



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0509912-9 B1



(22) Data do Depósito: 14/04/2005

(45) Data de Concessão: 27/08/2019

(54) Título: COMPOSTOS, PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DOS MESMOS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, E, USO DE UM COMPOSTO

(51) Int.Cl.: C07D 493/04; A61K 31/343; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 16/04/2004 FR 0404053.

(73) Titular(es): PIERRE FABRE MEDICAMENT.

(72) Inventor(es): THIERRY IMBERT; YVES GUMINSKI; JEAN-MARC BARRET; ANNA KRUCZYNSKI.

(86) Pedido PCT: PCT IB2005001268 de 14/04/2005

(87) Publicação PCT: WO 2005/100363 de 27/10/2005

(85) Data do Início da Fase Nacional: 13/10/2006

(57) Resumo: COMPOSTOS, PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DOS MESMOS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, E, USO DE UM COMPOSTO. A presente invenção refere-se a novos derivados de podofilotoxina, substituídos na posição-4 por uma cadeia de (poli)aminoalquilaminoacetamida substituída, a seu processo de preparação e a seu uso como medicamento como agentes anticâncer.

“COMPOSTOS, PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DOS MESMOS,
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, E, USO DE UM COMPOSTO”

A presente invenção refere-se a novos derivados de podofilotoxina, substituídos na posição-4 por uma cadeia de (poli)aminoalquilaminoacetamida substituída, a seu processo de preparação e a seu uso como medicamentos, em particular como agentes anticâncer.

Os compostos da invenção constituem derivados de podofilotoxina, um lignano natural conhecido por sua utilidade no tratamento do câncer. Outros derivados sintéticos, tais como etoposida e teniposida, são atualmente usados como agentes quimioterapêuticos no tratamento em particular de câncer de pulmão de célula pequena. Estes vários compostos atuam por inibição da atividade catalítica da topoisomerase II.

A substituição de acetamida na posição β da cadeia principal da podofilotoxina representa então um acetamida de espermina ou espermidina ou mais genericamente unidade de (poli)aminoalquilacetamida.

Os derivados de 4'-demetilepodofilotoxina são conhecidos como inibidores da topoisomerase II. Suas atividades citotóxicas e antitumor têm sido demonstradas, em particular com etoposida, TOP 53 (Drugs of the Future, 1996, 21, 1136), GL 331 (Medicinal Research Reviews, 1997, 17, 367) e NK 611 (Cancer Chemother. Pharmacol., 1996, 38, 217 e 541). Os compostos tendo cadeias amino do tipo benzilamina diretamente ligadas na posição 4β da podofilotoxina foram descritos (J. Med. Chem., 1991, 34, 3346). O pedido de patente FR 2 810 321 descreve derivados de carbamato ou tiocarbamato de podofilotoxina, de uso no tratamento do câncer. Os compostos de amida da posição- 4β foram também descritos (US 6 566 393; Acta Pharmaceutica Sinica (Yaouxue Xuebao), 1993, 28, 422; Acta Chem. Scand., 1993, 47, 1190).

A patente EP 0 876 374 descreve um processo para a desmetilação da podofilotoxina para obter-se 4'-demetilepodofilotoxina,

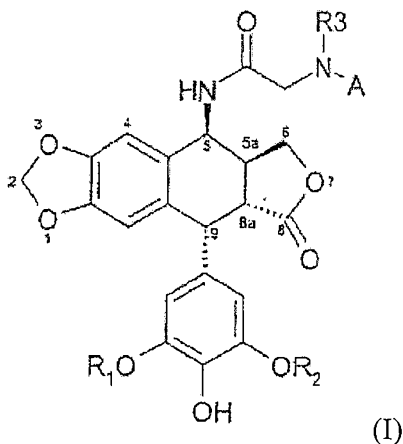
que é um intermediário sintético na preparação de etoposida e teniposida.

O Pedido Internacional WO 03/082876 descreve análogos de 4β-1''-[{2''-benzoil substituído}anilino]podofilotoxina, exibindo uma atividade anticâncer.

5 A necessidade de terem-se tratamentos mais eficazes disponíveis encoraja a busca por novas moléculas tendo diferentes mecanismos de ação, que possam então alvejar tipos de tumores que sejam atualmente pobremente tratados ou não-tratados e sejam livres de problemas de resistência. A disponibilidade destes novos produtos também torna
 10 possível preparar protocolos com cotratamentos que sejam mais eficazes com respeito a certos tumores.

Os novos compostos da presente invenção tornam possível responder a este problema.

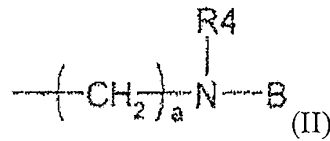
A presente invenção refere-se a compostos de fórmula geral (I)



15 em que

- R₁ e R₂ representam, independentemente entre si, um átomo de hidrogênio ou um radical metila;
- R₃ e A, juntos, formam um anel C₃-C₈ ou
- R₃ representa um radical escolhido do grupo consistindo
 20 de um átomo de hidrogênio, um radical C₁-C₄ alquila e um radical benzila e A representa um radical escolhido do grupo consistindo de um átomo de

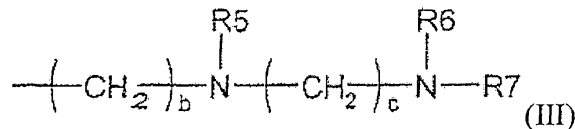
hidrogênio, um radical C₁-C₄ alquila, um radical benzila e um grupo de fórmula (II)



em que a varia de 2 a 5,

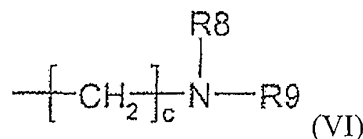
5 R4 representa um radical escolhido do grupo consistindo de um átomo de hidrogênio, um radical C₁-C₄ alquila e um radical benzila, sendo possível para R3 e R4 serem conectados por uma cadeia de alquilenos compreendendo 2 ou 3 átomos de carbono e B representa um radical escolhido do grupo consistindo de:

- 10
- um átomo de hidrogênio,
 - um radical C₁-C₄ alquila,
 - um radical benzila,
 - um grupo de fórmula (III)



15 em que b e c podem variar, independentemente entre si, de 2 a 5 e R5 a R7 representam, independentemente entre si, um radical escolhido do grupo consistindo de um átomo de hidrogênio, um radical C₁-C₄ alquila e um radical benzila, sendo possível para R4 e R5 e/ou R5 e R6 e/ou R6 e R7 serem conectados por uma cadeia alquilenos, compreendendo 2 ou 3 átomos de carbono;

- e um grupo de fórmula (IV)



20

em que c pode variar de 2 a 5 e R8 e R9 representam, cada um

independentemente entre si, um átomo de hidrogênio ou um radical C₁-C₄ alquila, sendo possível para R4 e R8 serem conectados por uma cadeia alquilenos compreendendo 2 ou 3 átomos de carbono ou R8 e R9, juntos, formam um anel C₃-C₈;

5 ou seus sais farmacologicamente aceitáveis, em particular seus sais de adição, com ácidos inorgânicos ou orgânicos.

No contexto da presente invenção, o anel C₃-C₈ é vantajosamente um anel alifático, que pode compreender um ou mais heteroátomos, em particular oxigênio.

10 De acordo com uma forma alternativa vantajosa da invenção, na fórmula (I), R3 a R9 representam, independentemente entre si, um átomo de hidrogênio ou um radical C₁-C₄ alquila, vantajosamente um átomo de hidrogênio ou um radical metila.

Os compostos que são particularmente vantajosos no contexto da presente invenção são aqueles em que R3 representa um átomo de hidrogênio ou um radical metila e A representa um átomo de hidrogênio, um radical metila ou um grupo de fórmula (II), em que R4 representa um átomo de hidrogênio, um radical metila ou um radical etila e B representa um radical escolhido do grupo consistindo de:

20

- um átomo de hidrogênio,
- um radical metila,
- um radical etila,
- um grupo de fórmula (III), em que R5, R6 e R7 representam um átomo de hidrogênio, um radical C₁-C₄ alquila ou um radical benzila,

25

- um grupo de fórmula (IV), em que R8 e R9, que são idênticos, representam um átomo de hidrogênio ou um radical metila.

Os compostos preferidos de acordo com a invenção são escolhidos dos seguintes compostos:





- 2-(2-dimetilaminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexahidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
 N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(2-(morfolin-4-il)etilamino)acetamida
 5
 2-[(2-dimetilaminoetil)metilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il] acetamida
 10
 2-dimetilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
 N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(piperidin-1-il)acetamida
 15
 2-benzilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
 N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-piperazin-1-il)acetamida
 20
 2-(4-benzilpiperazin-1-il)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
 2-etilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
 25
 N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7] nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(propilamino)acetamida
 2-butilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
 2-(2-dietilaminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-

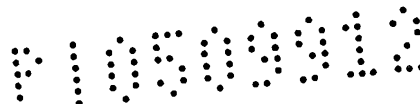


- 8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 2-(2-dietilaminopropilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 5 2-amino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 2-(2-aminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 10 2-(3-aminopropilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 2-(4-aminobutilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 15 2-{3-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]propilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3] dioxol-5-il]acetamida
- 20 2-{3-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]propilamino]-N-[9-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 25 2-{3-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]propilainino}-N-[8-oxo-9-(3,4,5-triidroxifenil)-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 2-(4-aminobutilamino)-N-[9-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 2-[3-(4-aminobutilamino)propilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-

- dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il] acetamida
- 2-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 5 2-[3-(3-aminopropilamino)propilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 2-[4-(4-aminobutilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 10 2-{3-[3-(3-aminopropilamino)propilamino]propilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3] dioxol-5-il]acetamida
- 15 2-(4-[4-(4-aminobutilamino)butilamino]butilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3] dioxol-5-il]acetamida
- 2-{4-[4-(4-aminobutilamino)butilamino]butilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida
- 20 2-[4-(4-aminobutilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il] acetamida
- 25 2-(5-aminopentilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a, 9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida e

seus sais de adição com ácidos inorgânicos ou orgânicos.

Mais particularmente, os compostos preferidos da invenção são escolhidos do grupo consistindo de:



2-[(2-dimetilaminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

5 2-dimetilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-(4-aminobutilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

10 2-{3-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]propilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

2-[3-(4-aminobutilamino)propilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il] acetamida

15 2-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

e seus sais de adição com ácidos inorgânicos ou orgânicos.

20 Os isômeros dos compostos de acordo com a invenção formam uma parte integrante da invenção.

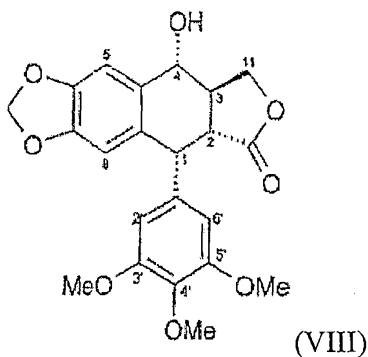
Pode ser feita menção, sem limitação implícita, entre ácidos farmacologicamente aceitáveis de ácidos clorídricos, bromídricos, sulfúrico, fosfórico, acético, trifluoroacético, láctico, pirúvico, malônico, succínico, glutárico, fumárico, tartárico, maléico, cítrico, ascórbico, oxálico, 25 metanossulfônico, canfórico e sulfâmico.

Os compostos de acordo com a invenção exibem a característica de ser solúvel em água, via a possibilidade de formação de sais inorgânicos ou orgânicos com os nitrogênios da cadeia lateral. Isto representa uma vantagem muito significativa em termos de administração, de

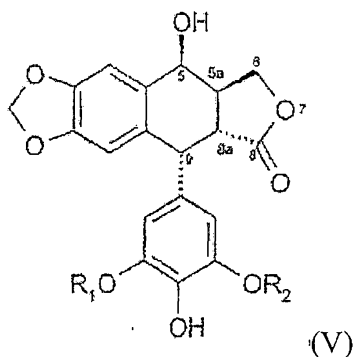
formulação, de distribuição, de farmacocinética e de biodisponibilidade.

Outro assunto da presente invenção é o processo para a preparação dos compostos de acordo com a invenção, que compreende os seguintes estágios sucessivos:

- 5 a) partindo-se de podofilotoxina de fórmula (VIII)

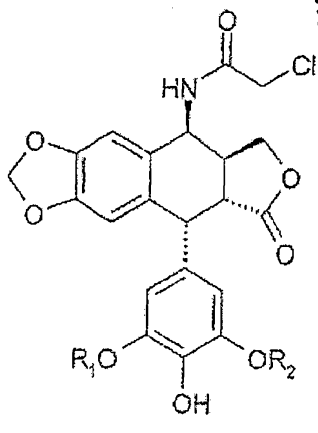


- b) se apropriado, preparação por desmetilação de um composto de fórmula (V)



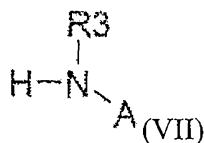
em que R_1 e R_2 são como definidos no composto de fórmula (I); em seguida

- 10 c) reação do composto de fórmula (V) ou (VIII) com cloroacetnitrila em um meio ácido e, em seguida, se apropriado, reação de desmetilação, para fornecer um composto de fórmula (VI)



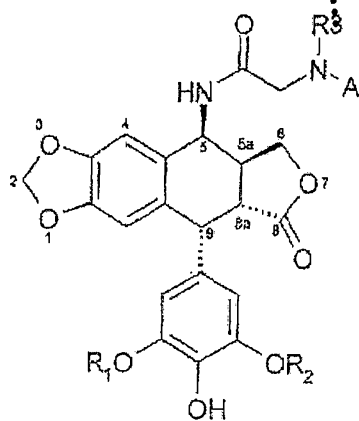
em que R_1 e R_2 são como definidos no composto de fórmula (I); em seguida

d) reação do composto de fórmula (VI) com um composto de fórmula (VII)



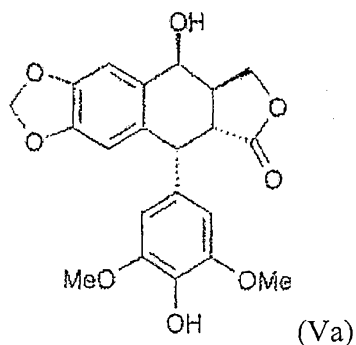
em que R_3 e A são como definidos no composto de fórmula (I), as aminas opcionalmente presentes no grupo A sendo protegidas por um apropriado grupo de proteção, vantajosamente escolhido do grupo consistindo de um radical benzila, um radical benziloxicarbonila (Z) ou um radical terc-butiloxicarbonila (Boc), em uma mistura de solventes compreendendo um solvente aprótico polar, na presença de uma base de Lewis.

Os átomos da podofilotoxina, que é um produto natural, são convencionalmente numerados de acordo com um sistema diferente daquele usado no contexto da presente invenção, para derivados de podofilotoxina. Assim, no contexto da presente invenção, os compostos de acordo com a invenção (produtos sintéticos) serão numerados de acordo com o sistema fornecido para o seguinte composto de fórmula (I):



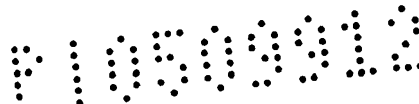
enquanto que a podofilotoxina é numerada de acordo com o sistema convencionalmente usado, fornecido acima para o composto de fórmula (VIII).

De acordo com uma forma alternativa da invenção, é preparado um composto de fórmula (V), que é obtido por uma reação de desmetilação na podofilotoxina. Assim, 4'-demetilepipodofilotoxina (Va) (o número usado é aquele empregado para podofilotoxina para a fórmula (VIII)):



é obtida por uma reação de desmetilação sobre podofilotoxina com o reagente par metionina ou (dimetil sulfeto)/ácido metanossulfônico, na presença de ácido trifluoroacético ou de acetona e de água, em uma temperatura entre $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, de acordo com o método descrito na Patente FR 2 742 439.

É também possível obter-se, com um excesso de reagente e um tempo de reação adicional, o produto de didesmetilação, o composto de



fórmula (V) em que $R_1 = H$ e $R_2 = Me$ (ou $R_2 = H$ e $R_1 = Me$) (Vb) (descrito em J. Med. Chem., 1986, 29, 1547) e o produto de tridesmetilação, o composto de fórmula (V), em que $R_1 = R_2 = H$ (Vc), que é um novo produto.

5 No estágio c), o composto de fórmula (V) é submetido a uma reação Ritter com cloroacetnitrila, na presença de um ácido forte, tal como ácido metanossulfônico ou ácido sulfúrico, de acordo com um processo conhecido de uma pessoa hábil na arte, analogamente ao processo descrito na publicação Acta Chem. Scand., 1993, 47, 1190. Esta reação resulta nos intermediários de fórmula (VI), em que R_1 e R_2 são como definidos no
10 composto de fórmula (I).

Durante o estágio c), antes da reação do composto de fórmula (V) com cloroacetnitrila, os compostos de mono, di e tridesmetilação (fórmulas (Va), (Vb) e (Vc)) podem ser protegidos em seus grupos funcionais fenol por grupos benziloxicarbonila, a fim de evitar a síntese de subprodutos
15 indesejáveis. Estes grupos protetores podem subsequenteemente ser prontamente clivados de uma maneira convencional por hidrogenólise, na presença de paládio-sobre-carvão vegetal. Entretanto, a reação direta do composto de fórmula (V) com cloroacetnitrila pode ser realizada com os compostos de fórmulas (Va), (Vb) e (Vc) tendo grupos funcionais fenol desprotegidos.
20

De acordo com outra forma alternativa da invenção, a podofilotoxina (VIII) é usada diretamente como material de partida.

A reação de monodesmetilação é realizada subsequente à reação de Ritter, durante o estágio c), para resultar no derivado de fórmula
25 (VI) em que $R_1 = R_3 = Me$ (VIa). Similarmente, é também possível obter-se, por um excesso de reagente e um tempo de reação adicional, o produto de didesmetilação, o composto de fórmula (VI), em que $R_1 = H$ e $R_2 = Me$ (ou $R_2 = H$ e $R_1 = Me$) (VIb) e o produto de tridesmetilação, o composto de fórmula (VI), em que $R_1 = R_2 = H$ (VIc).

A reação do estágio d) é vantajosamente realizada em temperatura ambiente em um solvente aprótico polar, tal como uma mistura de acetonitrila e de DMF, na presença de uma base, tal como trietilamina, e de iodeto de potássio. O iodeto de potássio torna possível substituir o cloro presente no composto de fórmula (VI) por iodo, para melhor reatividade.

Na fórmula (VIII) pode ser feita menção em particular, como exemplos de apropriados grupos protetores para os grupos funcionais amina dos grupos terc-butiloxicarbonila (BOC) e benziloxicarbonila (Z). A proteção dos grupos funcionais amina torna possível evitar-se a síntese de subprodutos indesejáveis, de tal maneira que haja somente um único sítio de reatividade durante a reação de acoplamento.

Os compostos de fórmulas (VII) podem ser preparados de acordo com o conjunto de proteções seletivas pelos grupos de proteção para aminas, por exemplo, BOC ou Z, tal como são indicados em Protective Groups in Organic Synthesis (Teodora W. Greene, 2a. Ed., John Wiley and Sons, 1991) ou em Synthesis, 2002, 15, 2195; Bull.Chem. Soc. Jpn., 1998, 71, 699; Tet. Lett., 1998, 39, 439; Tet. Lett., 2001, 42, 2709; OPPI, 1994, 26, 599; Synthesis, 1994, 37; J. Org. Chem., 1998, 63, 9723; Tet. Lett., 1994, 35, 2057 e 2061. Estas publicações descrevem a preparação de várias aminas com grupos de proteção usados. Uma pessoa hábil na arte pode proceder por analogia.

Se apropriado, o estágio final do processo de acordo com a invenção consiste da desproteção dos grupos funcionais amina, protegidos por apropriados grupos.

Os compostos da presente invenção têm centros quirais resultantes da origem natural da podofilotoxina. No composto de fórmula (V), os átomos de hidrogênio das posições 5, 5a, 8a e 9 têm as seguintes posições: H5 α , H5a α , H8a β , H9 β . No composto de fórmula (VI), a configuração dos carbonos assimétricos é vantajosamente como segue: 5S, 5aS, 8aS, 9R.



A presente invenção também refere-se ao composto intermediário de fórmula (V), em que R_1 , R_2 e R_3 representam um átomo de hidrogênio.

5 Outro assunto da presente invenção é, como medicamentos, os compostos de fórmula (I) de acordo com a invenção.

Os compostos da presente invenção exibem uma estrutura de epipodofilotoxina substituída na posição-4 por um grupo acetamida, ele próprio opcionalmente substituído por aminas ou poliaminas.

10 Os compostos tendo uma cadeia de poliamina enxertada em uma unidade intercalante-DNA do tipo acridina (J. Org. Chem., 2000, 65, 5590; J. Med. Chem., 2002, 45, 5098) ou uma unidade alquilante, tal como cloroambucila (J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1992, 298), foram descritos.

15 Os compostos da presente invenção, que são qualitativa e quantitativamente diferentes dos outros compostos anticâncer conhecidos, incluindo etoposida, têm a propriedade de serem agentes que têm o DNA como alvo e tiveram sucesso em realizar avaria nele.

20 A célula normalmente reage, defrontada com avaria no DNA, colocando em ação sistemas de reparo que então asseguram que ele permaneça intacto. Com os compostos da presente invenção, este processo de reparo não é muito eficaz e a célula então se desenvolve em direção à apoptose. Este fenômeno de clivagem do DNA é exibido e medido por fluorescência no teste de cornetas (vide abaixo).

25 Os compostos da presente invenção têm propriedades citotóxicas in vitro e propriedades antitumor in vivo, com respeito a diversos modelos de murinos.

Os compostos da presente invenção exibem uma excepcional e surpreendente atividade antitumor, uma vez que eles têm a possibilidade de realizar uma significativa e mesmo completa regressão do tumor, sem causar efeitos colaterais, dada a forma sólida de perda de peso. Isto resulta na

esperança do paciente de atividade eficaz com respeito a tumores não-sólidos e tumores sólidos, tais como melanomas, cânceres colorretais, cânceres do pulmão, próstata, bexiga, mamas, útero, estômago, pâncreas ou fígado, cânceres ovarianos, leucemias, em particular linfomas e mielomas, cânceres ENT e cânceres do cérebro.

Um objetivo particular da presente invenção é uma composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um composto da fórmula (I) e um excipiente adequado para administração pela via oral ou parenteral.

As composições farmacêuticas de acordo com a invenção, que compreendem pelo menos um composto de fórmula (I) e um excipiente adequado para administração oral ou parenteral, pode ser administrado sozinho ou em combinação com outros agentes anticâncer. Eles podem ser apresentados em uma via adequada para tais administrações uma ou mais vezes por dia, na forma injetável, ou na forma de cápsulas, incluindo cápsulas de gelatina dura, ou comprimidos, na dosagem de 0,5 a 300 mg/m², pela via injetável, e de 1 a 100 mg/m², pela via oral.

Finalmente, a presente invenção refere-se ao uso de um composto de fórmula (I) de acordo com invenção na preparação de um medicamento destinado para tratamento anticâncer de tumores não sólidos e tumores sólidos, tais como melanomas, cânceres colorretais, cânceres do pulmão, próstata, bexiga, mamas, útero, estômago, pâncreas ou fígado, cânceres ovarianos, leucemias, em particular linfomas e mielomas, cânceres ENT e cânceres do cérebro.

De acordo com uma forma alternativa vantajosa da invenção, o medicamento compreende:

- a) o composto de fórmula (I) e
 - b) um agente anticâncer,
- como produtos de combinação para um uso que é simultâneo,

separado ou disperso através do tempo, no tratamento de cânceres e/ou tumores.

Em particular, o agente anticâncer é escolhido dentre o grupo consistindo de derivados de platina, taxanos, vincas e 5-FU.

5 No contexto da presente invenção, o medicamento é também pretendido para o tratamento de tumores que são resistentes a terapias convencionais.

10 O seguintes exemplos tornam possível ilustrar a invenção e não são limitativos. Nos espectros de NMR prótonica dos seguintes exemplos, a numeração usada para a designação dos prótons é aquela em uso e mostrada na estrutura da podofilotoxina de fórmula (VIII). Ao contrário, a numeração usada para a designação dos produtos sintetizados é aquela usada e definida para o composto de fórmula (I).

Exemplo 1: Preparação dos compostos:

15 * **5-(3,4-Diidróxi-5-metoxifenil)-9-hidróxi-5,8,8a,9-tetraidro-5aH-furo [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona; e**

* **9-Hidróxi-5-(3,4,5-triidroxifenil)-5,8,8a,9-tetraidro-5aH-furo[3',4':6,7] nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona**

20 10 g (24 mmol) de podofilotoxina são dissolvidos em 60 ml de ácido trifluoroacético, 5,4 ml (72 mmol) de sulfeto de dimetila e 47 ml (72 mmol) de ácido metanossulfônico são sucessivamente adicionados. A agitação é mantida por 9 horas, 5,4 ml (72 mmol) de sulfeto de dimetila são novamente adicionados e a agitação é mantida por 9 horas. O meio é passado rapidamente sobre gelo (600 ml) e extraído com acetato de etila (3 x 300 ml).

25 As fases orgânicas são lavadas com água e então com uma solução NaHCO₃ para neutralidade. Após secar sobre sulfato de sódio, filtração e evaporação, 6,3 g de produto de desmetilação bruto são obtidos. Cromatografia flash sobre sílica (elução: CH₂Cl₂/acetona 9/1) torna impossível isolar 550 mg de 5-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-9-hidróxi-5,8,8a,9-tetraidro-5aH-furo[3',4':6,7]



nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona, isto é, 4'-demetilepipodofilotoxina of fórmula (Va). 1,10 g of 5-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-9-hidróxi-5,8,8a,9-tetraidro-5aH-faro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona (Analisado:

$C_{20}H_{18}O_8 \cdot 0.15H_2O$; calculado: C% 61,74, H% 4,74; Encontrado: C% 61,67,

5 H% 4,68), e então 1,9 g de 9-hidróxi-5-(3,4,5-triidroxifenil)-5,8,8a,9-tetraidro-5aH-furo[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona são também isolados. O último composto tem um espectro NMR protônico com as seguintes características: 1H NMR (d_6 -DMSO) δ 8,65 (m, 2H), 7,95 (m, 1H), 6,71 (s, 1H, H₅), 6,47 (s, 1H, H_s), 5,98 (d, 2H, J = 2 Hz, OCH₂O), 5,93 (s, 2H, H₂, H_{6'}), 4,68 (d, 1H, J = 3,2 Hz, H₄), 4,34 (t, 1H, J = 8 Hz, H_{11a}), 4,29 (d, 1H, J = 5,2 Hz, H₁), 4,16 (dd, 1H, J = 8 Hz, J' = 10 Hz, H_{11b}), 3,17 (dd, 1H, J = 5,2 Hz e J' = 14 Hz, H₂), 2,76 (m, 1H, H₃).

Exemplo 2: Preparação de 2-benziloxicarbonilóxi-5-(9-hidróxi-6-oxo-5,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)-3-metoxifenil éster do éster benzílico do ácido carbônico

2,65 ml (18,5 mmol) de cloroformiato de benzila são introduzidos, a 0 °C sob nitrogênio, com agitação, dentro de uma solução de 2,4 g (6,2 mmol) de 5-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-9-hidróxi-5,8,8a,9-tetraidro-5aH-furo[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona, obtida de acordo com o Exemplo 1, em uma mistura 1/1 de CH₂Cl₂ e THF, na presença de 4,3 ml (30 mmol) de trietilamina. A reação é continuada por 1 hora, em seguida o meio é vertido em água e as fases orgânicas são separadas por sedimentação, secadas sobre sulfato de sódio e evaporadas. O composto de bicarbonato obtido é cristalizado por isopropil éter (3,1 g, produção 76%). TLC SiO₂ (CH₂Cl₂/MeOH 95/5) R_f = 0,6; 1H NMR (d_6 -DMSO) δ 7,36 (m, 10H, Ar), 5,22 (s, 2H, benzil CH₂), 5,17 (s, 2H, benzil CH₂).

Exemplo 3: Preparação de 2,3-bis(benziloxicarbonilóxi)-5-(9-hidróxi-6-oxo-5,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-

d][1,3]dioxol-5-il)fenil éster do éster benzílico do ácido carbônico

Pela mesma reação que no Exemplo 2, porém utilizando-se 5-(3,4,5-triidroxifenil)-9-hidróxi-5,8,8a,9-tetraidro-5aH-furo[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona em vez de 5-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-9-hidróxi-5,8,8a,9-tetraidro-5aH-furo[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona, é obtido o derivado tricarbonato com uma produção de 96%. TLC SiO₂(CH₂Cl₂/MeOH 95/5) R_f = 0,5; ¹H NMR (d₆-DMSO) δ 7,38 (m, 10H, Ar), 7,31 (m, 5H, Ar), 5,21 (s, 4H, benzil CH₂), 5,17 (s, 2H, benzil CH₂).

Exemplo 4: Preparação de 2-cloro-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto pode ser obtido de duas diferentes maneiras.

a) 30 g de 4'-demetilepipodofilotoxina de fórmula (Va) são adicionados em 47,4 ml de cloroacetnitrila e então, com agitação, 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado são adicionadas. A agitação é mantida em temperatura ambiente por 3 horas. 300 ml de isopropanol são então adicionados com agitação. O precipitado obtido é filtrado e lavado com 200 ml de isopropanol. O precipitado é enxaguado com água a pH neutro e então com etil éter. Após secar sob vácuo, 34,2 g (produção 96%) de um sólido branco são obtidos. Ponto de fusão: 240 °C; ¹H NMR (d₆-DMSO) δ 8,65 (d, 1H, J = 7 Hz, NH), 8,26 (s, 1H, 4'-OH), 6,78 (s, 1H, H₅), 6,54 (s, 1H, H₈), 6,24 (s, 2H, H₂, H₆), 5,99 (d, 2H, J = 11,3 Hz, OCH₂O), 5,17 (dd, 1H, J = 4,56 e 7 Hz, H₄), 4,51 (d, 1H, J = 5,2 Hz, H₁), 4,29 (t, 1H, J = 8 Hz, H_{11a}), 4,10 (s, 2H, CH₂Cl), 3,78 (dd, 1H, J = 8 Hz e 10 Hz, H_{11b}), 3,63 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3,15 (dd, 1H, J = 5,2 e 14 Hz, H₂), 3,97 (m, 1H, H₃).

b) 0,2 ml de ácido sulfúrico concentrado são adicionados em temperatura ambiente a 1 g de podofilotoxina agitada em suspensão em 2 ml de cloroacetnitrila. A solução torna-se homogênea. A agitação é mantida em temperatura ambiente por 2 h e então o meio de reação é vertido sobre gelo e

extraído com acetato de etila. Após separação por sedimentação, secagem sobre sulfato de sódio e filtragem, 840 mg de cristais marrons claro são obtidos, correspondendo a 2-cloro-N-[9-(3,4,5-trimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida.

- 5 Ponto de fusão = 145 °C. TLC SiO₂ (CH₂Cl₂/MeOH 95/5, R_f = 0,5); ¹H NMR (d₆DMSO) δ 4,1 (s, 2H, CH₂Cl₂).

Este composto é desmetilado, de acordo com as condições do Exemplo 1, para prover o mesmo composto acima no Exemplo 4a), com uma produção de 20% após cromatografia convencional.

10

Exemplo 5: Preparação de 2-cloro-N-[9-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

15

De acordo com o mesmo procedimento que no Exemplo 4a), porém com 5-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-9-hidróxi-5,8,8a,9-tetraidro-SaH furo[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona, obtida de acordo com o Exemplo 1, um sólido bege é isolado após cromatografia flash sobre SiO₂ (eluição: CH₂Cl₂/MeOH 98/2) com uma produção de 28%. MS-ESI (*m/z*): 462,1 (MH⁺), 479,1 (MNH₄⁺).

20

Exemplo 6: Preparação de 2-benziloxicarbonilóxi-5-[9-(2-cloroacetilamino)-6-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-3-metoxifenil éster do éster benzílico do ácido carbônico

25

De acordo com o mesmo procedimento que no Exemplo 4a), porém utilizando 2-benziloxicarbonilóxi-5-(9-hidróxi-6-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro-[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)-3-metoxifenil éster do éster benzílico do ácido carbônico, obtido no Exemplo 2, 2-benziloxicarbonilóxi-5-[9-(2-cloroacetilamino)-6-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-3-metoxifenil éster do éster benzílico do ácido carbônico é isolado com uma produção de 83%, na

forma de uma espuma branca. TLC SiO₂ (CH₂Cl₂/MeOH 95/5, R_f = 0,63); ¹H NMR (d₆-DMSO) δ 4,11 (s, 2H, CH₂Cl).

Exemplo 7: Preparação de 2-cloro-N-[8-oxo-9-(3,4,5-triidroxifenil)-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

5

De acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 4a), porém com 5-(3,4,5-triidroxifenil)-9-hidróxi-5,8,8a,9-tetraidro-5aH-faro[3',4':6,7] nafto[2,3-d][1,3]dioxol-6-ona, obtida no Exemplo 1, uma espuma bege é isolada após cromatografia flash em SiO₂ (eluição CH₂Cl₂/MeOH 95/5) com uma produção de 20%. MS-ESI (m/z): 448,0 (MH⁺), 465,0 (MNH₄⁺).

10

Exemplo 8: Preparação de 2,3-bis(benziloxicarboniloxi)-5-[9-(2-cloroacetilamino)-6-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]fenil éster do éster benzílico do ácido carbônico

15

De acordo com o mesmo procedimento que no Exemplo 4a), porém utilizando-se 2,3-bis(benziloxicarbonilóxi)-5-(9-hidróxi-6-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]fenil éster do éster benzílico do ácido carbônico, obtido no Exemplo 3, 2,3-bis(benziloxicarbonilóxi)-5-[9-(2-cloroacetilamino)-6-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]fenil éster do éster benzílico do ácido carbônico é isolado.

20

Preparação dos compostos finais

Exemplo 9: Preparação de 2-(2-dimetilaminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

25

0,75 ml (5,2 mmol) of trietilamina e em seguida uma ponta de espátula de iodeto de potássio KI são adicionados a 1 g (2,1 mmol) do composto do Exemplo 4 em solução em 30 ml de acetonitrila e 3 ml de DMF.

Uma solução de 0,6 ml (5,2 mmol) de N,N-dimetil-1,2-etanodiamina em 10 ml de acetonitrila é então adicionada com agitação em temperatura ambiente. A agitação é mantida por 2 dias, em seguida o meio de reação é evaporado e o resíduo é absorvido com água (100 ml) e extraído com CH₂Cl₂ (3 vezes 25 ml); após separação por sedimentação, a fase orgânica é secada sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. O resíduo é purificado por cromatografia flash em Cromagel 60 AC sílica (malha 35 – 70) (eluente: CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 90/9/1). 400 mg de uma espuma branca são obtidos (produção 36%). O dicloridreto é precipitado de acetona pela adição de uma solução de isopropanol saturada com ácido clorídrico. Ponto de fusão = 230 °C; base ¹H NMR (d₆-DMSO) δ 8,26 (m, 1H, OH), 8,20 (d, 1H, J = 8,3 Hz, NH amida), 6,76 (s, 1H, H₅), 6,53 (s, 1H, H₈), 6,24 (s, 2H, H₂₋₆), 5,99 (d, J = 11,56 Hz, OCH₂O), 5,20 (dd, 1H, J = 8,3 e 4,7 Hz, H₄), 4,50 (d, 1H, J = 5,2 Hz, H₁), 4,28 (t, 1H, J = 8 Hz, H_{11a}), 3,73 (dd, 1H, J = 10,8 e 8 Hz, H_{11b}), 3,63 (s, 6H, 2 x OMe), 3,37 (m, 1H, NH), 3,19 (s, 2H, CH₂CO), 2,94 (m, 1H, H₁), 2,50 (m, 4H, 2 x CH₂), 2,08 (s, 6H, 2 x CH₃); MS-ESI (m/z): 528,2 (MH⁺).

Os seguintes compostos são obtidos pela mesma reação, porém com os correspondentes materiais de partida:

Exemplo 10: Preparação de N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(2-morfolin-4-il)etilamino)acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e 2-(morfolin-4-il)etanamina.

Dicloridreto: Ponto de fusão = 212 °C; MS-ESI (m/z): 570,2 (MH⁺).

Exemplo 11: Preparação de 2-[(2-dimetilaminoetil)metilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto [2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e N,N,N-trimetil-1,2-etanodiamida. Dicloridreto: P.f. = 238 °C

Exemplo 12: Preparação de 2-dimetilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e dimetilamina.

Cloridreto: P.f. (°C) > 260 °C;

Analísado: C₂₅H₂₈N₂O₈.HCl; calculado: C% 57,64, H% 5,61, N% 5,38; encontrado: C% 57,47, H% 5,47, N% 5,26.

Exemplo 13: Preparação de N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(piperidin-1-il)acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e piperidina.

Cloridreto: Ponto de fusão = 269-270 °C; analisado: C₂₈H₃₂N₂O₈.HCl; calculado: C% 59,95, H% 5,93, N% 4,99; encontrado: C% 59,57, H% 6,25, N% 4,96.

Exemplo 14: Preparação de 2-benzilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e benzilamina.

Cloridreto: Ponto de fusão = 225 °C

Exemplo 15: Preparação de N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(piperazin-1-il)acetamida Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e piperazina.

Dicloridreto: Ponto de fusão = 237-8 °C

Exemplo 16: Preparação de 2-(4-benzilpiperazin-1-il)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e N-benzilpiperazina.

Dicloridreto: Ponto de fusão = 205 °C

Exemplo 17: Preparação de 2-etilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3] dioxol-5-il] acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e etilamina.

Exemplo 18: Preparação de N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2- (propilamino) acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e propilamina.

Exemplo 19: Preparação de 2-butilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e butilamina.

Exemplo 20: Preparação de 2-(2-dietilaminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e N,N-dietil-1,2-etanodiamina.

Exemplo 21: Preparação de 2-(2-dietilaminopropilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto [2,3-d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

Este composto é preparado do composto do Exemplo 4 e N,N-dietil-1,3-propanodiamina.

Exemplo 22: Preparação de 2-amino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il] acetamida

Este composto é obtido em 2 estágios do composto obtido no Exemplo 4. Em um primeiro estágio, o composto do Exemplo 4 é tratado de acordo com o processo do Exemplo 9, com benzilamina em lugar de N,N-dimetil-1,2-etanodiamina. O correspondente intermediário benzilamino, isto é, o composto do Exemplo 14, é obtido (TLC SiO₂ CH₂Cl₂/MeOH 95/5: R_f = 0,34). Em um 2o. estágio, este intermediário é desbenzilado: 830 mg deste intermediário são colocados com vigorosa agitação em uma mistura de MeOH (30 ml) e THF (20 ml) com 100 mg de 10% paládio-sobre-carvão vegetal e uma atmosfera de nitrogênio por 8 h. O catalisador é subsequentemente filtrado e o filtrado é evaporado. Eluição em uma coluna de sílica (CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH-90/9/1) fornece 300 mg do composto desbenzilado, cristalizado de AcOEt (produção 43%). O cloridreto é formado em acetona pela adição de solução HCl isopropanólica. Ponto de fusão = 236 °C; MS-APCI (m/z) 457,1 (MH⁺).

Exemplo 23: Preparação de 2-(2-aminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto é obtido em 2 estágios, a partir do composto obtido no Exemplo 4. Em um 1o. estágio, o composto do Exemplo 4 é tratado de acordo com o processo do Exemplo 9 com 2-aminoetilcarbamato de benzila (Synthesis, 2002, 15, 2195, Bull. Chem. Soc. Jpn., 1998, 71, 699) em vez de N,N-dimetil-1,2-etanodiamina. O intermediário tendo um grupo protetor N-benziloxicarbonila é obtido, cujo cloridreto é formado em acetona, na presença de solução de isopropanol HCl. Ponto de fusão = 178 °C. MS-

APCI (m/z) 634,3 (MH⁺). Em um segundo estágio, este intermediário é tratado, como no Exemplo 22, com paládio sobre carvão vegetal e hidrogênio. O dicloridreto é obtido com uma produção de 89%. Ponto de fusão = 236 °C. Analisado: C₂₅H₂₉N₃O₈·2HCl; calculado: C% 52,46, H% 5,46, N% 7,34; encontrado: C% 52,78, H% 5,46, N% 7,14.

Exemplo 24: Preparação de 2-(3-aminopropilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3- d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

10 O intermediário possuindo um grupo de proteção N-benziloxycarbonila é obtido pela mesma seqüência de reação que para o Exemplo 22, porém utilizando-se os correspondentes materiais de partida; O cloridreto do intermediário é formado em acetona e éter etílico, na presença de solução de isopropanol HCl. Ponto de fusão = 132 °C. MS-APCI (m/z) 648,1 (MH⁺). A desbenzilação, de acordo com o mesmo processo que no 15 Exemplo 22, fornece o dicloridreto. Ponto de fusão = 219 °C. MS-APCI (m/z) 514,3 (MH⁺).

Exemplo 25: Preparação de 2-(4-aminobutilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3- d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

20 O intermediário possuindo um grupo protetor N-benziloxycarbonil é obtido pela mesma seqüência de reação que no Exemplo 22, porém utilizando-se benzil 4-aminobutilcarbamato, obtido de acordo com Tet. Lett., 2001, 42, 2709; o intermediário cristaliza-se no estado de base de éter etílico. Ponto de fusão = 95-96 °C. MS-APCI (m/z) 662,4 (MH⁺). A 25 desbenzilação, subseqüentemente provê o dicloridreto. Ponto de fusão = 201 °C. MS- ESI (m/z) 528,2 (MH⁺). A forma hidratada é formada com 3H₂O. Ponto de fusão = 223 °C. Analisado: C₂₇H₃₃N₃O₈·2HCl; calculado: C% 54,01, H% 5,87, N% 7,00; encontrado C% 53,64, H% 5,63, N% 6,85.

Exemplo 26: Preparação de 2-{3-[4-(3-aminopropilamino)-

butilamino]propilamino}-N-[8-oxo-9-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto é obtido pelo mesmo procedimento que no Exemplo 22, porém com o intermediário 2-cloro-N-[9-(3,4, 5-trimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida, obtido no Exemplo 4b) e com benzil (4-[(3-aminopropil)benziloxicarbonilamino]butil}(3-benziloxicarbonilaminopropil)carbamato (Tet. Lett., 1998, 39, 439), na forma de um óleo incolor.

TLC SiO₂ (CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 95/4,5/0,5) R_f = 0,46; MS-ESI (m/z) 1058,5 (M⁺). A desbenzilação de acordo com o mesmo processo do Exemplo 20 fornece o tetraidrocloro. Ponto de fusão = 209 °C. MS-ESI (m/z) 656,3 (MH⁺).

Exemplo 27: Preparação de 2-{3-[4-(3-aminopropil-amino)butilamino] propilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o processo do Exemplo 22, do composto obtido de acordo com o Exemplo 4, com benzil {4-[(3-aminopropil)-benziloxicarbonilamino]butil}(3-benziloxicarbonilaminopropil)carbamato (Tet. Lett., 1998, 39, 439). O correspondente intermediário benzil (3-benziloxicarbonilaminopropil)(4-{benziloxicarbonil-[3-({[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d]dioxol-5-ilcarbamoil]metil}-amino)propil]amino}butil)carbamato é obtido (TLC SiO₂CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 95/4,5/0,5); R_f = 0,27. Em um 2o. estágio, a desbenzilação subseqüentemente fornece o tetracloridreto. Ponto de fusão = 267 °C. MS-ESI (m/z) 642,2 (MH⁺). Analisado: C₃₃H₄₇N₅O₈·4HCl; calculado: C% 50,32, H% 6,53, N% 8,89; encontrado: C% 50,264, H% 6,57, N% 8,66.

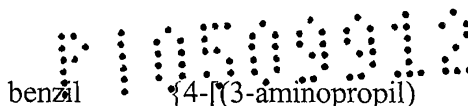
Exemplo 28: Preparação de 2-{3-[4-(3-aminopropil-

amino)butilamino] propilamino)-N-[9-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o processo do Exemplo 22, do composto obtido no Exemplo 5, 5,2-cloro-N-[9-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida, com benzil {4-[(3-aminopropil) benziloxicarbonilamino]butil}-(3-benziloxicarbonilaminopropil)carbamato (Tet. Lett., 1998, 39, 439). O intermediário benzil (3-benziloxicarbonilaminopropil)(4-{benziloxicarbonil[3-({[9-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d]dioxol-5-ilcarbamoil]metil}amino)propil]amino}butil)carbamato é obtido. TLC SiO₂ (CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 95/4,5/0,5); R_f = 0,15. Em um 2o. estágio, 20 mg de 10% de paládio-sobre-carvão são adicionados, após purga com nitrogênio, a uma solução de 90 mg deste intermediário em 10 ml de MeOH. A purga é realizada com um balão dilatado com hidrogênio e a atmosfera de hidrogênio é mantida através do meio de reação com vigorosa agitação por 1 hora. Após purgar com nitrogênio, 0,1 ml de solução HCl isopropanólica (3,6 N) é adicionado ao meio, o catalisador é filtrado e enxaguado com MeOH e então o filtrado é evaporado à secura. O resíduo é absorvido em 20 ml de éter etílico e o precipitado cloridreto é filtrado e então secado. 20 mg de cristais são obtidos (Produção 30%).

Exemplo 29: Preparação de 2-{3-[4-(3-aminopropilamino)-butilamino] propilamino}-N-[8-oxo-9-(3,4,5-triidroxifenil)-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o processo do Exemplo 22, do composto obtido no Exemplo 7, 2-cloro-N-[9-(3,4,5-triidroxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d]



[1,3]dioxol-5-il]acetamida, com benzil {4-[(3-aminopropil) benziloxicarbonilamino]butil} (3-benzilóxi-carbonilaminopropil)carbamato (Tet. Lett., 1998, 39, 439). O intermediário benzil (3-benziloxicarbonilaminopropil)(4-{benziloxicarbonil-[3-((8-oxo-9(3,4,5-triidroxifenil)-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d]dioxol-5-il-carbamoil]metil}amino)propil]amino}butil)carbamato é obtido. TLC SiO₂ (CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 95/4,5/0,5); R_f = 0,15. No 2o. estágio este intermediário é hidrogenolizado de acordo com o processo do Exemplo 28. Um tetraidrocloro é então obtido por precipitação de éter etílico. Ponto de fusão = 115 °C; MS-ESI (m/z) 613,3 (MH⁺).

Exemplo 30: Preparação de 2-(4-aminobutilamino)-N-[9-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

O intermediário possuindo um grupo de proteção N-benziloxicarbonila é obtido pela mesma seqüência de reação que no Exemplo 25, porém utilizando-se o intermediário obtido no Exemplo 5, em vez do intermediário obtido no Exemplo 4; TLC SiO₂(CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 90/9/1); R_f = 0,26. A desbenzilação de acordo com o mesmo processo que no segundo estágio do Exemplo 28 fornece o dicloridreto na forma de um pó cremoso. Ponto de fusão = 94 °C. Este mesmo composto é também obtido pela reação de 2-benziloxicarbonilóxi-5-[9-(2-cloroacetilamino)-6-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-3-metoxifenil ester do éster benzílico do ácido carbônico, ele próprio obtido no Exemplo 6 de acordo com o procedimento do Exemplo 25, também utilizando-se 4-aminobutilcarbamato de benzila, seguido por hidrogenólise.

Exemplo 31: Preparação de 2-[3-(4-aminobutilamino)propilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o processo do Exemplo 22, do composto obtido no Exemplo 4 com benzil {[(3-aminopropil)benzilóxi-carbonilamino]butil} carbamato (Synthesis, 1994, 37). O correspondente intermediário benzil (4-{benziloxicarbonil-[3-({[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto [2,3-d][1,3]dioxol-5-ilcarbamoil]metil)amino)propil]amino}butil} carbamato é obtido. No 2o. estágio, a desbenzilação de acordo com o mesmo processo que no Exemplo 22 fornece o tricloridreto. Ponto de fusão = 255 °C; MS-ESI (m/z) 585,2 (MH+).

10

Exemplo 32: Preparação de 2-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto [2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

15

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o processo do Exemplo 22, do composto obtido no Exemplo 4 com benzil {3-(4-aminobutil)benzil-oxicarbonilamino]propil} carbamato (J. Org. Chem., 1998, 63, 9723). O correspondente intermediário benzil(3-benziloxicarbonilaminopropil)-[4-({[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-ilcarbamoil]metil}amino)butil] carbamato é obtido. Em um 2o. estágio, a benzilação de acordo com o mesmo processo do Exemplo 22 fornece o tricloridreto. Ponto de fusão = 199 °C; MS-ESI (m/z) 585,2 (M+); Analisado: C₃₀H₄₀N₄O₈·3HCl; calculado: C% 51,92, H% 6,24, N% 8,07; encontrado: C% 52,30, H% 6,27, N% 7,88.

25

Exemplo 33: Preparação de 2-[3-(3-aminopropilamino)propilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7] nafto [2,3-d] [1,3dioxol-5-il]acetamida

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o

processo do Exemplo 22, do composto obtido no Exemplo 4 com benzil (3-aminopropil)(3-benziloxicarbonilaminopropil)carbamato (Tet. Lett., 1994, 35, 2057 e 2061). O correspondente intermediário benzil (3-benziloxicarbonilaminopropil)-[3-({[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-ilcarbamoil metil}amino)propil]carbamato é obtido. Em um 2o. estágio, a desbenzilação de acordo com o mesmo processo do Exemplo 22 fornece o tricloridreto. MS-ESI (m/z) 571,2 (M+).

Exemplo 34: Preparação de 2-{3-[3-(3-aminopropil-amino)propilamino] propilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o processo do Exemplo 22, do composto obtido no Exemplo 4 com benzil (3-aminopropil){3-[benziloxicarbonil(3-benziloxicarbonilaminopropil)amino]propil}carbamato, preparado de maneira análoga ao método do Exemplo 27. Em um 2o. estágio, a desbenzilação de acordo com o mesmo processo que no Exemplo 22 provê tetracloreto de 2-{3-[3-(3-aminopropil amino)propil amino]propilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida. MS-ESI (m/z) 628,1 (M+).

Exemplo 35: Preparação de 2-{4-[4-(4-Aminobutilamino)butilamino]-butilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o processo do Exemplo 22, do composto obtido no Exemplo 4 com éster benzílico do ácido (4-aminobutil){4-[benziloxicarbonil(4-benziloxicarbonilaminobutil)amino]butil}carbâmico, preparado em uma

maneira análoga ao método (Synthesis, 1994, 37). Em um 2o. estágio, após purificação cromatográfica, a desbenzilação de acordo com o mesmo processo do Exemplo 22 fornece tetracloreto de 2-{4-[4-(4-aminobutilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-

5 5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il] acetamida. Ponto de fusão = 263 °C; MS-ESI (m/z) 670,6 (M+).

Exemplo 36: Preparação de 2-[4-(4-Aminobutilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto [2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

10

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o processo do Exemplo 22, do composto obtido no Exemplo 4 com éster benzílico do ácido (4-aminobutil)(4-benziloxicarbonilaminobutil)carbâmico, preparado em uma maneira análoga ao método (Synthesis, 1994, 37). Em um 15 2o. estágio, após purificação cromatográfica, a desbenzilação de acordo com o mesmo processo que no Exemplo 22 fornece tricloreto de 2-[4-(4-aminobutilamino)-butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida. Ponto de fusão = 225 °C; MS-ESI (m/z) 600,2 (M+).

20

Exemplo 37: Preparação de 2-(5-Aminopentilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

25

Este composto é obtido em 2 estágios, de acordo com o processo do Exemplo 22, do composto obtido no Exemplo 4 com 5-(benziloxicarbonilamino)pentilamina. Em um 2o. estágio, após purificação cromatográfica, a desbenzilação de acordo com o mesmo processo do Exemplo 22 fornece dicloreto de 2-(5-aminopentilamino)-N-[9-(4-diidróxi-3,5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3] dioxol-5-il]acetamida.

Ponto de fusão = 215 °C; MS-ESI (m/z) 543,1 (M+).

BRUNO



RESULTADOS FARMACOLÓGICOS DOS COMPOSTOS
DA INVENÇÃO Testes in vitro e in vivo

1) **Atividade in vitro:**

5 a) **Teste de citotoxicidade**

O teste usado é a inibição do crescimento de células da linhagem humana A549 (câncer de pulmão de células-não-pequenas):

As células tumorais A549 são semeadas em uma placa de 96 poços em meio RPMI 1640, sem vermelho de fenol (Seromed), a que 5% de soro de bezerro fetal são adicionados (100 µl/poço, $1,25 \times 10^4$ células/ml). Após incubação a 37 °C por 24 horas em um incubador compreendendo 5% CO₂, o meio é substituído por aquele compreendendo o composto de teste, após o que as placas são incubadas por mais 48 horas. A sobrevivência celular é avaliada por medição da luminescência, após liberação de ATP dentro do meio, usando-se lise celular, soluções de luciferase e luciferina presentes no kit ATP-Lite-M™, como é recomendado pelo fabricante (Packard, Rungis, França). Cada condição experimental foi testada pelo menos três vezes como seis cópias idênticas. Os resultados, expressos como IC₅₀ (M), são confrontados na Tabela I e mostram a citotoxicidade dos compostos.

20 b) **Teste para detecção de rompimentos do DNA na célula:**

O teste comets é usado. Os rompimentos do DNA são detectados nas células A549, após incubar por 1 hora com 10 µM de cada um dos compostos de teste. Etoposida e vinorelbina são usados como controles positivo e negativo, respectivamente. Os rompimentos são revelados utilizando-se o teste comets (Br J. Cancer 2000, 83, 1740). Para cada composto, vinte e cinco células são analisadas e o Momento de Cauda (TM) médio é calculado empregando-se Komet Software (Kinetic Imaging, UK). Os resultados são expressos com respeito ao TM do etoposida, adotado como unidade, e são cotejados na Tabela I. A vantagem dos produtos da presente

invenção sobre a indução de sua clivagem do DNA, que é superior àquela do etoposida, é assim mostrada.

Tabela I Atividade in vitro

Composto	Citotoxicidade, células A549, IC ₅₀ (M)	TM
Etoposida	1,8 x 10 ⁻⁶	1
Vinorelbina	3,7 x 10 ⁻⁹	0
Exemplo 9	6 x 10 ⁻⁶	2,81
Exemplo 12	2 x 10 ⁻⁷	2,32
Exemplo 22	1 x 10 ⁻⁶	3,89
Exemplo 25	8 x 10 ⁻⁸	1,09
Exemplo 27	2 x 10 ⁻⁷	1,22

2) Atividade in vivo

5 Os compostos da presente invenção têm uma solubilidade em água que torna possível uma forma de administração por infusão, por injeção ou pela via oral. Eles são providos na forma de seu cloridreto solúvel em água, cujos valores de solubilidade são confrontados na Tabela II.

10 **Modelo de tumor experimental P388.** O modelo usado é leucemia de murino P388 (*Tumor Models in Cancer Research.*, Teicher, B. A. ed., Humana Press Inc., Totowa, NJ., pp. 23-40, 2002), que é mantido por transplantes intraperitoneais sucessivos em camundongos DBA/2 (DBA/2Jico, Charles River), como descrito em documentos da arte anterior (Classic in vivo cancer models: Three Examples of mouse models used in experimental therapeutics. *Current Protocols in Pharmacology Unit* 5,24: 15 5.24.1-5.24.16, 2001).

20 O experimento é realizado de acordo com um protocolo já descrito em documentos da arte anterior (*Cancer Chemoter. Pharmacol.*, 1998, 41, 437-447). Este consiste em implantar 10⁶ células de leucemia P388 por camundongo dentro de camundongos híbridos C2DF1 (CD2F1/Cr1BR, Charles River, St Aubin-les-Elbeuf, França) intravenosamente no dia zero. Após aleatorizar os animais nas gaiolas de tratamento e de controle, os compostos a serem avaliados são administrados em uma única injeção



O experimento é realizado de acordo com um protocolo já descrito acima. Tecido de tumor B16 é moído e homogeneizado em uma solução de cloreto de sódio estéril de 0,9%, empregando-se um homogeneizador Dounce e em seguida camundongos C57BL/6 são inoculados subcutaneamente no flanco com 0,5 ml desta preparação de 1 g/ml no dia zero. Após aleatorização dos animais das gaiolas de tratamento e controle, os compostos a serem avaliados são administrados intraperitonealmente nos dias 3, 5, 7 e 10, após o enxerto do tumor. Os animais são subseqüentemente monitorados cada dia, pesados duas vezes semanalmente e qualquer reação clínica é registrada. O tamanho do tumor é medido três vezes semanalmente durante o experimento. O volume do tumor é calculado e a atividade dos compostos sobre o tamanho do tumor é definida pela relação T/C_{volume} (%), correspondendo a (volume médio do tumor do grupo tratado/volume do tumor médio do grupo de controle) x 100.

Os resultados são ilustrados na Tabela II, em que os valores T/C_{volume} ótimos aparecem. Os resultados mostram, inter alia, que os compostos dos Exemplos 25 e 27 resultam em um retardamento significativo do crescimento do tumor, o que é respectivamente refletido por valores T/C_{volume} ótimos de 25% e 7%. Especificamente, de acordo com os critérios do NCI (National Cancer Institute), um valor T/C_{volume} é considerado como significativo se for pelo menos menor do que 42% (*Cancer Res.*, 1991, 51, 4845 – 4852).

**Tabela II. Atividade antitumor·in vivo**

Composto	Solubilidade em água (mg/ml)	T/C _{sobrevivência} Ótima Modelo P388 (%) [dose, mg/kg]	T/C _{volume} Ótimo Modelo B16 (%) [dose, mg/kg]	T/C _{volume} Ótimo Modelo MX-1 (%) [dose, mg/kg]
Exemplo 9	100	157 [10]	-	-
Exemplo 12	16	157 [2,5]	-	-
Exemplo 25	100	129 [10]	25 [20]	51 [10]
Exemplo 27	50	129 [7,5]	7 [7,5]	0 [2,5]

Modelo de tumor experimental MX-1. O modelo usado é um carcinoma mamário humano (Developmental Therapeutics Program, Division of Cancer Treatment, National Cancer Institute, In vivo Cancer Models 1976-1982, NIH Publication No. 84 2635, Washington DC: United States Government Printing Office, 1984), que é mantido por sucessivos transplantes subcutâneos em camundongos Swiss Nude (Ico: Swiss-nu/nu, Iffa Credo, L'Arbresle, França), como foi descrito acima (Classic in vivo cancer models: Three examples of mouse models used in experimental therapeutics. *Current Protocols in Pharmacology Unit* 5,24: 5.24.1-5.24.16, 2001).

O experimento é realizado de acordo com um protocolo já descrito acima (Cancer Chemother. Pharmacol., 1998, 41, 437-447). Camundongos Swiss Nude são enxertados subcutaneamente dentro do flanco com um fragmento de tumor MX-1 no dia zero. Após aleatorização dos animais em suas gaiolas de tratamento e controle, os compostos a serem avaliados são administrados intraperitonealmente no dia 7, 9,11,14, 16 e 18, após enxerto do tumor. Os animais são subseqüentemente monitorados todo dia, pesados duas vezes semanalmente e qualquer reação clínica é registrada. O tamanho do tumor é medido três vezes semanalmente durante o experimento. O volume do tumor é calculado e a atividade dos compostos sobre o tamanho do tumor é definida pela relação T/C_{volume} (%), correspondendo a $(\text{volume médio do tumor do grupo tratado}/\text{volume médio do tumor do grupo de controle}) \times 100$. Os resultados são cotejados na Tabela II. O composto do Exemplo 25 exhibe uma relação T/C_{volume} (%) de 51%, para um tratamento de 10 mg/kg e o composto do Exemplo 27 exhibe uma relação

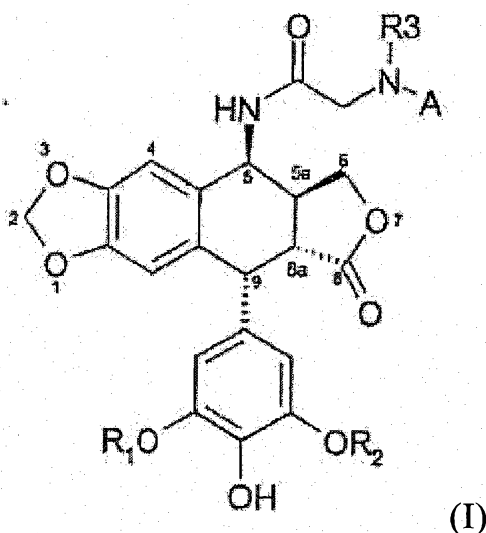
43
A

erradicação

T/C_{volume} (%) de 0% para um tratamento de 2,5 mg/kg, assim mostrando completa erradicação do tumor.

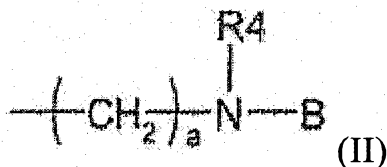
REIVINDICAÇÕES

1. Compostos, caracterizados pelo fato de serem de fórmula (I)



em que

- R_1 e R_2 representam, independentemente entre si, um átomo de hidrogênio ou um radical metila;
- R_3 e A, juntos, formam um anel C_3-C_8 ou
- R_3 representa um radical escolhido do grupo consistindo de um átomo de hidrogênio, um radical C_1-C_4 alquila e um radical benzila e A representa um radical escolhido do grupo consistindo de um átomo de hidrogênio, um radical C_1-C_4 alquila, um radical benzila e um grupo de fórmula (II)



em que a varia de 2 a 5,

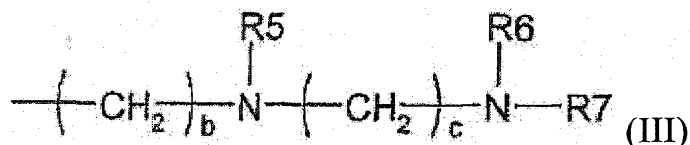
R_4 e B juntos formam um anel C_3-C_8

ou

- R_4 representa um radical escolhido do grupo consistindo de um átomo de hidrogênio, um radical C_1-C_4 alquila e um radical benzila, sendo possível para R_3 e R_4 serem conectados por uma cadeia de alquilenos

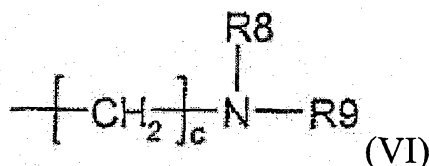
compreendendo 2 ou 3 átomos de carbono, e B representa um radical escolhido do grupo consistindo de:

- um átomo de hidrogênio,
- um radical C₁-C₄ alquila,
- um radical benzila,
- um grupo de fórmula (III)



em que b e c podem variar, independentemente entre si, de 2 a 5 e R5 a R7 representam, independentemente entre si, um radical escolhido do grupo consistindo de um átomo de hidrogênio, um radical C₁-C₄ alquila e um radical benzila, sendo possível para R4 e R5 e/ou R5 e R6 e/ou R6 e R7 serem conectados por uma cadeia alqueno, compreendendo 2 ou 3 átomos de carbono;

- e um grupo de fórmula (IV)



em que c pode variar de 2 a 5 e R8 e R9 representam, cada um independentemente entre si, um átomo de hidrogênio ou um radical C₁-C₄ alquila, sendo possível para R4 e R8 serem conectados por uma cadeia alqueno compreendendo 2 ou 3 átomos de carbono ou R8 e R9, juntos, formam um anel C₃-C₈;

ou seus sais farmacêuticamente aceitáveis, em particular seus sais de adição, com ácidos inorgânicos ou orgânicos.

2. Compostos de acordo com a reivindicação 1, caracterizados pelo fato de R3 a R9 representarem, independentemente entre si, um átomo de hidrogênio ou um radical C₁-C₄ alquila, vantajosamente um átomo de hidrogênio ou um radical metila.

3. Compostos de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizados pelo fato de R3 representar um átomo de hidrogênio ou um radical metila e A representar um átomo de hidrogênio, um radical metila ou um grupo de fórmula (II), em que R4 representa um átomo de hidrogênio, um radical metila ou um radical etila e B representa um radical escolhido do grupo consistindo de:

- um átomo de hidrogênio,

- um radical metila,

- um radical etila,

- um grupo de fórmula (III), em que R5, R6 e R7 representam um átomo de hidrogênio, um radical C₁-C₄ alquila ou um radical benzila,

- um grupo de fórmula (IV), em que R8 e R9, que são idênticos, representam um átomo de hidrogênio ou um radical metila.

4. Compostos de acordo com a reivindicação 1, caracterizados pelo fato de serem escolhidos dos seguintes compostos:

2-(2-dimetilaminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(2-(morfolin-4-il)etilamino)acetamida

2-[(2-dimetilaminoetil)metilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-dimetilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(piperidin-1-il)acetamida

2-benzilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(piperazin-1-il)acetamida

2-(4-benzilpiperazin-1-il)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-etilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]-2-(propilamino)acetamida

2-butilamino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-(2-dietilaminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-(2-dietilaminopropilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-amino-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro [3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-(2-aminoetilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-(3-aminopropilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-(4-aminobutilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-

oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-{3-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]propilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-

5 hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3] dioxol-5-il]acetamida

2-{3-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]propilamino]-N-[9-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-

hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

10 2-{3-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]propilamino}-N-[8-oxo-9-(3,4,5-triidroxifenil)-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-(4-aminobutilamino)-N-[9-(3,4-diidróxi-5-metoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

15 2-[3-(4-aminobutilamino)propilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il] acetamida

2-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

20 2-[3-(3-aminopropilamino)propilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il] acetamida

25 2-[4-(4-aminobutilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-{3-[3-(3-aminopropilamino)propilamino]propilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-{4-[4-(4-aminobutilamino)butilamino]butilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

5 2-[4-(4-aminobutilamino)butilamino]-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

2-(5-aminopentilamino)-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il]acetamida

10 e seus sais de adição com ácidos inorgânicos ou orgânicos.

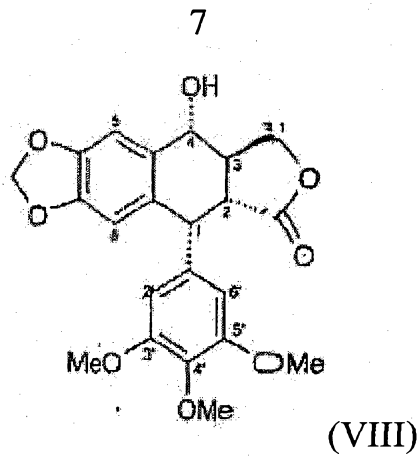
5. Compostos de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser escolhido o seguinte composto 2-{3-[4-(3-aminopropilamino)butilamino]propilamino}-N-[9-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-8-oxo-5,5a,6,8,8a,9-hexaidrofuro[3',4':6,7]nafto[2,3d][1,3]dioxol-5-il]acetamida, ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

6. Compostos de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que o sal farmacêuticamente aceitável do mesmo é derivado de ácido clorídrico.

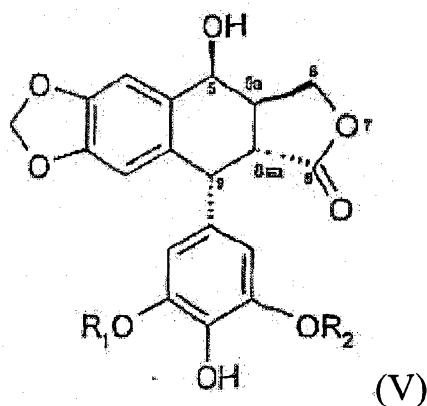
20 7. Compostos de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que o sal farmacêuticamente aceitável do mesmo é derivado de ácido tetraclorídrico.

8. Processo para a preparação dos compostos como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 7, dito processo caracterizado pelo fato de compreender os seguintes estágios sucessivos:

25 a) partindo-se da podofilotoxina de fórmula (VIII)

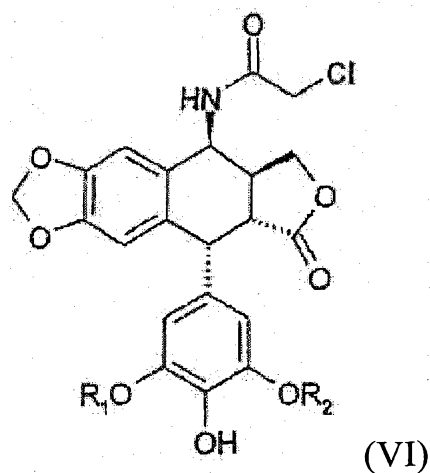


b) se apropriado, preparação por desmetilação de um composto de fórmula (V)



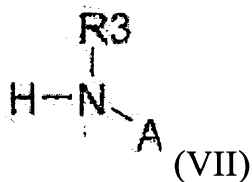
em que R_1 e R_2 são como definidos no composto de fórmula (I); em seguida

5 c) reação do composto de fórmula (V) ou (VIII) com cloroacetnitrila em um meio ácido e, em seguida, se apropriado, reação de desmetilação, para fornecer um composto de fórmula (VI)



em que R_1 e R_2 são como definidos no composto de fórmula (I); em seguida

d) reação do composto de fórmula (VI) com um composto de fórmula (VII)



em que R3 e A são como definidos no composto de fórmula (I), as aminas opcionalmente presentes no grupo A sendo protegidas por um
5 apropriado grupo de proteção, em uma mistura de solventes compreendendo um solvente aprótico polar, na presença de uma base de Lewis.

9. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de, quando a reação é realizada em temperatura ambiente, o solvente aprótico polar usado no estágio d) é acetonitrila e dimetilformamida (DMF).

10 10. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de a base usada no estágio d) ser trietilamina.

11. Composto intermediário de fórmula (V) de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de R₁ e R₂ representarem um átomo de hidrogênio.

15 12. Compostos de fórmula (I) de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizados pelo fato de serem usados como medicamentos.

20 13. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de compreender pelo menos um composto de fórmula (I) como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7 e um excipiente apropriado para administração pela via oral ou parenteral.

25 14. Uso de um composto de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7, dito uso caracterizado pelo fato de ser para a preparação de um medicamento destinado para o tratamento anti-câncer de tumores não-sólidos e tumores sólidos, tais como melanomas, cânceres colorretais, cânceres do pulmão, próstata, bexiga, mama, útero,

estômago, pâncreas ou fígado, cânceres ovarianos, leucemias, em particular linfomas e mielomas, cânceres ENT e cânceres do cérebro.

15. Uso de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de o medicamento compreender:

5

a) o composto de fórmula (I) e

b) um agente anticâncer,

como produtos de combinação para uso simultâneo, separado ou disperso durante o tempo, no tratamento de cânceres e/ou tumores.

10

16. Uso de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de o agente anti-câncer ser escolhido do grupo consistindo de derivados de platina, taxanos, vincas e 5-FU.

17. Uso de acordo com a reivindicação 15 ou 16, caracterizado pelo fato de o medicamento ser destinado para o tratamento de tumores que são resistentes a terapias convencionais.