



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

(21) **PI 0714672-8 A2**

(22) Data de Depósito: 16/07/2007
(43) Data da Publicação: 26/03/2013
(RPI 2203)



(51) *Int.Cl.:*
C07D 491/22
A61K 31/4745
A61P 35/00

(54) **Título:** DERIVADOS DE CAMPTOTECINA COM ATIVIDADE ANTITUMOR

(30) **Prioridade Unionista:** 26/07/2006 IT MI2006A001474

(73) **Titular(es):** Indena S.P.A

(72) **Inventor(es):** Arturo Battaglia, Carla Manzotti, Cristian Samori, Gabriele Fontana

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

(86) **Pedido Internacional:** PCT EP2007006294 de 16/07/2007

(87) **Publicação Internacional:** WO 2008/012003de 31/01/2008

(57) **Resumo:** DERIVADOS DE CAMPTOTECINA, PROCESSO PARA PREPARAÇÃO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO DOS REFERIDOS DERIVADOS. A presente invenção refere-se a derivados de camptotecina tendo atividade antitumor, processos para a preparação dos mesmos, uso dos mesmos como fármacos antitumor e composições farmacêuticas contendo os mesmos.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**DERIVADOS DE CAMPTOTECINA, PROCESSO PARA PREPARAÇÃO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO DOS REFERIDOS DERIVADOS**".

5 A presente invenção refere-se a novos derivados de camptotecina tendo atividade antitumor, a processos para a preparação dos mesmos, ao uso dos mesmos como fármacos antitumor e composições farmacêuticas contendo os mesmos.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

10 Camptotecina é um alcalóide extraído de *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae), primeiro descrita por Wall e Wani em 1966 (J. Am. Chem. Soc. 1966, 88, 3888-3890). A camptotecina, embora dotada de atividade antitumor de amplo espectro, especialmente contra o tumor de cólon e outros tumores sólidos e leucemias, não é usada em terapia em virtude de sua alta toxicidade e mielossupressão.

15 Uma série de análogos de camptotecina tem sido sintetizada de forma a obter compostos tendo baixa toxicidade e alta solubilidade. No momento, dois fármacos são usados na prática clínica, isto é, CPT-11 e topotecan. Outros derivados, tais como belotecan, rubitecan, exatecan, gimatecan, pegamotecan, lurtotecan, carenitecina, afeletecan, homocamptotecina, diflomotecan e muitos outros, estão sofrendo experimentação clínica. O composto CPT-11 é um pró-fármaco altamente solúvel para 10-hidróxi-7-etilcamptotecina (comumente conhecida como SN-38), aprovado para o tratamento de muitos tumores sólidos e ascite (cólon-retal, pele, estômago, pulmão, cervical, ovário, linfoma não-Hodgkin).

25 Topotecan é um composto solúvel em solução fisiológica, ativo contra os tumores do pulmão, estômago, fígado, ovário, mama, próstata, esôfago, reto, sarcomas de tecidos moles, cabeça e pescoço, glioblastoma, leucemias mielocíticas crônicas e agudas. O topotecan, contudo, mostra efeitos colaterais importantes, tais como nitropenia e trombocitopenia.

30 Lurtotecan é um derivado mais solúvel, tendo atividade em tumores do pescoço, ovário, mama, cólon-retal e microcitoma pulmonar. Contudo, o Lurtotecan também tem toxicidade hemática.

Rubitecan é um pró-fármaco para o uso oral eficaz contra os tu-

mores do pâncreas, ovário e mama.

A camptotecina e seus análogos, conforme é o caso com todos os inibidores de topoisomerase I, são eficazes contra tumores resistentes a fármacos convencionais, incluindo inibidores de topoisomerase II; mantêm
5 altos níveis de topoisomerase durante todo o ciclo celular; não induzem à resistência a múltiplos fármacos (P-gp ou MRP) ou ao metabolismo de desintoxicação mediado pela enzima.

A pesquisa agora está sendo focalizada sobre novos inibidores de topoisomerase I tendo menor toxicidade do que os fármacos presente-
10 mente usados.

Derivados de camptotecina de anel aberto mostram alta ligação à proteína (em particular com albumina) e baixa distribuição nos tecidos tumorígenos. Como uma consequência, o produto se acumula no corpo e os tumores são pobremente afetados.

15 Inversamente, a alta lipofilicidade da forma de lactona promove a adesão de derivados de camptotecina nas membranas celulares, particularmente eritrócitos, afetando a proporção de distribuição em tecido/plasma. Por essa razão, a pesquisa está sendo focalizada em duas abordagens alternativas: a) design de produtos com baixa ligação à proteína ao mesmo
20 tempo em que ainda têm boa solubilidade; b) design de produtos altamente potentes tendo efeito terapêutico mesmo em doses extremamente baixas.

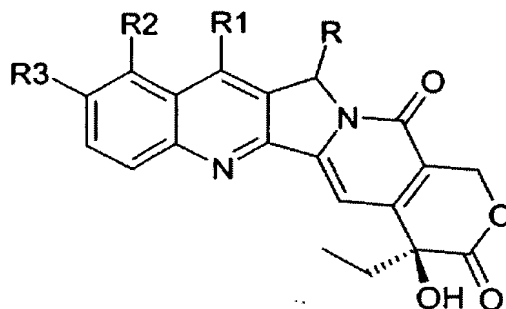
Modificações nas posições 7, 9, 10 e 11 usualmente provaram ser bem-toleradas, ao mesmo tempo em que não afetam a estabilidade do complexo ternário DNA-topoisomerase I-camptotecina, a formação do qual é
25 responsável pela atividade antitumor dos compostos.

Produtos com configuração 20R provaram ser inativos ou muito menos ativos do que os produtos com configuração 20S - o que coincide com a configuração natural.

30 Como uma regra, modificações na posição 5 são consideradas desfavoráveis para a formação do complexo ternário, enquanto que modificações nos anéis D e E de piridina têm sido reportadas como sendo prejudiciais à atividade do produto.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

Em um primeiro aspecto, a invenção se refere a derivados de camptotecina da fórmula geral I:



(I)

em que:

5 R é F, Cl, Br, I, -N₃, NH₂, -NR'R'', -COOR', -CONR'R'', -NHR'''-NR'R'' na qual R', R'' e R''' podem ser H, alquila, arila, arilalquila, acila, alcoxicarbonila, ariloxicarbonila;

 R1 é alquila, aminoalquila, hidroxialquila, nitrila, alcoxiimino, ari-loxiimino, sililalquila;

10 R2 é hidrogênio, hidroxila, alcóxi, aminoalquila;

 R3 é hidrogênio, hidroxila opcionalmente protegida, alcóxi, aminoalquila;

 em que os grupos alquila, acila, alcóxi, aminoalquila ou alcoxiimino podem conter 1 a 8, de preferência 1 a 4 átomos de carbono, em uma
15 cadeia reta ou ramificada e os grupos arila e arilóxi podem conter 5 a 10 átomos de carbono;

 os sais, isômeros, enantiômeros, diastereômeros farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos e misturas correspondentes.

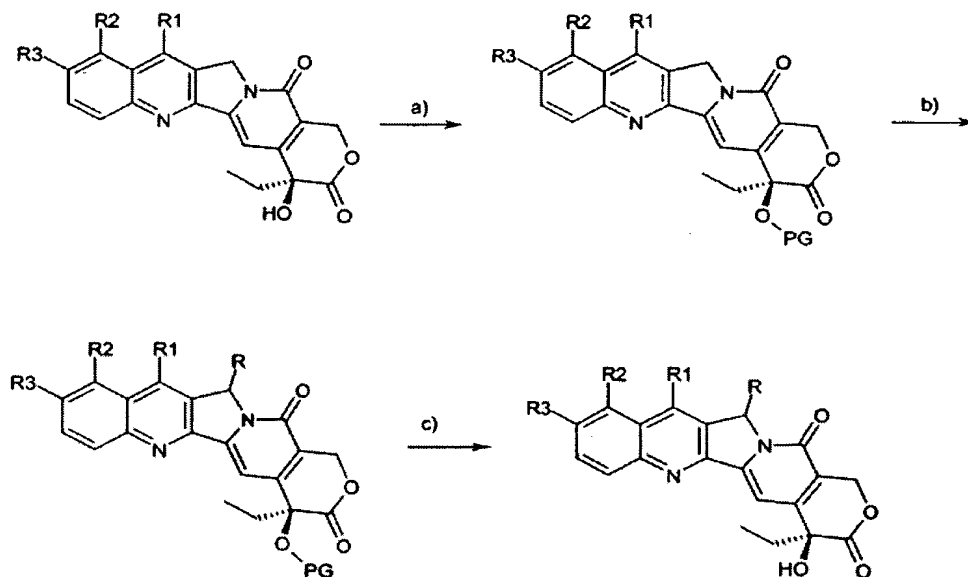
 Os compostos da invenção mostram baixa ligação à proteína e
20 têm boa solubilidade e alta potência, mesmo em doses muito baixas.

 A via sintética preferida para a preparação dos compostos da invenção é ilustrada no Esquema e compreende as seguintes etapas:

- a) proteção dos grupos hidróxi precursores;
- b) derivatização em 5 através da formação de um carbânion e

- reação com um reagente eletrofílico;
- c) desproteção dos grupos hidróxi.

Esquema



- 5 No Esquema, R, R1, R2 e R3 têm os significados descritos acima e PG é um grupo de hidróxi-proteção.

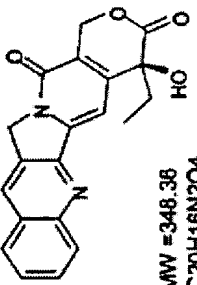
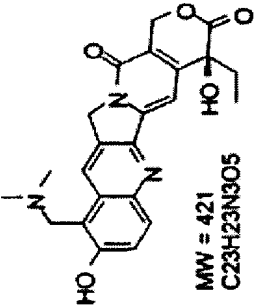
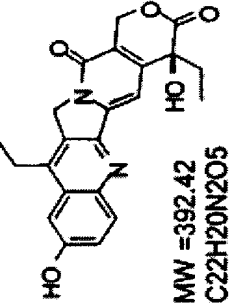
Precusores podem estar comercialmente disponíveis ou ser obtidos conforme descrito na literatura.

Os carbânions em 5 podem ser obtidos através de tratamento do precursor com uma base orgânica forte, de preferência LiHMDS.

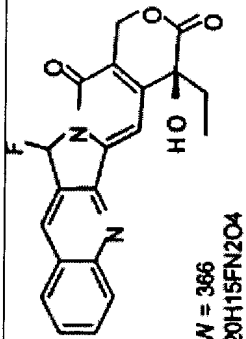
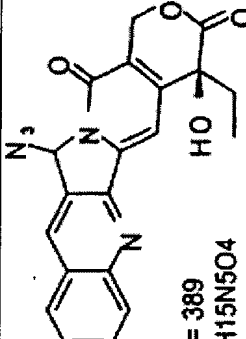
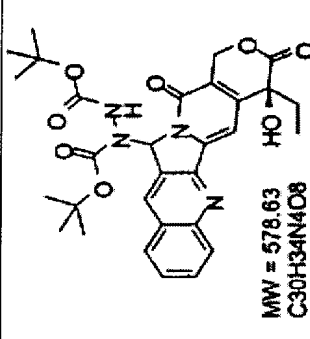
- 10 O carbânion é reagido *in situ* com um reagente eletrofílico, tal como uma fonte de halogênio ou azadicarboxilato, isocianato, derivado de clorocarbonila, tosilazida.

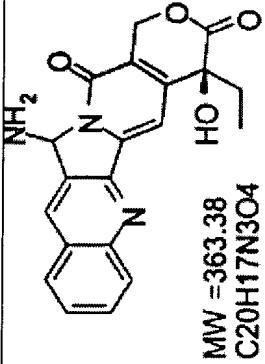
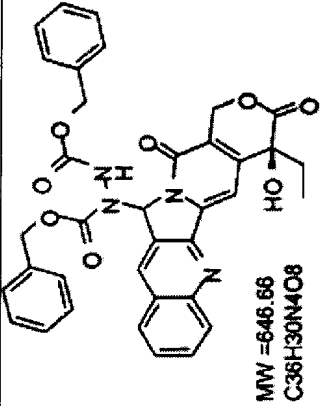
Sililas e carbamatos ou uma combinação dos mesmos são preferidos como grupos de hidróxi-proteção.

- 15 Os compostos da invenção foram testados em um ensaio de citotoxicidade sobre um amplo espectro de células tumorígenas. À guisa de exemplo, os dados de citotoxicidade sobre a linhagem de células NCI-H460 (câncer NSCL) referentes a dois compostos de fórmula (I) são reportados, usando camptotecina e os fármacos Topotecan e SN-38 como referências:

Nome	Fórmula	NCI-H460 IC50 (µg/mL) Contagem de células
Camptotecina	 <chem>CC1(C)C(=O)OC(=C/C2=CC3=C(C=C2)N4C(=O)C5=CC=CC=C5N4C3=O)C1</chem> MW = 348.38 C20H16N2O4	0,115 ± 0,0174
Topotecan	 <chem>CC1(C)C(=O)OC(=C/C2=CC3=C(C=C2)N4C(=O)C5=CC=C(C=C5)N(C)CC5=CC=CC=C5C3=O)C1</chem> MW = 421 C23H23N3O5	0,63 ± 0,44
SN38	 <chem>CC1(C)C(=O)OC(=C/C2=CC3=C(C=C2)N4C(=O)C5=CC=C(C=C5)N4C3=O)C1</chem> MW = 392.42 C22H20N2O5	0,0865 ± 0,0049

Continuação

5-F-camptotecina	 MW = 366 C₂₀H₁₅FN₂O₄	Isômero 1: 20,6 ± 6,8 Isômero 2: 20 ± 5,1
5-N3-camptotecina	 MW = 389 C₂₀H₁₅N₅O₄	Isômero 1: 4,18 ± 1,2 Isômero 2: 2,59 ± 0,7
5-di-terc-butoxicarbonil-hidrazino camptotecina	 MW = 578,63 C₃₀H₃₄N₄O₈	Isômero 1: 50 ± 16 Isômero 2: >100

5-NH ₂ -camptotecina	 MW = 363.38 C₂₀H₁₇N₃O₄	11 ± 3,1
5-di-terc-butoxicarbonil-hidrazino camptotecina	 MW = 646.66 C₃₆H₃₀N₄O₈	Isômeros 1: 55 ± 15 Isômeros 2: 39 ± 9,7

Os compostos mais ativos foram avaliados em um ensaio de clivagem de DNA que mede a concentração ativa e persistência de dano (veja a seção "Exemplos"). Os derivados de fórmula (I), surpreendentemente, mostram persistência no bloqueio da replicação de DNA maior do que os
5 padrões de referência (particularmente topotecan e camptotecina), ao mesmo tempo em que mantêm uma atividade citotóxica eficaz.

Em um outro aspecto, a invenção se refere à composições farmacêuticas contendo um composto de fórmula (I) junto com veículos e excipientes farmacêuticamente aceitáveis. As formas farmacêuticas adequadas
10 à administração oral ou parenteral dos compostos (I) podem ser sólidos, de preferência cápsulas, comprimidos e grânulos ou líquidos, de preferência soluções para infusão ou injetáveis.

Os compostos adequadamente formulados da invenção podem ser usados para o tratamento de tumores sólidos e leucemias, em particular
15 tumores do pulmão, ovário, mama, estômago, fígado, próstata, sarcomas de tecidos moles, cabeça e pescoço, esôfago, pâncreas, cólon, reto, glioblastoma, leucemias mielocíticas crônicas e agudas.

EXEMPLOS

EXEMPLO I - 20-OTES-camptotecina

20 Camptotecina (0,100 g, 0,287 mmol) é suspensa em dimetilformamida anídrica (3 mL), sob atmosfera inerte e a suspensão resultante é adicionada com imidazola (0,980 g, 1,44 mmol). A mistura é agitada durante 10' minutos, subsequentemente cloreto de trietil-silila (TES-Cl) (0,193 mL, 1,15 mmol) é gotejado na mesma, seguido pela adição de 4-dimetilamino
25 piridina (DMAP) (0,040 g 0,287 mmol). Após 46 h, a mistura de reação é evaporada sob vácuo, (Controle por TLC do desaparecimento completo do reagente, eluente $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 30/1$). O sólido é subsequentemente redissolvido em CH_2Cl_2 e lavado com H_2O e NH_4Cl saturado. A fase aquosa é extraída com CH_2Cl_2 (2 X 10 mL). As fases orgânicas são combinadas e se-
30 cas sobre Na_2SO_4 , filtradas e concentradas sob vácuo, desse modo, obtendo o produto desejado (0,133 g, 0,287 mmol) como um sólido amarelo-claro.

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,37 (s, 1H, Ar, H-7), 8,25 (d, 1H, J

= 8,4 Hz, Ar), 7,92 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, Ar), 7,82 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, Ar), 7,65 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,57 (s, 1H, H-14), 5,67 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz, H-17), 5,29 (s, 2H, H-5), 5,25 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz, H-17), 2,00-1,84 (m, 2H, H-19), 1,03-0,93 (m, 12 H), 0,80-0,71 (m, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171,7, 157,6, 152,5, 151,5, 149,0, 145,9, 130,9, 130,4, 130,0, 128,4, 128,1, 128,0, 127,9, 118,9, 94,4, 75,3, 66,0, 50,0, 33,2, 7,9, 7,2, 6,4.

EXEMPLO II- 20-OTES SN-38

SN-38 (0,100 g, 0,255 mmol) é suspenso em dimetilformamida anídrica (5 mL), sob atmosfera inerte e a suspensão resultante é adicionada com imidazola (0,087 g, 1,28 mmol). A mistura é agitada durante 10' minutos, subsequentemente cloreto de trietil-silila (TES-Cl), (0,171 mL, 1,02 mmol) é gotejado na mesma, seguido pela adição de 4-dimetilamino piridina (DMAP) (0,031 g, 0,255 mmol). Após 52 h, a mistura de reação é evaporada sob vácuo, monitorando através de TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 10/1$) o desaparecimento completo do reagente. O sólido é subsequentemente redissolvido em CH_2Cl_2 e lavado com H_2O e saturado NH_4Cl . A fase aquosa é extraída com CH_2Cl_2 (2 X 10 mL). As fases orgânicas são combinadas e secas sobre Na_2SO_4 , filtradas e concentradas sob vácuo, desse modo, obtendo o produto desejado (0,121 g, 0,240 mmol, 94%) como um sólido amarelo-claro.

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 9,26 (br s, 1H, OH), 8,14 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, Ar, H-12), 7,58 (s, 1H, H-14), 7,49 (dd, 1H, $J_1 = 9,2$ Hz $J_2 = 2,2$ Hz, H-11), 7,46 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, H-9), 5,70 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, H-17), 5,28 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, H-17), 5,23 (s, 2H, H-5), 3,05 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz), 1,97-1,81 (m, 2H, H-19), 1,32 (t, 3 H, $J = 7,5$ Hz, Me), 0,98-0,88 (m, 12 H), 0,77-0,68 (m, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 172,1, 157,9, 156,6, 152,1, 149,0, 146,7, 144,6, 143,6, 131,9, 128,7, 126,9, 122,8, 117,9, 105,5, 98,5, 75,4, 65,9, 49,5, 32,9, 23,2, 13,5, 7,8, 7,2, 6,4.

EXEMPLO III - 10-OTBDMS-20-OTES SN-38

20-OTES SN-38 (0,121 g, 0,240 mmol) é dissolvido em uma mistura anídrica de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF} = 1:1$ (8 mL) sob atmosfera inerte. Imidazola (0,081 g, 1,20 mmol) é adicionada ao mesmo, seguido, após 10' minutos, por cloreto de terc-butildimetil-silila (TBDMS-Cl), (0,144 mg, 0,957 mmol),

então, por 4-dimetilamino piridina (DMAP), (0,029 g 0,240 mmol). Após 18 h, a mistura de reação é evaporada sob vácuo, monitorando através de TLC (Hexano/AcOEt = 1/1) o desaparecimento do reagente. O sólido é subsequentemente redissolvido em CH₂Cl₂ e lavado com H₂O e saturado NH₄Cl. A fase aquosa é extraída com CH₂Cl₂ (2 X 10 mL) e as fases orgânicas são combinadas, secas sobre Na₂SO₄, filtradas e concentradas sob vácuo. O resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO₂, Hexano/AcOEt = 1/1), desse modo, obtendo o produto desejado (0,127 g, 0,205 mmol, 85%) como um sólido amarelo-claro.

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,14 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz, Ar, H-12), 7,49 (s, 1H, H-14), 7,40 (d, 1H, *J* = 2,2 Hz, H-9), 7,38 (dd, 1H, *J*₁ = 8,8 Hz *J*₂ = 2,5 Hz, H-11), 5,67 (d, 1H, *J* = 16,5 Hz, H-17), 5,25 (d, 1H, *J* = 16,5 Hz, H-17), 5,23 (s, 2H, H-5), 3,11 (q, 2H, *J* = 7,6 Hz), 1,99-1,82 (m, 2H, H-19), 1,38 (t, 3 H, *J* = 7,6 Hz, Me), 1,04 (s, 9 H), 1,00-0,92 (m, 12 H), 0,78-0,69 (m, 6 H), 0,30 (s, 6 H). ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,9, 157,7, 155,1, 151,5, 150,1, 146,8, 145,6, 143,5, 132,2, 128,2, 126,9, 125,9, 118,0, 110,5, 97,7, 75,4, 66,0, 49,3, 33,2, 25,6, 23,1, 18,3, 13,7, 7,9, 7,2, 6,4, 4,3.

EXEMPLO IV - 20-OTES Topotecan

Topotecan (0,100 g, 0,238 mmol) é suspenso em dimetilformamida anídrica (5 mL), sob atmosfera inerte e a suspensão resultante é adicionada com imidazola (0,081 g, 1,19 mmol). A mistura é agitada durante 10' minutos, subsequentemente, cloreto de trietil silila (TES-Cl), (0,160 mL, 0,952 mmol) é gotejado na mesma, seguido pela adição de 4-dimetilaminopiridina, (DMAP), (0,029 g 0,238 mmol). Após 52 h, a mistura de reação é evaporada sob vácuo, monitorando através de TLC (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) o desaparecimento completo do reagente. O sólido é subsequentemente redissolvido em CHCl₃ e H₂O e saturado NH₄Cl, a fase aquosa é extraída com CHCl₃ (2 X 15 mL). As fases orgânicas são combinadas e secas sobre Na₂SO₄, filtradas e concentradas sob vácuo, desse modo, obtendo o produto desejado (0,120 g, 0,224 mmol, 94%) como um sólido amarelo-claro.

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 9,65 (br s, 1H), 8,26 (s, 1H, Ar, H-7), 8,14 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz, Ar, H-12), 7,80 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz, Ar, H-11), 7,58

(s, 1H, H-14), 5,67 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, H-17), 5,25 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, H-17), 5,20 (s, 2H, H-5), 4,71 (s, 2 H), 2,81 (s, 6H, 2 Me), 1,97-1,81 (m, 2H, H-19), 0,98-0,88 (m, 12 H), 0,77-0,68 (m, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 172,1, 157,9, 156,6, 152,1, 150,8, 146,8, 144,3, 134,3, 131,2 129,9, 127,9, 123,0, 118,9, 110,1, 98,5, 75,4, 65,9, 51,1, 50,0, 43,1, 32,9, 7,8, 7,2, 6,4.

EXEMPLO V - 10-OTBDMS 20-OTES Topotecan

20-OTES Topotecan (0,120 g, 0,224 mmol) é dissolvido em uma mistura anídrica de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF} = 1:1$ (8 mL) sob atmosfera inerte. Imidazola (0,076 g, 1,12 mmol) é adicionada seguido, após 10' minutos, por cloreto de terc-butildimetil-silila (TBDMS-Cl), (0,135 mg, 0,896 mmol), então, por 4-dimetilamino piridina (DMAP), (0,027 g 0,224 mmol). Após 21 h, a mistura de reação é evaporada sob vácuo, monitorando através de TLC (Hexano/AcOEt = 1/1) o desaparecimento do reagente. O sólido é subsequentemente redissolvido em CHCl_3 e H_2O e saturado NH_4Cl , a fase aquosa é extraída com CHCl_3 (2 X 15 mL). As fases orgânicas são combinadas e secas sobre Na_2SO_4 , filtradas e concentradas sob vácuo. O resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO_2 , Hexano/AcOEt = 1/1), desse modo, obtendo o produto desejado (0,116 g, 0,179 mmol, 80%) como um sólido amarelo-claro.

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,26 (s, 1H, Ar, H-7), 8,14 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, Ar, H-12), 7,81 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, Ar, H-11), 7,59 (s, 1H, H-14), 5,64 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, H-17), 5,22 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, H-17), 5,19 (s, 2H, H-5), 4,71 (s, 2 H), 2,81 (s, 6H, 2 Me), 1,97-1,81 (m, 2H, H-19), 1,04 (s, 9 H), 0,98-0,88 (m, 12 H), 0,77-0,68 (m, 6 H), 0,30 (s, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171,7, 157,7, 155,1, 151,5, 150,0, 146,8, 144,3, 134,3, 131,2 129,9, 127,9, 123,0, 118,9, 110,1, 98,5, 75,4, 65,9, 51,1, 50,0, 43,9, 32,9, 25,6, 18,3, 7,8, 7,2, 6,4, -4,3.

EXEMPLO VI - Preparação de 20-OTES 10-hidroxicamptotecina

10-Hidróxicamptotecina (0,100 g, 0,275 mmol) é suspensa em dimetilformamida anídrica (5 mL), sob atmosfera inerte e a suspensão resultante é adicionada com imidazola (0,225 g, 3,31 mmols). A mistura é agitada durante 10' minutos, subsequentemente cloreto de trietil-silila (TES-Cl),

(0,460 mL, 2,75 mmols) é gotejado na mesma, seguido pela adição de 4-dimetilamino piridina (DMAP) (0,068 g, 0,550 mmol). Após 24 h, a mistura de reação é evaporada sob vácuo, monitorando através de TLC o desaparecimento completo do reagente ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20/1$). O sólido é subsequentemente redissolvido em CH_2Cl_2 e lavado com H_2O e saturado NH_4Cl . A fase aquosa é extraída com CH_2Cl_2 (2 X 10 mL). As fases orgânicas são combinadas, secas sobre Na_2SO_4 , filtradas e concentradas sob vácuo, desse modo, obtendo o produto desejado (0,124 g, 0,259 mmol, 94%) como um sólido amarelo-claro.

^1H RMN ($\text{CDCl}_3 + 5\% \text{CD}_3\text{OD}$, 400 MHz) δ 8,10 (s, 1H, Ar, H-7), 8,05 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, Ar), 7,50 (s, 1H, H-14), 7,39 (dd, 1H, $J_1 = 9,2$ Hz $J_2 = 2,4$ Hz, H-11), 7,11 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, H-9), 5,60 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz, H-17), 5,21 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz, H-17), 5,15 (s, 2H, H-5), 1,97-1,81 (m, 2H, H-19), 0,98-0,88 (m, 12 H), 0,76-0,68 (m, 6 H). ^{13}C RMN ($\text{CDCl}_3 + 5\% \text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz) δ 172,2, 157,8, 156,7, 151,8, 149,2, 146,1, 144,1, 130,9, 129,8, 129,0, 128,6, 123,2, 117,8, 108,8, 98,1, 75,4, 65,8, 50,0, 32,9, 7,7, 7,1, 6,3.

EXEMPLO VII - 10-OTBDMS-20-OTES Camptotecina

10-Hidróxi-20-OTES-Camptotecina (0,105 g, 0,219 mmol) é dissolvida em uma mistura anídrica de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF} = 1:1$ (4 mL) e sob atmosfera inerte. Imidazola (0,097 g, 1,42 mmol) é adicionada seguido, após 10' minutos, por cloreto de terc-butildimetil-silila (TBDMS-Cl), (0,164 mg, 1,10 mmol), então, por 4-dimetilamino piridina (DMAP) (0,040 g, 0,329 mmol). Após 18 h, a mistura de reação é evaporada sob vácuo, monitorando através de TLC o desaparecimento completo do reagente (Ciclohexano/AcOEt = 1/3). O sólido é subsequentemente redissolvido em CH_2Cl_2 e lavado com H_2O e saturado NH_4Cl , a fase aquosa é extraída com CH_2Cl_2 (2 X 10 mL). As fases orgânicas são combinadas, secas sobre Na_2SO_4 , filtradas e concentradas sob vácuo. O resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO_2 , Ciclohexano/AcOEt = 1/3), desse modo, obtendo o produto desejado (0,117 g, 0,197 mmol, 90%) como um sólido amarelo-claro.

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,22 (s, 1H, Ar, H-7), 8,13 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, Ar, H-12), 7,51 (s, 1H, H-14), 7,39 (dd, 1H, $J_1 = 9,2$ Hz $J_2 = 2,8$

Hz, H-11), 7,22 (d, 1H, $J = 2,8$ Hz, H-9), 5,66 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, H-17), 5,25 (s, 2H, H-5), 5,24 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, H-17), 1,99-1,82 (m, 2H, H-19), 1,03 (s, 9 H), 1,00-0,92 (m, 12 H), 0,78-0,69 (m, 6 H), 0,29 (s, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 172,0, 157,7, 155,1, 151,5, 150,6, 146,1, 145,1, 131,4, 129,4, 129,3, 128,7, 126,7, 118,3, 114,5, 97,7, 75,3, 66,0, 49,9, 33,1, 25,6, 18,3, 7,9, 7,2, 6,4, -4,3.

EXEMPLO VIII - 5-F-20-OTES-Camptotecina

Camptotecina 20-OTES (0,100 g, 0,216 mmol) é dissolvida em THF anídrico (6 mL) com agitação sob atmosfera inerte, então, esfriada para uma temperatura de -78°C e uma solução de LiHDMS a 1,0 M em THF (0,260 mL, 0,260 mmol) é gotejada na mesma. Após 20', NFSI (0,089 g, 0,281 mmol) em THF anídrico (2 mL) é adicionado. Após 2 h a -78°C , a temperatura é deixada elevar para 25°C e o desaparecimento do reagente é monitorado através de TLC (Hexano/AcOEt = 1/2). Formação dos dois diastereômeros é observada. Após 3 h em temperatura ambiente, a reação é subitamente resfriada através da adição de NH_4Cl saturado. A fase aquosa é extraída com CH_2Cl_2 (3 x 15 mL) e as fases orgânicas são combinadas, secas sobre Na_2SO_4 , filtradas e concentradas sob vácuo. O resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO_2 , Hexano/AcOEt = 3/1, então, 2/1 e, finalmente, 1/1), desse modo, obtendo uma mistura dos dois isômeros (0,101 g, 0,210 mmol, 97%,) (proporção de isômeros de 1:1) como um sólido amarelo-claro. Os dois isômeros são separados através de outra cromatografia. Em ordem de eluição:

1° diastereômero: ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,52 (s, 1H, Ar, H-7), 8,25 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,96 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,87 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,69 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,47 (d, 1H, $^1J_{\text{HF}} = 61,2$ Hz, H-5), 7,45 (s, 1H, H-14), 5,62 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 5,22 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 2,02-1,84 (m, 2H, H-19), 1,03-0,93 (m, 12 H), 0,80-0,71 (m, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171,4, 157,5, 152,3, 151,1, 150,2 (d, $J = 1,5$ Hz), 150,3 (d, $J = 1,5$ Hz), 143,6 (d, $J = 5,3$ Hz), 133,7, 131,7, 130,2, 128,9, 128,4, 127,9 (d, $J = 15,0$ Hz), 126,3 (d, $J = 15,0$ Hz), 121,8, 98,9, 93,8 (d, $^1J_{\text{CF}} = 213,2$ Hz, C-5), 75,1, 65,7, 33,1, 7,8, 7,2, 6,4.

2° diastereômero: ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,51 (s, 1H, Ar, H-7), 8,25 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,96 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,87 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,68 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,51 (d, 1H, $^1J_{\text{HF}} = 60,8$ Hz, H-5), 7,42 (s, 1H, H-14), 5,62 (d, 1H, $J = 17,2$ Hz, H-17), 5,20 (d, 1H, $J = 17,2$ Hz, H-17), 2,02-1,82 (m, 2H, H-19), 1,04-0,93 (m, 12 H), 0,80-0,71 (m, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171,2, 157,8, 152,5, 151,2, 150,3, 143,7, 133,7 (d, $J = 2,4$ Hz), 131,7, 130,2, 128,9, 128,3, 127,9 (d, $J = 2,3$ Hz), 126,3 (d, $J = 16,7$ Hz), 121,8 (d, $J = 1,5$ Hz), 99,0, 93,8 (d, $^1J_{\text{CF}} = 214,8$ Hz, C-5), 75,0, 65,8, 33,3, 7,9, 7,1, 6,4.

10 EXEMPLO IX - Preparação do 1° diastereômero de 5-F-camptotecina

O primeiro diastereômero de 5-F-20-OTES-camptotecina (0,025 g, 0,052 mmol) é dissolvido em THF anídrico (5 mL) com agitação sob atmosfera inerte. Subsequentemente, $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ (0,060 mL, 0,368 mmol) é gotejado na mesma. A mistura de reação é reagida durante 28 h em temperatura ambiente, monitorando através de TLC o desaparecimento do reagente (Hexano/ $\text{AcOEt} = 1/2$). O solvente é evaporado sob vácuo e o resíduo é cromatografado (SiO_2 , Hexano/ $\text{AcOEt} = 1/1$), desse modo, obtendo o produto desejado (0,019 g, 0,051 mmol, 98%) como um sólido amarelo-claro.

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,52 (s, 1H, Ar, H-7), 8,25 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,96 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,87 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,69 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,59 (s, 1H, H-14), 7,46 (d, 1H, $^1J_{\text{HF}} = 61,2$ Hz, H-5), 5,69 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 5,26 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 3,87 (br s, 1H, OH), 2,01-1,81 (m, 2H, H-19), 1,05 (t, 3 H, $J = 7,6$ Hz, Me). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 173,5, 157,6, 151,1, 151,0, 150,2, 144,1, 133,9, 131,9, 130,0, 129,0, 128,5, 127,8, 126,4, 121,7, 98,8, 93,8 (d, $^1J_{\text{CF}} = 214,0$ Hz, C-5), 72,5, 66,0, 31,5, 7,8.

EXEMPLO X - Preparação do 2° diastereômero de 5-F-camptotecina

O segundo diastereômero de 5-F-20-OTES-camptotecina (0,025 g, 0,052 mmol) é dissolvido em THF anídrico (5 mL) com agitação sob atmosfera inerte, subsequentemente, $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ (0,060 mL, 0,368 mmol) é gotejado na mesma. A mistura de reação é reagida durante 28 h em temperatura ambiente, monitorando através de TLC o desaparecimento do reagente (Hexa-

no/AcOEt = 1/2). O solvente é evaporado sob vácuo e o resíduo é cromatografado (SiO₂, Hexano/AcOEt = 1/1), desse modo, obtendo o produto desejado (0,018 g, 0,050 mmol, 97%) como um sólido amarelo-claro.

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,52 (s, 1H, Ar, H-7), 8,24 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,96 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,88 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,69 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,56 (s, 1H, H-14), 7,51 (d, 1H, ¹*J*_{HF} = 60,4 Hz, H-5), 5,69 (d, 1H, *J* = 16,4 Hz, H-17), 5,25 (d, 1H, *J* = 16,4 Hz, H-17), 3,87 (br s, 1H, OH), 1,98-1,78 (m, 2H, H-19), 1,04 (t, 3 H, *J* = 7,6 Hz, Me). ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 173,3, 157,7, 151,2, 151,2, 150,2, 144,2, 133,8, 131,9, 130,0, 129,0, 128,5, 127,8, 126,4, 121,6, 98,9, 93,7 (d, ¹*J*_{CF} = 214,0 Hz, C-5), 72,5, 66,1, 31,6, 7,8.

EXEMPLO XI - Preparação de 5-N3-20-OTES-camptotecina

Camptotecina 20-OTES (0,100 g, 0,216 mmol) é dissolvida em THF anídrico (6 mL) com agitação sob atmosfera inerte, então, esfriada para uma temperatura de -78°C e uma solução de LiHDMS a 1,0 M em THF (0,260 mL, 0,260 mmol) é gotejado na mesma. Após 20 min, azida de tosilato (TsN₃) (0,055 g, 0,281 mmol) em THF anídrico (2 mL) é adicionada. Após 2 h a -78°C, a temperatura é deixada elevar para 25°C e o desaparecimento do reagente é monitorado através de TLC (Hexano/AcOEt = 2/1). Formação dos dois diastereômeros é observada. Após 2h 30 min em temperatura ambiente, a reação é subitamente resfriada através da adição de saturado NH₄Cl. A fase aquosa é extraída com CH₂Cl₂ (3 x 15 mL) e as fases orgânicas são combinadas, secas sobre Na₂SO₄, filtradas e concentradas sob vácuo. O resíduo, consistindo em dois diastereômeros, é purificado através de cromatografia instantânea (SiO₂, Hexano/AcOEt = 3/1, então, 2/1 e, finalmente, 1/1), desse modo, obtendo (0,106 g, 0,210 mmol, 97%) de uma mistura dos dois isômeros (proporção dos isômeros de 1:1) como um sólido amarelo-claro. Os dois isômeros são separados através de outra cromatografia. Em ordem de eluição:

1° diastereômero: ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,45 (s, 1H, Ar, H-7), 8,25 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,95 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,86 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,68 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,49 (s, 1H, H-14), 6,97 (s, 1H, H-5),

5,65 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 5,26 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 2,01-1,84 (m, 2H, H-19), 1,03-0,94 (m, 12 H), 0,80-0,71 (m, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171,6, 158,3, 152,2, 150,8, 150,0, 144,0, 132,9, 131,4, 130,1, 128,6, 128,3, 128,2, 128,1, 120,8, 98,7, 75,4, 75,2, 65,7, 33,1, 7,9, 7,2, 6,4.

5 2° diastereômero: ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,45 (s, 1H, Ar, H-7), 8,24 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,95 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,86 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,68 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,46 (s, 1H, H-14), 6,99 (s, 1H, H-5), 5,66 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 5,22 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 2,02-1,84 (m, 2H, H-19), 1,03-0,94 (m, 12 H), 0,80-0,71 (m, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100
10 MHz) δ 171,4, 158,4, 152,3, 150,9, 150,0, 144,0, 132,9, 131,4, 130,1, 128,6, 128,3, 128,2, 128,1, 120,8, 98,7, 75,3, 75,1, 65,8, 33,3, 7,9, 7,2, 6,4.

EXEMPLO XII - Preparação do 1° diastereômero de 5-N3-camptotecina

O diastereômero 1 de 5-N3-20-OTES-camptotecina (0,070 g, 0,139 mmol) é dissolvido em THF anídrico (6 mL) com agitação sob atmosfera inerte, subsequentemente, $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ (0,170 mL, 1,016 mmol) é gotejado na mesma. A mistura de reação é reagida durante 26 h em temperatura ambiente, monitorando através de TLC o desaparecimento do reagente (Hexano/AcOEt = 1/1). O solvente é evaporado sob vácuo e o resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO_2 , Hexano/AcOEt = 1/1), desse
20 modo, obtendo o produto desejado (0,053 g, 0,136 mmol, 98%) como um sólido amarelo-claro.

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,44 (s, 1H, Ar, H-7), 8,24 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,93 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,85 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,67 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,63 (s, 1H, H-14), 6,97 (s, 1H, H-5), 5,70 (d, 1H, $J =$
25 16,8 Hz, H-17), 5,29 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 3,99 (br s, 1H, OH), 2,00-1,84 (m, 2H, H-19), 1,04 (t, 3 H, $J = 7,6$ Hz, Me). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 173,6, 158,3, 150,8, 150,7, 149,8, 144,4, 133,1, 131,5, 129,9, 128,6, 128,3, 128,3, 128,1, 120,6, 98,6, 75,4, 72,7, 66,0, 31,5, 7,8.

EXEMPLO XIII - Preparação do 2° diastereômero de 5-N3-camptotecina

30 O diastereômero 2 de 5-N3-20-OTES-camptotecina (0,055 g, 0,109 mmol) é dissolvido em THF anídrico (6 mL) com agitação sob atmosfera inerte, subsequentemente, $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ (0,135 mL, 0,820 mmol) é gotejado

na mesma. A mistura de reação é reagida durante 26 h em temperatura ambiente, monitorando o desaparecimento do reagente de participação através de TLC (Hexano/AcOEt = 1/1). O solvente é evaporado sob vácuo e o resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO₂, Hexano/AcOEt = 1/1), desse modo, obtendo o produto desejado (0,042 g, 0,107 mmol, 98%) como um sólido amarelo-claro.

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,45 (s, 1H, Ar, H-7), 8,23 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,95 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,85 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,68 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,60 (s, 1H, H-14), 7,00 (s, 1H, H-5), 5,74 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, H-17), 5,28 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, H-17), 3,86 (br s, 1H, OH), 1,98-1,82 (m, 2H, H-19), 1,04 (t, 3 H, *J* = 7,6 Hz, Me). ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 173,4, 158,4, 150,9, 150,7, 149,8, 144,5, 133,0, 131,5, 129,9, 128,6, 128,4, 128,3, 128,1, 120,6, 98,6, 75,3, 72,6, 66,1, 31,6, 7,8.

EXEMPLO XIV - Preparação de 5-NH₂-camptotecina

O diastereômero 2 de 5-N3-20-OH-camptotecina (0,050 g, 0,129 mmol) é dissolvido em uma mistura de THF anídrico (1,5 mL) e MeOH anídrico (6 mL) com agitação sob atmosfera inerte, subsequentemente é adicionado Pd/C (14 mg ~ 10%) e dois ciclos *in vacuo* /H₂ (pressão do balão de H₂) são realizados. A mistura de reação é reagida durante 3 h em temperatura ambiente, monitorando através de TLC (Hexano/AcOEt = 1/3) o desaparecimento do reagente, então, filtrada através de Celite e lavada com CH₂Cl₂ (2 x 15 mL). O solvente é evaporado sob vácuo. Espectroscopia por ¹H RMN do bruto de reação revela a presença do produto desejado como uma mistura a 1:1 dos dois epímeros na posição C5. Cromatografia instantânea (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH = 35/1 então, 25/1) permite recuperar a mistura dos dois diastereômeros (0,046 g, 0,126 mmol, 98%).

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,48 (s, 1H, Ar, H-7), 8,22-8,17 (m, 1H, Ar), 7,95-7,90 (m, 1H, Ar), 7,85-7,78 (m, 1H, Ar), 7,68-7,60 (m, 1H, Ar), 7,58 (s, 0,5 H, H-14), 7,54 (s, 0,5 H, H-14) 6,50 (s, 0,5 H, H-5), 6,47 (s, 0,5 H, H-5), 5,74-5,64 (m, 1H, H-17), 5,28-5,22 (m, 1H, H-17), 4,00-2,40 (br s, 3 H, OH + NH₂), 1,98-1,82 (m, 2H, H-19), 1,07-1,01 (m, 3 H, Me). ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 173,8 (2 C), 158,5 (2 C), 151,2 (2 C), 150,4 (2 C), 149,7

(2 C), 144,5 (2 C), 132,7 (2 C), 131,0 (2 C), 129,8 (2 C), 128,5 (2 C), 128,3 (2 C), 128,0 (2 C), 127,8 (2 C), 120,2 (2 C), 113,8 (2 C), 97,7 (2 C), 72,7 (2 C), 66,3, 66,0, 31,5 (2 C), 7,8, 7,8.

EXEMPLO XV - 5-di-*t*-Butoxicarbonilhidrazino-20-OTES-camptotecina

5 Camptotecina 20-OTES (0,100 g, 0,216 mmol) é dissolvida em THF anídrico (6 mL) com agitação sob atmosfera inerte, então, esfriada para uma temperatura de -78°C e uma solução de LiHDMS a 1,0 M em THF (0,281 mL, 0,281 mmol) é gotejada na mesma. Após 20', di-*tert*-butilazo dicarboxilato (DTBAC) (0,075 g, 0,324 mmol) em THF anídrico (2 mL) é adicionado. Após 4 h a -78°C, o desaparecimento do reagente é monitorado
10 através de TLC (Hexano/AcOEt = 3/1). Formação dos dois diastereômeros é observada. A reação é subitamente resfriada através da adição de saturado NH₄Cl. A fase aquosa é extraída com CH₂Cl₂ (3 x 15 mL) e as fases orgânicas são combinadas, secas sobre Na₂SO₄, filtradas e concentradas sob vácuo. O resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO₂, Hexano/AcOEt = 3/1), desse modo, obtendo uma mistura dos dois isômeros (0,145 g, 0,210 mmol, 97%). Os dois isômeros são separados através de
15 outra cromatografia. Em ordem de eluição:

1° diastereômero: ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,80 (br s, 1H, Ar), 8,23 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 8,01 (br d, 1H, Ar), 7,90-7,71 (m, 2H, Ar), 7,70-7,45 (m, 2H, Ar + H-14), 6,52 (br s, 1H, H-5), 5,61 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, H-17), 5,23 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, H-17), 2,03-1,81 (m, 2H, H-19), 1,79-1,08 (br s, 18 H), 1,06-0,92 (m, 12 H), 0,80-0,70 (m, 6 H). ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,7, 157,8, 155,5, 155,5, 152,0, 152,0, 151,2, 149,4, 145,0, 132,1, 130,6,
20 130,0, 128,7, 128,4, 127,9, 119,9, 98,2, 82,7, 81,5, 79,7, 75,2, 65,7, 33,2, 28,3, 27,6, 7,7, 7,2, 6,4.

2° diastereômero: ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,79 (br s, 1 H, Ar), 8,23 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 8,01 (br d, 1H, Ar), 7,85-7,76 (m, 2H, Ar), 7,65 (br t, 1H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,52 (s, 1H, H-14), 6,54 (br s, 1H, H-5), 5,61
30 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, H-17), 5,22 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, H-17), 2,03-1,82 (m, 2H, H-19), 1,76-1,08 (br s, 18 H), 1,04-0,92 (m, 12 H), 0,80-0,70 (m, 6 H). ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,5, 157,9, 155,5, 155,5, 152,3, 152,0, 151,2,

149,4, 145,1, 132,1, 130,6, 130,0, 128,7, 128,4, 127,9, 119,9, 98,2, 82,9, 81,5, 79,6, 75,2, 65,8, 33,3, 28,3, 27,4, 7,8, 7,2, 6,4.

EXEMPLO XVI - Preparação do 1° diastereômero de 5-di-*t*-butoxicarbonilhidrazino-camptotecina

5 O primeiro diastereômero de 5-di-*t*-Butoxicarbonilhidrazino-20-OTES-camptotecina (0,050 g, 0,072 mmol) é dissolvido em THF anídrico (4 mL) com agitação sob atmosfera inerte, subsequentemente, Et₃N•3HF (0,088 mL, 0,542 mmol) é gotejado na mesma. A mistura de reação é reagida durante 35 h em temperatura ambiente, monitorando através de TLC o
10 desaparecimento do reagente (Hexano/AcOEt = 3/2). O solvente é evaporado sob vácuo e o resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO₂, Hexano/AcOEt = 3/2), desse modo, obtendo o composto desejado (0,041 g, 0,071 mmol, 98%) como um sólido amarelo-claro.

O produto é ainda purificado através de cristalização a partir de
15 CH₂Cl₂/Pentano = 1/50.

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,77 (br s, 1H, Ar), 8,16 (br d, 1H, *J* = 8,0 Hz, Ar), 7,97 (br s, 1H, Ar), 7,86-7,50 (m, 4 H, Ar), 6,51 (br s, 1H, H-5), 5,66 (d, 1H, *J* = 16,4 Hz, H-17), 5,24 (d, 1H, *J* = 16,4 Hz, H-17), 3,86 (br s, 1H, OH), 2,00-1,80 (m, 2H, H-19), 1,79-1,13 (br s, 18 H), 1,03 (t, 3 H, *J* = 7,6
20 Hz, Me). ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 173,7, 157,9, 155,5, 155,5, 152,1, 151,3, 150,7, 149,6, 145,7, 132,3, 130,7, 129,9, 128,7, 127,9, 127,6, 120,0, 97,9, 82,8, 81,6, 79,7, 72,7, 66,1, 31,8, 28,3, 27,7, 7,7.

EXEMPLO XVII- Preparação do 2° diastereômero de 5-di-*t*-butoxicarbonilhidrazino-camptotecina

25 O 2° diastereômero de 5-di-*t*-Butoxicarbonilhidrazino-20-OTES-camptotecina (0,050 g, 0,072 mmol) é dissolvido em THF anídrico (4,5 mL) com agitação sob atmosfera inerte, subsequentemente, Et₃N•3HF (0,088 mL, 0,542 mmol) é gotejado na mesma. A mistura de reação é reagida durante 35 h em temperatura ambiente, monitorando através de TLC o desaparecimento do reagente (Hexano/AcOEt = 3/2). O solvente é evaporado sob
30 vácuo e o resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO₂, Hexano/AcOEt = 3/2), desse modo, obtendo o composto desejado (0,040 g,

0,069 mmol, 96%) como um sólido amarelo-claro.

O produto é ainda purificado através de cristalização a partir de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Pentano} = 1/50$.

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,79 (br s, 1H, Ar), 8,22 (br d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,99 (br s, 1H, Ar), 7,88-7,50 (m, 4 H, Ar), 6,53 (br s, 1H, H-5), 5,65 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz, H-17), 5,26 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz, H-17), 3,80 (br s, 1H, OH), 2,00-1,80 (m, 2H, H-19), 1,79-1,13 (br s, 18 H), 1,03 (t, 3 H, $J = 7,2$ Hz, Me). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 173,6, 157,9, 155,4, 155,4, 152,1, 151,3, 150,8, 149,5, 145,6, 132,3, 130,8, 129,8, 128,7, 127,9, 127,8, 119,8, 98,0, 83,0, 81,5, 79,7, 72,7, 66,3, 31,8, 28,3, 27,7, 7,8.

EXEMPLO XVIII - Preparação de 5-dibenziloxicarbonilhidrazino-20-OTES-camptotecina

Camptotecina 20-OTES (0,100 g, 0,216 mmol) é dissolvida em THF anídrico (6 mL) com agitação sob atmosfera inerte, então, esfriada para uma temperatura de -78°C e uma solução de LiHDMS a 1,0 M em THF (0,281 mL, 0,281 mmol) é gotejada na mesma. Após 20', dibenzil azodicarboxilato (0,097 g, 0,324 mmol) em THF anídrico (2 mL) é adicionado. Após 3 h a -78°C , a temperatura é deixada elevar para 25°C e o desaparecimento do reagente é monitorado através de TLC (Hexano/AcOEt = 3/1). Formação dos dois diastereômeros é observada. Após 90 min em temperatura ambiente, a reação é subitamente resfriada através da adição de saturado NH_4Cl . A fase aquosa é extraída com CH_2Cl_2 (3 x 15 mL) e as fases orgânicas são combinadas, secas sobre Na_2SO_4 , filtradas e concentradas sob vácuo. O resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO_2 , Hexano/AcOEt = 4/1 então, 7/2), desse modo, obtendo um sólido amarelo-claro (0,161 g, 0,212 mmol, 98%). Os dois isômeros são separados através de outra cromatografia. Em ordem de eluição:

1º diastereômero: ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,70 (br s, 1H, Ar), 8,39 (br s 1 H, Ar), 8,22 (br d, 1H, $J = 7,6$ Hz, Ar), 7,95 (br d, 1H, $J = 7,6$ Hz, Ar), 7,83 (br t, 1H, $J = 7,6$ Hz, Ar), 7,65 (br t, 1H, $J = 7,6$ Hz, Ar), 7,64-7,00 (m, 11 H, Ar + H-14), 6,49 (br s, 1H, H-5), 5,57 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz, H-17), 5,47-4,44 (m, 5 H), 1,98-1,82 (m, 2H, H-19), 1,02-0,89 (m, 12 H), 0,80-

0,70 (m, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171,6, 158,0, 156,3, 156,3, 153,0, 152,2, 151,0, 149,6, 144,8, 135,3, 132,1, 130,6, 130,0, 128,6-127,8 (11 C), 119,9, 98,4, 79,5, 75,2, 68,4, 67,9, 65,6, 33,0, 7,9, 7,2, 6,4.

2° diastereômero: ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,85 (br s, 1H, Ar), 8,58 (br s 1 H, Ar), 8,20 (br s, 1H, Ar), 7,93 (br s, Ar), 7,81 (br t, 1H, $J = 7,6$ Hz, Ar), 7,63 (br t, 1H, $J = 7,6$ Hz, Ar), 7,56-6,90 (m, 11 H, Ar + H-14), 6,52 (br s, 1H, H-5), 5,55 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, H-17), 5,44-4,71 (m, 5 H), 1,98-1,80 (m, 2H, H-19), 1,05-0,90 (m, 12 H), 0,81-0,70 (m, 6 H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171,5, 157,9, 156,4, 156,4, 152,9, 152,4, 150,9, 149,4, 144,8, 135,3, 132,1, 130,6, 129,9, 128,6-127,8 (11 C), 119,9, 98,5, 79,3, 75,2, 68,4, 67,8, 65,6, 32,9, 7,8, 7,2, 6,4.

EXEMPLO XIX - Preparação do 1° diastereômero de 5-dibenziloxicarbonilhidrazino-camptotecina

O 1° diastereômero de 5-Dibenziloxicarbonilhidrazino-20-OTES-camptotecina (0,140 g, 0,184 mmol) é dissolvido em THF anídrico (6 mL) com agitação sob atmosfera inerte, subsequentemente, $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ (0,225 mL, 1,380 mmol) é gotejado na mesma. A mistura de reação é reagida durante 52 h em temperatura ambiente, monitorando através de TLC o desaparecimento do reagente (Hexano/ $\text{AcOEt} = 1/3$). O solvente é evaporado sob vácuo e o resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO_2 , Hexano/ $\text{AcOEt} = 1/1$ então, 2/3), desse modo, obtendo (0,113 g, 0,175 mmol, 95%) como um sólido amarelo-claro.

O produto é ainda purificado através de cristalização a partir de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Pentano} = 1/50$.

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,67 (br s, 1H, Ar), 8,39 (br s 1 H, Ar), 8,12 (br d, 1H, $J = 7,6$ Hz, Ar), 7,95 (br s, 1H, Ar), 7,74 (br t, 1H, $J = 7,6$ Hz, Ar), 7,65-6,66 (m, 12H, Ar + H-14), 6,48 (br s, 1H, H-5), 5,55 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, H-17), 5,42-4,44 (m, 5 H), 3,86 (br s, 1H, OH), 1,92-1,72 (m, 2H, H-19), 0,95 (t, 3 H, $J = 7,6$ Hz, Me). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 173,5, 158,0, 156,2, 156,0, 153,0, 150,9, 150,9, 149,5, 145,3, 135,4, 132,2, 130,7, 129,8, 128,7-127,8 (11 C), 119,9, 98,2, 79,6, 72,7, 68,5, 68,0, 65,9, 31,6, 7,8.

EXEMPLO XX - Preparação do 2° diastereômero de 5-dibenziloxicar-

bonilhidrazino-camptotecina

O 2° diastereômero de 5-Dibenziloxicarbonilhidrazino-20-OTES-camptotecina (0,140 g, 0,184 mmol) é dissolvido em THF anídrico (6 mL) com agitação sob atmosfera inerte, subsequentemente, Et₃N•3HF (0,150 mL, 0,921 mmol) é gotejado na mesma. A mistura de reação é reagida durante 55 h em temperatura ambiente, monitorando através de TLC o desaparecimento do reagente (Hexano/AcOEt = 3/2). O solvente é evaporado sob vácuo e o resíduo é purificado através de cromatografia instantânea (SiO₂, Hexano/AcOEt = 1/1), desse modo, obtendo o composto desejado (0,113 g, 0,175 mmol, 95%) como um sólido amarelo-claro.

O produto é ainda purificado através de cristalização a partir de CH₂Cl₂/Pentano = 1/50.

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,71 (br s, 1H, Ar), 8,34 (br s 1 H, Ar), 8,18 (br s, 1H, Ar), 7,94 (br s, 1H, Ar), 7,79 (br t, 1H, *J* = 7,6 Hz, Ar), 7,70-6,70 (m, 12H, Ar + H-14), 6,52 (br s, 1H, H-5), 5,53 (d, 1H, *J* = 16,4 Hz, H-17), 5,44-4,48 (m, 5 H), 3,87 (br s, 1H, OH), 1,90-1,70 (m, 2H, H-19), 0,99 (t, 3 H, *J* = 7,6 Hz, Me). ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 173,4, 158,0, 156,3, 156,1, 153,0, 151,0, 150,9, 149,6, 145,3, 135,5, 132,3, 130,8, 129,8, 128,7-127,8 (11 C), 119,8, 98,4, 79,5, 72,7, 68,5, 67,8, 66,0, 31,6, 7,7.

20 EXEMPLO XXI - Ensaio de inibição de crescimento celular

Células H460 do tumor de pulmão de células grandes foram cultivadas em meio RPMI-1640 contendo soro fetal de bezerro a 10%. A sensibilidade celular foi determinada através do ensaio de inibição de crescimento celular após 1 ou 72 horas de exposição ao fármaco. As células em crescimento logarítmico foram coletadas e cultivadas em duplicata em lâminas com 6 cavidades. Vinte e quatro horas após cultura, as células foram expostas aos fármacos e contadas com um contador Coulter 72 horas após exposição aos fármacos para a determinação de IC₅₀. A IC₅₀ é definida como a concentração que inibe 50% do crescimento celular comparado com o crescimento de controles não tratados.

EXEMPLO XXII - Ensaio de ruptura de DNA Topoisomerase I-dependente

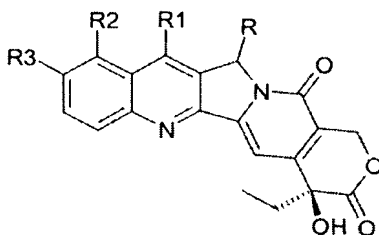
Rupturas de DNA foram determinadas usando DNA de SV40 BamHI-EcoRI de 751 bp purificado em gel (Beretta GL, Binaschi M, Zagni e Capuani L, Capranico G. Tethering a type IB topoisomerase to a DNA site by enzyme fusion to a heterologous site-selective DNA-binding protein domain. Cancer Res 1999; 59: 3689-97). Fragmentos de DNA foram rotulados apenas em 3'. A reação de ruptura de DNA (20.000 cpm/amostra) foi realizada em 20 ml de Tris-HCl a 10 mM (pH de 7,6), KCl a 150 mM, MgCl₂ a 5 mM, 15 µg/mL de BSA, tiotretol a 0,1 mM e a enzima recombinante humana (comprimento total top1) durante 30 min a 37°C. As reações foram bloqueadas usando SDS a 0,5% e 0,3 mg/mL de proteinase K durante 45 min. a 42°C. A persistência de dano ao DNA foi testada em diferentes tempos, adicionando NaCl a 0,6 M após 30 min. de incubação com 10 µM do fármaco. Após precipitação, o DNA foi ressuspenso e tampão de desnaturação (formamida a 80%, NaOH a 10 mM, EDTA a 0,01 M e 1 mg/mL de corante) antes de cultura em gel de desnaturação (poliacrilamida a 7% em tampão de TBE). Todos os níveis de ruptura de DNA foram medidos por meio de um PhosphorImager modelo 425 (Molecular Dynamics) (Dallavalle S, Ferrari A, Biasotti B, et al. Novel 7-oxyiminomethyl camptothecin derivatives with potent in vitro and in vivo antitumor activity. J Med Chem 2001; 44: 3264-74).

20 Persistência de dano ao DNA (%)

Compostos	Tempo (min)			
	0	1	5	10
Topotecan	100	65	20	10
Camptotecina	100	58	23	20
SN38	100	60	33	28
5-F CPT isômeros 1	100	18	18	10
5-F CPT isômeros 2	100	10	10	13
5-N3 CPT	100	50	30	15

REIVINDICAÇÕES

1. Compostos, caracterizados pelo fato de que apresentam a fórmula geral I:



(I)

em que:

5 R é F, Cl, Br, I, -N3, NH2, -NR'R'', -COOR', -CONR'R'',
-NHR'''-NR'R'' na qual R', R'' e R''' pode ser H, alquila, arila, arilalquila, acila,
alcoxicarbonila, ariloxicarbonila;

 R1 é alquila, aminoalquila, hidroxialquila, nitrila, alcoxiimino,
ariloxiimino, sililalquila;

10 R2 é hidrogênio, hidroxila, alcóxi, aminoalquila;

 R3 é hidrogênio, hidroxila opcionalmente protegida, alcóxi, a-
minoalquila;

 em que os grupos alquila, acila, alcóxi, aminoalquila ou alcóxii-
mino podem conter 1 a 8, de preferência 1 a 4, átomos de carbono, em uma
15 cadeia reta ou ramificada e os grupos arila e arilóxi podem conter 5 a 10 á-
tomos de carbono;

 os sais, isômeros, enantiômeros, diastereômeros farmaceutica-
mente aceitáveis e misturas correspondentes.

2. Composto de fórmula (I) de acordo com a reivindicação 1, ca-
20 racterizado pelo fato de que é selecionado do grupo consistindo em:

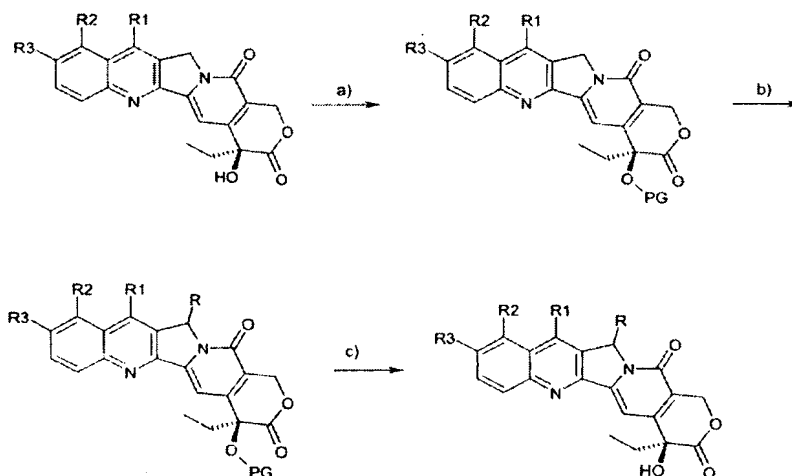
- a) 5-F-camptotecina;
- b) 5-N3-camptotecina;
- c) 5-NH2-camptotecina;
- d) 5-di-terc-butoxicarbonil hidrazino camptotecina;
- 25 e) 5-di-benziloxicarbonil hidrazino camptotecina.

3. Processo para a preparação de compostos de fórmula (I), ca-
racterizado pelo fato de que compreende substancialmente as etapas mos-

tradas no Esquema a seguir, compreendendo:

- a) proteção dos grupos hidróxi precursores;
- b) derivatização em 5 através da formação de um carbânion e reação com um reagente eletrofílico;
- 5 c) desproteção dos grupos hidróxi.

Esquema



em que R, R1, R2 e R3 têm os significados descritos acima e PG é um grupo de OH-proteção.

4. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que contém um composto de fórmula (I) junto com veículos e excipientes farmacologicamente aceitáveis.

5. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que está em uma forma adequada para administração oral ou parenteral.

6. Uso de um composto como definido nas reivindicações 1-2 ou de uma composição como definida nas reivindicações 4-5, caracterizado pelo fato de que é para a preparação de um fármaco para o tratamento de tumores.

7. Uso de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o referido fármaco é usado para o tratamento de tumores sólidos e leucemias, em particular tumores do pulmão, ovário, mama, estômago, fígado, próstata, sarcomas de tecidos moles, esôfago, pâncreas, cabeça e pescoço, glioblastoma, leucemias mielocíticas crônicas e agudas.

RESUMO

Patente de Invenção: **"DERIVADOS DE CAMPTOTECINA, PROCESSO PARA PREPARAÇÃO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO DOS REFERIDOS DERIVADOS"**.

- 5 A presente invenção refere-se a derivados de camptotecina tendo atividade antitumor, processos para a preparação dos mesmos, uso dos mesmos como fármacos antitumor e composições farmacêuticas contendo os mesmos.