

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

(11) (21) **PI 0601827-0 A**

(22) Data de Depósito: 24/03/2006
(43) Data de Publicação: **27/11/2007**
(RPI 1925)



(51) Int. Cl.:
C07D 417/06 (2007.10)
A61K 31/435 (2007.10)
A61P 35/00 (2007.10)

(54) Título: MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL

(57) Resumo: MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL. Síntese de novos compostos acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínico com atividade antitumoral e seu uso terapêutico como drogas antitumorais.

(71) Depositante(s): Universidade Federal de Pernambuco
(BR/PE)

(72) Inventor(es): Ivan da Rocha Pitta, Suely Lins Galdino, Maria do Carmo Alves de Lima

“MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL.”

A presente invenção é relativa a compostos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos denominados aqui acridino-imidazolidínicos denominados aqui tiazacridinas e imidazacridinas, que
5 tiveram identificada ação antitumoral, e os respectivos processos para sua síntese química, bem como o seu uso terapêutico enquanto fármaco dotado de efeitos antitumorais.

Sabe-se que as azolidinas e as acridinas são eficazes substâncias para combater processos infecciosos. L'HOMME *et al.*, PCT Int. Appl. WO 94
10 25,439 (Cl. C07D219/08), 10 Nov 1994, FR.Appl. 93/5,283, 04 May 1993; 21 pp., prepararam substâncias derivadas da acridina com propriedades antineoplásicas, e dentre os compostos estudados o (3,6-bis-dimetilamino-acridin-4-yl)-metanol apresentou importante atividade.

FISZER-MALISZEWSKA *et al.*, Arch. Immunol. Ther. Exp. 1993,
15 v.41, n.1, observaram uma significativa resposta terapêutica nos tumores transplantados de linfossarcoma X19 em camundongos, quando tratados com o ácido 9-oxo-10-acridinoacético por via intra-peritoneal. Drogas conjugadas por condensação do ácido porfirínico com derivados de 9-aminoacridinas foram preparadas por KARAGIANIS & JAMES, Aust. J.
20 Chem. 1995, v.48, n.10, p.1693-1705, demonstrando atividade citotóxica.

Derivados da 4-(aminometil)-3-dimetilaminoacridina foram sintetizados por DUFLOS *et al.*, FR 2,716,454 (C1. C07D401/12), 25 Aug 1995, Appl. 94/1,971, 22 Feb 1994; 17 pp (Fr), como agentes anticancerígenos sendo que o 4-(3,6-bis-dimetilamino-acridin-4-yl)-butan-2-ona demonstrou uma
5 atividade anticancerígena *in vitro* em células ATCC HTB1 superior a adriamicina, nas mesmas condições de ensaio.

ALEX A. ADJEI, Investigational New Drugs 1999, v.17, p.43-48, sintetizaram pirazoloacridinas combinando a atividade das acridinas de intercalarem o DNA com a hipóxia seletiva conferida pela redução do
10 grupo nitro do anel acridínico. A 9-metoxipirazoloacridina (pirazoloacridina, PZA, NSC 366140) apresentou atividade frente a células hipóxicas e citotoxicidade em células que não estão no ciclo celular. PZA também foi ativa contra células resistentes a outros antitumorais com base na superexpressão da P-glicoproteína ou MPR (multidrug resistance-
15 associated protein). PZA apresentou um amplo espectro de atividade antitumoral em modelos pré-clínicos *in vivo*.

FERLIN M.G. *et al.*, Eur. J. Med. Chem. 2000, v.35, p.827-837, prepararam derivados substituídos da 9-acridina e da azacridina (análogos da m-AMSA) como potentes agentes antitumorais com efeitos inibitórios

sobre a topoisomerase II. Alguns derivados mostraram notável citotoxicidade em células humanas HL-60 e células HeLa em cultura.

As substâncias obtidas conforme esta invenção compõem novas séries de derivados tiazacridínicos, 5-acridin-9-ilmetileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituído no anel aromático situado em posição 3; 5-acridin-9-ilmetileno-3-benzil-4-tioxo-tiazolidin-2-ona substituído no anel aromático situado em posição 3; derivados imidazacridínicos 5-acridin-9-ilmetileno-3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-2-ona substituído no anel aromático situado em posição 3 e o composto 5-(acridin-9-ilmetileno)-3-(4-nitro-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona; todos com usos farmacológicos e efeitos anti-tumorais. Trata-se, assim, de novos agentes intercalantes, com capacidade de se inserir entre as camadas de pares de bases dos ácidos nucleicos, deformando a dupla hélice e impedindo a replicação e transcrição.

Muitos antibióticos antitumorais, tais como a actinomicina-D, a adriamicina e a proflavina, uma amino-acridina, atuam por esse mecanismo de ação (PATRICK, G. L., An introduction to Medicinal Chemistry, Oxford University Press, 1995, Oxford.

A rota sintética utilizada para obter os compostos inventados, PITTA *et al.* PI 0203747-5, 10 set 2002, inicia-se com a oxidação da 9-metil-

acridina, preparada a partir da difenil-amina, em acridina-9-carboxaldeído, seguindo-se uma condensação em meio alcalino com o cianoacetato de etila para obtenção do composto ciano-acridina-9-il-acrilato de etila. Realiza-se a síntese da parte tiazolidínica ou imidazolidínica da molécula por meio da

5 benzilação da tiazolidina-2,4-diona ou imidazolidina-2,4-diona com os halogenetos de benzila em meio alcalino, seguida ou não da tionação da posição 4 pelo pentassulfeto de fósforo ou pelo reagente de Lawesson 2,4-bis(4-metoxi-fenil)-1,3-dithio-2,4-difosfetano-2,4-disulfeto. Os derivados tiazolidínicos e imidazolidínicos através de uma reação de adição com o

10 éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila em presença de piperidina conduzem as tiazacridinas e imidazacridinas. Na preparação do composto 5-(acridin-9-ilmetileno)-3-(4-nitro-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona procedeu-se inicialmente a reação de adição do éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila com a 2-tioxo-imidazolidin-4-ona em presença de

15 piperidina, seguido da benzilação da 5-(acridin-9-ilmetileno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona com o 1-cloro-metil-4-nitro-benzeno.

A presente patente poderá ser melhor compreendida através da seguinte descrição detalhada das estruturas, de acordo com as figuras em anexo, onde: a Fig. 1 representa a fórmula geral dos compostos

20 tiazacridínicos, 5-acridin-9-ilmetileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-dionas. O

radical R, corresponde aos substituintes: *para*-fenila (AC30), *para*-bromo (AC7) e *para*-metila (AC4), *para*-nitro (AC6), *meta*-cloro (AC34) e *orto*-nitro (AC109). A nomenclatura IUPAC, a configuração do produto isolado, o código do composto, sua formula bruta e os pontos de fusão encontram-se

5 especificados abaixo:

5-acridin-9-ilmetileno-3-bifenil-4-ilmetil-tiazolidina-
2,4-diona (Z), (AC30), $C_{30}H_{20}N_2O_2S$, F188-190°C;

5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-bromo-benzil)-
tiazolidina-2,4-diona, (Z+E), (AC7), $C_{24}H_{15}BrN_2O_2S$, F258-260°C;

10 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-
2,4-diona, (Z), (AC4), $C_{25}H_{18}N_2O_2S$, F198-199°C;

5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-
2,4-diona, (Z), (AC6), $C_{24}H_{15}N_3O_4S$, F238-240°C.

15 5-acridin-9-ilmetileno-3-(3-cloro-benzil)-tiazolidina-
2,4-diona, (Z), (AC34), $C_{24}H_{15}ClN_2O_2S$, F290-292°C.

5-acridin-9-ilmetileno-3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-
2,4-diona, (Z), (AC109), $C_{24}H_{15}N_3O_4S$, F204-206°C.

A Fig. 2 representa a fórmula geral dos compostos tiazacridínicos,
5-acridin-9-ilmetileno-3-benzil-4-tioxo-tiazolidin-2-onas. O radical R¹
20 corresponde aos substituintes: *para*-metila (AC99), *para*-cloro (AC119)

e *meta*-cloro (AC129). A nomenclatura IUPAC, a configuração do produto isolado, o código do composto, sua fórmula bruta e o ponto de fusão encontram-se especificados abaixo:

5-*acridin-9-ilmetileno-3-(4-metil-benzil)-4-tioxo-*
 5. *tiazolidin-2-ona, (Z), (AC99), C₂₅H₁₈N₂OS₂, F231-232°C;*

5-*acridin-9-ilmetileno-3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-*
tiazolidin-2-ona, (Z), (AC119), C₂₄H₁₅ClN₂OS₂, F222-223°C;

5-*acridin-9-ilmetileno-3-(3-cloro-benzil)-4-tioxo-*
tiazolidin-2-ona, (Z), (AC129), C₂₄H₁₅ClN₂OS₂, F171-172°C;

10 A Fig. 3 representa a fórmula dos compostos imidazacridínicos, 5-*acridin-9-ilmetileno-3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-2-onas*. O radical R² corresponde aos substituintes: *para*-fluor (AC124), *orto*-nitro (AC128) e *orto*-cloro (AC100). A nomenclatura IUPAC, a configuração do produto isolado, o código do composto, sua fórmula bruta e o ponto de fusão
 15 encontram-se especificados abaixo: A nomenclatura IUPAC, a configuração do produto isolado, o código do composto, sua fórmula bruta e o ponto de fusão encontram-se especificados

5-*acridin-9-ilmetileno-3-(4-fluor-benzil)-4-tioxo-*
imidazolidin-2-ona, (Z), (AC124), C₂₄H₁₆FN₃OS, F270-272°C.

5-acridin-9-ilmetileno-3-(2-nitro-benzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona, (Z), (AC128), $C_{24}H_{16}N_4O_3S$, F290°C.

5-acridin-9-ilmetileno-3-(2-cloro-benzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona, (Z), (AC100), $C_{24}H_{16}ClN_3OS$, F265-267°C.

5 A Fig. 4 representa a fórmula do composto imidazacridínico, 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-nitro-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (AC97). A nomenclatura IUPAC, a configuração do produto isolado, o código do composto, sua fórmula bruta e o ponto de fusão encontram-se especificados abaixo:

10 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-nitro-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona, (Z), (AC97), $C_{24}H_{16}N_4O_3S$, F370°C com decomposição.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL

Para avaliação da atividade antitumoral dos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos, foram selecionados
15 camundongos albinos swiss (*Mus musculus*) procedentes do Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE, com faixa etária de 60 dias, separados em grupos de 06 animais por gaiola. A dose dos composto em estudo serão calculadas de acordo com o índice de massa corporal dos

animais, solubilizadas com tween 80 e solução fisiológica a 0,9%. Foram utilizados tumores malignos (sarcoma 180) de animais portadores do tumor com 8 dias de implantação. Os animais doadores foram tricotomizados em uma sala de cirurgia experimental, todos higienizados previamente e anestesiados para extirpação da massa tumoral. O tumor foi colocado em solução de ringer, e em seguida fragmentado e introduzido nos animais receptores. A técnica empregada foi da implantação de fragmentos tumorais com uma pequena incisão na região axilar e introduzido com o auxílio do trocáter por via subcutânea. Após 48 horas da intervenção cirúrgica de implante é iniciada a administração do composto a ser testado nas doses de 50, 25, 12,5 e 6,25mg/Kg de peso corpóreo, por um período de 8 dias. O grupo controle recebeu o veículo, e o grupo padrão que recebeu o metotrexato como antitumoral de referência. A via de administração foi a intraperitoneal. Após o período de tratamento, sacrificaram-se os animais retirou-se o tumor de cada animal, para visualização das alterações macroscópicas e morfológicas, assim como a extensão do tumor. Uma importante redução da massa tumoral foi constatada e para alguns animais observou-se uma regressão total do sarcoma 180 para pequenas doses dos compostos.

SÍNTESE DOS COMPOSTOS

Como apresentado nas Figuras 1, 2, 3 e 4, aqui referidas, as tiazacridinas e imidazacridinas, foram sintetizadas obedecendo aos procedimentos experimentais descritos abaixo.

Procedimento de preparação do acridina-9-carboxaldeído:

5 Aquecem-se a difenilamina, o ácido acético e o cloreto de zinco a uma temperatura de 220°C, durante 8 horas. A mistura reacional é tratada inicialmente com uma solução de ácido sulfúrico a 10% e, em seguida, alcalinizada com uma solução de amônia a 30%. A 9-metil-acridina é isolada a partir de uma extração com benzeno e depois purificada através de
10 cromatografia «flash» em sílica gel 60.

Na oxidação da 9-metil-acridina colocam-se em um balão clorocromato de piridínio (PCC) e sulfato de magnésio, em presença de diclorometano, sob agitação e logo em seguida a 9-metil-acridina é adicionada. A agitação é mantida à temperatura ambiente, sob uma
15 atmosfera inerte, durante 48 horas. O composto acridina-9-carboxaldeído é extraído do meio reacional com éter etílico e evaporado à secura. O aldeído obtido é purificado através de cromatografia “flash” em sílica gel 60.

Procedimento de preparação do ester 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila:

Em um balão introduz-se acridina-9-carboxaldeído e cianoacetato de etila em presença de piperidina, e benzeno anidro, como solvente. Aquece-se a refluxo a uma temperatura de 110°C, durante 8 horas. O éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila é guardado na geladeira por 12 horas. O éster cianoacridínico obtido é purificado por cromatografia “flash” em sílica gel 60.

Procedimento geral de preparação das tiazolidinadionas substituídas:

Em um balão adiciona-se a tiouréia e o ácido cloroacético previamente dissolvidos em 50mL de água. Aquece-se a mistura por 40 horas. Deixa-se o produto obtido em repouso por 24 horas na geladeira. Formam-se cristais amarelos da tiazolidina-2,4-diona que são purificados por cristalizações sucessivas.

Dissolve-se hidróxido de potássio em metanol. Esta solução é adicionada, gota a gota, a uma suspensão de tiazolidina-2,4-diona. Dez minutos após, cloreto de benzil substituído é adicionado. A mistura é aquecida à temperatura de 60°C durante 25 horas. Após, resfriamento a tiazolidina-2,4-diona substituída é separada e purificada através de

cristalizações sucessivas. A tionação pode ser efetivada pela dissolução dos derivados tiazolidínicos em dioxano em presença de pentassulfeto de fósforo ou pelo reagente de Lawesson sob uma atmosfera inerte. A mistura reacional é aquecida à uma temperatura de 60-75°C e
5 acompanhada por cromatografia em camada delgada. Após evaporação à secura, a 4-tioxo-tiazolidina-2-ona substituída em posição 3 é lavada com água destilada.

Procedimento geral de preparação das 3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-

2-onas:

10 Em um balão, adiciona-se a imidazolidina-2,4-diona e metanol. Dissolve-se hidróxido de potássio em metanol. Esta solução é adicionada, gota a gota, a suspensão de imidazolidina-2,4-diona. Dez minutos após, cloreto de benzila é adicionado. A mistura é aquecida à temperatura de 60°C durante 18 horas. Após, resfriamento as 3-benzil-
15 imidazolidina-2,4-diona é separadas, e purificada através de cristalizações sucessivas. Este derivado imidazolidínico é dissolvido em dioxano em presença do reagente de Lawesson sob uma atmosfera inerte. A mistura reacional é aquecida à uma temperatura de 60-75°C e acompanhada por cromatografia em camada delgada. Após evaporação à

secura a 3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-2-ona é lavada com água destilada.

Procedimento geral de preparação das tiazacridinas e imidazacridinas:

Pelo aquecimento das tiazolidinas ou imidazolidina substituídas
5 correspondentes, dissolvida em etanol anidro, com o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila a uma temperatura variando de 50 a 80°C por 2 a 4 horas precipitam-se as tiazacridinas e imidazacridina, que são filtradas e purificadas.

Procedimento de preparação da imidazaridina 5-acridin-9-ilmetileno-

10 3-(4-nitro-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona:

Em um balão, adiciona-se a 2-tioxo-imidazolidin-4-ona e metanol. Dissolve-se carbonato de potássio em metanol. Esta solução é adicionada, gota a gota, a suspensão de 2-tioxo-imidazolidin-4-ona. Dez minutos após, 1-cloro-metil-4-nitro-benzeno é adicionado. A mistura é agitada à
15 temperatura ambiente durante 10 horas. Após, resfriamento a imidazacridina formada é separada, e purificada através de cristalizações sucessivas.

Comprovação estrutural:

A comprovação das estruturas dos compostos sintetizados foi realizada pelos espectros de infravermelho registrados em aparelho IFS 66 Bruker, em pastilha de KBr, pelos espectros de ressonância magnética nuclear protônica efetuados em um aparelho espectrofotômetro Bruker AC 300 P, utilizado o DMSO d_6 como solvente e pelos espectros de massa, sobre impacto eletrônico a 70eV registrados em um aparelho Delsi-Nermag R-1010c ou HP 5987. As características espectroscópicas no infravermelho e ressonância magnética nuclear de prótons das tiazacridinas e imidazacridinas preparadas estão de acordo com as estruturas. Na espectrometria de massa as fragmentações observadas e a intensidade dos picos dos isótopos após impacto eletrônico estão igualmente em acordo com as estruturas propostas.

Compostos sintetizados:

5-acridin-9-ilmetileno-3-bifenil-4-ilmetil-tiazolidina-2,4-diona (AC30);

5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (AC7);

5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (AC4);

5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-
2,4-diona (AC6);

5-acridin-9-ilmetileno-3-(3-cloro-benzil)-tiazolidina-
2,4-diona (AC34);

5 5-acridin-9-ilmetileno-3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-
2,4-diona (AC109);

5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-metil-benzil)-4-tioxo-
tiazolidin-2-ona (AC99);

10 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-chloro-benzil)-4-tioxo-
tiazolidin-2-ona (AC119);

5-acridin-9-ilmetileno-3-(3-cloro-benzil)-4-tioxo-
tiazolidin-2-ona (AC129);

5-acridin-9-ilmetileno-1-benzil-5-tioxo-imidazolidin-
2-ona (AC124);

15 5-acridin-9-ilmetileno-3-(2-nitro-benzil)-4-tioxo-
imidazolidin-2-ona (AC128);

5-acridin-9-ilmetileno-3-(2-cloro-benzil)-4-tioxo-
imidazolidin-2-ona (AC100);

REIVINDICAÇÕES

1. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-bifenil-
4-ilmetil-tiazolidina-2,4-diona (AC30).

5 2. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-
bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (AC7).

3. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-metil-
10 benzil)-tiazolidina-2,4-diona (AC4).

4. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-nitro-
benzil)-tiazolidina-2,4-diona (AC6).

5. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
15 caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(3-cloro-
benzil)-tiazolidina-2,4-diona (AC34).

6. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(2-nitro-
benzil)-tiazolidina-2,4-diona (AC109).

7. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-metil-
benzil)-4-tioxo-tiazolidin-2-ona (AC99).

8. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
5 caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-
chloro-benzil)-4-tioxo-tiazolidin-2-ona (AC119).

9. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(3-
cloro-benzil)-4-tioxo-tiazolidin-2-ona (AC129).

10 10. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin--ilmetileno-1-benzil-5-
tioxo-imidazolidin-2-ona (AC124).

11. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(2-nitro-
15 benzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona (AC128).

12. **MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL**,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(2-cloro-
benzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona (AC100).

13. MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL,
caracterizados pelo composto de fórmula 5-acridin-9-ilmetileno-3-(4-nitro-
benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (AC97).

14. MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL, como
5 descritos nas reivindicações anteriores, caracterizados por sua atividade
antitumoral e por serem administrados sistemicamente para terapia
antitumoral.

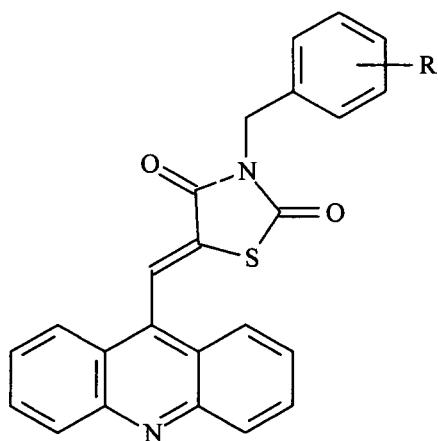
FIGURAS**FIGURA 1**

FIGURA 2

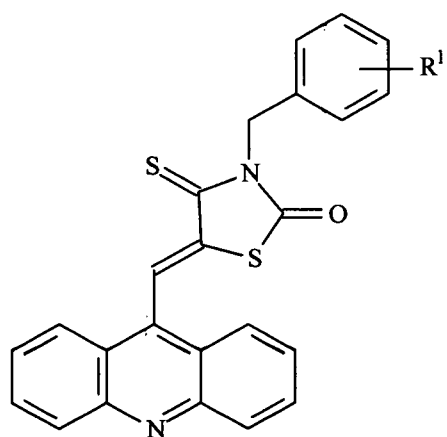


FIGURA 3

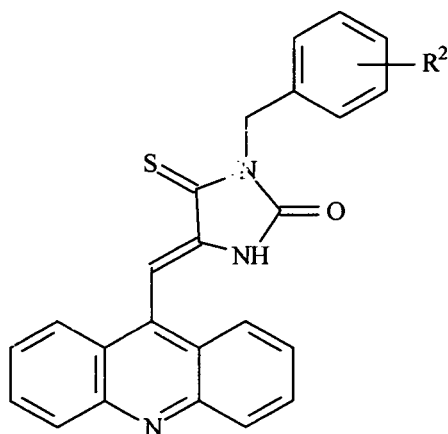
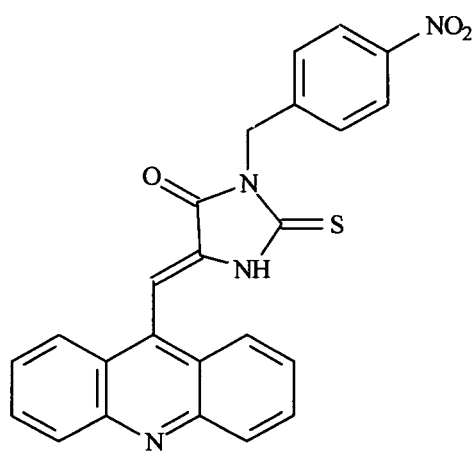


FIGURA.4



RESUMO

“MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANTITUMORAL”.

Síntese de novos compostos acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínico com atividade antitumoral e seu uso terapêutico como drogas
5 antitumorais.