el cultivo celular (Buthala, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 115, 69 (1964); Feldman, et al, ibid., 122, 243 (1966)).
20 Las pruebas terapéuticas de ara-C en infecciones de herpes no fueron favorecidas debido a que su relación terapéutica:tóxica se aproximaba a la unidad (Lauter et al, Antimicrobial Agents Chemother., 6, 598 (1974)). Aunque el 1- β -D-arabinofuranosiluracilo (ara-U) está desprovisto de actividad antiviral o anticancerígena, los análogos 5-halógeno muestran actividad anti-
25 viral (Underwood et al, Arcj. Ophthamol., 72, 505 (1964)). Ara-T es activo contra los tipos 1 y 2 de HSV así como contra el virus herpes (Gentry et al, Virology, 65, 294 (1975); Aswell et al, Proc. Amer. Soc. Microbiol., 240 (1975)).
30 Igualmente, 5-metil-ara-C es activo contra las células infecta-

das con virus herpes en donde está presente deaminasa de
deoxicitidina indicando que este nucleosido sirve como un
donante intracelular de ara-T que es fosforilado al nucleotido
el cual inhibe entonces la réplica viral (Aswell et al, Ann.
5 N.Y. Acad. Sci., 284, 342 (1977)). El compuesto 5-metil-ara-C
está libre de actividad anticancerígena. (Doerr et al, J. Med.
Chem., 10, 247 (1967)). Los derivados 5-halógeno-ara-C han
mostrado también actividad anti-virus herpes y son activos
contra la queratitis experimental de herpes en conejos (Renis
10 et al, Antimicrobial Agents Chemotherap., 675 (1967)).

Los nucleosidos obtenidos por el procedimiento
de la invención pueden representarse por la siguiente fórmula
I:



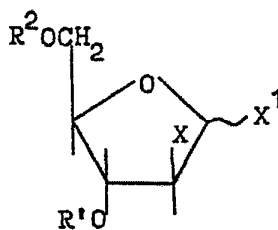
I

15 en la que A es OR^3 (ceto o enol), SR^3 , NR^3R^4 ó NHacilo; R^3
y R^4 que son iguales o diferentes representan hidrógeno,
alquilo inferior de 1 a 7 átomos de carbono tal como metilo,
etilo, propilo y similares, aralquilo tales como bencilo,
benzhidrilo, p-metoxibencilo y similares, o arilo tales fenilo,
20 p-clorofenilo, toloilo, p-metoxifenilo, naftilo y similares;
NHacilo puede ser una alcanoil- o aroil-amida. El término
"alcanoil" intenta incluir un radical alquilcarbonilo en don-
de la mitad alquilo es un radical hidrocarburo saturado o insa-

turado de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 20 átomos de carbono; B es oxígeno o azufre; X es halógeno tal como fluor, cloro, bromo o yodo, así como un pseudo-halógeno tal como un grupo alquil(inferior)sulfonilo de 1 a 5 átomos de carbono tal como metil-, etil-, propil-, isopropil-, butil-, isobutil-, terc-butil- y pentilsulfonilo o arilsulfonilo tal como una agrupación benceno-, p-tolueno-, p-nitrobencenosulfonilo; Y es halógeno tal como fluor, cloro, bromo o yodo; amino; monoalquilamino o monoaralquilamino tal como metilamino, etilamino, propilamino o bencilamino y similares; dialquilamino tal como dimetilamino, dietilamino, dibencilamino, pirrolidino, piperidino o morfolino y similares; aminometilo; hidroximetilo; alquilo inferior de 1 a 7 átomos de carbono tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo y similares; arilo tal como fenilo, p-tolilo, p-clorofenilo, p-aminofenilo, p-nitrofenilo, p-anisilo y similares; aralquilo tal como bencilo, benzhidrilo, p-clorobencilo, m-clorobencilo, p-nitrobencilo y similares; vinilo y vinilo sustituido; etinilo y etinilo sustituido. Los términos vinilo sustituido o etinilo sustituido designan la sustitución de la posición β de vinilo o etinilo por alquilo de 1 a 5 átomos de carbono tal como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo y similares, o aralquilo tal como bencilo, p-clorobencilo, p-nitrobencilo y similares, o arilo tal como fenilo, p-nitrofenilo, p-tolilo, p-anisilo, naftilo y similares; Z es metino ($-\text{CH}=\text{}$) o nitrógeno; R^1 y R^2 que son iguales o diferentes representan hidrógeno o grupos acilo que pueden ser grupos alcanilo de 1 a 20 átomos de carbono tal como formilo, acetilo, propionilo, isopropionilo, butirilo, isobutirilo, terc-butirilo, velerilo, pivaloilo, caproilo, caprilo, laurilo, miristilo, palmitilo, estearilo, araquidilo, estiligilo, palmitolilo, oleilo,

linolenilo, araquidonilo y similares; R^1 y R^2 pueden ser también aroilo tal como bencilo y naftoilo en donde el grupo aromático puede estar sustituido adicionalmente por mitades alquilo, alcoxi, halo o nitro, tal como p-tolnoilo, p-anisoilo, p-clorobenzoilo, p-nitrobenzoilo o 2,4-dinitrobenzoilo y similares. R^2 puede ser también adamantoilo.

Los materiales de partida preferidos para el procedimiento de la presente invención pueden ser representados bajo la siguiente fórmula general II:

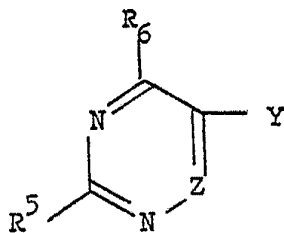


II

en donde R^1 y R^2 se definen como anteriormente; X es halógeno tal como fluor, cloro, bromo y yodo así como pseudo-halógeno tal como un grupo alquilsulfonilo inferior de 1 a 5 átomos de carbono tal como metil-, etil-, propil-, isopropil-, butil-, isobutil-, terc-butyl- y pentilsulfonil- ó arilsulfonilo tal como una agrupación benceno-, p-tolueno-, p-nitrobenzenosulfonilo; X^1 es cloro o bromo.

La síntesis de los compuestos de fórmula II ya es conocida (Reichman et al, Carbohidr. Res., 42, 233 (1975); Ritzmann et al, ibid., 39, 227 (1975)).

Los materiales de partida de fórmula II se hacen reaccionar con un nucleófilo de fórmula general III:



III

en la que R⁵ es un grupo tri-sustituído-sililoxi ó tri-sustituído-sililmercapto. El grupo sililo tri-sustituído puede ser trimetil-, trietil-, tripropil-, tri-isopropil-, tributil-,
5 terc-butildimetil-, tetrametilenisopropil-, tetrametileno-terc-butil-, tribencil-, ó fenildimetilsililo o similares.

R⁶ es dialquilamino, alquilmercapto, alcoxi, tri-sustituído-sililoxi, bis(tri-sustituído-silil)amino, tri-sustituído-sililmonoalquilamino, tri-sustituído-sililalcanoilamino, tri-sustituído-sililaroilamino o tri-sustituído-sililmercapto y similares. El grupo tri-sustituído-sililo es el mismo que en R⁵ anteriormente. La representación de sililalcanoilamino puede ser sililacetamido, sililpropionamida y similares, y el grupo sililaroilamino puede ser sililbenzamido,
10 sililtoluamido, sililanisamido y similares. El grupo dialquilamino puede ser dimetilamino, dietilamino, dibencilamino, pirrolidino, piperidino, morfolino. El grupo alquilamino puede ser metilamino, etilamino, propilamino y bencilamino. Los grupos alquilmercapto y alcoxi representan un grupo alquilo inferior de 1 a 7 átomos de carbono sustituido por azufre o oxígeno,
15 tal como metilo, etilo, propilo y similares; Z es metino (- CH =) o nitrógeno; Y es halógeno (fluor, cloro, bromo o yodo); alquilo inferior de 1 a 5 átomos de carbono tal como metilo, etilo, propilo, butilo, isobutilo, terc-butilo,
20 pentilo y similares; arilo tal como fenilo, p-tolilo, p-clorofenilo, p-aminofenilo, p-nitrofenilo, p-anisilo y similares;

5 aralquilo tal como bencilo, benzhidrilo, p-clorobencilo, m-clorobencilo, p-nitrobencilo y similares; vinilo y vinilo sustituido; etinilo y etinilo sustituido; bis(tri-sustituido-silil)amino; tri-sustituido-sililalquilamino; bis(tri-sustituido-silil)aminometilo; y tri-sustituido-sililoximetilo.

10 La representación de la agrupación tri-sustituido-sililo es la misma que la descrita anteriormente. Los terminos vinilo sustituido o etinilo sustituido representan la sustitución de la posición β de vinilo o etinilo por alquilo, aralquilo o arilo. El término alquilo representa un grupo hidrocarburo saturado de 1 a 5 átomos de carbono tal como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo y similares; aralquilo tal como bencilo, p-nitrobencilo, p-clorobencilo y similares; arilo tal como fenilo, p-nitrofenilo, p-clorofenilo, tolilo, 15 anisilo, naftilo y similares.

Con respecto a las definiciones anteriores, los grupos tales como alquilo, etc., pueden tener los siguientes contenidos en átomos de carbono:

GRUPO	CONTENIDO ATOMOS CARBONO	
	GENERAL	PREFERIDO
Alquilo	1 - 20	1 - 7
Arilo	6 - 18	6 - 10
Vinilo	2 a 8	2 - 4
Acetenilo	2 a 8	2 - 4
25 Acido carboxílico		
Alifático	1 a 20	2, 6 - 20
Aromático	7 a 11	7 - 9

30 La reacción se efectua en un disolvente aprótico tal como un hidrocarburo halogenado (por ejemplo, cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano, etc.), un hidrocarburo aromático (benceno, tolueno, xileno, etc.), derivados de ácidos

carboxílicos tales como acetato de etilo, acetonitrilo o N,N-dimetilacetamida, preferiblemente en cloruro de metileno o dicloroetano, a temperaturas de 0 a 140°C, con preferencia de 20 a 30°C, durante un periodo de 6 horas a 10 días.

5 La relación molar de los reactantes, fórmula II a fórmula III, puede ser de 1 a 10, preferiblemente de 1 a 3.

Tras terminarse la reacción, la mezcla de reacción se enfría adecuadamente añadiendo un exceso de alcohol tal como metanol, etanol, propanol y similares a la mezcla de reacción, para hidrolizar los grupos tri-sustituído-sililo. El material insoluble se separa por filtración y se lava con disolvente tal como cloruro de metileno. La combinación del filtrado y lavados se evapora hasta sequedad in vacuo.

10

Los 3',5'-di-O-acilnucleosidos (fórmula I anterior) pueden obtenerse en estado puro por cristalización directa del residuo en varios disolventes tal como alcohol preferiblemente etanol o sistemas disolventes tal como alcohol-dialquileter o éter de petróleo, preferiblemente etanol-éter dietílico, o bien por cromatografía en una columna de gel de sílice G60 empleando varios sistemas disolventes con preferencia cloroformo-metanol (40:1 v/v) como eluyente.

15

20

El nucleósido libre de fórmula I en donde X es F y R¹ y R² son hidrógeno, se obtiene por saponificación del intermediario 3', 5'-di-O-acilo con un alcóxido de metal alcalino en alcohol, preferiblemente metóxido sódico 0,01 a 0,1 M en metanol, o bien, cuando A no es SH ó SR, por tratamiento del nucleosido 3',5'-protegido con una mezcla de amina-alcohol, preferiblemente amoníaco metanólico al 10-30%, a una temperatura comprendida entre -10 y 100°C, con preferencia a 10-30°C durante 5 minutos-- 3 días.

25

30

El nucleosido libre de fórmula I en donde X es cloro o bromo y R¹ y R² son hidrógeno, se prepara a partir del correspondiente intermediario 3',5'-di-O-alcanoilo (fórmula I en donde X es cloro o bromo y R¹ y R² que son iguales o diferentes representan grupos alcanoilo inferior tal como acetilo, propionilo, butirilo y similares) por tratamiento con un ácido mineral en agua o alcohol, preferiblemente 5-15% de cloruro de hidrógeno en metanol.

El nucleosido libre (fórmula I en donde A es un grupo amino, amino monosustituído o amino disustituído) forma sales de adición de ácido con ácidos orgánicos e inorgánicos. Las sales de adición de ácido preferible son las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición no farmacéuticamente aceptables pueden convertirse a las farmacéuticamente aceptables mediante técnicas de intercambio iónico ya conocidas en la materia. Ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen las formadas con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido acético, ácido succínico, ácido maléico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y similares.

Los nucleosidos libres (fórmula I) y sus sales de adición de ácido son agentes terapéuticos de utilidad que exhiben actividad antiviral y anticancerígena y que pueden emplearse en forma de preparados farmacéuticos que los contiene en asociación con un vehículo farmacéutico compatible que puede ser un material vehículo inerte orgánico o inorgánico adecuado para la administración enteral o parenteral tal como, por ejemplo, agua, gelatina, goma arábiga, lactosa, almidones, estearato de magnesio, talco, aceites vegetales, polialquilen-

glicoles, vaselina, etc. Los preparados farmacéuticos pueden obtenerse en forma sólida (por ejemplo, como tabletas, grageas, supositorios o cápsulas) o en forma líquida (por ejemplo, como soluciones, suspensiones o emulsiones). Los preparados pueden esterilizarse y/o pueden contener adyuvantes tales como agentes preservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, sales para variar la presión osmótica o tampones. Dichos preparados pueden contener también otros agentes terapéuticos.

Los nucleosidos de 4-tiopirimidina de fórmula I en donde A es SH se obtienen por tiación de un 3',5'-di-O-acilnucleosido de fórmula I en donde A es OH e Y es fluor, alquilo, arilo, aralquilo, vinilo o etinilo, con pentasulfuro de fósforo (P_2S_5) en dioxano, a una temperatura de 20 a 120°C, preferiblemente 25-100°C, durante un periodo de 10 minutos a 24 horas. La relación molar con respecto a P_2S_5 es de 1:0,5 a 1:2. El nucleosido de 4-tiopirimidina libre se obtiene por saponificación como anteriormente se ha descrito.

El nucleosido de 4-alquilmercapto- ó 4-aralquilmercaptopirimidina en donde A es SR se obtiene por tratamiento del nucleosido de 4-tiopirimidina libre (Fórmula I, A = SH, $R^1 = R^2 = H$) con un haluro de alquilo o aralquilo o sulfato de dialquilo en agua o alcohol, en presencia de un hidróxido de metal alcalino o alcóxido de metal alcalino, preferiblemente de 1 a 1,2 equivalentes de hidróxido sódico en agua o 1 - 1,2 equivalentes de metóxido sódico en metanol. El haluro de alquilo representa bromuro o yoduro de alquilo inferior de 1 a 5 átomos de carbono tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo y similares. El haluro de aralquilo incluye cloruro o bromuro de bencilo,

p-clorobencilo, p-bromobencilo, p-nitrobencilo, p-metilbencilo, p-metoxibencilo y similares.

Los nucleosidos 4-amino-sustituídos (Formula I, $R^1, R^2 = H, A = NR^3R^4$ en donde R^3 y R^4 pueden ser grupos iguales o diferentes tales como hidrógeno, alquilo, aralquilo o arilo como se ha definido anteriormente; Y y Z se definen como en la fórmula III anterior; B es azufre u oxígeno), se obtienen también a partir de 4-tionucleosidos (Fórmula I, $A = SH; R^1, R^2 = H$), nucleosidos de 4-alquil- o aralquilmercapto (Formula I, $A = SR; R^1, R^2 = H$) o sus análogos 3',5'-di-O-acilo (Formula I, $A = SH$ ó SR) en donde R^1 y R^2 son grupos alcanilo o arilo iguales o diferentes) por tratamiento con la correspondiente amina (incluyendo amoniaco) en agua o alcohol (preferiblemente metanol) a una temperatura de 0 a 150°C, bajo una presión de 1 5 atmósferas.

Los nucleosidos 4-hidroxi-sustituídos (fórmula I en donde A es ON) se preparan también por hidrólisis ácida de 4-amino- ó 4-acilamino-nucleosidos (fórmula I, $A = NR^3R^4$ ó NHacilo) y 4-tio- ó 4-sustituído-tio-nucleosidos (fórmula I, $A = SH$ ó SR). De este modo, el tratamiento de 4-amino- ó 4-acilamino-nucleosidos (Formula I, $A = NR^3R^4$ ó NHacilo; $Y = F, Cl, Br, etc.$; como se define en la fórmula III; $Z = CH$ ó $N, B = O$ ó S ; X como se define en la fórmula II; R^1 y $R^2 = H$ ó como se define en la fórmula II) con un ácido mineral u orgánico acuoso, preferiblemente ácido acético al 50-80%, a reflujo, durante un periodo de 10 minutos a 24 horas, seguido por la evaporación del disolvente in vacuo, proporciona los correspondientes 4-hidroxi-nucleosidos. Igualmente, el tratamiento de 4-tio- ó 4-sustituído-tio-nucleosidos (Formula I, $A = SH$ ó SR como anteriormente se ha definido; R^1, R^2, B, X, Y, Z como anteriormente se ha definido para los análogos 4-amino) con un ácido mineral u orgánico acuoso, preferible-

mente 1,5 - 6 equivalentes de ácido monocloroacético bajo reflujo, durante 1-72 horas, seguido por la separación del disolvente *in vacuo*, proporciona los correspondientes 4-hidroxi-nucleosidos.

5 Los 5-halógeno-nucleosidos (Formula I, A = OH, Y = Cl, Br ó I) se obtienen también por halogenación directa. Los nucleosidos de 5-cloropirimidina (Formula I, A = OH, y . Cl) se preparan por tratamiento de los derivados 5-insustituídos (Formula I, A = OH, Y = H) en agua, alcohol de 1 a 4
10 átomos de carbono tal como metanol, etanol, propanol o butanol y similares, o un ácido alcanóico inferior de 2 a 6 átomos de carbono tal como ácido acético, propiónico, butírico, valérico o caprónico y similares, o dioxano o una mezcla de agua y dioxano, más preferiblemente ácido acético, con 1,5 a 2
15 equivalentes de cloro, preferiblemente en una solución en tetracloruro de carbono, bajo reflujo, durante 10-20 minutos, seguido por evaporación hasta sequedad *in vacuo*. La bromación y yodación se efectúan también similarmente a una temperatura de 15-60° sustituyendo el cloro por bromo o yodo. El disolvente más preferible para estas reacciones es dioxano y se requiere la presencia de una cantidad catalítica de ácido nítrico. La N-bromosuccinimida y N-yodosuccinimida son también
20 unos agentes halogenantes eficaces.

25 Los análogos citosina (Formula I, A = NH₂, NR³R⁴) se broman o yodan también similarmente empleando ácido brómico o yódico como catalizador. De nuevo, la N-bromosuccinimida, N-yodosuccinimida o cloruro de yodo son unos agentes halogenantes eficaces.

30 Los 5'-O-alcanoil-nucleosidos (Formula I, en donde R² es un grupo alcanoilo de 4 a 20 átomos de carbono;

R¹ es hidrógeno; A, B, X, Y y Z se definen como en la fórmula I) se obtienen por tratamiento del correspondiente nucleosido libre o la sal hidrocioruro (si el nucleosido contiene un grupo amina) con 1,1 equivalentes de haluro de alcanoil en dimetilformamida o dimetilacetamida, a una temperatura de 0-100°, preferiblemente a temperatura ambiente, durante un periodo de 1-72 horas. El término haluro de alcanoil incluye cloruro o bromuro de un ácido graso saturado o insaturado conteniendo de 4 a 20 átomos de carbono tales como ácidos n-butírico, isobutírico, n-valerico, isovalérico, caprónico, cáprico, laurico, mirístico, palmítico, estearico, araquídico, estilígico, palmitoleico, oleico, linolenico ó araquidónico y similares.

Terminada la reacción, la mezcla se concentra in vacuo y el residuo se tritura totalmente primero con éter, preferiblemente éter dietílico, y luego con solución de bicarbonato sódico 1-2 N. El residuo se cristaliza en un alcohol adecuado tal como metanol, etanol, propanol, isopropanol, n-butanol y similares o en un éster de ácido alcanóico tal como acetato de etilo, propionato de metilo y similares o en una mezcla de tales disolventes.

Los 5'-O-aroil-nucleosidos (fórmula I en donde R² es aroilo tal como benzoilo, toluoilo, p-clorobenzoilo, p-nitrobenzoilo, anisoilo, naftoilo y similares; R¹ es hidrógeno; A, B, X, Y y Z se definen como en la fórmula I) y los 5'-O-adamantoil-nucleosidos (fórmula I) en donde R² es adamantoilo; R¹ es hidrógeno; A, B, X, Y y Z se definen como en la fórmula I) se preparan también de una manera similar a partir de los correspondientes nucleósidos libres o de la sal hidrocioruro (si el nucleosido contiene grupo amino) por trata-

miento con 1,5 a 4 equivalentes de los correspondientes haluros de acilo.

Los siguientes ejemplos intentan ilustrar adicionalmente la invención sin por ello limitarla.

5

EJEMPLO 1

10

15

20

25

A una solución de 3,6 g (0,01 moles) de bromuro de 3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor-D-arabinofuranosilo en 50 ml de cloruro de metileno, se añade una solución en cloruro de metileno de 5-cloro-tris(trimetilsilil)citosina (preparada a partir de 4,3 g (0,03 moles) de 5-clorocitosina, como sigue: se calienta bajo reflujo, hasta obtener una solución clara, una mezcla de 5-clorocitosina y 5-15 mg de sulfato amónico en 43 ml de hexametildisilazano. El hexametildisilazano en exceso se separa por evaporación in vacuo y el residuo se disuelve en 25 ml de cloruro de metileno). La mezcla se agita durante 5 días a temperatura ambiente. Se añaden 7 ml de metanol a la mezcla de reacción y la suspensión se filtra a través de una almohadilla de Celite y se lava completamente con cloruro de metileno. El filtrado y lavados combinados se evaporan hasta sequedad in vacuo y el residuo se cristaliza en etanol para dar 860 mg de 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-clorocitosina, p.f. 233°.

Microanálisis (C₁₈H₁₇ClF₃N₃O₆).

Calculado C, 50,77; H, 4,02; F, 4,46; N, 9,87. Encontrado: C, 51,02; H, 4,18; F, 4,34; N, 9,80.

30

El licor madre de cristalización se evapora hasta sequedad in vacuo a un jarabe que se cromatografía sobre una columna de gel de sílice G60 (100 g aproximadamente) empleando cloroformo-metanol (40:1 v/v) como eluyente. Se recogen fracciones de 20 ml y cada fracción se comprueba mediante cromatografía

de capa fina. Las fracciones adecuadas (7 - 20) se recogen y evaporan hasta sequedad in vacuo y el residuo se cristaliza en etanol para dar un producto adicional (968 mg) idéntico en todos los aspectos a una muestra auténtica.

- 5 siguiendo el mismo procedimiento pero empleando los correspondientes análogos de citosina como materiales de partida, se preparan también los siguientes compuestos:
- 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bromocitosina.
- 10 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina.
- 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-metilcitosina.
- 15 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-etilcitosina.
- 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bencilcitosina.
- 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-fenilcitosina.
- 20 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-vinilcitosina.
- 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-etinilcitosina.
- 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-aminocitosina.
- 25 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bencilaminocitosina.
- 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-aminometilcitosina.
- 30 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofurano-

sil)-5-hidroximetilcitosina.

1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-6-azacitosina.

5

1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-metil-6-azacitosina.

siguiendo el mismo procedimiento pero empleando bromuro de 3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- α -D-arabinofuranosilo y los correspondientes análogos de citosina como materiales de partida, se preparan los siguientes nucleósidos:

10

1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-fluorcitosina.

1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-clorocitosina.

15

1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-bromocitosina.

1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina.

1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-metilcitosina.

20

1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-metil-6-azacitosina.

siguiendo el mismo procedimiento pero empleando bromuro de 3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- α -D-arabinofuranosilo y los correspondientes análogos de citosina como materiales de partida, se obtienen los siguientes compuestos:

25

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)citosina.

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-fluorcitosina.

30

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-clorocitosina.

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-bromocitosina.

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina.

5 1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-metilcitosina.

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-metil-6-azacitosina.

EJEMPLO 2

10 Se agita durante 5 días a temperatura ambiente, una mezcla de 11,5 g de bromuro de 3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor-D-arabinofuranosilo y 2,4-bis(trimetilsililoxi)-pirimidina (preparada por reflujo de una mezcla de 5 g de uracilo y 5-15 mg de sulfato amónico en 25 ml de hexa-metildisilazano, hasta que se obtiene una solución clara seguido por
15 separación del exceso de hexametildisilazano in vacuo) en 150 ml de cloruro de metileno. Se añaden 5 ml de metanol a la mezcla y la suspensión se filtra a través de una almohadilla de celite. El filtrado se evapora in vacuo y el residuo se tritura con
20 éter dietílico para dar un producto en bruto que se recristaliza en etanol para dar 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)uracilo puro, 5,8 g, p.f. 179-180°. Microanálisis (C₁₈H₁₇F N₂O₇).
Calculado C, 55,10; H, 4,37; F, 4,84; N, 7,14. Encontrado:
25 C, 54,93; H, 4,42; F, 4,78; N, 7,04.

siguiendo el mismo procedimiento pero empleando los correspondientes análogos uracilo como materiales de partida, se preparan también los siguientes compuestos:

30 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-fluoruracilo.

1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-clorouracilo.

1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofurano-
sil)-5-bromouracilo.

1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofurano-
sil)-5-iodouracilo.

5 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofurano-
sil)-4-S-metiltiouracilo.

1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofurano-
sil)-6-azatimina.

10 De acuerdo con el procedimiento anterior, pero
cuando en lugar del bromuro de 3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-
2-fluor-D-arabinofuranosilo se emplea cloruro de 3,5-di-O-
acetil-2-cloro-2-deoxi- α -D-arabinofuranosilo, se obtienen los
siguientes compuestos:

15 1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-
fluoruracilo.

1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-
clorouracilo.

1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-
5-bromouracilo.

20 1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-
iodouracilo.

1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-
timina.

25 1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-6-
azatimina.

30 De acuerdo con el ejemplo principal anterior,
pero utilizando bromuro de 3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi-D-
arabinofuranosilo en lugar de bromuro de 3-O-acetil-5-O-
benzoil-2-deoxi-2-fluor-D-arabinofuranosilo, se obtienen los
siguientes compuestos:

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-

fluoruracilo.

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi-β-D-arabinofuranosil)-5-clorouracilo.

5

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi-β-D-arabinofuranosil)-5-bromouracilo.

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi-β-D-arabinofuranosil)-5-iodouracilo.

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi-β-D-arabinofuranosil)-timina.

10

1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi-β-D-arabinofuranosil)-6-azatimina.

EJEMPLO 3

15

Se calienta bajo reflujo, durante 48 horas, una mezcla de 650 mg de 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor-β-D-arabinofuranosil)-5-fluorocitosina en 50 ml de ácido acético al 80 %. Después de la separación del disolvente in vacuo, el residuo se cromatografía sobre una columna de gel de sílice G60 (22 x 2 cm) empleando como eluyente CHCl₃ : MeOH (30 : 1 V/v. Cada fracción se comprueba por cromatografía de capa fina y las fracciones adecuadas se recogen y evaporan in vacuo y el residuo se cristaliza en etanol para dar 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor-β-D-arabinofuranosil)-5-fluoruracilo puro, 300 mg, p.f. 177-179°.

20

Análisis (C₁₈H₁₆F₂N₂O₇).

25

Calcd. C, 52,69; H, 3,93; F, 9,26; N, 6,83. Encontrado:

C, 52,68; H, 3,90; F, 9,60; N, 6,92.

Siguiendo el mismo procedimiento, se preparan los siguientes nucleosidos de uracilo a partir de los correspondientes nucleosidos de citosina:

1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-clorouracilo.

1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bromouracilo.

5 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodouracilo.

1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-6-azauracilo.

10 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-6-azatimina.

EJEMPLO 4

Se disuelve 1 g de 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bromocitosina en 100 ml de amoniaco metanólico saturado y la solución se deja reposar durante 24 horas a temperatura ambiente. El disolvente se separa in vacuo y el residuo se cristaliza en etanol para dar 560 mg de 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bromocitosina, p.f. 201-202°. Análisis (C₉ H₁₁ Br F N₃ O₄). Calcd. C, 33,55; H, 3,42; F, 5,86; N, 12,97. Encontrado: C, 33,30; H, 3,70; F, 5,68; N, 12,69.

20 Siguiendo el mismo procedimiento, se preparan los siguientes compuestos a partir de los correspondientes nucleósidos bloqueados indicados en el ejemplo 1:

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-clorocitosina.

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina.

25 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-metilcitosina.

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-etilcitosina.

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bencilcitosina.

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-fenilcitosina.

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-vinilcitosina.

30 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-etinilcitosina.

- 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-aminocitosina.
1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bencilaminocitosina.
1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-aminometilcitosina.
1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-hidroximetilcitosina.
5
1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-metil-6-azacitosina.
1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-fluorcitosina.

siguiendo el mismo procedimiento pero empleando cloruro de hidrógeno metanólico saturado en lugar de amoniaco metanólico, con los correspondientes nucleosidos bloqueados, se preparan los siguientes compuestos:

10
Hidrocloruro de 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-fluorcitosina

15
Hidrocloruro de 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-clorocitosina.

Hidrocloruro de 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-bromocitosina.

Hidrocloruro de 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina.

20
Hidrocloruro de 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-metilcitosina.

Hidrocloruro de 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-metil-6-azacitosina.

25
Hidrocloruro de 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-fluorcitosina.

Hidrocloruro de 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-clorocitosina.

Hidrocloruro de 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-bromocitosina.

30
Hidrocloruro de 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina.

Hidrocloruro de 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-metilcitosina.

Hidrocloruro de 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-metil-6-azacitosina.

5

EJEMPLO 5

Se disuelven 150 mg de 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)timina en 15 ml de amoniacometanólico saturado y la mezcla se deja reposar durante 16 horas. El disolvente se separa por evaporación in vacuo y el

10

residuo se cristaliza en agua para dar 80 mg de 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)timina, p.f. 185-185,5°. Microanálisis (C₁₀ H₁₃ F N₂ O₅).

Calcd. C, 46,15; H, 5,00; F, 7,30; N, 10,76. Encontrado: C, 45,98; H, 4,89; F, 7,16; N, 10,58.

15

siguiendo el mismo procedimiento pero empleando los correspondientes nucleosidos bloqueados, se preparan los siguientes compuestos:

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-fluoruracilo.

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-clorouracilo.

20

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bromouracilo.

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodouracilo.

1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-6-azatimina.

De acuerdo con el ejemplo principal anterior, pero empleando cloruro de hidrógeno metanólico saturado en lugar de amoniacometanólico, con los correspondientes di-O-acetil-nucleósidos, se obtienen los siguientes compuestos:

25

1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-fluoruracilo.

1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-clorouracilo.

1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-bromouracilo.

30

1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-iodouracilo.

- 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)timina.
- 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-6-azatimina.
- 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-fluoruracilo.
- 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-clorouracilo.
- 5 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-bromouracilo.
- 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-iodouracilo.
- 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)timina.
- 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-6-azatimina.

EJEMPLO 6

10 A una solución de 500 mg de 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)uracilo y 100 mg de acetato sódico en 5 ml de ácido acético glacial, se añade una solución de 240 mg de bromo en 1 ml de ácido acético glacial. Después de 30 minutos a temperatura ambiente, el disolvente se separa por evaporación in vacuo. Se separan las trazas de ácido acético mediante varias co-evaporaciones con tolueno. El residuo se disuelve en 50 ml de amoníaco metanólico saturado y la mezcla se deja reposar a temperatura ambiente durante 2 días. El disolvente se separa por evaporación in vacuo y el

15

20 residuo se cristaliza en agua para dar 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-bromouracilo (325 mg), p.f. 214-216°. Análisis ($C_9 H_{10} Br F N_2 O_5$).
Calcd. C, 33,25; H, 3,10; F, 5,85; N, 8,62. Encontrado: C, 33,57; H, 3,30; F, 5,89; N, 8,66.

25 De acuerdo con el procedimiento anterior, pero empleando 1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)uracilo ó 1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)uracilo en lugar de 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)uracilo y cloruro de hidrógeno metanólico en lugar de amoníaco metanólico, se obtienen

30

1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-bromouracilo y
1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-bromouracilo.
Todos estos 5-bromouracil-nucleosidos obtenidos en el ejemplo 6
son idénticos en todos los aspectos a los correspondientes nu-
cleosidos preparados en el ejemplo 5.

EJEMPLO 7

A una mezcla de 400 mg de 1-(3-O-acetil-5-O-
benzoil-2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)uracilo y 130 mg
de yodo en 5 ml de ácido acético glacial, se añade ácido nítri-
co fumante (densidad específica 1,5) gota a gota con agitación
hasta que desaparece el color del yodo. Después de la evapora-
ción in vacuo, el residuo se tritura con agua y se recoge por
filtración el producto insoluble (515 mg).

El producto en bruto (200 mg) se disuelve en
50 ml de amoniaco metanólico saturado. Después de 2 días, el
disolvente se separa por evaporación y el residuo se disuelve
en una pequeña cantidad de etanol. A la solución se añade éter
dietílico y el producto se recoge por filtración y recristali-
za en etanol para dar 80 mg de 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabi-
nofuranosil)-5-iodouracilo, p.f. 216-217°.
Microanálisis (C₉ H₁₀ F I N₂ O₅).
Calcd. C, 29,05; H, 2,71; F, 5,11; N, 7,53. Encontrado: C, 29,11;
H, 2,87; F, 4,99; N, 7,50.

De acuerdo con el procedimiento anterior, en
donde en lugar de 1-(3-O-acetil-5-O-benzoil-2-deoxi-2-fluor-
 β -D-arabinofuranosil)uracilo y amoniaco metanólico, se emplea
una combinación de 1-(3,5-di-O-acetil-2-cloro-2-deoxi- β -D-
arabinofuranosil)uracilo ó 1-(3,5-di-O-acetil-2-bromo-2-deoxi-
 β -D-arabinofuranosil)uracilo y cloruro de hidrógeno metanóli-
co, se obtienen 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-
iodouracilo y 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-

iodouracilo.

Los 5-iodouracil-nucleosidos obtenidos en este ejemplo son idénticos en todos los aspectos a los correspondientes compuestos preparados en el ejemplo 5.

5

EJEMPLO 8

10

15

20

Una mezcla de 610 mg de hidrocloreto de 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)citosina, 2,2 ml de ácido acético glacial, 196 mg de ácido iódico, 327 mg de yodo, 1,5 ml de tetracloreto de carbono y 0,75 ml de agua se agita a 40-50°C durante 2,5 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. Se añaden 6 ml de agua y precipita un material amarillo [650 mg, p.f. 115-125° (desc)] el cual se filtra y se disuelve en 100 ml de agua y la solución de color marrón rojizo se pasa entonces a través de una columna de Amberlite IR-45 (OH⁻, 25 ml). La columna se lava con 200 ml de agua. Los eluidos y lavados combinados se evaporan in vacuo y el residuo incoloro se disuelve en 10 ml de cloruro de hidrógeno metanólico. Se depositan 190 mg de hidrocloreto de 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina como cristales incoloros, p.f. 177-181° (descomposición).

Análisis (C₉ H₁₁ F I N₃ O₄ HCl).

Calcd. C, 26,50; H, 2,94; F, 4,66; N, 10,30. Encontrado:

C, 26,55; H, 3,06; F, 4,44; N, 10,20.

25

30

De acuerdo con el procedimiento anterior, pero en donde en lugar de 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-citosina se utiliza 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)citosina ó 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)citosina, se obtienen Hidrocloreto de 1-(2-cloro-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina e hidrocloreto de 1-(2-bromo-2-deoxi- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina. Estos nucleosidos

de 5-iodocitosina obtenidos en este ejemplo son idénticos en todos los aspectos a los correspondientes compuestos preparados en el ejemplo 4.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

5 Los compuestos de la invención muestran actividad antiviral y antitumoral. La 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina inhibe la réplica de tipo 1 y tipo 2 del virus simplex de herpes. HFEM, Patton, 2931, y HSV-1 de cepa F y 333 y HSV-2 de cepa G son afectados a concentra-
10 ciones de 0,01 micro M de 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina (aproximadamente 0,004 μ g/ml).

Los estudios con una cepa negativa de quinasa de timidina de HSV-1 (HSV-1 TK⁻) resultaron no ser afectados por 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina a
15 concentraciones de hasta 10 μ M, indicando que la selectividad depende probablemente de la fosforilación de quinasa de timidina viral de 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina.

Los estudios con citomegalovirus (CMV cepa AD 169)
20 han demostrado la actividad de 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina contra este otro virus del herpes. Esto resulta sorprendente puesto que CMV no tiene su propia quinasa de timidina y debe inducir un enzima fetal celular para la réplica. A concentraciones de 1 μ M 0,4 μ g/ml, se encontró que la 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-
25 iodocitosina producía la formación de placas CMV sobre las células WI-38.

A continuación se ofrecen las dosis eficaces para 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina.
30 La 1-(2-deoxi-2-fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina se

diluye en salina fisiológica, se esteriliza en el filtro y se inocular. Este compuesto es fácilmente soluble a concentraciones de 25 mg/ml en salina. En estudios con ratón, la droga se inocular por vía intraperitoneal.

5 Virus simple de Herpes - tipo 1

	<u>ED</u> <u>50</u>
1. Cepa 2931	0,007 / μ M
2. Cepa McIntyre	* < 0,01 / μ M
3. Cepa Patton	0,01 / μ M
10 4. Cepa HFEM	* << 0,01 / μ M

Virus simple de Herpes - tipo 2

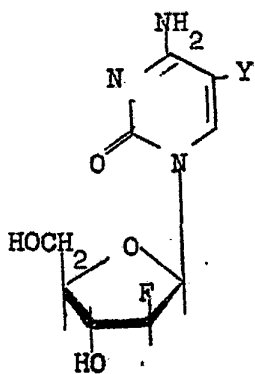
1. Cepa G	0,01 / μ M
2. Cepa 333	0,05 / μ M

Citomegalovirus

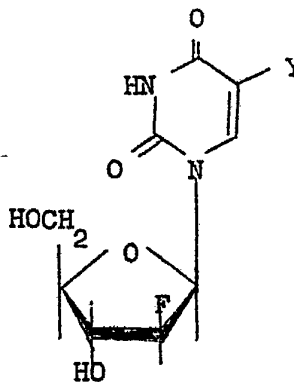
15 1. Cepa AD-169 1,0 / μ M

* < = menos de

20 En la Tabla 1 se muestra la capacidad de los 2'-Fluor-arabinosil-nucleosidos (fórmulas IV y V mostradas a continuación) para suprimir la réplica del virus simple de herpes de tipo 1 (HSV-1) en monocapas de células Vero.



FORMULA IV



FORMULA V

a
b
c
d
e
f
g
h
i
j
k
l
m
n
o
p
q
r
s
t
u
v
w
x
y
z
Y
H
F
Cl
Br
I
CH₃

Las monocapas de células Vero se infectan con aproximadamente una unidad formadora de placa (PFU) por célula de virus simple de herpes - tipo 1 (HSV-1) cepa 2931 y se incuban durante 2 horas. Para superponer las monocapas de utilizan medios de mantenimiento que contienen diversas concentraciones de las drogas. Los fluidos sobrenadantes se recogen 24 horas más tarde y se valoran sobre monocapas de células Vero descritas en Lopez et al, Ann. N.Y. Acad. Sci., 284, 351 (1977). Se calcula el porcentaje de inhibición con respecto a los controles.

5

10

Capacidad de 2'-fluor-2'-deoxi-arabinosil-citosina y -uracilos para suprimir la réplica HSV-1 en monocapas de células Vero

		Actividad anti-viral* en ug/ml					Citotoxicidad ID ₅₀ en ug/ml†††		
5	Cito- sina	Nucleo- sidos ‡	0.01	0.1	1.0	10	100	L5178Y	P815
	Y =								
	IVa**	H	-	+	+	+++	++++	0.05	0.05
10	IVb	F	-	+	++	+++	ND ^{‡‡}	0.5	0.4
	IVc	Cl	-	-	-	+++	ND	1.4	~ 1.0
	IVd	Br	-	+	++	++++	ND	~ 10	> 10
	IVe	I	+	++	+++	++++	++++	48	14
15		<u>Uracib</u>	<u>Nucleo- sidos</u>						
	Va	H	-	-	++	++	ND	> 10	> 10
	Vb	F	-	++	+++	++++	ND	1.0	0.7
	Vc	Cl	-	-	-	+++	ND	1.4	3.4
	Vd	Br	-	-	++	+++	ND	0.9	1.6
20	Ve	I	-	+	+++	+++	ND	0.9	0.8

* % reducción del título HSV-1; > 90% = +; > 99% = ++; > 99,9% = +++; > 99,99% = +++++, obviación completa de HSV-1 replicación = +++++. (-) = < 90% reducción del título HSV-1.

25 ‡‡ Wright et al, J. Med. Chem., 13, 269 (1970). Véase también Reichman et al, Carbohydr. Res., 42, 233 (1975).

‡ Todos los nucleosidos de pirimidina indicados en esta tabla están en la forma neutra, excepto para el compuesto IVE que está en la forma de su sal de hidrocloreuro.

= ND = Sin hacer

== Concentración requerida para el 50 % de inhibición de crecimiento de células in vitro después de 96 horas. Incubación a 37°C.

5 Igualmente, se ha demostrado que la 1-(2-deoxi-2-fluor-β-D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina es activa in vivo. Se inoculan ratones A/J con aproximadamente 50 LD₅₀ de HSV-1 cepa 2931 intraperitonealmente y a continuación se tratan con 1-(2-deoxi-2-fluor-β-D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina transcurridas 24 horas más tarde. La 1-(2-deoxi-2-fluor-β-D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina se suministra a concentraciones de 10 y 1 mg/kg/día durante 5 días. Los ratones sin tratar murieron 8 días después de la inoculación. 5 de los 10 ratones tratados con 10 mg/kg/día sobrevivieron el experimento de 21 días. 2 de 10 ratones tratados con 1 mg/kg/día sobrevivieron al experimento de 21 días y el resto murió una media de 10 días después de la inoculación. De este modo, la 1-(2-deoxi-2-fluor-β-D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina es activa in vivo contra HSV-1.

20 Puesto que la 1-(2-deoxi-2-fluor-β-D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina es activa contra un virus que utiliza quinasa de timidina fetal y puesto que muchas células tumorales expresan elevadas concentraciones de quinasa de timidina fetal, se ensayó como un agente antitumoral selectivo. In vitro, se encontró que la 1-(2-deoxi-2-fluor-β-D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina suprime la réplica de células K 562, una línea celular de células leucémicas mieloides crónicas humanas, a una concentración de 0,04 µg/ml.

Puesto que la 1-(2-deoxi-2-fluor-β-D-arabinofura-

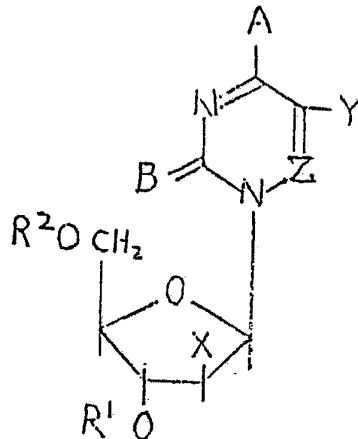
nosil)-5-iodocitosina no es tóxica a las células linfoblas-
toideas humanas normales a concentraciones de hasta 10 μ M,
se cree que el compuesto afecta a las células tumorales a
concentraciones de 1/100 de la concentración necesaria para
5 suprimir la réplica de células normales. Los compuestos de la
invención pueden emplearse como un tratamiento selectivo de
tumores que expresan la quinasa de timidina fetal que incluye
la mayor parte de los tumores humanos.

El procedimiento para el tratamiento de las
10 infecciones virales y tumores según esta invención comprende
la administración, a un animal de sangre caliente, que tiene
una infección viral y/o una proporción anormal de leucocitos
u otras evidencias de un mal, una cantidad terapéutica no tó-
xica de un compuesto de la invención tal como 1-(2-deoxi-2-
15 fluor- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina, como tal o en
forma de una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
La invención proporciona también una composición farmacéutica
en una forma de dosificación unitaria que comprende de 10
a 100 mg/kg aproximadamente de un compuesto de la invención,
20 por dosificación unitaria, junto con un vehículo o diluyente
inerte no tóxico farmacéuticamente aceptable para el mismo
tal y como anteriormente se ha descrito.

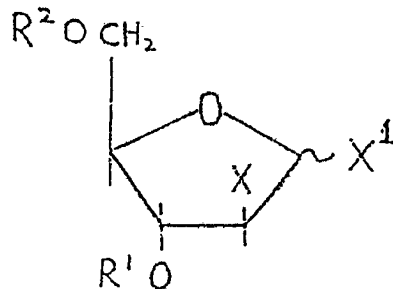
descrita suficientemente la naturaleza del in-
vento, así como la manera de realizarse en la práctica, debe
25 hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas
son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no al-
teren su principio fundamental.

REIVINDICACIONES

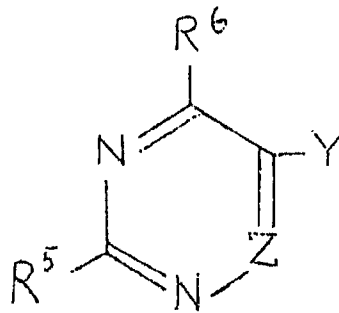
1.- Procedimiento para preparar nucleosidos de pirimidina, de fórmula:



5 en la que A es OR³, SR³, NR³R⁴ o NHacilo en donde R³ y R⁴ son iguales o diferentes y representan hidrógeno, alquilo inferior de 1 a 7 átomos de carbono, aralquilo o arilo y NHacilo es alcanoil- o arcoil-amida; B es oxígeno o azufre; X es halógeno, alquilsulfonilo o arilsulfonilo; Y es halógeno, amino, monoalquil- o monoaralquil-amino, dialquilamino, aminometilo, hidroximetilo, alquilo inferior, arilo, aralquilo, vinilo y vinilo sustituido o etinilo y etinilo sustituido; Z es metino o nitrógeno; R¹ y R² son iguales o diferentes y representan hidrógeno, acilo o arcoilo; caracterizado porque comprende
10 hacer reaccionar un compuesto de fórmula:
15



en la que R¹, R² y X se definen como anteriormente y X¹ es cloro o bromo, con un nucleofilo de fórmula:



5 en la que Y y Z se definen como anteriormente, R⁵ es un grupo tri-sustituido-sililoxi o tri-sustituido-sililmercapto y R⁶ es dialquilamino, alquilmercapto, alcoxi, tri-sustituido-sililoxi, bis(tri-sustituido-silil)amino, tri-sustituido-sililmonoalquilamino, tri-sustituido-sililalcanoilamino, tri-sustituido-sililaroilamino o tri-sustituido-sililmercapto.

2.- Procedimiento para preparar nucleosidos de pirimidina, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente memoria.

10 Esta memoria consta de 32 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, -1 OCT. 1979

SLOAN-KETTERING INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH.

J. M. GOMEZ ACEBS Y PONSÓ

Dr. p. Remede / J. Suárez Díaz

