

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0609095-8 A2**



(22) Data de Depósito: 27/04/2006
(43) Data da Publicação: 17/02/2010
(RPI 2041)

(51) *Int.Cl.:*
C08G 65/08 (2010.01)
A61K 38/00 (2010.01)
C08G 65/333 (2010.01)
C08G 69/48 (2010.01)

(54) Título: **DERIVADO POLIMÉRICO DE ANTAGONISTA METABÓLICO DE CITIDINA, AGENTE ANTITUMOR E ANTIVIRAL E MÉTODO PARA PRODUZIR O REFERIDO DERIVADO**

(30) Prioridade Unionista: 11/05/2005 JP 2005-138249

(73) Titular(es): NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA

(72) Inventor(es): AKIRA MASUDA, HIROKO MASHIBA, KAZUTOSHI TAKASHIO, KEIICHIROU YAMAMOTO, TAKESHI ONDA

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT JP2006308826 de 27/04/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2006/120914 de 16/11/2006

(57) Resumo: DERIVADO POLIMÉRICO DE ANTAGONISTA METABÓLICO DE CITIDINA, AGENTE ANTITUMOR E ANTIVIRAL E MÉTODO PARA PRODUZIR O REFERIDO DERIVADO. A presente invenção refere-se a um derivado de um antagonista metabólico de citidina que pode exercer um alto efeito terapêutico em uma dose inferior. Um derivado polimérico de um antagonista metabólico de citidina que compreende um composto polimérico tendo uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo um grupo carboxila em uma cadeia lateral e um antagonista metabólico, que tem uma estrutura tal que o grupo carboxila na cadeia lateral do composto polimérico e um grupo amino no antagonista metabólico de citidina sejam ligados juntamente para formar uma ligação de amida.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**DERIVADO
POLIMÉRICO DE ANTAGONISTA METABÓLICO DE CITIDINA**".

Campo Técnico

5 A presente invenção refere-se a um derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, uso destes, e um método para produzir o mesmo.

Técnica Antecedente.

Vários metabólitos de citidina foram desenvolvidos para tratar tumores malignos ou doenças virais; citarabina, gencitabina e os semelhan-
tes são clinicamente usados como agentes Anti-tumor (anticâncer) e zalcita-
10 bina, lamivudina e os semelhantes como agentes antivirais.

Entretanto, muitos destes antimetabólitos de citidina podem não exercer suficientemente a eficácia destes próprios ou requer-se que sejam administrados altas doses porque eles são suscetíveis a metabolismo e excreção *in vivo* a despeito de forte exibição de atividades *in vivo*. Por meio
15 de exemplo, a gencitabina tem uma forte atividade de supressão de desenvolvimento celular, em *vitro*, comparável àquela de agentes anticâncer tais como paclitaxel e doxorubicina, porém necessita ser clinicamente fornecida em uma alta dose de 1,000 mg/m² de área da superfície do corpo para cada administração. Isto é considerado ser devido aquele grupo amino na posição
20 4 da base ser metabolizado e inativado por citidina deamiase, uma enzima de metabolização para 2'-deoxicitidina para reduzir na disponibilidade *in vivo* deste (veja Documento de Não Patente 1).

Ligar um agente a um polímero pode algumas vezes melhorar os farmacocinéticos destes *in vivo* para realçar o efeito terapêutico. O docu-
25 mento de Não Patente 2 descreve um derivado polimérico em que a citarabina é ligada a um ácido poliglutâmico tendo um peso molecular médio de cerca de 30.000. Entretanto, um derivado polimérico de um agente cccccc
zzzzz algumas vezes a reação de hipersensibilidade devido à reação imune e, em tal situação, não pode ser administrado em doses repetidas como um
30 agente.

O Documento de Patente 1 descreve um derivado polimérico em que um derivado de citidina é ligado a um polietileno glicol, e o Documento

de Não Patente 3 descreve um derivado polimérico em que citarabina é ligada ao ácido aspártico em um polietileno glicol tendo o ácido aspártico substituído em uma forma ramificada em ambas extremidades deste. Entretanto, existe também um problema da possibilidade de que os efeitos terapêuticos destes derivados poliméricos na clínica sejam enormemente afetados por diferenças individuais entre os pacientes visto que o agente libera-se dos derivados, largamente depende da reação de hidrólise por enzima *in vivo*.

O Documento de Patente 2 descreve que as moléculas em cada das quais um agente é ligado a um polímero tipo bloco obtido por condensação de polietileno glicol com micelas em forma de ácido poliaspártico para fornecer um medicamento. Além disso, Documento de Patente 3 descreve um polímero em que uma substância anticâncer é ligada aos grupos carboxila de cadeia lateral de ácido glutâmico de um polímero tipo bloco obtido por condensação de um polietileno glicol com ácido poliglutâmico. Entretanto, estes Documentos de Patentes não descrevem nenhum antimetabólito de citidina como agentes de ligação.

Documento de Não Patente 1: Cancer Science, Japanese Cancer Association, Vol, 95, p. 105-111 (2004)

O Documento de Não Patente 2: Cancer Research, American Association for Cancer Research, Vol. 44, p. 25-30 (1984)

O Documento de Não Patente 3: Journal de Controlled Release Isevier, England), Vol. 79: p. 55-70 (2002)

Documento de Patente 1: Pedido de Patente Japonesa Aberta ao Público (KOIJXO) No. 2003-524028

Documento de Patente 2: Patente Japonesa No. 2694923

Documento de Patente 3: Pedido de Patente Japonesa Aberta ao Público (KOKAI) nº 05-000955

Descrição da Invenção

Problemas a serem solucionados pela Invenção

Um objetivo da presente invenção é fornecer um antimetabólito de citidina tendo uma eficácia maior em uma dose inferior e servir como um novo agente anticâncer ou antiviral.

Meios para Solucionar os Problemas

Como o resultado de intensivos estudos para solucionar os problemas acima, os presentes inventores descobriram um derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, particularmente, aquele que compreende uma estrutura em que o grupo amino na posição 4 de um antimetabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais, desse modo realizando a presente invenção.

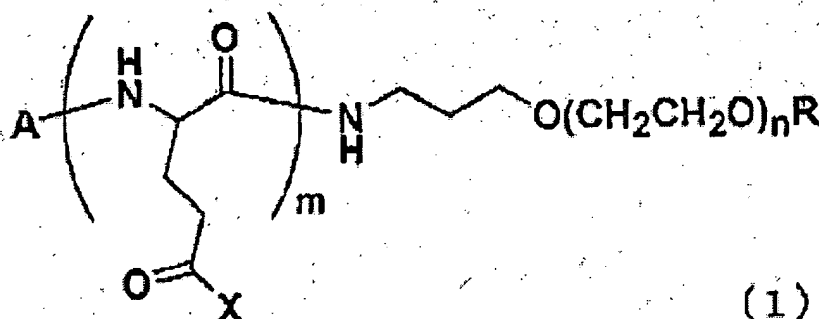
10 Especificamente, a presente invenção refere-se aos seguintes (1) a (13).

(1) Um derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, que compreende uma estrutura em que um grupo amino de um antimetabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

(2) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (1) acima, em que a porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais compreende uma cadeia de ácido poliglutâmico.

(3) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (1) ou (2) acima, em que o derivado é um composto representado pela Fórmula geral (1).

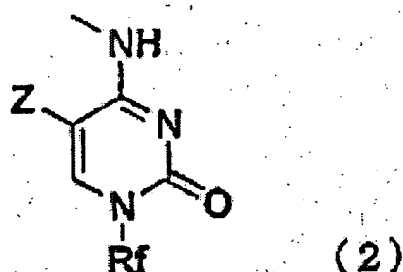
Fórmula 1



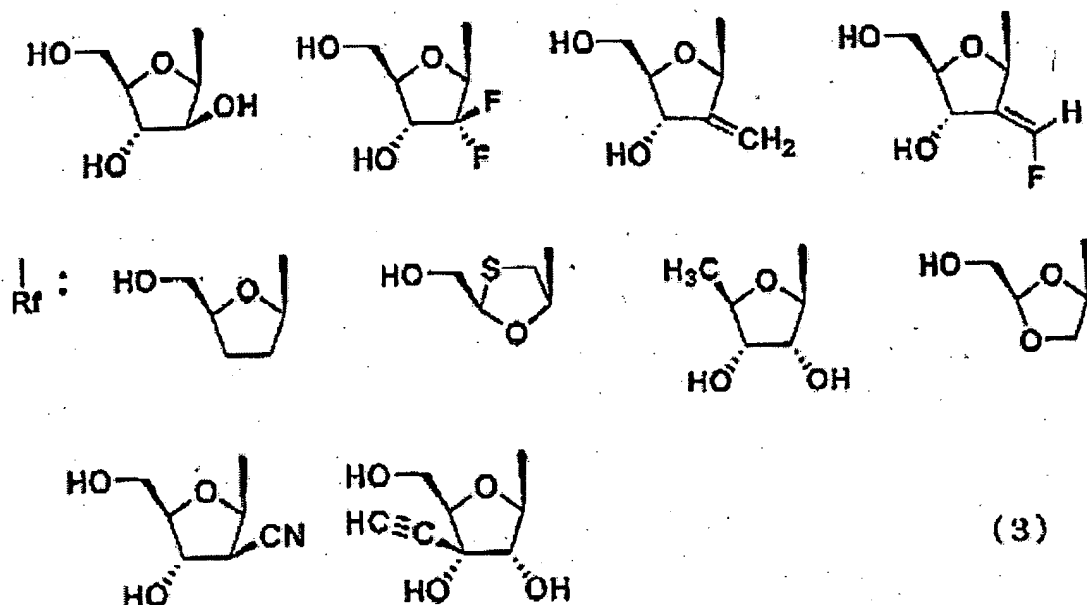
em que R representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C1 a C6 alquila; A representa um átomo de hidrogênio, um grupo C1 a C6 acila, ou um grupo C1 a C6 alcoxicarbonila; m representa 3 a 200 como um valor médio; n re-

5 apresenta 5 a 2.000 como um valor médio; X representa um resíduo de anti-
metabólito de citidina, um grupo hidroxila, ou um substituinte hidrofóbico; e X
representa um resíduo de antimetabólito de citidina em 3 a 100% de **m**, um
grupo hidroxila em 0 a 95% de **m** e um substituinte hidrofóbico em 0 a 80%
de **m**.

(4) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como
descrito no item (3) acima, em que R representa um grupo C1 a C3 alquila;
A representa um grupo C2 a C4 acila; **m** representa 5 a 100 como um valor
médio; **n** representa 50 a 1,000 como um valor médio; e o resíduo antimeta-
10 bólito de citidina representa um grupo representado pela Fórmula (2):



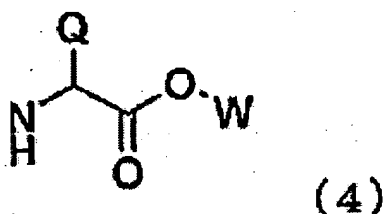
em que Z representa um átomo de hidrogênio ou um átomo de flúor; -Rf re-
presenta um grupo selecionado do grupo consistindo em substituintes de
Fórmula (3):



(5) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como
15 descrito no item (3) acima, em que R representa um grupo metila; A repre-

senta um grupo acetila; *m* representa 10 a 60 como um valor médio; *n* representa 100 a 300 como um valor médio; *X* representa um resíduo de antimetabólito de citidina ou um grupo hidroxila; e o antimetabólito de citidina representa citarabina, gencitabina, ou 5'-deóxi-5-fluorocitidina.

- 5 (6) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (3) ou (4) acima, em que o substituinte hidrofóbico representa um derivado de α -aminoácido representado pela Fórmula (4):



em que *Q* representa uma cadeia lateral de um aminoácido neutro; *W* representa um grupo C1 a C6 alquila ou um grupo benzila.

- 10 (7) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (6) acima, em que *Q* representa um grupo isopropila ou um grupo benzila; e *W* representa um grupo benzila.

- (8) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (3) ou (4) acima, em que o substituinte hidrofóbico representa um grupo representado pela Fórmula (5):
15 [Fórmula 5]



em que *T* representa um grupo C1 a C6 alquila opcionalmente substituído por um grupo fenila.

- 20 (9) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (8) acima, em que *T* representa um grupo benzila, um grupo 3-fenilpropila, um grupo 4-fenilbutila, ou um grupo 5-fenilpentila.

- (10) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (3) acima, em que *R* representa um grupo metila; *A* representa um grupo acetila; *m* representa 10 a 60 como um valor médio; *n* representa 100 a 300 como um valor médio; o antimetabólito de citidina representa citarabina, gencitabina, ou 5'-deóxi-5-fluorocitidina; e o substituinte
25

hidrofóbico representa um grupo benzilóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo (1-benziloxicarbonil-2-metil)propilamino, ou um grupo (1-benziloxicarbonil-2-fenil)etilamino.

5 (11) Um agente Anti-tumor compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito em qualquer um dos itens (1) a (10) acima como um ingrediente medicinal.

(12) Um agente antiviral compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito em qualquer um dos itens (1) a (10) acima como um ingrediente medicinal.

10 (13) Um método para produzir o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito em qualquer um dos itens (1) a (10) acima, compreendendo ligação por amida, usando um agente de condensação por desidratação em um solvente orgânico, um grupo amino de um antimetabólito de citidina a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um
15 composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

Efeito da Invenção

O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção tem uma estrutura em que um grupo amino na posição 4 de um metabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila
20 de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais. O derivado pode liberar lentamente o antimetabólito de citidina *in vivo* e é útil como um agente anticâncer ou antiviral tendo um excelente efeito terapêutico em
25 uma dose inferior. Além disso, tendo a propriedade de liberar lentamente o agente independentemente da enzima torna o derivado aquele cujo efeito terapêutico é menos afetado por diferenças individuais entre os pacientes. O derivado polimérico formando micelas seletivamente acumula-se na parte afetada e serve como um agente tendo uma eficácia maior com efeitos cola-
30 terais reduzidos.

Breve Descrição dos Desenhos

A figura 1 é um gráfico mostrando os cursos de tempo de libera-

ção de agente na ausência de enzima; e

A figura 2 é um gráfico mostrando os cursos de tempo de liberação de agente em plasma de camundongo.

Melhor Modo para Realizar a Invenção

5 O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção compreende uma estrutura em que um grupo amino de um antimetabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas
10 cadeias laterais.

Para o propósito da presente invenção, "antimetabólito de citidina" não é particularmente limitado, contanto que ele seja um derivado de 4-aminopirimidin-2-ona enquanto que sendo um composto tendo uma atividade Anti-tumor ou antiviral, e refere-se a um composto representado pela
15 Fórmula (2) na porção de base de ácido nucléico é citosina (em que Z é um átomo de hidrogênio) ou 5-fluorocitosina (em que Z é um átomo de flúor); e o grupo (Rf) ligado a ele é um grupo selecionado do grupo consistindo nos substituintes da Fórmula (3) acima.

Exemplos específicos destes incluem citarabina, gencitabina, 2'-deóxi-2'-metilidenecitidina (DNIDC), tezacitabina, zalcitabina, lamivudina, 5'-deóxi-5-fluoroeitidina (5'-DFCR), troxacitabina, citosina de 2'-C-ciano-2'-deóxi-1-β -D-arabinofuranosila (CNDAC), 3'-etinilcitidina, e (-)-β-L-dioxolanecitidina.

De acordo com a presente invenção, exemplos da porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais no "composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais" incluem um polímero tipo enxerto em que as cadeias de ácido carboxílico ramificam-se da espinha dorsal polímera ou um polímero tipo bloco em que os polímeros de ácido policarboxílicos são
25 condensados.
30

Exemplos do composto polimérico em que a porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais é o polímero tipo enxerto inclu-

em um polímero obtido, por exemplo, pela reação de copolimerização de um condensado de polietileno glicol e um ácido acrílico com um ácido acrílico, anidrido maléico ou os semelhantes, seguido por reação de hidrólise opcional como descrito no Pedido de Patente Japonesa Aberta ao Público (KO-KAI) No. 11-279083.

Exemplos do composto polimérico em que a porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais é o polímero tipo bloco incluem um composto em que um polietileno glicol tendo um grupo funcional terminal é ligado a um ácido policarboxílico tendo um grupo funcional na extremidade, ou um composto obtido por reação de polimerização de um composto ativado por aminoácido em que a polimerização inicia-se com um polietileno glicol tendo um grupo amino na extremidade como descrito no Documento de Patente 3.

Exemplos do polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais incluem ácido poliacrílico, ácido polimetacrílico, ácido polimálico, e ácido poliglutâmico; ácido poliglutâmico é o preferido.

Para propósito da presente invenção, "polietileno glicol" pode ser um derivado de polietileno glicol, ambas ou uma extremidade da qual é modificada, em cujo caso os grupos modificando ambas as extremidades podem ser idênticos ou diferentes. Exemplos do grupo de modificação de terminal incluem um grupo C1 a C6 alquila opcionalmente tendo um substituinte; um grupo C1 a C4 alquila é preferido opcionalmente tendo um substituinte.

Exemplos do grupo C1 a C6 alquila no grupo C1 a C6 alquila opcionalmente tendo um substituinte incluem um grupo C1 a C6 alquila de cadeia linear, ramificada ou cíclica. Exemplos específicos deste incluem um grupo metila, um grupo etila, um grupo propila, um grupo isopropila, um grupo butila, um grupo isobutila, um grupo t-butila, um grupo pentila, um grupo isopentila, um grupo 2-metilbutila, um grupo neopentila, um grupo 1-etilpropila, um grupo hexila, um grupo 4-metilpentila, um grupo 3-metilpentila, um grupo 2-metilpentila, um grupo 1-metilpentila, um grupo 3,3-dimetilbutila, um grupo 2,2-dimetilbutila, um grupo 1,1-dimetilbutila, um grupo 1,2-

dimetilbutila, um grupo 1,3-dimetilbutila, um grupo 2,3-dimetilbutila, um grupo 2-etilbutila, um grupo ciclopropila, um grupo ciclopropila, e um cicloexila. Um grupo C1 a C4 alquila é preferido; exemplos específicos deste incluem um grupo metila, um grupo etila, um grupo n-propila, um grupo isopropila, um grupo n-butila, um grupo s-butila, e um grupo t-butila. Particularmente preferido é um grupo metila, um grupo etila, um grupo n-propila, ou um grupo isopropila.

O substituinte no grupo C1 a C6 alquila opcionalmente tendo um substituinte não é particularmente limitado; entretanto, os exemplos deste incluem um grupo amino, um grupo metilamino, um grupo dimetilamino, um grupo etilamino, e um grupo dietilamino. Um grupo amino é preferido.

De acordo com a presente invenção, o derivado de polietileno glicol, ambas extremidades do qual são modificadas, é preferível. Exemplos específicos deste incluem um derivado de polietileno glicol tendo um grupo C1 a C6 alquila naquela extremidade e um grupo amino-C1 a C4 alquila na outra extremidade. O derivado de polietileno glicol é preferido tendo um grupo grupo C1 a C3 alquila naquela extremidade e um grupo aminopropila na outra extremidade.

De acordo com a presente invenção, "polietileno glicol" tem um peso molecular de média de peso de cerca de 200 a 500,000, preferivelmente cerca de 500 a 100,000, mais preferivelmente cerca de 2,000 a 50,000.

De acordo com a presente invenção, o "composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais" é preferivelmente um polímero tipo bloco, mais preferivelmente um copolímero de bloco de um polietileno glicol com um polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

Exemplos do copolímero de bloco de um polietileno glicol com um polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais incluem um um ácido alcóxipolietileno glicol-poliacrílico, um ácido alcóxipolietileno glicol- polimetacrílico, e um ácido alcóxipolietileno glicol-poliglutâmico; ácido metoxipolietileno glicol-poliglutâmico é preferido.

De acordo com a presente invenção, o "composto polimérico

constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais" tem um número de grupo carboxila médio por molécula de cerca de 3 a 200, preferivelmente cerca de 5 a 100, mais preferivelmente cerca de 10 a 60.

5 De acordo com a presente invenção, o "composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais" tem um peso molecular de média de peso de cerca de 500 a 500,000, preferivelmente cerca de 2,000 a 100,000, mais preferivelmente cerca de 3,000 a 50,000.

10 De acordo com a presente invenção, a quantidade do antimetabólito de citidina ligado por amida ao composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais não é particularmente limitada contanto que ela esteja incluída na faixa de um ao número total dos grupos carboxila para cada
15 composto polimérico, e pode ser aquela quantidade que é suficiente para exercer o efeito de fármaco quando o composto é administrado *in vivo*.

O preferido é 3 a 100%, mais preferivelmente 5 a 70%, do número de grupo carboxila total do polímero.

A quantidade de ligação acima pode ser determinada da intensidade de espectro de absorção de ultravioleta do composto da presente invenção. A quantidade pode também ser determinada submetendo-se o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção à hidrólise alcalina para quantificar o antimetabólito de citidina liberado, por exemplo, por cromatografia líquida de alto desempenho.

25 Um composto típico como o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção é um composto representado pela Fórmula geral acima (1), em que R representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C1 a C6 alquila; A representa um átomo de hidrogênio, um grupo C1 a C6 acila, ou um grupo C1 a C6 alcóxicarbonila; m representa 3 a 200 como um valor médio; n representa 5 a 2.000 como um valor
30 médio; X representa um resíduo de antimetabólito de citidina, um grupo hidroxila, ou um substituinte hidrofóbico; X representa o resíduo antimetabólito

de citidina em 3 a 100% de *m*, o grupo hidroxila em 0 a 95% de *m* e o substituinte hidrofóbico em 0 a 80% de *m*.

Na fórmula (1), o grupo C1 a C6 alquila para R tem o mesmo significado como o grupo alquila acima descrito; um grupo preferível é também o mesmo como acima.

Exemplos do grupo C1 a C6 acila para A na Fórmula (1) incluem um grupo formila, um grupo acetila, um grupo propionila, um grupo butirila, um grupo isobutirila, um grupo valerila, um grupo isovalerila, a pivaloyl group, e a hexanoyl group. É preferido um grupo C2 a C4 acila, por exemplo, um grupo acetila ou propionila; um grupo acetila é mais preferido.

Exemplos do grupo C1 a C6 alcóxicarbonila para A na Fórmula (1) incluem um grupo metóxicarbonila, um grupo etóxicarbonila, um grupo propóxicarbonila, um grupo isopropóxicarbonila, um grupo *n*-butoxicarbonila, um grupo *terc*-butoxicarbonila, um grupo pentóxicarbonila, um grupo hexíloxicarbonila, um grupo ciclopropóxicarbonila, um grupo ciclopentíloxicarbonila, e um grupo cicloexíloxicarbonila. É preferido um grupo metóxicarbonila, um grupo etóxicarbonila, um grupo propóxicarbonila, um grupo isopropóxicarbonila, um grupo butóxicarbonila, ou um grupo *terc*-butoxicarbonila; é mais preferido um grupo etóxicarbonila ou um grupo *terc*-butoxicarbonila.

Na Fórmula (1), *m* é, como um valor médio, 3 a 200, preferivelmente 5 a 100, mais preferivelmente 10 a 60.

Na Fórmula (1), *n* is, como um valor médio, 5 a 2,000, preferivelmente 50 a 1,000, mais preferivelmente 100 a 300,

Na Fórmula geral (1) para o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção, os derivados de ácido glutâmico em cada um do qual X é um resíduo de antimetabólito de citidina, um grupo hidroxila ou um substituinte hidrofóbico pode ser ligado aleatoriamente ou por formação de blocos.

Na Fórmula (1), o resíduo antimetabólito de citidina para X significa o resíduo do antimetabólito de citidina acima; exemplos particularmente preferidos do antimetabólito de citidina incluem citarabina, gencitabina, e 5'-deóxi-5-fluorocitidina.

Na Fórmula (1), exemplos do substituinte hidrofóbico para X incluem vários substituintes; o substituinte não é particularmente limitado contanto que ele não prejudique o exercício do efeito do fármaco do derivado polimérico de um antimetabólito de citidina. Entretanto, exemplos preferidos deste incluem um derivado de α -aminoácido representado pela Fórmula (4) acima, em que Q representa uma cadeia lateral de um aminoácido neutro; W representa um grupo C1 a C6 alquila ou um grupo benzila, e um grupo representado pela Fórmula (5) acima, em que T representa um grupo C1 a C6 alquila opcionalmente substituído por um grupo fenila.

Exemplos da cadeia lateral de um aminoácido neutro para Q na Fórmula (4) incluem resíduos de aminoácidos naturais, tais como um átomo de hidrogênio, um grupo metila, um grupo isopropila, um grupo isobutila, um grupo s-butila, um grupo benzila, um grupo hidroximetila, um grupo 1-hidroxietila, um grupo carbamoilmetila, e um grupo 2-carbamoiletila, e derivados de resíduos de aminoácidos, tais como um grupo terc-butoxymetila, um grupo benziloximetila, um grupo benziloxicarbonilmetila, e um grupo 2-benziloxicarboniletila. Exemplos preferidos deste incluem um grupo isopropila, um grupo isobutila, um grupo s-butila, um grupo benzila, um grupo benziloximetila, um grupo benziloxicarbonilmetila, e um grupo 2-benziloxicarboniletila; mais preferido é um grupo isopropila, um grupo benzila, um grupo benziloximetila, ou grupo 2-benziloxicarboniletila; particularmente preferido é um grupo isopropila ou um grupo benzila.

Exemplos do grupo C1 a C6 alquila para W na Fórmula (4) incluem o mesmo grupo como o grupo alquila acima; um grupo preferível é o mesmo como acima.

O grupo C1 a C6 alquila para T na Fórmula (5) tem o mesmo significado como o grupo alquila acima descrito; um grupo preferível é também o mesmo como acima. Exemplos do grupo representado pela Fórmula (5) incluem um grupo metóxi, um grupo etóxi, um grupo n-propóxi, um grupo isopropóxi, um grupo n-butóxi, um grupo terc-butóxi, um grupo n-pentilóxi, um grupo n-hexilóxi, um grupo ciclopropilóxi, um grupo ciclopentilóxi, um cicloexilóxi, um grupo cicloexilmetóxi, um grupo benzilóxi, um grupo 2-

fenetilóxi, um grupo 3-fenilpropóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo 5-fenilpentilóxi, e um grupo difenilmetóxi.

Exemplos do substituinte hidrofóbico também incluem grupos amino tais como grupo metilamino, um grupo etilamino, um grupo n-propilamino, um grupo isopropilamino, um grupo n-butilamino, um grupo isobutilamino, um grupo n-pentilamino, um grupo n-hexilamino, um ciclopropilamino, um grupo ciclopentilamino, um grupo cicloexilamino, um grupo cicloexilmetilamino, um grupo dicicloexilmetilamino, um grupo anilino, um grupo benzilamino, um grupo 2-fenetilamino, um grupo 3-fenilpropilamino, um grupo 4-fenilbutilamino, e um grupo difenilmetilamino.

O substituinte hidrofóbico para X na Fórmula (1) é particularmente preferivelmente um grupo benzilóxi, um grupo 3-fenilpropóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo 5-fenilpentóxi, um grupo (1-benziloxicarbonil-2-metil)propilamino ou um grupo (1-benziloxicarbonil-2-fenil)etilamino, e mais particularmente preferivelmente um grupo benzilóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo (1-benziloxicarbonil-2-metil) propilamino ou um grupo (1-benziloxicarbonil-2-fenil)etilamino.

Na Fórmula (1), a proporção de um resíduo de antimetabólito de citidina para X é de 3 a 100%, preferivelmente 5 a 70% com base no número total de grupo carboxila (m) do polímero; a proporção de um grupo hidroxila para X é de 0 a 95%, preferivelmente 5 a 70% com base no m; e a proporção de um substituinte hidrofóbico para X é de 0 a 80%, preferivelmente 20 a 70% com base nisso.

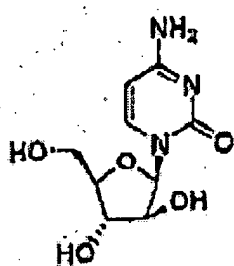
No derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção, quando um grupo carboxila de cadeia lateral ao qual o antimetabólito de citidina não é ligado estiver presente, o grupo carboxila pode ser em uma forma livre ou em forma de sal alcalino. Quando obtido em uma forma livre, o grupo carboxila pode ser convertido em uma forma de sal desejado por um método conhecido *per se* ou um método com base nisso. Inversamente, quando obtido em uma forma de sal, o grupo carboxila pode ser convertido em uma forma livre ou outra forma desejada de sal por um método conhecido *per se* ou um método com base nisso.

Exemplos dos sais alcalinos incluem sais de lítio, sódio, potássio, magnésio, amônio e trietilamônio.

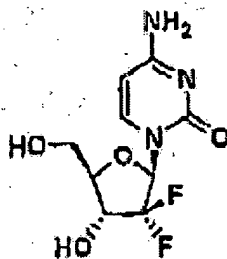
No derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção, as unidades estruturais constituindo a porção polímera tendo substâncias oticamente ativas, um racemato, ou uma mistura destes em qualquer proporção. Por exemplo, quando a porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais é um derivado de ácido poliglutâmico, o derivado pode ser um polímero em que ácido poli-L-glutâmico, ácido poli-D-glutâmico, e um ácido L-glutâmico substituído por cadeia lateral ou um ácido D-glutâmico substituído por cadeia lateral são ligados em qualquer ordem em qualquer proporção.

Particularmente preferidos exemplos do derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção incluem os compostos mostrados na Tabela 1 abaixo.

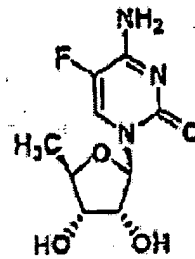
Na Tabela 1, Bzl indica um grupo benzila; Val, valina; Phe, fenilalanina; e C₄H₈Ph, um grupo 4-fenilbutila. Na X, as percentagens de substituição são valores aproximados; o resto diferente do resíduo e grupo descrito na Tabela é um grupo hidroxila. Como antimetabólito de citidinas para X, citarabina, gencitabina, 5'-deóxi-5-fluorocitidina, 2'-deóxi-2'-metilidenecitidina (DMDC), 3'-etinilcitidina, citosina de 2'-C-ciano-2'-deóxi-1-β-D-arabinofuranosila (CNDAC) e (-)-β-L-dioxolanecitidina são os seguintes compostos.



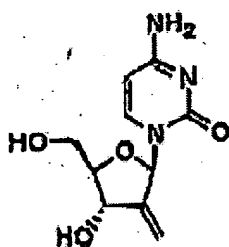
Citarabina



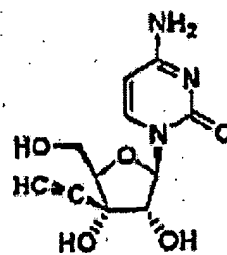
Gencitabina



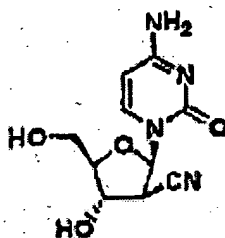
5'-deóxi-5-fluorocitidina



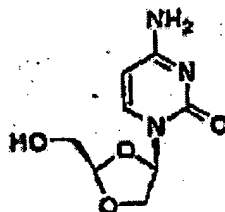
2'-deóxi-2'-metilidenocitidina



3'-etinilcitidina



Citosina de 2'-C-ciano-2'-deóxi-1-β-arabinofuranosila



(-)-β-L-dioxolanocitidina

[Tabela 1]

Nº	R	n (me an)	m (me an)	A	X: Antimetabólito de citidina (percenta- gem)	X: Substituinte hidrofóbico (per- centagem)
1	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Citarabina (30%)	OBzl (50%)
2	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Citarabina (30%)	Phe-OBzl (40%)
3	CH ₃	272	25	CH ₃ CO	Citarabina (20%)	Phe-OBzl (60%)
4	CH ₃	272	23	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Phe-OBzl (60%)
5	CH ₃	272	23	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Val-OBzl (60%)
6	CH ₃	272	23	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (60%)
7	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (30%)	OBzl (50%)
8	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (30%)	Phe OBzl (40%)
9	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (25%)	Phe OBzl (50%)
10	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Phe OBzl (60%)
11	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Val OBzl (60%)
12	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (25%)	OC ₄ H ₈ Ph (40%)
13	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (20%)	OC ₄ H ₈ Ph (50%)

Nº	R	n (me an)	m (me an)	A	X: Antimetabólito de citidina (percenta- gem)	X: Substituinte hidrofóbico (per- centagem)
14	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (60%)
15	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (30%)	Phe-OBzl (40%)
16	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (30%)	Phe-OBzl (50%)
17	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (20%)	Phe-OBzl (50%)
18	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Val OBzl (60%)
19	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (60%)
20	CH ₃	272	35	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (55%)
21	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	5'-deóxi-5- fluorocitidina (15%)	Phe-OBzl (60%)
22	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	5'-deóxi-5- fluorocitidina (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (60%)
23	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	2'-deóxi-2- metilidenocitidina (15%)	Phe-OBzl (60%)
24	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	2'-deóxi-2- metilidenocitidina (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (60%)
25	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	3'-etinilcitidina (15%)	Phe-OBzl (60%)
26	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	3'-etinilcitidina (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (60%)
27	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Citosina de 2'-C- ciano-2'-deóxi-1-β-D- arabinofuranosila (15%)	Phe-OBzl (60%)
28	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Citosina de 2'-C- ciano-2'-deóxi-1-β-D- arabinofuranosila (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (60%)
29	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	(-)-β-L- dioxolanocitidina (15%)	Phe-OBzl (60%)
30	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	(-)-β-L- dioxolanocitidina (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (60%)

Por meio de exemplo não limitante particular, o derivado poli-
mérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção
pode ser produzido por condensação, usando um agente de condensação
por desidratação em um solvente orgânico, um antimetabólito de citidina
5 com o copolímero de bloco de ácido metoxipoli-etileno glicol - poliglutâmico
preparado de acordo com o método descrito no Documento de Patente 3.

O solvente usado na reação acima não é particularmente limitado contanto que ele permita a reação prosseguir; entretanto, exemplos deste incluem um hidrocarboneto aromático tal como tolueno e xileno, um hidrocarboneto halogenado tal como cloreto de metileno, clorofórmio e 1,2-dicloroetano, um éter tal como tetraidrofurano, dioxano, dimetoxietano e éter de dimetila de dietileno glicol, um nitrilo tal como acetonitrilo e propionitrilo, uma amida tal como dimetilformamida, dimetilacetamida e N-metilpirrolidona, uma uréia tal como 1,3-dimetilimidazolidinona, e um solvente misto destes. A amida ou a uréia é preferível; mais preferido é dimetilformamida ou 1,3-dimetilimidazolidinona.

O agente de condensação por desidratação usado na reação acima não é particularmente limitado contanto que permita o progresso da reação de condensação de um grupo amino na posição 4 de um antimetabólito de citidina com o grupo carboxila; entretanto, exemplos preferidos deste incluem DMT-MM(4-(cloreto de 4,6-dimetóxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolínio) e 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina.

A temperatura de reação na reação acima é tipicamente de 4 a 60°C, preferivelmente 15 a 50°C.

Após a reação acima, um meio de separação conhecido *per se* pode ser apropriadamente aplicado tal como, por exemplo, concentração a vácuo, extração de solvente, cristalização, diálise e cromatografia, se necessário, isolar e purificar um composto desejado.

Pelo método acima, um derivado polimérico pode ser obtido em que X consiste em um resíduo de antimetabólito de citidina sozinho ou de um resíduo de antimetabólito de citidina e um grupo hidroxila.

Quando o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção tiver um substituinte hidrofóbico, o derivado pode ser produzido por condensação, usando um agente de condensação por desidratação em um solvente orgânico, um grupo amino de um antimetabólito de citidina com um grupo carboxila não substituído em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído da seguinte porção polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias

laterais que é obtido introduzindo-se um substituinte hidrofóbico em uma parte do grupo carboxila do copolímero de bloco de metoxipolietileno glicol - ácido poliglutâmico preparado, por exemplo, de acordo com o método descrito no Documento de Patente 3.

5 O substituinte hidrofóbico é introduzido da seguinte maneira. Por exemplo, quando o substituinte hidrofóbico for um grupo alcóxi, a introdução é realizada condensando-se um álcool correspondente com o grupo carboxila (esterificação) usando um agente de condensação por desidratação em um solvente ou submetendo um haleto de alquila correspondente ou os se-
10 melhantes e o grupo carboxila à reação de substituição nucleofílica na presença de uma base em um solvente. Por exemplo, quando o substituinte hidrofóbico for um grupo amino substituído, o derivado tendo o substituinte pode ser produzido condensando-se uma amina correspondente com o grupo carboxila (amidação) usando um agente de condensação por desidratação em um solvente.

15 O solvente usado na condensação por desidratação acima (esterificação) não é particularmente limitado contanto que permita a reação prosseguir. Entretanto, o mesmo solvente pode ser usado como aquele usável na condensação por desidratação do copolímero de bloco de ácido metoxipolietileno glicol-poliglutâmico acima com um antimetabólito de citidina;
20 um solvente preferível é também o mesmo como acima. O agente de condensação por desidratação não é particularmente limitado contanto que permita o progresso da condensação por desidratação de um álcool com um grupo carboxila; entretanto, é preferido dicicloexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida, 1-dimetilaminopropil-3-etilcarbodiimida, carbonildiimidazol, iso-
25 butila cloroformiato, ou cloreto de ácido pivalico.

Um auxiliar de reação pode ser usado na reação de condensação por desidratação; exemplos deste incluem N-hidroxissuccinimida, 1-hidroxibenzotriazol, 4-dimetilaminopiridina e 2,6-di-t-butil-4-metilpiridina.

30 A temperatura de reação na reação de condensação por desidratação é tipicamente 4 a 60°C, preferivelmente 15 a 50°C, o tempo de reação é de 2 horas a diversos dias, preferivelmente 4 a 48 horas.

O solvente usado na reação de substituição nucleofílica acima não é particularmente limitado contanto que permita a reação prosseguir. Entretanto, o mesmo solvente pode ser usado como aquele usável na condensação por desidratação do copolímero de bloco de ácido metoxipolietileno glicol - poliglutâmico acima com um antimetabólito de citidina; um solvente preferível é também o mesmo como acima. Exemplos da base incluem um carbonato de metal de álcali tal como carbonato de lítio, carbonato de sódio e carbonato de potássio; um hidreto de metal de álcali tal como hidreto de lítio, hidreto de sódio e hidreto de potássio; um hidróxido de metal de álcali tal como hidróxido de lítio, hidróxido de sódio e hidróxido de potássio; um alcóxido de metal de álcali tal como metóxido de lítio, metóxido de sódio, etóxido de sódio e terc-butóxido de potássio; e um amina orgânica tal como trietilamina, tributilamina, N,N-diisopropiletilamina, N-metilmorfolina, piridina, 4-(N,N-dimetilamino)piridina, N,N-dimetilaztilina, N,N-dietilanilina, 1,5-diazabicyclo[4,3,0]nona-5-eno, 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (DABCO) e 1,8-diazabicyclo[5,4,0]-7-undeceno (DBU); uma amina orgânica é preferida.

A temperatura de reação na reação de substituição nucleofílica acima é tipicamente 4 a 60°C, preferivelmente temperatura ambiente para 50°C, o tempo de reação é uma hora a diversos dias, preferivelmente 4 a 48 horas.

O solvente usado na reação de condensação por desidratação acima (reação de amidação) não é particularmente limitado contanto que permita a reação prosseguir. Entretanto, o mesmo solvente pode ser usado como aquele utilizável na condensação por desidratação do copolímero de bloco de ácido metoxipolietileno glicol-poliglutâmico acima com um antimetabólito de citidina; um solvente preferível é também o mesmo como acima. O agente de condensação por desidratação não é particularmente limitado, contanto que permita o progresso da condensação por desidratação de uma amina com um grupo carboxila; entretanto, é preferido dicicloexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida, 1-dimetilaminopropil-3-etilcarbodiimida, carbonildiimidazol, cloroformiato de isobutila, cloreto de ácido piválico, DMT-MM(cloreto de 4-(4,6-dimetóxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolínio), TFFH

(hexafluorofosfato de tetrametilfluoroformamidínio), ou BOP hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfônio).

Um auxiliar de reação pode ser usado na reação de condensação por desidratação; exemplos deste incluem N-hidroxissuccinimida, 1-hidroxibenzotriazol, 4-dimetilaminopiridina e 2,6-di-t-butil-4-metilpiridina.

A temperatura de reação na reação de condensação por desidratação é tipicamente 4 to 60°C, preferivelmente temperatura ambiente para 50°C. O tempo de reação é uma hora a diversos dias, preferivelmente 4 a 48 horas.

Visto que a seqüência de reação para ligar o substituinte hidrofóbico e o antimetabólito de citidina ao composto polimérico não importa, eles podem ser misturados para a reação. Entretanto, o substituinte hidrofóbico é preferivelmente introduzido no portador polimérico antes de ligar o antimetabólito de citidina a ele para evitar a reação e decomposição do antimetabólito como o corpo para atividade tendo um grupo multifuncional.

O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção pode formar micelas tendo cascas da porção de polietileno glicol em água. A formação de micelas pode ser identificada, por exemplo, por cromatografia de filtragem de gel (GPC) ou dispersão de luz dinâmica.

De acordo com a presente invenção, a formação de micelas é facilitada pela ligação do grupo carboxila, que não é ligado ao antimetabólito de citidina, ao substituinte hidrofóbico.

A presente invenção abrange um agente Anti-tumor ou antiviral compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina acima descrito como um ingrediente medicinal. O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina pode ser administrado como é ou na forma de uma composição farmacêutica em que é misturado com substâncias farmacêuticamente aceitáveis. A forma de dosagem da composição farmacêutica pode ser qualquer forma de dosagem tal como uma injeção, um pó, um grânulo, um comprimido e um supositório. Estas preparações podem também conter várias substâncias auxiliares para uso farmacêutico, isto é,

um portador e outros auxiliares incluindo aditivos tais como um estabilizante, um preservante, um agente amenizante e um emulsificador.

O conteúdo do derivado polimérico de um antimetabólito de citidina na preparação diversamente varia dependendo da preparação; entretanto, é tipicamente de 0,1 a 100% por peso, preferivelmente 1 a 98% por peso.

A indicação do agente Anti-tumor da presente invenção compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como um ingrediente medicinal não é particularmente limitado; entretanto, o agente pode ser usado para cânceres tais como, por exemplo, câncer pulmonar de célula não pequena, câncer do pâncreas, câncer do estômago, câncer do cólon, câncer retal, câncer de mama, câncer ovariano, câncer de bexiga e sarcoma de Kaposi associado com AIDS.

A indicação do agente antiviral da presente invenção compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como um ingrediente medicinal não é particularmente limitado; entretanto, o agente pode ser usado, por exemplo, para síndrome de deficiência imune adquirida (AIDS), doença infecciosa do vírus de herpes simples, e os semelhantes e pode também ser empregado para o propósito de prevenir a infecção.

O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção pode ser administrado por qualquer método incluindo administração oral, injeção, administração intrarectal, administração intraportal, misturando em um perfusado de órgão, e administração local em um órgão afetado. Entretanto, a administração parenteral é preferida; a administração intravenosa ou intraarterial ou administração local em um órgão afetado é mais preferida. A dosagem do derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção varia dependendo do estado da doente, o método de administração, a condição, idade e peso corporal de um paciente, e os semelhantes; entretanto, é tipicamente de 1 mg a 5.000 mg, preferivelmente 10 mg a 2.000 mg, por m² da área da superfície do corpo, que pode ser administrado uma vez ou em diversas porções por dia. A administração pode ser realizada diariamente, ou repetidamente di-

versos dias à diversos meses separadamente. Um método de administração, dosagem e escala de administração diferente do acima pode ser usado como necessário.

- 5 O derivado polimérico da presente invenção também inclui aquele em que um pró-fármaco é ligado. Aqui, o fármaco é um derivado químico de um composto origem biologicamente ativo, que libera o composto origem *in vivo* quando administrado.

Exemplos

- 10 A presente invenção é descrita abaixo em maiores detalhes com referência aos Exemplos, Exemplos de Referência e Exemplos Teste. Entretanto, o escopo da invenção não pretende-se ser limitada a eles.

Exemplo de referência 1

- 15 Síntese de Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipoli-
etileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com Ácido poliglu-
tâmico tendo Número de polimerização de cerca de 26.

- Um polietileno glicol tendo um grupo metóxi em uma extremidade e um grupo 3-aminopropila em outra extremidade (SUNBRIGHT MEPA-12T de NOF Corporation, peso molecular médio: 12.000, 16 g) foi dissolvido em sulfóxido de dimetila (320 mL), ao qual anidrido de N-carboxílico de α -
20 benzil-L-glutamato (BLGNCA, 9,48 g; 27 equivalentes com base no polietileno glicol) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 30°C durante a noite. A solução de reação foi adicionado em gotas a um solvente misto de etanol-éter de isopropila (4:1, 6,4 L) sob agitação, que foi em seguida agitado durante mais 3 horas. O depósito precipitado foi coletado por filtragem e
25 lavado com um solvente misto de etanol-éter de isopropila (4:1, 400 mL). O produto resultante (22,78 g) foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (370 mL), ao qual anidrido acético (6,83 mL) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 20°C durante a noite. A solução resultante foi adicionada em gotas a um solvente misto de éter de isopropila-acetato de etila a um solven-
30 te misto de éter de isopropila-acetato de etila (4:1, 3,7 L) sob agitação, que foi em seguida agitado durante mais 3 horas. O depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter de isopropila-

acetato de etila (4:1, 300 mL). O produto resultante (22,92 g) foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (370 mL), ao qual carbono de paládio a 5% (contendo 55% de água, 2,50 g) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 30°C em uma atmosfera de hidrogênio durante 4 horas e em seguida em temperatura ambiente durante a noite. Após filtrar a carbono de paládio, o filtrado foi adicionado em gotas a um solvente misto de éter de isopropila-acetato de etila (4:1, 5 L) sob agitação, que foi em seguida agitado durante mais uma hora. O depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto éter de isopropila-acetato de etila (4:1, 300 mL). O produto resultante (16 g) foi dissolvido em água destilada (800 mL), ao qual uma solução aquosa de hidróxido de sódio de 1M foi em seguida adicionada para ajustar o pH da solução para 11. Água destilada foi adicionada a ela a fim de fornecer um volume de solução final de 1.600 mL, seguido por adição de cloreto de sódio (80 g). Esta solução foi passada através de uma coluna da resina de absorção HP -20ss (de Mitsubishi Chemical Corporation, 500 mL); a coluna foi lavada uma solução aquosa de cloreto de sódio a 5% (2,000 mL) e água destilada (20,000 mL) e em seguida eluída com uma solução aquosa de acetonitrilo a 50% (2,500 mL). A fração eluída contendo o composto desejado foi passada através, e eluída de uma coluna da resina de permuta de cátion Dowex 50W (de The Dow Chemical Company, tipo próton, 100 mL); a coluna foi também eluída com 50% de acetonitrilo aquoso (150 mL). A fração eluída contendo o composto desejado foi concentrada sob pressão reduzida até o volume de solução alcançar cerca de 300 mL, e em seguida submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (15,84 g).

O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 26,22, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

30 Exemplo de referência 2

Síntese de Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipoli-etileno glicol tendo peso molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglu-

tâmico tendo número de polimerização de cerca de 41.

De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1, 45 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para fornecer o composto título.

- 5 O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 41,45, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

Exemplo de referência 3

- 10 Síntese de Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 24.

- De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1, 25 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para
15 fornecer o composto título.

O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 23,70, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

- 20 Exemplo de referência 4

Síntese de Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 32.

- De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1,
25 35 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para fornecer o composto título. O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 31,71, com base no valor de titulação obtido usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

- 30 Exemplo de referência 5

Síntese de Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglu-

tâmico tendo número de polimerização de cerca de 36.

De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1, 40 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para fornecer o composto título.

- 5 O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 35,90, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

Exemplo de referência 6

- 10 Síntese de Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 21.

- De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1, 23 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para
15 fornecer o composto título.

O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 21,38, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

- 20 Exemplo de referência 7

Síntese de Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 26.

- De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1,
25 30 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para fornecer o composto título.

O número de polimerização médio de ácido glutâmico (vários ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 26,48, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

- 30 Exemplo de referência 8

Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Fenilalanina com Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno

glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 24.

O copolímero de bloco N-acetilado de um monometoxipoliétileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12,000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 24 (1,533 g) descrito no Exemplo de referência 3 foi dissolvido em N,N dimetilformamida (32 mL), ao qual 4-toluenossulfonato de éster de benzila de L-fenilalanina (0,464 g), TFFH (0,286 g), N,N-diisopropiletilamina (0,672 mL) e 2,6-di-t-butil-4-metilpiridina (0,495 g) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 37°C durante 20 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (64 mL), à qual éter de diisopropila (256 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 30% de acetonitrilo aquoso (45 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). Acetonitrilo (15 mL) foi adicionado à solução dialisada, e a mistura foi passada através da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton), que foi eluída com 50% de acetonitrilo aquoso. A fração eluída contendo o composto desejado foi concentrada sob pressão reduzida a 1/2 volume e submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (1,689 g).

Após hidrolisar o composto, o álcool de benzila liberado foi quantificado cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Phe-OBzl no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 32,8% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Método de Hidrólise

O composto título (34.48 mg) foi dissolvido em metanol (1 mL), ao qual uma solução aquosa de hidróxido de sódio de 0,5 M (1 mL) foi em seguida adicionada, seguido por agitação a 40°C durante uma hora. A solução foi neutralizada com ácido acético e em seguida diluída com água desti-

lada para fazer uma solução exata de 5 mL.

Condições de Análise de LC (Análise de Álcool de Benzila)

Coluna: Inertsil ODS-3 (tamanho de partícula: 5µm), 4,6φ 4 x 150 mm;

5 Temperatura de Coluna: 40°C;

Eluente: solução A: solução aquosa de ácido fosfórico a 1%, solução B:

acetonitrilo;

Gradiente: % solução B (tempo: minutos) 30 (0), 80 (10);

10 Taxa de fluxo: 1 mL/minutos;

Detector (detecção de comprimento de onda): UV (260 nm).

Exemplo de referência 9

Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Fenilalanina com Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipoliétileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 41.

O Copolímero de Bloco N-Acetilado de um monometoxipoliétileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12,000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 41 (176.5 mg) descrito no Exemplo de referência 2 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (5.3 mL), ao qual 4-toluenossulfonato de éster de benzila de L-fenilalanina (63,0 mg), TFFPT (38,9 mg), N,N-diisopropiletilamina (117,3 µL) e 2,6-di-t-butil-4-metilpiridina (87,0 mg) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 37°C durante 22 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (10,6 mL), ao qual éter de diisopropila (42,4 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 20% de acetonitrilo aquoso (16 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi passada através da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 9 mL), que

foi eluída com 50% de acetonitrilo aquoso. A fração eluída contendo o composto desejado foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (194,0 mg).

- Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no
- 5 Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo de referência S para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Phe-OBzl no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 32,6% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.
- 10

Exemplo de referência 10

- Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Fenilalanina com Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipoliétileno Glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico
- 15 tendo número de polimerização de cerca de 32.

- O Copolímero de Bloco N-acetilado de um monometoxipoliétileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 32 (668 mg) descrito no Exemplo de referência 4 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (13 mL),
- 20 ao qual 4-toluenossulfonato de éster de benzila de L-fenilalanina (282 mg), TFFH (175 mg) e N,N-diisopropiletilamina (345 µL) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 40°C durante 20 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (26 mL), ao qual éter de diisopropila (104 mL) foi em seguida
- 25 adicionado em gotas sob agitação, O depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrilo aquoso (16 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi passada
- 30 através da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 10 mL), que foi eluída com 50% de acetonitrilo aquoso. A fração eluída contendo o composto desejado foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o

composto título (762 mg).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo de referência 8 para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Phe-OBzl no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 41,8% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Exemplo de referência 11

Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Valina com Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipoli(etileno glicol) tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 36.

O Copolímero de Bloco N-Acetilado de um monometoxipoli(etileno glicol) tendo um peso molecular de cerca de 12,000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 36 (531 mg) descrito no Exemplo de referência 5 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (10.6 mL), ao qual 4-toluenossulfonato de éster de benzila de L-vanila (195 mg), TFJ'H (135 mg) e N,N-diisopropiletilamina (288) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 40°C durante 30 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (20 mL), ao qual éter de diisopropila (80 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 30% de acetonitrilo aquoso (25 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). Da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 3 mL) foi adicionado à solução dialisada, que foi agitada durante 30 minutos, seguido por filtração da resina. O filtrado contendo o composto desejado foi submetido à secagem por congelamento para fornecer o composto título (559 mg).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no

Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo de referência 8 para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Val-OBzl no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 41,3% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Exemplo de referência 12

Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Fenilalanina com Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipoliétileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 26.

O Copolímero de Bloco N-Acetilado de um monometoxipoliétileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12,000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 26 (6.00 g) descrito no Exemplo de referência 1 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (150 mL), ao qual Hidrocloreto de éster de benzila de L-fenilalanina (2,08 g), DMT-MM (2.37 g) e N,N-diisopropiletilamina (1.24 mL) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 40°C durante a noite.

A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida adicionada em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1, 1,500 mL). Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 97 % em peso de DMF aquoso (150 mL), ao qual a resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 15 mL) foi adicionada antes agitando a mistura em temperatura ambiente durante 2 horas, seguido por filtração da resina e lavando a resina com DMF (75 mL). O filtrado resultante foi adicionado em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1) (2,400 mL), que foi agitado durante 30 minutos, em seguida coletando-se o depósito precipitado por filtração para fornecer o composto título (6,88 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condi-

ções como aquelas no Exemplo de referência 8 para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Phe-OBzl no composto, como um resultado, a taxa de ligação foi de 62,4% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

5 Exemplo de referência 13

Síntese de Conjugado de Éster de Brometo de Benzila com Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 26.

- 10 O copolímero de bloco N-acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12,000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 26 (342 mg) descrito no Exemplo de referência 1 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (6,8 mL), ao qual brometo de benzila (29,0 µL) e N,N-diisopropiletilamina (53,1 µL)
- 15 foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 37°C durante a noite. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (13,6 mL), ao qual éter de diisopropila (54,4 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após uma hora de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um
- 20 solvente misto éter de diisopropila-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrilo aquoso (20 mL), e a solução foi passada através da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 4 mL), que foi em seguida eluted com 50% de acetonitrilo aquoso. A fração eluída contendo o composto desejado foi concentrada sob pressão reduzida a 1/2 volume e em seguida submetida à secagem por congelamento para fornecer o
- 25 composto título (352 mg).

- Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (H PLC) sob as mesmas condi-
- 30 ções como aquelas do Exemplo de referência 8 para determinar a taxa de ligação do grupo OBzl no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 25,0% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Exemplo de referência 14:

Síntese de Conjugado de Éster de Brometo de 4-Fenilbutila com Copolímero de Bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo peso molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 26.

O Copolímero de Bloco N-Acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12,000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 26 (2,33 g) descrito no exemplo de referência 7 foi dissolvido em N,N dimetilformamida (50 mL), ao qual brometo de 4-fenilbutila (682 mg) e 1,8-diazabicyclo[5,4,0]-7-undeceno (DBU, 598 µL) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 38°C durante a noite. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida adicionada em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1, 500 mL). Após uma hora de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrilo aquoso, ao qual a resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 5 mL) foi adicionada antes de agitar a mistura durante 2 horas, seguido por filtragem da resina e em seguida submetendo o filtrado à secagem por congelamento para fornecer o composto título (2,54 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no Exemplo de referência 8, o 4-fenilbutanol liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para determinar a taxa de ligação do grupo 4-fenilbutóxi no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 65,7% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Exemplo 1:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 21; e X é Grupo Hidroxila ou Gencitabina.

N,N-Dimetilformamida (15 mL) e N,N-diisopropiletilamina (192 µL) foram adicionados ao Copolímero de Bloco N-Acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12,000 com um

ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 21 (759 mg) descrito no Exemplo de referência 6 e hidrocloreto de gencitabina (330 mg), que foi em seguida agitado a 37°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 300 mg) foi adicionado a ele, que foi
5 agitado a 37°C durante 20 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (30 mL), ao qual éter de diisopropila (120 mL) foi adicionado em gotas sob agitação. Após uma hora de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvi-
10 do em 25% de acetonitrilo aquoso (40 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (1,078 mg).

Após hidrolisar o composto, a gencitabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para determinar um
15 conteúdo de gencitabina do composto. Como um resultado, o conteúdo foi de 20,8% (peso/peso) (58,0% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de hidrocloreto de gencitabina. Além disso, quando o composto da presente invenção foi submetido à análise por HPLC, o conte-
20 údo de gencitabina livre foi de 0,3% ou menos.

Método de Hidrólise

O composto título (3,60 mg) foi dissolvido em metanol (0,5 mL) ao qual água de amônia concentrada (0,5 mL) foi em seguida adicionada antes de selar, seguido por agitação a 37°C durante uma hora. A solução foi neu-
25 tralizada com ácido acético e em seguida diluída com água destilada para fazer uma solução exata de 10 mL.

Condições de Análise de HPLC (Análise de Gencitabina)

Coluna: Inertsil ODS-3 (tamanho de partícula: 5µm), 4,6 φ x 150
mm;

30 Temperatura de Coluna: 40°C;

Eluente: 95% de tampão de fosfato (10 mM, pH 6.9) - 5% acetonitrilo; Taxa de fluxo: 1 mL/min.;

Detector (detecção de comprimento de onda): U V (275 nm)

Exemplo 2:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1)
Em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m
5 é 24; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster de Benzila de
L-Fenilalanina

N,N-Dimetilformamida (26 mL) e N,N-diisopropiletilamina (0,213
mL) foram adicionados ao composto (1,298 g) descrito no Exemplo de refe-
rência 8 e hidrocloreto de gencitabina (0,366 g), que foi em seguida agitado
10 a 37°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (E-
EDQ, 0,362 g) foi adicionado a ele, que foi agitado a 37°C durante a noite. A
solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida
diluída com etanol (52 mL), ao qual éter de diisopropila (208 mL) foi adicio-
nado em gotas sob agitação. Após uma hora de agitação, o depósito precipi-
15 tado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol
(4:1). O produto resultante foi dissolvido em 25% de acetonitrilo aquoso (40
mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma
membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisa-
da foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto
20 título (1,330 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no
Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida
de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no
Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto. Como
25 um resultado, o conteúdo foi de 10,7% (peso/peso) (28, 1% com base nos
grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de hidrocloreto de gen-
citabina. Além disso, quando o composto foi submetido à análise de HPLC, o
conteúdo de gencitabina livre foi de 0,3% ou menos.

Exemplo 3:

30 Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1)
Em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m
é 41; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster de Benzila de

L-Fenilalanina

N,N-Dimetilformamida (3.3 mL) e N,N-diisopropiletilamina (39,2 mL) foram adicionados ao composto (165 mg) descrito no Exemplo de referência 9 e hidrocloreto de gencitabina (67.4 mg), que foi em seguida agitado a 37°C. Após dissolução, 2-etóxi-l-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 56,0 mg) foi adicionado a ele, que foi em seguida agitado a 37°C durante 23 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (6,6 mL), ao qual éter de diisopropila (26,4 mL) foi adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 10% de acetonitrilo aquoso (16 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (183mg):

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto da presente invenção. Como um resultado, o conteúdo foi de 21,2% (peso/peso) (42,6% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de hidrocloreto de gencitabina. Além disso, quando o composto foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi de 0,3% ou menos.

25 Exemplo 4:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) Em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 26; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Grupo Benzilóxi.

N,N-Dimetilformamida (6 mL) e N,N-diisopropiletilamina (63.1 4) foram adicionados ao composto (295 mg) descrito no Exemplo de referência 13 e hidrocloreto de gencitabina (108,5 mg), que foi em seguida agitado a 37°C. Após dissolução, 2-etóxi-l-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ,

98,2 mg) foi adicionado a ele, que foi agitado a 37°C durante 23 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (12 mL), ao qual éter de diisopropila (48 mL) foi adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 10% de acetonitrilo aquoso (16 que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (334 mg).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto da presente invenção. Como um resultado, o conteúdo foi de 20,5% (peso/peso) (49.9% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de hidrocloreto de gencitabina. Além disso, quando o composto foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi 5,1%.

Exemplo 5:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) Em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 36; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster de Benzila.

N,N-Dimetilformamida (10,3 mL) e N,N-diisopropiletilamina (77,9 µL) foram adicionados ao composto (515 mg) descrito no Exemplo de referência 11 e hidrocloreto de gencitabina (134 mg), que foi em seguida agitado a 40°C. Após dissolução, 2-etóxi-I-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 166 mg) foi adicionado a ele, que foi agitado a 40°C durante 20 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (20.6 mL), ao qual éter de diisopropila (82.4 mL) foi adicionado em gotas sob agitação. O depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 30% de acetonitrilo aquoso (20 mL), que foi em seguida diali-

sado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (574 mg).

- Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto da presente invenção. Como um resultado, o conteúdo foi de 14,1% (peso/peso) (28,8% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de hidrocloreto de gencitabina. Além disso, quando o composto foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi 0,2% ou menos.

Exemplo 6:

- Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) Em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 26; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster de Benzila de L-Fenilalanina

- N,N-Dimetilformamida (75 mL) e N,N-diisopropiletilamina (286 µL) foram adicionados ao composto (3,0 g) descrito no Exemplo de referência 12 e hidrocloreto de gencitabina (492 mg), que foi em seguida agitado a 40°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 508 mg) foi adicionado a ele, que foi agitado a 40°C durante 24 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida adicionada em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1) (750 mL). Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrilo aquoso (50 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (3 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (2,94 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificado por cromatografia líquida

de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto. Como um resultado, o conteúdo foi de 4,67% (peso/peso) (11,9% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de hidrocloreto de gencitabina. Além disso, quando o composto da presente invenção foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi de 0,2% ou menos.

Exemplo 7:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1)
Em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 26; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Álcool de 4-Fenilbutila.

N,N-Dimetilformamida (50 mL) e N,N-diisopropiletilamina (218 µL) foram adicionados ao composto (2,07 g) descrito no Exemplo de referência 14 e hidrocloreto de gencitabina (375 mg), que foi em seguida agitado a 40°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 386 mg)) foi adicionado a ele, que foi agitado a 40°C durante 24 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida adicionada em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1, 750 mL). Após uma hora de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrilo aquoso (25 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (3 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (2,05 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto da presente invenção. Como um resultado, o conteúdo foi de 7,35% (peso/peso) (17,5% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de hidrocloreto de gencitabina. Além disso, quando o composto foi

submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi 0,2% ou menos.

Exemplo 8:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1)

- 5 Em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 32; e X é Citarabina ou Grupo de Hidroxila.

O Copolímero de Bloco N-Acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12,000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 32 (130 mg) descrito
10 no Exemplo de referência 4 e citarabina (50,0 mg) foram dissolvidos em N,N-dimetilformamida (2,6 mL), ao qual 2-etóxi-l-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 63,6 mg) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 40°C durante 24 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (5,2 mL), ao qual éter de diisopropila
15 (20,8 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 20% de acetonitrilo aquoso, que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de
20 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (143 mg).

Após hidrolisar o composto, a citarabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para determinar um conteúdo de citarabina do composto. Como um resultado, o conteúdo foi de
25 22.5% (peso/peso) (59,2% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de citarabina.

Método de Hidrólise

O composto título (3,20 mg) foi dissolvido em metanol (0.5 mL), ao qual água de amônia concentrada (0,5 mL) foi em seguida adicionada
30 antes de selar, seguido por agitação a 37°C durante uma hora. A solução foi neutralizada com ácido acético e em seguida diluída com água destilada para fazer uma solução exata de 10 mL.

Condições de Análise de HPLC (Análise de Citarabina)

Coluna: SOPELCO Discovery HS F5 (tamanho de partícula: 5µm), 4,6 φ x 250 mm; Temperatura de Coluna: 40°C;

Eluente: tampão de fosfato (10 mM, pH 6,9);

5 Taxa de fluxo: 1 mL/min.;

Detector (detecção de comprimento de onda): LN (275 nm)

Exemplo 9:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de Citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m
10 é 32; e X é Citarabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster Benzila de L-Fenilalanina.

O composto (267 mg) descrito no Exemplo de referência 10 e citarabina (50,0 mg) foram dissolvidos em N,N-dimetilformamida (5,3 mL), ao qual 2-etóxi-l-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 63,6 mg) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 40°C durante 21 horas. A solução de reação foi resfriada para temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (10,6 mL), ao qual éter de diisopropila (42,4 mL) foi em seguida em gotas adicionado sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 30% de acetonitrilo aquoso, que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12,000 a 14,000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto título (290 mg).

25 Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 8, acitarabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 8 para determinar um conteúdo de citarabina do composto. Como um resultado, o conteúdo foi de 11,3% (peso/peso) (31,5% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de citarabina.
30

Exemplo Teste 1: Teste de Liberação de Agente na Ausência de Enzima

O composto de Exemplo 1 (indicado com composto 1 na figura

1), o composto de Exemplo 2 (indicado com composto 2 na figura 1), ou o composto de Exemplo 7 (indicado com composto 7 na figura 1) foi dissolvido em salina tamponado fosfato (pH 7,4) a fim de fornecer uma concentração de 1,0 mg/mL, que foi em seguida deixada repousar em uma temperatura constante de 37°C. A quantidade liberada de gencitabina foi avaliada com tempo por HPLC para determinar uma percentagem da quantidade de gencitabina liberada com base na quantidade da gencitabina total no composto usada. Os resultados são mostrados na figura 1. Como um resultado, os compostos da presente invenção foram demonstrados para liberar lentamente os agentes sem depender da enzima.

Exemplo Teste 2: Teste de Liberação de Agente em Plasma de Camundongo

O composto de Exemplo 1 (2,3 mg; indicado com composto 1 na figura 2) ou o composto de Exemplo 2 (3,7 mg; indicado com composto 2 na figura 2) foi dissolvido em salina tamponado fosfato (0,1 mL, pH 7,4), ao qual uma quantidade de 4 vezes (volume/volume) do plasma (0,4 mL) coletado e preparado do camundongo foi em seguida adicionado, seguido permitindo a mistura repousar em uma temperatura constante de 37°C. Alíquotas de cinquenta microlitros cada foram tomadas com o tempo e diluídas com 50% de metanol aquoso (450 µL). A solução foi submetida ao tratamento de desproteção usando um filtro de membrana (tamanho de poro: 0,45 µm), seguido por avaliando a quantidade de gencitabina liberada por HPLC para determinar uma percentagem da quantidade de gencitabina liberada com base na quantidade da gencitabina total no composto usado. Os resultados são mostrados na figura 2. O compostos da presente invenção foram demonstrados liberar lentamente os agentes também em plasma.

Exemplo Teste 3:

Efeito Anti-tumor em Camundongos transportando Câncer (1)

Carcinoma de cólon de murino Cólon 26 foi mantido por implante subcutâneo em série em camundongos. O tumor de Cólon 26 foi picado em fragmentos quadrados de cerca de 2mm e estes pedaços de tumor foram implantados nos camundongos subcutaneamente por *trocácar*. Sete dias após

o implante de tumor, o composto de Exemplo 1 (indicado com composto 1 na Tabela 2), o composto de Exemplo 2 (indicado com composto 2 na Tabela 2), o composto de Exemplo 4 (indicado com composto 4 na Tabela 2), e hidrocloreto de gencitabina como um agente de controle foram dissolvidos em injeção de glicose a 5%, respectivamente, e cada composto ou agente de controle foi administrado uma vez intravenosamente nas doses descritas na Tabela 2. O tamanho de tumor foi medido no dia de início da administração e no dia 7 em seguida ao início da administração do fármaco, e os volumes de tumor foram calculados usando a seguinte equação. Volumes relativos de tumor no dia 7 após a administração *versus* no dia de início foram estimados, os resultados são mostrados na Tabela 2.

[Equação 1]

Volume Tumor (mm³) =

$$\frac{[\text{Maior diâmetro de tumor (mm)}] \times [\text{Menor diâmetro de tumor (mm)}] \times [\text{Menor diâmetro de tumor}]}{[\text{Maior diâmetro de tumor (mm)}] \times [\text{Menor diâmetro de tumor (mm)}] \times [\text{Menor diâmetro de tumor}]}$$

Tabela 2

Agente	dose (em hidrocloreto de gencitabina) (mg/kg)	volume relativo de tumor*
Não tratamento	0	8,8 ± 4,9
Composto 1	50	0,4 ± 0,2
	25	1,5 ± 0,5
Composto 2	12,5	0,5 ± 0,3
	6,25	2,4 ± 1,1
Composto 4	25	0,5 ± 0,1
	6,25	3,6 ± 0,5
Agente de Controle	200	1,4 ± 0,1
	100	2,6 ± 0,7

*O volume relativo de tumor médio (média ± SD) em 7 dias após o início da administração quando o volume de tumor na data de início da administração é estabelecido em 1,0.

É evidente a partir destes resultados, que o compostos da presente invenção têm efeitos anti-tumor equivalentes ou maiores em doses

inferiores do que o hidrocloreto de gencitabina como um agente de controle. Mostrou-se também que o composto da presente invenção tendo o substituinte hidrofóbico (o composto de Exemplo 2 ou 4) tem um efeito comparável em outras doses reduzidas comparadas ao composto não tendo nenhum substituinte hidrofóbico (o composto de Exemplo 1).

Exemplo Teste 4: Efeito Anti-tumor em Camundongos transportando Câncer
(2)

Carcinoma de cólon de murino 26 foi mantido por implante subcutâneo em série em camundongos. O tumor de Cólon 26 foi picado em fragmentos de pedaços de cerca de 2 mm e estes pedaços de tumores foram implantados nos camundongos subcutaneamente por *trocar*. Sete dias após o implante de tumor, o composto de Exemplo 7 (indicado com composto 7 na Tabela 3) e gencitabina como um agente de controle foram dissolvidos em injeção de glicose a 5%, respectivamente, e cada foi administrado uma vez intravenosamente nas doses descritas na Tabela 3. Os volumes de tumor foram calculados no dia de início da administração e no dia 10 em seguida à iniciação da administração de fármaco como descrito em Exemplo Teste 3. Volumes relativos de tumor no dia 10 após a administração *versus* no dia de início foram estimados. Os resultados são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3

Agente	dose (em hidrocloreto de gencitabina) (mg/kg)	volume relativo de tumor*
Não tratamento	0	10,5 ± 5,0
Composto 7	25	0,3 ± 0,3
	16,7	1,1 ± 0,5
Agente de Controle	200	3,4 ± 0,6
	100	3,9 ± 0,5

*O volume relativo de tumor médio (média ± SD) em 7 dias após o início da administração quando o volume de tumor na data de início de administração é estabelecido em 1,0.

É evidente a partir destes resultados que o composto da presente invenção tem um efeito Anti-tumor equivalente ou maior em doses inferior-

res do que hidrocloreto de gencitabina como um agente de controle.

Exemplo Teste 5:

Efeito Anti-tumor em Camundongos transportando Câncer (3)

- Carcinoma de cólon de murino Cólon 26 foi mantido por implante subcutâneo em série em camundongos. O tumor Cólon 26 foi picado em fragmentos de pedaços de cerca de 2 mm e estes pedaços de tumores foram implantados nos camundongos subcutaneamente por *trocar*. Sete dias após o implante de tumor, o composto de Exemplo 8 (indicado com composto 8 na Tabela 4), o composto de Exemplo 9 (indicado com composto 9 na Tabela 4), e citarabina como um agente de controle foram dissolvidos em injeção de glicose a 5 %: respectivamente, e cada composto ou agente de controle foi administrado uma vez intravenosamente nas doses descritas na Tabela 4. Os volumes de tumor foram calculados no dia de início da administração e no dia 10 em seguida à iniciação da administração de fármaco como descrito em Exemplo Teste 3. Os volumes relativos de tumor no dia 10 após a administração *versus* no dia de início foram estimados. Os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4

Agente	dose (em citarabina) (mg/kg)	volume relativo de tumor*
Não tratamento	0	8,8 ± 4,9
Composto 8	200	0,4 ± 0,2
	100	1,5 ± 0,5
Composto 9	150	0,5 ± 0,3
	100	2,4 ± 1,1
	1600	8,4 ± 2,9
Agente de Controle	800	10,0 ± 3,3
	100 x 5**	9,0 ± 2,0

- *Volume relativo de tumor médio (média ± SD) em 10 dias após o início da administração quando o volume de tumor na data de início de administração é estabelecido em 1,0.

**Administração de cinco dias contínuos em 100 mg/kg

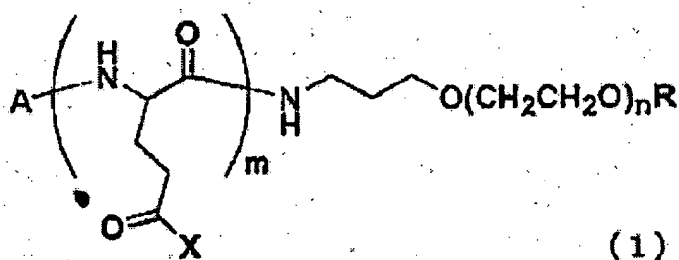
É evidente a partir destes resultados que o compostos da presente invenção têm efeitos Anti-tumor maiores em doses inferiores do que citarabina como um agente de controle, Mostrou-se também que o composto tendo o substituinte hidrofóbico (o composto de Exemplo 9) tem um efeito comparável em outras doses reduzidas comparadas ao composto não tendo nenhum substituinte hidrofóbico (o composto de Exemplo 8).

REIVINDICAÇÕES

1. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, que compreende uma estrutura em que um grupo amino de um antimetabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

2. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1, em que a porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais compreende uma cadeia de ácido poliglutâmico.

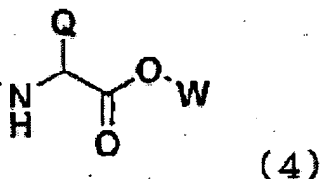
3. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o derivado é um composto representado pela Fórmula geral (1): [Fórmula 7]



em que R representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C1 a C6 alquila; A representa um átomo de hidrogênio, um grupo C1 a C6 acila, ou um grupo C1 a C6 alcocarbonila; m representa 3 a 200 como um valor médio; n representa 5 a 2,000 como um valor médio; X representa um resíduo de antimetabólito de citidina, um grupo hidroxila, ou um substituinte hidrofóbico; e X representa um resíduo de antimetabólito de citidina em 3 a 100% de m, um grupo hidroxila em 0 a 95% de m e um substituinte hidrofóbico em 0 a 80% de m.

4. O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 3, em que R representa um grupo C1 a C3 alquila; A representa um grupo C2 a C4 acila; m representa 5 a 100 como um valor médio; n representa 50 a 1,000 como um valor médio; e o resíduo antimetabólito de citidina representa um grupo representado pela Fórmula (2):

6. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 3 ou 4, em que o substituinte hidrofóbico representa um derivado de α -aminoácido representado pela Fórmula (4):



em que Q representa uma cadeia lateral de um aminoácido neutro; W representa um grupo C1 a C6 alquila ou um grupo benzila.

7. O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 6, em que Q representa um grupo isopropila ou um grupo benzila; e W representa um grupo benzila.

8. O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, de acordo com a reivindicação 3 ou 4, em que o substituinte hidrofóbico representa um grupo representado pela Fórmula (5):

[Fórmula 11]

10

O-T (5)

em que T representa um grupo C1 a C6 alquila opcionalmente substituído por um grupo fenila.

9. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 8, em que T representa um grupo benzila, um grupo 3-fenilpropila, um grupo 4-fenilbutila, ou um grupo 5-fenilpentila.

10. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, de acordo com a reivindicação 3, em que R representa um grupo metila; A representa um grupo acetila; m representa 10 a 60 como um valor médio; n representa 100 a 300 como um valor médio; o antimetabólito de citidina representa citarabina, gencitabina, ou 5'-deóxi-5-fluorocitidina; e o substituinte hidrofóbico representa um grupo benzilóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo (1-benziloxycarbonil-2-metil)propilamino, ou um grupo (1-benziloxycarbonil-2-fenil)etilamino.

11. Um agente anti-tumor compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, como um ingrediente medicinal.

12. Agente antiviral compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com qualquer uma das reivindicações 1

a 10, como um ingrediente medicinal.

- 5 13. Um método para produzir o derivado polimérico de um anti-metabólito de citidina de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, compreendendo ligação por amida, usando um agente de condensação por desidratação em um solvente orgânico, um grupo amino de um antime-
- tabólito de citidina a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

Fig.1

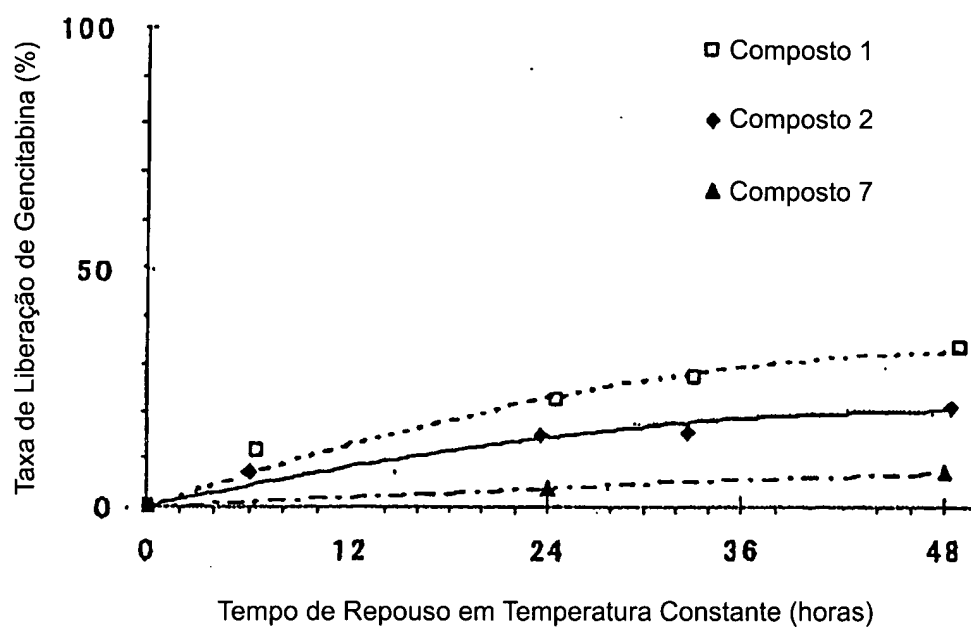


Fig.1: Liberação de Agente na Ausência de Enzima

Fig.2

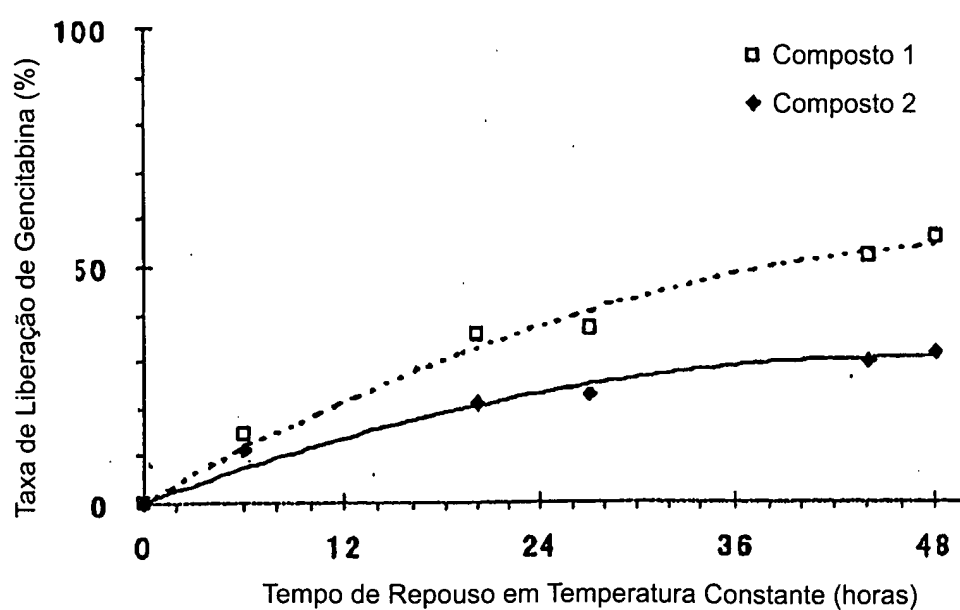


Fig.2: Liberação de Agente em Plasma de Camundongo

RESUMO

Patente de Invenção: **"DERIVADO POLIMÉRICO DE ANTAGONISTA METABÓLICO DE CITIDINA".**

[PROBLEMAS]

- 5 Fornecer um derivado de um antagonista metabólico de citidina que pode exercer um alto efeito terapêutico em uma dose inferior.

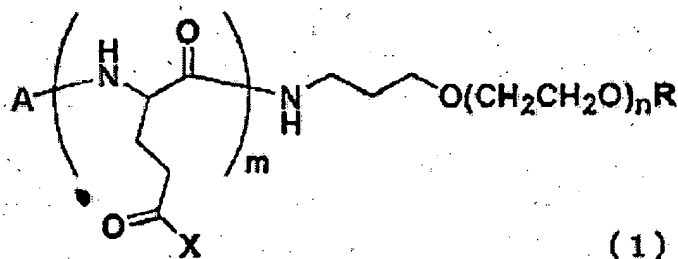
[MEIOS PARA SOLUCIONAR OS PROBLEMAS]

- Um derivado polimérico de um antagonista metabólico de citidina que compreende um composto polimérico tendo uma porção de polietileno glicol e
- 10 uma porção polímera tendo um grupo carboxila em uma cadeia lateral e um antagonista metabólico, que tem uma estrutura tal que o grupo carboxila na cadeia lateral do composto polimérico e um grupo amino no antagonista metabólico de citidina sejam ligados juntamente para formar uma ligação de amida.

Novo quadro reivindicatório (total de 11 reivindicações), incorporando as emendas às reivindicações conforme Relatório de Exame Preliminar.

REIVINDICAÇÕES

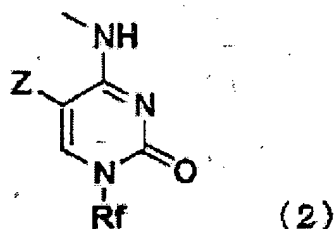
1. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, que compreende uma estrutura em que um grupo amino de um antimetabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de cadeia de ácido poliglutâmico, em que o derivado é representado pela Fórmula Geral (1):



- em que R representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C1 a C6 alquila; A representa um átomo de hidrogênio, um grupo C1 a C6 acila, ou um grupo C1 a C6 alcóxicarbonila; m representa 3 a 200 como um valor médio; n representa 5 a 2.000 como um valor médio; X representa um resíduo de antimetabólito de citidina, um grupo hidroxila, ou um substituinte hidrofóbico; e X representa um resíduo de antimetabólito de citidina em 3 a 100% de m, um grupo hidroxila em 0 a 95% de m e um substituinte hidrofóbico em 0 a 80% de m.

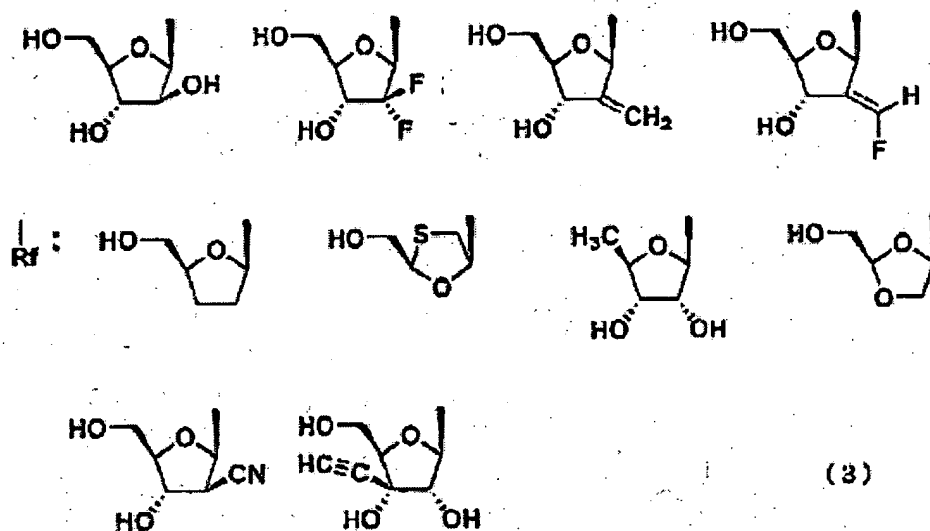
2. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1, em que R representa um grupo 1 a C6 alquila; A representa um grupo C2 a C4 acila; m representa 5 a 100 como um valor médio; n representa 50 a 1.000 como um valor médio; e o resíduo antimetabólito de citidina representa um grupo representado pela Fórmula (2):

[Fórmula 8]



em que Z representa um átomo de hidrogênio ou um átomo de flúor; -Rf representa um grupo selecionado do grupo consistindo em substituintes de Fórmula (3):

[Fórmula 9]

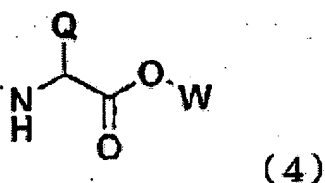


5

3. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1, em que R representa um grupo metila; A representa um grupo acetila; m representa 10 a 60 como um valor médio; n representa 100 a 300 como um valor médio; X representa um resíduo de antimetabólito de citidina ou um grupo hidroxila; e o antimetabólito de citidina representa

10

4. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o substituinte hidrofóbico representa um derivado de α -aminoácido representado pela Fórmula (4):



15

em que Q representa uma cadeia lateral de um aminoácido neutro; W representa um grupo C1 a C6 alquila ou um grupo benzila.

5. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 4, em que Q representa um grupo isopropila ou um grupo benzila; e W representa um grupo benzila.

6. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o substituinte hidrofóbico representa um grupo representado pela Fórmula (5):

[Fórmula 11]

5

O-T (5)

em que T representa um grupo C1 a C6 alquila opcionalmente substituído por um grupo fenila.

7. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 6, em que T representa um grupo benzila, um grupo 3-fenilpropila, um grupo 4-fenilbutila, ou um grupo 5-fenilpentila.

8. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1, em que R representa um grupo metila; A representa um grupo acetila; m representa 10 a 60 como um valor médio; n representa 100 a 300 como um valor médio; o antimetabólito de citidina representa citarabina, gencitabina, ou 5'-deóxi-5-fluorocitidina; e o substituinte hidrofóbico representa um grupo benzilóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo (1-benziloxicarbonil-2-metil)propilamino, ou um grupo (1-benziloxicarbonil-2-fenil)etilamino.

9. Agente Anti-tumor compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 2 a 8, como um ingrediente medicinal.

10. Agente antiviral compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 e 2 a 8, como um ingrediente medicinal.

11. Método para produzir o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como definido em qualquer uma das reivindicações 1 e 2 a 8, compreendendo ligação por amida, usando um agente de condensação por desidratação em um solvente orgânico, um grupo amino de um antimetabólito de citidina a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção polímera tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "DERIVADO POLIMÉRICO DE ANTAGONISTA METABÓLICO DE CITIDINA, AGENTE ANTITUMOR E ANTIVIRAL E MÉTODO PARA PRODUZIR O REFERIDO DERIVADO".

5 Campo Técnico

A presente invenção refere-se a um derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, uso destes, e um método para produzir o mesmo.

Técnica Antecedente.

Vários metabólitos de citidina foram desenvolvidos para tratar
10 tumores malignos ou doenças virais; citarabina, gencitabina e os semelhantes são clinicamente usados como agentes antitumor (anticâncer) e zalcitabina, lamivudina e os semelhantes como agentes antivirais.

Entretanto, muitos destes antimetabólitos de citidina podem não exercer suficientemente a eficácia destes próprios ou requer-se que sejam
15 administrados em altas doses porque eles são suscetíveis a metabolismo e excreção *in vivo* a despeito de forte exibição de atividades *in vivo*. Por meio de exemplo, a gencitabina tem uma forte atividade de supressão de desenvolvimento celular, *em vitro*, comparável àquela de agentes anticâncer tais como paclitaxel e doxorrubicina, porém necessita ser clinicamente fornecida
20 em uma alta dose de 1,000 mg/m² de área da superfície do corpo para cada administração. Isto é considerado ser devido àquele grupo amino na posição 4 da base ser metabolizado e inativado por citidina deaminase, uma enzima de metabolização para 2'-deoxicitidina para reduzir a disponibilidade *in vivo* deste (veja Documento de Não Patente 1).

25 A ligação de um agente a um polímero pode, algumas vezes, melhorar os farmacocinéticos destes *in vivo* para realçar o efeito terapêutico. O documento de Não Patente 2 descreve um derivado polimérico em que a citarabina é ligada a um ácido poliglutâmico tendo um peso molecular médio de cerca de 30.000. Entretanto, um derivado polimérico de um agente algu-
30 mas vezes induz a reação de hipersensibilidade devido à reação imune e, em tal situação, não pode ser administrado em doses repetidas como um agente.

O Documento de Patente 1 descreve um derivado polimérico em que um derivado de citidina é ligado a um polietileno glicol, e o Documento de Não Patente 3 descreve um derivado polimérico em que citarabina é ligada ao ácido aspártico em um polietileno glicol tendo o ácido aspártico substituído em uma forma ramificada em ambas extremidades deste. Entretanto, existe também um problema da possibilidade de que os efeitos terapêuticos destes derivados poliméricos na clínica sejam enormemente afetados por diferenças individuais entre os pacientes visto que o agente liberado dos derivados largamente depende da reação de hidrólise por enzima *in vivo*.

O Documento de Patente 2 descreve que as moléculas em cada das quais um agente é ligado a um polímero tipo bloco obtido por condensação de um polietileno glicol com ácido poliaspártico formam micelas para fornecer um medicamento. Além disso, o Documento de Patente 3 descreve um polímero em que uma substância anticâncer é ligada aos grupos carboxila de cadeia lateral de ácido glutâmico de um polímero tipo bloco obtido por condensação de um polietileno glicol com ácido poliglutâmico. Entretanto, estes Documentos de Patentes não descrevem nenhum antimetabólito de citidina como agentes de ligação.

Documento de Não Patente 1: Cancer Science, Japanese Cancer Association, Vol, 95, p. 105-111 (2004)

O Documento de Não Patente 2: Cancer Research, American Association for Cancer Research, Vol. 44, p. 25-30 (1984)

O Documento de Não Patente 3: Journal of Controlled Release (Elsevier, England), Vol. 79: p. 55-70 (2002)

Documento de Patente 1: Pedido de Patente Japonesa Aberta ao Público (KOHYXO) No. 2003-524028

Documento de Patente 2: Patente Japonesa No. 2694923

Documento de Patente 3: Pedido de Patente Japonesa Aberta ao Público (KOKAI) nº 05-000955

Descrição da Invenção

Problemas a serem solucionados pela Invenção

Um objetivo da presente invenção é fornecer um antimetabólito

de citidina tendo uma eficácia maior em uma dose inferior e servindo como um novo agente anticâncer ou antiviral.

Meios para Solucionar os Problemas

Como o resultado de intensivos estudos para solucionar os problemas acima, os presentes inventores descobriram um derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, particularmente, aquele que compreende uma estrutura em que o grupo amino na posição 4 de um antimetabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais, desse modo realizando a presente invenção.

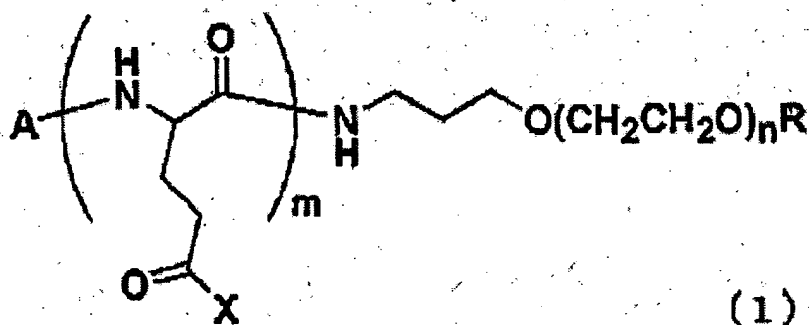
Especificamente, a presente invenção refere-se aos seguintes (1) a (13).

(1) Um derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, que compreende uma estrutura em que um grupo amino de um antimetabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

(2) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (1) acima, em que a porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais compreende uma cadeia de ácido poliglutâmico.

(3) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (1) ou (2) acima, em que o derivado é um composto representado pela Fórmula geral (1).

Fórmula 1



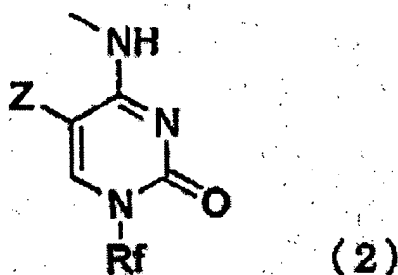
em que R representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C1 a C6 alquila;

A representa um átomo de hidrogênio, um grupo C1 a C6 acila, ou um grupo C1 a C6 alcóxicarbonila; *m* representa 3 a 200 como um valor médio; *n* representa 5 a 2.000 como um valor médio; X representa um resíduo de antimetabólito de citidina, um grupo hidroxila, ou um substituinte hidrofóbico; e X

5 representa um resíduo de antimetabólito de citidina em 3 a 100% de *m*, um grupo hidroxila em 0 a 95% de *m* e um substituinte hidrofóbico em 0 a 80% de *m*.

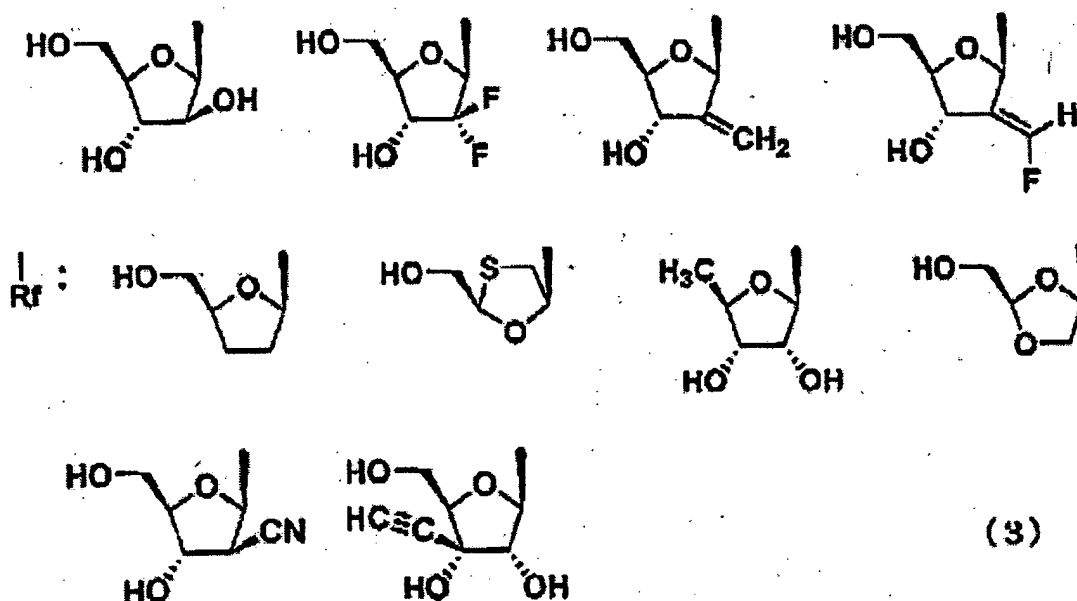
(4) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (3) acima, em que R representa um grupo C1 a C3 alquila;

10 A representa um grupo C2 a C4 acila; *m* representa 5 a 100 como um valor médio; *n* representa 50 a 1,000 como um valor médio; e o resíduo antimetabólito de citidina representa um grupo representado pela Fórmula (2):



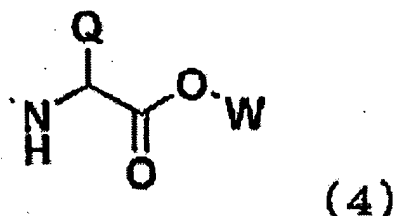
em que Z representa um átomo de hidrogênio ou um átomo de flúor; -Rf representa um grupo selecionado do grupo consistindo em substituintes de

15 Fórmula (3):



(5) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (3) acima, em que R representa um grupo metila; A representa um grupo acetila; m representa 10 a 60 como um valor médio; n representa 100 a 300 como um valor médio; X representa um resíduo de antimetabólito de citidina ou um grupo hidroxila; e o antimetabólito de citidina representa citarabina, gencitabina, ou 5'-deóxi-5-fluorocitidina.

(6) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (3) ou (4) acima, em que o substituinte hidrofóbico representa um derivado de α -aminoácido representado pela Fórmula (4):



em que Q representa uma cadeia lateral de um aminoácido neutro; W representa um grupo C1 a C6 alquila ou um grupo benzila.

(7) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (6) acima, em que Q representa um grupo isopropila ou um grupo benzila; e W representa um grupo benzila.

(8) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (3) ou (4) acima, em que o substituinte hidrofóbico representa um grupo representado pela Fórmula (5):

[Fórmula 5]

O-T (5)

em que T representa um grupo C1 a C6 alquila opcionalmente substituído por um grupo fenila.

(9) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (8) acima, em que T representa um grupo benzila, um grupo 3-fenilpropila, um grupo 4-fenilbutila, ou um grupo 5-fenilpentila.

(10) O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito no item (3) acima, em que R representa um grupo metila; A representa um grupo acetila; m representa 10 a 60 como um valor médio; n

representa 100 a 300 como um valor médio; o antimetabólito de citidina representa citarabina, gencitabina, ou 5'-deóxi-5-fluorocitidina; e o substituinte hidrofóbico representa um grupo benzilóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo (1-benziloxicarbonil-2-metil)propilamino, ou um grupo (1-benziloxicarbonil-2-fenil)etilamino.

(11) Um agente antitumor compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito em qualquer um dos itens (1) a (10) acima como um ingrediente medicinal.

(12) Um agente antiviral compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito em qualquer um dos itens (1) a (10) acima como um ingrediente medicinal.

(13) Um método para produzir o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como descrito em qualquer um dos itens (1) a (10) acima, compreendendo ligação por amida, usando um agente de condensação por desidratação em um solvente orgânico, um grupo amino de um antimetabólito de citidina a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

Efeito da Invenção

O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção tem uma estrutura em que um grupo amino na posição 4 de um metabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais. O derivado pode liberar lentamente o antimetabólito de citidina *in vivo* e é útil como um agente anticâncer ou antiviral tendo um excelente efeito terapêutico em uma dose inferior. Além disso, tendo a propriedade de liberar lentamente o agente independentemente da enzima torna o derivado aquele cujo efeito terapêutico é menos afetado por diferenças individuais entre os pacientes. O derivado polimérico formando micelas seletivamente acumula-se na parte afetada e serve como um agente tendo uma eficácia maior com efeitos colaterais reduzidos.

Breve Descrição dos Desenhos

A figura 1 é um gráfico mostrando os cursos de tempo de liberação de agente na ausência de enzima; e

5 A figura 2 é um gráfico mostrando os cursos de tempo de liberação de agente em plasma de camundongo.

Melhor Modo para Realizar a Invenção

O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção compreende uma estrutura em que um grupo amino de um antimetabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

Para o propósito da presente invenção, "antimetabólito de citidina" não é particularmente limitado, contanto que ele seja um derivado de 4-aminopirimidin-2-ona enquanto sendo um composto tendo uma atividade antitumor ou antiviral, e refere-se a um composto representado pela Fórmula (2) em que a porção de base de ácido nucléico é citosina (em que Z é um átomo de hidrogênio) ou 5-fluorocitosina (em que Z é um átomo de flúor); e o grupo (Rf) ligado a ele é um grupo selecionado do grupo consistindo nos substituintes da Fórmula (3) acima.

Exemplos específicos destes incluem citarabina, gencitabina, 2'-deóxi-2'-metilidenecitidina (DMDC), tezacitabina, zalcitabina, lamivudina, 5'-deóxi-5-fluorocitidina (5'-DFCR), troxacitabina, 2'-C-ciano-2'-deóxi-1-β-D-arabinofuranosil citosina (CNDAC), 3'-etilcitidina, e (-)-β-1-dioxolanocitidina.

De acordo com a presente invenção, exemplos da porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais no "composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais" incluem um polímero tipo enxerto em que as cadeias de ácido carboxílico ramificam-se da estrutura principal polímera ou um polímero tipo bloco em que os polímeros de ácido policarboxílico são condensados.

Exemplos do composto polimérico em que a porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais é o polímero tipo enxerto incluem um polímero obtido, por exemplo, pela reação de copolimerização de um condensado de polietileno glicol e um ácido acrílico com um ácido acrílico, anidrido maleico ou os semelhantes, seguido por reação de hidrólise opcional como descrito no Pedido de Patente Japonesa Aberta ao Público (KO-KAI) No. 11-279083.

Exemplos do composto polimérico em que a porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais é o polímero tipo bloco incluem um composto em que um polietileno glicol tendo um grupo funcional terminal é ligado a um ácido policarboxílico tendo um grupo funcional na extremidade, ou um composto obtido por reação de polimerização de um composto ativado por aminoácido em que a polimerização inicia-se com um polietileno glicol tendo um grupo amino na extremidade como descrito no Documento de Patente 3.

Exemplos do polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais incluem ácido poliacrílico, ácido polimetacrílico, ácido polimálico, e ácido poliglutâmico; ácido poliglutâmico é o preferido.

Para o propósito da presente invenção, "polietileno glicol" pode ser um derivado de polietileno glicol, ambas ou uma extremidade da qual é modificada, em cujo caso os grupos modificando ambas as extremidades podem ser idênticos ou diferentes. Exemplos do grupo de modificação terminal incluem um grupo C1 a C6 alquila opcionalmente tendo um substituinte; um grupo C1 a C4 alquila é preferido opcionalmente tendo um substituinte.

Exemplos do grupo C1 a C6 alquila no grupo C1 a C6 alquila opcionalmente tendo um substituinte incluem um grupo C1 a C6 alquila de cadeia linear, ramificada ou cíclica. Exemplos específicos deste incluem um grupo metila, um grupo etila, um grupo propila, um grupo isopropila, um grupo butila, um grupo isobutila, um grupo t-butila, um grupo pentila, um grupo isopentila, um grupo 2-metilbutila, um grupo neopentila, um grupo 1-etilpropila, um grupo hexila, um grupo 4-metilpentila, um grupo 3-metilpentila, um grupo 2-metilpentila, um grupo 1-metilpentila, um grupo 3,3-dimetilbutila,

um grupo 2,2-dimetilbutila, um grupo 1,1-dimetilbutila, um grupo 1,2-dimetilbutila, um grupo 1,3-dimetilbutila, um grupo 2,3-dimetilbutila, um grupo 2-etilbutila, um grupo ciclopropila, um grupo ciclopentila, e um grupo ciclohexila. Um grupo C1 a C4 alquila é preferido; exemplos específicos deste
5 incluem um grupo metila, um grupo etila, um grupo n-propila, um grupo isopropila, um grupo n-butila, um grupo s-butila, e um grupo t-butila. Particularmente preferido é um grupo metila, um grupo etila, um grupo n-propila, ou um grupo isopropila.

O substituinte no grupo C1 a C6 alquila opcionalmente tendo um
10 substituinte não é particularmente limitado; entretanto, os exemplos deste incluem um grupo amino, um grupo metilamino, um grupo dimetilamino, um grupo etilamino, e um grupo dietilamino. Um grupo amino é preferido.

De acordo com a presente invenção, o derivado de polietileno glicol, ambas extremidades do qual são modificadas, é preferível. Exemplos
15 específicos deste incluem um derivado de polietileno glicol tendo um grupo C1 a C6 alquila naquela extremidade e um grupo amino-C1 a C4 alquila na outra extremidade. O derivado de polietileno glicol é preferido tendo um grupo grupo C1 a C3 alquila naquela extremidade e um grupo aminopropila na outra extremidade.

20 De acordo com a presente invenção, "polietileno glicol" tem um peso molecular médio ponderal de cerca de 200 a 500.000, preferivelmente cerca de 500 a 100.000, mais preferivelmente cerca de 2.000 a 50.000.

De acordo com a presente invenção, o "composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero
25 tendo grupos carboxila nas cadeias laterais" é preferivelmente um polímero tipo bloco, mais preferivelmente um copolímero em bloco de um polietileno glicol com um polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.

Exemplos do copolímero em bloco de um polietileno glicol com um polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais incluem um ácido
30 alcoxipolietileno glicol-poliacrílico, um ácido alcoxipolietileno glicol- polimetacrílico, e um ácido alcoxipolietileno glicol-poliglutâmico; ácido metoxipolietileno glicol-poliglutâmico é preferido.

De acordo com a presente invenção, o "composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais" tem um número de grupo carboxila médio por molécula de cerca de 3 a 200, preferivelmente cerca de 5 a 100, mais preferivelmente cerca de 10 a 60.

De acordo com a presente invenção, o "composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais" tem um peso molecular médio ponderal de cerca de 500 a 500.000, preferivelmente cerca de 2.000 a 100.000, mais preferivelmente cerca de 3.000 a 50.000.

De acordo com a presente invenção, a quantidade do antimetabólito de citidina ligado por amida ao composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais não é particularmente limitada contanto que ela esteja incluída na faixa de um ao número total dos grupos carboxila para cada composto polimérico, e pode ser aquela quantidade que é suficiente para exercer o efeito de fármaco quando o composto é administrado *in vivo*. O preferido é 3 a 100%, mais preferivelmente 5 a 70%, do número de grupo carboxila total do polímero.

A quantidade de ligação acima pode ser determinada da intensidade de espectro de absorção de ultravioleta do composto da presente invenção. A quantidade pode também ser determinada submetendo-se o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção à hidrólise alcalina para quantificar o antimetabólito de citidina liberado, por exemplo, por cromatografia líquida de alto desempenho.

Um composto típico como o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção é um composto representado pela Fórmula geral acima (1), em que R representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C1 a C6 alquila; A representa um átomo de hidrogênio, um grupo C1 a C6 acila, ou um grupo C1 a C6 alcoxicarbonila; *m* representa 3 a 200 como um valor médio; *n* representa 5 a 2.000 como um valor médio; X representa um resíduo de antimetabólito de citidina, um grupo hi-

droxila, ou um substituinte hidrofóbico; X representa o resíduo antimetabólito de citidina em 3 a 100% de m, o grupo hidroxila em 0 a 95% de m e o substituinte hidrofóbico em 0 a 80% de m.

Na fórmula (1), o grupo C1 a C6 alquila para R tem o mesmo significado como o grupo alquila acima descrito; um grupo preferível é também o mesmo como acima.

Exemplos do grupo C1 a C6 acila para A na Fórmula (1) incluem um grupo formila, um grupo acetila, um grupo propionila, um grupo butirila, um grupo isobutirila, um grupo valerila, um grupo isovalerila, um grupo pivaloila, e um grupo hexanoila. É preferido um grupo C2 a C4 acila, por exemplo, um grupo acetila ou propionila; um grupo acetila é mais preferido.

Exemplos do grupo C1 a C6 alcóxicarbonila para A na Fórmula (1) incluem um grupo metóxicarbonila, um grupo etóxicarbonila, um grupo propóxicarbonila, um grupo isopropóxicarbonila, um grupo n-butoxicarbonila, um grupo terc-butoxicarbonila, um grupo pentóxicarbonila, um grupo hexilóxicarbonila, um grupo ciclopropóxicarbonila, um grupo ciclopentilóxicarbonila, e um grupo ciclo-hexilóxicarbonila. É preferido um grupo metóxicarbonila, um grupo etóxicarbonila, um grupo propóxicarbonila, um grupo isopropóxicarbonila, um grupo butóxicarbonila, ou um grupo terc-butoxicarbonila; é mais preferido um grupo etóxicarbonila ou um grupo terc-butoxicarbonila.

Na Fórmula (1), m é, como um valor médio, 3 a 200, preferivelmente 5 a 100, mais preferivelmente 10 a 60.

Na Fórmula (1), n is, como um valor médio, 5 a 2.000, preferivelmente 50 a 1.000, mais preferivelmente 100 a 300.

Na Fórmula geral (1) para o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção, os derivados de ácido glutâmico em cada um do qual X é um resíduo de antimetabólito de citidina, um grupo hidroxila ou um substituinte hidrofóbico pode ser ligado aleatoriamente ou por formação de blocos.

Na Fórmula (1), o resíduo de antimetabólito de citidina para X significa o resíduo do antimetabólito de citidina acima; exemplos particularmente preferidos do antimetabólito de citidina incluem citarabina, gencitabi-

na, e 5'-deóxi-5-fluorocitidina.

Na Fórmula (1), exemplos do substituinte hidrofóbico para X incluem vários substituintes; o substituinte não é particularmente limitado contanto que ele não prejudique o exercício do efeito do fármaco do derivado polimérico de um antimetabólito de citidina. Entretanto, exemplos preferidos deste incluem um derivado de α -aminoácido representado pela Fórmula (4) acima, em que Q representa uma cadeia lateral de um aminoácido neutro; W representa um grupo C1 a C6 alquila ou um grupo benzila, e um grupo representado pela Fórmula (5) acima, em que T representa um grupo C1 a C6 alquila opcionalmente substituído por um grupo fenila.

Exemplos da cadeia lateral de um aminoácido neutro para Q na Fórmula (4) incluem resíduos de aminoácidos naturais, tais como um átomo de hidrogênio, um grupo metila, um grupo isopropila, um grupo isobutila, um grupo s-butila, um grupo benzila, um grupo hidroximetila, um grupo 1-hidroxietila, um grupo carbamoilmetila, e um grupo 2-carbamoiletila, e derivados de resíduos de aminoácidos, tais como um grupo terc-butoximetila, um grupo benziloximetila, um grupo benziloxicarbonilmetila, e um grupo 2-benziloxicarboniletila. Exemplos preferidos deste incluem um grupo isopropila, um grupo isobutila, um grupo s-butila, um grupo benzila, um grupo benziloximetila, um grupo benziloxicarbonilmetila, e um grupo 2-benziloxicarboniletila; mais preferido é um grupo isopropila, um grupo benzila, um grupo benziloximetila, ou grupo 2-benziloxicarboniletila; particularmente preferido é um grupo isopropila ou um grupo benzila.

Exemplos do grupo C1 a C6 alquila para W na Fórmula (4) incluem o mesmo grupo como o grupo alquila acima; um grupo preferível é o mesmo como acima.

O grupo C1 a C6 alquila para T na Fórmula (5) tem o mesmo significado como o grupo alquila acima descrito; um grupo preferível é também o mesmo como acima. Exemplos do grupo representado pela Fórmula (5) incluem um grupo metóxi, um grupo etóxi, um grupo n-propóxi, um grupo isopropóxi, um grupo n-butóxi, um grupo terc-butóxi, um grupo n-pentilóxi, um grupo n-hexilóxi, um grupo ciclopropilóxi, um grupo ciclopentilóxi, um ci-

clo-hexilóxi, um grupo ciclo-hexilmetóxi, um grupo benzilóxi, um grupo 2-fenetilóxi, um grupo 3-fenilpropóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo 5-fenilpentilóxi, e um grupo difenilmetóxi.

Exemplos do substituinte hidrofóbico também incluem grupos amino tais como grupo metilamino, um grupo etilamino, um grupo n-propilamino, um grupo isopropilamino, um grupo n-butilamino, um grupo isobutilamino, um grupo n-pentilamino, um grupo n-hexilamino, um ciclopropilamino, um grupo ciclopentilamino, um grupo ciclo-hexilamino, um grupo ciclo-hexilmetilamino, um grupo dicrolo-hexilmetilamino, um grupo anilino, um grupo benzilamino, um grupo 2-fenetilamino, um grupo 3-fenilpropilamino, um grupo 4-fenilbutilamino, e um grupo difenilmetilamino.

O substituinte hidrofóbico para X na Fórmula (1) é particularmente preferivelmente um grupo benzilóxi, um grupo 3-fenilpropóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo 5-fenilpentóxi, um grupo (1-benziloxicarbonil-2-metil)propilamino ou um grupo (1-benziloxicarbonil-2-fenil)etilamino, e mais particularmente preferivelmente um grupo benzilóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo (1-benziloxicarbonil-2-metil) propilamino ou um grupo (1-benziloxicarbonil-2-fenil)etilamino.

Na Fórmula (1), a proporção de um resíduo de antimetabólito de citidina para X é de 3 a 100%, preferivelmente 5 a 70% com base no número total de grupo carboxila (m) do polímero; a proporção de um grupo hidroxila para X é de 0 a 95%, preferivelmente 5 a 70% com base no m; e a proporção de um substituinte hidrofóbico para X é de 0 a 80%, preferivelmente 20 a 70% com base nisso.

No derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção, quando um grupo carboxila de cadeia lateral ao qual o antimetabólito de citidina não é ligado estiver presente, o grupo carboxila pode ser em uma forma livre ou em forma de sal alcalino. Quando obtido em uma forma livre, o grupo carboxila pode ser convertido em uma forma de sal desejado por um método conhecido *per se* ou um método com base nisso. Inversamente, quando obtido em uma forma de sal, o grupo carboxila pode ser convertido em uma forma livre ou outra forma desejada de

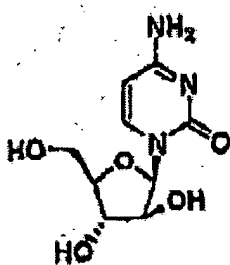
sal por um método conhecido *per se* ou um método com base nisso.

Exemplos dos sais alcalinos incluem sais de lítio, sódio, potássio, magnésio, amônio e trietilamônio.

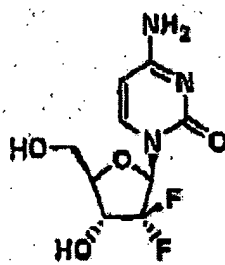
No derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção, as unidades estruturais constituindo a porção de polímero tendo substâncias oticamente ativas, um racemato, ou uma mistura destes em qualquer proporção. Por exemplo, quando a porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais é um derivado de ácido poliglutâmico, o derivado pode ser um polímero em que ácido poli-1-glutâmico, ácido poli-D-glutâmico, e um ácido L-glutâmico substituído por cadeia lateral ou um ácido D-glutâmico substituído por cadeia lateral são ligados em qualquer ordem em qualquer proporção.

Particularmente preferidos exemplos do derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção incluem os compostos mostrados na Tabela 1 abaixo.

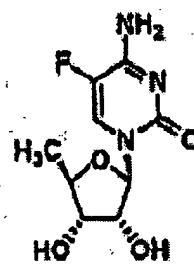
Na Tabela 1, Bzl indica um grupo benzila; Val, valina; Phe, fenilalanina; e C₄H₈Ph, um grupo 4-fenilbutila. Em X, as percentagens de substituição são valores aproximados; o resto diferente do resíduo e grupo descrito na Tabela é um grupo hidroxila. Como antimetabólito de citidinas para X, citarabina, gencitabina, 5'-deóxi-5-fluorocitidina, 2'-deóxi-2'-metilidenocitidina (DMDC), 3'-etinilcitidina, 2'-C-ciano-2'-deóxi-1-β-D-arabinofuranosil citosina (CNDAC) e (-)-β-1-dioxolanocitidina são os seguintes compostos.



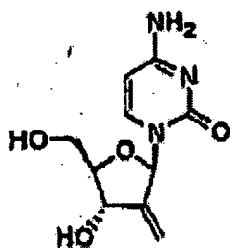
Citarabina



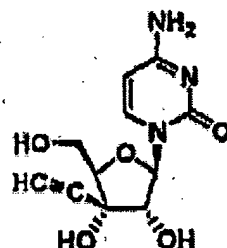
Gencitabina



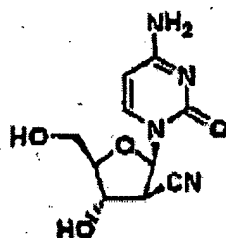
5'-deóxi-5-fluorocitidina



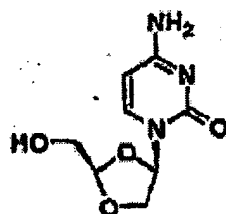
2'-deóxi-2'-metilidenocitidina



3'-etinilcitidina



2'-C-ciano-2'-deóxi-1-β-arabinofuranosil citosina



(-)-β-1-dioxolanocitidina

[Tabela 1]

Nº	R	n (mé- dia)	m (mé- dia)	A	X: Antimetabólito de citidina (percenta- gem)	X: Substituinte hidrofóbico (per- centagem)
1	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Citarabina (30%)	OBzl (50%)
2	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Citarabina (30%)	Phe-OBzl (40%)
3	CH ₃	272	25	CH ₃ CO	Citarabina (20%)	Phe-OBzl (60%)
4	CH ₃	272	23	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Phe-OBzl (60%)
5	CH ₃	272	23	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Val-OBzl (60%)
6	CH ₃	272	23	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	OC ₄ H ₈ Ph (60%)
7	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (30%)	OBzl (50%)
8	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (30%)	Phe OBzl (40%)
9	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (25%)	Phe OBzl (50%)
10	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Phe OBzl (60%)
11	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Val OBzl (60%)
12	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (25%)	OC ₄ H ₈ Ph (40%)
13	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (20%)	OC ₄ H ₈ Ph (50%)

Nº	R	n (mé- dia)	m (mé- dia)	A	X: Antimetabólito de citidina (percenta- gem)	X: Substituinte hidrofóbico (per- centagem)
14	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	OC4H8Ph (60%)
15	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (30%)	Phe-OBzl (40%)
16	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (30%)	Phe-OBzl (50%)
17	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (20%)	Phe-OBzl (50%)
18	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	Val OBzl (60%)
19	CH ₃	272	32	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	OC4H8Ph (60%)
20	CH ₃	272	35	CH ₃ CO	Gencitabina (15%)	OC4H8Ph (55%)
21	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	5'-deóxi-5- fluorocitidina (15%)	Phe-OBzl (60%)
22	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	5'-deóxi-5- fluorocitidina (15%)	OC4H8Ph (60%)
23	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	2'-deóxi-2- metilidenocitidina (15%)	Phe-OBzl (60%)
24	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	2'-deóxi-2- metilidenocitidina (15%)	OC4H8Ph (60%)
25	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	3'-etilcitidina (15%)	Phe-OBzl (60%)
26	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	3'-etilcitidina (15%)	OC4H8Ph (60%)
27	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	2'-C-ciano-2'-deóxi- 1-β-D- arabinofuranosil ci- tosina (15%)	Phe-OBzl (60%)
28	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	2'-C-ciano-2'-deóxi- 1-β-D- arabinofuranosil ci- tosina (15%)	OC4H8Ph (60%)
29	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	(-)-β-1- dioxolanocitidina (15%)	Phe-OBzl (60%)
30	CH ₃	272	26	CH ₃ CO	(-)-β-1- dioxolanocitidina (15%)	OC4H8Ph (60%)

Por meio de exemplo não limitante particular, o derivado poli-
mérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção
pode ser produzido por condensação, usando um agente de condensação
por desidratação em um solvente orgânico, um antimetabólito de citidina
com o copolímero em bloco de ácido metoxipolietileno glicol - poliglutâmico
preparado de acordo com o método descrito no Documento de Patente 3.

O solvente usado na reação acima não é particularmente limitado contanto que ele permita que a reação prossiga; entretanto, exemplos deste incluem um hidrocarboneto aromático tal como tolueno e xileno, um hidrocarboneto halogenado tal como cloreto de metileno, clorofórmio e 1,2-dicloroetano, um éter tal como tetra-hidrofurano, dioxano, dimetoxietano e 5 éter de dimetila de dietileno glicol, uma nitrila tal como acetonitrila e propionitrila, uma amida tal como dimetilformamida, dimetilacetamida e N-metilpirrolidona, uma uréia tal como 1,3-dimetilimidazolidinona, e um solvente misto destes. A amida ou a uréia é preferível; mais preferido é dimetilformamida ou 1,3-dimetilimidazolidinona. 10

O agente de condensação por desidratação usado na reação acima não é particularmente limitado contanto que permita o progresso da reação de condensação de um grupo amino na posição 4 de um antimetabólito de citidina com o grupo carboxila; entretanto, exemplos preferidos deste 15 incluem DMT-MM((cloreto de 4-(4,6-dimetóxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolínio) e 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina

A temperatura de reação na reação acima é tipicamente de 4 a 60°C, preferivelmente 15 a 50°C.

Após a reação acima, um meio de separação conhecido *per se* 20 pode ser apropriadamente aplicado tal como, por exemplo, concentração a vácuo, extração de solvente, cristalização, diálise e cromatografia, se necessário, para isolar e purificar um composto desejado.

Pelo método acima, um derivado polimérico pode ser obtido em que X consiste em um resíduo de antimetabólito de citidina sozinho ou de 25 um resíduo de antimetabólito de citidina e um grupo hidroxila.

Quando o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção tiver um substituinte hidrofóbico, o derivado pode ser produzido por condensação, usando um agente de condensação por desidratação em um solvente orgânico, um grupo amino de um 30 antimetabólito de citidina com um grupo carboxila não substituído em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído da seguinte porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas ca-

deias laterais que é obtido introduzindo-se um substituinte hidrofóbico em uma parte dos grupos carboxila do copolímero em bloco de metoxipolietileno glicol - ácido poliglutâmico preparado, por exemplo, de acordo com o método descrito no Documento de Patente 3.

- 5 O substituinte hidrofóbico é introduzido da seguinte maneira. Por exemplo, quando o substituinte hidrofóbico for um grupo alcóxi, a introdução é realizada condensando-se um álcool correspondente com o grupo carboxila (esterificação) usando um agente de condensação por desidratação em um solvente ou submetendo um haleto de alquila correspondente ou os se-
- 10 semelhantes e o grupo carboxila à reação de substituição nucleofílica na presença de uma base em um solvente. Por exemplo, quando o substituinte hidrofóbico for um grupo amino substituído, o derivado tendo o substituinte pode ser produzido condensando-se uma amina correspondente com o grupo carboxila (amidação) usando um agente de condensação por desidrata-
- 15 ção em um solvente.

- O solvente usado na condensação por desidratação acima (esterificação) não é particularmente limitado contanto que permita que a reação prossiga. Entretanto, o mesmo solvente pode ser usado como aquele usável na condensação por desidratação do copolímero em bloco de ácido metoxi-
- 20 polietileno glicol-poliglutâmico acima com um antimetabólito de citidina; um solvente preferível é também o mesmo como acima. O agente de condensação por desidratação não é particularmente limitado contanto que permita o progresso da condensação por desidratação de um álcool com um grupo carboxila; entretanto, é preferido diciclo-hexilcarbodiimida, diisopropilcarbodi-
- 25 imida, 1-dimetilaminopropil-3-etilcarbodiimida, carbonildiimidazol, cloroformiato de isobutila, ou cloreto de ácido piválico.

- Um auxiliar de reação pode ser usado na reação de condensação por desidratação; exemplos deste incluem N-hidroxissuccinimida, 1-hidroxibenzotriazol, 4-dimetilaminopiridina e 2,6-di-t-butil-4-metilpiridina.

- 30 A temperatura de reação na reação de condensação por desidratação é tipicamente 4 a 60°C, preferivelmente 15 a 50°C, o tempo de reação é de 2 horas a diversos dias, preferivelmente 4 a 48 horas.

O solvente usado na reação de substituição nucleofílica acima não é particularmente limitado contanto que permita que a reação prossiga. Entretanto, o mesmo solvente pode ser usado como aquele usável na condensação por desidratação do copolímero em bloco de ácido metoxipolietileno glicol - poliglutâmico acima com um antimetabólito de citidina; um solvente preferível é também o mesmo como acima. Exemplos da base incluem um carbonato de metal de álcali tal como carbonato de lítio, carbonato de sódio e carbonato de potássio; um hidreto de metal de álcali tal como hidreto de lítio, hidreto de sódio e hidreto de potássio; um hidróxido de metal de álcali tal como hidróxido de lítio, hidróxido de sódio e hidróxido de potássio; um alcóxido de metal de álcali tal como metóxido de lítio, metóxido de sódio, etóxido de sódio e terc-butóxido de potássio; e um amina orgânica tal como trietilamina, tributilamina, N,N-diisopropiletilamina, N-metilmorfolina, piridina, 4-(N,N-dimetilamino)piridina, N,N-dimetilanilina, N,N-dietilanilina, 1,5-diazabicyclo[4,3,0]nona-5-eno, 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (DABCO) e 1,8-diazabicyclo[5,4,0]-7-undeceno (DBU); uma amina orgânica é preferida.

A temperatura de reação na reação de substituição nucleofílica acima é tipicamente 4 a 60°C, preferivelmente temperatura ambiente para 50°C, o tempo de reação é uma hora a diversos dias, preferivelmente 4 a 48 horas.

O solvente usado na reação de condensação por desidratação acima (reação de amidação) não é particularmente limitado contanto que permita que a reação prossiga. Entretanto, o mesmo solvente pode ser usado como aquele utilizável na condensação por desidratação do copolímero em bloco de ácido metoxipolietileno glicol-poliglutâmico acima com um antimetabólito de citidina; um solvente preferível é também o mesmo como acima. O agente de condensação por desidratação não é particularmente limitado, contanto que permita o progresso da condensação por desidratação de uma amina com um grupo carboxila; entretanto, é preferido dicitclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida, 1-dimetilaminopropil-3-etilcarbodiimida, carbonildiimidazol, cloroformiato de isobutila, cloreto de ácido piválico, DMT-MM(cloreto de 4-(4,6-dimetóxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-

metilmorfolínio), TFFH (hexafluorofosfato de tetrametilfluoroformamidínio), ou BOP hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfônio).

Um auxiliar de reação pode ser usado na reação de condensação por desidratação; exemplos deste incluem N-hidroxissuccinimida, 1- hidroxibenzotriazol, 4-dimetilaminopiridina e 2,6-di-t-butil-4-metilpiridina.

A temperatura de reação na reação de condensação por desidratação é tipicamente 4 a 60°C, preferivelmente temperatura ambiente para 50°C. O tempo de reação é uma hora a diversos dias, preferivelmente 4 a 48 horas.

Visto que a seqüência de reação para ligar o substituinte hidrofóbico e o antimetabólito de citidina ao composto polimérico não importa, eles podem ser misturados para a reação. Entretanto, o substituinte hidrofóbico é preferivelmente introduzido no veículo polimérico antes de ligar o antimetabólito de citidina a ele para evitar a reação e decomposição do antimetabólito como o corpo para atividade tendo um grupo multifuncional.

O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção pode formar micelas tendo cascas da porção de polietileno glicol em água. A formação de micelas pode ser identificada, por exemplo, por cromatografia de filtragem de gel (GPC) ou dispersão de luz dinâmica.

De acordo com a presente invenção, a formação de micelas é facilitada pela ligação do grupo carboxila, que não é ligado ao antimetabólito de citidina, ao substituinte hidrofóbico.

A presente invenção abrange um agente antitumor ou antiviral compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina acima descrito como um ingrediente medicinal. O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina pode ser administrado como é ou na forma de uma composição farmacêutica em que é misturado com substâncias farmacêuticamente aceitáveis. A forma de dosagem da composição farmacêutica pode ser qualquer forma de dosagem tal como uma injeção, um pó, um grânulo, um comprimido e um supositório. Estas preparações podem também conter várias substâncias auxiliares para uso farmacêutico, isto é, um veículo e ou-

tros auxiliares incluindo aditivos tais como um estabilizante, um conservante, um agente amenizante e um emulsificador.

O conteúdo do derivado polimérico de um antimetabólito de citidina em uma preparação diversamente varia dependendo da preparação; entretanto, é tipicamente de 0,1 a 100% em peso, preferivelmente 1 a 98% em peso.

A indicação do agente antitumor da presente invenção compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como um ingrediente medicinal não é particularmente limitado; entretanto, o agente pode ser usado para cânceres tais como, por exemplo, câncer pulmonar de célula não pequena, câncer do pâncreas, câncer do estômago, câncer do cólon, câncer retal, câncer de mama, câncer ovariano, câncer de bexiga e sarcoma de Kaposi associado com AIDS.

A indicação do agente antiviral da presente invenção compreendendo o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como um ingrediente medicinal não é particularmente limitado; entretanto, o agente pode ser usado, por exemplo, para síndrome de deficiência imune adquirida (AIDS), doença infecciosa do vírus de herpes simples, e os semelhantes e pode também ser empregado para o propósito de prevenir a infecção.

O derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção pode ser administrado por qualquer método incluindo administração oral, injeção, administração intrarretal, administração intraportal, misturando em um perfusado de órgão, e administração local em um órgão afetado. Entretanto, a administração parenteral é preferida; a administração intravenosa ou intra-arterial ou administração local em um órgão afetado é mais preferida. A dosagem do derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a presente invenção varia dependendo do estado da doente, do método de administração, da condição, idade e peso corporal de um paciente, e os semelhantes; entretanto, é tipicamente de 1 mg a 5.000 mg, preferivelmente 10 mg a 2.000 mg, por m² da área da superfície do corpo, que pode ser administrado uma vez ou em diversas porções por dia. A administração pode ser realizada diariamente, ou repetidamente

diversos dias a diversos meses separadamente. Um método de administração, dosagem e escala de administração diferente do acima pode ser usado como necessário.

- 5 O derivado polimérico da presente invenção também inclui aquele em que um pró-fármaco é ligado. Aqui, o fármaco é um derivado químico de um composto origem biologicamente ativo, que libera o composto origem *in vivo* quando administrado.

Exemplos

- 10 A presente invenção é descrita abaixo em maiores detalhes com referência aos Exemplos, Exemplos de Referência e Exemplos de Teste. Entretanto, o escopo da invenção não pretende ser limitada a eles.

Exemplo de Referência 1

- 15 Síntese de Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipoli-
etileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglu-
tâmico tendo Número de polimerização de cerca de 26.

- Um polietileno glicol tendo um grupo metóxi em uma extremidade e um grupo 3-aminopropila em outra extremidade (SUNBRIGHT MEPA-12T de NOF Corporation, peso molecular médio: 12.000, 16 g) foi dissolvido em sulfóxido de dimetila (320 mL), ao qual anidrido de γ -benzil-1-glutamato N-carboxílico (BLGNCA, 9,48 g; 27 equivalentes com base no poli-
20 etileno glicol) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 30°C durante a noite. A solução de reação foi adicionada em gotas a um solvente misto de etanol-éter de isopropila (4:1, 6,4 L) sob agitação, que foi em seguida agitado durante mais 3 horas. O depósito precipitado foi coletado por
25 filtragem e lavado com um solvente misto de etanol-éter de isopropila (4:1, 400 mL). O produto resultante (22,78 g) foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (370 mL), ao qual anidrido acético (6,83 mL) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 20°C durante a noite. A solução resul-
tante foi adicionada em gotas a um solvente misto de éter de isopropila-
30 acetato de etila (4:1, 3,7 L) sob agitação, que foi em seguida agitado durante mais 3 horas. O depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter de isopropila-acetato de etila (4:1, 300 mL). O

produto resultante (22,92 g) foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (370 mL), ao qual carbono de paládio a 5% (contendo 55% de água, 2,50 g) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 30°C em uma atmosfera de hidrogênio durante 4 horas e em seguida em temperatura ambiente durante a noite. Após filtrar a carbono de paládio, o filtrado foi adicionado em gotas a um solvente misto de éter de isopropila-acetato de etila (4:1, 5 L) sob agitação, que foi em seguida agitado durante mais uma hora. O depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter de isopropila-acetato de etila (4:1, 300 mL). O produto resultante (16 g) foi dissolvido em água destilada (800 mL), ao qual uma solução aquosa de hidróxido de sódio a 1M foi em seguida adicionada para ajustar o pH da solução para 11. Água destilada foi adicionada a ela a fim de fornecer um volume de solução final de 1.600 mL, seguido por adição de cloreto de sódio (80 g). Esta solução foi passada através de uma coluna da resina de absorção HP - 20ss (de Mitsubishi Chemical Corporation, 500 mL); a coluna foi lavada com uma solução aquosa de cloreto de sódio a 5% (2.000 mL) e água destilada (20.000 mL) e em seguida eluída com uma solução aquosa de acetonitrila a 50% (2.500 mL). A fração eluída contendo o composto desejado foi passada através, e eluída de uma coluna da resina de permuta de cátion Dowex 50W (de The Dow Chemical Company, tipo próton, 100 mL); a coluna foi também eluída com 50% de acetonitrila aquosa (150 mL). A fração eluída contendo o composto desejado foi concentrada sob pressão reduzida até o volume de solução alcançar cerca de 300 mL, e em seguida submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (15,84 g).

O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 26,22, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

Exemplo de Referência 2

Síntese de Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipoli-etileno glicol tendo peso molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 41.

De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1, 45 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para fornecer o composto do título.

5 O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 41,45, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

Exemplo de Referência 3

10 Síntese de Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 24.

De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1, 25 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para fornecer o composto do título.

15 O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 23,70, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

Exemplo de Referência 4

20 Síntese de Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 32.

25 De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1, 35 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para fornecer o composto do título.

O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 31.71, com base no valor de titulação obtido usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

Exemplo de Referência 5

Síntese de Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poligl-

tâmico tendo número de polimerização de cerca de 36.

De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1, 40 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para fornecer o composto do título.

- 5 O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 35.90, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

Exemplo de Referência 6

- 10 Síntese de Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 21.

- De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1, 23 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para
15 fornecer o composto do título.

 O número de polimerização médio de ácido glutâmico (o número de ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 21.38, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

- 20 Exemplo de Referência 7

 Síntese de Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 26.

- De acordo com o método descrito no Exemplo de referência 1,
25 30 equivalentes de BLG-NCA foi usado com base no polietileno glicol para fornecer o composto do título.

 O número de polimerização médio de ácido glutâmico (vários ácidos carboxílicos) em uma molécula do composto foi de 26.48, com base no valor de titulação usando uma solução aquosa de hidróxido de sódio.

- 30 Exemplo de Referência 8

 Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Fenilalanina com Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietile-

no glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 24.

O copolímero em bloco N-acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 24 (1,533 g) descrito no Exemplo de referência 3 foi dissolvido em N,N dimetilformamida (32 mL), ao qual 4-toluenossulfonato de éster de benzila de L-fenilalanina (0,464 g), TFFH (0,286 g), N,N-diisopropiletilamina (0,672 mL) e 2,6-di-t-butil-4-metilpiridina (0,495 g) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 37°C durante 20 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (64 mL), à qual éter de diisopropila (256 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 30% de acetonitrila aquosa (45 mL), que foi em seguida dialisada com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). Acetonitrila (15 mL) foi adicionada à solução dialisada, e a mistura foi passada através da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton), que foi eluída com 50% de acetonitrila aquosa. A fração eluída contendo o composto desejado foi concentrada sob pressão reduzida a 1/2 volume e submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (1,689 g).

Após hidrolisar o composto, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Phe-OBzl no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 32,8% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Método de Hidrólise

O composto do título (34.48 mg) foi dissolvido em metanol (1 mL), ao qual uma solução aquosa de hidróxido de sódio 0,5 M (1 mL) foi em seguida adicionada, seguido por agitação a 40°C durante uma hora. A solução foi neutralizada com ácido acético e em seguida diluída com água desti-

lada para fazer uma solução exata de 5 mL.

Condições de Análise de LC (Análise de Álcool de Benzila)

Coluna: Inertsil ODS-3 (tamanho de partícula: 5µm), 4,6Ø 4 x 150 mm;

5 Temperatura de Coluna: 40°C;

Eluente: solução A: solução aquosa de ácido fosfórico a 1%, solução B:

acetonitrila;

Gradiente: % de solução B (tempo: minutos) 30 (0), 80 (10);

10 Taxa de fluxo: 1 mL/minutos;

Detector (detecção de comprimento de onda): UV (260 nm).

Exemplo de Referência 9

Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Fenilalanina com Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 41.

O Copolímero em bloco N-Acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 41 (176.5 mg) descrito no Exemplo de referência 2 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (5,3 mL), ao qual 4-toluenossulfonato de éster de benzila de L-fenilalanina (63,0 mg), TFFH (38,9 mg), N,N-diisopropiletilamina (117,3 µL) e 2,6-di-t-butil-4-metilpiridina (87,0 mg) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 37°C durante 22 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (10,6 mL), ao qual éter de diisopropila (42,4 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 20% de acetonitrila aquosa (16 mL), que foi em seguida dialisada com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi passada através da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 9 mL), que

foi eluída com 50% de acetonitrila aquosa. A fração eluída contendo o composto desejado foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (194,0 mg).

- Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no
- 5 Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo de referência 8 para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Phe-OBzl no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 32,6% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutamí-
- 10 tático.

Exemplo de Referência 10

- Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Fenilalanina com Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno Glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutamí-
- 15 tendo número de polimerização de cerca de 32.

- O Copolímero em bloco N-acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um ácido poliglutamí-
- 20 tático tendo um número de polimerização de cerca de 32 (668 mg) descrito no Exemplo de referência 4 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (13 mL), ao qual 4-toluenossulfonato de éster de benzila de L-fenilalanina (282 mg), TFFH (175 mg) e N,N-diisopropiletilamina (345 µL) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 40°C durante 20 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (26 mL), ao qual éter de diisopropila (104 mL) foi em seguida
- 25 adicionado em gotas sob agitação. O depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrila aquosa (16 mL.), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi passada
- 30 através da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 10 nL), que foi eluída com 50% de acetonitrila aquosa. A fração eluída contendo o composto desejado foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o

composto do título (762 mg).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo de referência 8 para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Phe-OBzl no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 41,8% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Exemplo de Referência 11

10 Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Valina com Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 36.

O Copolímero em bloco N-Acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 36 (531 mg) descrito no Exemplo de referência 5 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (10.6 mL), ao qual 4-toluenossulfonato de éster de benzila de L-vanila (195 mg), TFFH (135 mg) e N,N-diisopropiletilamina (288) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 40°C durante 30 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (20 mL), ao qual éter de diisopropila (80 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 30% de acetonitrila aquosa (25 mL), que foi em seguida dialisada com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). Da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 3 mL) foi adicionado à solução dialisada, que foi agitada durante 30 minutos, seguido por filtragem da resina. O filtrado contendo o composto desejado foi submetido à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (559 mg).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no

Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo de referência 8 para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Val-OBzl no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 41,3% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Exemplo de Referência 12

Síntese de Conjugado de Amida de Éster de Benzila de L-Fenilalanina com Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 26.

O Copolímero em bloco N-Acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 26 (6,00 g) descrito no Exemplo de referência 1 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (150 mL), ao qual Cloridrato de éster de benzila de L-fenilalanina (2,08 g), DMT-MM (2,37 g) e N,N-diisopropiletilamina (1,24 mL) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 40°C durante a noite. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida adicionada em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1, 1,500 mL). Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 97 % em peso de DMF aquosa (150 mL), ao qual a resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 15 mL) foi adicionada antes agitando a mistura em temperatura ambiente durante 2 horas, seguido por filtração da resina e lavando a resina com DMF (75 mL). O filtrado resultante foi adicionado em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1) (2,400 mL), que foi agitado durante 30 minutos, em seguida coletando-se o depósito precipitado por filtração para fornecer o composto do título (6,88 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condi-

ções como aquelas no Exemplo de referência 8 para determinar a taxa de ligação por amida do grupo Phe-OBz1 no composto, como um resultado, a taxa de ligação foi de 62,4% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

5 Exemplo de Referência 13

Síntese de Conjugado de Éster de Brometo de Benzila com Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipolietileno glicol tendo Peso Molecular de cerca de 12.000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 26.

- 10 O copolímero em bloco N-acetilado de um monometoxipolietileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 26 (342 mg) descrito no Exemplo de referência 1 foi dissolvido em N,N-dimetilformamida (6,8 mL), ao qual brometo de benzila (29,0 µL) e N,N-diisopropiletilamina (53,1 µL)
- 15 foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 37°C durante a noite. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (13,6 mL), ao qual éter de diisopropila (54,4 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após uma hora de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um
- 20 solvente misto éter de diisopropila-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrila aquosa (20 mL), e a solução foi passada através da resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 4 mL), que foi em seguida eluída com 50% de acetonitrila aquosa. A fração eluída contendo o composto desejado foi concentrada sob pressão reduzida a 1/2 volume e em seguida submetida à secagem por congelamento para fornecer o
- 25 composto do título (352 mg).

- Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no Exemplo de referência 8, o álcool de benzila liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas do Exemplo de referência 8 para determinar a taxa de
- 30 ligação do grupo OBz1 no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 25,0% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Exemplo de Referência 14:

Síntese de Conjugado de Éster de Brometo de 4-fenilbutila com Copolímero em bloco N-Acetilado de Monometoxipoliétileno glicol tendo peso molecular de cerca de 12,000 com ácido poliglutâmico tendo número de polimerização de cerca de 26.

O Copolímero em bloco N-Acetilado de um monometoxipoliétileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 26 (2,33 g) descrito no exemplo de referência 7 foi dissolvido em N,N dimetilformamida (50 mL), ao qual brometo de 4-fenilbutila (682 mg) e 1,8-diazabicyclo[5,4,0]-7-undeceno (DBU, 598 µL) foram em seguida adicionados, seguido por agitação da mistura a 38°C durante a noite. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida adicionada em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1, 500 mL). Após uma hora de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrila aquosa, ao qual a resina de permuta de cátion Dowex 50W (tipo próton, 5 mL) foi adicionada antes de agitar a mistura durante 2 horas, seguido por filtração da resina e em seguida submetendo o filtrado à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (2,54 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquele no Exemplo de referência 8, o 4-fenilbutanol liberado foi quantificado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para determinar a taxa de ligação do grupo 4-fenilbutóxi no composto. Como um resultado, a taxa de ligação foi de 65,7% com base nos grupos carboxila do ácido poliglutâmico.

Exemplo 1:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 21; e X é Grupo Hidroxila ou Gencitabina.

N,N-Dimetilformamida (15 mL) e N,N-diisopropiletilamina (192 µL) foram adicionados ao Copolímero em bloco N-Acetilado de um monometoxipoliétileno glicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um

ácido poliglutâmico tendo um número de polimerização de cerca de 21 (759 mg) descrito no Exemplo de referência 6 e cloridrato de gencitabina (330 mg), que foi em seguida agitado a 37°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 300 mg) foi adicionado a ele, que foi
5 agitado a 37°C durante 20 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (30 mL), ao qual éter de diisopropila (120 mL) foi adicionado em gotas sob agitação. Após uma hora de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvi-
10 do em 25% de acetonitrila aquosa (40 mL), que foi em seguida dialisada com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (1,078 mg).

Após hidrolisar o composto, a gencitabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para determinar
15 um conteúdo de gencitabina do composto. Como um resultado, o conteúdo foi de 20,8% (peso/peso) (58,0% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de cloridrato de gencitabina. Além disso, quando o composto da presente invenção foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi de 0,3% ou menos.
20

Método de Hidrólise

O composto do título (3,60 mg) foi dissolvido em metanol (0,5 ml), ao qual água de amônia concentrada (0,5 mL) foi em seguida adicionada antes de selar, seguido por agitação a 37°C durante uma hora. A solução
25 foi neutralizada com ácido acético e em seguida diluída com água destilada para fazer uma solução exata de 10 mL.

Condições de Análise de HPLC (Análise de Gencitabina)

Coluna: Inertsil ODS-3 (tamanho de partícula: 5µm), 4,6 Ø x 150 mm;

30 Temperatura de Coluna: 40°C;

Eluente: 95% de tampão de fosfato (10 mM, pH 6,9) - 5% de acetonitrila; Taxa de fluxo: 1 mL/min.;

Detector (detecção de comprimento de onda): U V (275 nm)

Exemplo 2:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 24; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster de Benzila de L-Fenilalanina

N,N-Dimetilformamida (26 mL) e N,N-diisopropiletilamina (0,213 mL) foram adicionados ao composto (1,298 g) descrito no Exemplo de referência 8 e cloridrato de gencitabina (0,366 g), que foi em seguida agitado a 37°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (E-EDQ, 0,362 g) foi adicionado a ele, que foi agitado a 37°C durante a noite. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (52 mL), ao qual éter de diisopropila (208 mL) foi adicionado em gotas sob agitação. Após uma hora de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 25% de acetonitrila aquosa (40 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (1,330 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto. Como um resultado, o conteúdo foi de 10,7% (peso/peso) (28,1% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de cloridrato de gencitabina. Além disso, quando o composto foi submetido à análise de HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi de 0,3% ou menos.

Exemplo 3:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 41; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster de Benzila de

L-Fenilalanina

N,N-Dimetilformamida (3,3 mL) e N,N-diisopropiletilamina (39,2 mL) foram adicionados ao composto (165 mg) descrito no Exemplo de referência 9 e cloridrato de gencitabina (67,4 mg), que foi em seguida agitado a 37°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 56,0 mg) foi adicionado a ele, que foi em seguida agitado a 37°C durante 23 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (6,6 mL), ao qual éter de diisopropila (26,4 mL) foi adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 10% de acetonitrila aquosa (16 mL), que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (183mg):

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto da presente invenção. Como um resultado, o conteúdo foi de 21,2% (peso/peso) (42,6% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de cloridrato de gencitabina. Além disso, quando o composto foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi de 0,3% ou menos.

25 Exemplo 4:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 26; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Grupo Benzilóxi.

N,N-Dimetilformamida (6 mL) e N,N-diisopropiletilamina (63.1 Mol) foram adicionados ao composto (295 mg) descrito no Exemplo de referência 13 e cloridrato de gencitabina (108,5 mg), que foi em seguida agitado a 37°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ,

98,2 mg) foi adicionado a ele, que foi agitado a 37°C durante 23 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (12 mL), ao qual éter de diisopropila (48 mL) foi adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 10% de acetonitrila aquosa (16 que foi em seguida dialisado com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (334 mg).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto da presente invenção. Como um resultado, o conteúdo foi de 20,5% (peso/peso) (49,9% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de cloridrato de gencitabina. Além disso, quando o composto foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi 5,1%.

Exemplo 5:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 36; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster de Benzila.

N,N-Dimetilformamida (10,3 mL) e N,N-diisopropiletilamina (77,9 µL) foram adicionados ao composto (515 mg) descrito no Exemplo de referência 11 e cloridrato de gencitabina (134 mg), que foi em seguida agitado a 40°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 166 mg) foi adicionado a ele, que foi agitado a 40°C durante 20 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (20,6 mL), ao qual éter de diisopropila (82,4 mL) foi adicionado em gotas sob agitação. O depósito precipitado foi coletado por filtração e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 30% de acetonitrila aquosa (20 mL), que foi em seguida diali-

sada com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (574 mg).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto da presente invenção. Como um resultado, o conteúdo foi de 14,1% (peso/peso) (28,8% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de cloridrato de gencitabina. Além disso, quando o composto foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi 0,2% ou menos.

Exemplo 6:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 26; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster de Benzila de L-Fenilalanina

N,N-Dimetilformamida (75 mL) e N,N-diisopropiletilamina (286 µL) foram adicionados ao composto (3,0 g) descrito no Exemplo de referência 12 e cloridrato de gencitabina (492 mg), que foi em seguida agitado a 40°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 508 mg) foi adicionado a ele, que foi agitado a 40°C durante 24 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida adicionada em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1) (750 mL). Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrila aquosa (50 mL), que foi em seguida dialisada com água destilada (3 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (2,94 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida

de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto. Como um resultado, o conteúdo foi de 4,67% (peso/peso) (11,9% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de cloridrato de gencitabina. Além disso, quando o composto da presente invenção foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi de 0,2% ou menos.

Exemplo 7:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 26; e X é Gencitabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Álcool de 4-Fenilbutila.

N,N-Dimetilformamida (50 mL) e N,N-diisopropiletilamina (218 µL) foram adicionados ao composto (2,07 g) descrito no Exemplo de referência 14 e cloridrato de gencitabina (375 mg), que foi em seguida agitado a 40°C. Após dissolução, 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 386 mg)) foi adicionado a ele, que foi agitado a 40°C durante 24 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida adicionada em gotas a um solvente misto de éter-etanol (4:1, 750 mL). Após uma hora de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 50% de acetonitrila aquosa (25 mL), que foi em seguida dialisada com água destilada (3 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (2,05 g).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no Exemplo 1, a gencitabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 1 para determinar um conteúdo de gencitabina do composto da presente invenção. Como um resultado, o conteúdo foi de 7,35% (peso/peso) (17,5% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de cloridrato de gencitabina. Além disso, quando o composto foi submetido à análise por HPLC, o conteúdo de gencitabina livre foi 0,2% ou

menos.

Exemplo 8:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 32; e X é Citarabina ou Grupo de Hidroxila.

O Copolímero em bloco N-Acetilado de um monometoxipoli-
etilenoglicol tendo um peso molecular de cerca de 12.000 com um ácido poliglu-
tâmico tendo um número de polimerização de cerca de 32 (130 mg) descrito
no Exemplo de referência 4 e citarabina (50,0 mg) foram dissolvidos em N,N-
dimetilformamida (2,6 mL), ao qual 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina
(EEDQ, 63,6 mg) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 40°C
durante 24 horas. A solução de reação foi resfriada até a temperatura ambi-
ente e em seguida diluída com etanol (5,2 mL), ao qual éter de diisopropila
(20,8 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minu-
tos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado
com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvi-
do em 20% de acetonitrila aquosa, que foi em seguida dialisada com água
destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de
12.000 a 14.000). A solução dialisada foi submetida à secagem por conge-
lamento para fornecer o composto do título (143 mg).

Após hidrolisar o composto, a citarabina liberada foi quantificada
por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para determinar um
conteúdo de citarabina do composto. Como um resultado, o conteúdo foi de
22,5% (peso/peso) (59,2% com base nos grupos carboxila do ácido policar-
boxílico) em termos de citarabina.

Método de Hidrólise

O composto do título (3,20 mg) foi dissolvido em metanol (0,5
mL), ao qual água de amônia concentrada (0,5 mL) foi em seguida adiciona-
da antes de selar, seguido por agitação a 37°C durante uma hora. A solução
foi neutralizada com ácido acético e em seguida diluída com água destilada
para fazer uma solução exata de 10 mL.

Condições de Análise de HPLC (Análise de Citarabina)

Coluna: SOPELCO Discovery HS F5 (tamanho de partícula: 5µm), 4,6 Ø x 250 mm; Temperatura de Coluna: 40°C;

Eluente: tampão de fosfato (10 mM, pH 6,9);

Taxa de fluxo: 1 mL/min.;

5 Detector (detecção de comprimento de onda): LN (275 nm)

Exemplo 9:

Derivado Polimérico de Antimetabólito de Citidina de Fórmula (1) em que R é Grupo Metila; A é Grupo Acetila; Média de n é 272; Média de m é 32; e X é Citarabina, Grupo Hidroxila ou Resíduo de Éster Benzila de L-
10 Fenilalanina.

O composto (267 mg) descrito no Exemplo de referência 10 e citarabina (50,0 mg) foram dissolvidos em N,N-dimetilformamida (5,3 mL), ao qual 2-etóxi-1-etoxicarbonil-1,2-diidroquinolina (EEDQ, 63,6 mg) foi em seguida adicionado, seguido por agitação a 40°C durante 21 horas. A solução
15 de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e em seguida diluída com etanol (10,6 mL), ao qual éter de diisopropila (42,4 mL) foi em seguida adicionado em gotas sob agitação. Após 30 minutos de agitação, o depósito precipitado foi coletado por filtragem e lavado com um solvente misto de éter-etanol (4:1). O produto resultante foi dissolvido em 30% de acetonitrila
20 aquosa, que foi em seguida dialisada com água destilada (2 L x 3) usando uma membrana de diálise (corte molecular de 12.000 a 14.000). A solução dialisada foi submetida à secagem por congelamento para fornecer o composto do título (290 mg).

Após hidrolisar o composto da mesma maneira como aquela no
25 Exemplo 8, citarabina liberada foi quantificada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) sob as mesmas condições como aquelas no Exemplo 8 para determinar um conteúdo de citarabina do composto. Como um resultado, o conteúdo foi de 11,3% (peso/peso) (31,5% com base nos grupos carboxila do ácido policarboxílico) em termos de citarabina.

30 Exemplo de Teste 1: Teste de Liberação de Agente na Ausência de Enzima

O composto de Exemplo 1 (indicado com composto 1 na figura 1), o composto de Exemplo 2 (indicado com composto 2 na figura 1), ou o

composto de Exemplo 7 (indicado com composto 7 na figura 1) foi dissolvido em solução salina tamponada com fosfato (pH 7,4) a fim de fornecer uma concentração de 1,0 mg/mL, que foi em seguida deixada repousar em uma temperatura constante de 37°C. A quantidade liberada de gencitabina foi avaliada com tempo por HPLC para determinar uma percentagem da quantidade de gencitabina liberada com base na quantidade da gencitabina total no composto usado. Os resultados são mostrados na figura 1. Como um resultado, os compostos da presente invenção foram demonstrados para liberar lentamente os agentes sem depender da enzima.

10 Exemplo de Teste 2: Teste de Liberação de Agente em Plasma de Camundongo

O composto de Exemplo 1 (2,3 mg; indicado com composto 1 na figura 2) ou o composto de Exemplo 2 (3,7 mg; indicado com composto 2 na figura 2) foi dissolvido em solução salina tamponada com fosfato (0,1 mL, pH 7,4), a qual uma quantidade de 4 vezes (volume/volume) do plasma (0,4 mL) coletado e preparado do camundongo foi em seguida adicionada em seguida permitindo a mistura repousar em uma temperatura constante de 37°C. Aliquotas de cinquenta microlitros cada foram tomadas com o tempo e diluídas com 50% de metanol aquoso (450 µL). A solução foi submetida ao tratamento de desproteção usando um filtro de membrana (tamanho de poro: 0,45 µm), seguido pela avaliação da quantidade de gencitabina liberada por HPLC para determinar uma percentagem da quantidade de gencitabina liberada com base na quantidade da gencitabina total no composto usado. Os resultados são mostrados na figura 2. O compostos da presente invenção foram demonstrados liberar lentamente os agentes também em plasma.

25 Exemplo de Teste 3:

Efeito Antitumor em Camundongos transportando Câncer (1)

Carcinoma de cólon de murino Cólon 26 foi mantido por implante subcutâneo em série em camundongos. O tumor de Cólon 26 foi picado em fragmentos quadrados de cerca de 2mm e estes pedaços de tumor foram implantados nos camundongos subcutaneamente por trocar. Sete dias após o implante de tumor, o composto de Exemplo 1 (indicado com composto 1

na Tabela 2), o composto de Exemplo 2 (indicado com composto 2 na Tabela 2), o composto de Exemplo 4 (indicado com composto 4 na Tabela 2), e cloridrato de gencitabina como um agente de controle foram dissolvidos em injeção de glicose a 5%, respectivamente, e cada composto ou agente de controle foi administrado uma vez intravenosamente nas doses descritas na Tabela 2. O tamanho de tumor foi medido no dia de início da administração e no dia 7 em seguida ao início da administração do fármaco, e os volumes de tumor foram calculados usando a seguinte equação. Volumes relativos de tumor no dia 7 após a administração *versus* no dia de início foram estimados, os resultados são mostrados na Tabela 2.

Equação 1

Volume Tumor (mm³) =

Maior diâmetro de tumor (mm) x Menor diâmetro de tumor (mm) x Menor diâmetro de tumor

15 Tabela 2

Agente	dose (em cloridrato de gencitabina) (mg/kg)	volume relativo de tumor*
Não tratamento	0	8,8 ± 4,9
Composto 1	50	0,4 ± 0,2
	25	1,5 ± 0,5
Composto 2	12,5	0,5 ± 0,3
	6,25	2,4 ± 1,1
Composto 4	25	0,5 ± 0,1
	6,25	3,6 ± 0,5
Agente de Controle	200	1,4 ± 0,1
	100	2,6 ± 0,7

*O volume relativo de tumor médio (média ± SD) em 7 dias após o início da administração quando o volume de tumor na data de início da administração é estabelecido em 1,0.

É evidente a partir destes resultados que o compostos da presente invenção têm efeitos antitumor equivalentes ou maiores em doses inferiores do que o cloridrato de gencitabina como um agente de controle.

Mostrou-se também que o composto da presente invenção tendo o substituinte hidrofóbico (o composto de Exemplo 2 ou 4) tem um efeito comparável em outras doses reduzidas comparadas ao composto não tendo nenhum substituinte hidrofóbico (o composto de Exemplo 1).

5 Exemplo da Teste 4: Efeito Antitumor em Camundongos transportando Câncer (2)

Carcinoma de cólon de murino 26 foi mantido por implante subcutâneo em série em camundongos. O tumor de Cólon 26 foi picado em fragmentos de pedaços de cerca de 2 mm e estes pedaços de tumores foram implantados nos camundongos subcutaneamente por trocar. Sete dias após o implante de tumor, o composto de Exemplo 7 (indicado com composto 7 na Tabela 3) e gencitabina como um agente de controle foram dissolvidos em injeção de glicose a 5%, respectivamente, e cada foi administrado uma vez intravenosamente nas doses descritas na Tabela 3. Os volumes de tumor foram calculados no dia de início da administração e no dia 10 em seguida à iniciação da administração de fármaco como descrito em Exemplo de Teste 3. Volumes relativos de tumor no dia 10 após a administração *versus* no dia de início foram estimados. Os resultados são mostrados na Tabela 3.

20 Tabela 3

Agente	dose (em cloridrato de gencitabina) (mg/kg)	volume relativo de tumor*
Não tratamento	0	10,5 ± 5,0
Composto 7	25	0,3 ± 0,3
	16,7	1,1 ± 0,5
Agente de Controle	200	3,4 ± 0,6
	100	3,9 ± 0,5

*O volume relativo de tumor médio (média ± SD) em 7 dias após o início da administração quando o volume de tumor na data de início de administração é estabelecido em 1,0.

É evidente a partir destes resultados que o composto da presente invenção tem um efeito antitumor equivalente ou maior em doses inferior-

res do que cloridrato de gencitabina como um agente de controle.

Exemplo de Teste 5:

Efeito Antitumor em Camundongos transportando Câncer (3)

- 5 Carcinoma de cólon de murino Cólon 26 foi mantido por implante subcutâneo em série em camundongos. O tumor Cólon 26 foi picado em fragmentos de pedaços de cerca de 2 mm e estes pedaços de tumores foram implantados nos camundongos subcutaneamente por trocar. Sete dias após o implante de tumor, o composto de Exemplo 8 (indicado com composto 8 na Tabela 4), o composto de Exemplo 9 (indicado com composto 9 na
- 10 Tabela 4), e citarabina como um agente de controle foram dissolvidos em injeção de glicose a 5 %: respectivamente, e cada composto ou agente de controle foi administrado uma vez intravenosamente nas doses descritas na Tabela 4. Os volumes de tumor foram calculados no dia de início da administração e no dia 10 em seguida à iniciação da administração de fármaco como descrito em Exemplo de Teste 3. Os volumes relativos de tumor no dia
- 15 10 após a administração *versus* no dia de início foram estimados. Os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4

Agente	dose (em citarabina) (mg/kg)	volume relativo de tumor*
Não tratamento	0	8,8 ± 4,9
Composto 8	200	0,4 ± 0,2
	100	1,5 ± 0,5
Composto 9	150	0,5 ± 0,3
	100	2,4 ± 1,1
	1600	8,4 ± 2,9
Agente de Controle	800	10,0 ± 3,3
	100 x 5**	9,0 ± 2,0

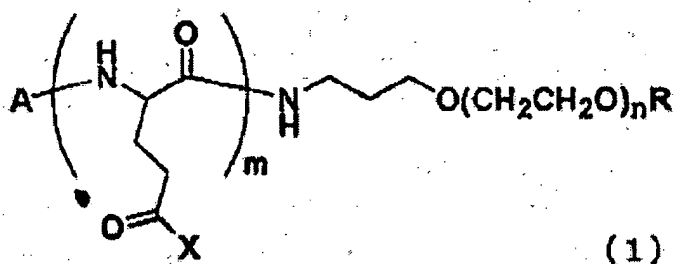
- 20 *Volume relativo de tumor médio (média ± SD) em 10 dias após o início da administração quando o volume de tumor na data de início de administração é estabelecido em 1,0.

**Administração de cinco dias contínuos em 100 mg/kg

É evidente a partir destes resultados que os compostos da presente invenção têm efeitos antitumor maiores em doses inferiores do que citarabina como um agente de controle, Mostrou-se também que o composto tendo o substituinte hidrofóbico (o composto de Exemplo 9) tem um efeito comparável em outras doses reduzidas comparadas ao composto não tendo nenhum substituinte hidrofóbico (o composto de Exemplo 8).

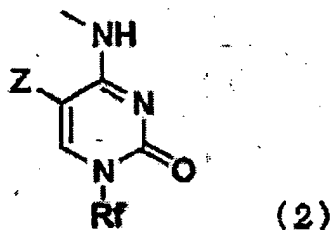
REIVINDICAÇÕES

1. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, caracterizado pelo fato de que compreende uma estrutura em que um grupo amino de um antimetabólito de citidina é ligado por amida a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído por uma porção de polietileno glicol e uma porção de cadeia de ácido poliglutâmico, em que o derivado é representado pela Fórmula Geral (1):

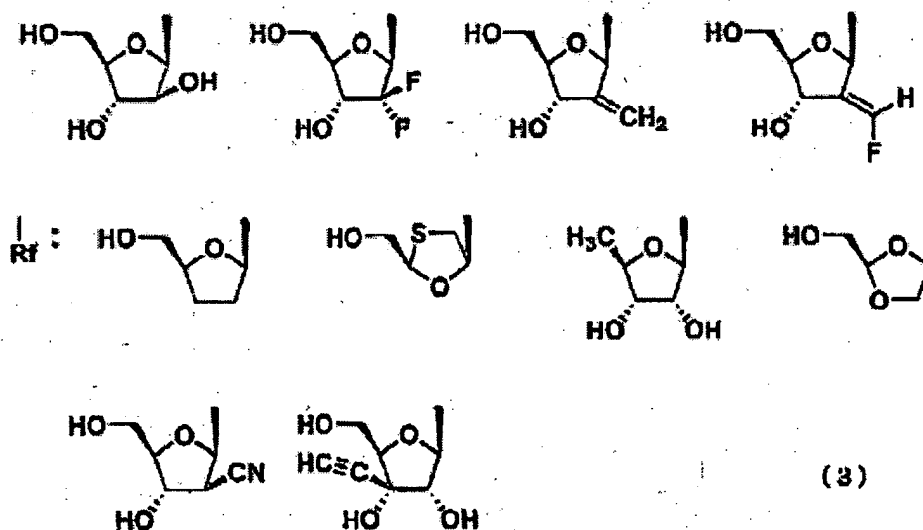


- em que R representa um átomo de hidrogênio ou um grupo C1 a C6 alquila; A representa um átomo de hidrogênio, um grupo C1 a C6 acila, ou um grupo C1 a C6 alcóxicarbonila; m representa 3 a 200 como um valor médio; n representa 5 a 2.000 como um valor médio; X representa um resíduo de antimetabólito de citidina, um grupo hidroxila, ou um substituinte hidrofóbico; e X representa um resíduo de antimetabólito de citidina em 3 a 100% de m, um grupo hidroxila em 0 a 95% de m e um substituinte hidrofóbico em 0 a 80% de m.

2. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R representa um grupo 1 a C6 alquila; A representa um grupo C2 a C4 acila; m representa 5 a 100 como um valor médio; n representa 50 a 1.000 como um valor médio; e o resíduo antimetabólito de citidina representa um grupo representado pela Fórmula (2):

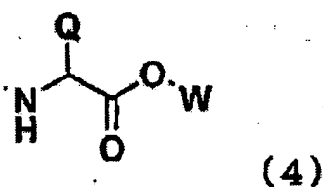


em que Z representa um átomo de hidrogênio ou um átomo de flúor; -Rf representa um grupo selecionado do grupo consistindo em substituintes de Fórmula (3):



3. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R representa um grupo metila; A representa um grupo acetila; m representa 10 a 60 como um valor médio; n representa 100 a 300 como um valor médio; X representa um resíduo de antimetabólito de citidina ou um grupo hidroxila; e o antimetabólito de citidina representa citarabina, gencitabina, ou 5'-deóxi-5-fluorocitidina.

4. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o substituinte hidrofóbico representa um derivado de α-aminoácido representado pela Fórmula (4):



em que Q representa uma cadeia lateral de um aminoácido neutro; W representa um grupo C1 a C6 alquila ou um grupo benzila.

5. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que Q representa um grupo isopropila ou um grupo benzila; e W representa um grupo benzila.

6. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o substituinte hidrofóbico representa um grupo representado pela Fórmula (5):

O-T (5)

5 em que T representa um grupo C1 a C6 alquila opcionalmente substituído por um grupo fenila.

7. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que T representa um grupo benzila, um grupo 3-fenilpropila, um grupo 4-fenilbutila, ou um grupo
10 5-fenilpentila.

8. Derivado polimérico de um antimetabólito de citidina de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R representa um grupo metila; A representa um grupo acetila; m representa 10 a 60 como um valor médio; n representa 100 a 300 como um valor médio; o antimetabólito
15 de citidina representa citarabina, gencitabina, ou 5'-deóxi-5-fluorocitidina; e o substituinte hidrofóbico representa um grupo benzilóxi, um grupo 4-fenilbutóxi, um grupo (1- benziloxicarbonil-2-metil)propilamino, ou um grupo (1-benziloxicarbonil-2-fenil)etilamino.

9. Agente antitumor, caracterizado pelo fato de que compreende
20 o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como definido em qualquer uma das reivindicações 1 e 2 a 8, como um ingrediente medicinal.

10. Agente antiviral, caracterizado pelo fato de que compreende o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8, como um ingrediente medicinal.

25 11. Método para produzir o derivado polimérico de um antimetabólito de citidina como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que compreende ligação por amida, usando um agente de condensação por desidratação em um solvente orgânico, um grupo amino de um antimetabólito de citidina a um grupo carboxila em uma cadeia lateral de um composto polimérico constituído de uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo grupos carboxila nas cadeias laterais.
30

RESUMO

Patente de Invenção: **"DERIVADO POLIMÉRICO DE ANTAGONISTA METABÓLICO DE CITIDINA, AGENTE ANTITUMOR E ANTIVIRAL E MÉTODO PARA PRODUZIR O REFERIDO DERIVADO".**

- 5 A presente invenção refere-se a um derivado de um antagonista metabólico de citidina que pode exercer um alto efeito terapêutico em uma dose inferior. Um derivado polimérico de um antagonista metabólico de citidina que compreende um composto polimérico tendo uma porção de polietileno glicol e uma porção de polímero tendo um grupo carboxila em uma ca-
10 deia lateral e um antagonista metabólico, que tem uma estrutura tal que o grupo carboxila na cadeia lateral do composto polimérico e um grupo amino no antagonista metabólico de citidina sejam ligados juntamente para formar uma ligação de amida.