



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

(11) PI 1014574-5 B1

(22) Data do Depósito: 14/04/2010

(45) Data de Concessão: 02/10/2018



(54) Título: "COMPOSTOS IMITADORES DE LIGAÇÃO REVERSA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO OS MESMOS, MÉTODO PARA FABRICAR E PREPARAR OS MESMOS E USO DA DITA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA"

(51) Int.Cl.: C07D 487/04; C07D 403/02

(30) Prioridade Unionista: 15/04/2009 KR 10-2009-0032937

(73) Titular(es): JW PHARMACEUTICAL CORPORATION

(72) Inventor(es): KYUNG-YUN JUNG; JAE UK CHUNG; MIN-WOOK JEONG; HEE-KYUNG JUNG; HYUN-JU LA; SANG-HO MA; YONG-SIL LEE

(85) Data do Início da Fase Nacional: 14/10/2011

“COMPOSTOS IMITADORES DE LIGAÇÃO REVERSA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO OS MESMOS, MÉTODO PARA FABRICAR E PREPARAR OS MESMOS E USO DA DITA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA”

Campo Técnico

[001]A presente invenção diz respeito a novos compostos de imitadores de ligação reversa, um método para fabricar os mesmos, e o uso destes no tratamento de doenças, tal como leucemia mielóide aguda.

Antecedentes da Técnica

[002]Seleção aleatória de moléculas para possível atividade como agentes terapêuticos foi conduzida por muitos anos e resultou em inúmeras descobertas de medicamento importantes. Recentemente, compostos não-peptídicos foram desenvolvidos para se aproximar ainda mais a estrutura secundária de ligações reversas encontradas em proteínas ou peptídeos biologicamente ativos. Por exemplo, patente U.S. No. 5.440.013, e pedidos de patente PCT Nos. WO94/03494, WO01/00210A1, e WO01/16135A2, todas de Kahn, cada uma descreve compostos conformacionalmente limitados, não peptídicos, que imitam a estrutura secundária das ligações reversas. Além do mais, as patentes U.S. Nos. 5.929.237 e 6.013.458, ambas de Kahn, descrevem compostos conformacionalmente limitados que imitam a estrutura secundária de regiões de ligação reversa de peptídeos e proteínas biologicamente ativos. A síntese e identificação de imitadores de ligação reversa conformacionalmente limitados e a aplicação destes a doenças foram bem revisados por Obrecht (Advances in Med. Chem., 4, 1-68, 1999).

[003]Com os avanços significativos na síntese e identificação de imitadores de ligação reversa conformacionalmente limitados foram desenvolvidas técnicas para sintetizar e selecionar membros de biblioteca de pequenas moléculas que imitam a estrutura secundária de peptídeos, de maneira a identificar membros de biblioteca bioativos. Desta maneira, foram feitas tentativas de procurar compostos

conformacionalmente limitados e compostos altamente bioativos que imitam a estrutura secundária de regiões de ligação reversa de peptídeos e proteínas biologicamente ativos. Por exemplo, imitadores de ligação reversa, métodos para fabricar os mesmos e bioatividades destes são descritos nos pedidos de patente PCT Nos. WO 04/093828A2, WO 05/116032A2, e WO 07/139346A1.

[004]Embora um grande número de imitadores de ligação reversa tenham sido fabricados, não observou-se que muitos compostos têm alta bioatividade. Assim, esforços continuam para fabricar compostos que possam ser aplicados ao tratamento de doenças, tais como câncer.

[005]Particularmente, os esforços foram focados no desenvolvimento de compostos que fortemente bloqueiam o caminho de sinalização Wnt para efetivamente suprimir o crescimento de células de câncer de leucemia mielóide aguda (AML) conhecidas por ter um caminho de sinalização Wnt ativado.

[006]Também, existe uma necessidade de métodos para fabricar compostos altamente bioativos em uma escala em massa se eles forem encontrados.

Sumário da Invenção

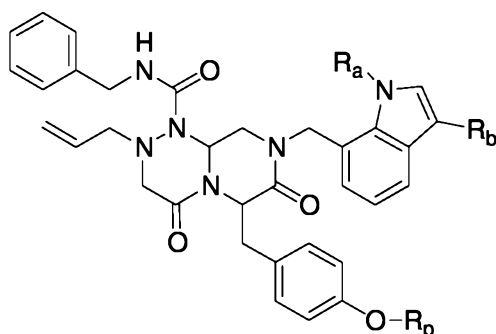
Problema técnico

[007]Desta forma, é um objetivo da presente invenção fornecer novos compostos bioativos, o uso destes como agentes terapêuticos ou pró-fármacos para câncer, em particular para leucemia mielóide aguda, e um método para fabricar o mesmo em uma escala em massa.

Solução Técnica

[008]De acordo com um aspecto deste, a presente invenção fornece novos compostos, representados pela seguinte fórmula química I:

[Fórmula química I]



em que:

R_a é um grupo alquila C_1-C_6 , um alquenila C_2-C_6 , ou um grupo alquinila C_2-C_6 ;

R_b é um grupo arila, um grupo arila substituído, ou $-C(=O)R_e$ em que R_e é um grupo alquila C_1-C_6 , um grupo alquenila C_2-C_6 , ou um grupo alquinila C_2-C_6 ;

R_p é $-H$, $-PO_3H_2$, $-HPO_3^- Na^+$, $-PO_3^{2-} Na^2+$, $-PO_3^{2-} K^+$, $-PO_3^{2-} Mg^{2+}$, $-PO_3^{2-} Ca^{2+}$,

 , ou .

[009]O arila substituído pode ser acil-arila substituído (da forma aqui definida).

[0010]Em uma modalidade, na fórmula química I, R_a é um grupo alquila C_1-C_6 ou um grupo alquenila C_2-C_6 ; R_b é $-C(=O)R_e$ em que R_e é alquila C_1-C_6 ; e R_p é $-H$, $-PO_3H_2$, $-HPO_3^- Na^+$, ou $-PO_3^{2-} Na^2+$.

[0011]Em uma outra modalidade, na fórmula química I, R_a é metila; R_b é $-C(=O)R_e$ em que R_e é alquila C_1-C_6 ; e R_p é $-H$.

[0012]Ainda em uma outra modalidade, na fórmula química I, R_a é metila; R_b é $-C(=O)R_e$ em que R_e é alquila C_1-C_6 ; e R_p é $-PO_3H_2$, $-HPO_3^- Na^+$, ou $-PO_3^{2-} Na^2+$.

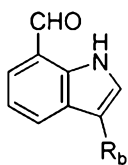
[0013]Em um aspecto, a presente descrição fornece uma composição farmacêutica compreendendo um composto aqui fornecido e um excipiente farmaceuticamente aceitável.

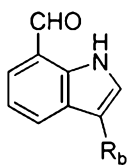
[0014]Em um outro aspecto, a presente descrição fornece um método para tratar leucemia mielóide aguda (AML) compreendendo administrar a um paciente

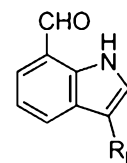
tendo AML uma quantidade efetiva do composto ou composição aqui fornecidos. Em certas modalidades, o método compreende injetar uma quantidade efetiva do composto ou composição a um paciente tendo AML.

[0015]Em um outro aspecto, a presente descrição fornece um método para fabricar o composto aqui fornecido, compreendendo as seguintes etapas sequenciais: (a) introduzir um grupo acila em indol-7-carbaldeído por meio de acilação de Friedel-Crafts para fornecer 3-acil-indol-7-carbaldeído; (b) introduzir um grupo alquila e um grupo aminoacetal a 3-acil-indol-7-carbaldeído para fornecer um derivado de 1-alquil-3-acil-indol; (c) amidar o derivado de 1-alquil-3-acil-indol com estereoseletividade Cbz-Tirosina-OtBu e ácido 2-(1-allil-4-benzilsemicarbazido)acético para fornecer um intermediário de reação; (d) ciclizar o intermediário de reação na presença de ácido fórmico para fornecer um intermediário cíclico; e (e) fosforilar o intermediário cíclico para fornecer um composto da fórmula química (I). Em certas modalidades, ácido 2-(1-allil-4-benzilsemicarbazido)acético é sintetizado pelas seguintes etapas sequenciais: (1) adicionar TEA (triethylamina) a uma solução de etilidrazinoacetato para fornecer uma solução de reação; (2) adicionar brometo de alila à solução de reação; e (3) adicionar isocianato de benzila. Em certas modalidades adicionais, brometo de alila e isocianato de benzila são adicionados de uma maneira em gotas.

[0016]Em um aspecto relacionado, a presente descrição fornece um método para preparar um composto da fórmula química (I), compreendendo: (a) converter

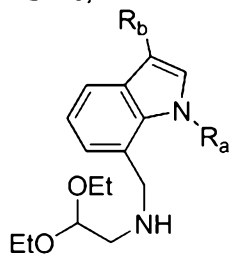


indol-7-carbaldeído a , em que R_b é um grupo arila, um grupo arila substituído, ou -C(=O)R_e, em que R_e é um grupo alquila C₁-C₆, um grupo alquenila

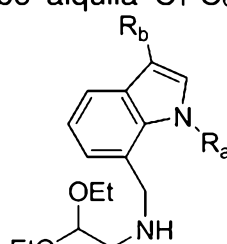


a

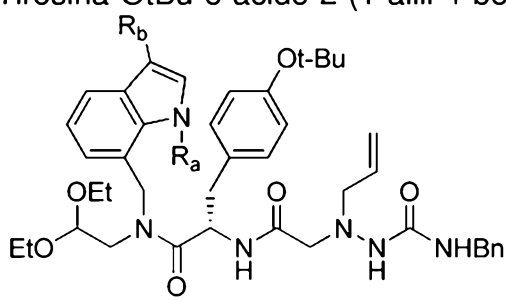
C₂-C₆, ou um grupo alquinila C₂-C₆; (b) converter



em que R_a é um grupo alquila C₁-C₆, um alquenila C₂-C₆, ou um



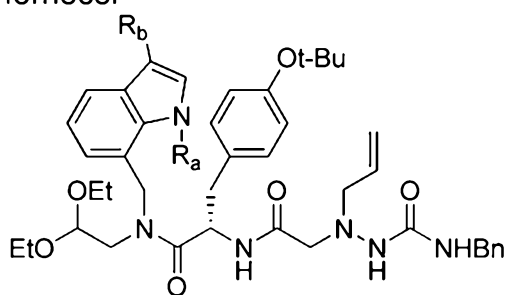
grupo alquinila C₂-C₆; (c) amidar com estereoseletividade na presença de Cbz-Tirosina-OtBu e ácido 2-(1-allyl-4-benzilsemicarbazido)acético para



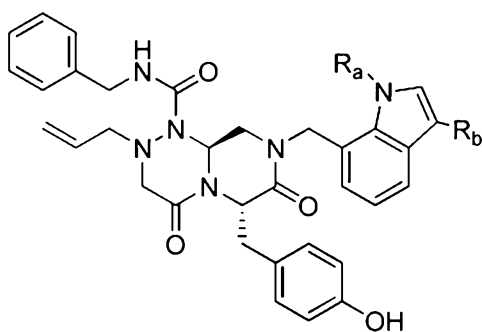
fornecer

(d)

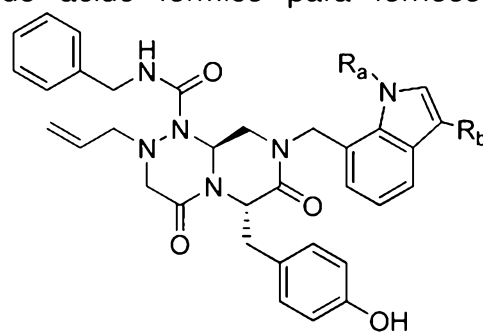
ciclar

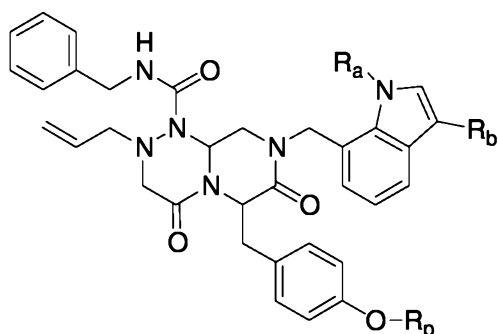


na presença de ácido fórmico para fornecer



; e (e) converter





em , em que R_p é $-\text{PO}_3\text{H}_2$, $-\text{HPO}_3^- \text{Na}^+$, $-\text{PO}_3^{2-} \text{Na}^{2+}$, $-\text{PO}_3^{2-} \text{K}_2^+$, $-\text{PO}_3^{2-} \text{Mg}^{2+}$, $-\text{PO}_3^{2-} \text{Ca}^{2+}$. Em certas modalidades, R_a é metila, R_b é $-\text{C}(=\text{O})\text{R}_e$, e R_e é metila ou ciclopropila.

Efeito Vantajoso

[0017] Os novos imitadores de ligação reversa de acordo com a presente invenção são observados por efetivamente inibir o crescimento *in vitro* de células de câncer AML. Também, eles são observados em testes de modelos de camundongo de leucemia mielóide aguda para efetivamente inibir o crescimento de tumores.

[0018] Sem ficar preso à teoria, acredita-se que o grupo abandonador (R_p), também referido como o grupo funcional de pró-fármaco, é separado, os compostos da fórmula química I giram em formas ativas. Entretanto, estas formas ativas são difíceis de preparar em uma solução aquosa devido à sua fraca solubilidade em água. Nas formas do pró-fármaco, os compostos da fórmula química I de acordo com a presente invenção são de alta solubilidade e de alta estabilidade e são fáceis de ser preparados como uma preparação para injeção.

[0019] Testes em animais mostraram que os compostos da presente invenção têm excelente eficácia farmacêutica. Isto parece ser atribuído à rápida conversão dos compostos em suas formas ativas logo depois da injeção intravenosa, e desta forma um aumento na concentração de medicamento inicial. Desta maneira, a velocidade na qual os compostos de pró-fármaco giram em formas ativas tem influência na eficácia medicinal destes, de maneira tal que é importante escolher o grupo funcional de pró-fármacos que permitem efeitos ideais.

[0020] Em uma modalidade preferida, os grupos funcionais de pró-fármaco

são na forma de fosfato em virtude dos pró-fármacos de fosfato serem convertidos mais rápido *in vivo* em formas ativas que os outros pró-fármacos tendo outros grupos funcionais.

[0021]Quando o grupo funcional de pró-fármacos está na forma de sais de sódio, eles são fáceis de preparar e têm alta solubilidade em água. Além do mais, eles são altamente estáveis durante o armazenamento à temperatura ambiente.

[0022]Normalmente, sabe-se que uma composição de injeção adequada varia em pH de 4 a 9, e preferivelmente tem um pH que é próximo do sangue humano, 7,4. Uma composição que é fortemente ácida ou fortemente básica não é preferida como uma composição para injeção. No caso de um grupo funcional de fosfato, os pró-fármacos finais da presente invenção podem ser na forma de fosfato de monossódio ou dissódio dependendo da quantidade de hidróxido de sódio. Estes compostos são vantajosos para fabricar uma composição tendo valores de pH adequados para injeção.

[0023]Ainda, o método de fabricação de acordo com a presente invenção permite a produção não somente de compostos da fórmula química I, mas também de imitadores de ligação reversa deste em uma escala industrial.

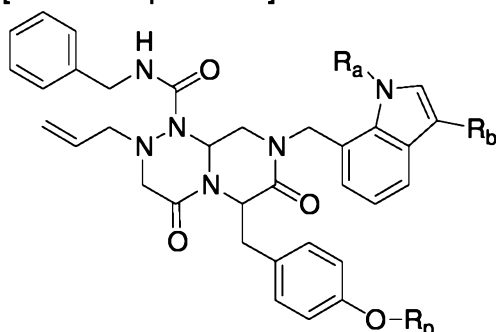
Descrição dos Desenhos

[0024]Figura 1 é um gráfico que mostra uma correlação entre as mudanças no pH e o potencial conduzido durante a etapa final do método para fabricar o composto, em que NaOH 0,5 N é adicionado em gotas a 4-(((6S,9aS)-1-(benzilcarbamoil)-8-((3-acetil-1-metil-1H-indol-7-il)metil)-2-alil-octaidro-4,7-dioxo-1H-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazin-6-il)metil)fenil dihidrogenofosfato (Composto P2). Neste gráfico, o eixo horizontal representa as quantidades adicionadas de NaOH. O primeiro e segundo pontos de inflexão correspondem ao início da produção de monossódio e dissódio, respectivamente.

Melhor Modo

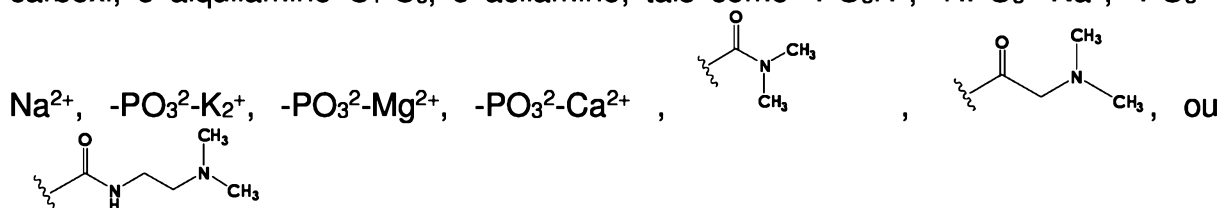
[0025] Assim, uma modalidade fornece imitadores de ligação reversa inéditos, representados pela seguinte fórmula química I, que são usados como agentes terapêuticos para câncer, em particular para leucemia mielóide aguda.

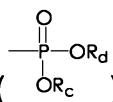
[Fórmula química I]



em que

R_p pode ser qualquer um dos grupos funcionais convencionais que são disponíveis em pró-fármacos. Exemplos dos grupos funcionais incluem fosfato, carbóxi, e alquilamino C_1 - C_6 , e acilamino, tais como $-PO_3H^2$, $-HPO_3^- Na^+$, $-PO_3^{2-}$



[0026] Preferivelmente, R_p é um grupo funcional de fosfato () em que R_c e R_d são independentemente H, Na, Mg, Ca ou K. Preferivelmente, tanto R_c quanto R_d são H ou Na, ou um deles é Na enquanto que o outro é H.

[0027] R_p também pode ser $-H$, a estrutura química resultante em uma forma ativa do pró-fármaco correspondente como o grupo funcional do pró-fármaco que é removido.

[0028] R_a é um grupo alquila, um grupo alquenila, ou um grupo alquinila; preferivelmente um grupo alquila C_1 - C_6 , um alquenila C_2 - C_6 , ou um grupo alquinila C_2 - C_6 ; e mais preferivelmente um grupo alquila C_1 - C_6 .

[0029] R_b é um grupo arila, um grupo arila substituído, ou $-C(=O)R_e$ em que

R_e é um grupo alquila C_1-C_6 , um grupo alquenila C_2-C_6 , ou um alquinila C_2-C_6 , e o grupo arila substituído é um grupo arila substituído por acila e preferivelmente fenila substituído por arila.

[0030] Os compostos em pró-fármaco vão se transformar em formas ativas no corpo. Quando os pró-fármacos têm o grupo funcional de fosfato como um grupo abandonador, o grupo $-PO_3R_cR_d$ é rapidamente clivado por fosfatase e os pró-fármacos mudam nas formas ativas destes. Neste momento, R_p é alterado para $-H$ (uma estrutura química na forma ativa como o grupo funcional do pró-fármaco que deixou a estrutura).

[0031] Da forma aqui usada, o termo "alquila" ou "grupo alquila" deve incluir radical de hidrocarboneto reto, ramificado ou cíclico compreendendo átomos de carbono e hidrogênio, em que os átomos de carbono são ligados por ligações simples. Em algumas modalidades, alquila contém até 20 carbonos. Em modalidades preferidas, um alquila pode compreender um a seis átomos de carbono e ser representado por "alquila C_1-C_6 ." Um alquila é anexado ao resto da molécula por uma ligação simples. Exemplos de alquilas incluem, sem limitação, metila, etila, n-propila, 1-metiletil (iso-propila), n-butila, n-pentila, n-hexila, 1,1-dimetiletil (t-butila), 2,2-dimetilpropil (neo-pentila), 3-metilexila, 2-metilexila, e similares. Um alquila também pode ser um radical de anel de hidrocarboneto monocíclico ou bicíclico, que pode incluir sistemas de anel fundidos ou ligados. Um alquila cíclico também é referido como "cicloalquila." Em certas modalidades, um cicloalquila pode compreender três a seis átomos de carbono e pode ser representado por "cicloalquila C_3-6 ." Exemplos de radicais cicloalquila monocíclicos incluem, por exemplo, ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, cicloexila, cicloeptila, e ciclooctila.

[0032] "Alquenila" ou "grupo alquenila" refere-se a radical de hidrocarboneto reto, ramificado ou cíclico compreendendo átomos de carbono e hidrogênio, em que pelo menos dois átomos de carbono são ligados por uma ligação dupla. Em algumas

modalidades, alquila contém até 20 carbonos. Em modalidades preferidas, um alquenila pode compreender dois a seis átomos de carbono e pode ser representado por “alquila C₂-C₆.” Um alquenila é anexado ao resto da molécula por uma ligação única ou dupla. Exemplos de alquenilas incluem, sem limitação, etenila, allila, butenila e similares.

[0033]“Alquinila” ou “grupo alquinila” refere-se a radical de hidrocarboneto reto, ramificado ou cíclico compreendendo átomos de carbono e hidrogênio, em que pelo menos dois átomos de carbono são ligados por uma ligação tripla. Em algumas modalidades, alquila contém até 20 carbonos. Em modalidades preferidas, um alquinila pode compreender dois a seis átomos de carbono e pode ser representado por “alquinila C₂-C₆.” Um alquinila é anexado ao resto da molécula por uma ligação simples. Exemplos de alquinilas incluem, sem limitação, etinila, 1-propinila, ou 2-propinila e similares.

[0034]A menos que de outra forma especificamente estabelecido na especificação, o termo “alquila” deve incluir um alquila tendo somente átomos de carbono e hidrogênio, bem como “alquila substituído,” que refere-se a um radical alquila em que um ou mais átomos de hidrogênio são substituídos por um ou mais substituintes independentemente selecionados de: acila, alcóxi, arila, ciano, cicloalquila, halo, hidroxila, nitro, -OC(O)-R¹¹, -N(R¹¹)₂, -C(O)OR¹¹, -C(O)N(R¹¹)₂, -N(R¹¹)C(O)OR¹¹, -N(R¹¹)C(O)R¹¹, -N(R¹¹)S(O)tR¹¹ (onde t é 1 ou 2), -S(O)tOR¹¹ (onde t é 1 ou 2), -S(O)pR¹¹ (onde p é 0, 1 ou 2), e -S(O)tN(R¹¹)₂ (onde t é 1 ou 2) onde cada R¹¹ é independentemente hidrogênio, alquila, arila, da forma aqui definida. Os termos “alquenila” e “alquinila” são igualmente definidos como incluindo “alquenila substituído” e “alquinila substituído,” respectivamente.

[0035]“Alcóxi” refere-se a um radical representado pela fórmula alquil-O-, em que alquila é da forma aqui definida. A porção alquila pode ainda ser substituída por um ou mais halogênio. Um alcóxi também pode ser representado pelo número dos

carbonos em o grupo alquila, por exemplo, alcóxi C₁₋₆ ou alcóxi C₁₋₃.

[0036]“Acila” refere-se a um radical representado pela fórmula R¹²C(=O)-, em que R¹² é alquila ou arila da forma aqui definida. O alquila ou arila pode ser opcionalmente substituído pelos substituintes da forma descrita para um alquila ou um grupo arila, respectivamente. Grupos acila exemplares incluem, sem limitação, metilacila (isto é, acetila), fenilacila, ciclopropilacila, e similares.

[0037]“Arila” refere-se a um radical derivado de um sistema de anel monocíclico ou bicíclico aromático removendo um átomo de hidrogênio de um átomo de carbono do anel. O sistema de anel de hidrocarboneto monocíclico ou bicíclico aromático compreende seis a doze átomos de carbono (isto é, arila C₆₋₁₂), em que pelo menos um dos anéis no sistema de anel é completamente insaturado, isto é, contém um sistema de elétron π (4n+2) deslocalizado, cíclico de acordo com a teoria de Hückel. Exemplos de radicais arila incluem, mas sem limitações, fenil e naftila. A menos que de outra forma especificamente estabelecido na especificação, o termo “arila” deve incluir tanto aril quanto “arila substituído, ” que refere-se a um radical arila em que um ou mais átomos de hidrogênio são substituídos por um ou mais substituintes independentemente selecionados de: acila, alcóxi, arila, ciano, cicloalquila, halo, hidroxila, nitro, -OC(O)-R¹¹, -N(R¹¹)₂, -C(O)OR¹¹, -C(O)N(R¹¹)₂, -N(R¹¹)C(O)OR¹¹, -N(R¹¹)C(O)R¹¹, -N(R¹¹)S(O)tR¹¹ (onde t é 1 ou 2), -S(O)tOR¹¹ (onde t é 1 ou 2), -S(O)pR¹¹ (onde p é 0, 1 ou 2), e -S(O)tN(R¹¹)₂ (onde t é 1 ou 2) onde cada R¹¹ é independentemente hidrogênio, alquila, arila, da forma aqui definida.

[0038]“Halo” refere-se a flúor, cloro, bromo e iodo.

[0039]A forma ativa dos compostos não é adequada para injeção I.V. devido à baixa solubilidade destes em um meio aquoso (por exemplo, salina ou água). As formas de pró-fármaco aqui descritas são adequadas para injeção I.V. devido à sua melhor solubilidade no meio aquoso. Em uma modalidade preferida, um pró-fármaco

de fosfato é usado; e quando um ou dois átomos de Na são introduzidos na fração de fosfato, a solubilidade é ainda melhor. Para introduzir átomos de Na, hidróxido de sódio é adicionado (por exemplo, em gotas) ao composto de fosfato em um valor específico de pH para realizar substituição com um ou dois prótons da fração de fosfato com íons sódio.

[0040]Assim, uma modalidade adicional fornece uma composição farmacêutica compreendendo um composto da fórmula química (I) e um excipiente farmaceuticamente aceitável. Os compostos ou composições da presente invenção podem ser usados no tratamento de AML da forma descrita em mais detalhe a seguir.

[0041]A composição farmacêutica da presente invenção é formulada para ser compatível com sua via de administração pretendida. Exemplos de vias de administração incluem administração parenteral, por exemplo, intravenosa, intradérmica, subcutânea, oral (por exemplo, inalação), transdérmica (tópica), transmucosa, e retal. Soluções ou suspensões usadas para aplicação parenteral, intradérmica ou subcutânea podem incluir os seguintes componentes: um diluente estéril, tal como água para injeção, solução salina, óleos fixos, polietileno glicóis, glicerina, propileno glicol ou outros solventes sintéticos; agentes antibacterianos, tais como álcool benzílico ou metil parabenos; antioxidantes, tais como ácido ascórbico ou bissulfito de sódio; agentes quelantes, tal como ácido etilenodiaminatetracético; tampões, tais como acetatos, citratos ou fosfatos e agentes para o ajuste da tonicidade, tais como cloreto de sódio ou dextrose.

[0042]Em uma modalidade preferida, o excipiente farmaceuticamente aceitável é adequado para uso em administração I.V., tais como injeção ou infusão I.V.. Carreadores adequados para administração I.V. incluem salina fisiológica, água bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ) ou salina tamponada de fosfato (PBS). Em todos os casos, a composição deve ser estéril e deve ser fluida

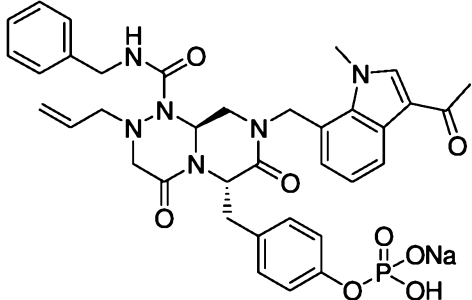
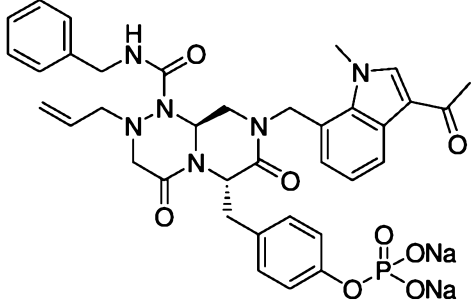
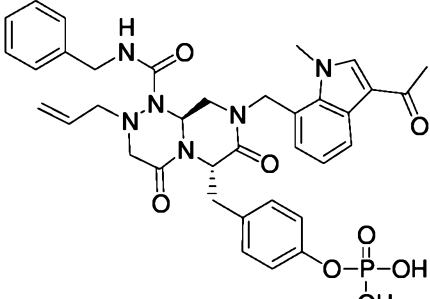
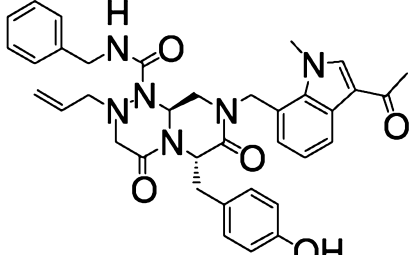
até o ponto em que sai facilmente da seringa. Ela deve ser estável nas condições de fabricação e armazenamento e deve ser preservada contra a ação de contaminação de microrganismos, tais como bactérias e fungos.

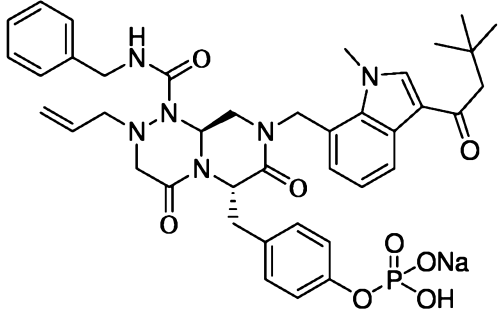
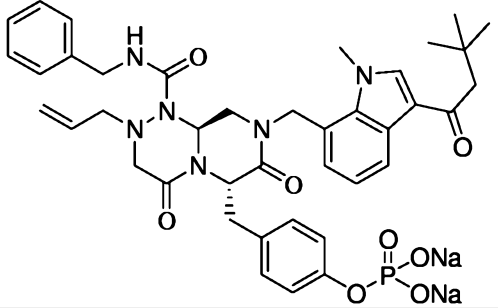
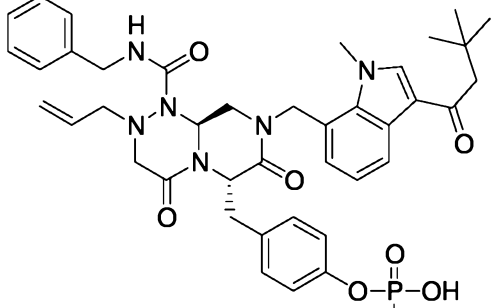
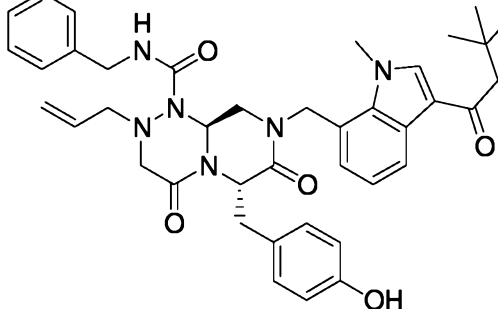
[0043]Em outras modalidades, composições orais que geralmente incluem um diluente inerte ou um carreador comestível são fornecidas. Tais composições podem ser fechadas em cápsulas de gelatina ou comprimidos na forma de comprimidos. Para o propósito de administração terapêutica oral, o composto aqui descrito pode ser incorporado com excipientes e usado na forma de comprimidos, pastilhas, ou cápsulas. Composições orais também podem ser preparadas usando um carreador fluido para uso como um enxaguante bucal, em que o composto no carreador fluido é aplicado oralmente e sacudido e expectorado ou ingerido. Agentes de ligação farmacologicamente compatíveis, e/ou materiais adjuvantes podem ser incluídos como parte da composição. Os comprimidos, pílulas, cápsulas, pastilhas e similares podem conter qualquer um dos seguintes ingredientes, ou compostos de uma natureza similar: um aglutinante, tais como celulose microcristalina, goma tragacanto ou gelatina; um excipiente, tais como amido ou lactose, um agente de desintegração, tais como ácido algínico, Primogel, ou amido de milho; um lubrificante, tais como estearato de magnésio ou Sterotes; um deslizante, tais como dióxido de silício coloidal; um agente adoçante, tais como sacarose ou sacarina; ou um agente flavorizante, tais como menta, metil salicilato, ou flavorizante laranja.

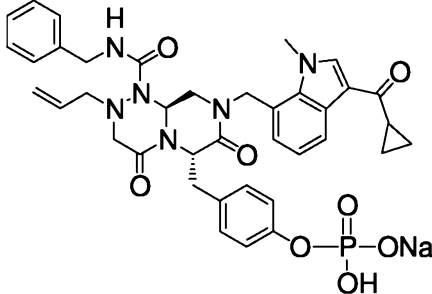
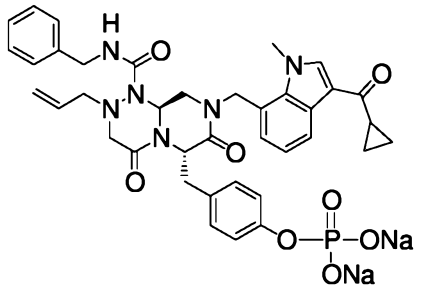
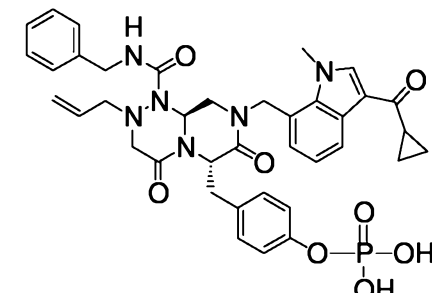
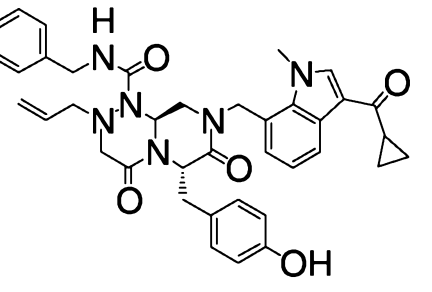
[0044]De acordo com um outro aspecto, a presente descrição fornece um método de tratamento de doenças, particularmente câncer, mais particularmente leucemia mieloide aguda (AML) compreendendo administrar a um paciente com câncer (por exemplo, um paciente com AML) uma quantidade efetiva de um composto da fórmula química (I) ou uma composição farmacêutica compreendendo a mesma. O exemplo 23 fornecido a seguir demonstra que compostos exemplares da presente descrição são efetivos no tratamento de AML em um modelo animal.

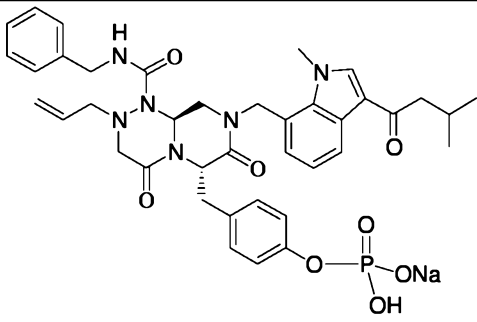
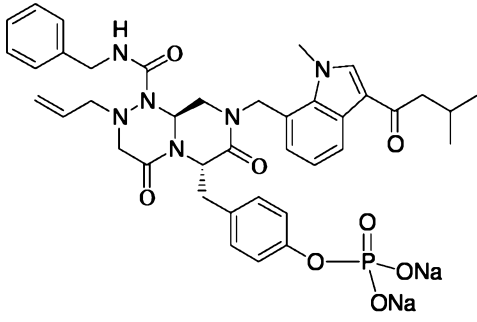
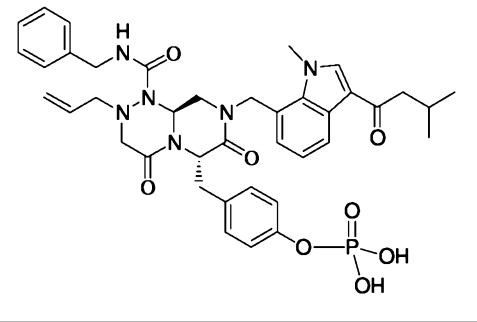
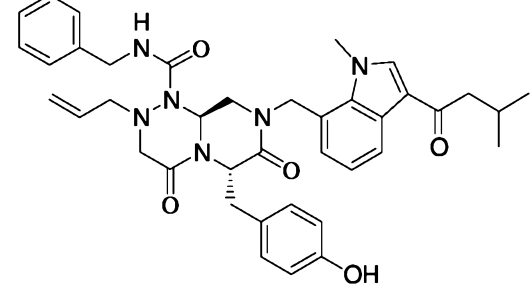
[0045]Exemplos dos compostos da fórmula química (I) são dados na tabela 1, a seguir. Em virtude de os quatro compostos na tabela 1 serem diferentes somente na fração R_p que é H ou grupo funcional de fosfato ter os mesmos dados de RMN, é comumente dado na tabela 1 (R_p não foi observado nos espectros de RMN ^1H em virtude de ter sido substituído por deutério).

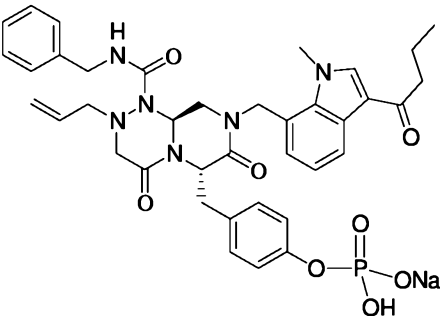
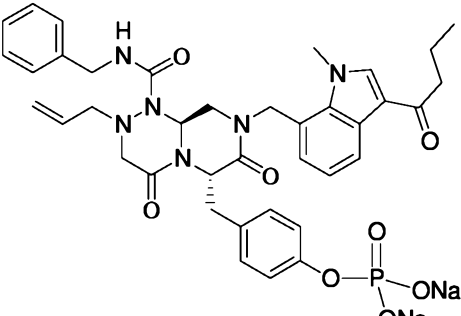
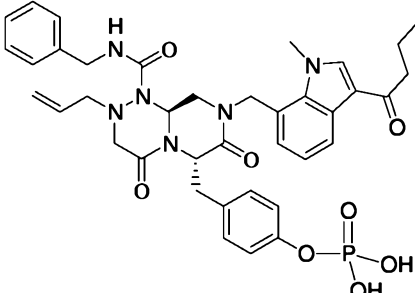
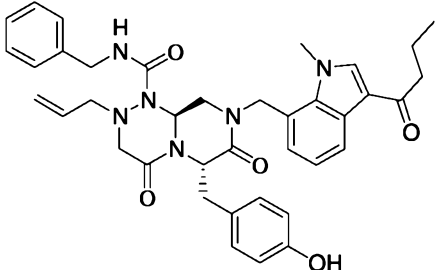
TABELA 1

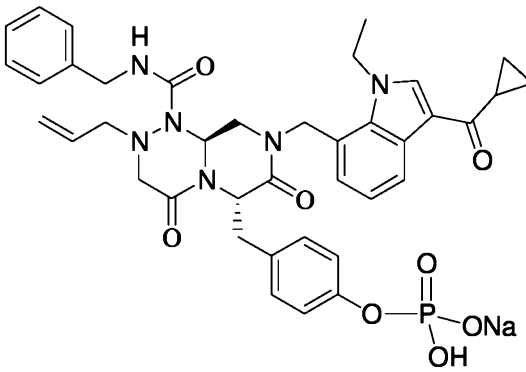
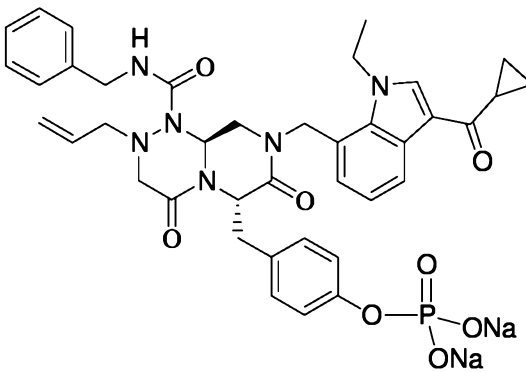
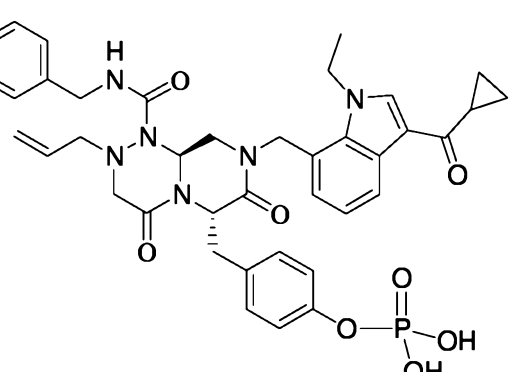
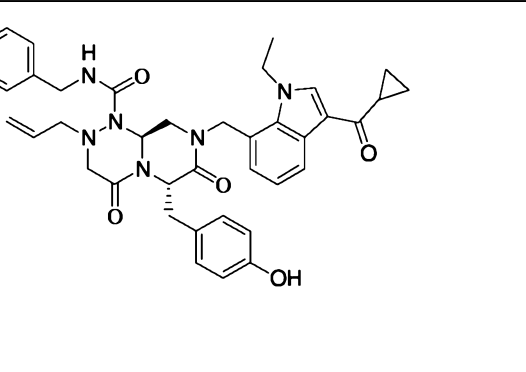
No.	Cpd.	M.W.	RMN
1		736,69	RMN ^1H (500MHz, $CDCl_3$) δ 8,43 (d, $J=4,8$ Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21
2		758,67	(m, 2H), 7,00 (d, $J=4,8$ Hz, 2H), 6,97 (d, $J=4,8$ Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t,
3		714,70	$J=4,6$ Hz, 1H), 5,03 (d, $J=6,3$ Hz, 1H), 4,87 (d, $J=9,0$ Hz, 1H), 4,79 (d, $J=7,5$ Hz, 1H), 4,42 (dd, $J=9,0, 3,6$ Hz, 1H), 4,29
4		634,72	(dd, $J=9,0, 3,6$ Hz, 1H), 4,02 (s, 3H), 3,43 (d, $J=7,2$ Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,27 (d, $J=7,2$ Hz, 1H), 3,29-3,24 (m,

			1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 2,51 (s, 3H)
5		792,79	RMN 1H (D2O, 300MHz) δ 7,27 (d, 2H, J=8,4 Hz), 7,175 (d, 1H, J=7,2 Hz), 6,37~6,31 (m, 3H) , 6,214 (d, 2H),
6		814,77	6,14~6,07 (m, 4H), 4,51~4,46 (dd, 2H, J=10,8 Hz), 4,31~4,04 (dd, 2H, J=14,7 Hz), 3,39~3,34 (d, 1H, J=8,4
7		770,81	Hz), 3,34~2,97 (dd, 2H, J=15,3, 15,3 Hz), 4,33 (dd, 1H, J=15,3, 6,3 Hz), 2,97 (s, 3H), 2,75 (d, 1H), 2,49~2,05 (dd, 2H, J=15,3Hz), 1,19 (s, 9H)
8		690,83	

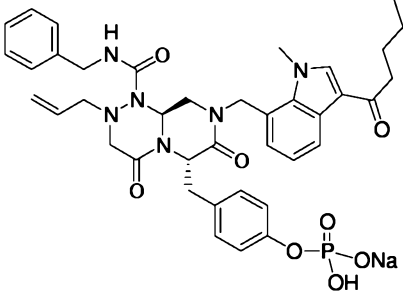
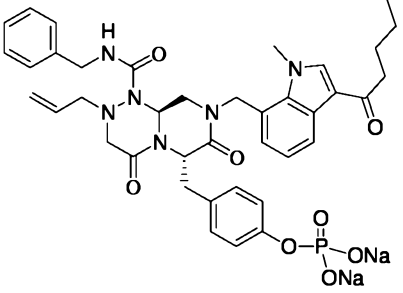
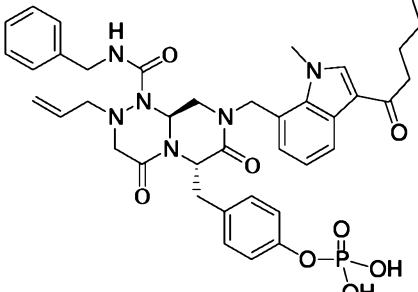
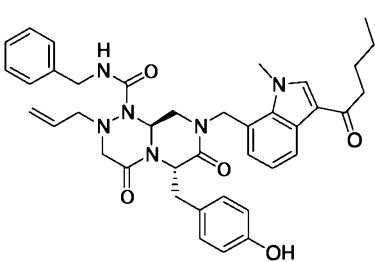
9		762,72	RMN 1H (300MHz, CDCl3) δ 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21
10		784,71	(m, 2H), 7,00 (d, J=4,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t, J=4,6 Hz, 1H), 5,03 (d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29
11		740,74	(dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,02 (s, 3H), 3,43 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 1,28 (m, 1H), 0,63 (m, 2H), 0,38 (m, 2H)
12		660,76	

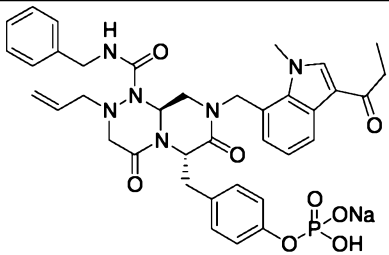
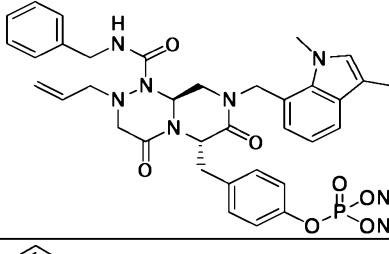
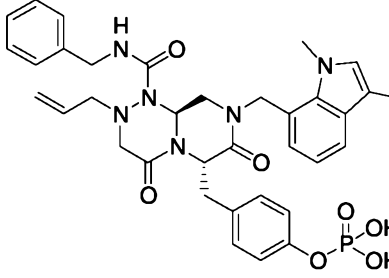
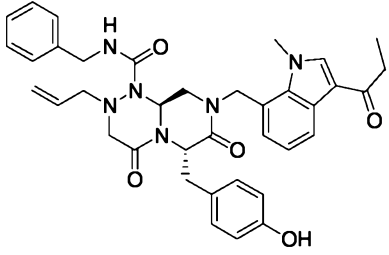
13		778,77	RMN 1H (300MHz, CDCl3) δ 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21
14		800,75	(m, 2H), 7,00 (d, J=4,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t, J=4,6 Hz, 1H), 5,03 (d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29
15		756,78	(dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,02 (s, 3H), 3,43 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33
16		676,80	(m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 2,51 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 2,06 (m, 1H), 1,01 (d, J = 5,2 Hz, 6H)

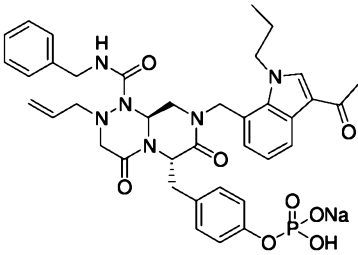
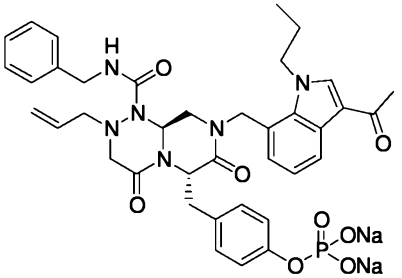
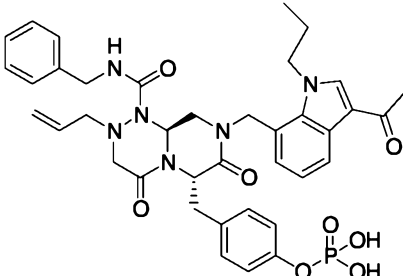
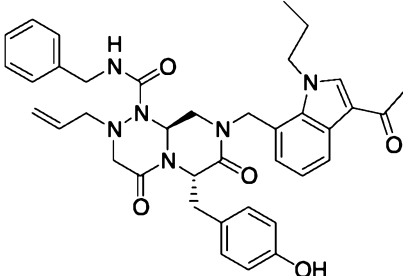
17		764,74	RMN 1H (300MHz, CDCl3) δ 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21
18		786,72	(m, 2H), 7,00 (d, J=4,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t, J=4,6 Hz, 1H), 5,03 (d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29
19		742,76	(dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,02 (s, 3H), 3,43 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33
20		662,78	(m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 2,51 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 1,66 (m, 2H), 0,98 (t, J = 4,2 Hz, 3H)

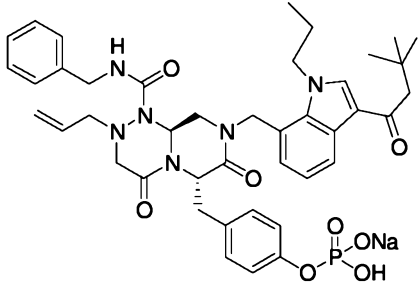
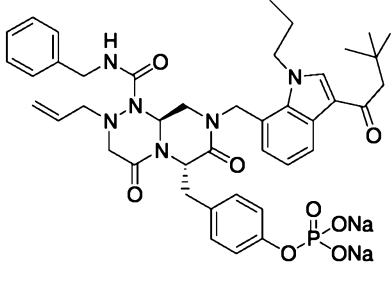
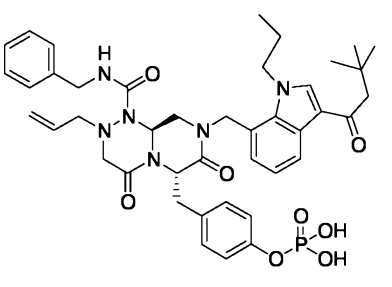
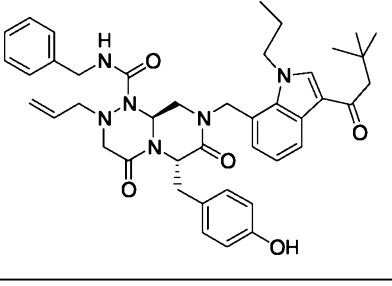
21		776,75	RMN 1H (300MHz, CDCl ₃) δ 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21 (m, 2H), 7,00 (d, J=4,8
22		798,73	Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t, J=4,6 Hz, 1H), 5,03 (d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,02 (q, J = 4,8 Hz, 2H), 3,43 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 1,51 (t, J = 5 Hz, 3H), 1,28 (m, 1H), 0,63 (m, 2H), 0,38 (m, 2H)
23		754,77	
24		674,79	

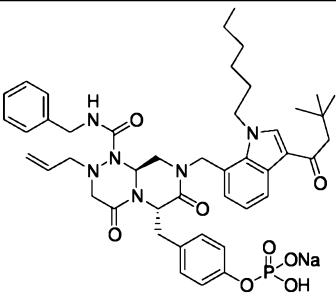
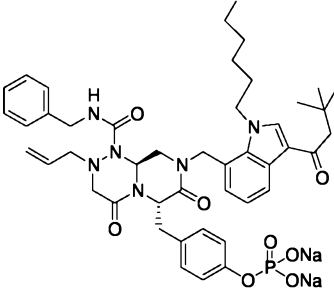
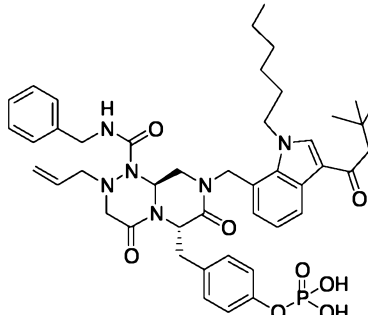
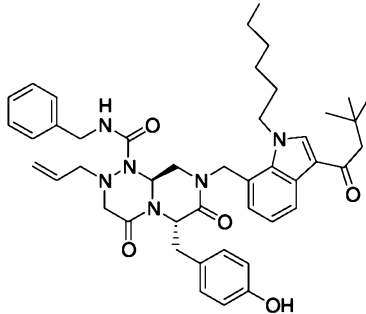
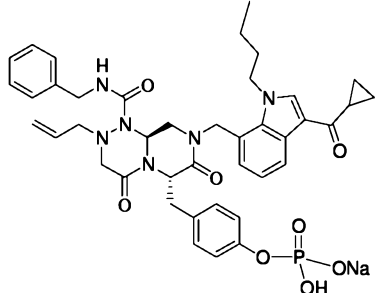
25		788,76	RMN 1H (300MHz, CDCl3) δ 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21
26		810,74	(m, 2H), 7,00 (d, J=4,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,83 (m, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t, J=4,6 Hz, 1H), 5,17 (m, 2H), 5,03
27		766,78	(d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,02 (m, 2H), 3,43
28		686,80	(d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 1,28 (m, 1H), 0,63 (m, 2H), 0,38 (m, 2H)

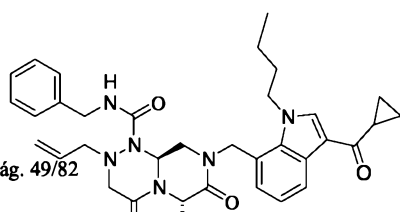
29		778,77	RMN 1H (300MHz, CDCl3) δ 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21
30		800,75	(m, 2H), 7,00 (d, J=4,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t,
31		756,78	J=4,6 Hz, 1H), 5,03 (d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29
32		676,80	(dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,02 (s, 3H), 3,43 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 2,51 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 1,62 (m, 2H), 1,33 (m, 2H), 0,96 (t, J = 4,0 Hz, 3H)

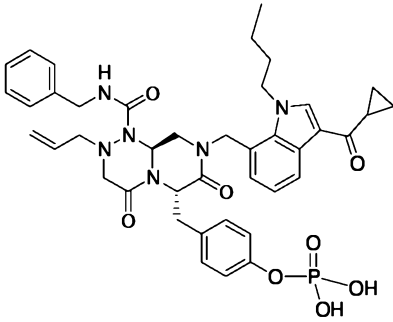
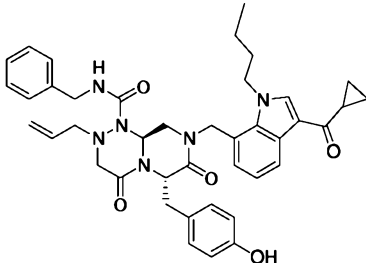
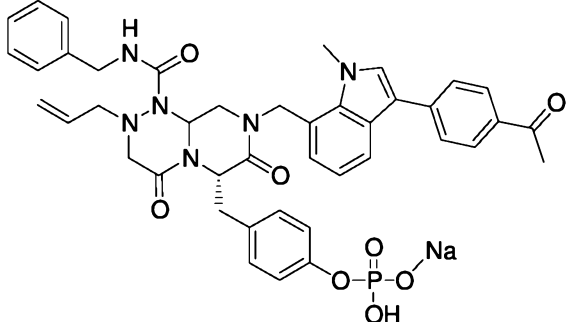
33		750,71	RMN 1H (300MHz, CDCl3) δ 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-
34		772,69	7,30 (m, 1H), 7,29-7,21 (m, 2H), 7,00 (d, J=4,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m,
35		728,73	3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t, J=4,6 Hz, 1H), 5,03 (d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,02 (s, 3H), 3,43 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 2,44 (q, J = 4,1 Hz, 2H), 1,18 (t, J = 4,1 Hz, 3H)
36		648,75	

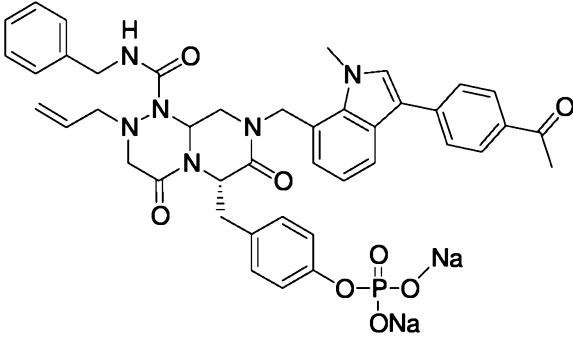
37		764,74	RMN 1H (300MHz, CDCl3) δ 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21 (m, 2H), 7,00 (d, J=4,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t, J=4,6 Hz, 1H), 5,03 (d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 3,85 (m, 2H), 3,43 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 2,51 (s, 3H), 1,81 (m, 2H), 0,96 (t, J = 4,3 Hz, 3H)
38		786,72	
39		742,76	
40		662,78	

41		820,85	RMN 1H (D ₂ O, 300MHz) δ 7,27 (d, 2H, J=8,4 Hz), 7,175 (d, 1H, J=7,2 Hz), 6,37~6,31 (m, 3H) , 6,214 (d, 2H),
42		842,83	6,14~6,07 (m, 4H), 4,51~4,46 (dd, 2H, J=10,8 Hz), 4,31~4,04 (dd, 2H, J=14,7 Hz), 3,39~3,34 (d, 1H, J=8,4
43		798,86	Hz), 3,34~2,97 (dd, 2H, J=15,3, 15,3 Hz), 4,33 (dd, 1H, J=15,3, 6,3 Hz), 2,97 (m, 2H), 2,75 (d, 1H), 2,49~2,05 (dd, 2H, J=15,3Hz), 1,92 (m, 2H), 1,20 (s, 9H), 1,01 (t, J = 4,3 Hz, 3H)
44		718,88	

45		862,93	RMN 1H (D2O, 300MHz) δ 7,27 (d, 2H, J=8,4 Hz), 7,175 (d, 1H, J=7,2 Hz), 6,37~6,31 (m, 3H), 6,214 (d, 2H),
46		884,91	6,14~6,07 (m, 4H), 4,51~4,46 (dd, 2H, J=10,8 Hz), 4,31~4,04 (dd, 2H, J=14,7 Hz), 3,39~3,34 (d, 1H, J=8,4 Hz), 3,34~2,97 (dd, 2H, J=15,3, 15,3 Hz), 4,33 (dd, 1H, J=15,3, 6,3 Hz), 2,97 (m, 2H), 2,75 (d, 1H), 2,49~2,05 (dd, 2H, J=15,3Hz), 1,77 ~ 1,30
47		840,94	(m, 8H), 1,20 (s, 9H) 0,98 (t, J = 5,0 Hz, 3H)
48		760,96	
49		804,80	RMN 1H (300MHz, CDCl3) δ 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21



50		826,78	(m, 2H), 7,00 (d, J=4,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t, J=4,6 Hz, 1H), 5,03 (d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29
51		782,82	(dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,02 (m, 2H), 3,43 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 1,77 (m, 2H), 1,88 (m, 2H), 1,28 (m, 1H), 0,98 (t, J = 4,8 Hz, 3H), 0,63 (m, 2H), 0,38 (m, 2H)
52		702,84	
53		812,78	RMN 1H (CDCl ₃ , 300MHz) δ 8,05 (d, 2H, J=8,4 Hz), 7,91 (d, 1H, J=7,2 Hz), 7,71 (d, 2H, J=8,4 Hz), 7,40~7,20 (m,

54		834.76 4H), 7,16 (t, 1H, J=7,2Hz), 7,05 (d, 2H, J=8,4 Hz), 6,96 (d, 1H, J=6,9 Hz), 6,69 (d, 2H, J=8,4 Hz), 6,68 (m, 1H), 5,58~5,44 (m, 3H), 5,37 (t, 1H, J=5,7 Hz), 5,03 (d, 1H, J=10,8 Hz), 4,97 (d, 1H, J=14,7 Hz), 4,81 (d, 1H, J=17,1 Hz), 4,47 (dd, 1H, J=15,3, 6,3 Hz), 4,33 (dd, 1H, J=15,3, 6,3 Hz), 4,33 (s, 3H), 3,47~3,24 (m, 8H), 2,64 (s, 3H)
----	---	--

[0046] Métodos conhecidos na tecnologia podem ser usados para determinar a efetividade de um composto aqui fornecido no tratamento de câncer, tais como AML. Por exemplo, o método descrito no exemplo 23 pode ser usado para estimar a atividade anticancerígena de um dado composto. Métodos exemplares adicionais para estimar a atividade de um composto no tratamento de AML incluem os descritos em Bishop et al., Blood 87: 1710-7, 1996; Bishop, Semin Oncol 24:57-69, 1997; e Estey, Oncology 16: 343-52, 2002.

[0047] Os compostos da presente descrição podem ser administrados a um paciente em necessidade deste por meio de várias vias, tais como oral, tópica, transdérmica ou parenteral. Em uma modalidade, os compostos ou composições destes são administrados parenteralmente. O termo "parenteral," da forma aqui

usada, inclui injeção subcutânea, intravenosa, intramuscular, injeções intracisternais, e infusões intravenosas. Em modalidades preferidas, os compostos ou composições são administrados por meio de injeção, tais como injeções intravenosas.

[0048]Toxicidade e eficácia terapêutica dos compostos da presente descrição podem ser determinadas por procedimentos farmacêuticos padrão em culturas celulares ou animais experimentais, por exemplo, para determinar o LD50 (a dose letal para 50% da população) e o ED50 (a dose terapeuticamente efetiva em 50% da população). A razão da dose entre efeitos tóxicos e terapêuticos é o índice terapêutico e pode ser expressa como a razãoLD50/ED50. Compostos que apresentam grandes índices terapêuticos são preferidos. Embora compostos que apresentam efeitos colaterais tóxicos possam ser usados, deve-se ter cuidado para projetar um sistema de distribuição que alveja tais compostos para o sítio do tecido afetado de maneira a minimizar dano potencial às células não infectadas e, desta forma, reduzem efeitos colaterais.

[0049]Os dados obtidos dos ensaios de cultura celular e estudos com animal podem ser usados na formulação de uma faixa de dosagem para uso em humanos. A dosagem de tais compostos cai preferivelmente em uma faixa de concentrações circulantes que incluem o ED50 com pouca ou nenhuma toxicidade. A cardiotoxicidade *in vitro* dos compostos pode ser determinada de acordo com o método descrito no exemplo 24 a seguir. A dosagem pode variar nesta faixa dependendo da forma de dosagem empregada e da via de administração utilizada. Para qualquer composto usado no método da invenção, a dose terapeuticamente efetiva pode ser estimada inicialmente de ensaios de cultura celular. Uma dose pode ser formulada em modelos animais para alcançar uma faixa de concentração plasmática circulante que inclui o IC50 (isto é, a concentração do composto de teste que alcança uma inibição metade-máxima dos sintomas) conforme determinado em cultura celular. Tal informação pode ser usada para mais exatamente determinar

doses úteis em humanos. Níveis no plasma podem ser medidos, por exemplo, por cromatografia líquida de alto desempenho.

[0050]A dose efetiva depende do tipo de doença, da composição usada, da via de administração, do tipo de sujeito sendo tratado, das características físicas do sujeito específico em consideração para tratamento, da medicação concorrente e de outros fatores que os versados na tecnologia perceberão. Por exemplo, para tratar AML, um composto da presente descrição pode ser administrado por meio de injeção ou infusão I.V. em uma quantidade entre 0,5 mg/kg e 500 mg/kg (por exemplo, 0,5 a 10 mg/kg, 10 a 100 mg/kg, cerca de 100 a 500 mg/kg de peso corporal) que pode ser administrada como uma dose única, diária, semanal, mensal, ou em qualquer intervalo apropriado. Em certas modalidades, os compostos descritos podem ser usados no tratamento de AML de uma maneira similar à usada para Ara-C.

[0051]De acordo com um aspecto adicional deste, a presente invenção fornece um método para fabricar os imitadores de ligação reversa da presente invenção em uma escala em massa. O método compreende as seguintes etapas sequenciais:

introduzir um grupo acila em indol-7-carbaldeído, preferivelmente por meio de acilação de Friedel-Crafts para fornecer 3-acil-indol-7-carbaldeído;

introduzir um grupo alquila e um grupo aminoacetal a 3-acil-indol-7-carbaldeído para fornecer um derivado de 1-alquil-3-acil-indol;

amidar o derivado de 1-alquil-3-acil-indol com estereoseletividade com Cbz-Tyr(OtBu) (isto é, ácido (S)-2-(benziloxycarbonilamino)-3-(4-terc-butoxifenil)propanóico) e ácido 2-(1-alil-4-benzilsemicarbazido)acético para fornecer um intermediário de reação;

ciclizar o intermediário de reação na presença de ácido fórmico para fornecer um intermediário cíclico; e

fosforilar o intermediário cíclico.

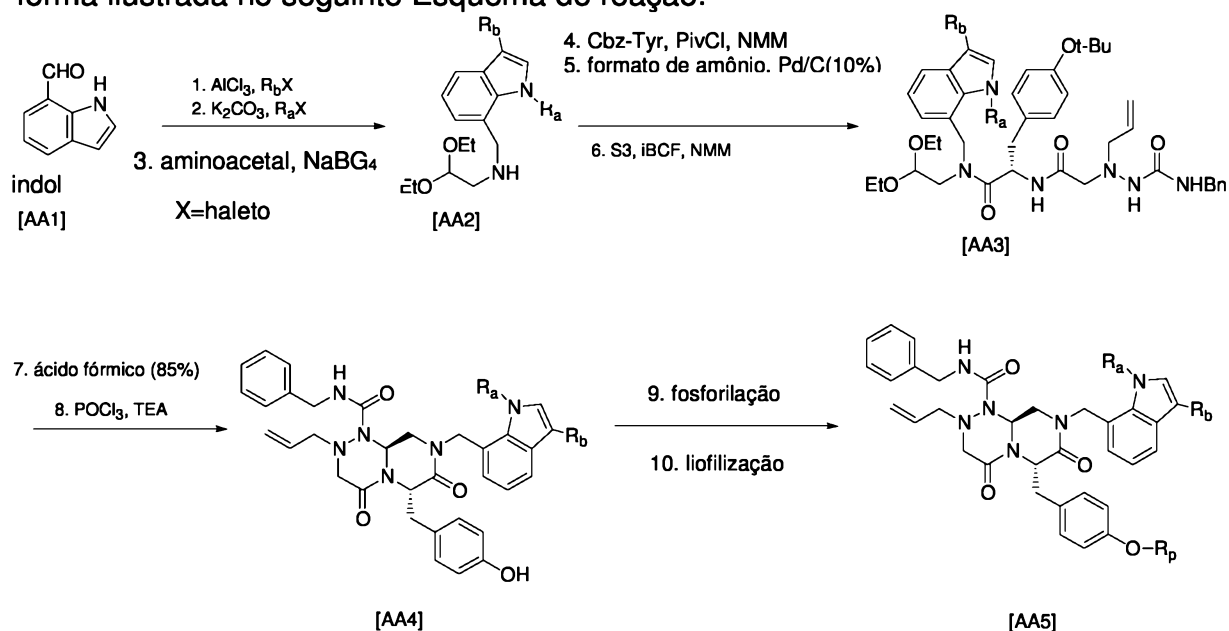
[0052]No método anterior, ácido 2-(1-alil-4-benzilsemicarbazido)acético pode ser preparado pelas seguintes etapas sequenciais:

adicionar TEA(trietilamina) a uma solução de etilidrazinoacetato para formar uma solução de reação;

adicionar brometo de alila (por exemplo, em gotas) à solução de reação; e

adicionar isocianato de benzila (por exemplo, em gotas).

[0053]Compostos representativos da invenção podem ser preparados da forma ilustrada no seguinte Esquema de reação.



[0054]Em certas modalidades, R_a é metila, R_b é $-\text{C}(=\text{O})\text{R}_e$, e R_e é metila ou ciclopropila.

[0055]Conforme visto aqui, o esquema de reação é direcionado para imitadores de ligação reversa, representado pela fórmula química I.

[0056]Os compostos de acordo com a presente invenção são baseados em uma armação de pirazino-triazinona, com quatro diferentes grupos funcionais anexados a ela. Devido aos dois centros quirais destes, os compostos devem ser sintetizados estereosseletivamente.

[0057]Um grupo acila é introduzido no indol-7-carbaldeído de AA1 por meio

de acilação de Friedel-Crafts, seguido pela introdução de alquila e grupos aminoacetais.

[0058]Depois da reação de AA2 com o composto quiral (Cbz-Tirosina-OtBu), o intermediário resultante é submetido a amidação estereosseletiva com PivCl (Cloreto de pivaloíla) e IBCF (cloroformato de isobutila) para disponibilizar AA3. Daí em diante, AA3 é ciclizado com ácido fórmico para obter AA4, seguido por fosforilação, introdução de sal (adição de Na a fosfato usando NaOH 0,5 N) e liofilização para sintetizar compostos pirazino-triazona altamente puros, AA5.

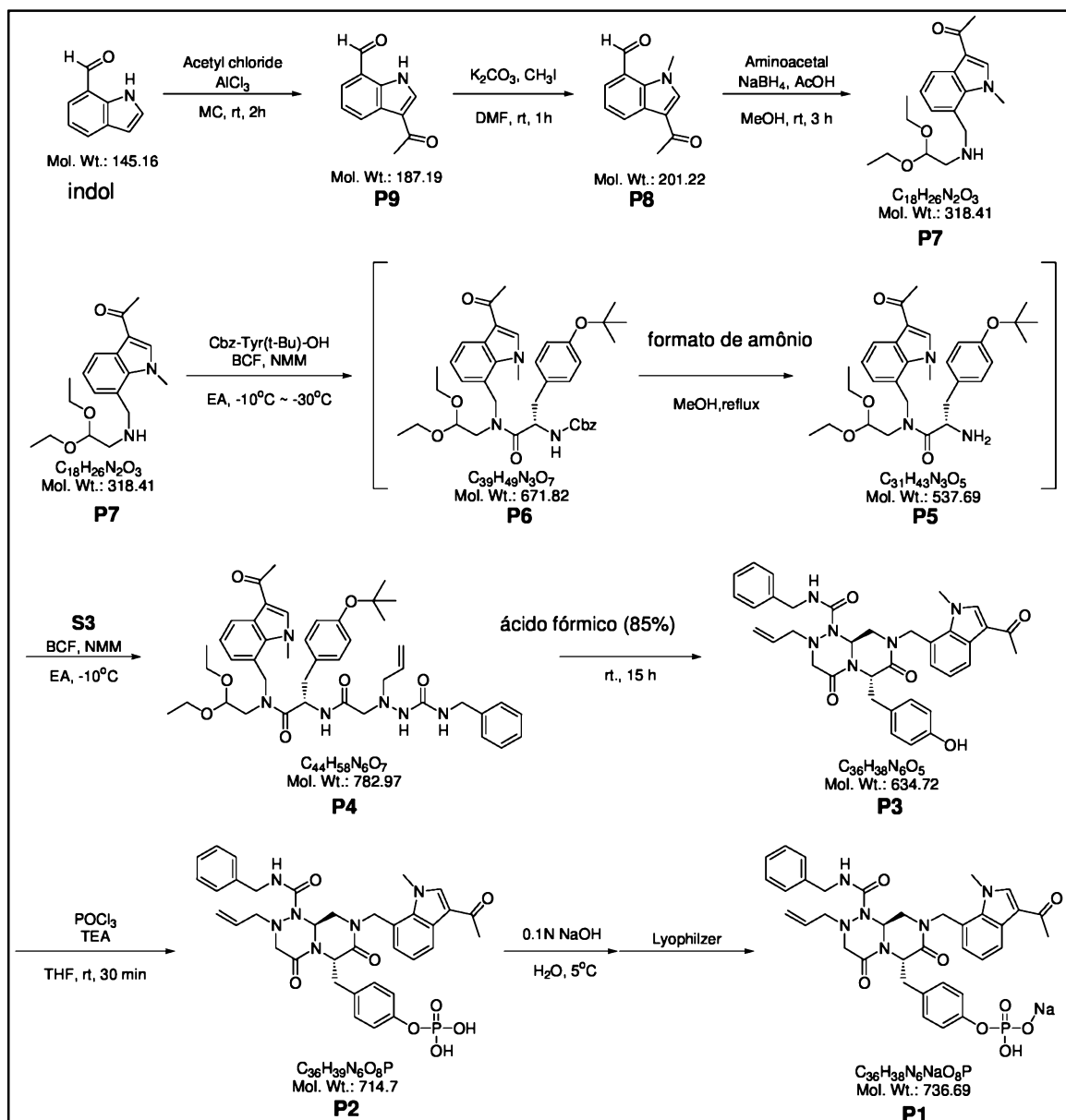
Modo para a Invenção

[0059]Um melhor entendimento da presente invenção pode ser obtido por meio dos seguintes exemplos que são apresentados para ilustrar, mas não devem ser considerados como limitantes da presente invenção.

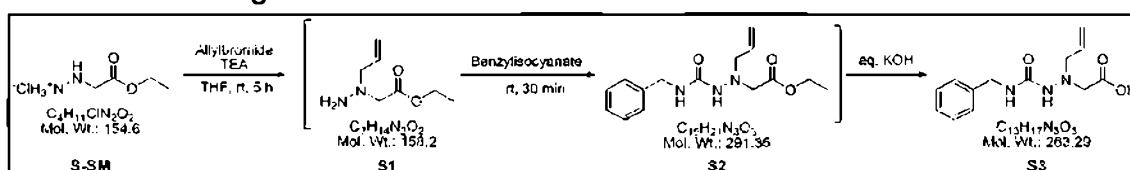
[0060]Da forma aqui demonstrada, os compostos da fórmula química I apresentam atividade anticancerígena.

[0061]O método de fabricação da presente invenção é ilustrado em detalhe como se segue.

<Esquema de reação 1>



[0062]No esquema de reação 1, cadeia lateral S3 pode ser preparada da forma ilustrada a seguir.



[0063]A seguir, cada etapa do método de fabricação ilustrada no esquema de reação 1 será descrita em detalhe nos exemplos 1 a 10.

EXEMPLO 1

[0064]Síntese de S3

ácido 2-(1-alil-4-benzilsemicarbazido)acético

[0065] 67 g de hidrazinoacetato de etila foi dissolvido em 673 mL de THF (tetraidrofurano) e misturados com 121 mL de TEA (triethylamina). A esta mistura de reação foram adicionados em gotas 41 mL de brometo de alila por 20 min. Esta solução foi agitada por 5 horas e filtrada. Ao filtrado foram adicionadas gotas 53 mL de isocianato de benzila por 15 min, seguido por agitação por 30 min a temperatura ambiente. Daí em diante, uma solução de 48 g de KOH (hidróxido de potássio) em 673 mL de água destilada foi adicionada em gotas antes da agitação por 30 min. A separação das camadas foi gerada adicionando 403 mL de MC (diclorometano) e 269 mL de hexano e agitação. A solução aquosa foi lavada uma vez com 201 mL de MC (diclorometano). A solução aquosa foi ajustada para um pH de 2~3 usando 100 mL de HCl concentrado. Depois de ser agitada por 30 min, a solução com o pH ajustado foi extraída com 1009 mL de MC (diclorometano). A camada de MC (diclorometano) assim obtida foi desidratada com 269 g de Na₂SO₄, filtrada e então concentrada em um vácuo. O concentrado é cristalizado com 134 mL de EA (acetato de etila) e 269 mL de hexano, seguido por filtração. O sólido assim obtido foi lameado em 134 mL de EA (acetato de etila), filtrado a 0°C e seco em um vácuo para produzir 40 g de S3 na forma de um sólido branco (rendimento de 35%).

[0066] RMN ¹H (500MHz, CDCl₃) δ 10,84 (bs, 1H), δ 7,90 (s, 1H), δ 7,4-7,3 (m, 5H), δ 6,42 (t, J=5,0 Hz, 1H), δ 5,85-5,72 (m, 1H), δ 5,28 (dd, J=28,5, 2,0 Hz, 1H), δ 5,19 (d, J=17 Hz, 1H), δ 4,47-4,42 (m, 2H), δ 3,70 (dd, J=40,0, 2,5Hz, 1H).

EXEMPLO 2

[0067] Síntese de P9

[0068] 3-Acetil-1H-indol-7-carbaldeído

[0069] 23,5 mL de AcCl (cloreto de acetila) foram adicionados em gotas a uma solução de 55 g de AlCl₃ em 400 mL de MC (diclorometano) com agitação. A esta solução foram adicionados em gotas uma solução de 40 g do material de

partida (indol-7-carbaldeído) em 400 mL de MC (diclorometano). A temperatura da solução deve ser mantida a 0~5°C mediante adição e então aumentou naturalmente para temperatura ambiente. O progresso da reação foi monitorado usando cromatografia de camada delgada (TLC) e cromatografia líquida de alto desempenho. Depois que a reação foi completada, a solução foi submetida a separação das camadas com água. A camada orgânica assim formada foi seca sobre MgSO₄ (sulfato de magnésio), filtrada e então concentrada a 40°C para dar 41 g de P9 na forma de um resíduo concentrado (rendimento de 80%).

EXEMPLO 3

[0070] Síntese de P8

[0071] 3-Acetil-1-metil-1H-indol-7-carbaldeído

[0072] 41 g de P9 foram dissolvidos em 412 mL de DMF (dimetilformamida) e agitados. Depois que a solução foi resfriada a 10°C, 91 g de K₂CO₃ (carbonato de potássio) foram adicionados a ela, e 20 mL de MeI (iodeto de metila) foram adicionados em gotas. A solução resultante aumentou a temperatura naturalmente para temperatura ambiente e foi agitada por 4~5 hrs. Quando reconheceu-se que o material de partida desapareceu, K₂CO₃ foi filtrado, seguido por cristalização em hexano para dar 35 g de P8 na forma de um sólido amarelado (rendimento de 80 %).

EXEMPLO 4

[0073] Síntese de P7

[0074] 1-(7-((2,2-Dietoxietilamino)metil)-1-metil-1H-indol-3-il)etanona

[0075] A uma solução de 35 g de P8 em 354 mL de MeOH (metanol) foram adicionados 3,5 mL de AcOH (acético ácido). A solução foi misturada com 33 mL de aminoacetaldeído dietilacetal a temperatura ambiente e agitada por 3~4 hrs. Depois que a solução foi resfriada a 10°C, 3,3 g do agente de redução NaBH₄ (boroidreto de sódio) foram lentamente adicionados a ela. Neste momento deve-se ter cuidado em virtude da geração de gás hidrogênio e reação exotérmica. A solução foi agitada a

temperatura ambiente por 1 hr. Quando a reação foi completa, 354 mL de EA (acetato de etila) e 354 mL de água destilada foram adicionados de maneira a separar as camadas. A camada orgânica assim formada foi seca sobre 141 g de MgSO₄ (sulfato de magnésio) e cristalizada em hexano para disponibilizar 85 g de P7 na forma de um sólido amarelado (rendimento de 80 %).

[0076]RMN 1H (500MHz, CDCl₃), δ 8.36 (d, J=4.8 Hz, 1H), δ 7.61 (s, 1H), δ 7.17 (d, J=4.2 Hz, 1H), δ 7.10 (d, J=4.2 Hz, 1H), δ 4.58 (t, J=3.3, 1H), δ 4.21 (s, 3H), δ 4.07 (s, 3H), δ 3.68 (m, 2H), δ 3.51 (m, 2H), δ 2.82 (d, J=3.3 Hz, 2H), δ 2.48 (s, 3H), δ 1.19 (t, J=4.2 Hz, 6H).

EXEMPLO 5

[0077]Síntese de P6

[0078](S)-1-(N-((3-acetil-1-metil-1H-indol-7-il)metil)-N-(2,2-dietoxietil)carbamoil)-2-(4-terc-butoxifenil)etilcarbamato de benzila

[0079]85 g de Cbz-Tyr(OtBu) foi dissolvido em 449 mL de EA (acetato de etila) com agitação. Depois que a solução foi resfriada a 0~5°C, 31 mL de NMM (N-metilmorfolina) e 19 mL de cloreto de pivaloíla foram adicionados em gotas a ela. A solução foi agitada por 1~2 hrs e então 44,9 g de P7 foram adicionados a ela a 0~5°C. A solução foi aquecida a temperatura ambiente seguido por agitação por 2~3 h. Depois do término da reação, água destilada foi adicionada para gerar separação das camadas. A camada orgânica assim formada foi lavada com 898 mL de uma solução aquosa de ácido cítrico 5% e 898 mL de uma solução aquosa de NaHCO₃ 5% e então seca sobre 179 g de MgSO₄ (sulfato de magnésio) para ser concentrada. 85 g de P6 foram obtidos na forma de um resíduo (rendimento de 90 %).

EXEMPLO 6

Síntese de P5

[0080](S)-3-(4-terc-butoxifenil)-N-((3-acetil-1-metil-1H-indol-7-il)metil)-2-amino-N-(2,2-dietoxietil)propanamida

[0081]A 85 g de P6 em 853 mL de MeOH foram adicionados 8,5 g de 10% em peso de Pd/C. 16 g de formato de amônio foram adicionados e então refluxados por 2 horas. Depois de finalizar a reação, a solução foi resfriada a temperatura ambiente e Pd/C foi filtrado. A solução foi concentrada antes da separação das camadas com 853 mL de EA (acetato de etila) e 1706 mL de água destilada. A camada orgânica assim formada foi lavada com 850 mL de uma solução aquosa de ácido cítrico 5% e 850 mL de uma solução aquosa de NaHCO₃ 5% e concentrada para dar 56 g de P5 (rendimento de 90 %).

EXEMPLO 7

[0082]Síntese de P4

[0083]40 g de cadeia lateral S3 foi dissolvido em 426 mL de EA (acetato de etila) e resfriado a -10°C. À solução foram adicionados em gotas 41 mL de NMM (N-metilmorfolina) e 20 mL de iBCF (iso-butilcloroformate) na mesma temperatura. A mistura de reação foi agitada por 2~3 horas a -10°C depois da qual uma solução de 56 g de P5 em 200 mL de EA (acetato de etila) foi adicionada em gotas a ela. A mistura de reação foi aquecida a temperatura ambiente e então agitada por 1~2 horas. Quando a reação terminou, EA (acetato de etila) e 850 mL de água destilada foram adicionados para separar as camadas. As camadas orgânicas assim formadas foram lavadas com 850 mL de uma solução aquosa de ácido cítrico 5% e 850 mL de uma solução aquosa de NaHCO₃ 5% e secas sobre 340 g de MgSO₄ (sulfato de magnésio) para a concentração. 81 g de P4 foram obtidos como um resíduo concentrado (rendimento de 90 %).

EXEMPLO 8

[0084]Síntese de P3

[0085](6S,9aS)-6-(4-Hidroxibenzil)-8-((3-acetil-1-metil-1H-indol-7-il)metil)-2-alil-N-benzil-hexaidro-4,7-dioxo-2H-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1(6H)-carboxamida

[0086]81 g de P4 foram dissolvidos em 383 mL de 85% de ácido fórmico e

aquecidos a 50°C. Depois de ser agitada por 1~2 horas na mesma temperatura, a solução foi resfriada a temperatura ambiente e misturados com acetona. Esta solução foi ajustada a um pH de 4,0~4,2 adicionando em gotas NaOH 5 N, para formar cristais brutos. Depois de resfriar a 10~15°C, o sólido foi filtrado e completamente dissolvido em 767 mL de MeOH com aquecimento. Cristais precipitados de resfriamento lento foram filtrados para disponibilizar P3 na forma de um cristal rosado (40 g, rendimento de 60 %).

[0087]RMN ¹H (500MHz, CDCl₃) 8,43 (d, J=4,8 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,31-7,30 (m, 1H), 7,29-7,21 (m, 2H), 7,00 (d, J=4,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,69-6,65 (m, 3H), 5,87 (s, 1H), 5,55-5,44 (m, 3H), 5,34 (t, J=4,6 Hz, 1H), 5,03 (d, J=6,3 Hz, 1H), 4,87 (d, J=9,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J=7,5 Hz, 1H), 4,42 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,29 (dd, J=9,0, 3,6 Hz, 1H), 4,02 (s, 3H), 3,43 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,27 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,18 (dd, J=7,2, 2,4 Hz, 1H), 2,51 (s, 3H).

EXEMPLO 9

[0088]Síntese de P2

[0089]diidrogenofosfato de 4-(((6S,9aS)-1-(benzilcarbamoil)-8-((3-acetil-1-metil-1H-indol-7-il)metil)-2-alil-octaidro-4,7-dioxo-1H-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazin-6-il)metil)fenila

[0090]40 g de P3 foram dissolvidos em 217 mL de THF (tetraidrofurano), resfriado a 0~5°C e misturados com 25 mL de POCl₃. Na mesma temperatura, 28 mL de TEA (triethylamina) foram adicionados em gotas. Agitação por 1 h foi seguido por adição lenta de 87 mL de água destilada. 348 mL de uma solução aquosa saturada de NaHCO₃ foram adicionados à solução que foi então agitada por 30 min. Depois que a solução foi submetida a separação das camadas adicionando 217 mL de EA (acetato de etila), 217 mL de MC (cloreto de metileno) foram adicionados à camada aquosa e então o pH foi ajustado a 1~3 com 14 mL de HCl concentrado

para separar as camadas. A camada orgânica assim formada foi desidratada com 174 g de Na₂SO₄ (sulfato de sódio) e concentrada em vácuo. O concentrado foi cristalizado em 130 mL de THF (tetraidrofurano) e 435 mL de n-hexano, filtrado e seco em vácuo para disponibilizar 40 g de P2 na forma de um sólido branco (rendimento de 90 %).

[0091]RMN ¹H (500MHz, DMSO-d₆) 8,27 (s, 1H), 8,16 (d, J=7,5 Hz, 1H), 7,85 (t, J=6,3 Hz, 1H), 7,34-7,29 (m, 3H), 7,22-7,01 (m, 9H), 6,79 (d, J=6,9 Hz, 1H), 5,84-5,75 (m, 1H), 5,52 (dd, J=8,1, 3,6 Hz, 1H), 5,38 (d, J=15,6 Hz, 1H), 5,17-5,13 (m, 1H), 5,09-5,03 (m, 2H), 4,90 (d, J=15,6 Hz, 1H), 4,22 (d, J=6,3 Hz, 2H), 4,06 (s, 3H), 3,76-3,68 (m, 1H), 3,61-3,55 (m, 2H), 3,33-3,27 (m, 4H), 3,07-3,02 (m, 2H), 2,41 (s, 3H).

EXEMPLO 10

[0092]Síntese de P1

[0093]4-(((6S,9aS)-1-(benzilcarbamoil)-8-((3-acetil-1-metil-1H-indol-7-il)metil)-2-alil-octaidro-4,7-dioxo-1H-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazin-6-il)metil)fenil hidrogenofosfato de sódio

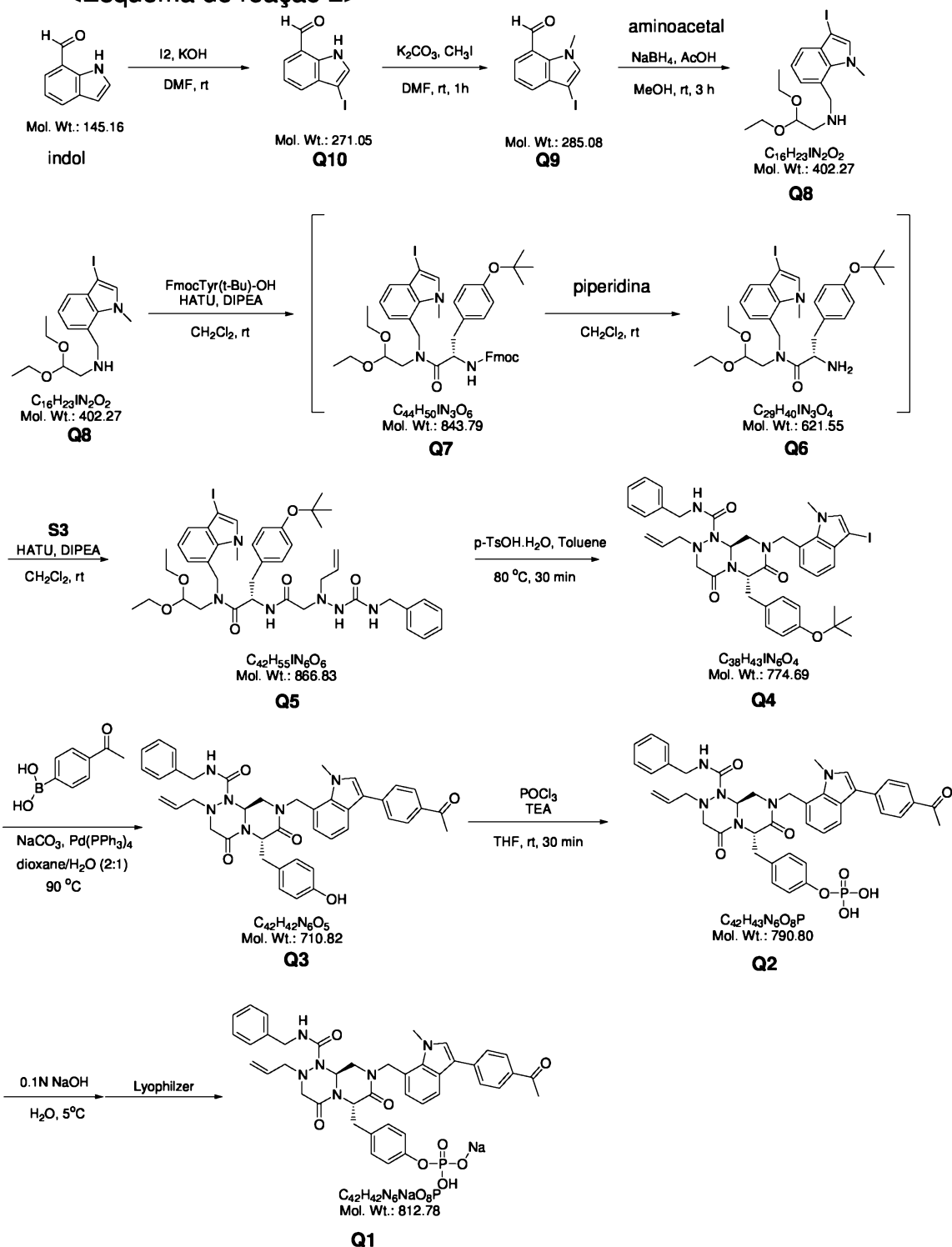
[0094]40 g de P2 seco foram dissolvidos em 2000 mL de água destilada com agitação. A solução foi resfriada a 0~5°C, seguido por ajuste do pH deste a 4,6~4,8 (130~110mV) lentamente adicionando uma solução de NaOH aquosa 0,1 N, e então liofilizada para disponibilizar 40 g de P1 na forma de um sólido branco (rendimento de 95%).

[0095]RMN ¹H (300MHz, D₂O) 7,86 (d, J=7,8 Hz, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,07-6,93 (m, 10H), 6,56 (d, J=7,2 Hz, 1H), 5,39-5,32 (m, 2H), 5,09 (t, J=5,4 Hz, 1H), 4,95 (d, J=15,6 Hz, 1H), 4,70-4,53 (m, 2H), 4,14 (d, J=15,6 Hz, 1H), 3,97 (d, J=15,6 Hz, 1H), 3,57 (s, 3H), 3,56-3,49 (m, 1H), 3,30-2,81 (m, 6H), 2,84-2,81 (m, 1H), 2,18 (s, 3H).

[0096]Um outro exemplo de preparação para os compostos representativos

é sugerido a seguir.

<Esquema de reação 2>



[0097]O método ilustrado no esquema de reação 2 é descrito em detalhe nos exemplos 11 a 21.

EXEMPLO 11

[0098]Síntese de S3 (Cadeia lateral)

[0099]S3 foi obtido da mesma maneira que no exemplo 1.

EXEMPLO 12

[00100]Síntese de Q10

[00101]3-Iodo-1H-indol-7-carbaldeído

[00102]Uma solução de 24 g de I2 em 125 mL de DMF (dimetilformamida) foi adicionada ao material de partida (indol-7-carbaldeído) e reagiu com 5,3 g de KOH com agitação. O progresso da reação foi monitorado com TLC. Quando a reação foi completa, 354 mL de EA (acetato de etila) e 354 mL de água destilada foram adicionados para gerar separação das camadas. A camada orgânica assim formada foi lavada com 10% de solução aquosa de Na₂S₂O₃, seca sobre Na₂SO₄ (sulfato de sódio), filtrada e concentrada a 40°C para dar Q10 na forma de um resíduo concentrado.

[00103]RMN 1H (CDCl₃, 300MHz) δ 10,3 (bs, 1H), 10,2 (s, 1H), 7,79 (d, 1H, J=7,8 Hz), 7,75 (d, 1H, J=7,2 Hz), 7,44 (d, 1H, J=2,1 Hz), 7,37 (t, 1H, J=7,2 Hz); m/z 272,14 [M+1]⁺

EXEMPLO 13

[00104]Síntese de Q9

[00105]17 g de Q10 foram dissolvidos em 100 mL de DMF (dimetilformamida) com agitação. A solução resultante foi resfriada a 10°C e misturados com 18 g de K₂CO₃ (carbonato de potássio). Depois que 6 mL de MeI (iodeto de metila) foram adicionados em gotas a ela, a solução foi aquecida a temperatura ambiente e agitada por 4~5 horas. Quando percebeu-se que o material de partida desapareceu, K₂CO₃ foi filtrado, seguido por cristalização em hexano para dar Q9.

[00106]RMN 1H (CDCl₃, 300MHz) δ 10,2 (s, 1H), 7,76 (td, 1H, J=7,8, 1,2

Hz), 7,31(t, 1H, J=7,8 Hz), 7,12 (s, 1H), 4,14 (s, 3H)

EXEMPLO 14

[00107]Síntese de Q8

[00108]A uma solução de 18 g de Q9 em 600 mL de MeOH (metanol) ram adicionados 0,4 mL de AcOH (acético ácido). A temperatura ambiente, 14 mL de aminoacetaldeído dietilacetal foi adicionada à solução, seguido por agitação por 3~4 horas. A solução foi resfriada a 10°C antes de 3,3 g do agente de redução NaCNBH₃ (cianoboroidreto de sódio) foi lentamente adicionado. Neste momento deve-se ter cuidado em virtude de gás hidrogênio e valor erem sido gerados. Depois que a mistura de reação foi agitada a temperatura ambiente por 1 h, o progresso da reação foi monitorado. Quando a reação foi completa, 354 mL de EA (acetato de etila) e 354 mL de água destilada foram usados para separar as camadas. A camada orgânica assim formada foi desidratada com 141 g de Na₂SO₄ (sulfato de sódio) e cristalizada em hexano para dar Q8.

EXEMPLO 15

[00109]Síntese de Q7

[00110]27 g de Fmoc-Tyr(OtBu) foram dissolvidos em 200 mL de MC (diclorometano) com agitação. A esta solução foram adicionados 23 g de HATU (O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurônio hexafluorofosfato) e 20 mL de DIPEA (diisopropiletilamina) a temperatura ambiente. A solução foi agitada for 1~2 horas, misturada com 15,8 g de Q9 e ainda agitada por 2~3 horas. Depois de finalizar a reação, água destilada foi adicionada para separar as camadas. A camada orgânica assim formada foi lavada com 898 mL de uma solução aquosa de ácido cítrico 5% e 898 mL de uma solução aquosa de NaHCO₃ 5%, desidratada com Na₂SO₄ (sulfato de sódio), e concentrada para disponibilizar Q7 na forma de um resíduo concentrado.

EXEMPLO 16

[00111] Síntese de Q6

[00112] A uma solução de 34 g de Q7 em 400 mL de MC (diclorometano) foram adicionados 20 mL de piperidina. Depois que a reação foi completa, a solução é concentrada, seguido por separação das camadas com 400 mL de MC (diclorometano) e 800 mL de água destilada. A camada orgânica assim formada foi lavada com 850 mL de uma solução aquosa de ácido cítrico 5% e 850 mL de uma solução aquosa de NaHCO_3 5%, e então concentrada para dar Q6.

EXEMPLO 17**[00113] Síntese de Q5**

[00114] A uma solução de 13 g de S3 em 400 mL de MC (diclorometano) foram adicionados em gotas 19 g de HATU (O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurônio hexafluorofosfato) e 16 mL de DIPEA (diisopropiletilamina) a temperatura ambiente. Depois que a solução foi agitada por 2~3 horas, uma solução de 28 g de Q6 em 200 mL de MC (diclorometano) foi adicionada em gotas a ela. Ela foi agitada a temperatura ambiente por 1~2 horas. Quando a reação foi completa, 200 mL de MC (diclorometano) e 200 mL de água destilada foram usados para gerar separação das camadas. A camada orgânica assim formada foi lavada com 200 mL de uma solução aquosa de ácido cítrico 5% e 200 mL de uma solução aquosa de NaHCO_3 5% e desidratada com 340 g de Na_2SO_4 (sulfato de sódio) e então concentrada para disponibilizar Q5 na forma de um resíduo concentrado.

EXEMPLO 18**[00115] Síntese de Q4**

[00116] 289 mg de p-TsOH.H₂O foram adicionados a uma solução de 4 g de Q5 em 100 mL de tolueno que foi então aquecido a 80°C. A solução resultante foi agitada na mesma temperatura por 30 min, resfriada a temperatura ambiente e concentrada. Separação das camadas foi gerada com EA (acetato de etila) e água destilada. A camada orgânica foi lavada com 200 mL de uma solução aquosa de

ácido cítrico 5% e 200 mL de uma solução aquosa de NaHCO_3 5% e desidratada com 340 g de Na_2SO_4 (sulfato de sódio) e então concentrada para dar Q4 na forma de um resíduo concentrado.

[00117]RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz) δ 7,43~7,27 (m, 3H), 7,23~7,21 (m, 2H), 7,12 (t, 1H, $J=7,2\text{Hz}$), 7,08 (s, 1H), 7,05 (d, 2H, $J=7,8\text{ Hz}$), 6,97 (d, 1H, $J=7,2\text{ Hz}$), 6,90 (d, 2H, $J=8,4\text{ Hz}$), 6,59 (t, 1H, $J=6,0\text{ Hz}$), 5,62 (dd, 1H, $J=10,2, 4,8\text{ Hz}$), 5,53~5,39 (m, 3H), 5,37 (t, 1H, $J=6,0\text{ Hz}$), 5,02 (d, 1H, $J=10,2\text{ Hz}$), 4,93 (d, 1H, $J=16,5\text{ Hz}$), 4,77 (d, 1H, $J=17,1\text{ Hz}$), 4,44 (dd, 1H, $J=15,0, 6,3\text{ Hz}$), 4,32 (dd, 1H, $J=15,0, 6,0\text{ Hz}$), 3,97 (s, 3H), 3,49~3,19 (m, 8H), 1,33 (s, 9H);

EXEMPLO 19

[00118]Síntese de Q3

[00119]A uma solução de 100 mg de Q4 em uma mistura de 8 mL de 1,4-dioxane e 4 mL de água foram adicionados a 33 mg de ácido 4-acetilbenzenoborônico, 41 mg de Na_2CO_3 (carbonato de sódio) e 15 mg de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (tetraquistrifenilfosfinopaládio), seguido por elevação da temperatura a 90°C . Depois de ser agitada por 2 horas na mesma temperatura, a solução foi resfriada a temperatura ambiente e concentrada. EA (acetato de etila) e água destilada foram usadas para gerar separação das camadas. A camada orgânica assim formada foi desidratada com Na_2SO_4 (sulfato de sódio) para a concentração. O concentrado foi dissolvido em MC (diclorometano) ao qual 1 mL de TFA (ácido trifluoracético) foi então adicionado em gotas, seguido por agitação a temperatura ambiente. Depois de finalizar a reação, a mistura de reação foi lavada com 10 mL de uma solução aquosa de NaHCO_3 5% e desidratada com Na_2SO_4 (sulfato de sódio) para dar Q3 na forma de um resíduo concentrado.

[00120]RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz) δ 8,05 (d, 2H, $J=8,4\text{ Hz}$), 7,91 (d, 1H, $J=7,2\text{ Hz}$), 7,71 (d, 2H, $J=8,4\text{ Hz}$), 7,40~7,20 (m, 4H), 7,16 (t, 1H, $J=7,2\text{Hz}$), 7,05 (d, 2H, $J=8,4\text{ Hz}$), 6,96 (d, 1H, $J=6,9\text{ Hz}$), 6,69 (d, 2H, $J=8,4\text{ Hz}$), 6,68 (m, 1H),

5,58~5,44 (m, 3H), 5,37 (t, 1H, J=5,7 Hz), 5,03 (d, 1H, J=10,8 Hz), 4,97 (d, 1H, J=14,7 Hz), 4,81 (d, 1H, J=17,1 Hz), 4,47 (dd, 1H, J=15,3, 6,3 Hz), 4,33 (dd, 1H, J=15,3, 6,3 Hz), 4,33 (s, 3H), 3,47~3,24 (m, 8H), 2,64 (s, 3H); m/z 711,56 [M+1]⁺

EXEMPLO 20

[00121] Síntese de Q2

[00122] Uma solução de 50 g de Q3 em 217 mL de THF (tetraidrofurano) foi resfriada a 0~5°C e misturados com 25 mL de POCl₃. Na mesma temperatura, 28 mL de TEA (triethylamina) foram adicionados em gotas à solução que foi então agitada por 1 h. 87 mL de água destilada foram lentamente adicionados. 348 mL de uma solução aquosa saturada de NaHCO₃ foram adicionados e a solução foi agitada por 30 min. A adição de 217 mL de EA (acetato de etila) resultou na separação das camadas. À camada aquosa foram adicionados 217 mL de MC (cloro de metileno), seguido pelo ajuste do pH da solução a 1~3 com 14 mL de HCl concentrado. A camada orgânica assim formada foi desidratada com Na₂SO₄ (sulfato de sódio) e concentrada em vácuo. O concentrado foi cristalizado em 130 mL de THF (tetraidrofurano) e 435 mL de n-hexano e o sólido foi filtrado e seco em um vácuo.

EXEMPLO 21

[00123] Síntese de Q1

[00124] 44 g de Q2 seco foram dissolvidos em 200 mL de água destilada com agitação. Depois de resfriar a 0~5°C, NaOH 0,1 N foi lentamente adicionado para ajustar o pH da solução a 4,6~4,8 (130~110 mV), seguido por liofilização para dar Q1.

[00125] Será dada a seguir uma descrição detalhada será dada do efeito dos compostos preparados.

EXEMPLO 22

[00126] Os compostos foram preparados na forma de pró-fármacos para melhorar a solubilidade destes. Fosfato pode ser introduzido como um possível

substituinte de pró-fármaco que pode existir na forma tanto de fosfato de monossódio ou fosfato de dissódio.

[00127]Este pró-fármaco foi preparado adicionando hidróxido de sódio a P2, que foi sintetizado de acordo com o exemplo 9. Tanto as formas de monossódio quanto de dissódio do pró-fármaco mostram uma solubilidade de até 400 mg/mL. Ambas as formas têm propriedades vantajosas na forma de uma composição para injeção I.V. em que uma forma de monossódio tem pH 4,45 e uma forma de dissódio tem pH de 7,62.

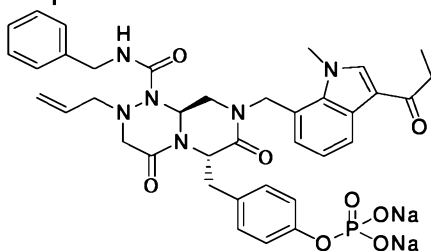
[00128]FIG. 1 graficamente mostra mudanças no pH e potencial quando NaOH 0,5 N é adicionado em gotas ao composto da presente invenção. No gráfico, o eixo horizontal representa as quantidades adicionadas de hidróxido de sódio. No gráfico, os primeiros e segundo pontos de inflexão correspondem ao tempo de produção das formas de monossódio e dissódio, respectivamente.

EXEMPLO 23

[00129]Atividade anticancerígena em modelo animal de leucemia mielóide aguda (AML)

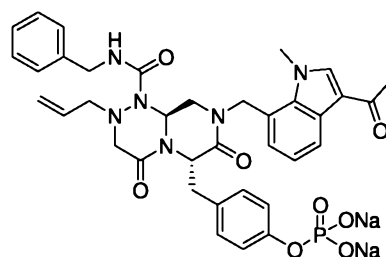
[00130]Materiais de teste foram preparados na forma de pró-fármacos para aumentar a solubilidade dos compostos de interesse. Um grupo funcional de fosfato que pode ser tanto uma forma monossódio quanto dissódio foi introduzido na forma de um pró-fármaco substituinte.

Composto A1

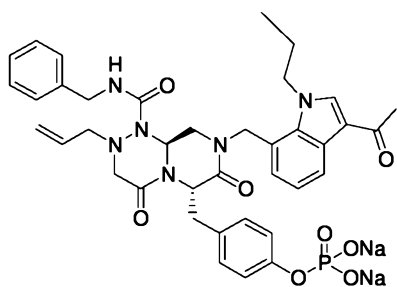


Composto A3

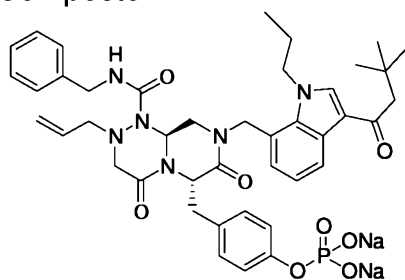
Composto A2



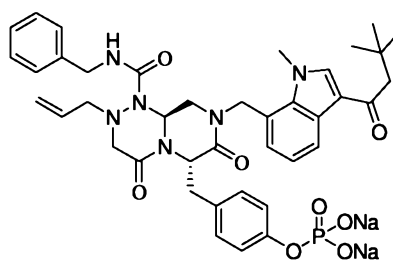
Composto A



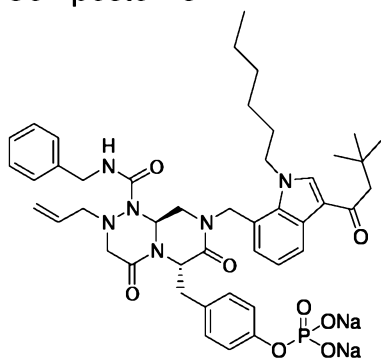
Composto B1



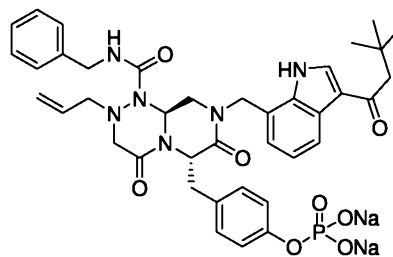
Composto B2



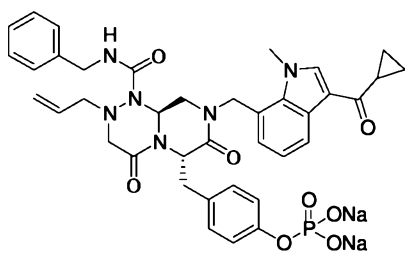
Composto B3



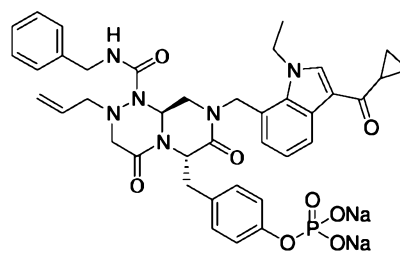
Composto B



Composto C1

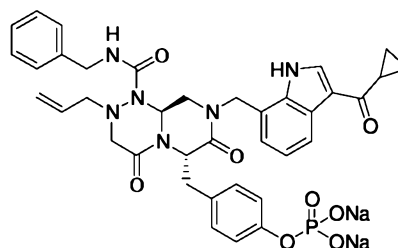
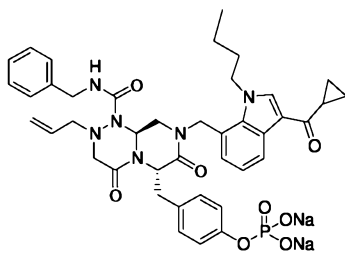


Composto C2



Composto C3

Composto C



[00131]Material de referência: Ara-C (Medicamento comercialmente disponível para tratar Leucemia mieloide aguda)

[00132]A linha de célula AML humana, MV4-11, foi comprada (ATCC, U.S.A.) e cultivada a 37°C em uma condição de CO₂ 5% em meio de Dulbecco modificado por Iscove (GIBCO, cat# 21056) suplementado com 10% de soro bovino fetal (GIBCO, cat# 25030-081). Camundongos nude Balb/C fêmeas (OrientBio, Sungnam-city, Korea), de 5-6 semanas de idade, foram aclimatados no quarto de produção. Usando uma seringa estéril, uma mistura de 1:1 de células MV4-11: matrigel (v/v) foi implantada em uma quantidade de 5x10⁶/camundongo abaixo das axilas de cada um dos camundongos. Quando tumor foi formado 2 semanas depois da implantação, os camundongos foram divididos em cinco (5) grupos de maneira tal que um desvio mínimo com relação ao tamanho do tumor e peso corporal fosse obtido entre os grupos. Os materiais de teste foram dissolvidos em salina fisiológica e intravenosamente injetados em uma dose de 10 ml/kg uma vez por dia e cinco vezes por semana por duas semanas (dias de administração dos materiais de teste, D1~D5, D8~D12). Para um controle, somente salina fisiológica foi usada. O tamanho do tumor foi determinado da forma calculada pela seguinte equação: Eixo longo x Eixo curto x Eixo curto/2. Os eixos longo e curto do tumor foram medidos no comprimento usando um paquímetro digital (Mitsutoyo, Japan). A atividade anticancerígena dos materiais de teste foi numerada de acordo com a seguinte equação.

[00133]Taxa de inibição de crescimento do tumor A (%) = 100 X [1-(b-

$a / (Ref\ b - Ref\ a)$

em que

a = tamanho do tumor médio de grupo administrado com medicamento no dia 1

b = tamanho do tumor médio de grupo administrado com medicamento no dia 12

Ref um = tamanho do tumor médio do controle no dia 1

Ref b = tamanho do tumor médio do controle no dia 12

[00134] Quando o tamanho do tumor médio do grupo administrado com medicamento no dia 12 foi menor que o de logo antes da administração dos materiais de teste, ele é indicado como Regressão (>100%). Taxas de inibição do crescimento do tumor do crescimento de tumor de materiais de teste são sumarizadas na tabela 2, a seguir.

TABELA 2

Taxa de inibição de Crescimento do tumor

Material de testel	dose (mg/kg)	Taxa de inibição de crescimento do tumor
Ara-C	50	77%
Ara-C	25	66%
Composto A1	25	Regressão (>100%)
Composto A2	25	Regressão (>100%)
Composto A3	25	Regressão (>100%)
Composto A	25	61%
Composto B1	25	Regressão (>100%)
Composto B2	25	Regressão (>100%)
Composto B3	25	80%
Composto B	25	49%

Composto C1	25	Regressão (>100%)
Composto C2	25	Regressão (>100%)
Composto C3	25	70%
Composto C	25	25%

[00135] Resultados do teste apresentaram que todos os compostos de teste têm atividade inibitória contra crescimento do tumor. Nos compostos A1-A3, B1-B3 e C1-C3 de acordo com a presente invenção, taxas de inibição do tumor foram medidas para variar de 70 % a regressão (>100%). Ao contrário, Ara-C, observou-se que um medicamento amplamente usado para AML tem uma taxa de inibição do tumor de 66%. Tomados juntos, os resultados demonstram que os compostos da presente invenção são altamente inibitórios do crescimento do tumor.

EXEMPLO 24

[00136] Ensaio de cardiotoxicidade *in vitro*: Ensaio para atividade inibitória contra hERG

[00137] HEK293 foi transfectado com cDNA de hERG (gene relacionado Ether-à-go-go humano) por 48 horas usando Lipofectamina 2000 (Invitrogen, USA). As células HEK293 transfectadas foram cultivadas em meio de Dulbecco modificado (MEM, Gibco, 1 L) suplementado com 10% de FBS, piruvato de sódio (10 mL), penicilina/estreptomicina (10 mL) e Zeocin (100 µg/mL, Invitrogen) a 37°C em 5% de CO₂. Depois de ser desanexados dos vasos de incubação por tripsinização, as células HEK293 foram colocadas em uma câmara para registrar patch clamp. Um método de patch clamp de célula total foi usado para registrar correntes de K⁺ de hERG em células HEK293 usando as seguintes soluções intra/extracelulares. Daí em diante, os efeitos das correntes de K⁺ foram observados com os compostos aplicados fora das células.

- solução intracelular: K-aspartato 100 mM, KCl 25 mM, NaCl 5 mM, MgCl₂ 1 mM, Mg-ATP 4 mM, ácido 1,2-bis(o-aminofenóxi)etano-N,N,N',N'-tetraacético

(BAPTA) 10 mM, ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanossulfônico (HEPES) 10 mM, magnésio normalizado (NMG) foram usados para ajustar o pH para 7,2;

- solução extracelular: NaCl 145 mM, KCl 5 mM, glicose 10 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 2 mM, HEPES 10 mM, HCl foram usados para ajustar o pH para 7,4.

O potencial da membrana foi despolarizado de -80 mV para +20 mV por 1.000 ms em um modo de patch clamp de célula total e então repolarizado para -40 mV por 1.000 ms, durante os quais a corrente da cauda das correntes de K⁺ de hERG foram registradas. Com relação a isto, as concentrações dos compostos que são requeridos para 50% de inibição da corrente foram representadas como IC₅₀.

TABELA 3

Ensaio de cardiotoxicidade

Cpd. de teste	Cardiotoxicidade (μM) (Ensaio da atividade de inibição de hERG, IC ₅₀)
Composto A1	80
Composto A	14
Composto B1	18
Composto B2	25
Composto B3	20
Composto B	1.6

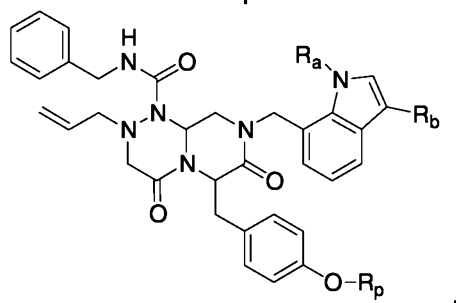
[00138]O risco de cardiotoxicidade foi aumentado em muitos medicamentos. Alguns deles foram retirados do mercado em virtude de causarem uma morte súbita devido à cardiotoxicidade deste. A cardiotoxicidade dos medicamentos é associada com à extensão dos intervalos QT nos eletrocardiogramas. Particularmente, sabe-se que a maioria dos medicamentos que se estendem em intervalos QT inibe canais de IKr (Bernard Fermini and Anthony A. Fossa, Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2, 439-447). O canal hERG mostra o efeito mais importante na cardiotoxicidade

entre os canais IKr. Neste exemplo, o risco de cardiotoxicidade foi avaliado usando células de mamífero que expressam canal hERG humano, que são internacionalmente reconhecidas como um sistema (ICH guideline, S7B, Step4, 12, May, 2005). Embora a atividade farmacêutica do medicamento deva ser levada em consideração, um medicamento é avaliado como tendo um baixo risco de cardiotoxicidade quando IC50 deste é 10 μ M ou mais. Neste ensaio, observou-se que a maioria dos compostos de teste superam este critério. Tendo maior IC50, composto A1 foi avaliado como mais seguro que o composto A, e compostos B1, B2 e B3 que o composto B.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto da fórmula química I, **CARACTERIZADO** pelo fato de que apresenta a seguinte estrutura:

Fórmula química I

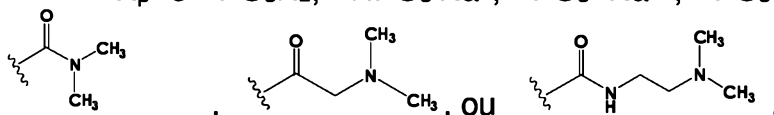


em que:

R_a é um grupo alquila C_1-C_6 ;

R_b é $-C(=O)R_e$, em que R_e é um grupo alquila C_1-C_6 , um grupo alquenila C_2-C_6 ou um grupo alquinila C_2-C_6 ; e

R_p é $-PO_3H_2$, $-HPO_3^-Na^+$, $-PO_3^{2-}Na^2+$, $-PO_3^{2-}K_2^+$, $-PO_3^{2-}Mg^{2+}$, $-PO_3^{2-}Ca^{2+}$,



2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que:

R_a é metila,

R_b é $-C(=O)R_e$, em que R_e é alquila C_1-C_6 , e

R_p é $-PO_3H_2$, $-HPO_3^-Na^+$ ou $-PO_3^{2-}Na^2+$.

3. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o composto representado pela fórmula química I é:

benzilamida do ácido 8-(3-Acetil-1-metil-1H-indol-7-ilmetil)-2-alil-6-(4-hidroxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-8-[3-(3,3-dimetil-butiril)-1-metil-1H-indol-7-ilmetil]-6-(4-hidróxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-8-(3-ciclopropanocarbonil-1-metil-1H-indol-7-

ilmetil)-6-(4-hidróxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-6-(4-hidróxi-benzil)-8-[1-metil-3-(3-metil-butil)-1H-indol-7-ilmetil]-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-8-(3-butil-1-metil-1H-indol-7-ilmetil)-6-(4-hidróxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-8-(3-ciclopropanocarbonil-1-etil-1H-indol-7-ilmetil)-6-(4-hidróxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-8-(1-alil-3-ciclopropanocarbonil-1H-indol-7-ilmetil)-6-(4-hidróxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-6-(4-hidróxi-benzil)-8-(1-metil-3-pentanoil-1H-indol-7-ilmetil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-6-(4-hidróxi-benzil)-8-(1-metil-3-propionil-1H-indol-7-ilmetil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 8-(3-Acetil-1-propil-1H-indol-7-ilmetil)-2-alil-6-(4-hidróxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-8-[3-(3,3-dimetil-butil)-1-propil-1H-indol-7-ilmetil]-6-(4-hidróxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico,

benzilamida do ácido 2-Alil-8-[3-(3,3-dimetil-butil)-1-hexil-1H-indol-7-ilmetil]-6-(4-hidróxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico, ou

benzilamida do ácido 2-Alil-8-(1-butil-3-ciclopropanocarbonil-1H-indol-7-ilmetil)-6-(4-hidróxi-benzil)-4,7-dioxo-hexaidro-pirazino[2,1-c][1,2,4]triazina-1-carboxílico.

4. Composição farmacêutica **CARACTERIZADA** pelo fato de que

compreende o composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 3 e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

5. Uso da composição farmacêutica como definida na reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo que é na fabricação de um medicamento para tratar leucemia mielóide aguda (AML).

6. Uso, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a composição farmacêutica é formulada para ser injetada no paciente.

7. Método para fabricar o composto como definido na reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende as seguintes etapas sequenciais:

introduzir um grupo acila no indol-7-carbaldeído por meio de acilação de Friedel-Crafts para fornecer 3-acil-indol-7-carbaldeído;

introduzir um grupo alquila e um grupo aminoacetal em 3-acil-indol-7-carbaldeído para fornecer um derivado de 1-alquil-3-acil-indol;

amidar o derivado de 1-alquil-3-acil-indol com estereoseletividade Cbz-Tirosina-OtBu e ácido 2-(1-alil-4-benzilsemicarbazido)acético para fornecer um intermediário de reação;

ciclizar o intermediário de reação na presença de ácido fórmico para fornecer um intermediário cíclico; e

fosforilar o intermediário cíclico para fornecer um composto de fórmula química (I).

8. Método, de acordo com a reivindicação 7, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ácido 2-(1-alil-4-benzilsemicarbazido)acético é sintetizado pelas seguintes etapas sequenciais:

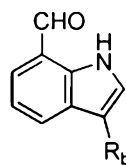
adicionar TEA (triethylamina) a uma solução de etilidrazinoacetato para fornecer uma solução de reação;

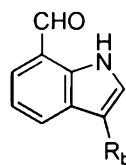
adicionar brometo de alila à solução de reação; e então

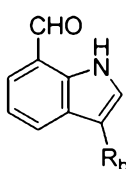
adicionar isocianato de benzila.

9. Método, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que brometo de alila e isocianato de benzila são adicionados de uma maneira em gotas.

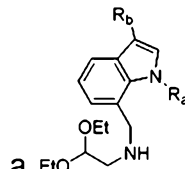
10. Método para preparar um composto de fórmula química (I), **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:



converter indol-7-carbaldeído a , em que R_b é um grupo arila, um grupo arila substituído, ou -C(=O)R_e, em que R_e é um grupo alquila C₁-C₆, um grupo alquenila C₂-C₆ ou um grupo alquinila C₂-C₆;

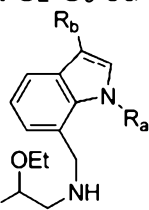


converter

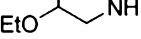


a

, em que R_a é um grupo alquila C₁-C₆, um grupo alquenila C₂-C₆ ou um grupo alquinila C₂-C₆;

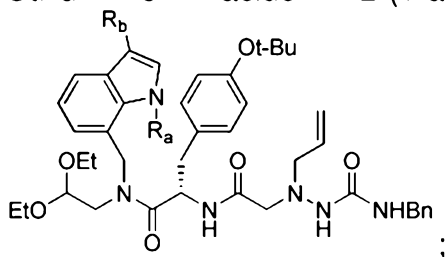


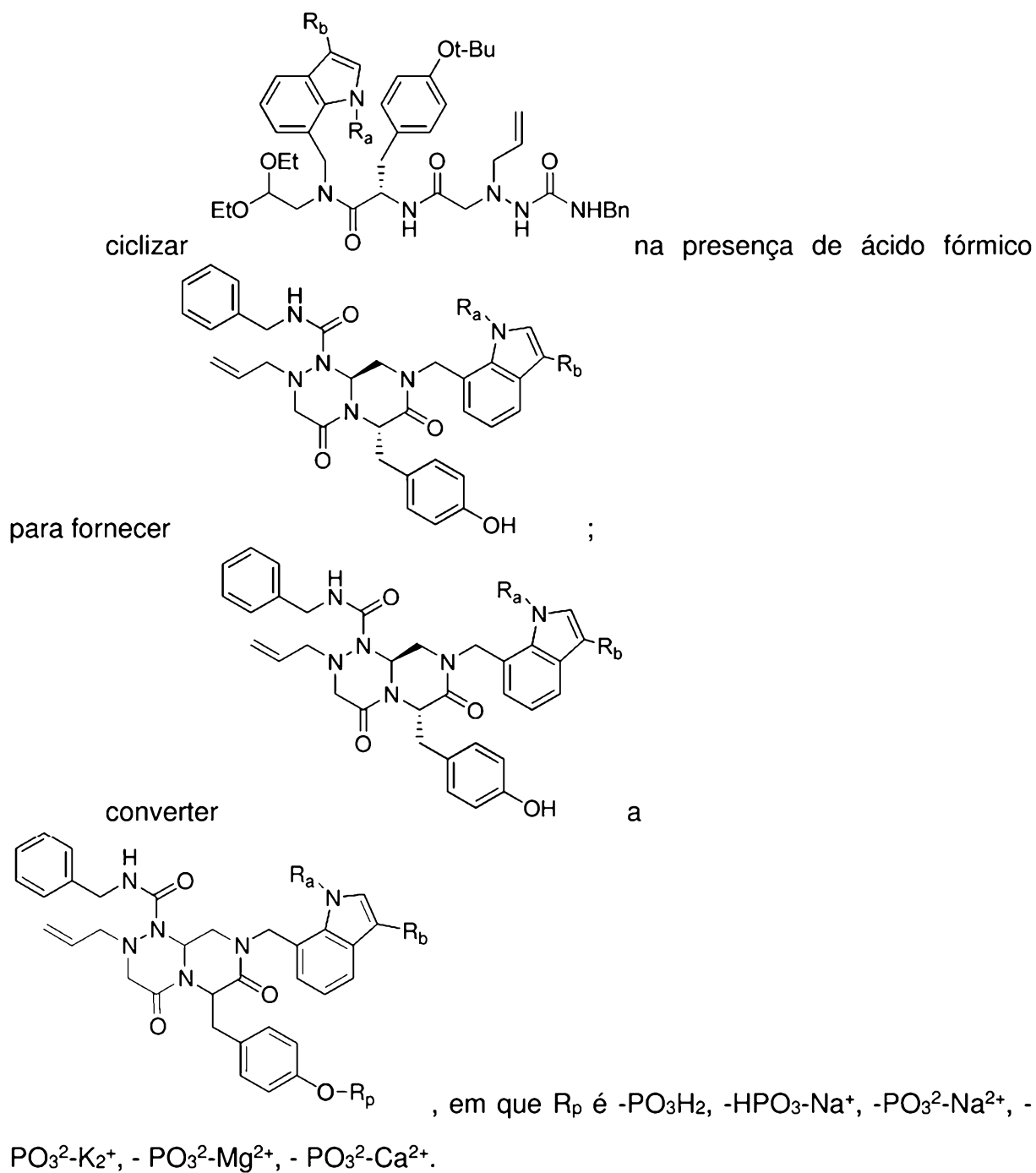
amidar



com estereoseletividade na presença de Cbz-Tirosina-

OtBu e ácido 2-(1-alil-4-benzilsemicarbazido)acético para fornecer





11. Método, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R_a é metila, R_b é $-\text{C}(=\text{O})\text{Re}$, e Re é metila ou ciclopropila.

Figura 1

ml	pH	mV	ml	pH	Mv
9	4.00	189	20	6.60	32
10	3.76	188	21	6.72	26
11	3.85	180	22	6.82	20
12	3.98	172	23	6.95	13
13	4.45	146	24	7.08	6
14	5.55	82	25	7.30	-6
15	6.01	63	26	7.62	-21
16	6.19	54	27	9.80	-142
17	6.34	47	28	11.15	-211
18	6.50	41	29	11.45	-227
19	6.50	38	30	11.60	-235

