

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

Maria J. Silva,^a Erverlly Barroso,^b Jaciana dos Santos,^b Alexander Y. Nazarenko,^c Tonny C. C. Leite,^d José V. P. Barbosa,^b João P. A. M. Silva,^d Bogdan Doboszewski,^e Gilson B. Silva^{d*}

^aDepartamento de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte; ^bDepartamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco; ^cInstitution, address Chemistry Department, State University of New York, College at Buffalo; ^dInstituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Barreiros, ^eDepartamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco,

Palavras-Chave: alcoxilação, atividade anticâncer, HeLa.

Introdução

Os acetais simétricos de formaldeído $ROCH_2OR$ exibem uma gama de atividades, como inibição da agregação da proteína β -amiloide¹, ação antifúngica^{2,3,4}, pesticida⁵, antibacteriana contra microrganismos G+ e G-⁶, atividade antileishmania⁷, alguns são ativos contra o ácaro vermelho dos citros⁸ ou contra a fascíola hepática⁹, e outros têm interesse nas indústrias de perfumes^{10,11}, papel¹² e têxtil^{13,14}. Eles podem ser obtidos em condições básicas por substituição dupla em dihalometanos (CH_2Br_2 , CH_2BrCl , CH_2Cl_2 , CH_2I_2) ou em meio ácido utilizando paraformaldeído ou dimetoximetano, entre outros.

Os acetais mistos de formaldeído $R^1OCH_2OR^2$ receberam atenção como grupos protetores, e sua formação e escopo de utilização foram apresentados de forma abrangente em uma obra de referência¹⁵. Na maioria dos casos, eles foram obtidos usando os halletos alcoximetílicos pré-formados, que são instáveis e potencialmente cancerígenos. Alternativas atípicas para obter os acetais mistos para fins diferentes da proteção incluem substituições em halletos alcoximetilpiridínio¹⁶, troca acetal-éter em meio ácido¹⁷, processos fotossintéticos ($ROCH_2CO_2H/HgO/I_2/ROH$)¹⁸ ou descarboxilação eletroquímica não-Kolbe¹⁹, troca de acetais induzida por $SnCl_4$ ²⁰ e aplicação de óxidos metálicos sulfatados²¹ e ácido fenilsulfônico/sílica mesoporosa para transacetalização²².

Material e Métodos

Em um procedimento típico, 10 mmol de ambos os componentes fenólicos (ou 10 mmol de fenóis e 3 ml de álcoois alifáticos líquidos; 4 g de hexadecanol foram usados) em 70 ml de CH_2Cl_2 foram agitados magneticamente durante 72h com cerca de 8-10 g de KOH triturado em um almofariz sob uma camada protetora de hexano. Os catalisadores de transferência de fase usados de forma alternada foram Bu_4NHSO_4 , $BnNEt_3Cl$, $CH_3(CH_2)_{15}NMe_3Br$ ou 18-crown-6. Os produtos foram facilmente separados por cromatografia em coluna gravitacional após o tratamento aquoso convencional das misturas de reação.

Todos os compostos apresentados na Tabela 1 mostram as características esperadas de RMN. Todos os acetais mistos também foram caracterizados por medições de massa de alta resolução. Três acetais, **18**, **29** e **34**, foram obtidos em uma forma adequada para análise de raios-X, e seus desenhos ORTEP são mostrados nas Figuras 1 a-c.³⁹

Figura 1: análise de raios-X, e seus desenhos ORTEP das Figuras 1a-c.



Resultados e Discussão

Considerando o fato de que o CH_2Cl_2 é o mais barato dos substratos de um carbono para a dupla alcoxilação, raciocinamos que, se dois álcoois ou fenóis diferentes (R_1OH e R_2OH) forem combinados com ele na presença de KOH e de um catalisador de transferência de fase, a mistura de três diferentes acetais de formaldeído $\text{R}_1\text{OCH}_2\text{OR}_1$, $\text{R}_1\text{OCH}_2\text{OR}_2$ e $\text{R}_2\text{OCH}_2\text{OR}_2$ deve ser formada, conforme mostrado no Esquema 1.

Esquema 1: Reação geral de dupla alcoxilação



O objetivo é mostrar que tal procedimento de "mini combinatória" funciona bem e permite o acesso aos três tipos de acetais mencionados acima, após a separação por cromatografia em coluna gravitacional. Os mais importantes desses compostos são os acetais mistos $\text{R}_1\text{OCH}_2\text{OR}_2$, ainda não descritos, para triagem biológica.

Os seguintes componentes hidroxílicos foram utilizados: 8-hidroxiquinolina **1**, timol **2**, eugenol **3**, fenol **4**, 4-aminotiolfenol **5**, dietilenoglicol **6**, 1-naftol **7**, monobutiloetilenoglicol **8**, 2-naftol **9**, guaiacol **10**, etanol **11**, n-butanol **12**, n-hexadecanol **13**, n-pentanol **14** e n-octanol **15**. A combinação desses compostos, de acordo com o Esquema 1, permitiu o isolamento dos acetais mistos, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1: Os substratos e os produtos obtidos pela dupla alquiloilação de CH₂Cl₂. Os produtos em cada entrada estão mostrados na ordem de mobilidade decrescente na sílica gel, da esquerda para a direita. Os rendimentos preparativos dos acetatos mistos

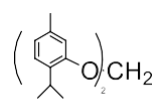
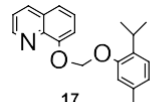
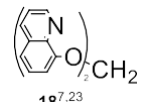
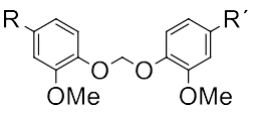
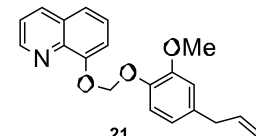

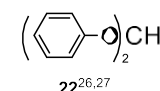
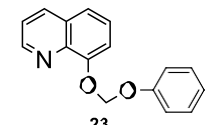

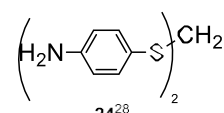
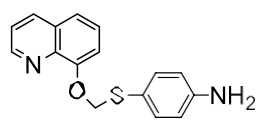


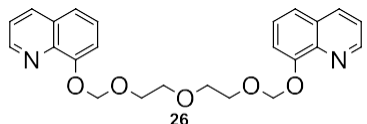
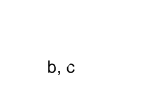

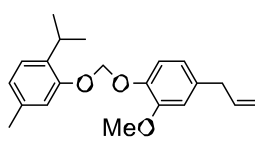
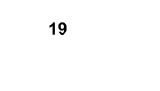

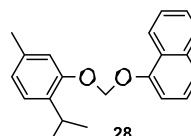
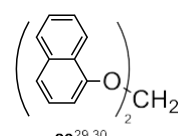

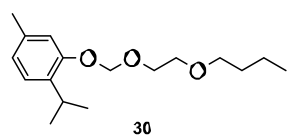
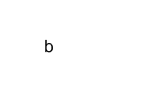
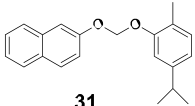
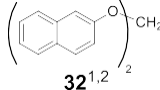
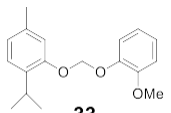
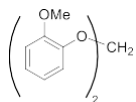
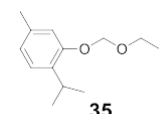
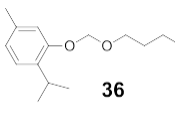
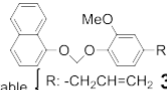
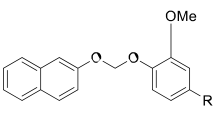
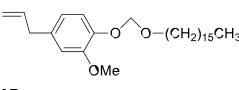
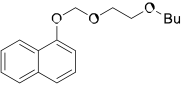
| Entrada | Produtos |
|---------|--|
| 1 | <p>1 + 2</p> <p> 16^{3,24,25}</p> <p> 17 15%, R_f 0.39 hexane-EtOAc 3:2</p> <p> 18^{7,23}</p> |
| 2 | <p>1 + 3</p> <p> 19 R, R': -CH₂CH=CH₂, -CH=CHCH₃ inseparable R=R': -Pr 20 19: 42%, R_f 0.24 hexane-EtOAc 9:1 20: 81%, R_f 0.29 hexane-EtOAc 9:1</p> <p> 21 16%, R_f 0.41 hexane-EtOAc 1:1</p> <p> 18^{7,23}</p> |
| 3 | <p>1 + 4</p> <p> 22^{26,27}</p> <p> 23 19%, R_f 0.42 hexane-EtOAc 1:1</p> <p> 18^{7,23}</p> |
| 4 | <p>1 + 5</p> <p> 24²⁸</p> <p> 25 unstable^a R_f 0.38 CH₂Cl₂:MeOH 10:0.35</p> <p> 18^{7,23}</p> |
| 5 | <p>1 + 6</p> <p> 18^{7,23}</p> <p> 26 19%, R_f 0.45 CH₂Cl₂:MeOH 10:0.5</p> <p> 18^{7,23}</p> |
| 6 | <p>2 + 3</p> <p> 16^{3,24,25}</p> <p> 27 34%, R_f 0.51 hexane-EtOAc 9:1</p> <p> 19</p> |
| 7 | <p>2 + 7</p> <p> 16^{3,24,25}</p> <p> 28 37%, R_f 0.60 hexane-EtOAc 19:1</p> <p> 29^{29,30}</p> |
| 8 | <p>2 + 8</p> <p> 16^{3,24,25}</p> <p> 30 33%, R_f 0.44 hexane-EtOAc 10:0.5</p> <p> 18^{7,23}</p> |

Tabela 1 cont.

| | | | | |
|----|--------|--|--|--|
| 9 | 2 + 9 | 16 ^{3,24,25} |  <p>31 37%, R_f 0.60 hexane-EtOAc 19:1</p> |  <p>32^{1,2}</p> |
| 10 | 2 + 10 | 16 ^{3,24,25} |  <p>33 27%, R_f 0.35 hexane-EtOAc 19:1</p> |  <p>34^{10,11}</p> |
| 11 | 2 + 11 | 16 ^{3,24,25} |  <p>35 38%, R_f 0.36, hexane neat</p> | b |
| 12 | 2 + 12 | 16 ^{3,24,25} |  <p>36 34%, R_f 0.34, hexane neat</p> | b |
| 13 | 3 + 7 | 29 ^{29,30} | <p>19</p> |  <p>inseparable { R: -CH₂CH=CH₂ 37 R: -CH=CHCH₃ R: -Pr 38^d ← H₂, Pt</p> <p>37: 37%, R_f 0.34, hexane-EtOAc 10:1 38^d: 42%, R_f 0.40, hexane-EtOAc 10:1</p> |
| 14 | 3 + 9 | 32 ^{1,2} |  <p>R: -CH₂CH=CH₂ 39 } inseparable R: -CH=CHCH₃ R: -CH₂CH₂CH₃ 40 ← H₂, Pt</p> <p>39: 29%, R_f 0.40, hexane-EtOAc 10:1 40: 65%, R_f 0.46, hexane-EtOAc 10:1</p> | 19 |
| 15 | 3 + 13 | (CH ₃ (CH ₂) ₁₅ OH) ₂ CH ₂ 41 ³¹ |  <p>42, 28%, R_f 0.27 hexane-EtOAc 10:0.3</p> | 19 |
| 16 | 6 + 7 | 29 ^{29,30} |  | b |

Os rendimentos preparativos dos acetais mistos derivados da 8-hidroxiquinolina **1** foram menores do que os dos outros fenóis, e o composto **1** não reagido estava sempre presente nas respectivas misturas reacionais. Evidentemente, **1** é intrinsecamente menos reativo, presumivelmente devido à forte ligação de hidrogênio intramolecular, o que aumenta o pKa de seu grupo –OH.³⁸ Além disso, subprodutos resinosos polares não identificados foram sempre formados, provavelmente pela alquilação do átomo de N1.

Todos os compostos, exceto o instável **25**, foram submetidos à avaliação antiproliferativa na linha celular HeLa⁴⁴ a 50µM. Os resultados dos cinco compostos mais ativos estão mostrados na Tabela 2. O composto **21** se destaca como mais potente (IC₅₀ = 1,11 µM) em comparação com a doxorubicina usada como controle positivo (IC₅₀ = 17,78 µM)⁴⁵.

Tabela 2: Citotoxicidade dos cinco compostos mais ativos e da doxorubicina contra a linha celular HeLa a 50 µM.

| Compostos | Inibição da viabilidade celular * (% Inibição ± SD) | IC ₅₀ ** e intervalos de confiança |
|-----------------|--|---|
| 16 | 95.96 ± 0.95 | 23.00 (19.79 – 26.74) |
| 17 | 94.93 ± 1.14 | 32.72 (29.37 – 36.46) |
| 19 | 79.78 ± 2.75 | 26.95 (24.42 – 29.74) |
| 21 | 82.53 ± 4.78 | 1.11 (0.95 – 1.29) |
| 31 | 83.06 ± 3.93 | 35.09 (27.25 – 45.18) |
| Doxorubicina*** | 85.86 ± 7.46 | 17.78 (15.99 – 19.77) |

* Apresentado como a média de quatro repetições. DP = Desvio Padrão

** Valores de IC₅₀ foram obtidos por regressão não linear; valores de IC₅₀ em µM, a concentração que reduziu em 50% a densidade óptica das células tratadas em relação aos controles não tratados.

*** Controle positivo

Conclusões

Em conclusão, é apresentada uma fácil metodologia para obter os acetais mistos de formaldeído R₁OCH₂OR₂ em meio básico, utilizando fenóis/álcoois e CH₂Cl₂ por meio de uma abordagem combinatória.

Agradecimentos

Ao Prof. Alberto Wisniewski Jr, do Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe (FUS), pelas medições de massa exata. Ao Centro Analítico, do Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pelos espectros de RMN.

Referências

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.
23. Petrosyan, V.A., Niyazymbetov, M.E., Baryshnikova, T.K., Dorokhov, V.A. *Dolk.Acad.Nauk SSSR*, **1988**, 302, 852-854.
24. More, D.H., Pawar, N.S., Dewang, P.M., Patil, S.L., Mahulikar, P.P. *Russ.J.Gener.Chem.*, **2004**, 74, 217-218.
25. Kumbhar, P.P., Kapadi, U.R., Hundiwale, D.G., Attarde, S.B., Dewang, P.M., Pawar, N.S. *Org.Prep.Proc.Int.*, **2000**, 32, 600-603.

26. More, S.V., Ardhapure, S.S., Naik, N.H., Bhusare, S.R., Jadhav, W.N., Pawar, R.P. *Synth. Commun.*, **2005**, *35*, 3113-3118.
27. Liu, W., Szewczyk, J., Waykole, L., Repić, O., Blacklock, T.J. *Synth. Commun.*, **2003**, *33*, 2719-2723.
28. Waldron, W.R., Reid, E.E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1923**, *45*, 2399-2417.
29. Salunkhe, M.M., Salunkhe, D.G., Kanade, A.S., Mane, R.B., Wadgaonkar, P.P. *Synth. Commun.*, **1990**, *20*, 1143-1147.
30. Salunkhe, M.M., Kavitate, B.P., Patil, S.V., Wadgaonkar, P.P. *J. Chem. Res. Synopses*, **1995**, 503.
31. Kiersznicki, T., Szeja, W., Mazurkiewicz, R. PL 1978-211233; CAN 101:90406.
32. Pathak, D.D., Gerald, J.J. *Synth. Commun.*, **2003**, *33*, 1557-1561.
33. Sokolowski, A., Burczyk, B. *Pol. J. Chem.*, **1979**, *53*, 905-912.
34. Ghysels, M. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 1924, **33**, 57-78; CAN 18:10897.
35. Vogel, A.I. *J. Chem. Soc.*, **1948**, 616-624.
36. Hubert, A.J., Reimlinger H. *Synthesis*, **1969**, 97-112.
37. Hubert, A.J., Reimlinger H. *Synthesis*, **1970**, 405-430.
38. Crisponi, G., Casu, M., Nurchi, V.M., Cesare-Marincola, F., Pivetta, T., Silvagni, R. *Talanta*, 2002, **56**, 441-449
39. The crystallographic parameters at -100°C are as follows: **18**: triclinic $P\bar{1}$; a, b, c (Å): 8.0251(4), 9.0365(5), 23.4269(12); α, β, γ (°): 84.497(2), 88.301(2), 73.404(2); Z = 4; **29**: monoclinic space group $P2_1/c$; a, b, c (Å): 12.9917(11), 4.2968(4), 27.261(2); $\beta = 100.210(6)^\circ$, Z=4; **34**: monoclinic space group $P2_1/c$; a, b, c (Å): 7.6326(4), 20.1622(11), 9.1642(5); $\beta = 112.450(2)^\circ$, Z=4. Crystallographic data⁴⁰⁻⁴³ for these compounds have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre as supplementary publication numbers CCDC 1873448, 1873449, 1874258 for **18**, **29** and **34**, respectively. These data can be obtained free of charge from the Cambridge Crystallographic Data Centre via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/
40. Sheldrick, G. M. *Acta Cryst.* **2015**, *A71*, 3–8.
41. Sheldrick, G. M. *Acta Cryst.*, **2015**, *C71*, 3–8.
42. Krause, L., Herbst-Irmer, R., Sheldrick, G. M. & Stalke, D. *J. Appl. Cryst.*, **2015**, *48*, 3–10.
43. Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. K., Puschmann, H. *J. Appl. Cryst.*, **2009**, *42*, 339–341.