

(11) *Número de Publicação:* **PT 90706 B**

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 5)
C07H015/252 A

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

<p>(22) <i>Data de depósito:</i> 1989.06.01</p> <p>(30) <i>Prioridade:</i> 1988.06.01 DE 3819092</p> <p>(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1989.12.29</p> <p>(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 06/93 1993.06.22</p>	<p>(73) <i>Titular(es):</i> BEHRINGWERKE AKTIENGESELLSCHAFT EMIL-VON-BEHRING-STRASSE 76 D-35001, MARBURG/LAHN DE</p> <p>(72) <i>Inventor(es):</i> CENEK KOLAR DE DIETER HOFFMANN DE HANS PETER KRAEMER DE MANFRED GERKEN DE PETER HERMENTIN DE</p> <p>(74) <i>Mandatário(s):</i> JOÃO DE ARANTES E OLIVEIRA RUA DO PATROCÍNIO 94 1350 LISBOA PT</p>
---	---

(54) *Epígrafe:* PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DE ANTRACICLINAS DOTADOS DE ACTIVIDADE CITOSTÁTICA

(57) *Resumo:*

[Fig.]

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 90 706

REQUERENTE: BEHRINGWERKE AKTIENGESELLSCHAFT, alemã, industrial e comercial, com sede em D-3550 Marburg, República Federal Alemã.

EPÍGRAFE: " PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DE ANTRACICLINAS DOTADOS DE ACTIVIDADE CITOSTÁTICA "

INVENTORES: Dr. Peter Hermentin, Ernst Raab, Dr. Cenek Kolar, Dr. Manfred Gerken, Dr. Dieter Hofmann, Dr. Hans Peter Kraemer Dr. Ulrich Stache.

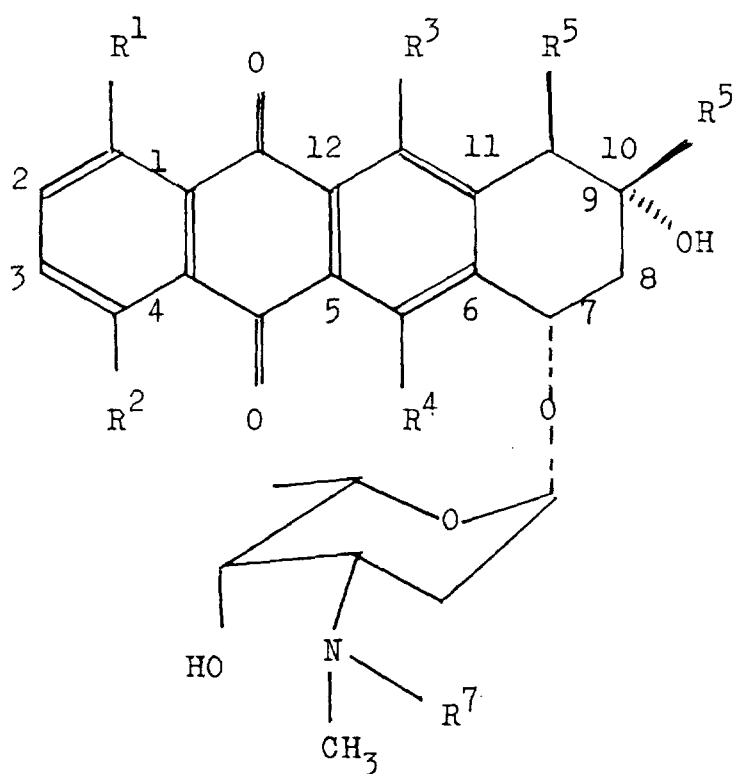
Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883.

República Federal Alemã, em 04 de Junho de 1988, sob o n.º. P 38 19 092.3.

Descrição da patente de invenção de BEHRINGWERKE AKTIENGESELLSCHAFT, alemã, industrial e comercial, com sede em D-3550 Marburg, República Federal Alemã, (inventores: Dr. Peter Hermentin, Ernest Raab, Dr. Cenek Kolar, Dr. Manfred Gerken, Dr. Dieter Hoffmann, Dr. Hans Peter Kraemer, Dr. Ulrich Stache, residentes na Alemanha Ocidental) para "PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DE ANTRACICLINAS DOTADAS DE ACTIVIDADE CITO-STATICA"

Descrição

A presente invenção refere-se a um processo para a preparação de novos derivados de antraciclinas dotadas de actividade citostática da fórmula geral I e de composições farmacêuticas que contém estes derivados.



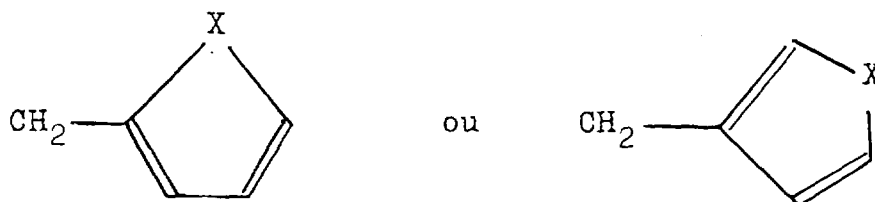
I

Na fórmula I os símbolos possuem os seguintes significados:

- R^1 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo,
- R^2 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo ou metoxi,
- R^3 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo,
- R^4 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo,
- R^5 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo ou metoxicarbonilo,
- R^6 significa CH_2CH_3 , $COCH_3$, $COCH_2OH$, $CHOHCH_3$ ou $CHOH-CH_2OH$ e
- R^7 significa um substituinte orgânico com 2 a 6 átomos de carbono, o qual contém pelo menos um átomo de oxigénio ou de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação C-C ou uma tripla ligação C-C, podendo a dupla ligação ser parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigénio, de azoto ou de enxofre

parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclico, estando, no entanto, excluídos os compostos em que R^7 é um grupo cianometilo ou um substituinte da fórmula geral COR^* , com $R^* = CH_3, CF_3$ ou CCl_3 .

R^7 é de preferência



com $X=O, N$ ou S , podendo o heterocíclico eventualmente ser substituído por $-CH_3, -NO_2, -CH_2OH, -Cl$ ou $-Br$, não contendo de preferência, no entanto, qualquer substituinte.


R^7 é de preferência um resíduo 2-picolilo, (2-metileno-piridilo), 3-picolilo ou 4-picolilo substituído ou não substituído, de modo especialmente preferido sendo um resíduo 2-picolilo ou 4-picolilo, ou

R^7 é de preferência um resíduo alilo, crotilo ou propargilo, de modo especialmente preferido sendo um resíduo alilo, ou

R^7 é de preferência um hidroxialquilo com 2 a 4 átomos de carbono, de modo especialmente preferido sendo hidroxietilo, ou

R^7 é de preferência glicidilo ou

R^7 é de preferência $-CH_2COOR^8$ com $R^8 =$ hidrogénio, alquilo- C_1-C_4 linear ou ramificado, substituído ou não substituído, de modo especialmente preferido com $R^9 =$ hidrogénio, metilo ou etilo, ou



R⁷ é de preferência -CH₂CONR⁹₂ com R⁹ = hidrogénio, alquilo-C₁-C₄, de modo especialmente preferido com R⁹ = hidrogénio, metilo ou etilo.

Os compostos da fórmula I podem eventualmente também apresentar-se sob a forma dos seus sais de adição de ácido com ácidos fisiologicamente aceitáveis inorgânicos ou orgânicos.

É conhecido que um número considerável de antraciclina apresentam propriedades citostáticas e que algumas antraciclina, como por exemplo adriamicina, daunomicina, aclacinomicina, 4'-epi-adriamicina, 4'-metoxiadriamicina ou 4'-desoxiadriamicina são utilizadas para a terapia de tumores.

NA utilização para a terapia de tumores destas antraciclina conhecidas subsiste um problema importante: estes compostos apresentam juntamente com a actividade citostática pretendida efeitos secundários indesejáveis, como por exemplo uma toxicidade hematológica ou cardíaca.

Tendo em consideração o estado da técnica descrito, consistiu um objectivo da presente invenção a preparação de novos derivados de antraciclina que possivelmente não apresentam resistência cruzada com a adriamicina e possuam um novo espectro de actividade e uma toxicidade mais baixa em comparação com a adriamicina e deste modo sejam utilizáveis vantajosamente na terapia de tumores.

Com este objectivo já foi descrita a monodesmetilação por via fotolítica de rodosaminil-antraciclina e a modificação ou substituição selectiva na função metilamina das 3'-N-metil-daunosaminil-antraciclina assim preparadas, obtendo-se deste modo numerosas novas

antraciclina com actividade citostática,

Por exemplo já foi descrita a derivatização deste modo de 3'-N-metil-daunosaminil-antraciclina de modo a obter compostos em que R^7 na fórmula I significa cianometilo, COR^* ou CH_2R^{10} , sendo $R^* = H, CH_3, CF_3$ ou CCl_3 e R^{10} alquilo C_1 a C_8 , alquilo substituído, fenilo ou fenilo substituído, podendo o grupo fenilo conter como substituintes no anel fenílico na posição orto, meta ou para grupos metilo, etilo, hidroxilo, metoxi, etoxi, nitro ou ciano ou átomos de fluor, cloro ou bromo.

Prepararam-se agora pela primeira vez os novos derivados de antraciclina da fórmula I, os quais não apresentam resistência cruzada em relação às antraciclina de acordo com o estado da técnica e apresentam vantagens em virtude da respectiva solubilidade na água e/ou reactividade e/ou toxicidade. Estes compostos são caracterizados pela fórmula I.

Na realidade é possível, por exemplo melhorar a solubilidade em água, que é importante para a sua aplicabilidade, dos derivados de benzilo ($R^7 =$ benzilo ou benzilo substituído) já conhecidos quando o núcleo de fenilo do grupo benzilo contém um átomo de azoto sendo deste modo substituído por um resíduo piridilo.

Surpreendentemente não só a solubilidade em água mas também a actividade citostática de um composto da fórmula I são influenciadas favoravelmente em comparação com o composto 3'-N-benzilo quando R^7 é furfurilo ou tenilo.

Foi uma completa surpresa ter-se verificado que quando R^7 é glicidilo, a citotoxicidade de um composto da fórmula I é drasticamente aumentada de modo que este substituinte apresenta uma vantagem considerável.

Quando R⁷ é hidroxietilo em vez de etilo ou de propilo, melhora a solubilidade na água do derivado.

Quando R⁷ é alilo observa-se uma actividade citostática especialmente boa do derivado de antraciclina.

O processo da presente invenção para a preparação dos novos derivados de antraciclínicos dotados de actividade citostática caracteriza-se por fazer-se reagir um composto da fórmula I na qual R¹ = H ou OH, R² = H, OH ou OCH₃, R³ = H ou OH, R⁴ = H ou OH, R⁵ = H, OH ou COOCH₃, R⁶ = CH₂CH₃, COCH₃, COCH₂OH, CHOHCH₃ ou CHOHCH₂OH e R⁷ = H, o que pode ser levado a efeito de um modo conhecido em si (Tong et al., J. Med. Chem. (1979, 22, 912) na presença de cianoboro-hidreto de sódio, com um aldeído, o qual contém pelo menos um átomo de oxigénio, de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação C-C ou uma tripla ligação C-C, podendo a dupla ligação ser também parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigénio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou de heterocíclico,


ou fazer-se reagir o referido composto de um modo conhecido em si com um composto organo-halogenado, o qual contém pelo menos um átomo de oxigénio, de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação C-C ou uma tripla ligação C-C, podendo a dupla ligação ser também parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigénio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclico, excluindo-se no entanto qualquer halogeno-acetonitrilo, de modo a obter-se um composto da fórmula I no qual R¹ a R⁶ possuem os significados anteriormente definidos e R⁷ é um substituinte orgânico, o qual contém pelo menos um átomo de oxigénio, de azoto, o qual contém pelo menos um átomo de oxigénio, de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação C-C

ou uma tripla ligação C-C, podendo a dupla ligação também ser parte de um sistema heteroatômico e o átomo de oxigênio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclico.

A preparação dos compostos de partida é levada a efeito por monodesmetilação fotolítica de rodosaminil-antraciclínonas de um modo conhecido em si (Hermentin et al., 4th European Carbohydrate Symposium, Darmstadt, RFA, 12-17 de Julho de 1987, Abstracts of Papers, A-144; Hermentin et al., EP 0 270 992 Ah). A transformação nos compostos da fórmula I de acordo com a presente invenção é levada a efeito por exemplo por reacção de cada um dos compostos de partida da fórmula I com $R^7=H$ com aldeídos ou halogenetos que dependem da definição do R^7 pretendido. As condições processuais são conhecidas para as reacções com os aldeídos (Tong et al., J. Med. Chem. (1979, 22, 912). A reacção com halogenetos é levada a efeito de preferência em condições anidras, de preferência em dimetilformamida ou em acetonitrilo e uma temperatura entre 20 e 80°C na presença de uma base, de preferência de trietilamina ou de carbonato de potássio.

Os novos derivados de antraciclílinas obteníveis por meio do processo da presente invenção apresentam actividade cántostática e podem portanto ser utilizados como substâncias activas em conjunto com os adjuvantes e/ou aditivos farmacêuticos habituais para a preparação de composições farmacêuticas úteis para a utilização na terapia do cancro. A dosagem e o modo de administração são semelhantes nesta utilização aos das substâncias conhecidas adriamicina, daunomicina, aclacinomicina, 4'-epi-adriamicina, 4'-metoxiadriamicina ou 4'-desoxiadriamicina.

As composições farmacêuticas preparadas do modo indicado podem conter adicionalmente outras substâncias activas sempre que estas em conjunto com os compostos



da presente invenção não apresentem efeitos secundários indesejáveis.

A actividade citostática dos compostos da presente invenção foi determinada com o auxílio de células de leucemia L1210 do rato. Para este fim procedeu-se à formação de colónias de células de leucemia L1210 em placas de agar. Estes métodos são úteis para a detecção da influência das substâncias a analisar sobre o comportamento do crescimento das células durante 1 hora ou durante várias gerações. Com um período de ciclo celular de 10 a 12 horas observam-se deste modo no período de ensaio de 7 dias cerca de 14 gerações consecutivas. As substâncias da presente invenção dotadas de actividade citostática provocam neste ensaio uma redução no número de colónias observadas em comparação com uma cultura padrão não tratada.

Na descrição que se segue das formas de concretização do processo para a avaliação da formação de colónias apresentam-se pormenores dos procedimentos de ensaio referidos.

A fim de esclarecer melhor o processo de preparação de acordo com a presente invenção apresentam-se seguidamente os Exemplos 1 a 13, nos quais os compostos da presente invenção são preparados de acordo com o processo reivindicado.

Caracterização dos compostos da fórmula I

O decurso das reacções foi seguido por cromatografia em camada fina ou por HPLC, técnicas que também foram utilizadas para caracterização dos compostos resultantes. A cromatografia em camada fina foi levada a efeito, sempre que nada em contrário seja indicado, em placas prontas de gel de sílica (Merck). A cromatografia

em coluna foi levada a efeito através de gel de sílica 60 (Merck) com uma dimensão de partícula de 0,040 a 0,063 mm. Os rendimentos não foram otimizados.

Para a cromatografia em camada fina ou em coluna utilizaram-se as seguintes misturas de solventes (todos os dados em percentagem em volume):

Composição da Mistura de solventes	A	B	C
Clorofórmio (%)	70	89	77
Metanol (%)	18	7,4	14
Ácido acético (%)	8,5	3	7
Água (%)	3,5	0,6	2

Os valores de R_F dos compostos preparados são apresentados no Quadro 4.

As estruturas dos compostos preparados foram determinados por meio de espectroscopia de $^1\text{H-NMR}$ e de MS. Os dados de $^1\text{H-NMR}$ são apresentados no Quadro 5.

Exemplos:

Preparação dos compostos de partida

- 7-O-(3'-N-Metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona-A (composto da fórmula I com $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{OH}$, $R^3 = R^4 = R^5 = \text{OH}$, $R^6 = \text{CH}_2\text{CH}_3$ e $R^7 = \text{H}$),
- 7-O-(3'-N-Metil-alfa-L-daunosaminil)- β -iso-rodomicinona B (composto da fórmula I com $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = \text{OH}$, $R^6 = \text{CH}_2\text{CH}_3$ e $R^7 = \text{H}$),

- ~~SECRET~~
- 7-O-(3'-N-Metil-alfa-L-daunosaminil)-epsilon-iso-rodomicinona C
(composto da fórmula I com $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = OH$, $R^5 = COOCH_3$, $R^6 = CH_2CH_3$ e $R^7 = H$),
 - 7-O-(3'-N-Metil-alfa-L-daunosaminil)-daunomicinona D
(composto da fórmula I com $R^1 = H$, $R^2 = OCH_3$, $R^3 = R^4 = OH$, $R^5 = H$, $R^6 = COCH_3$ e $R^7 = H$),
 - 7-O-(3'-N-Metil-alfa-L-daunosaminil)-adriamicinona E
(composto da fórmula I com $R^1 = H$, $R^2 = OCH_3$, $R^3 = R^4 = OH$, $R^5 = H$, $R^6 = COCH_2OH$ e $R^7 = H$) e
 - 7-O-(3'-N-Metil-alfa-L-daunosaminil)-daunomicinona-13-ol E
(composto da fórmula I com $R^1 = H$, $R^2 = OCH_3$, $R^3 = R^4 = OH$, $R^5 = H$, $R^6 = CHOCH_3$ e $R^7 = H$),
 - 7-O-(3'-N-Metil-alfa-L-daunosaminil)-4-O-metil-beta-rodomicinona G
(composto da fórmula I com $R^1 = H$, $R^2 = OCH_3$, $R^3 = R^4 = OH$, $R^5 = OH$, $R^6 = CH_2CH_3$ e $R^7 = H$)

é levada a efeito de um modo conhecido em si (Hermentin et al., 4th European Carbohydrate Symposium, Darmstadt, RFA, 12-17 de Julho de 1987, Abstracts of Papers, A-144; Hermentin et al., EP 0 270 992 A2) por desmetilação fotolítica das correspondentes 7-O-rodosaminil-antraciclino-
nas:

- A foi preparado a partir de beta-rodomicina I (7-O-alfa-L-rodosaminil-beta-rodomicinona);
- B foi preparado a partir de beta-iso-rodomicina I (7-O-alfa-L-rodosaminil-beta-iso-rodomicinona);
- C foi preparado a partir de 7-O-alfa-L-rodosaminil-epsilon-iso-rodomicinona;

- D foi preparado a partir de N,N-dimetil-daunomicina
(7-O-alfa-L-rodosaminil-daunomicinona);
- E foi preparado a partir de N,N-dimetil-adriamicina
(7-O-alfa-L-rodosaminil-adriamicinona);
- E foi preparado a partir de N,N-dimetil-daunomicina-13-Ol
(7-O-alfa-L-rodosaminil-daunomicinona-13-ol):
- G foi preparado a partir de 4-O-metil- β -rodomicina I
(4-O-metil-7-alfa-L-rodosaminil- β -rodomicinona),

Exemplo 1:

7-O-(3'-N-Alil-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (Composto 1)

A uma solução de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (300 mg = 0,567 mmol) e trietilamina (240 μ l = 174 mg = 1,72 mmol = 3,0 equiv.) em 30 ml de dimetilformamida seca adicionaram-se 75 μ l (105 mg = 0,867 mmol = 1,53 equiv) de brometo de alilo e agitou-se à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após 16 h adicionou-se mais trietilamina (80 μ g = 58 mg = 0,574 mmol = 1,0 equiv.) e brometo de alilo (25 μ l = 35 mg = 0,289 mmol = 0,51 equiv.) e agitou-se ainda durante 16 h. Em seguida concentrou-se à secura num evaporador rotativo sob alto vácuo e submeteu-se a mistura reaccional a duas cromatografias consecutivas em coluna através de gel de sílica (30 g e 20 g respectivamente) com a mistura eluente C (R_F 0,49). Trataram-se as fracções purificadas com água para separação de fases, ajustou-se a pH 8 por adição de solução aquosa saturada de hidrogenocarbonato de sódio. Em seguida separaram-se as fases numa ampola de decantação, extraíu-se a fase aquosa várias vezes com cloro-

fórmio e concentraram-se à secura num evaporador rotati-
vo as fases orgânicas reunidas.

Rendimento: 153 mg (0,27 mmol) = 47 %

Exemplo 2:

7-O-(3'-N-Metil-3'-N-propargil-alfa-L-daunosaminil)- β -
-rodomicinona (Composto 2)

Trataram-se durante 30 min 53 mg
(0.10 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -
-rodomicinona e 106 μ l de brometo de propargilo a 80 %
em tolueno (113 mg = 0,95 mmol) = 9,5 equiv.) na presença
de 40 μ l (29 mg = 0,287 mmol = 2.87 equiv.) de trietila-
mina de modo análogo ao do Exemplo 1 e purificou-se atra-
vés de 10 g de gel de sílica na mistura eluente B (R_F =
0,29) procedendo-se a um tratamento posterior como anterior-
mente.

Rendimento: 31 mg (0,055 mmol) = 55 %

MS-FAB ($M+H^+$) m/e = 568

Exemplo 3:

7-O-(3'-N-Hidroxietyl-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -
-rodomicinona (Composto 3)

Trataram-se durante 4 dias 30 mg
(0,057 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -
-rodomicinona e 50 μ l de bromoetanol (88 mg = 0,71 mmol =
= 12,4 equiv.) na presença de 24 μ l (17 mg = 0,17 mmol =
= 3,0 equiv.) de trietilamina de modo análogo ao do Exemplo
1 e procedeu-se a um tratamento posterior como anteriormen-
te. Para purificação em coluna condicionaram-se 15 g de
gel de sílica com uma mistura de clorofórmio/metanol
(20/1). Em seguida fez-se passar a mistura líquida contendo
o produto através da coluna e eliminou-se o excesso de bromo-

etanol e de dimetilformamida por lavagem com clorofórmio/
/metanol (20/1) (cerca de 150 ml). Em seguida procedeu-se
à eluição do produto da reacção adsorvido no ponto de
carga da coluna com a mistura eluente A (R_F 0,58) proce-
dendo-se a um tratamento posterior análogo ao do Exemplo 1.
Rendimento: 14 mg (0,024 mmol) = 42 %

Exemplo 4:

7-O-(3'-Metil-3'-N-(4-picolil)-alfa-L-daunosaminil)-
-rodomicinona (Composto 4)

Tratou-se uma solução de 100 mg
(0,189 mmol) de 7-O-(3'-N-Metil-alfa-L-daunosaminil)- β -
-rodomicinona em 10 ml de acetonitrilo/água (4/1) com
50 μ l (53 mg = 0,88 mmol = 4,7 equiv.) de ácido acético
e 800 mg (713 μ l = 7,47 mmol = 39,5 equiv.) de piridina-
-4-aldeído e agitou-se durante 2 h à temperatura ambiente ao
abrigo da luz. Em seguida adicionou-se cianoboro-hidreto
de sódio (240 mg = 3,82 mmol = 20 equiv.) e agitou-se a
mistura reaccional durante outras 2 h. Em seguida verteu-
-se a mistura reaccional sobre uma solução aquosa de
hidrogenocarbonato de sódio e extraíu-se com clorofórmio.
Extraíram-se novamente as fases clorofórmicas reunidas com
água a pH 13 (adição de soda cáustica), obtendo-se nesta
operação o composto de piridilo em excesso na fase cloro-
fórmica e a antraciclina (sob a forma de sal sódico; cor
azul) na água. Depois de se ajustar o pH da fase aquosa a 8
extraíu-se a antraciclina com clorofórmio e purificou-se
através de 12 g de gel de sílica usando a mistura eluente
B (R_F 0,23) e procedeu-se a um tratamento posterior análo-
go ao do Exemplo 1.

Rendimento: 42 mg (0,068 mmol) = 36%

Exemplo 5:

7-O-(3'-N-Metil-3'-N-(2-picolil)-alfa-L-daunosaminil)- β -
-rodomicinona (Composto 5)

~~CONFIDENTIAL~~

Trataram-se 20 mg (0,038 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona e 160 mg de piridina-2-aldeído de modo análogo ao do Exemplo 4; a purificação por cromatografia em coluna foi efectuada com a mistura eluente C (R_F 0,79).

Rendimento; 14 mg (0,023 mmol) = 60 %

Exemplo 6:

7-O-(3'-N-(2-Furfuril)-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (Composto 6)

Trataram-se 200 mg (0,38 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona e 1,5 ml (1734 mg = 18,0 mmol = 47 equiv.) de furfural de modo análogo ao do Exemplo 4, agitando-se ainda durante 40 h após a adição do cianoboro-hidreto de sódio. Em seguida verteu-se a solução sobre água, ajustou-se o pH a 8 com hidrogenocarbonato de sódio, extraíu-se com clorofórmio e eliminou-se o solvente por evaporação num evaporador rotativo. Secou-se a mistura obtida contendo o produto sob alto vácuo para eliminar o excesso de furfural e em seguida purificou-se através de gel de 20 g de sílica com a mistura eluente C (R_F 0,57) e recromatografou-se na mistura eluente B (R_F 0,22).

Rendimento; 129 mg (0,21 mmol) = 55%

Exemplo 7

7-O-(3'-N-Acetamido-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (Composto 7)

Trataram-se durante 16 h 30 mg (0,057 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona e 30 mg (0,162 mmol = 2,84 equiv.) de iodoacetamida na presença de 24 μ l (17,4 mg = 0,17 mmol = 3,0 equiv.)

~~CONFIDENTIAL~~

de trietilamina de modo análogo ao do Exemplo 1, utilizando-se no entanto para solvente acetonitrilo. A mistura reaccional foi feita passar através de 6 g de gel de sílica utilizando-se a mistura eluente C (R_F 0,31) e procedeu-se a um tratamento posterior análogo ao do Exemplo 1.

Rendimento: 19 mg (0,032 mmol) = 56 %

Exemplo 8

7-O-(3'-N-Glicidil-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -
-rodomicinona (Compostos 8m, 8a e 8b)

Agitou-se durante 30 h a 60°C ao abrigo da luz uma mistura de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (200 mg = 0,378 mmol, epibromidrina (400 μ l = 640 mg \approx 4,675 mmol = 12,4 equiv.) e carbonato de potássio (400 mg) em acetonitrilo seco (25 ml). Em seguida concentrou-se à secura num evaporador rotativo retirou-se o resíduo em clorofórmio/etanol (20/1), filtrou-se, fez-se passar através de 20 g de gel de sílica em clorofórmio/etanol (20/1). Deste modo isolou-se, segundo o espectro de $^1\text{H-NMR}$, uma mistura de 1:1 de isómeros (composto 8m) num rendimento de 102 mg (0,17 mmol = 45 %).

Uma nova cromatografia em clorofórmio/etanol (20/1) permitiu a separação parcial da mistura de isómeros 8m nos isómeros puros 8a (R_F 0,35) e 8b (R_F 0,32).
MS-FAB (M+H+) m/e = 586

Exemplo 9:

7-O-(3'-N-Alil-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -iso-ro-
domicinona (Composto 9)

Trataram-se 300 mg (0,55 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -iso-rodomicinona

~~.....~~

e 100 μ l (140 μ g = 1,16 mmol = 21 equiv.) de brometo de alilo na presença de 330 μ l (240 mg = 2,4 mmol = 44 equiv.) de trietilamina de modo análogo ao do Exemplo 1. Após 16 h adicionou-se mais 165 μ l (2,2 equiv.) de trietilamina e 50 μ l (1 equiv.) de brometo de alilo e agitou-se durante mais 6 h à temperatura ambiente ao abrigo da luz. Em seguida concentrou-se à secura sob alto vácuo e fez-se passar a mistura reaccional através de 52 g de gel de sílica no eluente C (R_F 0,52). As fracções reunidas foram tratadas de modo análogo ao do Exemplo 1.

Rendimento: 154 mg (0,26 mmol) = 48%

Exemplo 10

7-O-(3'-N-(Etoxicarbonilmetil)-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (Composto 10)

Trataram-se durante 2 h 100 mg (0,189 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona e 75 μ l (113 mg = 0,677 mmol = 3,58 equiv.) de bromoacetato de etilo na presença de 80 μ l (58 mg = 0,574 mmol = 3,0 equiv.) de trietilamina de modo análogo ao do Exemplo 1. Dissolveu-se a mistura que contém o produto imediatamente após a concentração à secura numa pequena quantidade de clorofórmio, fez-se passar através de uma coluna de gel de sílica preparada com éter (15 g de gel de sílica) e eluindo-se com cerca de 100 ml de éter para eliminação do éster do ácido bromoacético em excesso. O composto 10 foi em seguida eluído com clorofórmio/etanol (20/1) (R_F 0,32).

Rendimento: 70 mg (0,114 mmol) = 60 %

Exemplo 11

7-O-(3'-N-Carboximetil-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (Composto 11)

Trataram-se durante 2 h 20 mg (0,038 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona e 15 μ l (29 mg = 0,21 mmol = 5,5 equiv.) de ácido bromoacético na presença de 16 μ l (11,6 mg = 0,115 mmol = 3,0 equiv.) de trietilamina de modo análogo ao do Exemplo 1 e determinou-se o valor do R_F .

Exemplo 12:

7-O-(3'-N-Metil-3'-N-(3-tenil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (Composto 12)

Fizeram-se reagir 20 mg (0,038 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona e 156 μ l (200 mg = 0,178 mmol = 47 equiv.) de tiofeno-3-aldeído de modo análogo ao do Exemplo 4 e continuou-se a agitação durante 16 horas à temperatura ambiente após adição de cianoboro-hidreto de sódio (48 mg = 0,76 mmol = 20 equiv.). Submeteu-se a purificação por cromatografia em coluna em primeiro lugar em clorofórmio (para eliminação do composto de tiofeno em excesso) e em seguida na mistura eluente B (R_F 0,22).

Rendimento: 9,2 mg (0,015 mmol) = 39 %

Exemplo 13:

7-O-(3'-N-Metil-3'-N-(2-tenil)-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (Composto 13)

Fizeram-se reagir 20 mg (0,038 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona e 167 μ l (200 mg = 0,178 mmol = 47 equiv.) de tiofeno-2-aldeído de modo análogo ao do Exemplo 4 e após adição de cianoboro-hidreto de sódio (48 mg = 0,76 mmol = 20 equiv.) continuou-se a agitação durante 16 h à temperatura ambiente e em seguida durante mais 8 h a 50°C. Submeteu-se a purificação por cromatografia em coluna através de 4 g de

gel de sílica na mistura eluente B (R_F 0,25); em seguida submeteu-se a nova cromatografia através de 3 g de gel de sílica na mistura eluente C (R_F 0,63).

Rendimento; 8,2 mg (0,013 mmol) = 34 %

Exemplo 14:

7-O-(3'-N-Glicidil-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -
-iso-rodomicinona (Composto 14m)

Agitou-se durante 3 h a 70°C ao abrigo da luz uma mistura de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodomicinona (85 mg = 0,156 mmol), epibromidrina (125 μ l = 185 mg = 1,35 mmol = 8,7 equiv,) e carbonato de potássio (125 mg) em dimetilformamida seca (8 ml). Em seguida concentrou-se à secura num evaporador rotativo e secou-se de um dia para o outro sob alto vácuo. Dissolveu-se o resíduo em água e ajustou-se o pH a 7,0 com ácido clorídrico diluído, Extraíu-se o produto com clorofórmio, cromatografou-se através de 12 g de gel de sílica numa mistura de eluente B e eluente C (1/1) e trataram-se as fracções reunidas de modo análogo ao descrito no Exemplo 1,

Rendimento: 68 mg (0.11 mmol) = 70 %

Exemplo 15:

7-O-(3'-N-Alil-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)-daunomicinona
(Composto 15)

Trataram-se durante 24 h 30 mg (0,055 mmol) de 3'-N-metil-daunomicina e 10 μ l (14 μ g = 0,116 mmol = 2.1 equiv.) de brometo de alilo na presença de 33 μ l (24 mg = 0,24 mmol = 4,4 equiv.) de trietilamina de modo análogo ao do Exemplo 1, efectuou-se o tratamento posterior e purificou-se através de 5 g de gel de sílica no eluente C (R_V 0,53). Trataram-se as fracções reunidas de modo análogo

go ao do Exemplo 1.

Rendimento: 17 mg (0,029 mmol) = 53 %

Exemplo 16:

7-O-(3'-N-Alil-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)-adriamicina (Composto 16)

Trataram-se durante 24 horas 32 mg (0,057 mmol) de 3'-N-metil-adriamicina e 10 μ l (14 μ g = 0,116 mmol = 2,1 equiv.) do brometo de alilo na presença de 33 μ l (24 mg = 0,24 mmol = 4,4 equiv,) de trietilamina de modo análogo ao do Exemplo 1, efectuou-se o tratamento posterior e purificou-se através de 5 g de gel de sílica no eluente C (R_F 0,22). Trataram-se as fracções reunidas de modo análogo ao do Exemplo 1,

Rendimento: 14 mg (0,023 mmol) = 40 %

Exemplo 17:

7-O-(3'-Alil-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)-4-O-metil- β -rodomicinona (Composto 17)

Trataram-se durante 24 h 29 mg (0,053 mmol) de 7-O-(3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil)-4-O-metil- β -rodomicinona e 10 μ l (14 μ g = 0,116 mmol = 2,2 equiv. de brometo de alilo na presença de 33 μ l (24 mg = 0,24 mmol = 4,5 equiv.) de trietilamina de modo análogo ao do Exemplo 1, efectuou-se o tratamento posterior e purificou-se através de 5 g de gel de sílica numa mistura do eluente B e do eluente C (1/1). Trataram-se as fracções reunidas de modo análogo ao do Exemplo 1,

Rendimento: 18 mg (0,031 mmol) = 58 %

Exemplo 18:

...

~~CONFIDENTIAL~~

7-O-(3'-N-Acetonil-3'-N-metil-alfa-L-daunosaminil) β -rodo-
micinona (Composto 18)

Agitaram-se durante 16 h ao abrigo da luz 53 mg (0,10 mmol) de 7-O-(3'-metil-alfa-L-daunosaminil)- β -rodo-micinona e 0,5 ml (580 mg = 6,27 mmol) de cloroacetona na presença de 1 g de carbonato de potássio em 10 ml de dimetilformamida seca. Em seguida filtrou-se a solução, concentrou-se à secura e extraíu-se com clorofórmio/água em condições de neutralização. Cromatografou-se o produto da fase orgânica através de 10 g de gel de sílica no eluente B (R_F 0,16). Trataram-se as fracções reunidas de modo análogo ao descrito no Exemplo 1,

Rendimento: 27 mg (0,046 mmol) = 46 %

Citotoxicidade dos compostos da fórmula I contra células de leucemia L1210 do rato in vitro

Procedimento para a avaliação da formação de colónias de células de leucemia L1210 em agar brando

Incubaram-se 500 células de leucemia por placa com diferentes concentrações da substância a analisar durante 1 hora a 37°C. Em seguida lavaram-se as células duas vezes com meio McCoy5A e finalmente verteu-se em cápsulas de Petri após adição de 0,3 % de agar. Incubaram-se placas de comparação apenas com meio fresco. Em vez da incubação de 1 hora em muitos casos misturaram-se diferentes concentrações da substância a analisar da camada de agar superior de modo a conseguir uma exposição contínua das células durante todo o período de incubação. Após solidificação do agar incubaram-se as placas num incubador durante 7 dias a 37°C (5% em vol. de CO₂. 95% de humidade relativa). Em seguida contou-se o número de colónias existentes com um diâmetro superior a 60 μ m. Os resultados foram calculados como número de colónias em placas de agar tratadas em percentagem das placas de comparação não tratadas. A partir



da curva dose/actividade assim obtida calcularam-se os valores de IC_{50} como medida para a actividade da substância. Os resultados para os compostos anteriormente descritos na presente memória descritiva em comparação com a adriamicina não apresentados no Quadro 1.

Quadro 1a¹⁾: Compostos da fórmula I preparados

Substância Nº (Exemplo)	R ¹	R ²	R ⁵	R ⁶	R ⁷
Adriamicina					(Referência)
1	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CHCH ₂
2	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CCH
3	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH
4	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	4-picolil
5	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	2-picolil
6	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	furfuril
7	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CONH ₂
8 _m ²⁾	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	glicidil
8a ³⁾	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	glicidil-a
8b ³⁾	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	glicidil-b
9	OH	OH	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CHCH ₂
10	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ COOCH ₂ CH ₃
11	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ COOH
12	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	3-thenil
13	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	2-thenil
14 _m ²⁾	OH	OH	OH	CH ₂ CH ₃	glicidil
15	H	OCH ₃	H	COCH ₃	CH ₂ CHCH ₂
16	H	OCH ₃	H	COCH ₂ OH	CH ₂ CHCH ₂
17	H	OCH ₃	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CHCH ₂
18	H	OH	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ COCH ₃

Quadro 1b: (Continuação)

Substância Nº (Exemplo)	Incubação prolongada IC ₅₀ (µg/ml)	Incubação de 1 h IC ₅₀ (µg/ml)
15	0,008	superior a 1
16	-	-
17	0,036	superior a 1
18	0,018	0,073

- 1) m: mistura dos isómeros a e b
- 2) a e b: isómeros puros sem determinação estrutural

Determinação da resistência cruzada in vitro
em comparação com adriamicina

Ensaio de proliferação (redução MTT)

Incubaram-se células L1210, A 549 ou HT 29 na fase de crescimento exponencial a uma densidade celular de 5×10^3 células/ml em RPMI 1640 numa placa de microtitulação de 96 alvéolos durante 72 horas com diferentes concentrações da substância a analisar a 37°C, 5% de CO₂ e 95% de humidade relativa. Os ensaios de comparação continham em vez de substância a analisar apenas meio de crescimento. Para cada substância analisar bem como para os ensaios de comparação efectuaram-se determinações em quadruplicado. Após 65 h de incubação adicionaram-se 50 µl de uma solução de MTT (2,5 mg/ml; MTT = brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazolil-2)-2,5-difenil-tetrazólio) em solução salina tamponizada com fosfato). Na presença de células vivas o MTT é reduzido a uma forma insolúvel corada de vermelho escuro. Faz-se parar a reacção após 7 h (células

L1210) ou após 24 h (células A 549 e HT 29) e aspira-se cuidadosamente o meio sobrenadante. Dissolve-se o corante insolúvel por adição de 100 μ l de DMSO (dimetilsulfóxido) e determina-se em seguida a extinção da solução assim obtida para cada alvéolo num Multiscan Photometer 340 CC da firma Flow a um comprimento de onda de 492 nm.

A partir do quociente entre as extinções das células tratadas e não tratadas obtém-se uma curva dose-actividade a partir da qual se pode ler a concentração mínima que provoca a morte de 50% das células (IC_{50}). Nos ensaios em duplicado verificou-se um coeficiente de variação inferior a 15 %.

Efectuou-se a determinação da resistência cruzada entre cada substância em ensaio utilizando para substância padrão a doxorubicina com o auxílio do ensaio de MTT (ver método acima) em células sensíveis e resistentes de leucemia L1210.

A linha de células resistente foi estabelecida por meio de incubação de uma sub-linha sensível com concentrações gradualmente superiores da substância de referência.

Os valores de IC_{50} das substâncias em ensaio sobre a sub-linha resistente referidos aos valores de IC_{50} da sub-linha sensível dão tanto o grau de resistência para o composto em ensaio ($DR_{(T)}$) como também para o composto de referência ($DR_{(R)}$) correspondente da fórmula

$$DR_{T,R} = \frac{IC_{50} \text{ da linha de células resistentes}}{IC_{50} \text{ da linha de células sensível}}$$

Adicionalmente calculou-se o grau de resistência cruzada (DCR) para o composto em ensaio, correspondente à fórmula

$$DCR \% = \frac{DR_{(T)} - 1}{DR_{(R)}} \times 100$$

No caso de a perda de actividade do composto em ensaio sobre a linha resistente em proporção com a linha sensível ser superior ao do composto de referência, é possível um grau de resistência cruzada de mais de 100 %.

Os resultados apresentados no Quadro 2 mostram que as substâncias até agora não ensaiadas 1, 4 e 6 não apresentam resistência cruzada com a doxorubicina.


Quadro 2:

Substância Nº.	Sistema de ensaio	Duração da incubação	Grau de resistência das células	Resistência cruzada com a adriamicina
Adriamicina	MTT	3d	60-80	100,0
1	MTT	3d	10,0	19,0
4	MTT	3d	1,6	0,2
6	MTT	3d	2,0	2,0

Dados in vivo dos compostos preparados

Avaliação da toxicidade de orientação

A fim de avaliar a toxicidade de orientação injectaram-se por via intraperitoneal no dia 0 dife-



rentes doses da substância em ensaio dissolvida em 0,5 ml de solução de glucose a 5% em ratos NMRI. Por cada concentração da substância a ensaiar usaram-se 5 ratos. No dia 14 contou-se o número de ratos sobreviventes e a partir destas contagens calcularam-se os valores de LD5, LD50 e LD95 segundo o método de Lichtfield. A toxicidade (LD50 (mg/kg) dos compostos descritos em comparação com a adriamicina é apresentada no Quadro 3.

Actividade in vivo dos compostos da fórmula I contra a leucemia L1210 do rato

Método:

Colheu-se líquido ascítico sob condições de esterilizar de ratos DBA2 (sexo feminino, 18 a 20 g) 7 dias após inoculação de células tumorais. Lavaram-se as ascites três vezes com PBS (salina tamponizada com fosfato = "Phosphate Buffered Saline"), contaram-se e ajustaram-se a um número de células de 10^6 em 0,2 ml de PBS.

Em seguida injectaram-se intraperitonealmente 10^6 células suspensas em 0,2 ml de PBS em ratos DBF1 (sexo feminino, 18 a 20 g). Utilizaram-se 6 animais por grupo para cada concentração ou para comparação.

Avaliação da actividade antitumoral:

- a) Pesaram-se os animais no dia 1 e no dia 5 após injeção da substância em ensaio. Uma perda de peso superior a 20% no dia 5 é tomada como uma indicação de uma actividade tóxica da substância.
- b) No fim da experiência (morte de todos os animais ou animais sobreviventes no dia 60) determinou-se o período médio de sobrevivência dos animais em cada

grupo sempre que no dia 5 da experiência pelo menos 65% dos animais ainda sobreviventes. O período médio de sobrevivência foi determinado exclusivamente para os animais que morreram durante o decurso da experiência. A sobrevivência por longos períodos (LTS) não foi deste modo tomada em consideração e foi apresentada em separado.

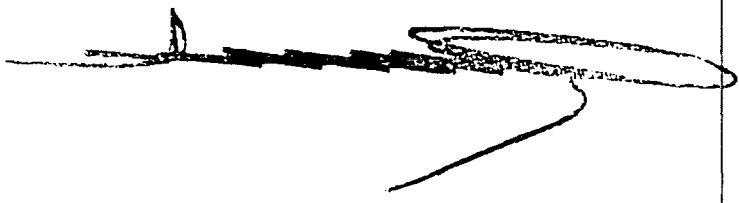
A partir do período médio de sobrevivência (MST_r) dos grupos tratados bem como dos grupos de comparação (MST_c) determinou-se a actividade antitumoral (T/C) para cada concentração de cada substância em percentagem dos grupos de comparação não tratados por meio da fórmula seguinte:

$$T/C \% = \frac{MST_r}{MST_c} \times 100$$

Os valores de T/C e o esquema de tratamento utilizado em cada caso são - em conjunto com a toxicidade de orientação - apresentados no Quadro 3. Os valores de T/C superiores a 125 % são considerados como uma indicação de uma actividade antitumoral significativa da substância em ensaio.

Quadro 3: Actividade in vivo dos compostos preparados

Substância Nº (Exemplo)	Toxicidade de orientação LD ₅₀ (mg/kg) 3xip, q3d ¹ 3xiv, q3d ²	T/C ³ /dose (mg/kg) in vivo leucemia L1210 3xip, q3d ¹ 3xiv, q3d ²
1	1-5	200/1,19 146/1,00
2	2-5	144/1,20
3	0,2-1	108/1,13
4	2,5-5	
6	1-5	141/2,80 129/2,80
7	2-5	142/11,2
8m	0,75-1,5	
9	maior que 6	114/0,47
10	10-25	
12	2-5	132/12,7
14	0,3-0,75	104/0,13
Adriamicina	2,7	154 ⁴)

- 
- 1) 3xip, q3d: três aplicações por via intraperitoneal com intervalos de 3 dias
 - 2) 3xip, q3d: três aplicações por via intravenosa com intervalos de 3 dias
 - 3) T/C: taxa de sobrevivência expressa em % dos grupos de comparação
 - 4) Dois de entre 6 ratos curaram-se (sobrevivência de longo termo)

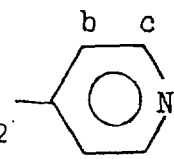
Quadro 4: Valores de R_F dos compostos preparados

Substância Nº (Exemplo)	Mistura eluente			clorofórmio/etanol (20/1)
	A	B	C	
1	0,77	0,18	0,49	0,27
2	0,82	0,29	0,56	0,45
3	0,58	0,054	0,28	0,03
4	0,63	0,23	0,47	0,21
5	0,90	0,38	0,79	-
6	0,76	0,22	0,57	0,26
7	0,58	0,11	0,31	0,13
8a	0,72	0,17	0,44	0,35
8b	0,72	0,17	0,44	0,32
9	0,78	0,17	0,52	0,24
10	0,88	0,42	0,74	0,32
11	0,50	0,05	0,32	0
12	0,78	0,22	0,59	0,25
13	0,82	0,25	0,63	0,35
14a	0,73	0,11	0,45	0,32
14b	0,73	0,11	0,45	0,28
15	0,62	0,16	0,53	0,24
16	0,31	0,012	0,22	0,014
17	0,62	0,12	0,53	0,19
18	0,69	0,16	0,58	0,27

Quadro 5, Parte 1:

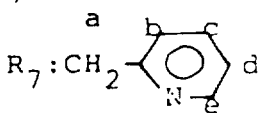
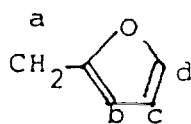
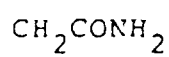
Substância

Nº

(Protão)	1			2		3		4	
	a	b	c	a	b	a	b	a	
	R ⁷ : CH ₂ CHCH ₂			CH ₂ CCH		CH ₂ CH ₂ OH		CH ₂	
H-1	7.89	dd		7.88	d	7.88	dd	7.90	dd
H-2	7.72	t		7.72	t	7.72	t	7.73	t
H-3	7.33	dd		7.33	dd	7.33	dd	7.34	dd
H-7	5.15	m		5.15	m	5.15	m	5.17	m
H-8 alfa	2.12	dd		2.12	dd	2.12	dd	2.12	dd
H-8B	2.26	d		2.26	d	2.24	d	2.27	d
H-10	4.91	s		4.91	s	4.91	s	4.93	s
H ₂ -13	1.7-1.9	m		1.7-1.9	m	1.7-1.9	m	1.7-1.9	m
H ₃ -14	1.12	t		1.12	t	1.12	t	1.13	t
H-1'	5.51	bs		5.52	d	5.52	bs	5.55	bs
H ₂ -2'	1.7-1.9	m		1.7-1.9	m	1.7-1.9	m	1.7-1.9	m
H-3'	2.48	dt		2.64	ddd	2.5-2.7	m	2.62	dt
H-4'	3.70	bs		3.69	d	3.76	bs	3.80	bs
H-5'	4.08	q		4.09	q	4.12	q	4.14	q
H ₃ -6'	1.41	d		1.41	d	1.38	d	1.43	d
N-CH ₃	2.18	s		2.31	s	2.26	s	2.12	s
OH-4	12.15	bs						12.14	bs
OH-6	12.84	bs						12.86	bs
OH-11	13.63	bs						13.63	bs
a	2.97dd, 3.15dd; J _{aa'} =14Hz J _{ab} =J _{a'b} =7Hz			3.39dd, 3.41dd; J _{aa'} =18Hz J _{ab} =J _{a'b} =2Hz		2.5-2.75m J=5Hz		3.45d 3.62d; J _{aa'} =14Hz	
b		5.6-5.8m		2.12t; J _{ab} =J _{a'b} =2Hz		3.61t; J=5Hz		7.17d; J _{bc} =6Hz	
c		5.05-5.15m						8.51d; J _{bc} =6Hz	

Quadro 5, Parte 2:

Substância

Substância	Nº		7 ¹⁾	
	5 (Protão)	6	a	b
				
H-1	7.89 d	7.89 d	7.86 d	
H-2	7.72 t	7.72 t	7.72 t	
H-3	7.33 d	7.33 d	7.31 d	
H-7	5.17 m	5.16 m	5.12 bs	
H-8 alfa	2.12 dd	2.12 dd	2.19 bs	
H-8B	2.28 d	2.26 d		
H-10	4.93 s	4.91 s	4.83 s	
H ₂ -13	1.7-2.0 m	1.7-2.0 m	1.7-1.9 m	
H ₃ -14	1.13 t	1.12 t	1.10 t	
H-1'	5.55 bs	5.53 bs	5.49 b _d	
H ₂ -2'	1.7-2.0 m	1.7-1.95 m	1.97dt ²⁾ ; 1.7-1.9m	
H-3'	2.62 dt	2.5-2.7 m	3)	
H-4'	3.83 bs	3.81 bs	3.72 bs	
H-5'	4.15 q	4.10 q	4.07 q	
H ₃ -6'	1.43 d	1.42 d	1.34 d	
N-CH ₃	2.22 s	2.22 s	2.30 s	
OH-4	12.16 bs	12.15 bs		
OH-6	12.84 bs	12.85 bs		
OH-11	13.61 bs	13.63 bs		

Continuação na próxima página

Continuação do Quadro 5, Parte 2:

Substância

Nº 5
(Protão)

6

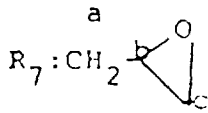
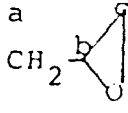
7¹⁾

a	3.59d, 3.81d: $J_{aa'} = 14\text{Hz}$	3.59d, 3.72d: $J_{aa'} = 15\text{Hz}$	3.02d, 3.09d: $J_{aa'} = 8.5\text{Hz}$
b	7, 24d; $J_{bc} = 8\text{Hz}$	6.12d; $J_{bc} = 3\text{Hz}$	5.97bs(1H), 7.47bs(1H)
c	7.63ddd; $J_{bc} = J_{cd} = 8\text{Hz}, J_{ce} = 2\text{Hz}$	6.24dd; $J_{bc} = 3\text{Hz}, J_{cd} = 2\text{Hz}$	
d	7.15ddd: $J_{cd} = 8\text{Hz}, J_{de} = 5\text{Hz}, J_{bd} = 1\text{Hz}$	7.27dd; $J_{cd} = 2\text{Hz}, J_{bd} = 1\text{Hz}$	
e	8.53dd; $J_{de} = 5\text{Hz}, J_{ce} = 1\text{Hz}$		

-
- 1) determinado em $\text{CDCl}_3/\text{D}_6\text{-DMSO}$ (5/1)
 - 2) $J_{1',2'} = 3\text{ Hz}, J_{2',a}, 2',b = 12\text{ Hz}$
 - 3) não identificado inequivocamente

Quadro 5, Parte 3:

Substância

Nº (Protão)	8a		8b		9 ¹⁾
	a	b	a	b	a b c
					CH_2CHCH_2
H-1	7.90 dd		7.90 dd		7.29 s, 2H
H-2	7.73 dd		7.73 dd		-
H-3	7.34 dd		7.34 dd		-
H-7	5.16 m		5.16 m		5.0-5.2 m ⁴⁾
H-8:alfa	2.12 dd		2.12 dd		2.20 bs ⁵⁾
H-8B	2.25 d		2.25 d		
H-10	4.92 s		4.91 s		4.81 s
H ₂ -13	1.7-1.9 m		1.7-1.9 m		1.5-1.7 m
H ₃ -14	1.12 t		1.12 t		1.10 t
H-1'	5.52 t		5.52 t		5.48 m
H ₂ -2'	1.7-1.9 m		1.7-1.9 m		1.5-1.7 m
H-3'	2)		2)		2.49 dt
H-4'	3.69 bs		3.71 bs		3.70 bs
H-5'	4.09 q		4.09 q		4.08 q
H ₃ -6'	1.40 d		1.41 d		1.37 d
N-CH ₃	2.31 s		2.35 s		2.19 s
OH-4	12.16 bs		12.17 bs		6)
OH-6	12.85 bs		12.85 bs		6)
OH-11	13.64 bs		13.63 bs		6)
	3)		3)		7)

Continuação na página seguinte

Continuação do Quadro 5, Parte 3:

- 1) determinação em $\text{CDCl}_3/\text{D}_6\text{-DMSO}$ (5/1)
- 2) não identificado inequivocamente
- 3) os prótons a e c no domínio 2,3 a 3,0 ppm não foram ordenados inequivocamente
- 4) sobreposto a CH_2 (c)
- 5) sobreposto a N-CH_3
- 6) OH fenólico a 12,37 bs (2H) e 13,04 bs (2H)
- 7) a: 2.99dd (1H). 3.14dd (1H) $J_{aa'}=14\text{Hz}$, $J_{ab}=J_{a'b'}=6\text{Hz}$
b: 5.6-5.8m (1H)
c: 5.0-5.2m (sobreposto a H-7)

Quadro 5, Parte 4:

Substância

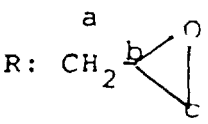
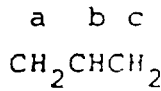
Substância Nº (Protção)	10			12			13		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
R ⁷ :CH ₂ COCH ₂ CH ₃				CH ₂			CH ₂		
H-1	7.90	dd		7.88	dd		7.88	dd	
H-2	7.73	t		7.72	dd		7.72	t	
H-3	7.33	dd		7.33	dd		7.33	dd	
H-7	5.15	m		5.16	m		5.16	m	
H-8. alfa	2.11	dd		2.13	dd		2.13	dd	
H-8B	2.26	d		2.27	d		2.27	d	
H-10	4.91	s		4.92	s		4.92	s	
H ₂ -13	1.7-1.9	m		1.7-2.0	m		1.7-2.0	m	
H ₃ -14	1.12	t		1.13	t		1.13	t	
H-1'	5.51	bd		5.53	bs		5.54	bs.	
H ₂ -2'	1.7-1.9	m		1.7-2.0	m		1.7-2.0	m	
H-3'	2.82	m		2.56	m		2.62	dt	
H-4'	3.65	bs		3.80	bs		3.79	bs	
H-5'	4.09	q		4.12	q		4.11	q	
H ₃ -6'	1.40	d		1.43	d		1.43	d	
N-CH ₃	2.38	s		2.12	s		2.19	s	
OH-4	12.16	bs		12.14	bs		12.15	bs	
OH-6	12.84	bs		12.84	bs		12.84	bs	
OH-11	13.63	bs		13.61	bs		13.62	bs	

Continuação na próxima página

Continuação do Quadro 5, Parte 4:

	10	12	13
a	3.31d, 3.33d; $J_{aa'}=19\text{Hz}$	3.46d, 3.66d; $J_{aa'}=14\text{Hz}$	3.71d, 3.83d; $J_{aa'}=14\text{Hz}$
b	4.09q	7.02dd $J_{bc}=1\text{Hz},$ $J_{bd}=3\text{Hz}$	6.82dd $J_{bc}=3.5\text{Hz},$ $J_{bd}=1\text{Hz}$
c	1.16t	6.94dd $J_{bc}=1\text{Hz},$ $J_{cd}=5\text{Hz}$	6.88dd $J_{bc}=3.5\text{Hz},$ $J_{cd}=5\text{Hz}$
d		7.24dd $J_{bd}=3\text{Hz},$ $J_{cd}=5\text{Hz}$	7.17dd $J_{bd}=1\text{Hz},$ $J_{cd}=5\text{Hz}$

Quadro 5, Parte 5:

Substância	14 ¹⁾	15 ³⁾
Nº		
(protão)		
H-1	7.30 s, 2H	8.04 d
H-2	-	7.79 t
H-3		7.41 d
H-7	5.13 m	5.30 m
H-8 alfa		2.10 dd
H-8B		2.37 d
H-10	4.83s	4)
H ₂ -13	1.7-2.0 m	-
H ₃ -14	1.10 t	2.43 s
H-1'	5.49 bs	5.57 bd
H ₂ -2'	1.7-2.0 m	1.84 m
H-3'		2.57 m
H-4'	3.70 bs	3.74 bs
H-5'	4.09 q	4.03 q
H ₃ -6'	1.38 d	1.38 d
N-CH ₃	2.20 s	2.23 s
OH-4	2)	-
OH-6	2)	13.31 bs
OH-11	2)	14.00 bs

Continuação na próxima página

Continuação do Quadro 5, Parte 5:

15

- a 3.0-3.25m⁵)
b 5.7-5.9m(1H)
c 5.13bs e
5.17d
J=3.5Hz

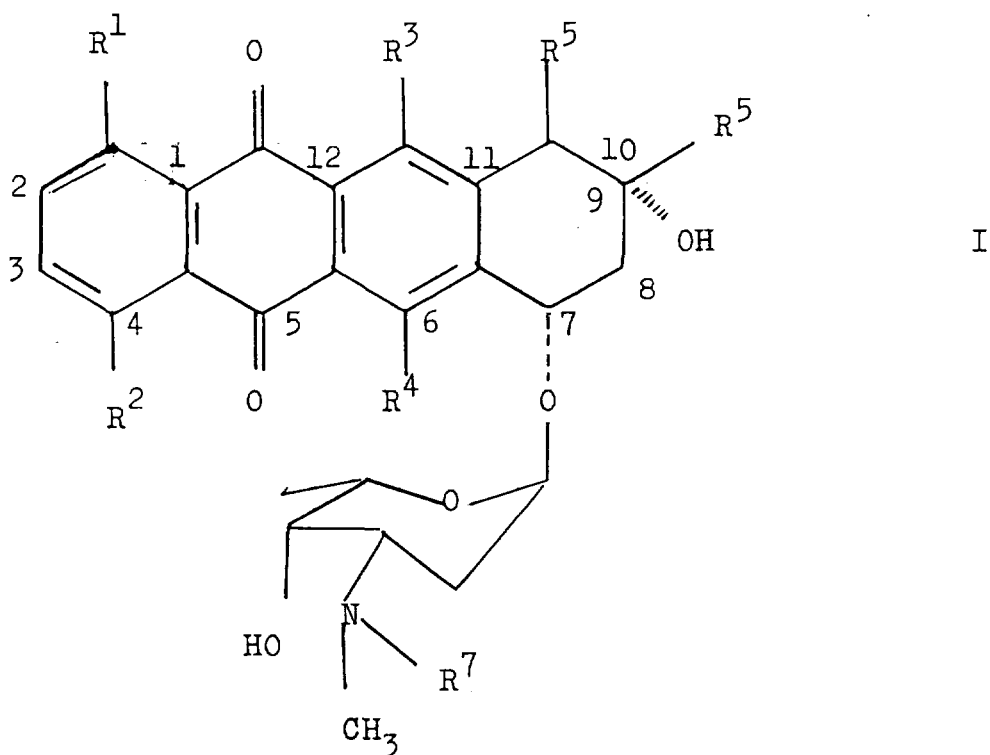
- 1) determinado em CDCl₃/D₆-DMSO (5/1)
2) OH fenólico a 12,34 bs (2H) e 12,99 bs (2H)
3) OCH₃ a 4.10 s (3H)
4) 10 alfa: 2,98 d; 10 β : 3.23 d; J=19 Hz
5) sobreposto a H-10

Quadro 5, Parte 6:

Substância	16			17			18	
Nº								
(Protão)								
	R ⁷ :CH ₂ CHCH ₂			CH ₂ CHCH ₂			CH ₂ COCH ₃	
	a	b	c	a	b	c	a	b
H-1	8.04	d		7.89	dd		7.89	d
H-2	7.79	t		7.72	t		7.72	t
H-3	7.39	d		7.33	dd		7.33	d
H-7	5.32	m		5.15	m		5.14	m
H-8 alfa				2.12	dd			
H-8B				2.26	d			
H-10				4.91	s		4.91	s
H ₂ -13	-			1.7-1.9	m			
H ₃ -14	-			1.12	t		1.11	t
H-1'	5.57	bs		5.51	bs		5.57	bd
H ₂ -2'				1.7-1.9	m			
H-3'				2.48	dt		2.85	m
H-4'	3.72	bs		3.70	bs		3.86	bs
H-5'	4.03	q		4.08	q		4.24	q
H ₃ -6'	1.41			1.41	d		1.32	d
N-CH ₃	2.22	s		2.20	s		2.23	s
OH-4	-			-			12.16	bs
OH-6	13.34	bs		13.36	bs		12.84	bs
OH-11	13.98	bs		13.81	bs		13.61	bs
a				2.97	dd,		2.37	d,
				3.15	dd;		2.57	d;
				J _{aa'} = 14 Hz			J _{aa'} = 11.5 Hz	
				J _{ab} = J _{a'b} = 7 Hz				
b	5.68-5.82	m		5.6-5.8m			1.42	s, 3H
c	5.1-5.2	m		5.05-5.15m				
OCH ₃	4.09	s		4.09	s			

REIVINDICAÇÃO

Processo para a preparação de novos derivados de antraciclina dotados de actividade citostática da fórmula I



ou dos respectivos sais de adição de ácido fisiologicamente aceitáveis com sais inorgânicos ou orgânicos, em que

R^1 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo,

R^2 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo ou metoxi,

R^3 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo,

R^4 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo,

R^5 significa hidrogénio ou um grupo hidroxilo ou metoxi-carbonilo,

R^6 significa CH_2CH_3 , $COCH_3$, $COCH_2OH$, $CHOHCH_3$ ou $CHOHCH_2OH$



e

R^7 significa um substituinte orgânico com 2 a 6 átomos de carbono, o qual contém pelo menos um átomo de oxigênio ou de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação $C=C$ ou uma tripla ligação $C\equiv C$, podendo a dupla ligação ser parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigênio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclico, no qual, no entanto, R^7 não é um grupo cianometilo nem um substituinte da fórmula geral COR^+ , com $R^+ = CH_3, CF_3$ ou CCl_3 .

caracterizado por:

fazer-se reagir um composto da fórmula I na qual $R^1 = H$ ou OH , $R^2 = H, OH$ ou OCH_3 , $R^3 = H$ ou OH , $R^4 = H$ ou OH , $R^5 = H, OH$ ou $COOCH_3$, $R^6 = CH_2CH_3, COCH_3, COCH_2OH, CHOCH_3$ ou $CHOHCH_2OH$ e $R^7 = H$, de um modo conhecido em si na presença de ciano-hidreto de sódio com um aldeído com 2 a 6 átomos de carbono, o qual contém pelo menos um átomo de oxigênio ou de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação $C=C$ ou uma tripla ligação $C\equiv C$, podendo a dupla ligação ser também parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigênio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclico, ou fazer-se reagir o referido composto de um modo conhecido em si sob condições anidras na presença de uma base com um composto halogenado com 2 a 6 átomos de carbono, o qual contém pelo menos um átomo de oxigênio ou de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação $C=C$ ou uma tripla ligação $C\equiv C$, podendo a dupla ligação ser também parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigênio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclico, excluindo-se no entanto qualquer halogeno-acetonitrilo, de modo a obter-se um composto da fórmula I no qual R^1 a R^6 possuem os significados anteriormente definidos e R^7 é um substituinte orgânico com 2 a 6 átomos de carbono, o qual contém pelo menos um átomo de oxigênio ou de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação

C=C ou uma tripla ligação C≡C, podendo a dupla ligação também ser parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigénio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclica, e eventualmente transformar-se o composto obtido por meio de um ácido inorgânico ou orgânico fisiologicamente aceitável num sal de adição de ácido.

A requerente reivindica a prioridade do pedido alemão apresentado em 4 de Junho de 1988. sob o nº. P 38 19 092.2.

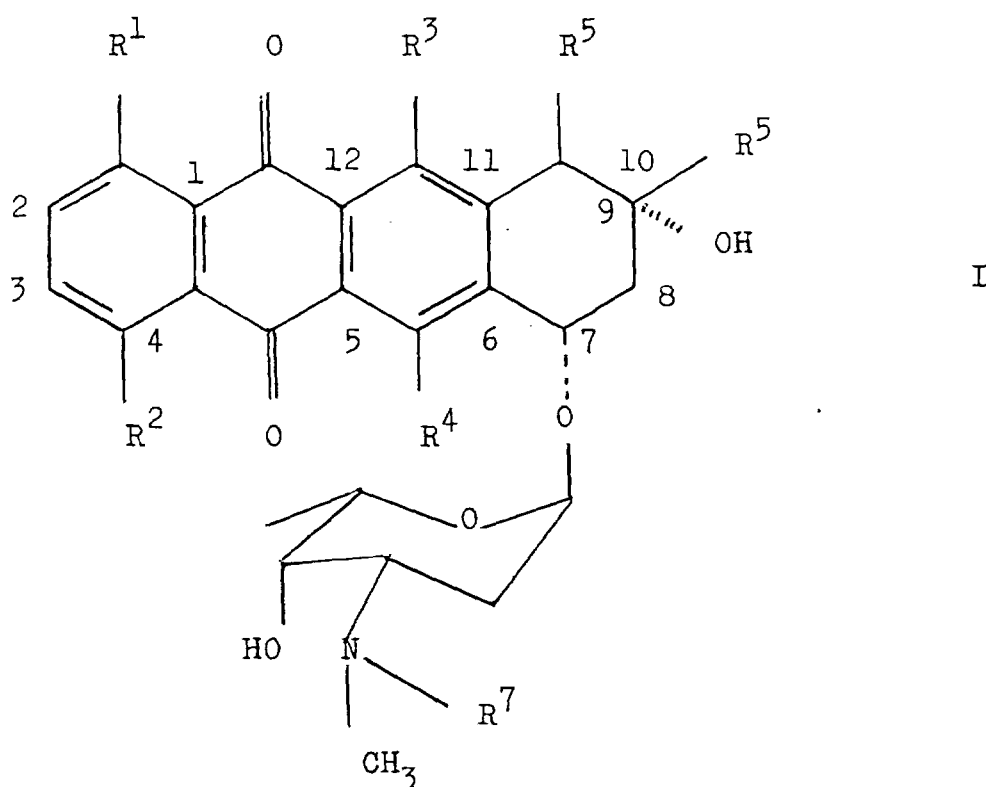
Lisboa, 1 de Junho de 1989
O AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

A handwritten signature in black ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke, positioned below the typed name of the official.

RESUMO

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DE ANTRACICLINAS DOTADAS DE ACTIVIDADE CITOSTÁTICA"

A invenção refere-se a um processo para a preparação de novos derivados de antraciclinas dotados de actividade citostática da fórmula I



ou dos respectivos sais de adição de ácido fisiologicamente aceitáveis com sais inorgânicos ou orgânicos que compreende fazer-se reagir um composto da fórmula I na qual R¹ = H ou OH, R² = H, OH ou OCH₃, R³ = H ou OH, R⁴ = H ou OH, R⁵ = H, OH ou COOCH₃, R⁶ = CH₂CH₃, COCH₃, COCH₂OH, CHOHCH₃ ou CHOHCH₂OH e R⁷ = H, de um modo conhecido em si na presença de cianoboro-hidreto de sódio com um aldeído com 2 a 6 átomos de carbono, qual contém pelo menos um átomo de oxigénio ou de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação C=C ou uma tripla ligação C≡C, podendo a dupla ligação ser também parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigénio

~~SECRET~~

gênio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclico, ou fazer-se reagir o referido composto de um modo conhecido em si sob condições anidras na presença de uma base com um composto halogenado com 2 a 6 átomos de carbono, o qual contém pelo menos um átomo de oxigênio ou de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação C=C ou uma tripla ligação C≡C, podendo a dupla ligação ser também parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigênio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclico, excluindo no entanto qualquer halogeno-acetonitrilo, de modo a obter-se um composto da fórmula I no qual R¹ a R⁶ possuem os significados anteriormente definidos e R⁷ é um substituinte orgânico com 2 a 6 átomos de carbono, o qual contém pelo menos um átomo de oxigênio ou de azoto ou de enxofre ou uma dupla ligação C=C ou uma tripla ligação C≡C, podendo a dupla ligação também ser parte de um sistema heteroaromático e o átomo de oxigênio, de azoto ou de enxofre parte de um sistema de cadeia aberta ou heterocíclico, e eventualmente transformar-se o composto obtido por meio de um ácido inorgânico ou orgânico fisiologicamente aceitável num sal de adição de ácido.