

(11) *Número de Publicação:* PT 90506 B

(51) *Classificação Internacional: (Ed. 5)*

C07D493/22 A C12P017/18 B

A61K031/365 B A01N043/90 B

C07D493/22 C C07D313:00 C

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) *Data de depósito:* 1989.05.09

(30) *Prioridade:* 1988.05.10 GB 8811034
1988.05.10 GB 8811035

(43) *Data de publicação do pedido:*
1989.11.30

(45) *Data e BPI da concessão:*
02/94 1994.02.04

(73) *Titular(es):*

AMERICAN CYANAMID COMPANY
ONE CYANAMID PLAZA, WAYNE NJ 07470-8426
US

(72) *Inventor(es):*

MICHAEL V. J. RAMSAY GB
DEREK R. SUTHERLAND GB
RICHARD A. FLETTON GB
DAVID NOBLE GB
GORDON C. LAWRENCE GB

(74) *Mandatário(s):*

JOÃO DE ARANTES E OLIVEIRA
RUA DO PATROCÍNIO 94 1350 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSTOS MACRÓLIDOS

(57) *Resumo:*

[Fig.]

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 90 506

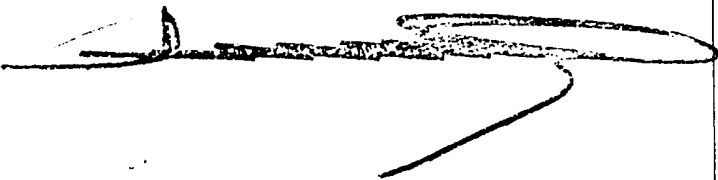
REQUERENTE: AMERICAN CYANAMID COMPANY, norte-americana, estabelecida em One Cyanamid Plaza, Wayne, New Jersey 07470, Estados Unidos da América.

EPÍGRAFE: " PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSTOS MACRÓLIDOS ".

INVENTORES: Michael John Dawson, David Noble, Gordon C. Lawrence, Richard A. Fletton, Stephen Josef Lane, Michael V.J. Ramsay, Oswy Z. Pereira, Dereck R. Sutheland e Edward P. Tilley.

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883.

Grã-Bretanha, em 10 de Maio de 1988, sob
os n.ºs. 8811034.1 e 8811035.8.



Descrição referente à patente de invenção de AMERICAN CYANAMID COMPANY, norte-americana, industrial e comercial, estabelecida em One Cyanamid Plaza, Wayne, New Jersey 07470, Estados Unidos da América, (inventores: Michael John Dawson, David Noble, Gordon C. Lawrence, Richard A. Fletton, Stephen Josef Lane, Michael V. J. Ramsay, Oswy Z. Pereira, Dereck R. Sutheland e Edward P. Tilley, residentes na Inglaterra), para "PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSTOS MACRÓLIDOS".

DESCRIÇÃO

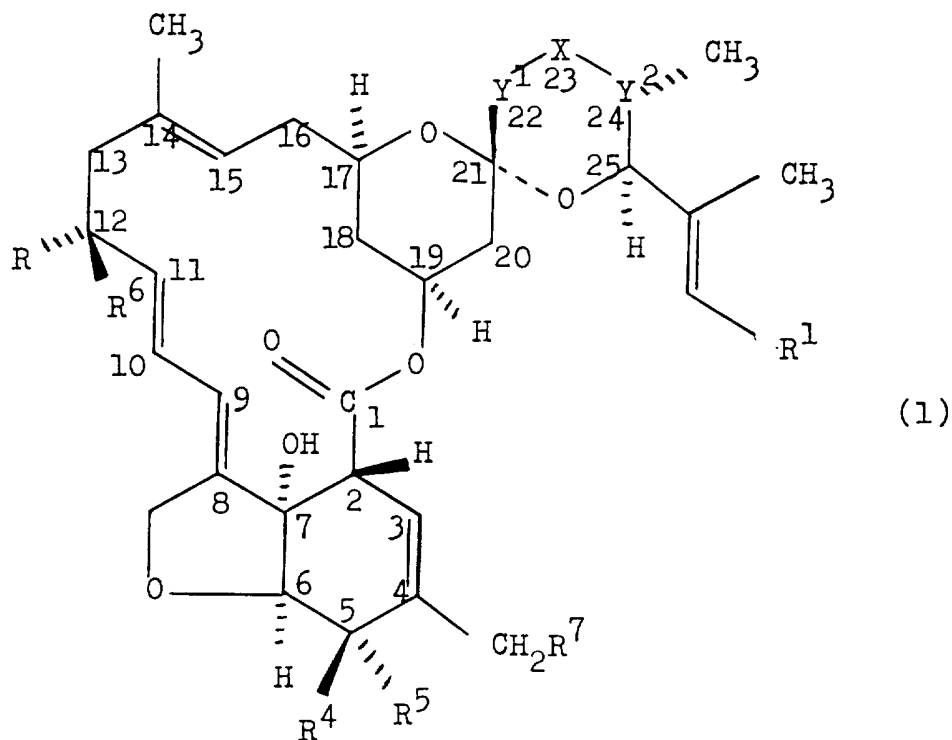
A presente invenção refere-se a novos compostos macrólidos, aos processos para a sua preparação e às composições que os contêm.

O Pedido de Patente Inglesa 2166436 e o Pedido de Patente Europeia 170006 descrevem a preparação de uma classe de macrólidos, designada por S541 ou LL-F28249. Os derivados destes compostos encontram-se descritos, por exemplo, nos Pedidos das Patentes Inglesas nºs 2176182A e 2192630A. Descobriu-se agora outro grupo de compostos S541 que possuem actividade pesticida conforme adiante descrito e que também são

M.A.

úteis como intermediários para a preparação de outros compostos S541.

Assim, de acordo com um dos seus aspectos, a presente invenção proporciona compostos de fórmula (1)



e dos seus sais, em que

R^1 representa um grupo metilo, etilo ou isopropilo;

Y^1 representa $-CH_2-$, Y^2 representa $-CH-$ e X representa $-C-$ em que R^2 representa um átomo de hidrogénio ou um grupo OR^8 (em que OR^8 representa um grupo hidroxilo ou um grupo hidroxilo substituído possuindo até 25 átomos de carbono) e R^3 representa um átomo de hidrogénio, ou R^2 e R^3 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam $>C=O$, $>C=CH_2$ ou $>C=NOR^9$ (em que R^9 representa um átomo de hidrogénio, um grupo alquilo(C_1-C_8) ou um grupo al-

quenilo(C_3-C_8)) e o grupo $C=NOR^9$ encontra-se na Configuração E_7 ou $-Y^1-X-Y^2-$ representa $-CH=CH-CH-$ ou $-CH_2-CH=C-$;

R^4 representa um grupo OR^8 conforme anteriormente definido e R^5 representa um átomo de hidrogénio, ou R^4 e R^5 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam $C=O$ ou $C=NOR^{9a}$ (em que R^{9a} possui as significações anteriormente definidas para R^9);

R^6 representa um átomo de hidrogénio e R representa $-CH_2OH$, $-CHO$, $-CO_2H$ ou um grupo amida ou ester de ácido carboxílico; ou R^6 representa um grupo hidroxilo e R representa um grupo metilo; e

R^7 representa um átomo de hidrogénio ou quando R representar um grupo $-CH_2OH$, então R^7 pode representar também um grupo hidroxilo.

Quando R representar um grupo ester de ácido carboxílico este pode ser, por exemplo, um grupo $-CO_2R^{16}$ (em que R^{16} representa um grupo alifático, aralifático ou aromático, por exemplo, um grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, ciclo-alquilo, aralquilo ou arilo).

Quando R representar um grupo amida de ácido carboxílico este pode ser, por exemplo, um grupo $-CONR^{17}R^{18}$ (em que R^{17} e R^{18} podem representar individual e independentemente um átomo de hidrogénio ou um grupo conforme anteriormente definido para R^{16}).

O grupo R^8 , quando estiver presente nos compostos de Fórmula (1), pode representar um grupo acilo, por exemplo, um grupo da fórmula $R^{10}CO-$ ou $R^{10}OCO-$ ou $R^{10}OCS-$ (em que R^{10} representa um grupo alifático, aralifático ou aromático, por exemplo um grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, ciclo-alquilo, aralquilo ou arilo), um grupo formilo, um grupo R^{11} o qual possui as significações anteriormente definidas para R^{10} , um grupo $R^{12}SO_2-$ (em que R^{12} representa um grupo alquilo(C_1-C_4))

ou arilo(C_6-C_{10})), um grupo sililo, um grupo acetal ciclico ou aciclico, um grupo $-CO(CH_2)_nCO_2R^{13}$ (em que R^{13} representa um átomo de hidrogénio ou um grupo conforme anteriormente definido para R^{10} e n representa 0, 1 ou 2) ou um grupo $R^{14}R^{15}NCO-$ (em que R^{14} e R^{15} podem representar individual e independentemente um átomo de hidrogénio ou um grupo alquilo (C_1-C_4)).

Quando R^{10} , R^{11} , R^{16} , R^{17} ou R^{18} representarem grupos alquilo, podem ser por exemplo grupos alquilo(C_1-C_8), por exemplo grupos metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo, t-butilo ou n-heptilo, os quais podem ser também substituídos. Os grupos alquilo R^{10} , R^{16} , R^{17} e R^{18} podem ser substituídos, por exemplo, por um ou vários, eventualmente dois ou três átomos de halogénio (por exemplo átomos de cloro ou de bromo), ou por um grupo carboxi, alcoxi(C_1-C_4) (por exemplo metoxi, etoxi), fenoxi ou sililoxi. Quando R^{11} representar um grupo alquilo substituído, pode ser substituído por um grupo ciclo-alquilo, por exemplo ciclo-propilo.

Quando R^{10} , R^{11} , R^{16} , R^{17} e R^{18} representarem grupos alquênio ou alquínio, possuem preferencialmente 2-8 átomos de carbono e quando representarem grupos ciclo-alquilo, podem ser, por exemplo, grupos ciclo-alquilo(C_3-C_{12}) tais como ciclo-alquilo(C_3-C_7), por exemplo grupos ciclo-pentilo.

Quando R^{10} , R^{11} , R^{16} , R^{17} e R^{18} representarem grupos aralquilo, possuem preferencialmente 1-6 átomos de carbono no radical alquilo, e o grupo(s) arilo pode ser carbocíclico ou heterocíclico e contém preferencialmente 4-15 átomos de carbono, por exemplo fenilo. Os exemplos de tais grupos englobam fen-alquilo(C_1-C_6), por exemplo grupos benzilo.

Quando R^{10} , R^{11} , R^{16} , R^{17} e R^{18} representarem grupos arilo, podem ser carbocíclicos ou heterocíclicos e possuem preferencialmente 4-15 átomos de carbono, por exemplo fenilo.

Quando R^8 representar um grupo $R^{12}SO_2-$, pode ser por exemplo um grupo metil-sulfonilo ou p-tolueno-sulfonilo.

Quando R^8 representar um grupo acetal ciclico, pode possuir por exemplo 5-7 membros no anel tal como um grupo tetra-hidropiraniolo.

Quando R^8 representar um grupo sililo ou R^{10} , R^{16} , R^{17} ou R^{18} contiver um substituinte sililoxi, o grupo sililo pode suportar três grupos que podem ser iguais ou diferentes, seleccionados entre grupos alquilo, alqueniolo, alcoxi, ciclo-alquilo, aralquilo, arilo ou ariloxi. Tais grupos podem ser tal como anteriormente definidos e particularmente englobam os grupos metilo, t-butilo e fenilo. Os exemplos particulares desses grupos sililo são trimetil-sililo e t-butil-dimetil-sililo.

Quando R^8 representar um grupo $-CO(CH_2)_nCO_2R^{13}$, pode ser por exemplo um grupo $-COCO_2R^{13}$ ou $-COCH_2CH_2CO_2R^{13}$ em que R^{13} representa um átomo de hidrogénio ou um grupo alquilo (C_1-C_4) (por exemplo metilo ou etilo).

Quando R^8 representar um grupo $R^{14}R^{15}NCO-$, R^{14} e R^{15} podem representar individual e independentemente, por exemplo, um átomo de hidrogénio ou um grupo metilo ou etilo.

Quando R^9 ou R^{9a} representarem um grupo alquilo (C_1-C_8) pode ser por exemplo, um grupo metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo ou t-butilo, e preferencialmente é um grupo metilo.

Quando R^9 ou R^{9a} representar um grupo alqueniolo (C_3-C_8) pode ser, por exemplo um grupo alilo.

Os compostos de fórmula (1) que contiverem um grupo ácido podem formar sais com bases adequadas. Os exemplos

desses sais englobam os sais de metais alcalinos tais como os sais de sódio e de potássio.

Os compostos nos quais R representa um grupo amida ou ester de ácido carboxílico são geralmente preparados tendo em consideração a sua actividade. Quando R representar um grupo $-\text{CO}_2\text{R}^{16}$, R^{16} representa preferencialmente um grupo alquilo (C_1-C_8) conforme anteriormente definido, particularmente metilo. Quando R representar um grupo $-\text{CONR}^{17}\text{R}^{18}$, R^{17} representa preferencialmente um átomo de hidrogénio e R^{18} representa preferencialmente um grupo alquilo (C_1-C_8) conforme anteriormente definido, particularmente n-butilo.

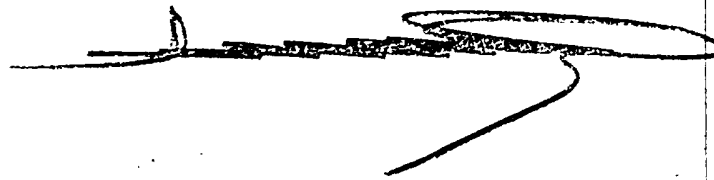
Nos compostos de fórmula (1) R^1 representa preferencialmente um grupo isopropilo.

Um grupo importante de compostos de fórmula (1) é aquele em que Y^1 representa $-\text{CH}_2-$, Y^2 representa $-\text{CH}-$ e X re-

presenta $\begin{array}{c} \text{R}^2 \quad \text{R}^3 \\ \diagdown \quad \diagup \\ -\text{C}- \end{array}$. Os compostos particularmente importantes deste tipo são aqueles em que R^2 representa um átomo de hidrogénio ou um grupo hidroxil, etoxil ou acetiloxil e R^3 representa um átomo de hidrogénio ou R^2 e R^3 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam $>\text{C}=\text{O}$, $>\text{C}=\text{CH}_2$ ou $>\text{C}=\text{NOCH}_3$.

Outro grupo importante de compostos de fórmula (1) é aquele em que R^4 representa um grupo hidroxil, metoxil ou aciloxil (por exemplo acetiloxil) ou R^4 e R^5 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam $>\text{C}=\text{NOCH}_3$. R^4 representa preferencialmente um grupo hidroxil.

Os compostos activos importantes de acordo com a presente invenção são os de fórmula (1) na qual:



R representa um grupo $-\text{CO}_2\text{CH}_3$, R^1 representa um grupo isopropilo, Y^1 representa $-\text{CH}_2-$, Y^2 representa $-\text{CH}-$, X representa $>\text{C}=\text{NOCH}_3$, R^4 representa um grupo hidroxilo e R^5 representa um átomo de hidrogénio; e

R representa um grupo $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$, R^1 representa um grupo isopropilo, Y^1 representa $-\text{CH}_2-$, Y^2 representa $-\text{CH}-$, X representa $>\text{C}=\text{NOCH}_3$, R^4 representa um grupo hidroxilo e R^5 representa um átomo de hidrogénio.

R representa um grupo $-\text{CO}_2\text{H}$, R^1 representa um grupo isopropilo, Y^1 representa $-\text{CH}_2-$, Y^2 representa $-\text{CH}-$, X representa $>\text{C}=\text{NOCH}_3$, R^4 representa um grupo hidroxilo e R^5 , R^6 e R^7 representam átomos de hidrogénio.

Os compostos de fórmula (1) na qual R representa $-\text{COOH}$ são particularmente úteis como intermediários para a preparação de outros compostos de fórmula (1).

Tal como anteriormente indicado os compostos da presente invenção possuem actividade antibiótica, por exemplo actividade anti-helmíntica, por exemplo contra nematoides e em particular possuem actividade anti-endoparasitica e anti-ectoparasitica.

É possível demonstrar a actividade antibiótica dos compostos de fórmula (1), por exemplo, através da sua actividade contra nematoides parasitas tais como Nematospiroides dubius e Caenorhabditis elegans.

Os ectoparasitas e os endoparasitas infectam os seres humanos e uma diversidade de animais e são particularmente correntes em animais de explorações pecuárias tais como os suínos, ovídeos, bovinos, caprinos e em avicultura (por exemplo na criação de galinhas e de perús), equídeos, coelhos, aves de caça, aves de gaiola e em animais domésticos tais co-

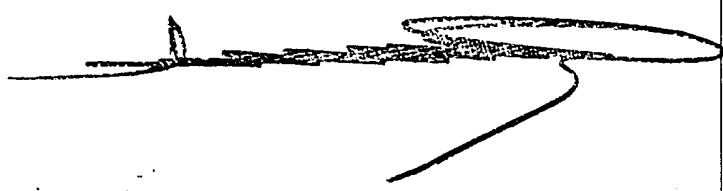
mo os cães, gatos, porcos da Índia, gerbos e murganhos. As infecções parasiticas do gado, provocando anemia, desnutrição de perda de peso constituem uma das causas fundamentais das perdas económicas em todo o mundo.

Os exemplos dos géneros de endoparasitas que infectam esses animais e/ou os seres humanos são Ancylostoma, Ascaridia, Ascaris, Aspicularis, Brugia, Bunostomum, Capillaria, Charbertia, Cooperia, Dictyocaulus, Dirofilaria, Dracunculus, Enterobius, Haemonchus, Heterakis, Loa, Necator, Nematodirus, Nematospiroides (Heligomoroides), Nippostrongylus, Oesophagostomum, Onchocerca, Ostertagia, Oxyuris, Parascaris, Strongylus, Strongyloides, Syphacia, Toxascaris, Toxocara, Trichonema, Trichostrongylus, Trichinella, Trichuris, Triodontophorus, Uncinaria e Wuchereria.

Os exemplos de ectoparasitas que infectam os animais e/ou os seres humanos são os ectoparasitas artropodes tais como os insectos de picada, varejeiras, pulgas, piolhos, ácaros, insectos sugadores, carrapatos e outros pragas de dípteros.

Os exemplos dos géneros de ectoparasitas que infectam os animais e/ou os seres humanos são Ambylomma, Boophilus, Chorioptes, Culliphore, Demodex, Damalinia, Dermatobia, Gastrophilus, Haematobia, Haematopinus, Haemophysalis, Hyalomma, Hypoderma, Ixodes, Linognathus, Lucilia, Melophagus, Oestrus, Otobius, Otodectes, Psorergates, Psoroptes, Rhipicephalus, Sarcoptes, Stomoxys e Tabanus.

Além disso, os compostos de fórmula (I) também são utilizáveis no combate às pragas de insectos, ácaros e nematoides em agricultura, horticultura, silvicultura, saúde pública e produtos armazenados. É possível tratar eficazmente as pragas do solo e das culturas de plantas, incluindo cereais (por exemplo trigo, cevada, milho e arroz), vegetais



(por exemplo soja), frutos (por exemplo maçãs, uvas e citrinos), e bem assim das culturas de raízes (por exemplo beterraba sacarina, batatas). Os exemplos particulares dessas pragas são os ácaros dos frutos e os afídeos tais como os Aphis fabae, Aulacorthum circumflexum, Myzus persicae, Nephotettix cincticeps, Nilparvata lugens, Panonychus ulmi, Phorodon humuli, Phyllocoptruta oleivora, Tetranychus urticae e os membros do género Trialeuroides; nematoides tais como os membros dos géneros Aphelencoidea, Globodera, Heterodera, Meloidogyne e Panagrellus; lepidópteros tais como Heliothis, Plutella e Spodoptera; gorgulhos dos grãos tais como Anthonomus grandis e Sitophilus granarius; escaravelhos da farinha tais como Tribolium castaneum; moscas como a Musca domestica; himenópteros; mineiros das folhas; Pear psylla; Thrips tabaci; baratas tais como Blattella germanica e Periplaneta americana e mosquitos tais como Aedes aegypti.

Deste modo, de acordo com a presente invenção proporciona-se compostos de fórmula (1) conforme anteriormente definida, os quais podem ser utilizados como antibióticos. Em particular é possível utilizá-los no tratamento de animais e de seres humanos com infecções endoparasiticas, ectoparasiticas e/ou fúngicas e como pesticidas em agricultura, horticultura, ou silvicultura para combater pragas de insectos, ácaros e nematoides. Também podem ser utilizados genericamente como pesticidas para combater ou controlar pragas noutras circunstâncias, por exemplo em armazéns, edifícios ou noutros locais públicos ou onde se localizem as pragas. Em geral, é possível aplicar os compostos quer ao hospedeiro (animal, ser humano, plantas ou qualquer tipo de vegetação) ou às próprias pragas ou ao local onde se desenvolvem.

Os compostos da presente invenção podem ser formulados para administração por qualquer via conveniente para utilização em medicina veterinária ou humana pelo que a invenção engloba no seu âmbito as composições farmacêuticas consti



tuidas por um composto de acordo com a invenção adaptadas para utilização em medicina veterinária ou humana. Tais composições podem ser apresentadas para utilização por um processo convencional com o auxílio de um ou vários veículos ou excipientes adequados. As composições da presente invenção englobam as que se encontram numa forma especialmente formulada para utilização parenteral (incluindo a administração intramamária), oral, rectal, tópica, por implantação, oftálmica, nasal ou genito-urinária.

Os compostos de fórmula (1) podem ser formulados para utilização em medicina veterinária ou humana de acordo com os métodos gerais descritos no Pedido de Patente do Reino Unido Nº 2166436.

As dosagens diárias totais dos compostos da presente invenção utilizados quer em medicina veterinária quer humana estarão adequadamente compreendidas no intervalo entre 1-2000 g/kg de peso do corpo, de preferência entre 50-1000 g/kg podendo estas ser administradas em doses divididas, por exemplo 1-4 vezes por dia.

Os compostos de acordo com a presente invenção podem ser formulados por qualquer via conveniente para utilização em horticultura ou agricultura pelo que a invenção engloba no seu âmbito as composições constituídas por um composto de acordo com a presente invenção, adaptadas para utilização hortícola ou agrícola. Tais formulações englobam os tipos secos ou líquidos, por exemplo poeiras, incluindo as bases de poeiras ou de concentrados, pós, englobando os pós solúveis ou humedecíveis, granulados, incluindo microgrânulos ou grânulos dispersíveis, aglomerados, composições fluidificáveis, emulsões tais como as emulsões diluídas ou os concentrados emulsionáveis, banhos tais como os banhos para raízes e para sementes, revestimentos para sementes, aglomerados para sementes, concentrados oleosos, soluções oleosas, injeções, por



exemplo injeções para os caules, aspersões, fumigações e névoas.

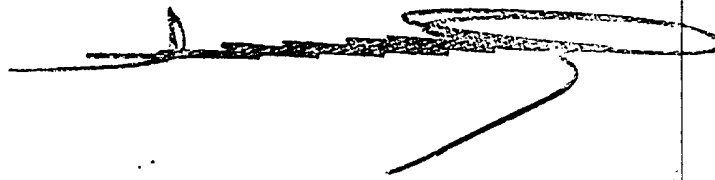
De um modo geral essas formulações englobarão o composto em associação com um veículo ou diluente adequado. Tais veículos e diluentes encontram-se descritos no Pedido de Patente Inglesa nº 2166436.

Nas formulações a concentração do material activo está geralmente compreendida entre 0,01% e 99% e mais preferencialmente entre 0,01% e 40% em peso.

Os produtos comerciais são fornecidos geralmente como composições concentradas para serem diluídas até se obter uma concentração apropriada, por exemplo entre 0,001 e 0,0001% em peso, para fins de utilização.

A proporção de aplicação do composto depende de diversos factores incluindo o tipo de praga envolvido e o grau de infestação. Todavia, de um modo geral considera-se adequada uma proporção entre 10 g/ha e 10 kg/ha; preferencialmente entre 10 g/ha e um kg/ha para o controlo de ácaros e de insectos e entre 50 g/ha e 10 kg/ha para o controlo de nematoides.

Para utilização em medicina veterinária e para utilização hortícola e agrícola pode ser desejável utilizar o caldo de fermentação integral como fonte de composto activo. Também pode ser adequado utilizar o caldo seco (contendo micelios) ou utilizar micelios separados do caldo e pasteurizados ou mais preferencialmente secos, por exemplo por aspersão, por liofilização ou por centrifugação. Se desejado, é possível formular o caldo ou os micelios em composições que englobem veículos, excipientes ou diluentes inertes convencionais, conforme descrito antes.



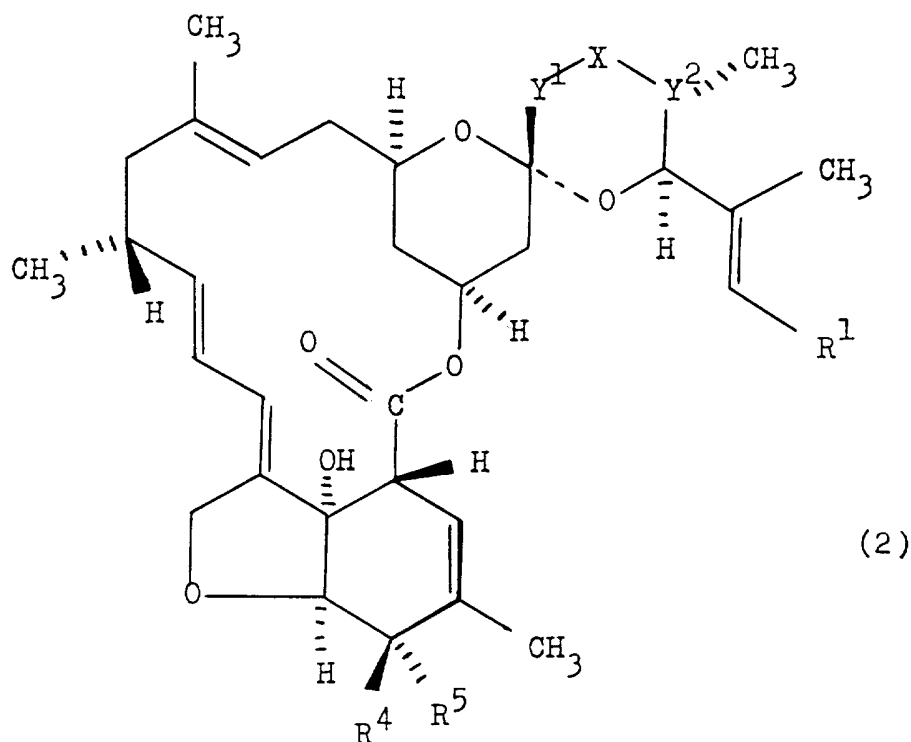
Os compostos antibióticos da presente invenção podem ser administrados ou utilizados em combinação com outros ingredientes activos.

Em particular é possível utilizar um composto antibiótico da presente invenção em conjunto com outros compostos. Por exemplo, isto pode ocorrer quando se utiliza caldo de fermentação integral antes da separação dos compostos da presente invenção ou quando se faz reagir os produtos de fermentação brutos de acordo com processos de fermentação da presente invenção, sem separação prévia ou posterior; por exemplo, isto pode ser preferível na utilização agrícola de um composto, quando for importante manter baixos custos de produção.

Os compostos de acordo com a presente invenção podem ser preparados segundo diversos processos conforme adiante descrito, em que R^1 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , X , Y^1 e Y^2 possuem as significações definidas para a fórmula geral (1) salvo quando especificado de outro modo. Em alguns desses processos pode ser necessário proteger um ou vários dos grupos hidroxilo presentes no material de partida, antes de se efectuar a reacção descrita. Nesses casos pode ser necessário desproteger depois o mesmo(s) grupo(s) hidroxilo logo que a reacção tenha ocorrido, para se obter o desejado composto da presente invenção. É possível utilizar métodos convencionais de protecção e de desprotecção, por exemplo, conforme descrito em 'Protective Groups in Organic Synthesis' por Theodora W. Greene (Wiley-Interscience, New York 1981) e 'Protective Groups in Organic Chemistry' por J. F. W. McOmie (Plenum Press, London 1973). Deste modo, é possível remover um grupo acilo tal como um grupo acetilo, por exemplo, por hidrolise alcalina, utilizando por exemplo hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio ou amónia num álcool aquoso tal como o metanol.

Assim, de acordo com outro aspecto da presente in

venção, proporciona-se um processo para a preparação de um composto de fórmula (1) (na qual R^6 representa um átomo de hidrogénio e R representa $-CH_2OH$, $-CHO$ ou $-COOH$, ou R^6 representa $-OH$ e R representa $-CH_3$), o qual consiste em incubar um composto de fórmula (2)



num meio adequado na presença de um micro-organismo ou de uma enzima dele derivada, ou na presença de uma preparação derivada de um micro-organismo que contenha a enzima com interesse susceptível de efectuar a conversão.

Os micro-organismos adequados e os seus extractos para utilização no processo de acordo com a invenção podem ser identificados através de ensaios preliminares em pequena escala concebidos para demonstrar a capacidade de um micro-organismo ou de um seu extracto para converter compostos de fórmula (2) em compostos de fórmula (1). Pode confirmar-se a formação dos compostos de fórmula (1) através de análise cromatográfica adequada (por exemplo cromatografia líquida de eleva-



do rendimento) da mistura de reacção.

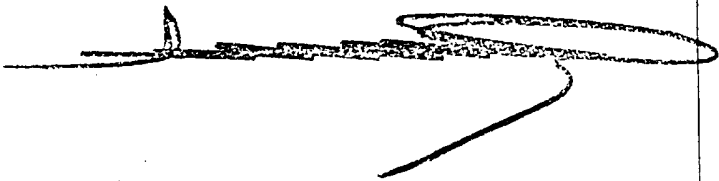
Descobriu-se que os micro-organismos do género Streptomyces e seus extractos são particularmente adequados para utilização no processo de acordo com a presente invenção.

Os micro-organismos Streptomyces particulares para utilização no processo de acordo com a presente invenção englobam as estirpes de Streptomyces griseoplanus, Streptomyces virginiae, Streptomyces cacaoi, Streptomyces spinichromogenes var. kujimyceticus, Streptomyces tendae, Streptomyces aureofaciens, Streptomyces autotrophicus, Streptomyces filamentosus, Streptomyces canescens, Streptomyces deltae, Streptomyces fungicidicus, var. espinomyceticus, Streptomyces mycarofaciens, Streptomyces rimosus, Streptomyces djakartensis, Streptomyces mashuensis e Streptomyces platensis e malvinus, e os mutantes dessas estirpes.

Os micro-organismos Streptomyces particularmente adequados para utilização no processo de acordo com a presente invenção englobam as estirpes de Streptomyces mashuensis, Streptomyces rimosus e Streptomyces platensis e malvinus por exemplo Streptomyces mashuensis ISP 5221, Streptomyces rimosus NRRL 2455 e Streptomyces platensis e malvinus NRRL 3761 e seus mutantes.

Os mutantes das estirpes anteriores podem aparecer espontaneamente ou podem ser produzidos de acordo com diversos métodos incluindo os que se encontram descritos no Pedido de Patente Inglesa nº 2166436.

Outras bactérias que se podem utilizar englobam Pseudomonas putida, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas oleovarans, Mycobacterium rhodochrous, Micrococcus flavoroseus, Aerobacter aerogenes e Corynebacterium simplex.

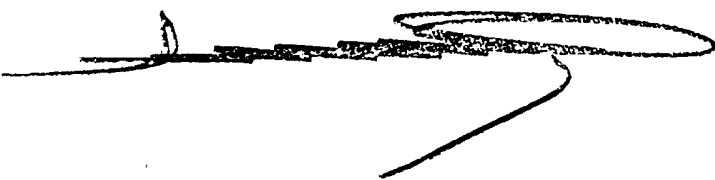


Outros micro-organismos que se podem utilizar no processo de acordo com a presente invenção englobam fungos e preparações de células de plantas.

Os exemplos de fungos para utilização no processo de acordo com a presente invenção englobam Penicillium oxalicum, Rhizopus nigricans, Calonectria decora, Aspergillus ochraceus, Cunninghamella elegans, Rhizopus arrhizus, Gibberella fujikuroi, Absidia orchidis, Absidia cylindrospora, Cunninghamella blakesleeana, Cunninghamella echinulata, Mucor hiemlis, Cladosporium herbarum, Curvularia lunata, Pellicularia filamentosa, Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger e Fusarium oxysporum.

Os exemplos de preparações de células de plantas para utilização no processo de acordo com a presente invenção englobam as espécies Phaseolus vulgaris L., Citrus paradisi, Nicotiana tabacum L., Coptis japonica, Digitalis purpurea e Dioscorea tokoro. As preparações de células de plantas são particularmente úteis no processo de acordo com a invenção para preparar compostos de fórmula (1) na qual R representa um grupo $-CH_2OH$.

Também se pode efectuar a bioconversão utilizando um organismo que contenha o material genético de um dos micro-organismos anteriormente referidos que participe na síntese do composto de fórmula (1). Esses organismos podem ser obtidos utilizando técnicas da engenharia genética, incluindo as descritas por "D A Hopwood em 'Cloning genes for Antibiotic Biosynthesis in Streptomyces Spp.: Production of a hybrid antibiotic' p 409-413 em Microbiology 1985, Ed. L. Lieve, American Society of Microbiology, Washington D.C. 1985". É possível utilizar essas técnicas por um processo idêntico ao previamente descrito para a clonagem de genes biossintéticos antibióticos, incluindo os genes biossintéticos para actinorodina (Malpartida, F. e Hopwood, D. A. 1984, Nature 309, p 462-

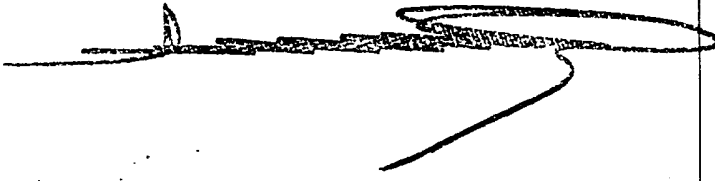


-464), eritromicina (Stanzak, R. e outros, 1986, Biotechnology, 4, p 229-232) e uma enzima importante implicada na produção de penicilina e de cefalosporina em Acremonium chrysogenum (Sansom, S. M. e outros, 1985, Nature, 318, p 191-194).

As enzimas adequadas para utilização no processo de acordo com a presente invenção podem derivar de fontes muitíssimo variadas. Todavia, os micro-organismos Streptomyces anteriormente referidos representam uma fonte particularmente adequada de enzimas susceptíveis de converterem os compostos de fórmula (2) em compostos de fórmula (1).

Num dos aspectos do processo de acordo com a invenção, pode efectuar-se a conversão de um composto de fórmula (2) num composto de fórmula (1) fornecendo o composto de fórmula (2), por exemplo num meio solvente adequado, a uma meio de fermentação constituído pelo micro-organismo anteriormente referido na presença de fontes assimiláveis de carbono, azoto e sais minerais. As fontes assimiláveis de carbono, azoto e sais minerais podem ser proporcionadas por nutrientes simples ou complexos. As fontes de carbono englobarão geralmente a glicose, maltose, amido, glicerol, melaços, dextrina, lactose, sacarose, fructose ácidos carboxílicos, aminoácidos, glicéridos, alcoóis, alcanos e óleos vegetais. As fontes de carbono serão constituídas geralmente por 0,5 a 10% em peso do meio de fermentação.

As fontes de azoto englobarão geralmente farinha de soja, licôres de infusão de cereais, destilados solúveis, extractos de malte, farinha de semente de algodão, peptonas, farinha de amendoim, extracto de malte, melaços, caseína, misturas de aminoácidos, amónia (em gaz ou em solução), sais de amónio e nitratos. Também é possível utilizar ureia e outras amidas. As fontes de azoto serão constituídas geralmente por 0,1 a 10% em peso do meio de fermentação.



Os sais minerais nutrientes que é possível incorporar no meio de cultura englobam os sais geralmente utilizados susceptíveis de proporcionar iões de sódio, potássio, amónio, ferro, magnésio, zinco, cobalto, manganês, vanádio, cromo, cálcio, cobre, molibdénio, boro, fosfato, sulfato, cloreto e carbonato.

Pode estar presente um anti-espumífero para controlar a espuma excessiva e pode adicionar-se intervaladamente conforme necessário.

No início do desenvolvimento da cultura, ou mais frequentemente, quando o micro-organismo já estiver a desenvolver-se, por exemplo 2 a 4 dias após o início da cultura, é possível adicionar um composto de fórmula (2) num solvente orgânico miscível com água (por exemplo um álcool como o metanol ou propan-2-ol, um diol como propan-1,2-ol ou butan-1,3-ol, uma cetona tal como a acetona, um nitrilo tal como o acetónitrilo, um éter tal como tetra-hidrofurano ou dioxano, uma amida substituída tal como dimetil-formamida ou um dialquil-sulfóxido tal como o dimetil-sulfóxido).

A cultura do organismo efectuar-se-á geralmente a uma temperatura compreendida entre 20 e 50°C, de preferência entre 25 e 40°C e desejavelmente ocorrerá com arejamento e agitação, por exemplo misturando ou agitando. O meio pode ser inicialmente inoculado com uma pequena quantidade de uma suspensão do micro-organismo esporulado, mas no sentido de evitar uma falha no desenvolvimento pode preparar-se um inóculo vegetativo do organismo inoculando uma pequena quantidade do meio de cultura com a forma de esporo do organismo, e o inóculo vegetativo pode ser transferido para o meio de fermentação ou, mais preferencialmente, para um ou vários passos de disseminação em que ocorra desenvolvimento adicional antes da transferência para o meio de fermentação principal. Geralmente efectuar-se-á a fermentação para valores de pH compreendidos



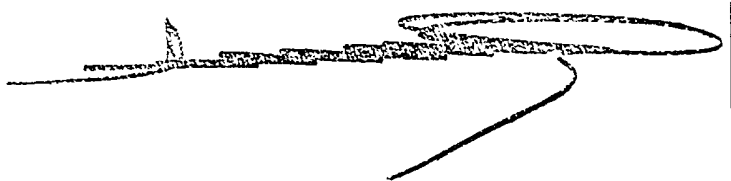
entre 4,0 e 9,5, preferencialmente entre 5,5 e 8,5 quando estiver presente um organismo Streptomyces e preferencialmente entre 4,0 e 8,5 quando estiver presente um fungo.

Depois de se ter adicionado à cultura um composto de fórmula (2), normalmente com agitação suave, mantém-se a cultura até se acumular o produto desejado. A presença do produto no caldo de fermentação pode ser determinada efectuando o controlo dos extractos do caldo por cromatografia líquida de elevado rendimento, e por espectroscopia de UV a 238 nm.

É possível isolar o produto a partir do caldo de fermentação integral utilizando técnicas convencionais de isolamento e de separação, conforme descrito nos Pedidos de Patente Ingleses 2166436 e 2176182.

Quando se utiliza células de plantas como parte do processo de fermentação é preferível efectuar a cultura utilizando um meio vegetal contendo um regulador do desenvolvimento das células das plantas tal como o ácido indol-acético, ácido naftaleno-acético, ácido indol-butírico, ácido 2,4-dicloro-fenoxi-acético, quinetina ou benzil-amino-purina a uma temperatura compreendida entre 15 e 35°C, mantendo-se o valor de pH entre 5,0 e 7,5. Os sais de amónio e os nitratos constituem também fontes preferenciais de azoto presentes no meio de fermentação. A sacarose, fructose e glicose constituem também fontes preferenciais de carbono presentes no meio de fermentação.

De acordo com um aspecto adicional do processo da presente invenção, pode efectuar-se a conversão de um composto de fórmula (2) num composto de fórmula (1) combinando e incubando um composto de fórmula (2), por exemplo num solvente adequado (por exemplo um solvente orgânico miscível com água conforme anteriormente definido) com uma preparação da enzima da presente invenção desejavelmente numa solução tampão, por



exemplo a uma temperatura entre 0°C e 60°C, preferencialmente entre 20°C e 40°C, por exemplo cerca de 28°C. Geralmente efectuar-se-á a reacção para valores de pH compreendidos entre 3,5 e 8,5, por exemplo entre 5,5 e 7,5. Se desejado, a reacção pode ser efectuada na presença de um cofactor tal como NADH ou NADPH. Quando a reacção estiver completa, isto é, quando o composto de fórmula (2) já não for convertível no composto da presente invenção (conforme determinado pelo controlo dos extractos da mistura de reacção por cromatografia líquida de elevado rendimento e por espectroscopia de UV a 238 nm), recupera-se o produto por técnicas convencionais de isolamento e de separação conforme descrito no Pedido de Patente Inglês 2166436 e 2176182.

Pode preparar-se a enzima para utilização no processo da presente invenção, por exemplo, fazendo a cultura de um micro-organismo que produza a enzima num meio nutriente. Os meios nutrientes e as condições de fermentação adequados para a preparação da enzima englobam os anteriormente descritos para a preparação de um composto de fórmula (1) a partir de um composto de fórmula (2) na presença de um micro-organismo. O momento em que a actividade enzimática necessária atinge um máximo variará, como é evidente, de acordo com o micro-organismo utilizado e, conseqüentemente, o tempo de cultura óptimo para cada estirpe utilizada é desejavelmente determinado de forma independente.

Para os micro-organismos em que a enzima seja extracelular, é possível utilizar o meio de cultura líquido ou o filtrado, após a remoção de todas as células, como fonte enzimática. Quando a enzima estiver associada às células pode ser libertada por meios convencionais tais como o tratamento por ultrasons, a trituração com esferas de vidro, homogeneização, tratamento com enzimas líticas ou com detergentes, após suspensão das células num tampão adequado.



A preparação resultante, com ou sem a remoção dos fragmentos celulares, pode ser utilizada como fonte enzimática. Todavia é preferível purificar melhor a enzima por meios convencionais. Pode utilizar-se convenientemente a cromatografia por lotes ou em coluna com celuloses de permuta iónica ou com adsorventes por afinidade ou com outros adsorventes, por exemplo hidroxil-apatite. Adicionalmente é possível concentrar a enzima ou purificá-la ainda mais por técnicas de crivagem molecular, por exemplo ultrafiltração ou salificação. Em geral, durante os procedimentos de purificação, é desejável manter o pH em valores compreendidos entre 3 e 11.

Pode utilizar-se a enzima numa forma imobilizada, por exemplo fazendo a sua insolubilização ou captura numa matriz adequada. Deste modo é possível ligar ou associar um extracto da enzima a um polímero orgânico ou inorgânico inerte, capturada sobre uma fibra, ou sobre uma membrana ou polímero tal como gel de poliacrilamida, adsorvida por uma resina de permuta iónica, reticulada com um reagente tal como glutaraldeído, ou oclusa num invólucro com a forma de uma pérola. Vantajosamente é possível utilizar enzimas imobilizadas tanto nos processos por lotes, após os quais é possível utilizar novamente a enzima, como nos processos em fluxo contínuo em que os substratos passam através de uma coluna contendo a enzima imobilizada.

É possível preparar compostos de fórmula (1) na qual R representa um grupo ester de ácido carboxílico tratando um correspondente ácido carboxílico de fórmula (1) na qual R representa -COOH ou um seu sal ou um seu derivado reactivo, tal como um halogeneto ácido (por exemplo um anidrido ou cloreto ácido) com um reagente susceptível de efectuar a conversão nos esteres correspondentes de fórmula (1) e, se desejado, segue-se a remoção de quaisquer grupos de protecção 5- e/ou 23-hidroxilo que estejam presentes.



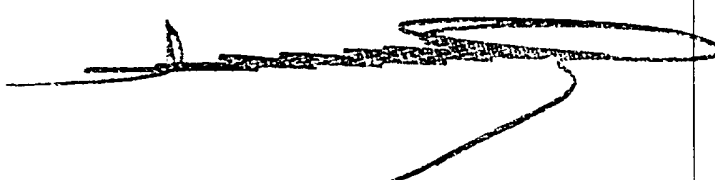
As condições de esterificação adequadas englobam os procedimentos normalizados descritos na literatura. Deste modo, é possível efectuar a esterificação utilizando, por exemplo, um álcool tal como um álcool da fórmula R^8OH (em que R^8 possui as significações anteriores).

As esterificações que utilizam alcóois podem ser efectuadas desejavelmente na presença de um agente de condensação, por exemplo, uma carbo-di-imida tal com N,N'-diciclo-hexil-carbo-di-imida. Também pode estar presente um agente de ligação ácido tal como uma amina terciária (por exemplo trietil-amina, dimetil-anilina, piridina ou 4-pirrolidino-piridina).

Também se pode efectuar a esterificação de um composto de fórmula (2) para se preparar um composto de fórmula (1) na qual R representa um grupo $-CO_2R^8$ (em que R^8 representa um grupo alquilo, por exemplo terc-butilo) utilizando um alqueno tal como isobutileno, efectuando-se a reacção a uma pressão elevada.

Também se pode efectuar a esterificação de um composto de fórmula (2) para se preparar um composto de fórmula (1) na qual R representa um grupo $-CO_2R^8$ (em que R^8 representa um grupo metilo) utilizando diazo-metano.

A esterificação pode efectuar-se convenientemente num solvente tal como éter (por exemplo éter dietílico, tetra-hidrofurano ou dioxano), na presença de uma cetona (por exemplo acetona), de uma amida (por exemplo N,N-dimetil-formamida), de um nitrilo (por exemplo acetonitrilo), de um hidrocarboneto tal como um hidrocarboneto halogenado (por exemplo clorato de metileno) ou de um ester (por exemplo acetato de etilo), e bem assim na presença de misturas de dois ou vários destes solventes. Em alternativa, quando se utilizar um álcool este pode ser utilizado também como solvente para uma reacção.



A reacção de esterificação efectua-se convenientemente a uma temperatura compreendida entre -20°C e $+100^{\circ}\text{C}$, por exemplo entre -10°C e $+50^{\circ}\text{C}$.

De acordo com outro aspecto da presente invenção proporciona-se um processo (B) para a preparação de um composto de fórmula (1) na qual R representa um grupo amida de ácido carboxílico, o qual consiste em tratar o ácido carboxílico primitivo ou um seu sal ou um seu derivado reactivo com uma amina adequada, por exemplo uma amina da fórmula $\text{R}^{17}\text{R}^{18}\text{NH}$ (em que R^{17} e R^{18} possuem as significações anteriores).

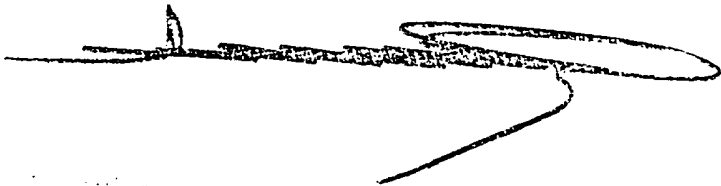
Pode efectuar-se a reacção num solvente adequado, por exemplo num hidrocarboneto halogenado tal como o dicloro-metano a uma temperatura próxima de 20°C . Também pode estar presente convenientemente um agente de condensação adequado tal como 1-etoxi-carbonil-2-etoxi-1,2-di-hidroquinolina.

Num outro processo é possível preparar os compostos de fórmula (1) na qual OR^8 representa um grupo hidroxilo substituído fazendo reagir o correspondente composto 5- e/ou 23-hidroxil com um reagente que sirva para formar um grupo hidroxilo substituído.

A reacção será geralmente uma acilação, sulfonilação, eterificação, sililação ou acetalação, e pode efectuar-se a reacção de acordo com os métodos gerais descritos no pedido de Patente Inglesa nº 2176182.

Ainda noutro processo adicional, é possível preparar os compostos de fórmula (1) na qual R^4 e R^5 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam $>\text{C}=\text{O}$, por oxidação dos correspondentes composto 5-hidroxil em que R^4 representa um grupo hidroxilo.

Pode efectuar-se a reacção com um agente oxidante



que sirva para converter um grupo hidroxilo secundário alílico num grupo oxo, proporcionando assim um composto de fórmula (1).

Os agentes oxidantes adequados englobam, por exemplo, óxidos de metais de transição tais como o dióxido de manganês, e o oxigénio atmosférico na presença de um catalizador adequado tal como um metal finamente dividido, por exemplo platina.

Geralmente utilizar-se-á o agente oxidante em excesso relativamente à quantidade estequiométrica.

A reacção pode efectuar-se convenientemente num solvente adequado o qual pode ser seleccionado entre uma cetona, por exemplo acetona; um éter, por exemplo éter dietílico, dioxano ou tetra-hidrofurano; um hidrocarboneto, por exemplo hexano; um hidrocarboneto halogenado, por exemplo clorofórmio ou cloreto de metileno; ou um ester, por exemplo acetato de etilo. Também é possível utilizar combinações destes solventes entre si ou com água.

Pode efectuar-se a reacção a uma temperatura compreendida entre -50°C e $+50^{\circ}\text{C}$, preferencialmente entre 0°C e 30°C .

Noutro processo de acordo com a presente invenção é possível preparar um composto da fórmula (1) na qual X representa o grupo $>\text{C}=\text{NOR}^9$ e R^4 representa um grupo OR^8 ou R^4 e R^5 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam $>\text{C}=\text{O}$, ou X representa



(em que R^2 representa um átomo de hidrogénio ou um grupo OR^8)



e R^3 representa um átomo de hidrogénio ou R^2 e R^3 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam >C=NOR^9) ou $-\text{Y}^1-\text{X}-\text{Y}^2-$ representa $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}-$ ou $-\text{CH}^2-\text{CH}=\text{C}-$ e R^4 e R^5 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam >C=NOR^{9a} , a partir dos compostos correspondentes 5- e/ou 23-ceto de fórmula (1) por reacção com um reagente H_2NOR^9 (em que R^9 possui as significações anteriormente definidas).

A reacção de oximação pode efectuar-se convenientemente a uma temperatura compreendida entre -20 e $+100^\circ\text{C}$, por exemplo entre -10 e $+50^\circ\text{C}$. Pode ser conveniente utilizar o reagente H_2NOR^9 na forma de um sal, por exemplo um sal de adição de ácido ou como um cloridrato. Quando se utilizar esse sal a reacção pode ser efectuada na presença de um agente de ligação ácido.

Os solventes que podem ser utilizados englobam os alcóois (por exemplo metanol ou etanol), amidas (por exemplo N,N-dimetil-formamida, N,N-dimetil-acetamida ou hexametil-fosforamida), éteres (por exemplo éteres ciclicos tais como o tetra-hidrofurano ou o dioxano, e éteres aciclicos tais como dimetoxi-etano ou éter dietílico), nitrilos (por exemplo acetonitrilo), sulfonas (por exemplo sulfolano) e hidrocarbonetos tais como os hidrocarbonetos halogenados (por exemplo cloreto de metileno), e bem assim misturas de 2 ou de vários desses solventes. Também se pode utilizar água como co-solvente.

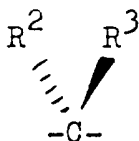
Quando se utilizarem condições aquosas a reacção pode ser convenientemente tamponada com um ácido, base ou tampão apropriados.

Os ácidos adequados englobam os ácidos minerais tal como o ácido clorídrico ou o sulfúrico, e o ácido carboxílico tal como o ácido acético. As bases adequadas englobam carbonatos e bicarbonatos de metais alcalinos tais como o bi-

carbonato de sódio, hidróxidos tais como o hidróxido de sódio, e carboxilatos de metais alcalinos tais como o acetato de sódio. Um tampão adequado é o acetato de sódio/ácido acético.

Faz-se observar que quando se prepara compostos de fórmula (1) na qual X representa $>C=NOR^9$ e R^4 e R^5 em conjunto com átomo de carbono ao qual estão ligados representam $>C=NOR^{9a}$ a partir das correspondentes 5,23-dicetonas (isto é compostos de fórmula (1) na qual X representa $>C=O$ e R^4 e R^5 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam $>C=O$) os grupos $>C=NOR^9$ e $>C=NOR^{9a}$ serão iguais.

Num processo adicional de acordo com a presente invenção é possível preparar um composto de fórmula (1) na qual X representa o grupo $>C=O$ oxidando um composto de fórmula (1) na qual X representa



(em que R^2 representa um grupo hidroxilo e R^3 representa um átomo de hidrogénio). Pode efectuar-se a reacção com um agente oxidante que sirva para converter um grupo hidroxilo secundário num grupo oxo proporcionando assim um composto de fórmula (1).

Os agentes oxidantes adequados englobam as quinonas na presença de água, por exemplo 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona ou 2,3,5,6-tetracloro-1,4-benzoquinona; um agente oxidante de crómio (VI), por exemplo dicromato de piridinilo ou trióxido de crómio em piridina; um agente oxidante de manganês (IV), por exemplo dióxido de manganês em diclorometano; uma N-halo-succinimida, por exemplo N-cloro-succinimida ou N-bromo-succinimida; um dialquil-sulfoxido, por exemplo dimetil-sulfoxido, na presença de um agente activador tal como N,N'-diciclo-hexil-carbo-di-imida ou um halogeneto de acilo, por exemplo cloreto de oxalilo; ou um complexo de piridi-

na/trióxido de enxofre.

Pode efectuar-se convenientemente a reacção num solvente adequado o qual pode ser seleccionado entre uma cetona, por exemplo acetona; um éter, por exemplo éter dietílico, dioxano ou tetra-hidrofurano; um hidrocarboneto, por exemplo hexano; um hidrocarboneto halogenado por exemplo clorofórmio ou cloreto de metileno; ou um éster, por exemplo acetato de etilo ou uma amida substituída por exemplo dimetil-formamida. Também é possível utilizar combinações destes solventes entre si ou com água.

Pode efectuar-se a reacção a uma temperatura compreendida entre -80°C e $+50^{\circ}\text{C}$.

Noutro processo de acordo com a presente invenção é possível preparar um composto de fórmula (1) na qual X representa $>\text{C}=\text{CH}_2$ fazendo reagir os correspondentes compostos 23-ceto (isto é, compostos de fórmula (1) na qual X representa $>\text{C}=\text{O}$) com um reagente Wittig apropriado, por exemplo um forforano de fórmula $(\text{R}^{\text{a}})_3 \text{P}=\text{CH}_2$ (onde R^{a} representa alquilo (C_1-C_6) ou arilo, por exemplo arilo monocíclico tal como fenilo). Os solventes de reacção adequados englobam éteres tais como tetra-hidrofurano ou éter dietílico ou um solvente aprótico dipolar tal como dimetil-sulfoxido. Pode efectuar-se a reacção a qualquer temperatura adequada, por exemplo a 0°C .

Num processo adicional é possível preparar um composto de fórmula (1) na qual X representa $-\text{CH}_2-$ tratando um composto correspondente no qual R^2 representa um grupo hidroxilo e R^3 representa um átomo de hidrogénio sequencialmente com (i) cloreto de oxalilo e (ii) 2-mercapto-piridina-N-óxido, uma quantidade catalítica de uma base orgânica, por exemplo uma amina terciária tal como dimetil-amino-piridina e um tiol que seja preferencialmente um tiol protegido, por exemplo tritil-tiol.

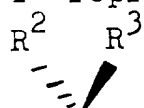


Pode efectuar-se a reacção num solvente inerte tal como um hidrocarboneto aromático, por exemplo tolueno. O passo (i) pode realizar-se convenientemente à temperatura ambiente e o passo (ii) a uma temperatura elevada, por exemplo ao refluxo.

Ainda de acordo com outro processo da presente invenção é possível preparar um composto de fórmula (1) na qual $-Y^1-X-Y^2$ representa $-CH=CH-CH-$ ou $-CH_2-CH=C-$ eliminando HL de um composto de fórmula (1) em que L representa um grupo removível tal como um grupo OR^8 (em que OR^8 representa um grupo hidroxí ou aciloxi). Pode efectuar-se a reacção de remoção para proporcionar um composto de fórmula (1), utilizando técnicas convencionais, por exemplo conforme descrito no pedido de Patente Europeia nº 215654.

É possível preparar sais de ácidos de fórmula (1) de acordo com métodos convencionais, tratando por exemplo o ácido com uma base ou convertendo um sal noutro sal por permuta iónica.

Os compostos de fórmula intermediária (2) na qual Y^1 representa $-CH_2-$, Y^2 representa $-CH-$ e X representa



(em que R^2 representa um átomo de hidrogénio ou um grupo OR^8 e R^3 representa um átomo de hidrogénio ou R^2 e R^3 em conjunto com um átomo de carbono ao qual estão ligados representam $>C=O$) ou $-Y^1-X-Y^2-$ representa $-CH=CH-CH-$ ou $-CH_2-CH=C-$, são compostos conhecidos descritos nos pedidos de Patente Inglesas 2166436 e 2176182 e no pedido de Patente Europeia 215654, ou podem ser preparados a partir desses compostos conhecidos, utilizando procedimentos conforme anteriormente descrito.

É possível preparar compostos intermediários de

fórmula (2) na qual Y^1 representa $-CH_2-$, Y^2 representa $-CH-$ e X representa $>C=CH_2$ ou $>C=NOR^9$ a partir de compostos de fórmula (2) descritos nos pedidos de Patentes Inglesas nºs 2166436 e 2176182, utilizando os processos anteriormente descritos (para a preparação dos compostos correspondentes de fórmula (1) e no pedido de Patente Inglesa nº 2192630 e no pedido de Patente Europeia nº 2311104).

A presente invenção ilustra-se com os exemplos que se seguem em que se designa por 'Factor A' o composto de fórmula (2) anterior no qual R^1 representa isopropilo, Y^1 re-

presenta $-CH_2-$, Y^2 representa $-CH-$, X representa $-C-$ (em que R^2 representa um grupo hidroxilo e R^3 representa um átomo de hidrogénio), R^4 representa um grupo hidroxilo e R^5 representa um átomo de hidrogénio. Os compostos de acordo com a presente invenção são designados por referência ao Factor A. Todas as temperaturas estão em 0°C.

Exemplo 1

12-Desmetil-Factor A 12-ácido carboxílico

Adicionou-se água esterilizada (5 ml) a uma cultura de Streptomyces platensis subsp. malvinus NRRL 3761, e utilizaram-se porções de 1 ml para inocular balões agitados de 250 ml contendo meio A (25 ml):

	<u>g^l-1</u>
D-Glucose	2,5
Dextrose de malte MD30E	25,0
"Arkasoy 50"	12,5
Melações	1,5
KH_2PO_4	0,125
Carbonato de cálcio	1,25

~~CONFIDENTIAL~~

[-Ácido 3-(N-morfolino)propano-sulfônico]	21,0
Água destilada	conforme necessário

ajustou-se o pH para 6,5 com H_2SO_4 antes de se colocar em autoclave.

Fez-se a incubação dos balões a 28°C durante 2 dias num agitador rotativo (250 rpm) e utilizou-se a cultura de 2 dias (100 ml) para inocular um fermentador 7 l contendo o Meio A (5 l). Manteve-se a incubação a 28°C com arejamento (2 l/min) e com agitação (250 rpm) e, decorridos 2 dias, adicionou-se uma solução de Factor A (2,5 g) em dimetil-sulfóxido (50 ml). Manteve-se a fermentação durante mais 5 dias e fez-se a remoção das células por centrifugação e extraiu-se com metanol. Após remoção das células extraiu-se com acetato de etilo o sobrenadante aquoso e os extractos de acetato de etilo combinados foram adicionados ao extracto de metanol e evaporou-se para proporcionar um óleo. Dissolveu-se o óleo em água e lavou-se a solução (160 ml) com éter e extraiu-se com acetato de etilo. Procedeu-se à evaporação dos extractos de acetato de etilo combinados e dissolveu-se o resíduo em acetonitrilo (15 ml), purificou-se por centrifugação e depois aplicou-se a uma coluna de "Spherisorb S5 ODS-2" (250 mm x 20 mm) com detecção a 240 nm em porções de 1 ml diluídas com igual volume de acetonitrilo/di-hidrogenofosfato de amónio/0,1 M (1:1). Utilizou-se acetonitrilo/di-hidrogeno-fosfato de amónio 0,1 M (1:1) como eluente com um débito constante de 25 ml/min e recolheu-se sucessivamente o pico de eluição entre 14 e 17 min. Todas as fracções foram combinadas, diluídas com igual volume de água e bombeadas novamente para a coluna. Eluiu-se a coluna com acetonitrilo, removeu-se o acetonitrilo in vacuo e dissolveu-se em acetona o sólido residual, diluiu-se com ciclo-hexano e liofilizou-se para proporcionar o composto em epígrafe (148 mg) na forma dum sólido incolor.

1H R.M.N. ($CDCl_3$, 200 MHz) aproximadamente proporcionou si



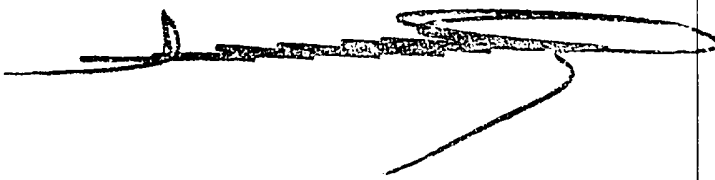
nais δ 0.79 (d7, 3H), 0.94 (d7, 3H), 1.04 (d7, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.59 (s, 3H), 1.84 (s, 3H), 3.23 (m, 2H), 3.73 (d11, 1H), 3.92 (d6, 1H), 4.27 (d6, 1H), 5.08 (t8, 1H), e 5.18 (d9, 1H); I.V. (solução de CHBr_3) 1702, 1730 e 3480 cm^{-1} ; espectro de massa (I.E.) proporcionou um íão M^+ a m/z 642 e íões de bombardeamento a m/z 624, 606, 560, 514, 512, 496, 478, 455, 437, 384, 344, 297, 278, 265, 247, 237, 219, 181 e 95; ^{13}C R.M.N. (25.05 MHz) aproximadamente proporcionou sinais δ 10.8(q), 13.7(q), 14.8(q), 19.6(q), 22.6(q), 26.6(d), 34.6(t), 35.7(d), 40.5(t), 42.5(t), 45.3(d), 46.6(d), 67.3(d), 67.6(d), 68.0(t), 69.1(d), 76.5(d), 79.1(d), 80.0(s), 99.5(s), 117.6(d), 119.3(d), 122.4(d), 127.3(d), 130.2(s), 132.5(d), 134.2(s), 137.2(s), 137.4(s), 141.7(s), 173.0(s) e 177.1(s).

Exemplo 2

12-Desmetil-23-ceto Factor A 12-ácido carboxílico

Adicionou-se 23-ceto Factor A (721 mg, Exemplo 21 no pedido de Patente Inglesa 2176182) em metanol (50 ml) a uma cultura desenvolvida de acordo com o método descrito no Exemplo 1 anterior. Manteve-se a fermentação sob as mesmas condições durante mais 2 dias e fez-se a remoção das células por centrifugação. Ajustou-se o sobrenadante para pH 2,0 com ácido clorídrico concentrado e extraiu-se com acetato de etilo. Evaporou-se o extracto de acetato de etilo para proporcionar um óleo que se dissolveu em água (100 ml) contendo bicarbonato de sódio (2 g). Lavou-se a solução com éter, ajustou-se para pH 2,0 e extraiu-se com éter. Fez-se a evaporação dos extractos étereos combinados para proporcionar um sólido oleoso que se dissolveu em metanol (4 ml), diluiu-se com acetonitrilo/di-hidrogeno-fosfato de amónio 0,1 M (1:1; 0,7 ml) e filtrou-se.

Aplicou-se a solução resultante a uma coluna "Spherisorb S5 ODS-2" (250 mm x 20 mm) em porções de 1,75 ml com detecção das fracções a 255 nm. Utilizou-se o acetonitrilo/di

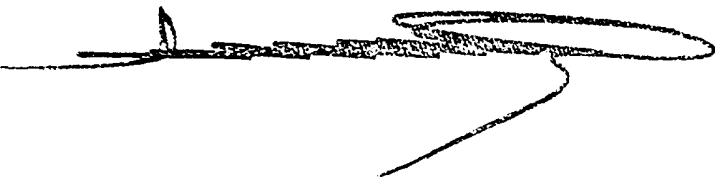


-hidrogeno-fosfato de amônio 0,1 M (1:1) como eluente com um débito constante de 25 ml/min e fez-se a combinação dos picos detectados na eluição entre os 12,2 e os 14,9 min a partir de injeções separadas, diluiu-se com igual volume de água e bombeou-se novamente para a coluna. Lavou-se a coluna com acetonitrilo/água (1:3) e eluiu-se com acetonitrilo. A evaporação do acetonitrilo seguida pela liofilização do resíduo a partir de acetona/ciclo-hexano proporcionou o composto em epígrafe (258 mg) incolor e no estado sólido. ^1H R.M.N. (CDCl_3 , 200 MHz) aproximadamente engloba os sinais δ 0.86 (d7, 3H), 0.96 (d7, 3H), 1.05 (d7, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.70 (s, 3H), 1.87 (s, 3H), 3.25 (m, 2H), 3.70 (dl1, 1H), 3.94 (d6, 1H), 4.28 (d6, 1H), 5.06 (t8, 1H) e 5.20 (dl0, 1H), I.V. (Nujol) 1720, 3450 cm^{-1} ; Espectro de massa (I.E.) proporcionou um íão M^+ a m/z 640 e íões de bombardeamento a m/z 622, 604, 579, 517, 499, 400, 356, 263 e 95.

Exemplo 3

12-Desmetil-23[α]-metoxi-imino Factor A 12-ácido carbóxico

Durante 16 horas agitou-se o produto do Exemplo 2, cloridrato de metoxi-amina (12,5 g) e acetato de sódio (20,7 mg) em metanol (0,5 ml) e depois diluiu-se com dicloro-metano e lavou-se com água (25 ml) e com uma solução salina. A evaporação da fase orgânica seca proporcionou uma espuma que se dissolveu em clorofórmio/metanol/ácido acético (180:8:1) e aplicou-se a uma coluna de "Merck Kieselgel 60", sílica de malha 230/400 (25 g). A eluição da coluna com o mesmo sistema solvente, sob pressão, proporcionou o composto em epígrafe (62 mg), $[\alpha]_D^{21} +49^\circ$ (c 0.4, CHCl_3), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 248.2 nm (ϵ_{max} 26,000), ν_{max} (CHBr_3) 3470 (OH), 1740 (CO_2H) e 1708 cm^{-1} (lactona), δ (CDCl_3) engloba 0.92 (d, 6Hz, 3H), 0.97 (d, 6Hz, 3H), 1.07 (d, 6Hz, 3H), 1.87 (s, 3H), 3.2-3.4 (m, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.96 (d, 6Hz, 3H) e 4.29 (d, 6Hz, 3H).



Exemplo 4

12a-hidroxi-23-ceto Factor A

Inocolou-se directamente 25 ml de Meio A num balão agitado de 250 ml a partir de uma cultura de Streptomyces platensis subsp. malvinus NRRL 3761 e incubou-se a 28°C num agitador rotativo (250 rpm, braço de 5 cm) durante 2 dias. Fez-se a transferência de aliquota de 5 ml desta cultura de 2 dias para balões agitados de 50 ml e adicionou-se 50 µl de 23-ceto Factor A em metanol (50 mg/ml) para proporcionar um consumo de 500 mg/l. Manteve-se a fermentação nas mesmas condições durante mais 3 dias. Depois adicionou-se igual volume de metanol e agitou-se o balão e o seu conteúdo durante 1 hora antes da centrifugação.

Evaporou-se o sobrenadante até à secura e extraiu-se o resíduo com acetonitrilo/acetato de amónio 0,05 M tendo-se ajustado o valor do pH para 4,5 com ácido acético. Purificou-se o extracto e fraccionou-se o sobrenadante em porções de 250 µl numa coluna de "Spherisorb S5 ODS-2" (100 mm x 4,6 mm) com detecção a 238 nm. Utilizou-se um sistema de eluição por gradiente, constituído por acetonitrilo/acetato de amónio 0,05 M a pH 4,5 (40:60 60:40), com um débito constante de 3 ml/min e recolheu-se sucessivamente o pico de eluição decorridos 4,3 min após cada injeção. Fez-se a combinação de todas as fracções e evaporou-se para proporcionar o composto em epígrafe no estado sólido. O espectro de massa (i.e.) proporcionou um ião M⁺ a m/z 626 e iões de bombardeamento a m/z 608, 565, 498, 455, 437, 386 e 167.

Exemplo 5

12a-hidroxi Factor A

Adicionou-se Factor A (2,5 g) em metanol (50 ml) a uma cultura de Streptomyces mashuensis ISP 5221, desenvolvida de acordo com o método descrito no Exemplo 1 anterior. Man



teve-se a fermentação sob as mesmas condições durante mais 5 dias e fez-se a remoção das células por centrifugação. As células foram combinadas com metanol e decorridos 30 min foram centrifugadas para proporcionar 900 ml de extracto de metanol. Extraiu-se com acetato de etilo o sobrenadante do fluído da cultura, procedeu-se à evaporação dos extractos de acetato de etilo combinados e dissolveu-se o resíduo no extracto das células em metanol. Evaporou-se a mistura dissolveu-se o resíduo em metanol (200 ml) e carregou-se numa coluna de "Sephadex LH20" (125 cm/5 cm) eluindo com metanol. Recolheu-se cada fracção de 30 ml e combinou-se as fracções 47-57 e evaporou-se. Dissolveu-se o resíduo em acetonitrilo/água (1:1; 10 ml) e purificou-se por cromatografia líquida de elevado rendimento preliminar, numa coluna "Spherisorb S5 ODS-2" (250 mm x 20 mm) eluindo com acetonitrilo/água (1:1) com um débito de 20 ml/min com detecção a 250 nm. Porções consecutivas de 1,5 ml foram carregadas numa coluna e procedeu-se à combinação dos picos de eluição entre 14,8 e 15,6 min., diluiu-se com igual volume de água, bombeou-se novamente para a coluna e eluiu-se com acetonitrilo. A evaporação do acetonitrilo seguida por liofilização a partir da acetona/ciclo-hexano proporcionou o composto em epígrafe (25,1 mg) incolor e no estado sólido. I.V. (CHBr_3) 996, 1710 e 3500 cm^{-1} ; ^{13}C R.M.N. (62.5 MHz) aproximadamente proporcionou sinais δ 10.8 (q), 13.7 (q), 15.4 (q), 19.7 (q), 22.7 (q), 26.7 (d), 34.7 (t), 35.9 (d), 36.0 (t), 40.6 (t), 41.0 (t), 42.1 (t), 44.3 (d), 45.5 (d), 66.2 (t), 67.5 (d), 67.7 (d), 68.3 (t), 69.1 (d), 76.6 (d), 79.2 (d), 80.1 (s), 99.6 (s), 117.8 (d), 119.7 (d), 120.9 (d), 127.2 (d), 130.5 (s), 135.9 (s), 137.1 (d), 137.3 (d), 137.8 (s), 140.9 (s) e 173.2 (s); ^1H R.M.N. corresponde ao espectro do produto correspondente do Exemplo 6.

Exemplo 6

12a-hidroxi Factor A e 4a,12a-di-hidroxi Factor A

Adicionou-se Factor A (2,5 g) em metanol (50 ml)



a uma cultura de Streptomyces rimosus NRRL 2455 desenvolvida de acordo com o método do Exemplo 1 anterior. Manteve-se a fermentação só as mesmas condições durante mais 5 dias e fez-se a remoção das células por centrifugação. Eliminou-se o sobrenadante e fez-se a lavagem das células com água e centrifugou-se novamente. Eliminou-se o produto de lavagem com água, extraiu-se as células com metanol e centrifugou-se novamente para proporcionar um extracto de metanol de 1300 ml. Evaporou-se o extracto de metanol para proporcionar um óleo que se extraiu com acetonitrilo (250 ml) e com metanol (200 ml). Fez-se a combinação dos extractos e evaporou-se para proporcionar um óleo que se dissolveu em metanol (200 ml) e fraccionou-se (50 ml) numa coluna de "Sephadex LH20" (130 cm x 5 cm) eluindo com metanol. Fez-se a combinação das fracções 26 a 36 e evaporou-se e dissolveu-se do resíduo em acetonitrilo/água (55:45; 15 ml) e submeteu-se porções de 1,8 ml a cromatografia líquida de elevado rendimento preliminar numa coluna de "Spherisorb S5 ODS-2" (250 mm x 20 mm). Os solventes de processamento foram acetonitrilo/água (55:45; 0 a 12,5 min) acetonitrilo/água (70:30; 12,5 a 21,0 min) e acetonitrilo (21,0 a 30 min) os quais foram aplicados com um débito de 20 ml/min. Depois equilibrou-se a coluna com acetonitrilo/água (55:45). Fez-se a recolha das fracções cuja eluição ocorreu entre 14,8 e 15,5 min, procedeu-se à sua combinação, diluiu-se com igual volume de água e bombeou-se de novo para a coluna. Eluiu-se a coluna com acetonitrilo e removeu-se o acetonitrilo. Dissolveu-se o resíduo em acetona/ciclo-hexano e liofilizou-se para proporcionar 12a-hidroxi Factor A (32,2 mg) incolor e no estado sólido. ¹H R.M.N. (250 MHz, CDCl₃) aproximadamente engloba sinais δ 0.80 (d6, 3H), 0.96 (d6, 3H), 1.06 (d6, 3H), 1.88 (s, 3H), 3.27 (m, 1H), 3.40 (t9, 1H), 3.74 (d11, 1H), 3.96 (d6, 1H), 4.30 (t6, 1H), 5.02 (m, 1H), e 5.21 (d9, 1H); o espectro de massa (I.E.) proporcionou um ião M⁺ a m/z 628 e iões de bombardeamento a m/z 610, 592, 482, 464, 441, 423, 370, 330, 297, 265, 247, 237, 219, 167 e 95.



De modo idêntico as fracções de eluição entre 6,2 e 6,8 minutos proporcionar 4a,12a-di-hidroxi Factor A (26,4 mg) incolor e no estado sólido. ¹H R.M.N. (250 MHz, CDCl₃) aproximadamente engloba sinais δ 0.80 (d6; 3H), 0.96 (d6; 3H), 1.06 (d6; 3H), 1.56 (s; 3H), 1.62 (s; 3H), 3.31 (m; 1H), 3.40 (dd 11, 9; 1H), 3.75 (d10; 1H), 3.97 (d6; 1H), 4.24 (d14; 1H), 4.33 (d14; 1H), 4.58 (d6; 1H) e 5.72 (s; 1H).

O espectro de massa (i.e.) proporcionou um ião M⁺ a m/z 644 e iões de bombardeamento a 626, 608, 482, 464, 457, 439, 297, 265, 247, 237, 219 e 167.

Exemplo 7

12-hidroxi Factor A

Adicionou-se Factor A (2,5 g) em metanol (50 ml) a uma cultura de Absidia cylindrospora NRRL 2796 desenvolvida de acordo com o método do Exemplo 1, com a excepção de se ter utilizado o meio seguinte:

	<u>gl</u> ⁻¹
licor de infusão de cereais	20,0
Meritose	10,0
Óleo de soja	1,0
Água destilada	conforme necessário

ajustou-se o valor do pH para 4,8-5,0 com hidroxido de potássio antes de se colocar em autoclave.

Manteve-se a fermentação nas mesmas condições durante mais 5 dias e fez-se a remoção das células por centrifugação. Depois procedeu-se à extracção das células com metanol (400 ml). Evaporou-se o sobrenadante do fluido da cultura até se obter aproximadamente 900 ml e extraiu-se com acetato de etilo. Evaporou-se os extractos de acetato de etilo combinados e dissolveu-se o resíduo em metanol (ca. 100 ml). Filtrou

-se a suspensão resultante e evaporou-se o filtrado até à secura. Evaporou-se o extracto de célula metalónica para proporcionar um óleo que se dissolveu em água e extraiu-se com acetato de etilo. O extracto de acetato de etilo combinado foi depois adicionado ao resíduo sobrenadante e secou-se a mistura.

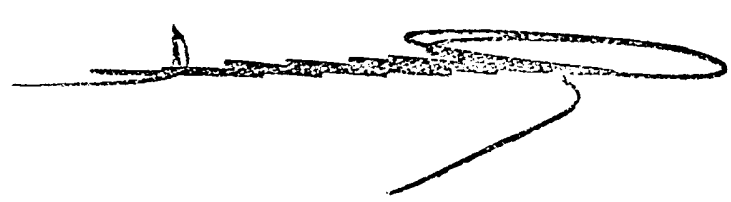
Dissolveu-se o resíduo em clorofórmio/acetato de etilo (3:1, ca. 30 ml) e carregou-se numa coluna de sílica (100 ml, malha 70-230) contendo uma camada de areia. Recolheu-se cada fracção de 20 ml e procedeu-se à combinação das fracções 11-32 e evaporou-se até à secura. Purificou-se o resíduo por cromatografia líquida de elevado rendimento preliminar numa coluna de "Spherisorb S5 ODS-2" eluindo com acetonitrilo/água (1:1) com um débito de 30 ml/min com detecção a 238 nm. Procedeu-se à combinação dos picos de eluição entre 29,6 e 31,6 min, diluiu-se com igual volume de água, bombeou-se novamente para a coluna e eluiu-se com acetonitrilo. Evaporou-se o eluído, dissolveu-se o resíduo em acetona/ciclo-hexano e liofilizou-se para proporcionar o composto em epígrafe (42,4 mg). ^1H R.M.N. (250 MHz, CDCl_3) aproximadamente proporcionou sinais δ 0.79 (d7; 3H), 0.96 (d7; 3H), 1.06 (d6; 3H), 1.30 (s; 3H), 1.60 (s; 3H), 1.69 (s; 3H), 1.89 (s; 3H), 3.29 (m; 1H), 3.75 (d10; 1H), 3.98 (d6; 1H), 4.30 (t6; 1H), 5.41 (s, 1H); 566 (d15; 1H).

O espectro de massa (I.E.) proporcionou um ião M^+ a m/z 628 e iões de bombardeamento a 610, 592, 574, 484, 441, 423, 370, 334, 316, 265, 247, 237, 219 e 167.

Exemplo 8

12-desmetil-Factor A 12-ácido carboxílico, ester metílico

(i) Durante 2,5 horas agitou-se uma solução do produto do Exemplo 1 (100 mg), de N,N'-diciclo-hexil-carbo-di-imida (35 mg) e de metanol (11 μl) em éter (2 ml) na presença de uma quantidade catalítica de 4-pirrolidino-piridina (2



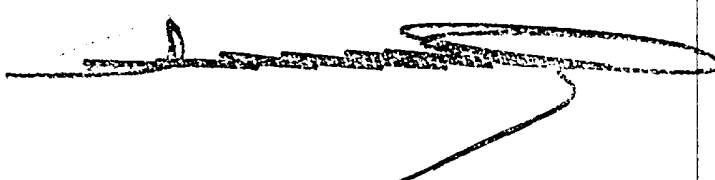
mg). Filtrou-se a mistura resultante e evaporou-se o filtrado para proporcionar uma espuma. A purificação cromatográfica da espuma sobre "Merck Kieselgel 60" (25 g) proporcionou o composto em epígrafe (31 mg) na forma de uma espuma branca, $[\alpha]_D^{21} +23^\circ$ (c 0.5, CHCl_3), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245.6 nm (ϵ_{max} 25,200), ν_{max} (CHBr_3) 3500 (OH) e 1720 cm^{-1} (CO_2R), δ (CDCl_3) engloba 0.80 (d, 6Hz, 3H), 0.96 (d, 6Hz, 3H), 1.06 (d, 6Hz, 3H), 1.89 (s, 3H), 3.25 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.96 (d, 6Hz, 1H) e 4.29 (d, 6Hz, 1H).

(ii) Tratou-se com excesso de diazometano etéreo uma solução agitada do Exemplo 1 (155 mg) em éter (15 ml), a uma temperatura de 0-5°C. Decorridos 30 minutos destruiu-se o excesso de diazometano com ácido acético e evaporou-se a solução incolor resultante para proporcionar uma espuma. A purificação cromatográfica da espuma sobre "Merck Kieselgel", sílica de malha 230-400 (26 g) proporcionou o composto em epígrafe (125 mg). O espectro RMN foi idêntico ao anteriormente descrito.

Exemplo 9

12-desmetil-Factor A 5-acetato 12-ácido carboxílico, ester metílico

Durante 72 horas agitou-se uma solução do produto do Exemplo 8 (60 mg) e de anidrido acético (10,3 μl) em piridina seca (1 ml). Depois adicionou-se uma porção catalítica de 4-dimetil-amino-piridina (3 mg). Decorridos 20 minutos diluiu-se a solução com acetato de etilo (60 ml) e lavou-se sequencialmente com ácido clorídrico 2N, com água e com uma solução salina. A secagem e a evaporação da fase orgânica proporcionou uma espuma que na forma de solução em hexano:acetato de etilo (2:1) se aplicou a uma coluna de "Merck Kieselgel" sílica de malha 230-400 (36 g). A eluição da coluna sob pressão, com o mesmo sistema solvente, proporcionou o composto em epígrafe (35 mg) na forma de uma espuma, $[\alpha]_D^{21} +50^\circ$ (c 0.4,



CHCl_3), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 239.4 nm (ϵ_{max} 22,000), ν_{max} (CHBr_3) 3480 (OH), 1730 ($\text{CO}_2\text{R} + \text{OCOCH}_3$) e 1235 cm^{-1} , δ (CDCl_3) engloba 0.80 (d, 6Hz, 3H), 0.96 (d, 6Hz, 3H), 1.06 (d, 6Hz, 3H), 1.74 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 3.24 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 4.06 (d, 6Hz, 1H) e 5.53 (m, 2H).

Exemplo 10

12-desmetil-Factor A 12-ácido carboxílico, ester isopropílico

Durante 26 horas agitou-se uma mistura do produto do Exemplo 1 (150 mg), de N,N'-diciclo-hexil-carbo-di-imida (53 mg), de álcool isopropílico seco (176 μl) e de uma quantidade catalítica de 4-pirrolidino-piridina (3,4 mg). Filtrou-se o material insolúvel e evaporou-se o filtrado para proporcionar uma espuma. Dissolveu-se a espuma em éter e lavou-se com uma solução aquosa de ácido acético a 5%, com água e com uma solução salina. A secagem e a evaporação da fase orgânica proporcionaram uma espuma que se purificou por cromatografia intermitente sobre sílica (36 g) para proporcionar o composto em epígrafe (53 mg), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245.6 nm (ϵ_{max} 26,200), ν_{max} (CHBr_3) 3500 (OH) e 1714 cm^{-1} (CO_2R), δ (CDCl_3) engloba 0.80 (d, 6Hz, 3H), 0.96 (d, 6Hz, 3H), 1.07 (d, 6Hz, 3H), 1.20 (d, 6Hz, 6H), 1.87 (s, 3H), 3.17 (m, 1H), 3.96 (d, 6Hz, 1H), 4.29 (t, 6Hz, 1H) e 4.97 (m, 1H).

Exemplo 11

12-desmetil-Factor A 12-ácido carboxílico, ester terc-butílico

Arrefeceu-se para -30°C uma solução do Exemplo 1 (500 mg) em éter (10 ml) e tratou-se com ácido sulfúrico concentrado (30 μl) seguindo-se isobutileno (30 ml). Agitou-se a mistura resultante a 21°C numa garrafa vedada sob pressão, durante 96 horas. Deixou-se evaporar o excesso de isobutileno e diluiu-se o resíduo etéreo com dicloro-metano (20 ml) e de-

pois lavou-se sequencialmente com uma solução saturada de bicarbonato de sódio (20 ml), com água (2 x 20 ml) e com uma solução salina. A secagem e a evaporação da fase orgânica proporcionou uma espuma que na forma de solução em dicloro-metano/acetona (10:1) foi aplicada a uma coluna de "Merck Kieselgel", sílica de malha 230-400 (68 g). A eluição da coluna sob pressão com o mesmo sistema solvente proporcionou o composto em epígrafe (86 mg) na forma de uma espuma, $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245.8 nm (ϵ_{max} 28,600) ν_{max} (CHBr₃) 3500 (OH) e 1712 cm⁻¹ (CO₂R), δ (CDCl₃) engloba 0.80 (d, 6Hz, 3H), 0.96 (d, 6Hz, 3H), 1.06 (d, 6Hz, 3H), 1.41 (s, 9H), 1.89 (s, 3H), 3.11 (m, 1H), 3.97 (d, 6Hz, 1H) e 4.29 (d, 6Hz, 1H).

Exemplo 12

12-desmetil-Factor A 5,23-bis-acetato 12-ácido carboxílico, ester metílico

Tratou-se uma solução do produto do Exemplo 8 (55 mg) em piridina seca (2 ml) com 4-dimetil-amino-piridina (10 mg) seguindo-se anidrido acético (0,15 ml). Decorridas 80 horas diluiu-se a solução com acetato de etilo (60 ml) e lavou-se sequencialmente com ácido clorídrico 2N, com uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio, com água e com uma solução salina. A secagem e a evaporação da fase orgânica proporcionaram uma espuma que na forma de solução em hexano/acetato de etilo (2:1) foi aplicada a uma coluna de "Merck Kieselgel 60", sílica de malha 230-400 (16 g). A eluição da coluna sob pressão com o mesmo sistema solvente proporcionou o composto em epígrafe (51 mg) na forma de uma espuma branca, $[\alpha]_D^{21} +102^\circ$ (c 0.4, CHCl₃), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245 nm (ϵ_{max} 25,300), ν_{max} (CHBr₃) 3460 (OH), 1728 (CO₂R e acetoxi) e 1258 e 1238 cm⁻¹ (OCOCH₃), δ (CDCl₃) engloba 0.70 (d, 6Hz, 3H), 0.95 (d, 6Hz, 3H), 1.06 (d, 6Hz, 3H), 1.74 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 3.23 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 4.05 (d, 5H, 1H) e 5.52 (m, 2H).

Os exemplos 13 e 14 foram preparados por um processo idêntico.

Exemplo 13

12-desmetil-Factor A 5,23-bis-acetato 12-ácido carboxílico, ester isopropílico (26 mg) na forma de uma espuma branca, (CDCl₃) engloba 0.70 (d, 6Hz, 3H), 0.95 (d, 6Hz, 3H), 1.07 (d, 6Hz, 3H), 1.21 (d, 6Hz, 6H), 1.77 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 3.18 (m, 1H), 4.06 (d, 6Hz, 1H), 4.97 (m, 1H), e 5.53 (m, 2H), a partir do produto do Exemplo 10 (37 mg).

Exemplo 14

12-desmetil-Factor A 5,23-bis-acetato 12-ácido carboxílico, ester terc-butílico (86 mg), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 246.0 nm (ϵ_{max} 26,500), ν_{max} (CHBr₃), 1720 (CO₂R) e 1254 e 1235 cm⁻¹ (acetato), δ (CDCl₃) engloba 0.71 (d, 7Hz, 3H), 0.95 (d, 6Hz, 3H), 1.06 (d, 6Hz, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.76 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 3.10 (m, 1H), 4.07 (d, 6Hz, 1H), 4.90 (q, 3Hz, 1H) e 5.53 (m, 2H), a partir do produto do Exemplo 11 (96 mg), com a exceção de se ter diluído a solução com dicloro-metano (30 ml) antes do processamento.

Exemplo 15

12-Desmetil-Factor A 23-acetato 12-ácido carboxílico, ester metílico

Arrefeceu-se para 0-5°C uma solução do produto do Exemplo 12 (30 mg) em metanol (1 ml) e tratou-se com hidróxido de sódio 1N (44 μ l). Decorridas 3 horas diluiu-se a solução com éter (50 ml) e lavou-se com ácido clorídrico 2N, com água e com uma solução salina. A secagem e a evaporação da fase orgânica proporcionaram uma espuma. A cromatografia intermitente da espuma sobre sílica (16 g), utilizando como eluente hexano/acetato de etilo (1:1) proporcionou o composto em epígrafe (18 mg) na forma de uma espuma branca, $[\alpha]_D^{21} +44^\circ$



(c 0.2, CHCl_3), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245.6 nm (ϵ_{max} 32,500), ν_{max} (CHBr_3) 3550 (OH), 3450 (OH), e 1720 cm^{-1} (CO_2R), δ (CDCl_3) engloba 0.70 (d, 6Hz, 3H), 0.96 (d, 6Hz, 3H), 1.07 (d, 6Hz, 3H), 1.88 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 3.26 (m, 2H), 3.67 (m, 3H), 3.96 (d, 6Hz, 1H), 4.29 (t, 6Hz, 1H), 4.90 (q, 3Hz, 1H).

Os exemplos 16 e 17 foram preparados por um processo idêntico.

Exemplo 16

12-desmetil-Factor A 23-acetato 12-ácido carboxílico, ester isopropílico

(15 mg), $[\alpha]_D^{21} +71^\circ$ (c 0.2, CHCl_3), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245.6 nm (ϵ_{max} 27,500), ν_{max} (CHBr_3) 1718 (CO_2R) e 1255 cm^{-1} (acetato), δ (CDCl_3) engloba 0.71 (d, 6Hz, 3H), 0.96 (d, 6Hz, 3H), 1.07 (d, 6Hz, 3H), 1.22 (d, 6Hz, 6H), 1.88 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 3.18 (m, 1H), 3.97 (d, 6Hz, 1H), 4.29 (t, 6Hz, 1H), 4.90 (q, 3Hz, 1H), 4.98 (m, 1H), a partir do produto do Exemplo 13 (24 mg).

Exemplo 17

12-desmetil-Factor A 23-acetato 12-ácido carboxílico, ester terc-butílico

(46,5 mg) na forma de uma espuma branca, $[\alpha]_D^{21} +54^\circ$ (c 0.4, CHCl_3), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 246 nm (ϵ_{max} 25,200), ν_{max} (CHBr_3) 1710 (CO_2R) e 1250 cm^{-1} (acetato), δ (CDCl_3) engloba 0.71 (d, 7Hz, 3H), 0.95 (d, 6Hz, 3H), 1.06 (d, 6Hz, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.88 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 3.10 (m, 1H), 3.96 (d, 6Hz, 1H), 4.29 (t, 6Hz, 1H), e 4.91 (q, 3Hz, 1H), a partir do produto do Exemplo 14 (76 mg).

Exemplo 18

12-desmetil-23-desoxi-factor A 5-acetato 12-ácido carboxílico, ester metílico

~~CONFIDENTIAL~~

A uma solução agitada do produto do Exemplo 9 (50 mg) em tolueno (2 ml), sob uma atmosfera de azoto, adicionou-se cloreto de oxalilo (13 µl). Decorridos 90 minutos adicionou-se a solução, durante 2 minutos, a uma mistura ao refluxo de sal de sódio de N-óxido de 2-mercaptopiridina (33,5 mg), de tritil-tiol (83 mg) e de 4-dimetil-amino-piridina (2 mg) em tolueno (3 ml). Decorridas 2 1/4 horas arrefeceu-se a solução, diluiu-se com acetato de etilo (30 ml) e lavou-se com ácido clorídrico 2N, com bicarbonato de sódio, com água e com uma solução salina. A secagem e a evaporação da fase orgânica proporcionaram uma espuma que se purificou por cromatografia intermitente sobre sílica (36 g), utilizando como eluente hexano/acetato de etilo (3:1) para proporcionar o composto em epígrafe (20 mg) na forma de uma espuma branca, $[\alpha]_D^{21} +35^\circ$ (c 0.4, CHCl₃), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245 nm (ϵ_{max} 25,700), ν_{max} (CHBr₃) 1735 cm⁻¹ (acetato e CO₂R), δ (CDCl₃) engloba 0.70 (d, 5Hz, 3H), 0.92 (d, 6Hz, 3H), 1.02 (d, 6Hz, 3H), 1.75 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 3.22 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 4.05 (d, 5Hz, 1H), 5.52 (m, 2H).

Exemplo 19

12-desmetil-23-desoxi-Factor A 12-ácido carboxílico, ester metílico

A uma solução arrefecida (0 a 5°C) do produto do Exemplo 18 (30 mg) em metanol (1 ml) adicionou-se uma solução aquosa de hidróxido de sódio 1N (48 µl). Decorridas 5 horas diluiu-se a solução com éter (40 ml) e lavou-se com ácido clorídrico 2N (20 ml), com água e com uma solução salina. A secagem e a evaporação da fase orgânica proporcionaram uma espuma que se purificou por cromatografia sobre sílica (16 g) para proporcionar o composto em epígrafe (19 mg), $[\alpha]_D^{21} +41^\circ$ (c 0.2, CHCl₃), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245.4 nm (ϵ_{max} 22,500), ν_{max} (CHBr₃) 3540 (OH), 3450 (OH), e 1720 cm⁻¹ (CO₂R), δ (CDCl₃) engloba 0.69 (d, 5Hz, 3H), 0.93 (d, 6Hz, 3H), 1.03 (d, 6Hz, 3H), 1.87 (s, 3H), 3.26 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.96 (d, 6Hz, 1H), e

4.29 (t, 6Hz, 1H).

Exemplo 20

12-desmetil-23-ceto-Factor A 5-acetato 12-ácido carboxílico, ester metílico

Pode oxidar-se uma solução do produto do Exemplo 9 com dicromato de piridínio utilizando o processo descrito no Exemplo 70 do Pedido de Patente Inglesa nº 2176182. Purificou-se o resíduo por cromatografia numa coluna de "Merck Kieselgel 60", malha 230-400, eluindo com hexano/acetato de etilo (2:1) para proporcionar o composto em epígrafe, $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245.6 nm (ϵ_{max} 25,200) ν_{max} (CHBr₃) 3450 (OH fraco), 1724 (cetona e lactona) e 1232 cm⁻¹ (acetato), δ (CDCl₃) engloba 0.86 (d, 6Hz, 3H), 0.97 (d, 6Hz, 3H), 1.07 (d, 6Hz, 3H), 1.76 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.50 (s, 2H), 3.23 (m, 1H), 4.06 (d, 6Hz, 1H), e 5.53 (m, 2H).

Exemplo 21

12-desmetil-23/E 7-metoxi-imino-Factor A 12-ácido carboxílico, ester metílico

Arrefeceu-se para cerca de 10°C uma solução do Exemplo 3 (40 mg) em éter (3 ml) e tratou-se com diazometano etéreo (1,5 ml). Decorridos 15 minutos destruiu-se o excesso de diazometano com ácido acético e evaporou-se a solução incolor resultante para proporcionar uma espuma. Purificou-se a espuma por cromatografia intermitente sobre sílica (20 g) utilizando como eluente dicloro-metano/acetona (20:1). Fez-se a combinação das fracções apropriadas e evaporou-se para proporcionar o composto em epígrafe (39 mg) na forma de uma espuma branca, $[\alpha]_D^{21} +41^\circ$ (c 0.4, CHCl₃), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 245.6 nm (ϵ_{max} 23,200), ν_{max} (CHBr₃) 3540 (OH), 3450 (OH) e 1720 cm⁻¹ (lactona), δ (CDCl₃) engloba 0.91 (d, 6Hz, 3H), 0.96 (d, 6Hz, 3H), 1.06 (d, 6Hz, 3H), 1.88 (s, 3H), 3.2-3.4 (m, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.96 (d, 6Hz, 1H), e 4.29 (t, 6Hz, 1H).

Exemplo 22

12-desmetil-23/E 7-metoxi-imino-Factor A 12-ácido carbo- xílico, n-butil-amida

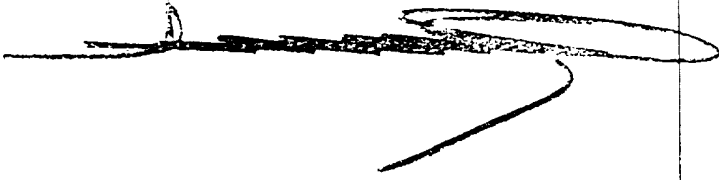
A uma solução do Exemplo 3 (84 mg) em dicloro-metano (0,3 ml) adicionou-se uma solução de 1-etoxi-carbonil-2-etoxi-1,2-di-hidroquinolina (31 mg) em dicloro-metano (0,5 ml) seguindo-se n-butil-amina (12,5 µl) em dicloro-metano (0,5 ml). Decorridas 96 horas adicionou-se dicloro-metano e lavou-se a solução com ácido clorídrico 2N (2 x 20 ml), com água (20 ml) e com uma solução salina. Evaporou-se a fase orgânica seca para proporcionar um pó que se purificou por meio de cromatografia de pressão média sobre sílica (30 g) utilizando como eluente dicloro-metano/acetato de etilo (6:1). Procedeu-se à combinação das fracções apropriadas e evaporou-se para proporcionar o composto em epígrafe (58 mg) na forma de um pó branco, $[\alpha]_D^{21} +68^\circ$ (c 0.5, CH₂Cl₂), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 248 nm (ϵ_{max} 29,000), ν_{max} (CHBr₃) 3550 (OH), 3420 (NH), 1708 (lactona) e 1658 e 1510 cm⁻¹ (CONH), δ (CDCl₃) engloba 0.92 (d, 6Hz, 3H), 0.99 (d, 6Hz, 3H), 1.08 (d, 6Hz, 3H), 0.92 (m, 3H), 1.90 (s, 3H), 3.09 (m, 1H), 3.29 (d, 14Hz, 1H), 3.20 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 4.00 (d, 6Hz, 1H), e 4.32 (t, 6Hz, 1H).

Apresentam-se a seguir exemplos de formulações de acordo com a presente invenção. O termo 'Ingrediente Activo' tal como agora utilizado significa um composto da presente invenção.

Injecção Parenteral Multidose

Exemplo 1

	<u>% w/v</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	2.0	0.1 - 6.0 % w/v
álcool benzílico	1.0	
Poli-sorbato 80	10.0	



Glicerol formal	50.0
Água para injeções	até 100.0

Dissolve-se o ingrediente activo no poli-sorbato 80 e no glicerol formal. Adiciona-se o álcool benzílico e ajusta-se o volume com água para injeções. Esteriliza-se o produto por métodos convencionais, por exemplo por filtração esterilizadora ou por aquecimento em autoclave e procede-se à embalagem de modo acético.

Exemplo 2

	<u>% w/v</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	4.0	0.1 - 7.5% w/v
Álcool benzílico	2.0	
Triacetato de glicerilo	30.0	
Propileno-glicol	até 100.0	

Dissolve-se o ingrediente activo no álcool benzílico e no triacetato de glicerilo. Adiciona-se o propileno-glicol e ajusta-se o volume. Esteriliza-se o produto por métodos farmacêuticos convencionais, por exemplo por filtração esterilizadora, e depois embala-se por um processo acético.

Exemplo 3

	<u>%</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	2.0w/v	0.1 - 7.5% w/v
Etanol	36.0 v/v	
Agente tensio-activo não iónico (por exemplo "Synperonic PE L44"*)	10.0 w/v	
Propileno-glicol	até 100,0	

Dissolve-se o ingrediente activo em etanol e no agente tensio-activo e ajusta-se o volume. Esteriliza-se o

produto por métodos farmacêuticos convencionais, por exemplo por filtração esterilizadora e depois embala-se por um processo acético.

* Marca comercial da ICI

Exemplo 4

	<u>%</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	2.0 w/v	0.1 - 3.0% w/v
Agente tensio-activo não iónico (por exemplo "Synperonic PE F68" *)	2.0 w/v	
Álcool benzílico	1.0 w/v	
"Miglyol 840" **	16.0 v/v	
Água para injeções	até 100.0	

Dissolve-se o ingrediente activo em "Miglyol 840". Dissolve-se o agente tensio-activo não iónico e o álcool benzílico na maior parte de água. Prepara-se a emulsão adicionando a solução oleosa à solução aquosa enquanto se homogeniza utilizando meios convencionais. Ajusta-se o volume. Prepara-se e embala-se por um processo acético.

* Marca comercial da ICI

** Marca comercial da Dynamit Nobel

Aspersão para Aerossol

	<u>% w/w</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	0.1	0.01 - 2.0% w/w
Tricloro-etano	29.9	
Tricloro-fluoro-metano	35.0	
Dicloro-difluoro-metano	35.0	

Mistura-se o ingrediente activo com tricloro-etano e procede-se ao enchimento do recipiente do aerossol. Limpa-se o espaço superior com propulsor gasoso e fixa-se a válvula.



vula na sua posição. Através da válvula procede-se ao enchimento do peso necessário de líquido propulsor sob pressão. Coloca-se o dispositivo de accionamento e a protecção contra o pó.

Pastilha

Processo de Preparação - Granulação a Húmido

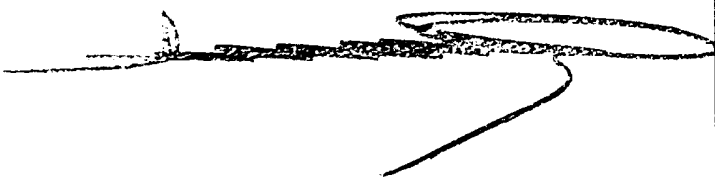
	<u>mg</u>
Ingrediente activo	250.0
Estearato de magnésio	4.5
Amido de milho	22.5
Glicolato de amido de sódio	9.0
Lauril-sulfato de sódio	4.5
Celulose microcristalina	até o núcleo da pastilha pesar 450 mg

Adiciona-se ao ingrediente activo uma quantidade suficiente de uma pasta de amida a 10% para proporcionar uma massa húmida adequada para granulação. Faz-se a preparação dos grânulos e seca-se utilizando um tabuleiro ou um secador de leito fluido. Faz-se passar através de um crivo, adicionam-se os ingredientes restantes e comprime-se em pastilhas.

Se necessário faz-se o revestimento dos núcleos das pastilhas com uma película de revestimento utilizando hidroxi-propil-metil-celulose ou outro material idêntico que proporcione uma película, utilizando um sistema solvente aquoso ou não aquoso. Pode incluir-se na solução da película de revestimento um plastificante ou um corante adequados.

Pastilha para Utilização Veterinária para Utilização em Animais Pequenos / Domésticos

Processo de Preparação - Granulação a Seco



	<u>mg</u>
Ingrediente activo	50.0
Estearato de magnésio	7.5
Celulose microcristalina até o núcleo da pastilha pesar	75.0

Mistura-se o ingrediente activo com o estearato de magnésio e com a celulose microcristalina, Compacta-se a mistura em barras. Quebram-se as barras e faz-se passar os pedaços por um granulador rotativo para proporcionar grânulos que fluam livremente. Comprime-se em pastilhas.

Depois os núcleos das pastilhas podem ser revestidos com película, se desejado, conforme anteriormente descrito.

Injecção Intramamária para Veterinária

	<u>mg/dose</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	150 mg	0.05 - 1.0 g
Poli-sorbato 60	3.0 w/w)	)
Cera branca de abelhas	6.0 w/w) até 3 g	) até 3 ou 15 g
Óleo araquídico	91.0 w/w	)

Aquece-se o óleo araquídico, a cera branca de abelha e o poli-sorbato 60 à temperatura de 160°C com agitação. Mantem-se a 160°C durante 2 horas e depois arrefece-se até à temperatura ambiente com agitação. Por um processo acético adiciona-se o ingrediente activo ao veículo e dispersa-se utilizando um misturador de alta velocidade. Refina-se fazendo passar a mistura através de um moinho de coloides. Por um processo acético enche-se com o produto seringas de plástico esterilizadas.



Pílula Grande de Liberação Lenta para Veterinária

	<u>% w/w</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo		0.25-2 g
Dióxido de silicio coloidal	2.0)	para o peso de
Celulose microcristalina	até 100.0)	enchimento exi
		gido

Mistura-se o ingrediente activo com o dióxido de silicio coloidal e com a celulose microcristalina utilizando uma técnica adequada para misturar aliquotas de modo a conseguir uma distribuição satisfatória do ingrediente activo através do veículo. Faz-se a incorporação no dispositivo de liberação lenta proporcionando (1) uma liberação constante do ingrediente activo ou (2) uma liberação intermitente do ingrediente activo.

Purgante Oral para Veterinária

	<u>% w/v</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	0.35	0.01 - 2% w/v
Poli-sorbato 85	5.0	
Álcool benzílico	3.0	
Propileno-glicol	30.0	
Tampão fosfato	como pH 6.0 - 6.5	
Água	até 100.0	

Dissolve-se o ingrediente activo no poli-sorbato 85, no álcool benzílico e no propileno-glicol. Adiciona-se uma quantidade de água e ajusta-se o pH para 6,0 - 6,5 com tampão fosfato, se necessário. Ajusta-se o volume final com água. Enche-se com o produto o recipiente do purgante.

Pasta Oral para Veterinária



	<u>% w/w</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	4.0	1 - 20% w/w
Sacarina de sódio	2.5	
Poli-sorbato 85	3.0	
Distearato de alumínio	5.0	
Óleo de coco fraccionado até	100.0	

Dispersa-se o distearato de alumínio no óleo de coco fraccionado e no poli-sorbato 85 com aquecimento. Arrefe-se até à temperatura ambiente e dispersa-se a sacarina de sódio no veículo oleoso. Dispersa-se o ingrediente activo na base. Com o produto enchem-se seringas de plástico.

Grânulos para Administração Alimentar em Veterinária

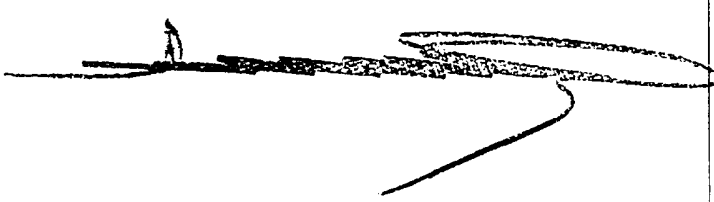
	<u>% w/w</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	2.5	0.05 - 5% w/w
Hemi-hidrato de sulfato de cálcio até	100.0	

Mistura-se o ingrediente activo com o sulfato de cálcio. Preparam-se grânulos utilizando um processo de granulação a húmido. Seca-se utilizando um tabuleiro ou um secador de leito fluido. Faz-se o enchimento de recipientes apropriados.

Aglomerados para Veterinária

	<u>% w/v</u>	<u>Gama</u>
Ingrediente activo	2.0	0.1 até 30%
Dimetil-sulfóxido	10.0	
Metil-isobutil-cetona	30.0	
Propileno-glicol (e pigmentos) até	100.0	

Dissolve-se o ingrediente activo em dimetil-sulfó



xido e em metil-isobutil-cetona. Adiciona-se o pigmento e ajusta-se o volume com propileno-glicol. Enchem-se os recipientes para aglomerados.

Concentrado Emulsionável

Ingrediente activo	50 g
Emulsionante aniónico (por exemplo sulfonato de fenilo CALX)	40 g
Emulsionante não iónico (por exemplo "Synperonic NP13")*	60 g
Solvente aromático (por exemplo "Solvesso 100")	até 1 litro

Mistura-se todos os ingredientes e agita-se até à dissolução.

* Marca comercial da ICI

Grânulos

(a) Ingrediente activo	50 g
Resina de madeira	40 g
Grânulos de gesso (malha 20-60) até 1 kg. (por exemplo "Agsorb 100A")	
(b) Ingrediente activo	50 g
"Synperonic NP13" *	40 g
Grânulos de gesso (malha 20-60) até 1 kg	

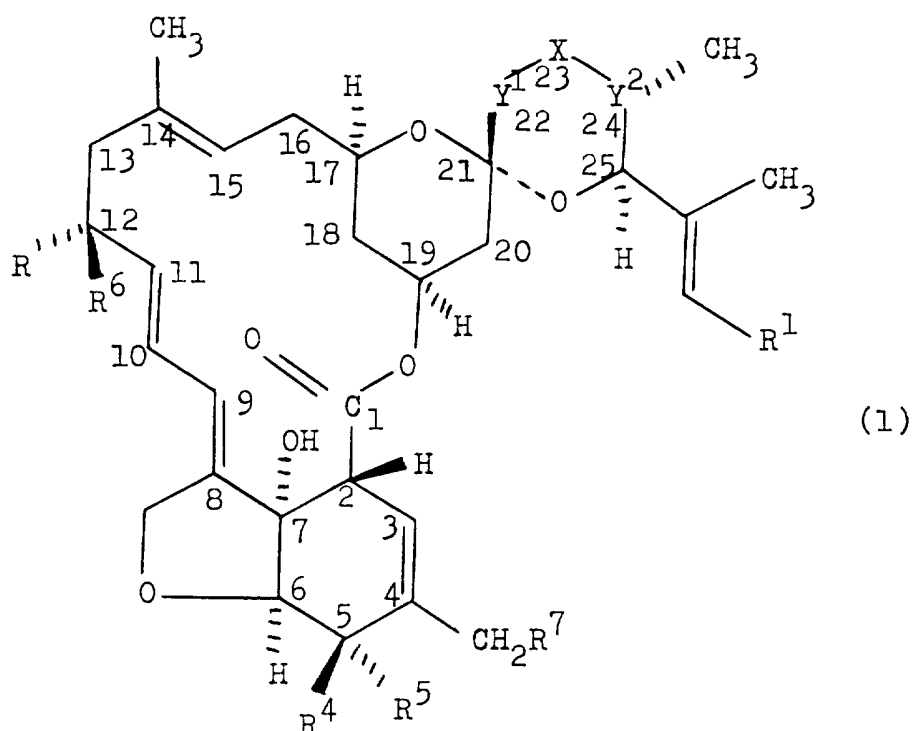
Dissolve-se os ingredientes num solvente volátil, por exemplo cloreto de metileno, e adiciona-se aos grânulos que caem no misturador. Seca-se para remoção do solvente.

* Marca comercial da ICI.

REIVINDICAÇÕES

- 1ª -

Processo para a preparação de compostos de fórmula 1



e seus sais, em que

R^1 representa um grupo metilo, etilo ou isopropilo;

Y^1 é $-CH_2-$, Y^2 é $-CH-$ e X representa $\begin{array}{c} R^2 \\ \diagup \\ -C- \\ \diagdown \\ R^3 \end{array}$ no qual R^2 representa um átomo de hidrogénio ou um grupo OR^8 (em que OR^8 é um grupo hidroxilo ou um grupo hidroxilo substituído possuindo até 25 átomos de carbono) e R^3 representa um átomo de hidrogénio, ou R^2 e R^3 em conjunto com o átomo de carbono o qual estão ligados representam $>C=O$, $>C=CH_2$ ou $>C=NOR^9$ (no qual R^9 representa um átomo de hidrogénio, um grupo alquilo (C_1-C_8) ou um grupo alquenilo (C_3-C_8)) e o grupo $>C=NOR^9$ está na con-

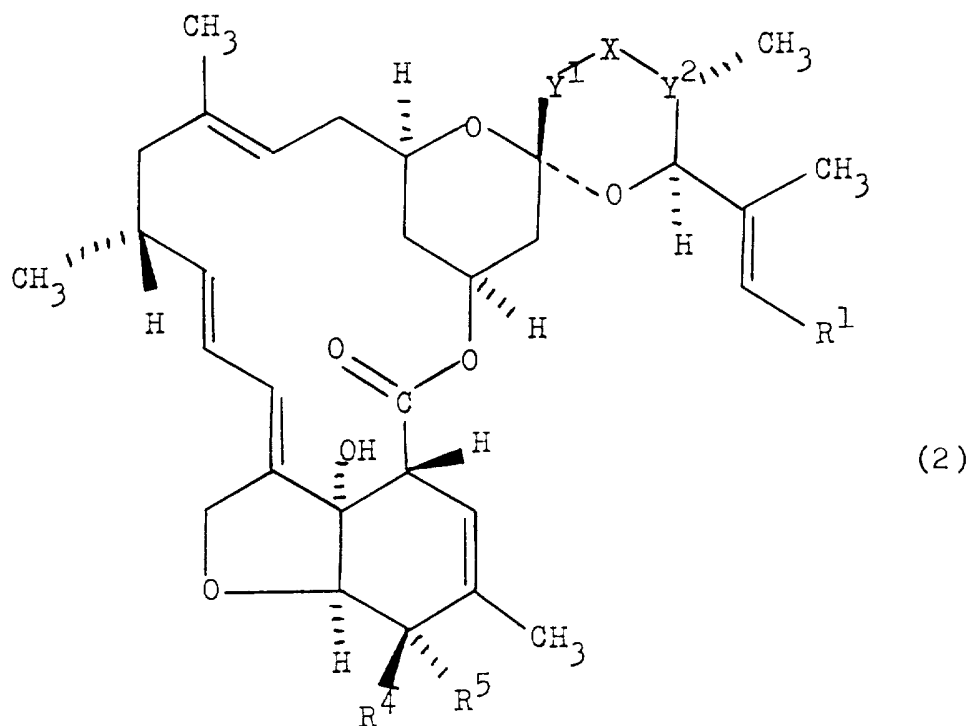
figuração E₇ ou -Y¹-X-Y²- representa -CH=CH-CH- ou -CH₂-CH=
=C-;

R⁴ representa um grupo OR⁸ como definido anteriormente e R⁵
representa um átomo de hidrogénio, ou R⁴ e R⁵ em conjunto com
o átomo de carbono ao qual estão ligados, representam >C=O
ou >C=NOR^{9a} (em que R^{9a} é como definido anteriormente para
R⁹);

R⁶ representa um átomo de hidrogénio e R representa -CH₂OH,
-CHO, -CO₂H ou um ester de um ácido carboxílico ou um grupo
amida; ou R⁶ representa um grupo hidroxilo e R representa um
grupo metilo; e

R⁷ representa um átomo de hidrogénio ou quando R representa
um grupo -CH₂OH então R⁷ pode também representar um grupo hi-
droxilo, caracterizado por

A) na preparação de um composto de fórmula (1) (no qual R⁶ é
um átomo de hidrogénio e R é -CH₂OH, -CHO ou -COOH, ou R⁶ é
-OH e R é -CH₃), se incubar um composto de fórmula (2)



num meio adequado na presença de um microorganismo ou um seu



derivado enzimático ou uma preparação derivada de um micro organismo contendo a enzima de interesse susceptível de efectuar a conversão;

- B) na preparação de um composto no qual R é um grupo ester de ácido carboxílico, se esterificar o ácido carboxílico correspondente (no qual R é $-\text{COOH}$);
- C) na preparação de um composto no qual R é um grupo amida de ácido carboxílico, se tratar o ácido carboxílico correspondente ou um seu sal ou derivado reactivo com uma amina;
- D) na preparação de um composto no qual OR^8 é um grupo hidroxilo substituído, se fazer reagir o composto 5- e/ou 23-hidroxi correspondente com um reagente que proporciona um grupo hidroxilo substituído;
- E) na preparação de um composto no qual X é um grupo carbonilo ou R^4 e R^5 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados representam um grupo carbonilo, se oxidar um composto correspondente no qual R^2 e/ou R^4 são $-\text{OH}$;
- F) na preparação de um composto que contém o grupo $>\text{C}=\text{NOR}^9$ ou $>\text{C}=\text{NOR}^{9a}$, se fazer reagir um composto 5- e/ou 23-oxo correspondente com H_2NOR^9 ou $\text{H}_2\text{NOR}^{9a}$; ou
- G) na preparação de um composto no qual X é $-\text{CH}_2-$ se tratar um composto correspondente no qual R^2 é um grupo hidroxilo e R^3 é um átomo de hidrogénio, sequencialmente com i) cloreto de oxalilo e ii) 2-mercapto-piridina-N-óxido, uma quantidade catalítica de uma base orgânica e um tiol.

- 2ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R^1 ser um grupo isopropilo.

- 3ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracte



rizado por R ser -COOR^{16} em que R^{16} é um grupo alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$) ou -CONHR^{18} em que R^{18} é um grupo alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$).

- 4ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por Y^1 ser $\text{-CH}_2\text{-}$, Y^2 ser -CH- e X ser $\text{-C(R}^2\text{)(R}^3\text{)-}$ na qual R^2 é um átomo de hidrogénio ou um grupo hidroxí, etoxi ou acetoxi e R^3 é um átomo de hidrogénio, ou R^2 e R^3 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estavam ligados representam >C=O , >C=CH_2 ou >C=NOCH_3 ; e R^4 ser um grupo hidroxí, metoxi ou acetiloxi ou R^4 e R^5 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estavam ligados representarem >C=NOCH_3 .

- 5ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R ser -COOH .

- 6ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R ser $\text{-CO}_2\text{CH}_3$, R^1 ser um grupo isopropilo, Y^1 ser $\text{-CH}_2\text{-}$, Y^2 ser -CH- , X ser >C=NOCH_3 , R^4 ser um grupo hidroxilo, e R^5 ser um átomo de hidrogénio; ou R ser $\text{-CONH(CH}_2\text{)}_3\text{CH}_3$, R^4 ser um grupo isopropilo, Y^1 ser $\text{-CH}_2\text{-}$, Y^2 ser -CH- , X ser >C=NOCH_3 , R^4 ser um grupo hidroxilo e R^5 ser um átomo de hidrogénio; ou R ser $\text{-CO}_2\text{H}$, R^1 ser um grupo isopropilo, Y^1 ser $\text{-CH}_2\text{-}$, Y^2 ser -CH- , X ser >C=NOCH_3 , R^4 ser um grupo hidroxí e R^5 ser um átomo de hidrogénio.

- 7ª -

Processo para a preparação de uma composição farmacêutica, caracterizado por se incorporar como ingrediente activo uma quantidade eficaz de pelo menos um composto quando

preparado de acordo com a reivindicação 1, em associação com um veículo farmacêuticamente aceitável.

- 8ª -

Processo para a preparação de uma composição veterinária, caracterizado por se incorporar como ingrediente activo pelo menos um composto de fórmula 1, quando preparado de acordo com a reivindicação 1, em associação com um veículo aceitável sob o ponto de vista veterinário.

- 9ª -

Processo para a preparação de uma composição pesticida, caracterizado por se incorporar como ingrediente activo pelo menos um composto de fórmula 1, quando preparado de acordo com a reivindicação 1, em associação com um veículo aceitável sob o ponto de vista pesticida.

A requerente reivindica as prioridades dos pedidos britânicos apresentados em 10 de Maio de 1988, sob os nºs 8811034.1 e 8811035.8, respectivamente.

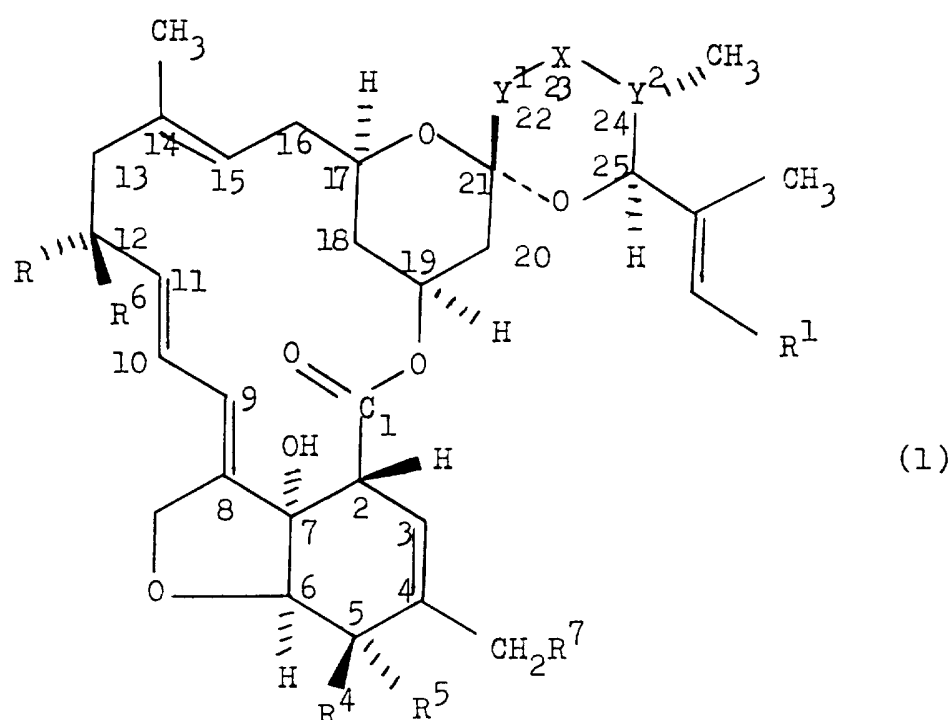
Lisboa, 9 de Maio de 1989
O AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

A handwritten signature in black ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke.

RESUMO

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSTOS MACRÓLIDOS"

A invenção refere-se a um processo para a preparação de compostos de fórmula 1)



e dos seus sais, que compreende

- A) para a preparação de um composto de fórmula (1) no qual R^6 é um átomo de hidrogénio e R é $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CHO}$ ou $-\text{COOH}$, ou R^6 é $-\text{OH}$ e R é $-\text{CH}_3$, incubar-se um composto de fórmula (2)



B) para a preparação de um composto no qual R é um grupo ester de ácido carboxílico, se esterificar o ácido carboxílico correspondente (no qual R é -COOH);

C) para a preparação de um composto no qual R é um grupo amida de ácido carboxílico, tratar-se o ácido carboxílico correspondente ou um seu sal ou derivado reactivo com uma amina;

D) para a preparação de um composto no qual OR^8 é um grupo hidroxilo substituído, se fazer reagir o composto 5- e/ou 23-hidroxi correspondente com um reagente que proporciona um grupo hidroxilo substituído;

E) para a preparação de um composto no qual X é um grupo carbonilo ou R^4 e R^5 em conjunto com o átomo de carbono ao

qual estão ligados representam um grupo carbonilo, se oxidar um composto correspondente no qual R^2 e/ou R^4 é $-OH$.

- F) para a preparação de um composto que contem o grupo $>C=NOR^9$ ou $>C=NOR^{9a}$, se fazer reagir um composto 5- e/ou 23-oxo correspondente com H_2NOR^9 ou H_2NOR^{9a} ; ou
- G) para a preparação de um composto no qual X é $-CH_2-$ tratar-se um composto correspondente no qual R^2 é um grupo hidro_xilo e R^3 é um átomo de hidrogênio, sequencialmente com i) cloreto de oxalilo e ii) 2-mercaptopiridina-N-óxido, uma quantidade catalítica de uma base orgânica e um tiol.