



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

(21) BR 102014016827-3 A2

(22) Data do Depósito: 08/07/2014

(43) Data da Publicação: 31/07/2018



(54) Título: SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER

(51) Int. Cl.: C07D 219/06; A61P 35/00

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA, UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

(72) Inventor(es): MARIA DO CARMO ALVES DE LIMA; RICARDO OLÍMPIO DE MOURA; FRANCISCO JAIME BEZERRA MENDONÇA JUNIOR; LUIZ BEZERRA DE CARVALHO JUNIOR; JOAO ERNESTO DE CARVALHO; ANA LÚCIA TASCA GOIS RUIZ; SINARA MÔNICA VITALINO DE ALMEIDA; ROSALI MARIA FERREIRA DA SILVA; MARIANNA VIEIRA SOBRAL; ANEKÉCIA LAURO DA SILVA; TATIANE MOTA BATISTA; VANESSA DE LIMA SERIFIM

(85) Data do Início da Fase Nacional:
08/07/2014

(57) Resumo: SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER. A presente patente de invenção descreve a síntese e atividade antitumoral de novos derivados 3-(acridin-9-il)-N-benzilideno- 2-cianoacrilohidrazidas substituídos. Tais derivados são obtidos em menor número de etapas reacionais que a acridina utilizada na clínica (amsacrina), e com reagentes facilmente adquiridos. Com relação a atividade antitumoral são equivalentes a amsacrina e asulacrinás (derivados acridínicos). Microscopia Eletrônica de Varredura revela resultados equivalentes dos derivados sintetizados e padrões, como as mesmas lesões estruturais. Além, de estudos preliminares também demonstrarem uma menor citotoxicidade dos derivados acridínicos sintetizado. Tais derivados acridínicos são aplicadas para o uso humano e veterinário.

SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER

01. A presente patente de invenção refere-se à síntese e atividade antitumoral de novos compostos 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmacologicamente aceitáveis que venham a ser utilizados na saúde humana e/ou animal com fins de tratamento, profilaxia, paliativa, ou também como diagnóstico para o câncer. Exemplos específicos de tipos de tumores que os compostos podem ser utilizados para tratamento incluem leucemias e linfomas, e tumores sólidos sólidos.

02. O núcleo acridínico, apresentam um amplo espectro de atividades, como antimicrobiana, antimalárica, antitripanossômica, fungicida, antiparasitárias, anti-inflamatória, analgésica, antiprion, anti-alzheimer, antileishmania, além de sua potente atividade antineoplásica, que foi evidenciada na década de 1970, onde surgiu o primeiro derivado anilinoacridínico, desenvolvido por Denny et al., a amsacrina (*N*-[4-(acridin-9-ilamino)-3-metóxi-fenil]-metanosulfonamida – m-AMSA). Tal derivado foi implementado na clínica em 1976 para o tratamento de leucemias e foi o primeiro fármaco no qual o seu modo de ação foi previsto como uma interação com o complexo DNA-Topoisomerase II. Desta forma, acredita-se que moléculas híbridas que apresentem o anel acridina são promissoras, pois trabalhos preliminares apresentaram uma atividade antitumoral igual à amsacrina com uma citotoxicidade menor.

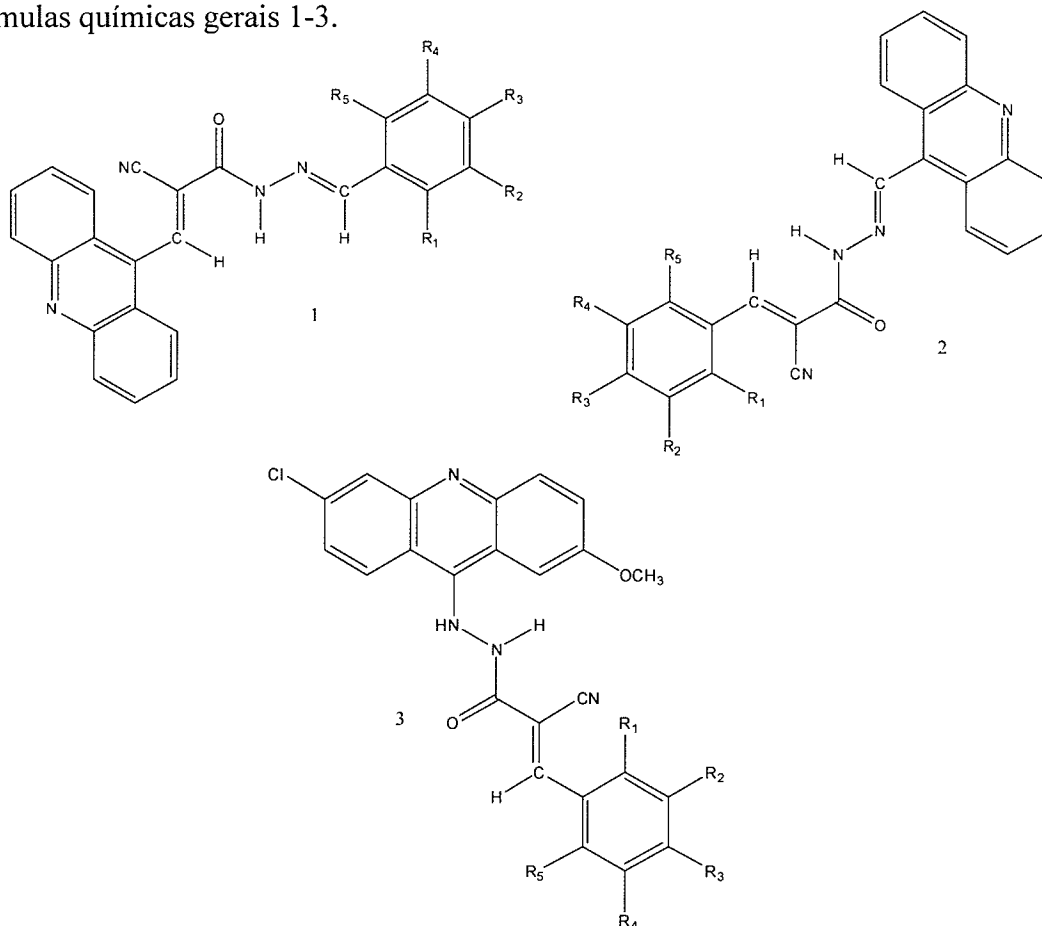
03. A ideia de hibridação do núcleo acridínico com grupamentos acilidrazônicos substituídos surgiu devido à potencialidade biológica também documentada na literatura de tais derivados como: leishmanicida, antiplaquetária, anti-inflamatória, antimitótica, antiviral, antibacteriana, antifúngica, antimalárica, entre outras.

04. Foram realizadas etapas de síntese, purificação e elucidação estrutural de novos compostos 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos híbridos, acompanhados por ensaios *in vitro* e *in vivo* visando à avaliação de suas potenciais atividades antitumorais.

05. Esses compostos podem ser administrados por qualquer via de administração, incluindo: via oral, intravenosa, intra-arterial, intracraniano, intratorácica,

intraperitoneal, parenteral, ocular, retal, cutânea, sub-cutânea, intradérmica, dérmica, inalatória ou intramuscular.

06. A presente patente de invenção refere-se a três séries químicas de novos derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos de fórmulas químicas gerais 1-3.



07. Em seu primeiro aspecto, a presente patente de invenção se refere à descrição do processo de obtenção de novos derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos através da hibridização equimolar do núcleo acridínico e do grupamento acilidrazônicos não substituído ou polissubstituídos por acridinil, 5-bromo-1*H*-indol, bromo, cloro, flúor, metil, propil, etil, terc-butil, metóxi, etóxi, fenilóxi, benzilóxi, dimetilamino, metilsulfunil, fenil, nitro, hidróxido, tiofeno nas posições R₁, R₂, R₃, R₄ e/ou R₅, na presença de uma base (hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, piperidina, trietilamina, dietilamina ou morfolina) e solventes tais como metanol, etanol, tetrahydrofurano ou dimetilformamida, em uma temperatura superior ao ponto de fusão dos reagentes. Purificados através de cristalizações sucessivas em metanol, etanol, tolueno, dioxano ou tetrahydrofurano.

08. Os compostos de fórmula geral 1 - 3 foram preparados em reações paralelas e convergentes, onde o núcleo acridínico foi obtido a partir de difenilamina (CAS 122-39-4), ácido de Lewis como catalisador e ácido acético glacial (CAS 64-19-7), aquecidos a uma temperatura de superior ao ponto de fusão dos reagentes. Na segunda etapa foi realizada a reação de oxidação de 9-metil-acridina com *N,N*-dimetil-4-nitrosoanilina (CAS 138-89-6) na presença de metanol ou etanol. E finalmente, após a reação em meio ácido para a preparação dos compostos de fórmula geral 3 foi utilizada a 6,9-cloro-2-metóxi-acridina (CAS 86-38-4).

09. Os compostos de fórmula geral 1 foram preparados a partir da reação de equimolares (3,0289 mMol) 2-cianoacetohidrazida (CAS 140-87-4) e benzaldeídos não substituído e/ou polissubstituídos, na presença de ácido acético (CAS 64-19-7) como catalisador e como solvente metanol ou etanol, em temperatura ambiente até formação do produto. Em seguida, os derivados *N*-benzilideno-2-cianoacetohidrazidas substituídas obtidas reagiram na mesma razão molar com a acridina-9-carboxaldeído na presença de dietilamina, trietilamina, piperidina, morfolina, hidróxido de sódio e/ou hidróxido de potássio como catalisador, em meio alcoólico, a uma temperatura superior ao ponto de fusão dos reagentes. Os derivados obtidos foram purificados através de cristalizações em metanol, etanol, diformamida, dioxano, e/ou tetrahydrofurano.

10. Os compostos de fórmula geral 2 foram preparados a partir da reação de equimolares (3,0289 mMol) 2-cianoacetohidrazida (CAS 140-87-4) e acridina-9-carboxaldeído, na presença de ácido acético (CAS 64-19-7) como catalisador e como solvente metanol ou etanol, em temperatura ambiente ou superior ao ponto de fusão dos reagentes. Em seguida, o *N*-(acridin-9-ilmetileno)-2-cianoacetohidrazida obtido reagiu na mesma razão molar com a acridina-9-carboxaldeído e/ou benzaldeídos não substituído e/ou polissubstituídos na presença de dietilamina, trietilamina, piperidina, morfolina, hidróxido de sódio e/ou hidróxido de potássio como catalisador, em meio alcoólico, em temperatura ambiente ou superior ao ponto de fusão dos reagentes. Os derivados obtidos foram purificados através de cristalizações em metanol, etanol, diformamida, dioxano, e/ou tetrahydrofurano.

11. Os compostos de fórmula geral 3 foram preparados a partir da reação de equimolares (3,0289 mMol) 2-cianoacetohidrazida (CAS 140-87-4) e 6,9-cloro-2-metóxi-acridina (CAS 86-38-4), na presença de ácido acético (CAS 64-19-7) como

catalisador e como solvente metanol ou etanol, em temperatura ambiente ou superior ao ponto de fusão dos reagentes. Em seguida, os derivados *N*-((6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)metileno)-2-cianoacetohidrazida obtidos reagiram na mesma razão molar com a acridina-9-carboxaldeído e/ou benzaldeídos não substituído e/ou polissubstituídos na presença de dietilamina, trietilamina, piperidina, morfolina, hidróxido de sódio e/ou hidróxido de potássio como catalisador, em meio alcoólico, a uma temperatura ou superior ao ponto de fusão dos reagentes. Os derivados obtidos foram purificados através de cristalizações em metanol, etanol, diformamida, dioxano, e/ou tetrahydrofurano.

12. Foram obtidos e caracterizados estruturalmente os seguintes derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos:

- 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazida (1a)
- 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metóxi-benzilideno)-acrilohidrazida (1b)
- 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metil-benzilideno)-acrilohidrazida (1c)
- 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-nitro-benzilideno)-acrilohidrazida (1d)
- 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-ciclohexilideno-acrilohidrazida (1e)
- 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-cloro-benzilideno)-acrilohidrazida (1f)
- 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-fluoro-benzilideno)-acrilohidrazida (1g)
- 3-(acridin-9-il)-*N*-((5-bromo-1*H*-indol-3il)-metileno)-2-ciano-acrilohidrazida (1h)
- N*-(acridin-9-il-metileno)-2-cianoacetohidrazida (2a)
- 3-(acridin-9-il)-*N*-(acridin-9-il-metileno)-2-cianoacrilohidrazida (2b)
- N*-(acridin-9-il-metileno)-2-ciano-3-fenil-acrilohidrazida (2c)
- N*-(acridin-9-il-metileno)-2-ciano-3-(4-fluoro-fenil)-acrilohidrazida (2d)
- N*-(acridin-9-il-metileno)-2-ciano-3-(4-cloro-fenil)-acrilohidrazida (2e)
- N*-(acridin-9-il-metileno)-2-ciano-3-(*p*-toluil)-acrilohidrazida (2f)
- N*-(acridin-9-il-metileno)-2-ciano-3-(4-metóxi-fenil)-acrilohidrazida (2g)
- N*-(acridin-9-il-metileno)-3-(5-bromo-1*H*-indol-3il)-2-ciano-acrilohidrazida (2h)
- N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-cianoacetohidrazida (3a)
- N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-fenil-acrilohidrazida (3b)
- N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(4-metóxi-fenil)-acrilohidrazida (3c)
- N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(4-nitro-fenil)-acrilohidrazida (3d)
- N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(4-fluoro-fenil)-acrilohidrazida (3e)
- N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(4-cloro-fenil)-acrilohidrazida (3f)

N-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(*p*-toluil)-acrilohidrazida (3g)

3-(acridin-9-il)-*N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-acrilohidrazida (3h)

N-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(2-nitro-fenil)-acrilohidrazida (3i)

3-(bromo-fenil)-*N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-acrilohidrazida (3j)

N-(6-cloro-2-metóxiacridin-9-il)-2-ciano-3-(4-dimetilamino-fenil)-acrilohidrazida (3l)

13. Alguns exemplos da elucidação estrutural dos derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos:

3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazida (1a)

RMN ¹H 300 MHz (δ ppm, DMSO-*d*₆) δ= 9,85 ppm (1H, s, NH); δ= 8,56 ppm (1H, s, CH); δ= 8,39 ppm (1H, s, CH); δ= 7,34 ppm (4H, m, aromático); δ= 7,27 ppm (2H, m, aromático); δ= 7,01 ppm (4H, t, aromático) *J*= 7,6 Hz; δ= 6,83 ppm (2H, t, aromático) *J*=7,6 Hz; δ= 2,49 ppm.

3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metóxi-benzilideno)-acrilohidrazida (1b)

RMN ¹H 300 MHz (δ ppm, DMSO-*d*₆) δ= 9,83 ppm (1H, s, NH); δ= 8,51 ppm (1H, s, CH); δ= 8,37 ppm (1H, s, CH); δ= 3,71 ppm (3H, s, OCH₃); δ= 7,29 ppm (4H, m, aromático); δ= 7,00 ppm (4H, m, aromático); δ= 6,86 ppm (4H, m, aromático); δ= 2,49 ppm

3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metilbenzilideno)-acrilohidrazida (1c)

RMN ¹H 300 MHz (δ ppm, CDCl₃) δ= 6,75 ppm (1H, s, NH); δ= 8,63 ppm (1H, s, CH); δ= 7,66 ppm (1H, s, CH); δ= 2,29 ppm (3H, s, CH₃); δ= 7,36 ppm (2H, d, aromático) *J*= 8,4 Hz; δ= 7,28 ppm (2H, m, aromático); δ= 7,06 ppm (2H, d, aromático) *J*= 8,0 Hz; δ= 6,96 ppm (2H, m, aromático); δ= 6,93 ppm (4H, m, aromático); δ= 7,27 ppm.

3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-ciclohexilideno-acrilohidrazida (1e)

RMN ¹H 300 MHz (δ ppm, DMSO-*d*₆) δ= 9,54 ppm (1H, s, NH); δ= 8,49 ppm (1H, s, CH); δ= 2,10 ppm (4H, m, ciclohexil); δ= 1,42 ppm (4H, s, ciclohexil); δ= 1,28 ppm (2H, s, ciclohexil); δ= 7,24 ppm (4H, m, aromático); δ= 6,96 ppm (4H, dd, aromático) *J*= 7,24 Hz; δ= 6,83 ppm (2H, t, aromático) *J*= 7,2 Hz; δ= 2,49 ppm.

3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-clorobenzilideno)-acrilohidrazida (1f)

RMN ^1H 300 MHz (δ ppm, DMSO- d_6) δ = 9,86 ppm (1H, s, NH); δ = 8,55 ppm (1H, s, CH); δ = 8,39 ppm (1H, s, CH); δ = 7,37 ppm (4H, s, aromático); δ = 7,27 ppm (2H, s, aromático); δ = 7,01 ppm (4H, s, aromático); δ = 6,84 ppm (2H, s, aromático); δ = 2,49 ppm.

N-(acridin-9-ilmetileno)-2-cianoacetohidrazida (2a)

RMN ^1H 300 MHz (δ ppm, DMSO- d_6) δ = 12,19 ppm (1H, s, NH); δ = 9,17 ppm (1H, s, =CH); δ = 4,31 ppm (2H, s, CH₂); δ = 8,55 ppm (2H, d, aromático), J =8,4 Hz; δ = 8,18 ppm (2H, d, aromático), J =8,4 Hz; δ = 7,87 ppm (2H, t, aromático) J =7,6 Hz, J =1,2 Hz; δ = 7,69 ppm (2H, t, aromático) J =8,0 Hz, J =0,8 Hz; δ = 2,49 ppm.

3-(acridin-9-il)-*N'*-(acridin-9-ilmetileno)-2-cianoacrilohidrazida (2b)

RMN ^1H 300 MHz (δ ppm, DMSO- d_6) δ = 9,95 ppm, (1H, s, NH); δ = 9,29 ppm, (1H, s, CH); δ = 8,74 ppm, (1H, s, CH); δ = 8,09 ppm (2H, d, aromático) J =8,8 Hz; δ = 7,76 ppm (4H, m, aromático); δ = 7,36 ppm (2H, m, aromático); δ = 7,24 ppm (2H, d, aromático), J =8,0 Hz; δ = 7,07 ppm (2H, d, aromático), J =8,4 Hz; δ = 6,94 ppm (2H, t, aromático), J =7,6 Hz; δ = 2,49 ppm.

14. Para avaliação do potencial antitumoral dos derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos, foram realizados ensaios de citotoxicidade em linhagens celulares neoplásicas e em células humanas normais.

15. Para os ensaios de atividade antiproliferativa *in vitro*, foram utilizadas 9 linhagens de células tumorais humanas: MCF-7 (mama), NCI-ADR/RES (ovário com fenótipo de resistência a múltiplas drogas), UACC-62 (melanoma), NCI-H460 (pulmão), PC-3 (próstata), HT29 (cólon), OVCAR-03 (ovário), 786-0 (rim) e K562 (leucemia). Estas linhagens foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (NCI/EUA), cultivadas em meio RPMI 1640, suplementado com 5% de soro fetal bovino inativado (SFB), em atmosfera de 5% de CO₂ a 37 °C e ambiente úmido. Uma mistura de penicilina e estreptomicina (1 $\mu\text{g mL}^{-1}$:1 UI mL^{-1}) foi adicionada às culturas experimentais. Células tumorais humanas (100 μL de suspensão celular por compartimento, densidade de inoculação entre 3×10^4 e $6,5 \times 10^4$ cel mL^{-1}) foram expostas a diferentes concentrações dos derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos em DMSO/RPMI/SFB 5% (0,25 - 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e

incubadas a 37°C e 5% de CO₂, em ambiente úmido, por 48 h. Após esse período, as células foram fixadas com ácido tricloroacético a 30-50% (p/v). O conteúdo protéico celular foi determinado através da quantificação por espectrofotometria medida a 540 nm, usando-se o teste de sulforrodamina B. A partir da curva de proliferação celular em função da concentração dos derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos, calculou-se a concentração efetiva ITC (concentração que produz inibição total do crescimento) e IG50 (concentração que produz inibição de 50% do crescimento celular) através de regressão não linear usando o software Origin 7.5[®] (OriginLab Corporation) (MONKS et al.).

16. Também foi realizada a avaliação da atividade antitumoral *in vivo* em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich.

17. Na avaliação da atividade antitumoral *in vivo* em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich: as células de Carcinoma Ascítico de Ehrlich foram implantadas (2.10⁶ células/animal) na cavidade peritoneal de camundongos fêmeas. Vinte e quatro horas após o implante das células, os derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos foram solubilizados em Tween 80 (Sigma-Aldrich®) (5%) e administrado (intraperitoneal) durante nove dias. 5-Fluorouracil (5-FU) (Sigma-Aldrich®) foi usado como fármaco padrão. Ao grupo controle foi administrado uma solução de 5% de Tween 80. No dia seguinte após a administração da última dose, os animais foram submetidos à eutanásia, por deslocamento cervical. O líquido ascítico foi coletado da cavidade peritoneal, e o volume do líquido foi medido e expresso em mL. Uma alíquota foi retirada para contagem do número total de células, por meio do ensaio de exclusão do azul de tripan, para o qual foram incubados volumes semelhantes de líquido ascítico e de uma solução de 0,4% do corante. As células foram então analisadas em câmara de Neubauer. A massa do tumor foi determinada pela diferença dos pesos dos camundongos antes e depois da retirada do líquido ascítico e expresso em gramas (g) (DOLAI et al.). Os derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos demonstraram atividade antiproliferativa equivalente aos padrões comerciais com perfil de inibição semelhante, sugerindo o mesmo mecanismo de ação.

18. A tabela 1 apresenta os valores de IG₅₀ e ITC para alguns derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos e padrões utilizados. O 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metóxi-benzilideno)-acrilohidrazida (1b) mostrou-se mais

ativo contra linhagens de melanoma e cólon, com valores de ITC 8.49 e 19.9 μM , respectivamente. O 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazida (1a) apresentou valores de ITC menor que 100 μM para todas as linhagens, exceto rim e leucemia. Com relação aos valores de IG_{50} , 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazida (1a) demonstrou valores menores que 7 μM para todas as linhagens, exceto células de rim (41.9 μM), já 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metóxi-benzilideno)-acrilohidrazida (1b) mostrou-se ativo em baixas concentrações (< 6 μM , exceto ovário) contra o painel utilizado.

Tabela 1. Valores de GI_{50} (μM) e TGI (μM) para os novos derivados de 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos e padrão comercial

Linhagens celular ^a	1a		1b		Asulacrina ^b		<i>m</i> -AMSA ^c	
	GI_{50}	TGI	GI_{50}	TGI	GI_{50}	TGI	GI_{50}	TGI
U251	2.4	45.88	0.77	10.29	0.37	1.84	0.26	2.81
UACC-62	5.14	73.95	0.80	8.49	0.07	2.37	0.48	0.83
MCF-7	2.09	59.40	0.69	72.03	0.13	8.02	0.23	6.96
NCI/ADR-RES	3.9	65.91	5.15	56.19	1.53	11.99	2.01	11.94
786-0	41.9	116.11	2.66	56.49	0.68	17.73	0.52	3.14
NCI-H460	6.35	37.12	0.12	79.42	0.23	2.20	0.47	2.58
PC-3	6.03	17.70	1.65	41.78	0.91	7.53	0.39	5.37
OVCAR-3	0.69	8.72	18.04	59.44	1.41	9.49	0.87	4.26
HT-29	6.72	25.07	1.61	19.98	0.54	3.99	0.64	4.66
K-562	2.14	>700	5.23	612.09	2.57	>700	0.18	1.82

^aU251 (glioma. SNC); UACC-62 (melanoma); MCF-7 (adenocarcinoma de mama); NCI-ADR/RES (ovário, fenótipo resistência multidroga); 786-0 (rim); NCI-H460 (adenocarcinoma de células não pequenas de pulmão); PC-3 (próstata); OVCAR-3 (ovário); HT-29 (cólon); K-562 (leucemia mieloide crônica); HaCaT (queratinócitos humanos). ^bAsulacrina. ^c*m*-Amsacrina

19. Os dados de volume (mL), massa (g) e quantidade total de células ($\times 10^7$ células) dos tumores dos animais tratados com 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos estão apresentados na Tabela 2.

20. Os resultados demonstram, por exemplo, que 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metóxi-benzilideno)-acrilohidrazida (1b) reduziu significativamente todos os parâmetros avaliados, o que indica que a referida substância apresenta potente atividade antitumoral no modelo avaliado.

Tabela 2 - Efeitos do tratamento de doses repetidas (9 dias) do 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metóxi-benzilideno)-acrilohidrazida (1b) (i.p.) nos parâmetros celulares e ponderais de camundongos.

Grupos	Parâmetros		
	Massa tumoral (g)	Volume tumoral (mL)	Total celular ($\times 10^7$ células)
Controle	9,58 $\pm$ 1,81	8,58 $\pm$ 1,65	106,50 $\pm$ 20,15
5-FU	0,0 $\pm$ 0,0**	0,01 $\pm$ 0,0***	0,002 $\pm$ 0,001**
1b	1,30 $\pm$ 0,92**	0,01 $\pm$ 0,0***	0,08 $\pm$ 0,08**

Dados estão expressos como média $\pm$ erro padrão da média e foram comparados com o controle por teste *t-student* para variáveis paramétricas. ** $p < 0,005$, *** $p < 0,0005$.

REINVIDICAÇÕES

1. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, caracterizado por apresentar derivados 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos como novas drogas antitumorais, equivalentes ao padrão comercial amsacrina.

2. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por apresentar menor citotoxicidade quando comparados ao padrão comercial amsacrina.

3. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por novas drogas antitumorais obtidas em menor número de etapas reacionais e de fácil purificação com rendimentos variando entre 80 - 99 %.

4. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado por ser sintetizados com redução dos custos uma vez que são obtidos em menor número de etapas e são purificados apenas por cristalizações.

5. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado pelo composto 3-(acridin-9-il)-*N*-benzilideno-2-cianoacrilohidrazida (1a) para uso humano e veterinário.

6. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 5, caracterizado pelo composto 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metóxi-benzilideno)-acrilohidrazida (1b) para uso humano e veterinário.

7. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5 e 6, caracterizado pelo composto 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-metil-benzilideno)-acrilohidrazida (1c) para uso humano e veterinário.

8. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, caracterizado pelo composto 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-nitro-benzilideno)-acrilohidrazida (1d) para uso humano e veterinário.

9. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, caracterizado pelo composto 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-ciclohexilideno-acrilohidrazida (1e) para uso humano e veterinário.

10. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9, caracterizado pelo 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-cloro-benzilideno)-acrilohidrazida (1f) para uso humano e veterinário.

11. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10, caracterizado pelo composto 3-(acridin-9-il)-2-ciano-*N*-(4-fluoro-benzilideno)-acrilohidrazida (1g) para uso humano e veterinário.

12. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11, caracterizado pelo composto 3-(acridin-9-il)-*N*-((5-bromo-1*H*-indol-3il)-metileno)-2-ciano-acrilohidrazida (1h) para uso humano e veterinário.

13. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12, caracterizado pelo composto *N*-(acridin-9il-metileno)-2-cianoacetohidrazida (2a) para uso humano e veterinário.

14. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13, caracterizado pelo composto 3-(acridin-9-il)-*N*-(acridin-9-ilmetileno)-2-cianoacrilohidrazida (2b) para uso humano e veterinário.

15. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14, caracterizado pelo composto *N*-(acridin-9-ilmetileno)-2-ciano-3-fenil-acrilohidrazida (2c) para uso humano e veterinário.

16. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15, caracterizado pelo composto *N*-(acridin-9-ilmetileno)-2-ciano-3-(4-fluoro-fenil)-acrilohidrazida (2d) para uso humano e veterinário.

17. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 e 16, caracterizado pelo composto *N*-(acridin-9-ilmetileno)-2-ciano-3-(4-cloro-fenil)-acrilohidrazida (2e) para uso humano e veterinário.

18. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 e 17, caracterizado pelo composto *N*-(acridin-9-ilmetileno)-2-ciano-3-(*p*-toluil)-acrilohidrazida (2f) para uso humano e veterinário.

19. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 e 18, caracterizado pelo composto *N*-(acridin-9-ilmetileno)-2-ciano-3-(4-metóxi-fenil)-acrilohidrazida (2g) para uso humano e veterinário.

20. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 e 19, caracterizado pelo composto *N*-(acridin-9-ilmetileno)-3-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-2-ciano-acrilohidrazida (2h) para uso humano e veterinário.

21. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18,

19, 20 e 21, caracterizado pelo composto *N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-cianoacetohidrazida (3a) para uso humano e veterinário.

22. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-*N*-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 e 22, caracterizado pelo composto *N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-fenil-acrilohidrazida (3b) para uso humano e veterinário.

23. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-*N*-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 e 23, caracterizado pelo composto *N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(4-metóxi-fenil)-acrilohidrazida (3c) para uso humano e veterinário.

24. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-*N*-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 e 24, caracterizado pelo composto *N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(4-nitro-fenil)-acrilohidrazida (3d) para uso humano e veterinário.

25. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-*N*-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 e 25, caracterizado pelo composto *N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(4-fluoro-fenil)-acrilohidrazida (3e) para uso humano e veterinário.

26. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-*N*-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 e 26, Derivados acridínicos como modificador da atividade antitumoral (adjuvante de antitumorais), caracterizado pelo composto *N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(4-cloro-fenil)-acrilohidrazida (3f) para uso humano e veterinário.

27. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-*N*-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 e 27, caracterizado pelo composto *N*-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(*p*-toluil)-acrilohidrazida (3g) para uso humano e veterinário.

28. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 e 28, caracterizado pelo composto 3-(acridin-9-il)-N-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-acrilohidrazida (3h) para uso humano e veterinário.

29. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 e 29, caracterizado pelo composto N-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-3-(2-nitro-fenil)-acrilohidrazida (3i) para uso humano e veterinário.

30. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 e 30, caracterizado pelo composto 3-(bromo-fenil)-N-(6-cloro-2-metóxi-acridin-9-il)-2-ciano-acrilohidrazida (3j) para uso humano e veterinário.

31. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 e 31, caracterizado pelo composto N-(6-cloro-2-metóxiacridin-9-il)-2-ciano-3-(4-dimetilamino-fenil)-acrilohidrazida (3l) para uso humano e veterinário.

RESUMO**SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 3-(ACRIDIN-9-IL)-N-BENZILIDENO-2-CIANOACRILOHIDRAZIDAS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER**

A presente patente de invenção descreve a síntese e atividade antitumoral de novos derivados 3-(acridin-9-il)-N-benzilideno-2-cianoacrilohidrazidas substituídos. Tais derivados são obtidos em menor número de etapas reacionais que a acridina utilizada na clínica (amsacrina), e com reagentes facilmente adquiridos. Com relação a atividade antitumoral são equivalentes a amsacrina e asulacrinas (derivados acridínicos). Microscopia Eletrônica de Varredura revela resultados equivalentes dos derivados sintetizados e padrões, como as mesmas lesões estruturais. Além, de estudos preliminares também demonstrarem uma menor citotoxicidade dos derivados acridínicos sintetizado. Tais derivados acridínicos são aplicadas para o uso humano e veterinário.