



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

(21) BR 102021011239-5 A2



(22) Data do Depósito: 10/06/2021

(43) Data da Publicação Nacional: 20/12/2022

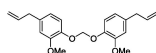
(54) Título: SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA IN VITRO DE BIS-(2-NAFTILOXI)-(PHENIL)-METANO, BIS-(4-ALIL-2-METOXIFENILOXI)-METANO E ACETAIS MISTOS R1OCH2OR2 OBTIDOS VIA QUÍMICA COMBINATÓRIA PELA AQUILAÇÃO DE DICLOROMETANO

(51) Int. Cl.: C07C 43/257; C07D 215/26; A61K 31/47; A61K 31/085; A61P 35/00.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE PERNAMBUCO.

(72) Inventor(es): BOGDAN DOBOSZEWSKI; GILSON BEZERRA DA SILVA; JACIANA DOS SANTOS AGUIAR; ERWELLY BARROS DE OLIVEIRA.

(57) Resumo: SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA IN VITRO DE BIS-(2-NAFTILOXI)-(PHENIL)-METANO, BIS-(4-ALIL-2-METOXIFENILOXI)-METANO E ACETAIS MISTOS R1OCH2OR2 OBTIDOS VIA QUÍMICA COMBINATÓRIA PELA AQUILAÇÃO DE DICLOROMETANO. A presente aplicação trata sobre a síntese química e avaliação anticancerígena de cinco acetais de formaldeído e de um acetal de benzaldeído obtidos no meio básico, todos inéditos. Os compostos em questão são os derivados de fenóis como eugenol, timol, 1-naftol, 2-naftol e 8-hidroxiquinolina e foram preparados pela dupla alquilação de diclorometano ou a,a-dibromotolueno. Os compostos obtidos mostram as atividades anticancerígenas promissoras usando a linhagem celular HeLa.



Composto 1, bis-(4-aliil-2-metoxifeniloxi)-metano

**“SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA *IN VITRO* DE BIS-(2-NAFTILOXI)-
(PHENIL)-METANO, BIS-(4-ALIL-2-METOXIFENILOXI)-METANO E ACETAIS
MISTOS $R_1OCH_2OR_2$ OBTIDOS VIA QUÍMICA COMBINATÓRIA PELA AQUILAÇÃO
DE DICLOROMETANO”.**

Campo da invenção

[001] A presente invenção trata sobre a síntese e as estruturas de novos acetais de formaldeído e aldeído benzoico, e fenóis (eugenol, timol, 1-naftol, 2-naftol e 8-hidroxiquinolina) obtidos no meio básico, e suas atividades anticancerígenas *in vitro* usando linhagem celular HeLa, com potencial uso na medicina.

Fundamentos da invenção

[002] A presente invenção está inserida na área de desenvolvimento de novos fármacos com potencial atividade anticancerígena. A quimioterapia utilizada no câncer tem como objetivo principal destruir as células neoplásicas, conservando as células normais. Entretanto, a maioria dos agentes terapêuticos não atua de forma específica em células tumorais e causa lesões nas células normais, o que leva ao surgimento de diversos efeitos colaterais como náuseas, vômitos, imunossupressão e alopecia. Além disso, diversos mecanismos de resistência estão sendo mais frequentes nos medicamentos utilizada na prática clínica atual, o que compromete a eficácia do tratamento quimioterápico dos pacientes. Devido a esses diversos fatores dos principais medicamentos dessa patologia, existe uma necessidade de estudos e desenvolvimento de novos compostos com melhor perfil farmacológico.

[003] Os acetais simétricos de formaldeído são conhecidos e são acessíveis principalmente via procedimentos de transacetalação usando $CH_2(OMe)_2$ ou tioxano no meio ácido, alquilação de dihalometanos CH_2X_2 ($X=Br, Cl, I$) no meio básico, ou acetalação direta usando formol ou paraformaldeído no meio ácido com remoção de água via destilação azeotrópica. A novidade da presente invenção é aplicação de química combinatória no meio básico que permite obtenção de três acetais de uma só vez, com as estruturas $R_1OCH_2OR_1$, $R_1OCH_2OR_2$ e $R_2OCH_2OR_2$. Os acetais simétricos

$R_1OCH_2OR_1$ e $R_2OCH_2OR_2$ não são do nosso interesse e não constituem parte da presente invenção, com exceção do composto **1** (Fig.1) que é inédito.

[004] Deve ser salientado que o artigo publicado em Indonesian Journal of Chemistry, 2015, 15(3), 256-262 (cópia em anexo) menciona o composto **1** (Fig.1) supostamente obtido durante metilação de eugenol com carbonato de metila no meio básico e na presença de bentonita. O composto não foi isolado e nenhuns dados espectroscópicos ou de massas de alta resolução (HRMS) foram apresentados para comprovar a sua identidade. Os autores alegam, que 4-alil-1,2-dimetoxibenzeno, o produto da metilação mencionada, foi transformado em acetal pela substituição do ânion de hidrogênio no grupo metoxi pelo ânion derivado de eugenol. Transformação deste tipo não é possível pelo nenhum mecanismo conhecido na Química Orgânica. Portanto, tratamos suposta obtenção do composto **1** (Fig.1) em artigo supracitado como artefato e erro, quer dizer, esta substância com certeza não foi obtida pelos pesquisadores da Indonésia nas condições descritas. Em conclusão, nós somos os primeiros que prepararam o composto **1** (Fig.1) e que mostram seus dados analíticos.

Breve descrição dos desenhos

[005] Os compostos obtidos sinteticamente e ensaiados in vitro usando as células HeLa tem as suas estruturas mostradas nos Desenhos 1-6. As atividades biológicas são mostradas nas Tabelas 1 e 2.

[006] Desenho 1 mostra a estrutura de bis-(4-alil-2-metoxifeniloxi)-metano .

[007] Desenho 2 mostra a estrutura de (4-alil-2-metoxifeniloxi)-(1-aza-8-naftiloxi)-metano .

[008] Desenho 3 mostra a estrutura de (1-aza-8-naftiloxi)-(2-isopropil-5-metilfeniloxi)-metano .

[009] Desenho 4 mostra a estrutura de (2-isopropil-5-metilfeniloxi)- (1-naftiloxi)-metano .

[0010] Desenho 5 mostra a estrutura de (2-isopropil-5-metilfeniloxi)-(2-naftiloxi)-metano .

[0011] Desenho 6 mostra a estrutura de (fenil)-bis-(2-naftiloxi)-metano .

[0012] Tabela 1 mostra as atividades anticancerígenas sobre a linhagem celular HeLa.

Tabela 1 – Atividade cancerígena das substâncias teste sobre a linhagem celular HeLa

Compostos	% de inibição $\pm$ EPM*
	HeLa
1	79,78 $\pm$ 2,75
2	82,53 $\pm$ 4,78
3	94,93 $\pm$ 1,14
4	95,96 $\pm$ 0,95
5	83,06 $\pm$ 3,93
6	90,76 $\pm$ 2,09
DOX	85,86 $\pm$ 7,46

*EPM – erro médio padrão; Dox – doxorubicina, controle positivo, medicamento de referência utilizado nos experimentos

[0013] Tabela 2 mostra os valores CI_{50} sobre a linhagem celular HeLa e intervalo de confiança de 95%.

Tabela 2 - Valores da CI_{50} sobre a linhagem celular HeLa e intervalo de confiança de 95 %.

Compostos	72 h
	HeLa
	CI_{50} (μ M)*
	Intervalo de confiança
1	26,95 (24,42 – 29,74)
2	1,11 (0,95 – 1,29)
3	32,72 (29,37 – 36,46)
4	23,00 (19,79 – 26,74)
5	35,09 (27,25 – 45,18)
6	7,84 (7,16 – 8,58)
DOX	17,78 (15,99 – 19,77)

* CI_{50} – concentração de inibição de 50% do crescimento em relação ao controle negativo, Dox – doxorubicina, controle positivo, medicamento de referência utilizado nos experimentos

Descrição da invenção

[0014] Os acetais constituem o grupo de compostos conhecidos e usados por várias finalidades sintéticas pela indústria e na pesquisa. Por exemplo, os O-glicosídeos e seus derivados são em maioria absoluta de casos os acetais; os S-glicosídeos são O,S-acetais. Os nucleosídeos e seus análogos podem ser classificados como os O,N acetais.

[0015] Os acetais simétricos de formaldeído ROCH_2OR mostram amplo espectro de atividades biológicas como inibição de agregação de β amiloide,¹ são antifúngicos,^{2,3,4} agem como pesticidas⁵ e agentes antimicrobianos,⁶ mostram atividade em tratamento de leishmaniose,⁷ alguns ácaros,⁸ certas doenças de fígado,⁹ alguns tem uso na indústria de perfumes,^{10,11} na produção de papel,¹² e indústria têxtil.^{13,14} Os acetais deste tipo podem ser preparados no meio básico pela dupla substituição em dihalometanos (CH_2Br_2 , CH_2BrCl , CH_2Cl_2 , CH_2I_2), ou no meio ácido usando paraformaldeído, dimetoximetano, dietoximetano ou trioxano.

[0016] Os acetais mistos $\text{R}_1\text{OCH}_2\text{OR}_2$ são importantes como os grupos protetores.¹⁵ Neste último caso são preparados majoritariamente usando os instáveis e potencialmente perigosos para saúde haletos de alcóximetila. As alternativas atípicas desenvolvidas na pesquisa incluem substituição em haletos de alcóximetilpiridina,¹⁶ troca acetal-éter no meio ácido,¹⁷ descarboxilação fotoquímica¹⁸ ou eletroquímica não-Kolbe,¹⁹ troca acetal-acetal induzida pelo AlCl_3 ,²⁰ uso de óxidos sulfonados de metais (sulfated metal oxides)²¹ e finalmente transacetalação usando sílica mesoporosa e ácido fenilsulfônico.²²

[0017] Muitos reagentes usados na pesquisa pertencem a este grupo de compostos e são formados predominantemente no meio ácido usando os aldeídos/cetonas e álcoois /fenóis. Em raros casos são aplicadas as condições básicas. Por exemplo, metil 4,6-benzilideno- α -D-glicopiranosídeo pode ser preparado durante a reação de brometo de benzilideno (α,α -dibromotolueno, dibromometilbenzeno), piridina e metil α -D-glicopiranosídeo. As reações conhecidas de 1-naftol e 2-naftol com os dihalometanos no meio básico também formam os acetais. Os casos deste tipo são raros, e as condições ácidas são usadas como os procedimentos padrão.

[0018] Nós aplicamos as condições básicas, diclorometano (o mais barato de dihalometanos) como solvente e reagente, e as misturas de dois fenóis diferentes para obter as misturas de três produtos simultaneamente, sendo um deles é o acetal misto com a estrutura geral $R_1OCH_2OR_2$. As estruturas destes compostos desconhecidos e as propriedades anticancerígenas deles são os objetivos da presente aplicação. Os produtos **1-5** e $PhCH(OR)_2$ **6** foram isolados pela cromatografia de coluna usando sílica gel e as concentrações variáveis de acetato de etila em hexano, e caracterizados pelo ressonância magnética nuclear (RMN, 1H e ^{13}C) e pela espectrometria de massas de alta resolução (HRMS).

[0019] Literatura citada

- 1.Celona, D., Minetti, P. IT 2004RM0506; CAN 152:247347.
- 2.Pawar, N.S., Garud, S.L., Mahulikar, P.P. *Asian J.Biochem.Pharm.Res.*, **2012**, 2, 157-1612; CAN 158:573120.
- 3.Kumbhar, P.P., Dewang, P.M. *J.Sci.Ind.Res.* **2001**, 60, 645-648; CAN 135:284470.
- 4.Arnoldi, A., Carzaniga, R., Morini, G., Merlini, L., Farina, G. *J.Agric.Food Chem.*, **2000**, 48, 2547-2555.
- 5.Raths, H-C., Berghaus, R., Semar, M. WO 2015113860; CAN 163:292967.
- 6.Mathela, C.S., Singh, K.K., Gupta, V.K. *Acta Pol.Pharm.* **2010**, 67, 375-380.
- 7.Palit, P., Paira, P., Hazra, A., Banerjee, S., Gupta, A.D., Dastidar, S.G., Mondal, N.B. *Eur.J.Med.Chem.*, **2009**, 44, 845-853.
- 8.Jeppson, L.R. *J.Econ.Entom.* **1946**, 39, 813.
- 9.Harfenist, M. DE 2143570, CAN 77:19401.
- 10.Fujita, H., Y. *Nippon Kagaku Kaishi*, **1975**, 331-333; CAN 83:42948.
- 11.Dragoco Gerberding und Co. GmBH, FR 2391984; CAN 91:140550.
- 12.Kress, B.H. US 2785995; CAN 51:54413.
- 13.Abrams, E. US 2785948; CAN 51:54581.
- 14.Kress, B.H., Abrams, E. US 2785947; CAN 51:54580.
- 15.P.G.M.Wuts, *Green's Protective Groups in Organic synthesis*. 5th Ed., Chapter 2, pp.17-471, Wiley, Hoboken, New Jersey, 2014.

- 16.Kursanov, D.N., Setkina, V.N., Rodionov, V.M. *Org.Soedinenii Sbornik*, **1959**, 1, 15-16; CAN 47:47549.
- 17.Schmidt, K, Heidrich, J., Gruenert, M., Resmann, H. DE 3018135; CAN 96:144940.
- 18.Glover, S.A., Goosen, A., Golding, S.L., McClelland, C.W. *S.Afr.J.Chem.*, **1984**, 37, 35-40; CAN 101:170809.
- 19.Klocke, E., Matzeit, A., Gockeln, M., Schaefer, H.J. *Chem.Ber.*, **1993**, 126, 1623-1630.
- 20.Blumenkopf, T.A., Look, G.C., Overman, L.E. *J.Am.Chem.Soc.*, **1990**, 112, 4399-4403.
- 21.Lin, C.-H., Wan, M.-Y., Huang, Y.-M., *Catalysis Lett.* **2003**, 87, 253-256.
- 22.Yang, J.-M., Jian, L. *Chinese J.Chem.*, **2005**, 23, 349-352; CAN 144:6276.

[0020] Como exemplo sintético mostramos obtenção do composto **4** nas condições básicas. Diclorometano 50ml, as quantidades equimolares de timol e 1-naftol, KOH pulverizado e quantidade catalítica de brometo de hexadeciltrimetilfosfônio (Bu_4NHSO_4 ou éter 18-corôa-6) foram agitados magneticamente durante 24h ou até desaparecimento dos substratos. Cromatografia de camada delgada mostrou presença de três compostos: o menos polar foi o conhecido acetal simétrico de timol, bis(2-isopropil-5-metilfeniloxi)-metano $R_f=0.66$, o acetal misto **4** (2-isopropil-5-metilfeniloxi)-(1-naftiloxi)-metano $R_f=0.57$ e bis(1-naftiloxi)-metano $R_f=0.40$ usando o sistema de hexano-acetato de etila 10:0.15. Água e diclorometano foram adicionados e extração foi conduzida. A fase inferior foi evaporada depois de secagem usando MgSO_4 , e o resíduo foi purificado pela cromatografia de coluna usando sílica gel 60 e mistura de hexano-acetato de etila 10:0.1 como eluente, que forneceu o produto **4** como o composto amorfo com rendimento de 33%.

[0021] Outro exemplo mostra obtenção simultânea de produtos **1** e **2**. As quantidades equimolares de eugenol e 8-hidroxiquinolina em diclorometano, KOH pulverizado e o qualquer dos catalisadores de transferência de fases já mencionados, foram misturados magneticamente durante 24h. Análise pela cromatografia de camada delgada mostrou que todo eugenol reagiu, mas a 8-hidroxiquinolina estava ainda presente. A extração como mencionado no primeiro caso e separação pela

cromatografia de coluna usando silic gel 60 e gradiente de acetato de etila e hexano (1:9 no inicio e 1:1 no final) permitiu isolamento de composto oleoso **1** em 35% de rendimento, e o composto amorfo **2** em 16% de rendimento. O conhecido acetal simétrico de 8-hidroxiquinolina, bis-(1-aza-8-naftiloxi)-metano, não se movimentou nestas condições cromatograficas.

[0022] O produto **6** que é o acetal simétrico, foi obtido pelo procedimento diferente. Assim sendo uma mistura de dibromometilbenzeno (brometo de benzilideno, α,α -dibromotolueno) e 2-naftol em proporção molar 1:2, dioxano, KOH pulverizado e o catalisador de transferência de fases (brometo de hexadeciltrimetilfosfônio, Bu_4NHSO_4 ou éter 18-corôa-6) foram misturados magneticamente durante 48 horas. A cromatografia de camada delgada mostrou a presença do produto **6**, bis-(2-naftiloxi)-(fenil)-metano, $R_f=0.45$ em hexano-acetato de etila 3:1. Partição entre água e diclorometano, secagem de fase inferior, evaporação de solvente e purificação de resíduo pela cromatografia de coluna usando silica gel 60 forneceu o produto **6** na forma amorfa em rendimento de 47%.

[0023] Abaixo mostramos os dados espectroscópicos dos derivados que são o objetivo do presente pedido.

[0024] Bis-(4-alil-2-metoxifeniloxi)-metano **1**: ^1H (400MHz, CDCl_3): 6.84 (aparente d, $J=6.3\text{Hz}$, 2H), 6.70-6.67 (não resolvido, 4H), 5.95 (m de 10 linhas, $J=6.4\text{Hz}$, 6.6Hz, 10.0Hz, 16.8Hz, 2H), 5.51 (s, 2H), 5.09 (q, $J=1.3\text{Hz}$, 1H), 5.07-5.03 (não resolvido, 3H), 3.87 (s, 6H), 3.32 (dt, $J=1\text{Hz}$, 6.6Hz, 4H). ^{13}C (100MHz): 149.8, 144.4, 137.4, 135.1, 120.6, 117.9, 115.6, 112.4, 93.5, 55.7, 39.8. HRMS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4 + \text{Na}^+ = 363.1567$. Encontrado: 363.1556.

[0025] (4-Alil-2-metoxifeniloxi)-(1-aza-8-naftiloxi)-metano **2**: ^1H (300MHz, CDCl_3): 8.83 (dd, $J=1.4\text{Hz}$, 4.1Hz, 1H), 7.96 (dd, $J=1.4\text{Hz}$, 6.6Hz, 1H), 7.56 (dd, $J=3.5\text{Hz}$, 5.3Hz, 1H), 7.37 (d, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.27 (dd, $J=4.1\text{Hz}$, 8.4Hz, 1H), 7.21 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 6.65-6.61 (sinal não resolvido, 2H), 5.98 (s, 2H), 5.85 (m de 10 linhas, $J=10.1\text{Hz}$, 6.6Hz, 6.6Hz, 16.7Hz, 1H), 5.00 (dd, $J=1.6\text{Hz}$, 8.8Hz, 1H), 4.96 (s largo, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.23 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 2H).

^{13}C (75MHz): 152.6, 149.7, 149.2, 144.0, 140.1, 135.6, 135.2, 129.1, 126.4, 121.3,

121.2, 118.2, 115.4, 113.2, 112.2, 93.0, 55.5, 39.6.

HRMS: calculado para $C_{20}H_{19}NO_3 + Na^+ = 344.1257$. Encontrado: 344.1244.

[0026] (1-Aza-8-naftiloxi)-(2-isopropil-5-metilfeniloxi)-metano **3**: 1H (300MHz, $CDCl_3$): 8.97 (dd, $J=1.8Hz, 4.4Hz, 1H$), 8.14 (dd, $j=1.6Hz, 8.5Hz, 1H$), 7.50 (s, 1H), 7.48 (d, $J=3.4Hz, 1H$), 7.43 (dd, $J=4.1Hz, 8.5Hz, 1H$), 7.26 (bs, 1H), 7.11 (d, $J=6.2Hz, 1H$), 6.84 (d, $J=7.6Hz, 1H$), 6.08 (s, 2H), 3.33 (m de 7 linhas, $J=6.9Hz, 1H$), 2.34 (s, 3H), 1.19 (d, $J=6.7Hz, 6H$).

^{13}C (75MHz): 154.1, 149.5, 140.4, 136.7, 135.9, 134.6, 129.5, 126.5, 125.9, 123.1, 121.6, 115.4, 113.3, 92.3, 26.5, 22.9, 21.2.

HRMS: calculado para $C_{20}H_{21}NO_2 + Na^+ = 330.1465$. Encontrado: 330.1255.

[0027] (2-Isopropil-5-metilfeniloxi)-(1-naftiloxi)-metano **4**: 1H (300MHz, $CDCl_3$): 8.36-8.32 (m, 1H), 7.69-7.84 (m, 1H), 7.60-7.52 (m, 3H), 7.46 (t, $J=7.9Hz, 1H$), 7.31 (dd, $J=1.6Hz, 7.5Hz, 1H$), 7.21-7.16 (dois largos s, 2H), 6.91 (d, $J=7.9Hz, 1H$), 6.01 (s, 2H), 3.39 (m de 7 linhas, $J=6.8Hz, 1H$), 2.40 (s, 3H), 1.25 (d, $J=6.5Hz, 6H$).

^{13}C (75MHz): 154.2, 152.9, 136.5, 134.9, 134.5, 127.5, 126.3, 126.1, 125.7, 125.4, 123.2, 122.0, 121.9, 115.4, 108.2, 91.8, 26.5, 22.9, 21.3.

HRMS: calculado para: $C_{21}H_{22}O_2 + Na^+ = 329.1512$. Encontrado: 329.1506.

[0028] (2-Isopropil-5-metilfeniloxi)-(2-naftiloxi)-metano **5**: 1H (300MHz, $CDCl_3$): 7.94-7.90 (dois grupos de sinais, 3H), 7.70 (d, $J=2.5Hz, 1H$), 7.64-7.42 (oito grupos de sinais, 3H), 7.31 (d, $J=7.8Hz, 1H$), 7.24 (s, 1H), 7.02 (d, $J=7.5Hz, 1H$), 5.99 (s, 2H), 3.54 (m de sete linhas, $J=6.8Hz, 1H$), 2.52 (s, 3H), 1.39 (d, $J=6.8Hz, 6H$).

^{13}C (75MHz): 154.9, 154.1, 136.5, 134.9, 129.6, 129.4, 127.6, 127.0, 126.3, 126.1, 124.1, 123.2, 116.9, 115.2, 110.3, 91.4, 26.5, 22.9, 21.2.

HRMS: calculado para: $C_{21}H_{22}O_2 + Na^+ = 329.1512$. Encontrado: 329.1504.

[0029] (Fenil)-bis-(2-naftiloxi)-metano **6**: 1H (300MHz, $CDCl_3$): 7.94 (d, $J=8.4Hz, 2H$), 7.84-7.81 (sinais não resolvidos, 2H), 7.73 (d, $J=8.0Hz, 2H$), 7.43-7.31 (sinais não resolvidos, 10H), 7.13 (s, 1H), 7.03 (d, $J=8.0Hz, 2H$), 3.71 (s, 1H).

^{13}C (75MHz): 171.6, 152.8, 152.4, 140.5, 133.6, 129.9, 129.8, 129.5, 128.9, 128.2, 127.4, 127.3, 123.4, 122.5, 119.8, 66.9.

HRMS: calculado para: $C_{27}H_{20}O_2 + Na^+ = 399.1356$. Encontrado: 399.1348.

Citotoxicidade

[0030] A atividade antitumoral foi realizada *in vitro* frente a linhagem celular de adenocarcinoma de colo de útero humano (HeLa). Foram testados seis compostos na concentração de 50 μ M e os resultados mostraram que todos os compostos são promissores, pois apresentaram inibição do crescimento celular maior que 79 % (Tabela 1).

Tabela 1 – Atividade cancerígena das substâncias teste sobre a linhagem celular HeLa

Compostos	% de inibição $\pm$ EPM*
	HeLa
1	79,78 $\pm$ 2,75
2	82,53 $\pm$ 4,78
3	94,93 $\pm$ 1,14
4	95,96 $\pm$ 0,95
5	83,06 $\pm$ 3,93
6	90,76 $\pm$ 2,09
DOX	85,86 $\pm$ 7,46

*EPM – erro médio padrão; Dox – doxorubicina, controle positivo, medicamento de referência utilizado nos experimentos

Diante disso, foi calculada a concentração de inibe 50 % em relação ao controle (CI_{50}) dos compostos frente a linhagem HeLa e os resultados mostraram uma variação entre 1,11 a 35,09 μ M (Tabela 2). Esses achados indicam que o composto 2 apresenta a menor concentração (1,11 μ M) e o composto 5 (35,09 μ M) a maior concentração capaz de inibir 50 % o crescimento da linhagem celular HeLa nas condições testadas. A doxorubicina, medicamento padrão, foi usada como controle positivo e induziu a citotoxicidade com a CI_{50} de 17,78 μ M.

Tabela 2 - Valores da CI_{50} sobre a linhagem celular HeLa e intervalo de confiança de 95 %.

Compostos	72 h
	HeLa
	CI ₅₀ (μM)* Intervalo de confiança
1	26,95 (24,42 – 29,74)
2	1,11 (0,95 – 1,29)
3	32,72 (29,37 – 36,46)
4	23,00 (19,79 – 26,74)
5	35,09 (27,25 – 45,18)
6	7,84 (7,16 – 8,58)
DOX	17,78 (15,99 – 19,77)

*CI₅₀ – concentração de inibição de 50% do crescimento em relação ao controle negativo, Dox – doxorubicina, controle positivo, medicamento de referência utilizado nos experimentos

Exemplos de concretizações da invenção

[0031] Seis inéditos compostos foram preparados, purificados e caracterizados pela ressonância magnética nuclear ¹H e ¹³C, e pela espectrometria de massas de alta resolução (HRMS). Suas estruturas são mostradas nos Desenhos 1-6. Os compostos obtidos foram testados frente a linhagem celular de adenocarcinoma de colo de útero humano e e mostram atividades anticancerígenas promissoras sumarizados na Tabela 1 e seus valores de CI50 na Tabela 2.

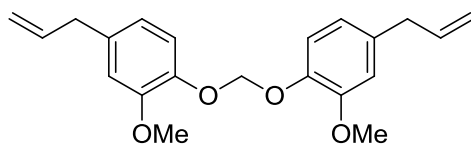
[0032] Os ensaios celulares *in vitro* são ferramentas que ajudam na caracterização da atividade biológica de moléculas com interesse farmacológico, principalmente, com ênfase na atividade cancerígena. Essas informações são usadas para ajudar no planejamento e modificação estrutural de novas moléculas bioativas. Torna-se claro, que foi encontrado novo protótipo de compostos anticancerígenos com amplo potencial para futuro desenvolvimento pela incorporação de substituintes nos radicais R, R₁ e R₂ e variação das estruturas destes radicais, e pelo uso de diferentes linhagens celulares além de HeLa, para identificar o maior espectro de atividade dos derivados em questão. Além disso, mais estudos devem ser realizados para elucidar os seus mecanismos de ação no câncer.

REIVINDICAÇÕES

1. “SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA *IN VITRO* DE BIS-(2-NAFTILOXI)-(PHENIL)-METANO, BIS-(4-ALIL-2-METOXIFENILOXI)-METANO E ACETAIS MISTOS $R_1OCH_2OR_2$ OBTIDOS VIA QUÍMICA COMBINATÓRIA PELA AQUILAÇÃO DE DICLOROMETANO” caracterizado pelo produtos sintéticos obtidos pela alquilação de diclorometano ou α,α -dibromotolueno, usando eugenol, timol, 1-naftol, 2-naftol e 8-hidroxiquinolina e as atividades anticancerígenas dos produtos finais.
2. “SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA *IN VITRO* DE BIS-(2-NAFTILOXI)-(PHENIL)-METANO, BIS-(4-ALIL-2-METOXIFENILOXI)-METANO E ACETAIS MISTOS $R_1OCH_2OR_2$ OBTIDOS VIA QUÍMICA COMBINATÓRIA PELA AQUILAÇÃO DE DICLOROMETANO” de acordo com reivindicação 1 caracterizado pelo processo de síntese usando os princípios de química combinatória.
3. “SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA *IN VITRO* DE BIS-(2-NAFTILOXI)-(PHENIL)-METANO, BIS-(4-ALIL-2-METOXIFENILOXI)-METANO E ACETAIS MISTOS $R_1OCH_2OR_2$ OBTIDOS VIA QUÍMICA COMBINATÓRIA PELA AQUILAÇÃO DE DICLOROMETANO” de acordo com reivindicação 1 caracterizado pela aplicação de catálise de transferência de fases.
4. “SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA *IN VITRO* DE BIS-(2-NAFTILOXI)-(PHENIL)-METANO, BIS-(4-ALIL-2-METOXIFENILOXI)-METANO E ACETAIS MISTOS $R_1OCH_2OR_2$ OBTIDOS VIA QUÍMICA COMBINATÓRIA PELA AQUILAÇÃO DE DICLOROMETANO” de acordo com reivindicação 1 caracterizado pelos produtos bis-(4-alil-2-metoxifeniloxi)-metano, (4-alil-2-metoxifeniloxi)-(1-aza-8-naftiloxi)-metano, (1-aza-8-naftiloxi)-(2-isopropil-5-metilfeniloxi)-metano, (2-isopropil-5-metilfeniloxi)-(1-naftiloxi)-metano, (2-isopropil-5-metilfeniloxi)-(2-naftiloxi)-metano e (fenil)-bis-(2-naftiloxi)-metano.

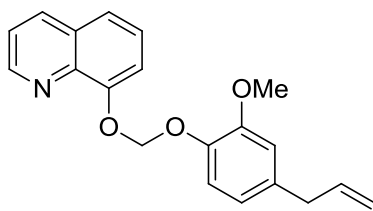
5. “SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA *IN VITRO* DE BIS-(2-NAFTILOXI)-(PHENIL)-METANO, BIS-(4-ALIL-2-METOXIFENILOXI)-METANO E ACETAIS MISTOS $R_1OCH_2OR_2$ OBTIDOS VIA QUÍMICA COMBINATÓRIA PELA AQUILAÇÃO DE DICLOROMETANO” de acordo com reivindicação 4, caracterizado pelas atividades anticancerígenas comparáveis com doxorubicina.

DESENHOS



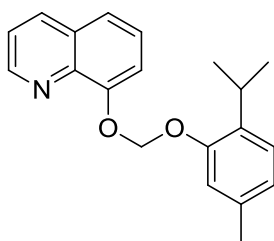
Composto **1**, bis-(4-ali-2-metoxifeniloxi)-metano

Figura 1



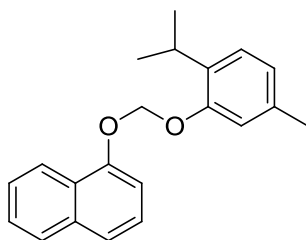
Composto **2**, (4-alil-2-metoxifeniloxi)-(1-aza-8-naftiloxi)-metano

Figura 2



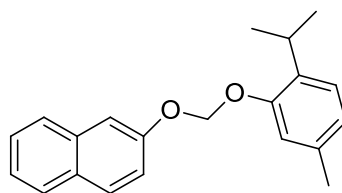
Composto **3**, (1-aza-8-naftiloxi)-(2-isopropil-5-metilfeniloxi)-metano

Figura 3



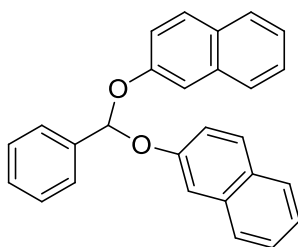
Composto **4**, (2-isopropil-5-metilfeniloxi)-(1-naftiloxi)-metano

Figura 4



Composto **5**, (2-isopropil-5-metilfeniloxi)-(2-naftiloxi)-metano

Figura 5



Composto **6**, (fenil)-bis-(2-naftiloxi)-metano

Figura 6

RESUMO

SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA *IN VITRO* DE BIS-(2-NAFTILOXI)-(PHENIL)-METANO, BIS-(4-ALIL-2-METOXIFENILOXI)-METANO E ACETAIS MISTOS $R_1OCH_2OR_2$ OBTIDOS VIA QUÍMICA COMBINATÓRIA PELA AQUILAÇÃO DE DICLOROMETANO

A presente aplicação trata sobre a síntese química e avaliação anticancerígena de cinco acetais de formaldeído e de um acetal de benzaldeído obtidos no meio básico, todos inéditos. Os compostos em questão são os derivados de fenóis como eugenol, timol, 1-naftol, 2-naftol e 8-hidroxiquinolina e foram preparados pela dupla alquilação de diclorometano ou α,α -dibromotolueno. Os compostos obtidos mostram as atividades anticancerígenas promissoras usando a linhagem celular HeLa.