

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

MARCELA SILVA LOPES

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPOSTOS
NITROAROMÁTICOS**

Belo Horizonte – MG
2016

MARCELA SILVA LOPES

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPOSTOS
NITROAROMÁTICOS**

Tese, como requisito parcial, para obter o grau de doutor em Ciências Farmacêuticas, submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

Orientadora Profa. Dra. Renata Barbosa de Oliveira – UFMG.

Belo Horizonte – MG
2016



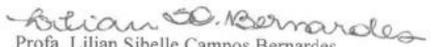
FOLHA DE APROVAÇÃO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPOSTOS NITROAROMÁTICOS

MARCELA SILVA LOPES

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, como requisito para obtenção do grau de Doutora em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de concentração CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

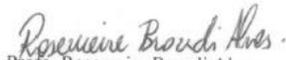
Aprovada em 19 de maio de 2016, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Lilian Sibelle Campos Bernardes

UFSE


Prof. Diogo Teixeira Carvalho

UNIFAL


Prof. Rosemeire Brondi Alves

UFMG


Prof. Jarbas Magalhães Resende

UFMG


Prof. Renata Barbosa de Oliveira - Orientadora

UFMG

Belo Horizonte, 19 de maio de 2016.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade, saúde e força para realizar esse trabalho.

A toda a minha família, principalmente meus pais e minha irmã, pela dedicação e apoio incondicional durante toda a minha formação.

Ao Saulo pelo carinho, pela ajuda nos estudos, no laboratório e pelo apoio nos momentos de dificuldade. Obrigada por estar sempre ao meu lado!

À minha orientadora Renata pelos ensinamentos, pela alegria e compreensão. Obrigada pela confiança e por tornar esse trabalho possível!

Ao professor Ricardo pelo aprendizado e pelas conversas inteligentes e agradáveis.

Ao professor Basílio pelo “espírito crítico” e à professora Thais pela alegria e pelas contribuições no exame de qualificação.

Aos meus queridos amigos Saulo Braga e Stefânia pela ajuda nos estudos, pelos momentos de descontração e pelo apoio, principalmente nos últimos meses. Vocês tornaram meu trabalho muito mais prazeroso e agradável.

Aos amigos do laboratório: Bruno, Thiago, Lucas, Bárbara, Raquel, Luíza, Vitor, Rachel, Mara, Dayara, Flaviano, Luan, Renata, Aline, Inácio, Talita, Jéssica, Wagner, Léo, Rubens, Simone, Lorena, entre outros. Obrigada pela ajuda, pelos estudos e pela convivência alegre e divertida durante todos esses anos.

AGRADECIMENTOS (Conclusão)

Às minhas amigas da Fitoquímica, Ana Bárbara e Tati, pelos momentos de descontração.

As funcionárias Raquel, Mariana e Ângela pela organização do laboratório.

À Professora Elaine e ao Jonas pela contribuição com os ensaios de citotoxicidade.

Ao Professor Rodrigo pela contribuição com os espectros de massas e com o exame de qualificação.

À Professora Rose pelos ensinamentos de química orgânica na graduação, pelas aulas na pós-graduação e pelas contribuições no exame de qualificação.

Aos funcionários da Faculdade de Farmácia por estarem sempre dispostos a ajudar.

À CAPES, FAPEMIG e CNPq pelo apoio financeiro.

RESUMO

Em um estudo realizado com compostos nitroaromáticos, as amidas *N*-[4-(clorometil)-3-nitrobenzoil]morfolina e 4-(clorometil)-3-nitro-*N*-propilbenzamida exibiram atividade citotóxica significativa e seletividade para células hipóxicas em diferentes linhagens de células tumorais *in vitro*. No presente trabalho é relatado o planejamento e a síntese de análogos das amidas protótipo, por variações dos substituintes do anel, assim como variação do anel benzênico por anéis heterocíclicos, a fim de se obter maior diversidade estrutural e compostos mais potentes e seletivos. Os heterociclos indólicos e quinolínicos foram sintetizados utilizando-se reações clássicas da química de heterociclos. Para substituições nos anéis e demais posições, foram conduzidas reações de nitração, reação de Mannich, bromação radicalar, fluoração, esterificação, dentre outras. Os análogos sintetizados foram avaliados quanto à sua atividade antiproliferativa em três linhagens de células tumorais humanas: MDA-MB (adenocarcinoma de mama), MCF-7 (adenocarcinoma de mama estrógeno-dependente) e HCT (carcinoma colorretal). Os ensaios foram realizados em condição de normóxia (cultura 2D) e em modelo de hipóxia (cultura 3D). A toxicidade para células normais (VERO) também foi determinada para o cálculo do índice de seletividade (IS). Entre as substâncias avaliadas, destacam-se a quinolina **5**, o derivado dinitrado **18** e a amida **31**. Apesar de não apresentarem seletividade para o modelo de hipóxia utilizado, esses compostos são promissores como agentes antitumorais *per se*, com valores de CI_{50} na faixa de micromolar baixo e $IS \geq 4$. Os nitroindóis **42**, **44** e **47** e a nitroquinolina **4**, apesar de exibirem baixa potência, se mostraram mais seletivos para o modelo de hipóxia, em relação ao modelo de normóxia. Os resultados obtidos neste trabalho são importantes para o direcionamento dos estudos em relação aos compostos nitrobenzílicos, bem como podem ser utilizados para o planejamento de novos análogos no desenvolvimento de novas classes de agentes biorredutíveis, como os nitroindóis e nitroquinolinas, para o tratamento do câncer.

ABSTRACT

In a recent study the cytotoxic activity of a series of nitro aromatic compounds were evaluated against cancer cell lines *in vitro*. The amides *N*-[4-(chloromethyl)-3-nitrobenzoyl]morpholine and 4-(chloromethyl)-3-nitro-*N*-propylbenzamide showed significant activity and selectivity to hypoxic cells. In this work we describe the synthesis of several analogues of these hit compounds by ring substituent variations and variation of benzene ring by heterocyclic rings to generate more potent and selective compounds, with structural diversity. Quinoline and indol rings were synthesized using classical reactions of heterocyclic chemistry. For ring substituents and other positions, reactions like nitration, Mannich, bromination, fluorination and esterification were conducted. The synthesized analogues were assessed *in vitro* against three cancer cell lines: MDA-MB (breast adenocarcinoma), MCF-7 (breast adenocarcinoma estrogen-dependent) e HCT (colorectal carcinoma). The experiments were conducted at normoxia (2D culture) and hypoxia model (3D culture). The toxicity to normal cells (VERO) was also evaluated to determine the selectivity index (SI). Among the tested compounds, the quinoline **5**, dinitrated derivative **18** and amide **31** were found to be active. Despite not exhibit selectivity to hypoxia model, these compounds are promising as antitumor agents *per se*, with IC₅₀ values in low micromolar range and SI ≥ 4. Although nitroindoles **42**, **44** and **47** and nitroquinoline **4** displayed low potency, these compounds were more selective to hypoxia model compared to normoxia. The obtained results provide new insights to the design of nitrobenzylic compounds and can be useful for planning novel analogues in the development of new classes of bioreductive agents, such as nitroindoles and nitroquinolines, for cancer treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Alteração no pareamento das bases do DNA após alquilação	24
Figura 1.2 – Depurinação e fragmentação do DNA após alquilação	25
Figura 1.3 – Diferentes modos de ligação cruzada do agente bisalquilante com o DNA	25
Figura 1.4 – Fármacos alquilantes utilizados na terapia do câncer	26
Figura 1.5 – Vasos sanguíneos de um tecido normal e vasos sanguíneos do tumor	27
Figura 1.6 – Representação de um tumor sólido mostrando a diminuição da concentração de oxigênio em relação à distância capilar	28
Figura 1.7 – Comparação entre o processo redutivo em um tecido oxigenado e um tecido em hipóxia	29
Figura 1.8 – Estrutura dos agentes antineoplásicos biorredutíveis em estudos clínicos/pré-clínicos	30
Figura 1.9 – Conversão de hidroxiciBI em seu análogo ciclopropila	34
Figura 1.10 – Biorredução dos análogos nitro do hidroxiciBI	35
Figura 1.11 – Mecanismo proposto de alquilação do DNA de compostos nitrobenzílicos após biorredução	38
Figura 1.12 – Representação dos análogos do ANB sintetizados por variação dos grupos R_1 , R_2 e R_3	38
Figura 1.13 – Proposta de mecanismo de alquilação para composto possuindo flúor como grupo abandonador	41
Figura 3.1 – Modificações propostas para obtenção de análogos de VII e VIII	43
Figura 3.2 – Rota de síntese para obtenção dos derivados possuindo anel indólico	44
Figura 3.3 – Rota de síntese para obtenção dos derivados possuindo anel quinolínico	45
Figura 3.4 – Rota de síntese para obtenção dos derivados dinitrados	45
Figura 3.5 – Rota de síntese para obtenção dos derivados modificados em R_2	46
Figura 3.6 – Rota de síntese para obtenção dos derivados contendo anel tetrazólico	47
Figura 3.7 – Rota de síntese para obtenção das diferentes amidas	47

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura 4.1 – Mecanismo de formação da quinolina 1 por reação de Skraup	48
Figura 4.2 – Espectro de RMN de ^1H da quinolina 2 (subproduto) (200 MHz, CDCl_3)	50
Figura 4.3 – Valores de J (Hz) descritos na literatura comparados aos de 3	51
Figura 4.4 – Representação dos compostos obtidos após reação de 3 com ácido nítrico fumegante	52
Figura 4.5 – Mecanismo proposto para a formação de 6	53
Figura 4.6 – Espectro no infravermelho de 6	53
Figura 4.7 – Espectro de RMN de ^1H de 6 (200 MHz, CDCl_3)	54
Figura 4.8 – Espectro de massas ESI+ de 6	54
Figura 4.9 – Proposta de formação do produto hidroxilado detectado no espectro de massas ESI+	55
Figura 4.10 – Espectro de RMN de ^1H da mistura de 7 e subproduto 8 (200 MHz, CDCl_3)	57
Figura 4.11 – Espectro de RMN de ^{13}C da mistura de 7 e subproduto 8 (50 MHz, CDCl_3)	58
Figura 4.12 – Subespectro de DEPT 135 da mistura de 7 e subproduto 8 (50 MHz, CDCl_3)	58
Figura 4.13 – Cromatograma da mistura de 7 e subproduto 8	59
Figura 4.14 – Espectro de massas ESI+ referente ao pico 1 do cromatograma	59
Figura 4.15 – Espectro de massas ESI+ referente ao pico 2 do cromatograma	60
Figura 4.16 – Propostas de mecanismo para formação do subproduto 8	61
Figura 4.17 – Espectro no infravermelho de 11	65
Figura 4.18 – Espectro de RMN de ^1H de 11 (200 MHz, acetona- d_6)	65
Figura 4.19 – Subespectro de DEPT 135 de 11 (50 MHz, acetona- d_6)	66
Figura 4.20 – Espectro no infravermelho do produto nitrato 14	68
Figura 4.21 – Espectro de RMN de ^1H do produto nitrato 14 (200 MHz, acetona- d_6)	68
Figura 4.22 – Espectro de RMN de ^{13}C do produto nitrato 14 (50 MHz, acetona- d_6)	69

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura 4.23 – Proposta de mecanismo para reação de fluoração com DAST	72
Figura 4.24 – Mecanismo proposto para formação de 24.....	76
Figura 4.25 – Espectro de massas ESI+ de 24.....	77
Figura 4.26 – Proposta de formação do derivado conjugado detectado no espectro de massas de 24.....	78
Figura 4.27 – Mecanismo proposto para a formação de 25.....	79
Figura 4.28 – Posições esperadas para entrada do grupo nitro e seus respectivos produtos.....	81
Figura 4.29 – Mecanismo proposto para a formação do diidropirazol 35 .	86
Figura 4.30 – Mecanismo proposto para a formação do pirazol 38	89
Figura 4.31 – Nova rota de síntese para obtenção dos compostos com anel indólico	93
Figura 4.32 – Mecanismo proposto para obtenção de 41 via reação de Fischer.	94
Figura 4.33 – Mecanismo proposto para obtenção de 43 via reação de Vilsmeier	96
Figura 4.34 – Mecanismo proposto para a formação do dímero 46.....	98
Figura 4.35 – Representação das culturas 2D e 3D.....	100
Figura 4.36 – Proposta de formação de espécie alquilante após biorredução do indol 44.....	103
Figura A.1 – Espectro no infravermelho de 1	158
Figura A.2 – Espectro de RMN de ^1H de 1 (200 MHz, CDCl_3)	158
Figura A.3 – Espectro de RMN de ^{13}C de 1 (50 MHz, CDCl_3).....	159
Figura A.4 – Espectro no infravermelho de 3	159
Figura A.5 – Espectro de RMN de ^1H de 3 (200 MHz, CDCl_3)	160
Figura A.6 – Espectro de RMN de ^{13}C de 3 (50 MHz, CDCl_3).....	160
Figura A.7 – Espectro no infravermelho de 4	161
Figura A.8 – Espectro de RMN de ^1H de 4 (200 MHz, CDCl_3)	161
Figura A.9 – Espectro de RMN de ^{13}C de 4 (50 MHz, CDCl_3).....	162
Figura A.10 – Espectro no infravermelho de 5	162
Figura A.11 – Espectro de RMN de ^1H de 5 (200 MHz, CDCl_3)	163
Figura A.12 – Espectro de RMN de ^{13}C de 5 (50 MHz, CDCl_3).....	163

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura A.13 – Espectro no infravermelho de 7	164
Figura A.14 – Espectro de RMN de ^1H de 7 (200 MHz, acetona- d_6)	164
Figura A.15 – Espectro de RMN de ^{13}C de 7 (50 MHz, acetona- d_6).....	165
Figura A.16 – Espectro no infravermelho de 9	165
Figura A.17 – Espectro de RMN de ^1H de 9 (200 MHz, DMSO- d_6).....	166
Figura A.18 – Espectro de RMN de ^{13}C de 9 (50 MHz, DMSO- d_6).....	166
Figura A.19 – Espectro no infravermelho de 10	167
Figura A.20 – Espectro de RMN de ^1H de 10 (200 MHz, DMSO- d_6).....	167
Figura A.21 – Espectro no infravermelho de 12	168
Figura A.22 – Espectro de RMN de ^1H de 12 (200 MHz, acetona- d_6)	168
Figura A.23 – Espectro de RMN de ^{13}C de 12 (50 MHz, acetona- d_6).....	169
Figura A.24 – Espectro no infravermelho de 16	169
Figura A.25 – Espectro de RMN de ^1H de 16 (200 MHz, acetona- d_6)	170
Figura A.26 – Espectro de RMN de ^{13}C de 16 (50 MHz, acetona- d_6).....	170
Figura A.27 – Espectro no infravermelho de 17	171
Figura A.28 – Espectro de RMN de ^1H de 17 (200 MHz, CDCl_3)	171
Figura A.29 – Espectro de RMN de ^{13}C de 17 (50 MHz, CDCl_3).....	172
Figura A.30 – Espectro no infravermelho de 18	172
Figura A.31 – Espectro de RMN de ^1H de 18 (200 MHz, CDCl_3)	173
Figura A.32 – Espectro de RMN de ^{13}C de 18 (50 MHz, CDCl_3).....	173
Figura A.33 – Espectro no infravermelho de 19	174
Figura A.34 – Espectro de RMN de ^1H de 19 (200 MHz, CDCl_3)	174
Figura A.35 – Espectro de RMN de ^{13}C de 19 (50 MHz, CDCl_3).....	175
Figura A.36 – Espectro no infravermelho de 20	175
Figura A.37 – Espectro de RMN de ^1H de 20 (200 MHz, acetona- d_6)	176
Figura A.38 – Espectro de RMN de ^{13}C de 20 (50 MHz, acetona- d_6).....	176
Figura A.39 – Espectro no infravermelho de 21	177
Figura A.40 – Espectro de RMN de ^1H de 21 (200 MHz, acetona- d_6)	177
Figura A.41 – Espectro de RMN de ^{13}C de 21 (50 MHz, acetona- d_6).....	178
Figura A.42 – Espectro no infravermelho de 22	178
Figura A.43 – Espectro de RMN de ^1H de 22 (200 MHz, CD_3OD).....	179

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura A.44 – Espectro de RMN de ^{13}C de 22 (50 MHz, CD_3OD)	179
Figura A.45 – Espectro no infravermelho de 23	180
Figura A.46 – Espectro de RMN de ^1H de 23 (200 MHz, CDCl_3)	180
Figura A.47 – Espectro de RMN de ^{13}C de 23 (50 MHz, CDCl_3).....	181
Figura A.48 – Espectro no infravermelho de 24	181
Figura A.49 – Espectro de RMN de ^1H de 24 (50 MHz, CDCl_3)	182
Figura A.50 – Espectro de RMN de ^{13}C de 24 (50 MHz, CDCl_3).....	182
Figura A.51 – Espectro no infravermelho de 25	183
Figura A.52 – Espectro de RMN de ^1H de 25 (200 MHz, CDCl_3)	183
Figura A.53 – Espectro de RMN de ^{13}C de 25 (50 MHz, CDCl_3).....	184
Figura A.54 – Espectro no infravermelho de 26	184
Figura A.55 – Espectro de RMN de ^1H de 26 (200 MHz, acetona- d_6)	185
Figura A.56 – Espectro de RMN de ^{13}C de 26 (50 MHz, acetona- d_6).....	185
Figura A.57 – Espectro no infravermelho de 27	186
Figura A.58 – Espectro de RMN de ^1H de 27 (400 MHz, acetona- d_6)	186
Figura A.59 – Espectro de RMN de ^{13}C de 27 (100 MHz, acetona- d_6).....	187
Figura A.60 – Mapa de contornos HMBC de 27 (400 MHz, acetona- d_6) ...	187
Figura A.61 – Espectro no infravermelho de 30	188
Figura A.62 – Espectro de RMN de ^1H de 30 (200 MHz, CDCl_3)	188
Figura A.63 – Espectro de RMN de ^{13}C de 30 (50 MHz, CDCl_3).....	189
Figura A.64 – Espectro no infravermelho de 31	189
Figura A.65 – Espectro de RMN de ^1H de 31 (200 MHz, acetona- d_6)	190
Figura A.66 – Espectro de RMN de ^{13}C de 31 (50 MHz, acetona- d_6).....	190
Figura A.67 – Espectro no infravermelho de 32	191
Figura A.68 – Espectro de RMN de ^1H de 32 (200 MHz, acetona- d_6)	191
Figura A.69 – Espectro de RMN de ^{13}C de 32 (50 MHz, acetona- d_6).....	192
Figura A.70 – Espectro no infravermelho de 35	192
Figura A.71 – Espectro de RMN de ^1H de 35 (200 MHz, CDCl_3)	193
Figura A.72 – Espectro de RMN de ^{13}C de 35 (50 MHz, CDCl_3).....	193
Figura A.73 – Espectro no infravermelho de 36	194
Figura A.74 – Espectro no infravermelho de 38	194

LISTA DE FIGURAS (Conclusão)

Figura A.75 – Espectro de RMN de ^1H de 38 (200 MHz, CDCl_3)	195
Figura A.76 – Espectro de RMN de ^{13}C de 38 (50 MHz, CDCl_3).....	195
Figura A.77 – Espectro no infravermelho de 40	196
Figura A.78 – Espectro no infravermelho de 41	196
Figura A.79 – Espectro de RMN de ^1H de 41 (200 MHz, CDCl_3)	197
Figura A.80 – Espectro de RMN de ^{13}C de 41 (50 MHz, CDCl_3).....	197
Figura A.81 – Espectro no infravermelho de 42	198
Figura A.82 – Espectro de RMN de ^1H de 42 (200 MHz, acetona- d_6)	198
Figura A.83 – Espectro de RMN de ^{13}C de 42 (50 MHz, acetona- d_6).....	199
Figura A.84 – Espectro no infravermelho de 43	199
Figura A.85 – Espectro de RMN de ^1H de 43 (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).....	200
Figura A.86 – Espectro de RMN de ^{13}C de 43 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).....	200
Figura A.87 – Espectro no infravermelho de 44	201
Figura A.88 – Espectro de RMN de ^1H de 44 (200 MHz, CD_3OD).....	201
Figura A.89 – Espectro de RMN de ^{13}C de 44 (50 MHz, CD_3OD)	202
Figura A.90 – Espectro no infravermelho de 45	202
Figura A.91 – Espectro de RMN de ^1H de 45 (200 MHz, CD_3OD).....	203
Figura A.92 – Espectro de RMN de ^{13}C de 45 (50 MHz, CD_3OD)	203
Figura A.93 – Espectro no infravermelho de 46	204
Figura A.94 – Espectro de RMN de ^1H de 46 (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).....	204
Figura A.95 – Espectro de RMN de ^{13}C de 46 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).....	205
Figura A.96 – Espectro no infravermelho de 47	205
Figura A.97 – Espectro de RMN de ^1H de 47 (200 MHz, acetona- d_6)	206
Figura A.98 – Espectro de RMN de ^{13}C de 47 (50 MHz, acetona- d_6).....	206

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Agentes biorredutíveis em estudos clínicos/pré-clínicos avançados.....	33
Tabela 1.2 – CI₅₀ dos compostos VII e VIII para as linhagens de células tumorais HL60, Jurkat e THP-1 em normóxia e hipóxia.....	39
Tabela 1.3 – CI₅₀ dos compostos VII e VIII para as linhagens de células tumorais MDA, MCF-7 e HCT em normóxia e hipóxia.	39
Tabela 1.4 – CI₅₀ dos compostos VII e VIII para a linhagem de célula normal VERO em normóxia e hipóxia.	39
Tabela 1.5 – Potenciais de redução dos compostos IX, X, XI e XII.	40
Tabela 4.1 – Condições de reação para preparo de 10.....	62
Tabela 4.2 – Descrição das reações para tentativa de obtenção do anel indólico.....	91
Tabela 4.3 – Valores de porcentagem de inibição dos compostos para as linhagens de células tumorais MDA-MB, MCF-7 e HCT em culturas 2D e 3D.....	102
Tabela 4.4 – CI₅₀ (µM) dos compostos 5, 10, 18, 30 e 31 para as linhagens de células tumorais MDA-MB, MCF-7, HCT e VERO em cultura 2D.....	104

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIBN	Azobisisobutironitrila
ArNO ₂	Nitroaromático
assim.	Assimétrica
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCS	Cromatografia em coluna de sílica
d	Dupleto
DAST	dietilaminotrifluoreto de enxofre
dd	Dupleto duplo
dec.	Decomposição
DEPT	<i>Distortionless enhancement by polarization</i>
dl	Dupleto largo
DMEM	<i>Dulbecco's modified eagle's medium</i>
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio padrão
EDC	Cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
F.F.	Faixa de fusão
F.M.	Fórmula molecular
HMBC	<i>Heteronuclear multiple bond correlation</i>
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrômetria de massas
lit.	Literatura
m	Multiplete
M.M.	Massa molar
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
NHS	<i>N</i> -hidroxisuccinimida
o	Octeto

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS (Conclusão)

PPA	Ácido polifosfórico
p/v	Peso por volume
q	Quarteto
qt	Quinteto
Rf	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Simpleto
sim.	Simétrica
sl	Simpleto largo
sx	Sexteto
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
v/v	Volume por volume
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 Câncer	20
1.2 Quimioterápicos que atuam por ligação covalente com o alvo biológico: inibidores covalentes e agentes alquilantes.....	21
1.2.1 Fármacos que atuam por ligação covalente a uma proteína.....	21
1.2.2 Fármacos que atuam por alquilação do DNA	23
1.3 Hipóxia como alvo no tratamento de tumores sólidos	26
1.3.1 Características dos tumores sólidos.....	26
1.3.2 Agentes antineoplásicos biorredutíveis.....	28
1.3.3 Agentes biorredutíveis em estudo clínico/pré-clínico	30
1.3.4 Compostos nitroaromáticos alquilantes biorredutíveis em desenvolvimento	34
1.3.4.1 Análogos das duocarmicinas.....	34
1.3.4.2 Compostos nitroaromáticos análogos do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico.....	37
2 OBJETIVOS	42
2.1 Objetivo geral	42
2.2 Objetivos específicos.....	42
3 PLANEJAMENTO DOS COMPOSTOS E PLANO DE SÍNTESE	43
3.1 Variação do anel nitroaromático e do substituinte em R ₃	44
3.2 Variação do grupo abandonador R ₂	46
3.3 Variação do substituinte R ₁	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1 Síntese.....	48
4.1.1 Obtenção de 8-metilquinolina (1).....	48
4.1.2 Obtenção de 8-(bromometil)quinolina (3)	50
4.1.3 Obtenção de 8-metil-5-nitroquinolina (4).....	51
4.1.4 Obtenção de 8-bromometil-5-nitroquinolina (5)	52
4.1.5 Obtenção de (5-nitroquinolin-8-il)metanol (7).....	56
4.1.6 Obtenção do 5-(4-toluil)-1 <i>H</i> -tetrazol (9)	61
4.1.7 Obtenção do 5-(4-(bromometil)fenil)-1 <i>H</i> -tetrazol (10).....	62
4.1.8 Tentativa de síntese do 5-(3-nitro-4-(bromometil)fenil)-1 <i>H</i> -tetrazol ..	63

SUMÁRIO (Continuação)

4.1.9 Obtenção do ácido 4-metil-3,5-dinitrobenzóico (12)	66
4.1.10 Obtenção do ácido 4-(bromometil)-3,5-dinitrobenzóico (13).....	67
4.1.11 Obtenção do ácido 4-(hidroximetil)-3,5-dinitrobenzóico (15).....	69
4.1.12 Obtenção de 4-(hidroximetil)-3,5-dinitrobenzoato de metila (16) e de 4-metil-3,5-dinitrobenzoato de metila (17).....	70
4.1.13 Obtenção de 4-(clorometil)-3,5-dinitrobenzoato de metila (18).....	71
4.1.14 Obtenção de 4-(hidroximetil)-3-nitrobenzoato de metila (19).....	71
4.1.15 Obtenção de 4-(fluorometil)-3-nitrobenzoato de metila (20).....	72
4.1.16 Obtenção do ácido 4-(fluorometil)-3-nitrobenzóico (21).....	73
4.1.17 Obtenção do ácido 4-(hidroximetil)benzóico (22).....	74
4.1.18 Obtenção de 4-(hidroximetil)benzoato de metila (23)	74
4.1.19 Tentativa de síntese de 4-(fluorometil)benzoato de metila.....	75
4.1.20 Obtenção de 4-(difluorometil)benzoato de metila (25).....	78
4.1.21 Obtenção do ácido 4-(difluorometil)benzóico (26)	79
4.1.22 Obtenção do ácido 4-(difluorometil)-3-nitrobenzóico (27).....	80
4.1.23 Obtenção de 4-(clorometil)-3-nitro- <i>N</i> -isopropilbenzamida (30).....	82
4.1.24 Obtenção de <i>N</i> -benzil-4-(clorometil)-3-nitrobenzamida (31).....	83
4.1.25 Tentativa de síntese de (2-metil-5-nitroindol-3-il)metanol	84
4.1.26 Obtenção de 2-metilindol (41)	93
4.1.27 Obtenção de 2-metil-5-nitroindol (42).....	94
4.1.28 Obtenção de 2-metil-3-formil-5-nitroindol (43).....	95
4.1.29 Obtenção de (2-metil-5-nitroindol-3-il)metanol (44).....	96
4.1.30 Obtenção de 2-metil-3-(dietilaminometil)-5-nitroindol (45) e de 3,3'-[bis(metileno)]-2-metil-5-nitroindol (46).....	97
4.1.31 Obtenção de 2-(2-metil-5-nitroindol-3-il)acetonitrila (47).....	99
4.2 Avaliação da atividade antiproliferativa	99
5 PARTE EXPERIMENTAL	106
5.1 Material e métodos gerais	106
5.2 Procedimentos	108
5.2.1 Síntese de 8-metilquinolina (1).....	108
5.2.2 Síntese de 8-(bromometil)quinolina (3)	109

SUMÁRIO (Continuação)

5.2.3 Síntese de 8-metil-5-nitroquinolina (4)	110
5.2.4 Síntese de 8-bromometil-5-nitroquinolina (5)	111
5.2.5 Síntese de (5-nitroquinolin-8-il)metanol (7).....	112
5.2.6 Síntese de 5-(4-toluil)-1 <i>H</i> -tetrazol (9)	113
5.2.7 Síntese de 5-(4-(bromometil)fenil)-1 <i>H</i> -tetrazol (10).....	114
5.2.8 Síntese do ácido 4-metil-3,5-dinitrobenzóico (12)	115
5.2.9 Síntese do ácido 4-(bromometil)-3,5-dinitrobenzóico (13).....	116
5.2.10 Síntese do ácido 4-(hidroximetil)-3,5-dinitrobenzóico (15).....	117
5.2.11 Síntese de 4-(hidroximetil)-3,5-dinitrobenzoato de metila (16) e de 4-metil-3,5-dinitrobenzoato de metila (17)	117
5.2.12 Síntese de 4-(clorometil)-3,5-dinitrobenzoato de metila (18).....	119
5.2.13 Síntese de 4-(hidroximetil)-3-nitrobenzoato de metila (19).....	120
5.2.14 Síntese de 4-(fluorometil)-3-nitrobenzoato de metila (20).....	121
5.2.15 Síntese do ácido 4-(fluorometil)-3-nitrobenzóico (21).....	122
5.2.16 Síntese do ácido 4-(hidroximetil)benzóico (22)	123
5.2.17 Síntese de 4-(hidroximetil)benzoato de metila (23)	124
5.2.18 Síntese do éter bis[(4,4'-metoxicarbonil)fenilmetílico] (24)	125
5.2.19 Síntese de 4-(difluorometil)benzoato de metila (25).....	126
5.2.20 Síntese do ácido 4-(difluorometil)benzóico (26).....	127
5.2.21 Síntese do ácido 4-(difluorometil)-3-nitrobenzóico (27).....	129
5.2.22 Síntese de <i>N</i> -[4-(clorometil)-3-nitrobenzoiloxi]succinimida (29)...	130
5.2.23 Síntese de 4-(clorometil)-3-nitro- <i>N</i> -isopropilbenzamida (30).....	131
5.2.24 Síntese de <i>N</i> -benzil-4-(clorometil)-3-nitrobenzamida (31).....	132
5.2.25 Síntese de 3-(2-(4-nitrofenil)hidrazono)butan-1-ol (32)	133
5.2.26 Síntese de 3-metil-1-(4-nitrofenil)-4,5-diidropirazol (35).....	134
5.2.27 Síntese de 4-(<i>terc</i> -butildimetilsililoxi)-2-butanona (36)	135
5.2.28 Síntese de 5-etoxi-3-metil-1-fenilpirazol (38).....	136
5.2.29 Síntese de 1-fenil-2-propan-2-ilideno hidrazina (40).....	137
5.2.30 Síntese de 2-metilindol (41)	137
5.2.31 Síntese de 2-metil-5-nitroindol (42).....	138
5.2.32 Síntese de 2-metil-3-carboxaldeído-5-nitroindol (43)	139
5.2.33 Síntese de (2-metil-5-nitroindol-3-il)metanol (44)	140

SUMÁRIO (Conclusão)

5.2.34 Síntese de 2-metil-3-(dietilaminometil)-5-nitroindol (45) e de 3,3'-[bis(metileno)]-2-metil-5-nitroindol (46).....	142
5.2.35 Síntese de 2-(2-metil-5-nitroindol-3-il)acetonitrila (47).....	144
6 CONCLUSÃO	145
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	147
APÊNDICE A – Espectros no IV e de RMN.....	158

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

As neoplasias malignas ou câncer representam a segunda causa de mortalidade (15,1%) no Brasil, superadas apenas pelas doenças cardiovasculares (31,6%). De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde, estima-se que, para o ano de 2020, aproximadamente 15 milhões de novos casos surgirão, sendo que 70% dos portadores estarão vivendo em países com menos de 5% dos recursos destinados a controlar a doença (INCA, 2016).

A terapia do câncer é baseada na cirurgia, radioterapia, imunoterapia e quimioterapia, sendo que a associação entre essas modalidades é comumente utilizada, aumentando a eficácia do tratamento (HANSEN *et al.*, 2015; BAEK *et al.*, 2011; BOURHIS *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2013; ROSA *et al.*, 2012). Entretanto, aproximadamente metade dos pacientes com câncer não são curados e cada uma dessas modalidades tem suas limitações (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008a).

Uma das limitações da quimioterapia é a resistência de tumores aos quimioterápicos. As principais causas de resistência são atribuídas a mutações genéticas, amplificação de gene ou alterações epigenéticas, que influenciam a absorção, metabolismo ou efluxo de fármacos em cada célula individualmente. Outra importante causa de resistência está relacionada à heterogeneidade do microambiente de tumores sólidos, que conduz a gradientes na taxa de proliferação celular e à presença de regiões de hipóxia e acidez, que podem influenciar a sensibilidade das células tumorais aos quimioterápicos (TRÉDAN *et al.*, 2007).

As regiões de hipóxia nos tumores sólidos não são um problema apenas para a quimioterapia. As células tumorais em hipóxia são resistentes também à radioterapia, uma vez que a presença de oxigênio parece reforçar os danos celulares causados pela radiação (BROWN e WILSON, 2004).

Considerando seu importante papel na progressão tumoral e resistência à terapia, a hipóxia tumoral pode ser considerada o melhor alvo validado para o desenvolvimento de novos quimioterápicos, ainda pouco explorado em oncologia (WILSON e HAY, 2011).

1.2 Quimioterápicos que atuam por ligação covalente com o alvo biológico: inibidores covalentes e agentes alquilantes

1.2.1 Fármacos que atuam por ligação covalente a uma proteína

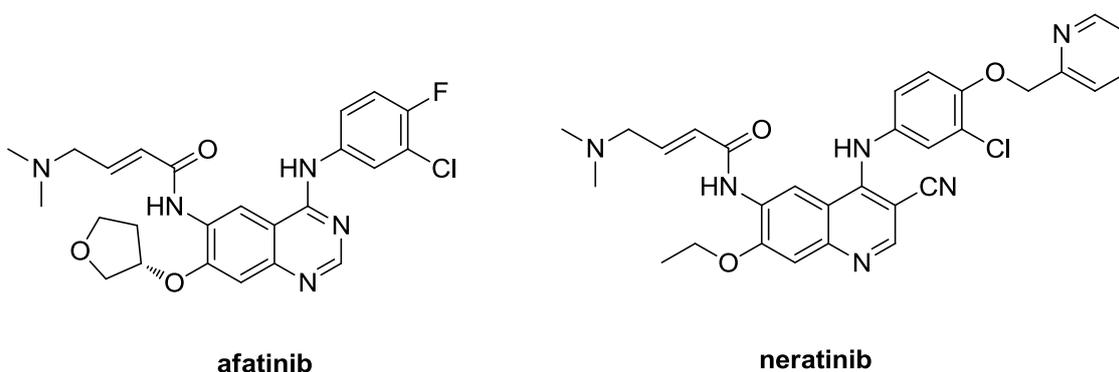
Inibidores covalentes são compostos que possuem caráter eletrofílico, pouco reativos, que, após ligação à proteína alvo, são capazes de reagir com um resíduo de aminoácido no sítio de ligação. Os resíduos de aminoácidos mais frequentes de ligação são os resíduos nucleofílicos de cisteína, serina ou tirosina (SINGH *et al.*, 2011).



Atualmente existem pelo menos 42 inibidores covalentes aprovados para diferentes usos, incluindo exemplos de muito sucesso como as penicilinas, cefalosporinas, omeprazol e clopidogrel, utilizados para o tratamento de diversos tipos de doenças, que vão da obesidade às neoplasias agressivas (SINGH *et al.*, 2011; BAUER, 2015).

Os eletrófilos mais utilizados nos inibidores covalentes destinados ao tratamento do câncer são os epóxidos, enaminonas, ácido borônico, β -lactonas e as acrilamidas.

A quinazolina afatinib, aprovada para uso em 2013, e a quinolina neratinib, que se encontra em fase de estudos clínicos avançados, atuam inibindo o receptor de tirosina-quinase EGFR, envolvido em neoplasias como o câncer de pulmão de células não-pequenas e o glioblastoma. Esses inibidores são compostos não-peptídicos, análogos do ATP (adenosina trifosfato). Possuem como eletrófilo o grupo acrilamida e se ligam covalentemente a um resíduo de cisteína *via* adição conjugada ao grupo carbonílico (SEGOVIA-MENDOZA *et al.*, 2015; JOHNSON *et al.*, 2010; SOLCA *et al.*, 2012).



Compostos que se ligam de forma covalente ao seu alvo trazem preocupações em relação a sua toxicidade, devido ao potencial de alquilar de forma inespecífica outras macromoléculas biológicas, levando a efeitos deletérios. O desafio consiste em encontrar o melhor equilíbrio entre reatividade e seletividade (JOHNSON *et al.*, 2010).

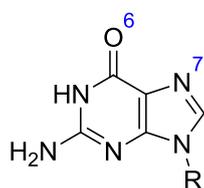
Embora a capacidade de se ligar de forma covalente possa trazer riscos, um inibidor covalente apresenta diversas vantagens. Primeiramente, a maior eficiência bioquímica dos inibidores covalentes pode resultar em uma dose reduzida do fármaco, diminuindo o risco de toxicidade idiossincrática. Além disso, o efeito prolongado devido a uma inibição covalente pode proporcionar uma dosagem menos frequente, melhorando a adesão do paciente. E, finalmente, evidências sugerem que o risco de aparecimento de resistência em fármacos covalentes é menor (BAUER, 2015; JOHNSON *et al.*, 2010).

A idéia de que os fármacos covalentes podem contribuir para a melhoria da saúde humana é cada dia mais aceita. Um reflexo disso é o número de fármacos covalentes aprovados para uso e o aumento no número de citações na literatura a esse respeito. Recentemente, o número de publicações referentes a inibidores covalentes tem aumentado de forma exponencial (BAUER, 2015).

1.2.2 Fármacos que atuam por alquilação do DNA

Quimioterápicos que possuem como alvo o DNA têm sido utilizados na clínica há mais de 40 anos. Apesar dos recentes avanços no tratamento do câncer, o mecanismo de ação da maioria dos fármacos antitumorais está relacionado à interferência na replicação celular, que pode ser alcançada, por exemplo, por alquilação do DNA. Os agentes alquilantes podem ser definidos como compostos capazes de se ligarem covalentemente à biomolécula em condições fisiológicas. Esses agentes atuam em células em repouso ou em proliferação, em qualquer fase do ciclo celular (HURLEY, 2002; AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008c).

Os agentes alquilantes são compostos altamente eletrofílicos e as ligações covalentes são originadas do ataque nucleofílico do DNA ao agente alquilante, podendo formar *N*- e *O*- adutos. Os sítios mais frequentes de alquilação do DNA são o N-7 e O-6 da guanina (MIDDLETON e MARGISON, 2003).

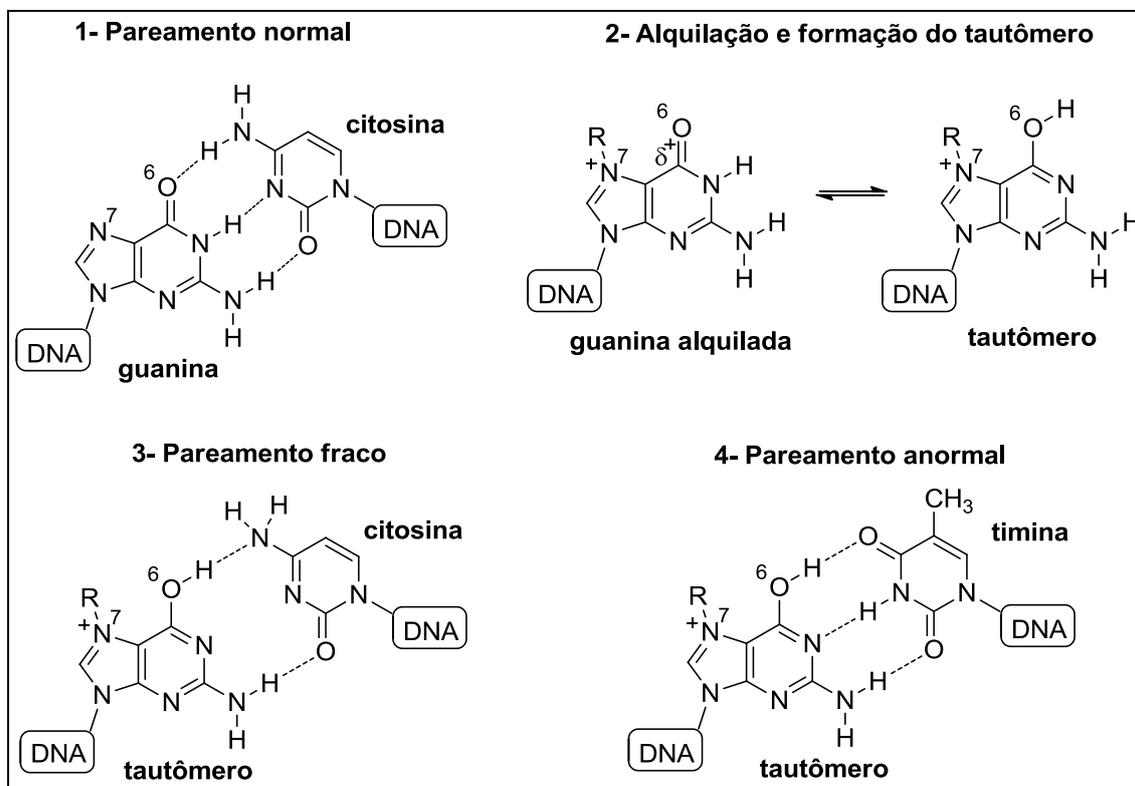


Guanina

A estrutura do DNA é bastante afetada pela alquilação, o que resulta em vários tipos de efeitos. Um deles é a alteração no pareamento normal das bases adenina-timina e guanina-citosina. Normalmente, no pareamento guanina-citosina, estão envolvidas três ligações de hidrogênio, sendo a carbonila em C-

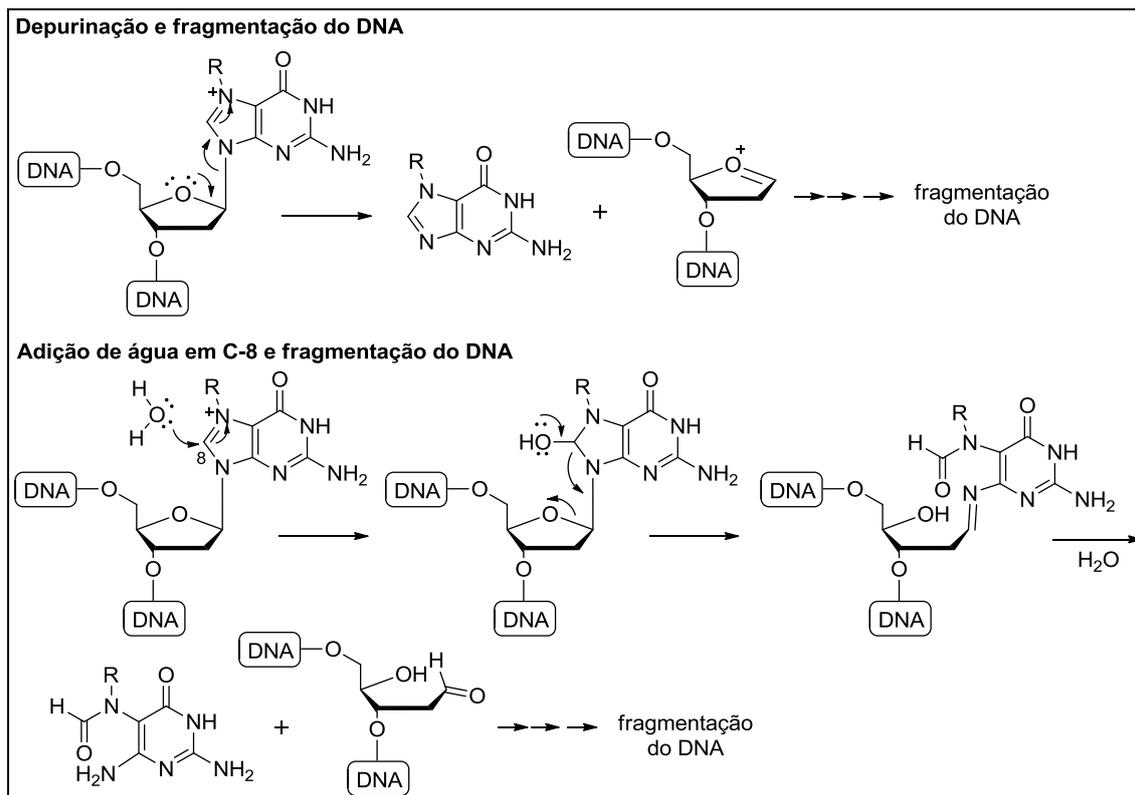
6 da guanina responsável por uma delas (**Figura 1.1**). Alquilação na posição N-7 da guanina cria uma carga positiva vizinha à carbonila, que já possui carga parcial positiva, favorecendo a formação do tautômero 6-hidroxi. Como consequência o pareamento com a citosina é enfraquecido, pois agora é somente duas ligações de hidrogênio são possíveis. Em contrapartida, o pareamento do tautômero 6-hidroxi com a base timina leva à formação de um complexo mais estável (3 ligações de hidrogênio), alterando o pareamento normal de bases e podendo gerar mutações (**Figura 1.1**) (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008c).

Figura 1.1 – Alteração no pareamento das bases do DNA após alquilação.



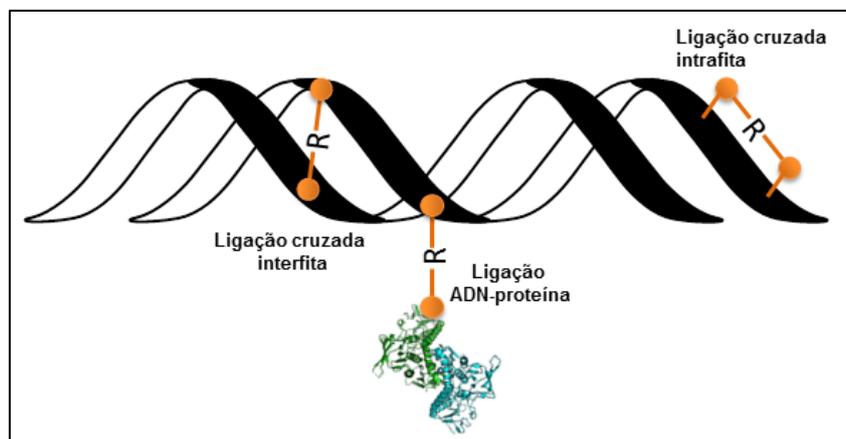
Outra consequência da alquilação na guanina é o aumento na eletrofilicidade das posições conjugadas ou adjacentes à carga positiva em N-7, levando a reações hidrolíticas e depurinação, que resultam na fragmentação da estrutura do DNA (**Figura 1.2**) (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008c).

Figura 1.2 – Depurinação e fragmentação do DNA após alquilação.



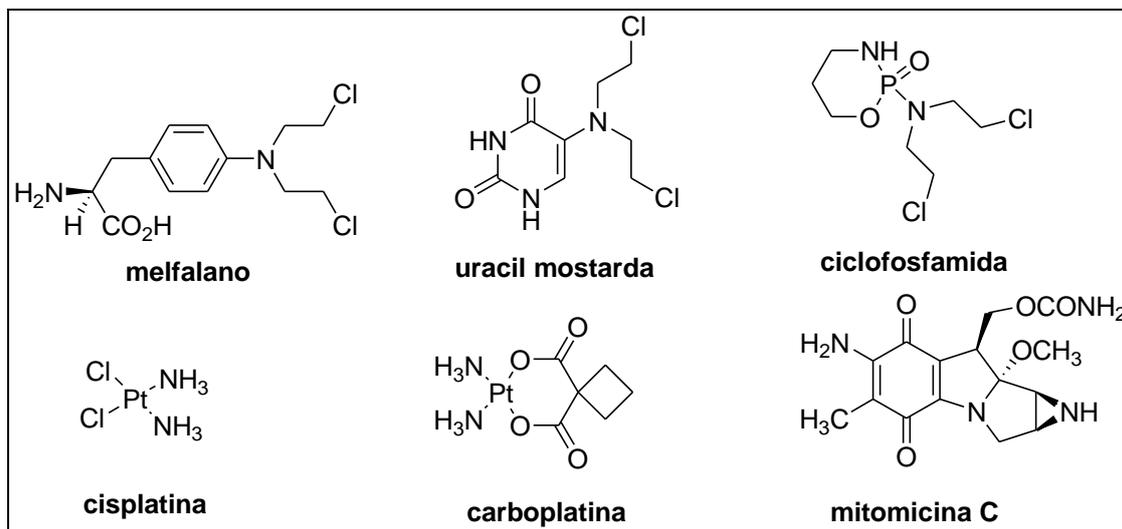
Compostos que apresentam duas unidades alquilantes podem reagir em dois pontos distintos do DNA, resultando em ligação cruzada intra ou interfita, ou em ligação entre o DNA e proteínas associadas, impedindo sua transcrição e replicação (**Figura 1.3**). Compostos alquilantes bifuncionais (bisalquilantes) são considerados mais citotóxicos em relação aos monofuncionais e existe uma correlação direta entre o grau de ligações cruzadas interfita e a citotoxicidade (BROOKES e LAWLEY, 1961; WARWICK, 1963).

Figura 1.3 – Diferentes modos de ligação cruzada do agente bisalquilante com o DNA.



Dentre os fármacos alquilantes utilizados na quimioterapia do câncer, destacam-se as mostardas nitrogenadas, complexos de platina e mitomicina C (**Figura 1.4**). Os agentes metalantes, como a cisplatina e seus análogos, também são considerados alquilantes devido à semelhança no modo de ação.

Figura 1.4 – Fármacos alquilantes utilizados na terapia do câncer.



Apesar de serem usados no tratamento do câncer, os fármacos alquilantes também podem ser carcinogênicos e provocar uma série de efeitos tóxicos ao reagirem com macromoléculas biológicas indesejáveis, como DNA e proteínas das células normais. A baixa seletividade desses agentes torna cada vez mais necessário o uso de estratégias que possam direcionar e aumentar a seletividade para as células tumorais.

1.3 Hipóxia como alvo no tratamento de tumores sólidos

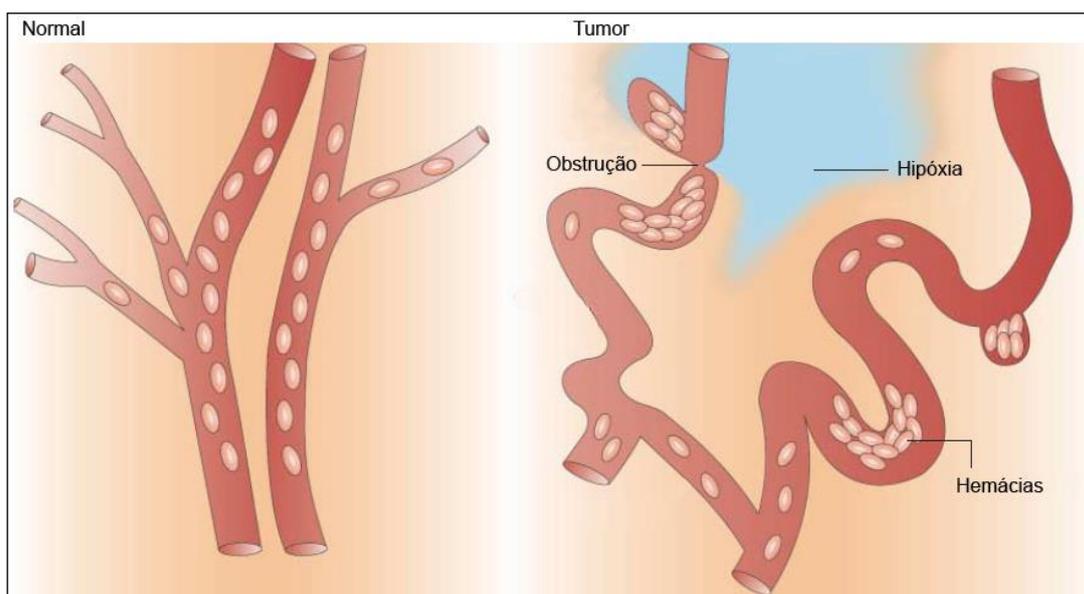
1.3.1 Características dos tumores sólidos

Tumores sólidos são heterogêneos e estruturalmente complexos, constituídos por células cancerosas e células do estroma (fibroblastos e células inflamatórias) incorporadas em uma matriz extracelular e alimentadas por uma rede vascular (TRÉDAN *et al.*, 2007). As células neoplásicas frequentemente ocupam menos da metade do volume total do tumor. Os vasos sanguíneos que se entrelaçam dentro da massa tumoral preenchem 1 a 10% do volume do

tumor. O espaço restante é preenchido por matriz rica em colágeno, o interstício, que envolve as células neoplásicas e pode separá-las da vascularização (OLIVEIRA e ALVES, 2002).

Inicialmente, o abastecimento sanguíneo do tumor é realizado através da vascularização existente na região. Durante o crescimento do tumor, alguns dos vasos sanguíneos preexistentes são obstruídos ou comprimidos. Posteriormente, pequenos vasos sanguíneos começam a surgir (neovascularização) e, estes, se ramificam excessivamente, são tortuosos e seguem em direções imprevisíveis que podem se modificar constantemente (Figura 1.5) (JAIN, 1989, 1994).

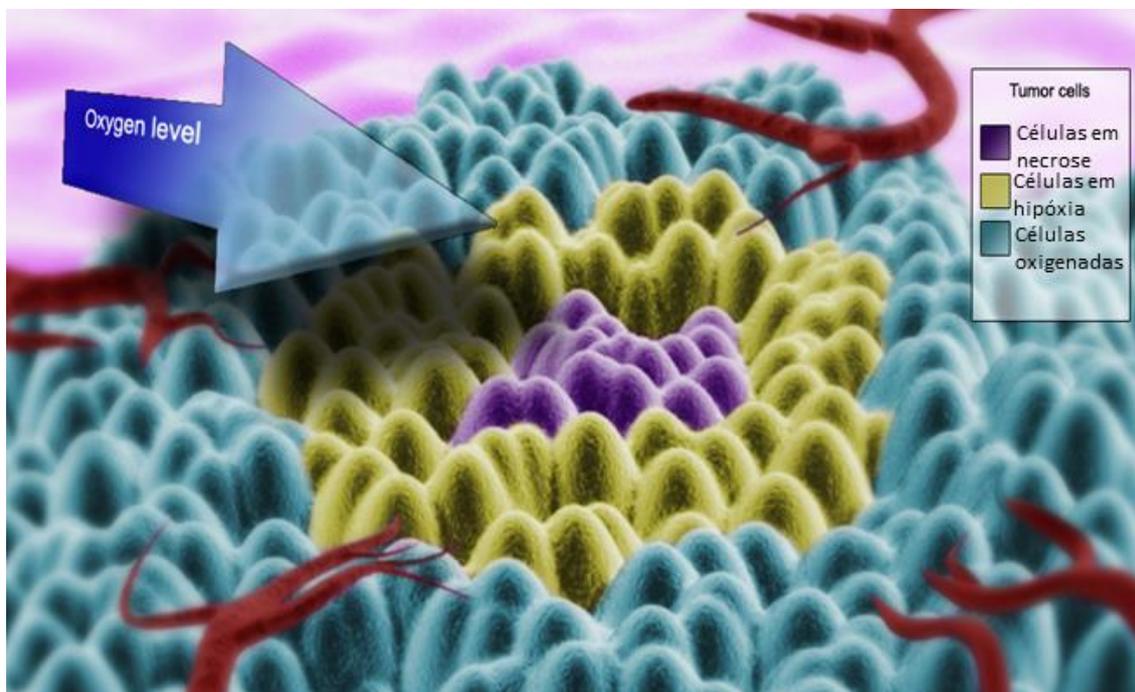
Figura 1.5 – Vasos sanguíneos de um tecido normal e vasos sanguíneos do tumor
(Adaptado de BROWN, 2004).



Conseqüentemente, algumas áreas do tumor são bem irrigadas, outras têm pouca ou nenhuma vascularização. O suprimento de oxigênio e nutrientes para as áreas de pouca irrigação sanguínea é dificultado, o que favorece o desenvolvimento de regiões necróticas e de células em condições de hipóxia. As células localizadas próximas aos vasos sanguíneos (periferia do tumor) são células bem oxigenadas. As células localizadas no centro do tumor e, portanto, distantes da vascularização, são células anóxicas e necróticas. As células existentes entre essas duas regiões são conhecidas como células em hipóxia,

pois estão localizadas em uma região de baixa concentração de oxigênio (Figura 1.6) (JAIN, 1989, 1994).

Figura 1.6 – Representação de um tumor sólido mostrando a diminuição da concentração de oxigênio em relação à distância capilar (Autor: Saulo F. P. Braga).



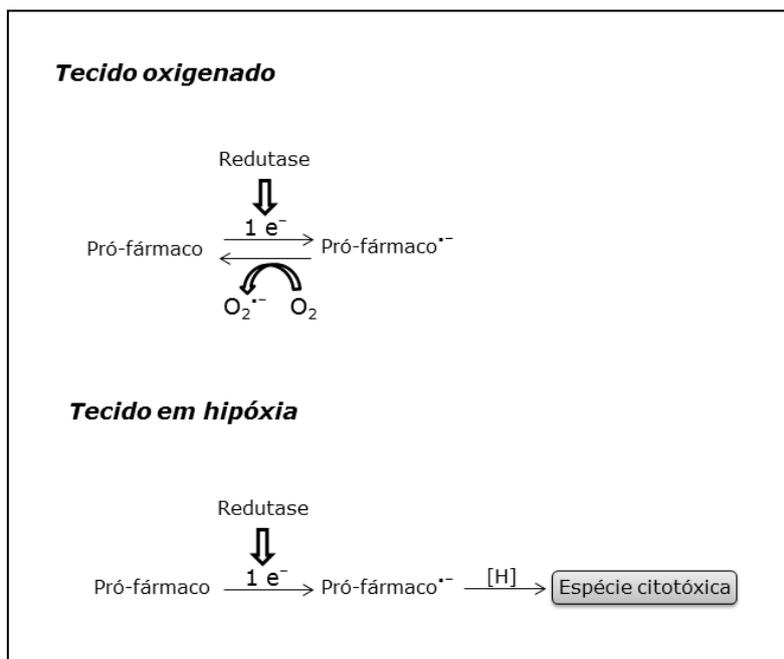
1.3.2 Agentes antineoplásicos biorredutíveis

Em 1972, Sartorelli e colaboradores propuseram que reações de redução ocorreriam com maior facilidade em células com baixa concentração de oxigênio, quando comparadas às células normalmente oxigenadas. Com base nessa hipótese, foi considerado que esta característica poderia ser explorada no desenvolvimento de citotoxinas com seletividade para as células em hipóxia, as quais só se tornariam citotóxicas após ativação metabólica pelas redutases celulares (LIN *et al.*, 1972).

A discriminação entre o tecido normal (oxigenado) e o tumor (hipóxia) pode ser alcançada quando um pró-fármaco possui um grupo funcional, que é suscetível a uma redução inicial, transformando-o no fármaco ativo. Quando o oxigênio está presente, como no tecido normal, essa redução pode ser revertida pela transferência de um elétron para o oxigênio levando a um ciclo redox, que gera

um ânion-radical superóxido e regenera o pró-fármaco. Na ausência de oxigênio, o radical do pró-fármaco é acumulado gerando, as espécies citotóxicas. Caso a redução inicial ocorra somente na região em hipóxia, a seletividade é alcançada (**Figura 1.7**) (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008d).

Figura 1.7 – Comparação entre o processo redutivo em um tecido oxigenado e um tecido em hipóxia.



Três propriedades são fundamentais para o sucesso no planejamento de agentes antineoplásicos seletivos para células em hipóxia: solubilidade e difusibilidade adequadas, redução a espécies reativas somente nas regiões em hipóxia e atividade apenas das espécies reduzidas (OLIVEIRA e ALVES, 2002). Para que a primeira etapa de redução aconteça, o composto deve possuir potencial de redução adequado (-330 a -450 mV). Compostos com potenciais de redução fora dessa faixa não são desejáveis, pois podem ser reduzidos facilmente e dessa forma apresentar menor seletividade para regiões em hipóxia (potenciais de redução maiores que -330 mV) ou podem ser difíceis de ser reduzidos até mesmo em hipóxia (potenciais de redução menores que -450 mV) (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008b).

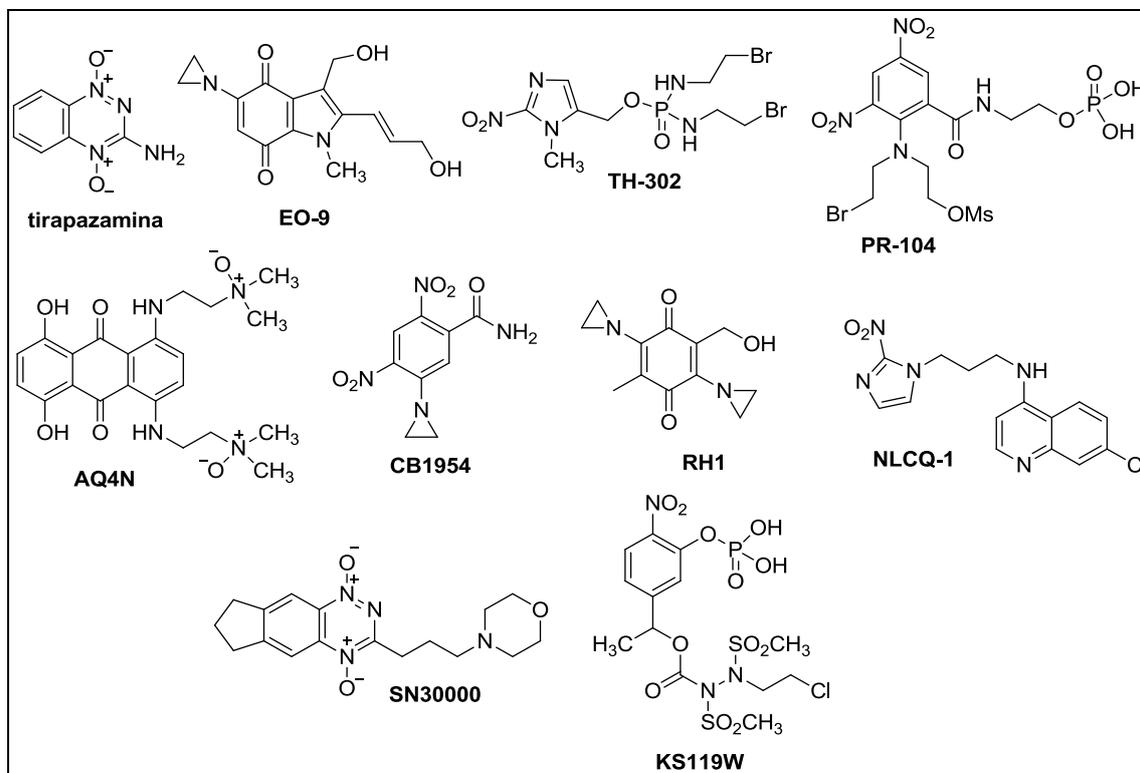
Os grupos funcionais presentes nas estruturas dos principais agentes biorredutíveis descritos na literatura são os *N*-óxidos aromáticos e alifáticos, quinonas e o grupo nitro.

1.3.3 Agentes biorredutíveis em estudo clínico/pré-clínico

Ao longo dos últimos 20 anos, avanços significativos têm sido realizados no desenvolvimento de agentes antineoplásicos biorredutíveis. Além da mitomicina C, já usada clinicamente, existem vários candidatos em diferentes fases de estudos clínicos (CHEN e HU, 2009).

Dentre os agentes biorredutíveis antineoplásicos em desenvolvimento clínico, ou pré-clínico avançado (**Figura 1.8, Tabela 1.1**), estão incluídos exemplos de cada um dos grupos funcionais citados anteriormente.

Figura 1.8 – Estrutura dos agentes antineoplásicos biorredutíveis em estudos clínicos/pré-clínicos.



O *N*-óxido tirapazamina, descoberto por Brown e colaboradores em 1986, foi o primeiro composto desenvolvido especificamente para atuar como citotóxica

com seletividade para as células em hipóxia. Recentemente, estudo clínico de fase III utilizando a associação da tirapazamina com radioterapia e cisplatina no tratamento de pacientes com câncer cervical foi concluído. Entretanto, nesse estudo, a tirapazamina não foi capaz de aumentar a sobrevida desses pacientes (DISILVESTRO *et al.*, 2014).

Estudo de fase I foi realizado com a mostarda nitroaromática PR-104 em combinação com docetaxel ou gemcitabina em pacientes com tumores sólidos avançados. Casos de mielotoxicidade e trombocitopenia graves foram observados, entretanto o uso profilático de G-CSF (estimulante da medula óssea) permitiu a continuidade dos estudos e identificação de uma dose adequada de PR-104 em combinação com docetaxel para estudos de fase II (McKEAGE *et al.*, 2012).

A quinona RH1 foi bem tolerada com toxicidade previsível e controlável em estudo farmacodinâmico e farmacocinético de fase I. Biomarcadores de ligações cruzadas ao DNA também foram identificados (DANSON *et al.*, 2011).

O nitroimidazol NLCQ-1, desenvolvido para atuar como um intercalante do DNA biorredutível, tem se mostrado promissor. Em estudos pré-clínicos, NLCQ-1 demonstrou significativa seletividade para hipóxia em linhagens de células tumorais humanas, além de aumentar de forma sinérgica o efeito da radiação contra células hipóxicas *in vitro* e em tumores murinos *in vivo*. Esse nitroimidazol também exibe boa estabilidade em plasma humano e farmacocinética favorável em camundongo. A síntese de NLCQ-1 já foi escalonada com sucesso e, sendo assim, o composto deverá entrar em estudos clínicos de fase I (PAPADOPOULOU e BLOOMER, 2003).

Desenvolvido como um análogo da tirapazamina, o *N*-óxido SN30000 apresentou maior potência e seletividade para células em hipóxia e melhor difusão em camadas multicelulares quando comparado ao protótipo. SN30000 também apresentou melhor perfil farmacocinético em plasma de camundongos e ratos e foi mais ativo que a tirapazamina, em associação com radiação, contra vários tumores humanos transplantados (HICKS *et al.*, 2010).

Desenvolvido por Sartorelli e colaboradores (SEOW *et al.*, 2005), o composto nitroaromático KS119W demonstrou elevada citotoxicidade e seletividade para células em hipóxia em estudos preliminares realizados *in vitro*. KS119W também foi efetivo para o tratamento de tumores sólidos *in vivo* em combinação com radiação. Estudos pré-clínicos adicionais serão realizados de modo que seu potencial estudo clínico como adjuvante na radioterapia possa ser avaliado (KIM *et al.*, 2012).

Tabela 1.1 - Agentes biorredutíveis em estudos clínicos/pré-clínicos avançados
(Adaptado de WILSON e HAY, 2011).

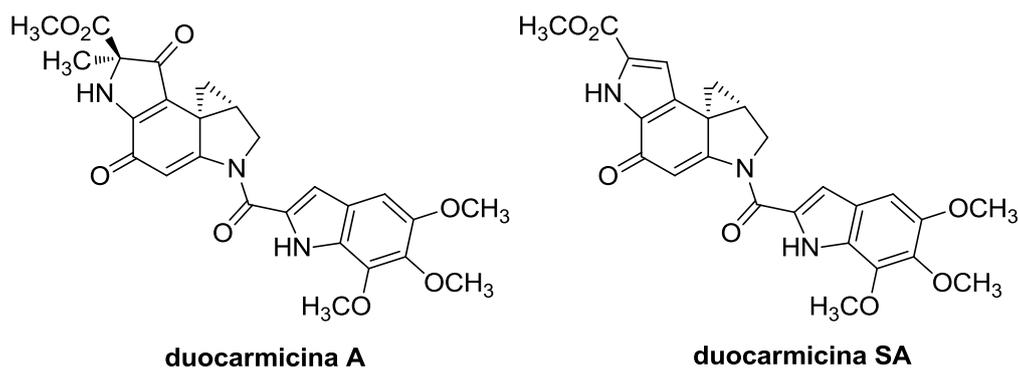
Pró-fármaco	Estudo	Instituição responsável	Grupo funcional	Mecanismo	Status
tirapazamina (SR4233)	Fase III CIS+RAD (câncer cervical)	NCI	<i>N</i> -óxido aromático	dano ao DNA	concluído
apaziquona (E09)	Fase III (câncer de bexiga)	Spectrum Pharmaceuticals	quinona	ligação cruzada ao DNA	em andamento
TH-302	Fase I/II múltiplos	Threshold Pharmaceuticals	nitro	ligação cruzada ao DNA	em andamento
PR-104	Fase I DOCE ou GEM	Proacta	nitro	ligação cruzada ao DNA	concluído
banoxantrona (AQ4N)	Fase I/II múltiplos	Novacea	<i>N</i> -óxido alifático	inibição da topoisomerase II	em andamento
CB1954	Fase II caricotamida carcinoma hepatocelular	BTG International	nitro	ligação cruzada ao DNA	concluído
RH1	Fase I	Cancer Research UK	quinona	ligação cruzada ao DNA	concluído
NLCQ-1	Pré-clínico	Evanston Northwestern Helthcare	nitro	inibição da topoisomerase II	concluído
SN30000 (CEN-209)	Pré-clínico	University of Auckland	<i>N</i> -óxido aromático	dano ao DNA	concluído
KS119W	Pré-clínico	Yale University	nitro	ligação cruzada ao DNA	concluído

CIS = cisplatina; RAD = radiação; NCI = US National Cancer Institute; DOCE = docetaxel; GEM = gemcitabina.

1.3.4 Compostos nitroaromáticos alquilantes biorredutíveis em desenvolvimento

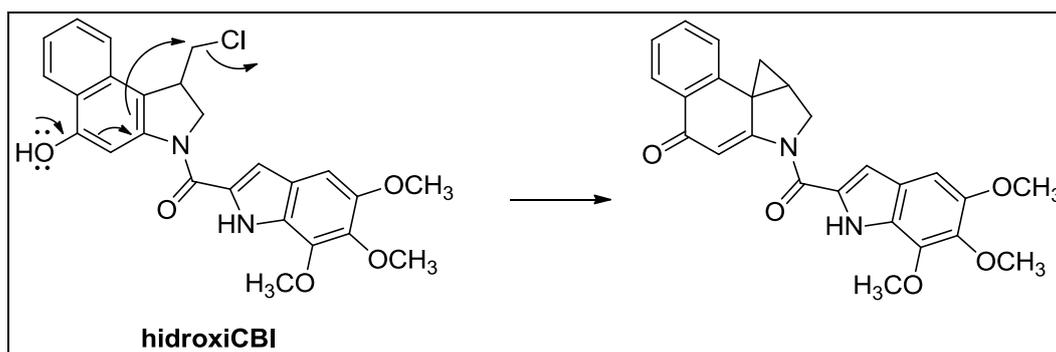
1.3.4.1 Análogos das duocarmicinas

A síntese de análogos das duocarmicinas tem sido amplamente explorada devido à capacidade desses compostos de alquilarem o DNA. As duocarmicinas são antibióticos (ex. duocarmicina A e duocarmicina SA), isoladas de *Streptomyces*, e potentes citotoxinas com atividade na ordem de sub-nanomolar. A elevada potência desses compostos é atribuída, inicialmente, à intercalação à fenda menor do DNA seguida então de ataque nucleofílico do N-3 de um resíduo de adenina ao carbono menos impedido do anel ciclopropila da duocarmicina (BOGER e JOHNSON, 1995; SCHNELL *et al.*, 1999).



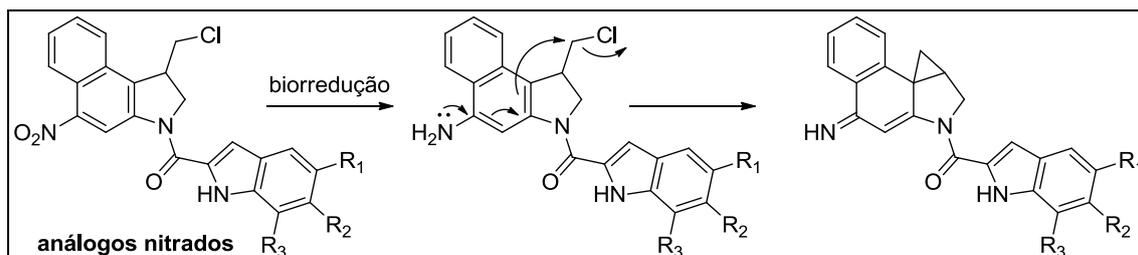
Análogos precusores das duocarmicinas foram sintetizados (ex. hidroxíCBI) e apresentaram citotoxicidade equivalente, devido a sua rápida conversão à forma ciclopropila (**Figura 1.9**) (BOGER *et al.*, 1990).

Figura 1.9 – Conversão de hidroxíCBI em seu análogo ciclopropila.

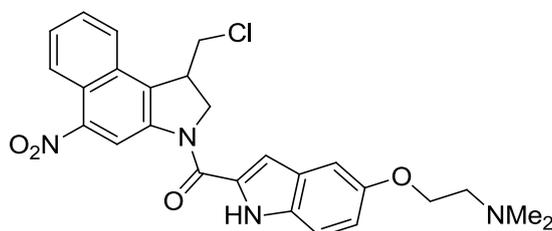


Visando o desenvolvimento de citotoxinas seletivas para células em hipóxia, Stevenson e colaboradores (2012) sintetizaram análogos nitrados do hidroxiCBI. Em condições de hipóxia, o grupo nitro é reduzido a amino, levando à formação do derivado ciclopropila, capaz de alquilar o DNA (**Figura 1.10**).

Figura 1.10 – Biorredução dos análogos nitro do hidroxiCBI.

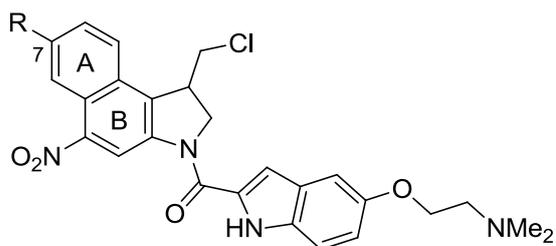


Os primeiros análogos sintetizados apresentaram baixo índice de seletividade para células em hipóxia ($ISH = CI_{50} \text{ hipox}/CI_{50} \text{ ox}$), que foi atribuído aos baixos potenciais de redução monoelétrônica (-512 mV para análogo nitrado **I**) desses análogos (TERCEL *et al.*, 2009).



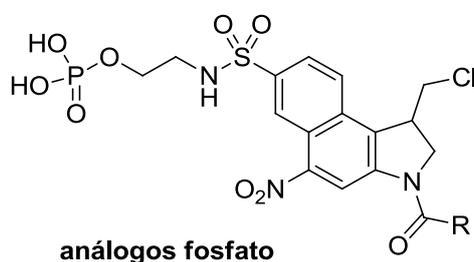
análogo nitrado I

A fim de aumentar o valor dos potenciais de redução, novos compostos apresentando grupos retiradores de elétrons na posição 7 do anel A foram sintetizados. Esses novos análogos apresentaram potenciais de redução monoelétrônica (E) próximos da faixa de -350 a -420 mV e melhor seletividade para células em hipóxia ($ISH = 10$ a 330) (TERCEL *et al.*, 2009).



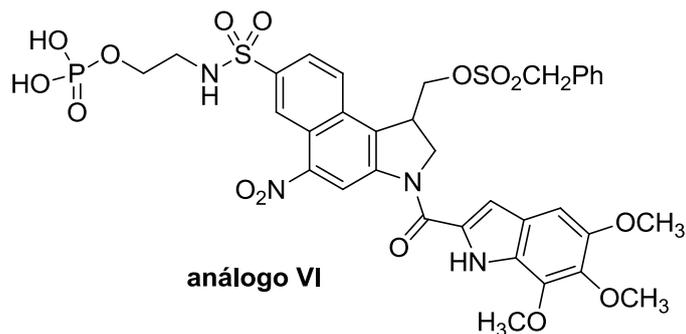
análogo	<i>E</i> (1) mV	ISH Skov3	ISH HT29
II R = H	-512	1,9	1,1
III R = SO ₂ NH ₂	-390	275	330
IV R = NO ₂	-353	9,3	9,6
V R = CONH ₂	-422	77	60

Visando um aumento na solubilidade dos compostos em água, o que facilitaria a administração aos animais nos ensaios *in vivo*, foram sintetizados derivados fosfato que se comportariam como pré-pró-fármacos (TERCEL *et al.*, 2011).



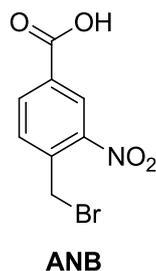
Modificações no grupo abandonador (cloro) também foram avaliadas e, para isso, foram sintetizados análogos apresentando diferentes substituintes nessa posição. Os derivados possuindo grupos sulfonatos se mostraram promissores, apresentando maior seletividade para células em hipóxia, comparados aos derivados clorados e bromados, mesmo sem a introdução de substituintes no anel A. Além disso, sulfonatos mais volumosos foram mais seletivos que os metanossulfonatos (STEVENSON *et al.*, 2012).

Dentre os compostos sintetizados, o análogo **VI** apresentou os melhores resultados de atividade e seletividade nos ensaios *in vivo*, utilizando modelo de carcinoma cervical humano (SiHa) xenotransplantado em camundongos, e é considerado promissor como pró-fármaco biorredutível (STEVENSON *et al.*, 2012).



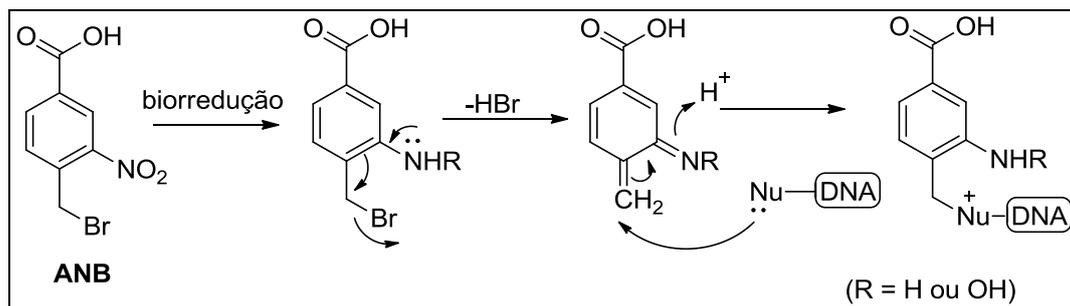
1.3.4.2 Compostos nitroaromáticos análogos do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico

Uma série de substâncias nitroaromáticas, derivadas do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico (**ANB**), foi sintetizada no Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia – UFMG (LOPES *et al.*, 2011).



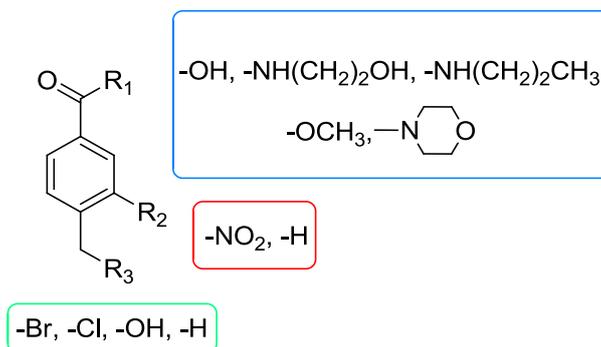
De acordo com Teicher e Sartorelli (1980), compostos nitrobenzílicos apresentando um bom grupo abandonador na posição benzílica podem ser reduzidos aos metabólitos hidroxilamino ou amino, gerando uma espécie altamente eletrofílica capaz de alquilar o DNA. Partindo-se desse princípio, acredita-se que o **ANB** possa exercer sua atividade alquilante, após biorredução, conforme mostrado na **Figura 1.11**.

Figura 1.11 – Mecanismo proposto de alquilação do DNA de compostos nitrobenzílicos após biorredução.



Para estabelecer uma relação entre a estrutura química e a atividade biológica, foram sintetizados análogos do **ANB**, variando-se os grupos na posição R_1 e também o grupo abandonador R_3 . Derivados não nitrados ($R_2 = H$) também foram sintetizados para fins de comparação (**Figura 1.12**).

Figura 1.12 – Representação dos análogos do ANB sintetizados por variação dos grupos R_1 , R_2 e R_3 .



Os compostos sintetizados foram avaliados *in vitro* quanto a sua citotoxicidade em condições normais e em hipóxia. O índice de seletividade para células em hipóxia (ISH) foi calculado considerando a relação entre a Cl_{50} em condições normais / Cl_{50} em condições de hipóxia. Foram utilizadas seis linhagens de células tumorais humanas: HL60 (leucemia), Jurkat (linfoma), MCF-7 e MDA (tumor de mama), THP-1 (leucemia monocítica) e HCT (carcinoma colo-retal). A citotoxicidade das substâncias para as células normais também foi avaliada utilizando-se células epiteliais renais de macaco (VERO). Etoposídeo foi utilizado como controle positivo (dados não publicados).

Dentre os compostos avaliados, destacam-se as amidas **VII** e **VIII**, que apresentaram os melhores resultados de citotoxicidade e seletividade para células em hipóxia (**Tabelas 1.2 a 1.4**).

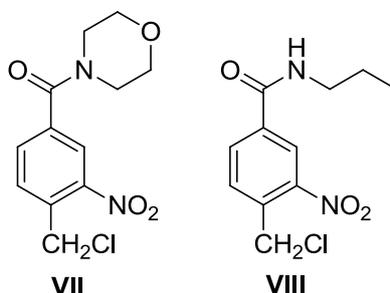


Tabela 1.2 – CI_{50} dos compostos VII e VIII para as linhagens de células tumorais HL60, Jurkat e THP-1 em normóxia e hipóxia.

Comp.	CI_{50} (μM) \pm DP								
	HL60			Jurkat			THP-1		
	hipóxia	normóx.	ISH	hipóxia	normóx.	ISH	hipóxia	normóx.	ISH
VII	5,5 \pm 3,3	47,5 \pm 2,1	8,6	19,4 \pm 1,5	52,4 \pm 10,7	2,7	24,5 \pm 0,4	52,3 \pm 13,4	2,1
VIII	3,6 \pm 0,2	2,9 \pm 0,6	0	7,2 \pm 2,4	4,3 \pm 0,9	0	12,4 \pm 6,3	21,1 \pm 3,6	1,7

Tabela 1.3 – CI_{50} dos compostos VII e VIII para as linhagens de células tumorais MDA, MCF-7 e HCT em normóxia e hipóxia.

Comp.	CI_{50} (μM) \pm DP								
	MDA			MCF-7			HCT		
	hipóxia	normóx.	ISH	hipóxia	normóx.	ISH	hipóxia	normóx.	ISH
VII	21,8 \pm 12,6	41,1 \pm 9,7	1,9	28,9 \pm 14,2	67,5 \pm 0,2	2,3	15,3 \pm 2,7	63,9 \pm 1,4	4,2
VIII	2,8 \pm 0,9	3,7 \pm 2,0	1,3	7,2 \pm 2,2	29,0 \pm 1,2	4,0	1,6 \pm 1,3	20,0 \pm 2,1	12,5

Tabela 1.4 – CI_{50} dos compostos VII e VIII para a linhagem de célula normal VERO em normóxia e hipóxia.

Comp.	CI_{50} (μM) \pm DP		
	VERO		
	hipóxia	normóx.	ISH
VII	87,1 \pm 3,1	20,2 \pm 0,6	0
VIII	33,3 \pm 7,6	26,7 \pm 2,7	0

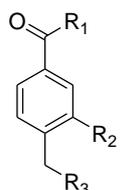
A amida **VII** foi mais seletiva para hipóxia em todas as linhagens tumorais avaliadas, mas o maior destaque se dá frente à linhagem HL60, com CI_{50} de

5,5 μM e $\text{ISH} = 8,6$. Já **VIII** não apresentou seletividade em todas as linhagens testadas, entretanto, em HCT o valor de CI_{50} foi igual a 1,6 μM e $\text{ISH} = 12,5$.

Além disso, as amidas apresentaram maior citotoxicidade em condições de hipóxia para as células tumorais, quando comparadas à linhagem de célula normal VERO.

Os demais compostos sintetizados não foram ativos ou não apresentaram seletividade para células em hipóxia. Um dos fatores que pode explicar a ausência de seletividade é o potencial de redução inadequado, fora da faixa desejável de -330 a -450 mV. O potencial de redução relacionado à primeira captura de elétrons ($E(1)$) dos compostos **IX**, **X**, **XI** e **XII** foi determinado e os resultados estão ilustrados na **Tabela 1.5** (VASCONCELOS *et al.*, 2012).

Tabela 1.5 – Potenciais de redução dos compostos IX, X, XI e XII.



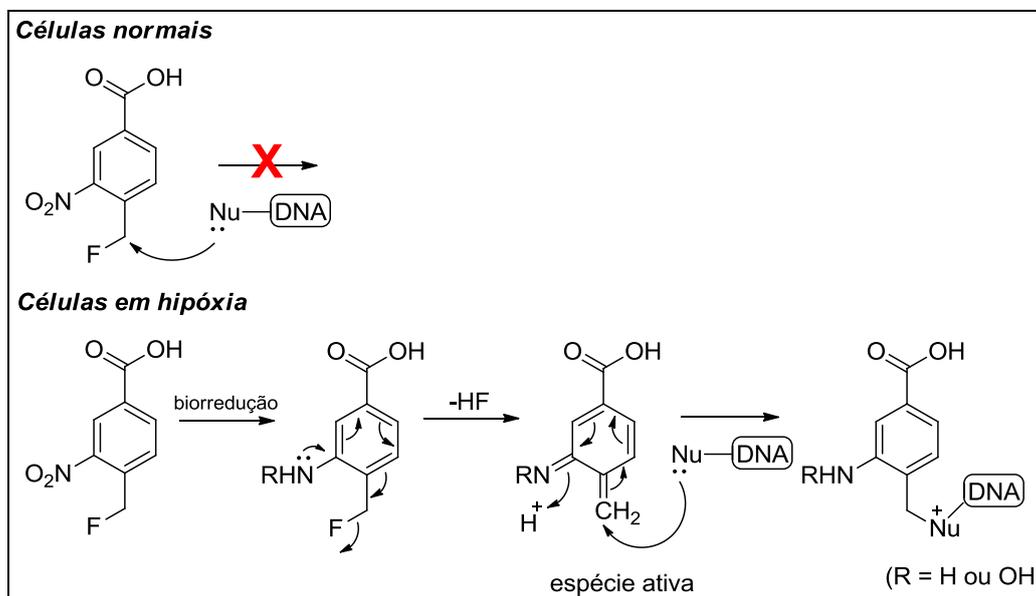
Composto	R ₁	R ₂	R ₃	$E(1)$ (mV)
IX	OH	NO ₂	Br	-604
X	NH(CH ₂) ₂ OH	NO ₂	Cl	-735
XI	NH(CH ₂) ₂ OH	NO ₂	Br	-727
XII	OH	NO ₂	OH	-847

A introdução de grupos doadores ou retiradores de elétrons na estrutura do composto é capaz de modular o potencial de redução dentro da faixa adequada. Grupos doadores de elétrons diminuem o potencial de redução, enquanto grupos retiradores de elétrons facilitam a redução. Como os compostos apresentaram potencial de redução abaixo da faixa adequada, a síntese de derivados apresentando outros grupos retiradores de elétrons, a fim de se modular o potencial de redução, é de grande interesse.

Outra forma de se alcançar seletividade se baseia na utilização de grupos abandonadores menos reativos. Compostos contendo grupos abandonadores como, por exemplo, o flúor seriam mais estáveis e provavelmente só se tornariam alquilantes após redução do grupo nitro (**Figura 1.13**). Dessa forma,

a síntese de análogos apresentando esses grupos pode ser uma estratégia para aumentar a seletividade dos compostos nitrobenzílicos.

Figura 1.13 – Proposta de mecanismo de alquilação para composto possuindo flúor como grupo abandonador.



Considerando os resultados obtidos com as amidas **VII** e **VIII**, essas substâncias podem ser consideradas como protótipos para o planejamento de novos análogos com melhores resultados de atividade e seletividade, com base nas alternativas descritas acima.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver novas substâncias com atividade citotóxica, seletiva para células em hipóxia, com base na estrutura dos compostos nitroaromáticos **VII** e **VIII**.

2.2 Objetivos específicos

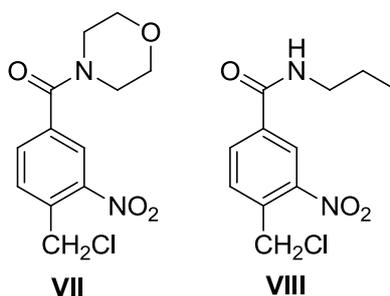
a- Sintetizar análogos propostos por modificações moleculares de **VII** e **VIII**;

b- Determinar a atividade citotóxica dos análogos sintetizados contra diferentes linhagens de células tumorais em condições de normóxia e hipóxia;

c- Avaliar a citotoxicidade das substâncias sintetizadas para células normais para determinação do índice de seletividade.

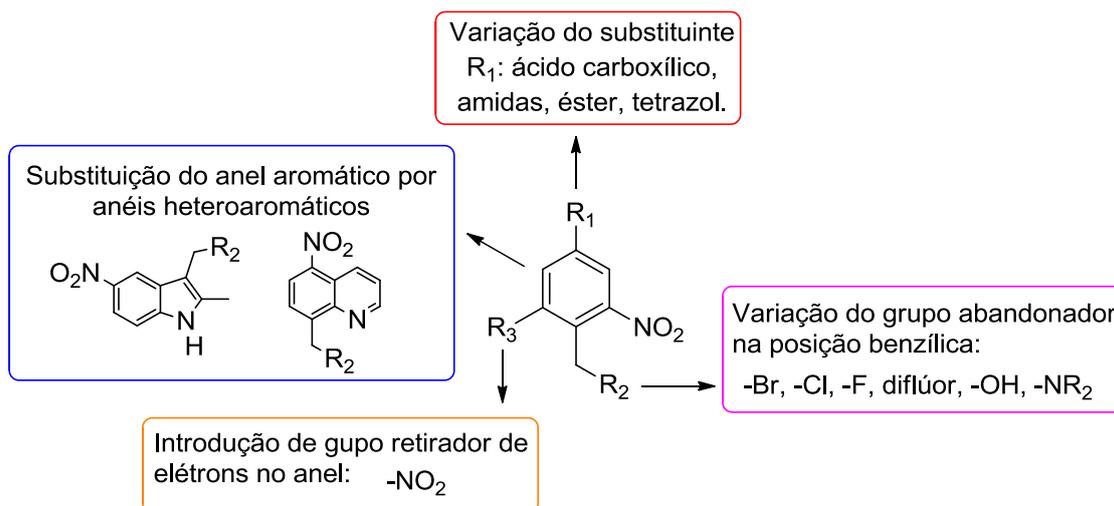
3 PLANEJAMENTO DOS COMPOSTOS E PLANO DE SÍNTESE

Considerando a capacidade de os nitroaromáticos atuarem como agentes biorredutíveis e a atividade apresentada pelas amidas **VII** e **VIII**, é de interesse a preparação de novos análogos, objetivando melhores resultados de potência e seletividade. Além disso, pretende-se também gerar uma diversidade de moléculas bioativas, a fim de se obter novos protótipos como potenciais citotoxinas seletivas para células em hipóxia.



Foram planejadas modificações em R_1 , R_2 e R_3 , assim como a utilização de outros anéis aromáticos. Uma visão geral dessas propostas está ilustrada na **Figura 3.1**.

Figura 3.1 – Modificações propostas para obtenção de análogos de VII e VIII.



Para avaliar a influência do grupo nitro retirador de elétrons na atividade citotóxica seriam sintetizados análogos não nitrados de alguns dos derivados propostos.

3.1 Variação do anel nitroaromático e do substituinte em R₃.

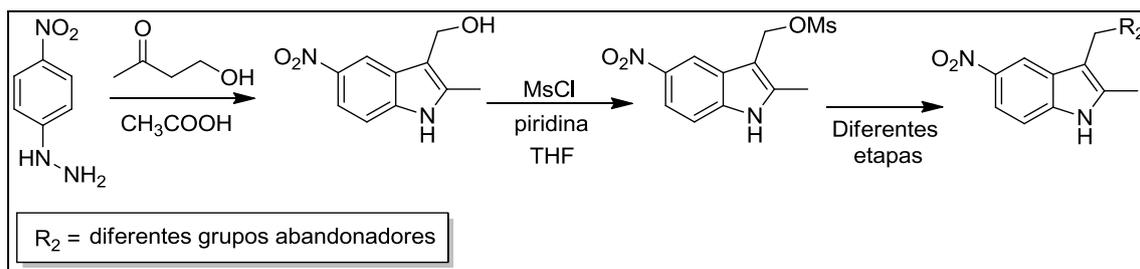
Foi proposta a síntese de compostos apresentando diferentes anéis aromáticos, como o indol e a quinolina, além do análogo substituído em R₃ por outro grupo nitro.

A variação de anéis aromáticos é uma estratégia muito utilizada na química farmacêutica para produzir uma maior diversidade de compostos ativos. Uma vantagem de se substituir um anel aromático por um heteroaromático é a possibilidade de uma nova interação como, por exemplo, *via* ligação de hidrogênio com o alvo molecular. Os heterociclos aromáticos estão presentes em um grande número de fármacos e frequentemente são responsáveis por melhorias significantes na atividade e seletividade e por redução nos efeitos colaterais.

Além disso, utilização dos anéis heteroaromáticos, bem como do derivado dinitrado, pode ser uma estratégia para modular o potencial de redução, já que representam grupos com maior poder retirador de elétrons, comparados aos protótipos.

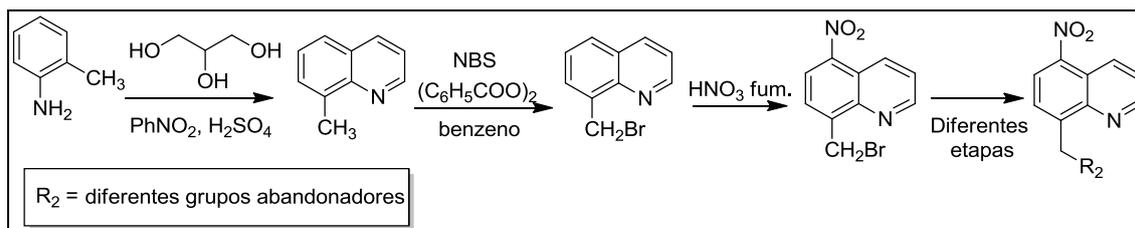
Os compostos planejados seriam sintetizados de acordo com as rotas de síntese mostradas nas **figuras 3.2 a 3.4**.

Figura 3.2 – Rota de síntese para obtenção dos derivados possuindo anel indólico.



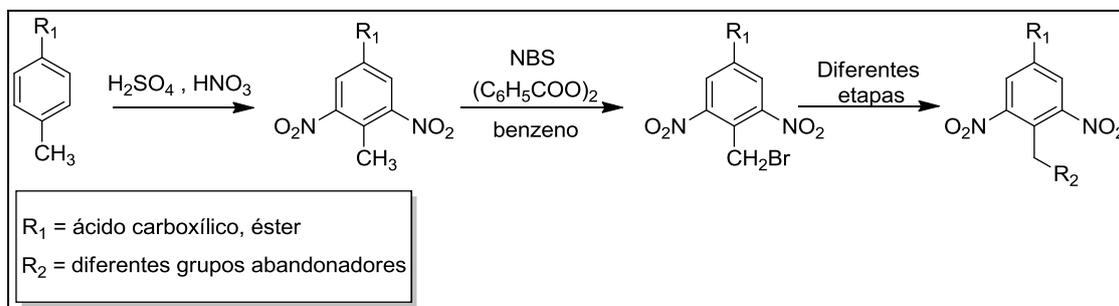
O anel indólico seria sintetizado por reação de Fischer, utilizando-se a *p*-nitrofenilhidrazina e 2-(hidroxietil)metilcetona. A mesilação da hidroxila, utilizando-se cloreto de mesila, permitiria a obtenção dos outros derivados substituídos em R₂ por reações de substituição nucleofílica, utilizando-se diversos nucleófilos.

Figura 3.3 – Rota de síntese para obtenção dos derivados possuindo anel quinolínico.



O anel quinolínico seria obtido por reação de Skraup, utilizando a 2-metilanilina e o glicerol em presença de nitrobenzeno, ácido sulfúrico e aquecimento. Reação de nitração utilizando ácido nítrico fumegante permitiria a obtenção dos derivados nitrados. As reações envolvendo o grupo R₂ estão descritas no **item 3.2**.

Figura 3.4 – Rota de síntese para obtenção dos derivados dinitrados.



Para obtenção dos derivados dinitrados, o ácido *p*-tolúico seria submetido à reação com ácido nítrico e ácido sulfúrico (JAMES e YONGHUI, 2010). A bromação e demais variações no grupo R₂ seriam realizadas conforme descrito no item a seguir.

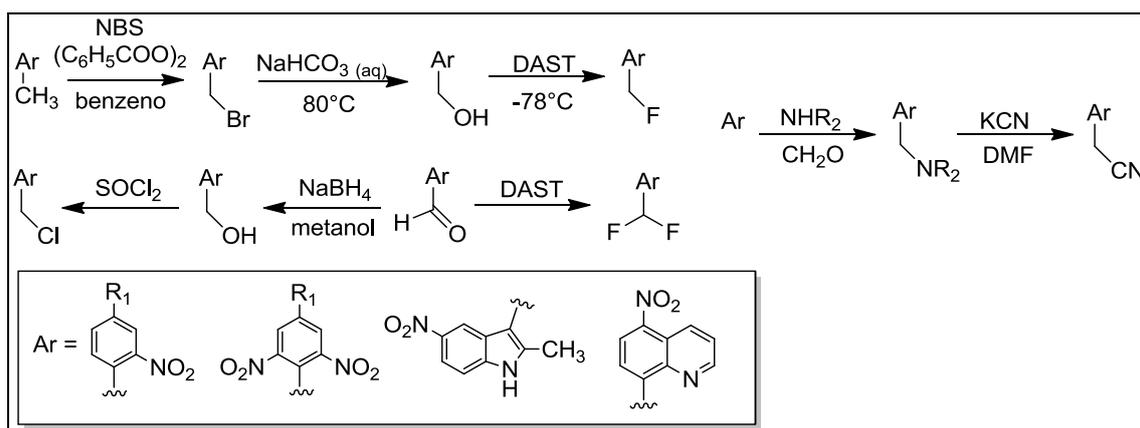
3.2 Variação do grupo abandonador R₂

A síntese de análogos apresentando diferentes substituintes na posição benzílica é proposta para se avaliar o efeito do grupo abandonador tanto na citotoxicidade para células normais quanto para as células tumorais.

O uso de grupos abandonadores menos reativos (flúor, diflúor) pode ser uma estratégia para aumentar a seletividade de nitrocompostos aromáticos como agentes biorredutíveis para células tumorais em hipóxia.

Os derivados modificados em R₂ seriam sintetizados de acordo com a rota de síntese proposta na **Figura 3.5**

Figura 3.5 – Rota de síntese para obtenção dos derivados modificados em R₂.

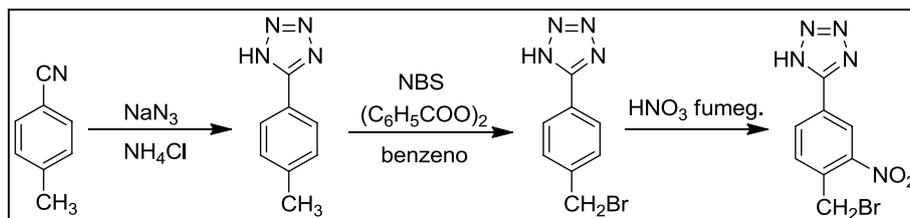


Os produtos bromados seriam obtidos por reação de bromação radicalar, utilizando-se NBS (*N*-bromosuccinimida) e peróxido de benzoíla (BARANY e ALBERICIO, 1985). Os análogos clorados seriam obtidos por reação do álcool benzílico correspondente com cloreto de tionila. Os derivados fluorados e difluorados seriam sintetizados por reação do álcool benzílico ou aldeído correspondente com o reagente DAST (dietilaminotrifluoreto de enxofre) (MIDDLETON, 1975). Os análogos amino seriam obtidos por reação de Mannich que, após reação com cianeto de potássio, forneceria o derivado ciano correspondente.

3.3 Variação do substituinte R₁

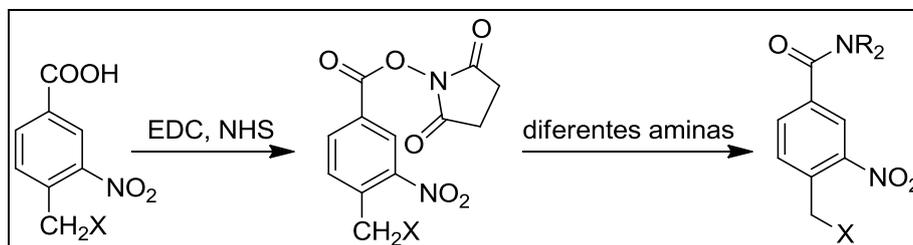
Os derivados modificados em R₁ seriam sintetizados de acordo com as rotas de síntese propostas nas **Figuras 3.6 e 3.7**.

Figura 3.6 – Rota de síntese para obtenção dos derivados contendo anel tetrazólico.



É proposta a substituição bioisostérica do grupo carboxila pelo anel tetrazólico. Esse anel seria sintetizado a partir do análogo ciano correspondente em presença de azida de sódio, cloreto de amônio e aquecimento (MAXWELL *et al.*, 1984).

Figura 3.7 – Rota de síntese para obtenção das diferentes amidas.

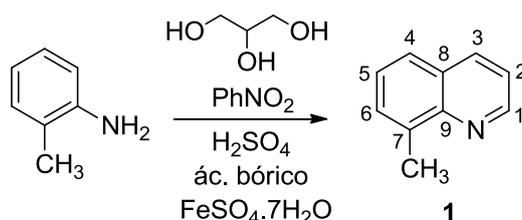


As amidas seriam obtidas por ativação dos ácidos carboxílicos correspondentes com EDC (cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) e NHS (*N*-hidroxisuccinimida), seguida do acoplamento com a amina de interesse (isopropilamina, benzilamina).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

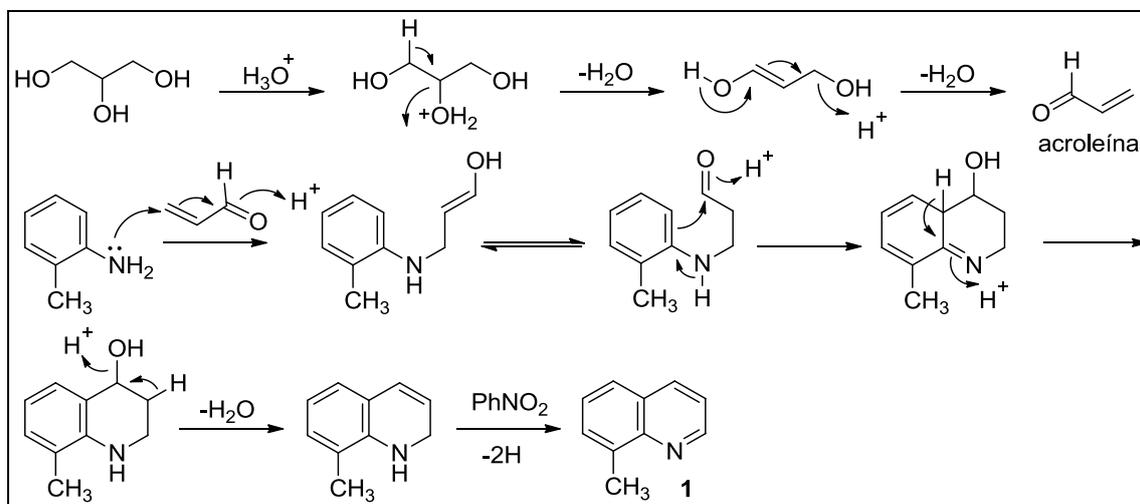
4.1 Síntese

4.1.1 Obtenção de 8-metilquinolina (1)

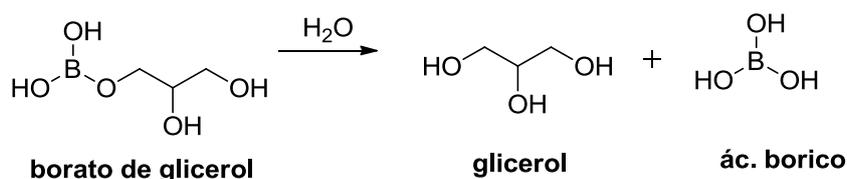


A metil-quinolina **1** foi obtida utilizando-se a síntese de Skraup (LU *et al.*, 2010), que consiste na reação entre uma anilina e glicerol em condições ácidas e oxidantes (**Figura 4.1**). Em uma primeira etapa é formada a acroleína após duas desidratações da molécula de glicerol, catalisadas pelo meio ácido. O glicerol atua como uma forma protegida da acroleína, que é tóxica e altamente reativa e, dessa forma, é liberada lentamente no meio. Em seguida, adição de Michael da *o*-toluidina à acroleína, seguida de ciclização via reação de substituição eletrofílica aromática, fornece o álcool cíclico intermediário que é desidratado e oxidado originando a quinolina **1**. O nitrobenzeno é utilizado como agente oxidante e solvente da reação.

Figura 4.1 – Mecanismo de formação da quinolina **1** por reação de Skraup.

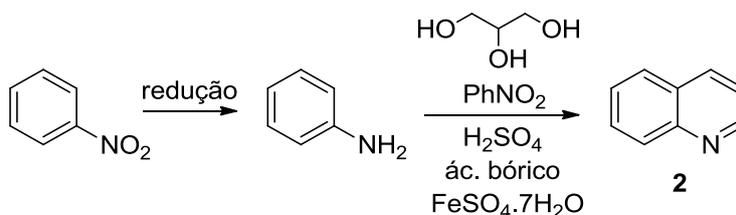


A reação de Skraup é uma reação exotérmica e pode se proceder com extrema violência. Por esse motivo modificações foram propostas a fim de se controlar a reação. Uma dessas modificações é a utilização de agentes moderadores que são responsáveis por prolongar o tempo de reação mantendo-a “sob controle”. Exemplos de moderadores são o sulfato ferroso e o ácido bórico. Acredita-se que, na presença de ácido bórico, é formado o intermediário borato de glicerol que se hidrolisa gradualmente liberando o glicerol (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1931).



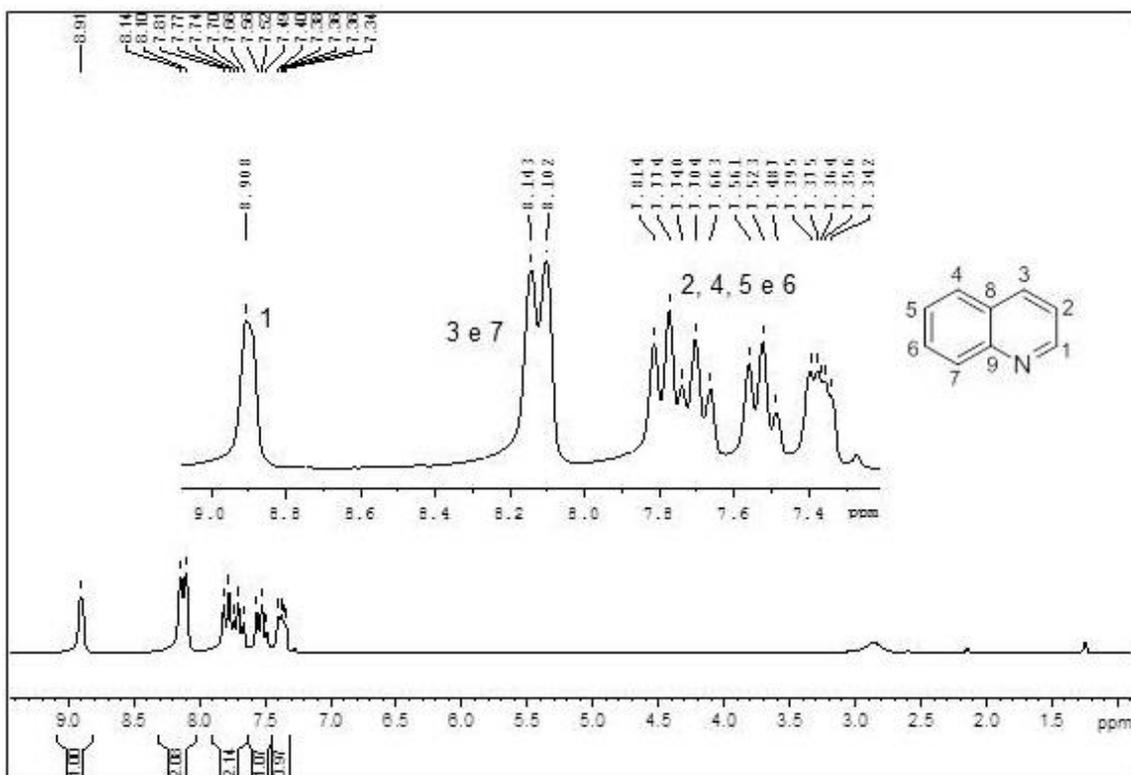
A metil-quinolina **1** foi obtida com 32% de rendimento após purificação por cromatografia em coluna de sílica (CCS). No espectro de RMN de 1H de **1** (Figura A.2, p. 158) observam-se os sinais referentes a seis hidrogênios aromáticos e o sinal dos hidrogênios metílicos. No espectro de RMN de ^{13}C de **1** (Figura A.3, p. 159) é possível observar os sinais atribuídos aos nove carbonos aromáticos do anel quinolínic, além do sinal referente ao carbono metílico em $\delta 18,04$.

Um dos subprodutos isolados e caracterizados (Figura 4.2) após purificação por CCS foi a quinolina **2** (15% de rendimento), que pode ter sido formada pela reação do glicerol com a anilina, resultante da redução do nitrobenzeno em seu papel oxidativo na última etapa.

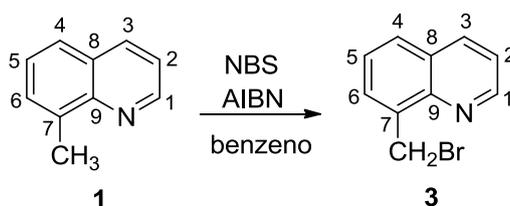


No espectro de RMN de 1H da quinolina **2** (subproduto), observam-se os sinais referentes aos 7 hidrogênios aromáticos.

Figura 4.2 – Espectro de RMN de ^1H da quinolina 2 (subproduto) (200 MHz, CDCl_3).



4.1.2 Obtenção de 8-(bromometil)quinolina (3)

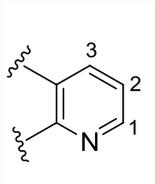


O derivado bromado **3** foi sintetizado por reação de bromação radicalar utilizando-se NBS, azobisisobutironitrila (AIBN) e benzeno como solvente. Após recristalização em éter de petróleo, obteve-se o produto com 48% de rendimento.

No espectro de RMN de ^1H de **3** (Figura A.5, p. 160) observa-se em δ 5,26 o sinal referente aos hidrogênios metilênicos com integral igual a 2 hidrogênios. Além disso, foi possível calcular as constantes de acoplamento (J) dos sinais referentes aos hidrogênios H-1, H-2 e H-3 do anel heterocíclico de **3**. Assim

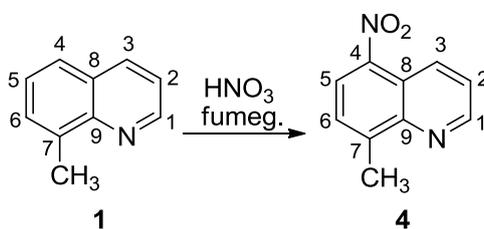
como na piridina, as constantes de acoplamento entre H-1/H-2 e H-2/H-3 são bastante distintas (4,1 e 8,2 Hz, respectivamente). Além disso, foi possível observar o acoplamento à longa distância (4J) entre H-1/H-3. Os valores encontrados são semelhantes aos descritos na literatura para esse tipo de anel (PAVIA, 2001) (**Figura 4.3**).

Figura 4.3 – Valores de J (Hz) descritos na literatura comparados aos de **3**.

	literatura	valor encontrado
	$^3J_{1,2} = 4,9-5,7$	4,1
	$^4J_{1,3} = 1,6-2,0$	1,6
	$^3J_{2,3} = 7,2-8,5$	8,2

No espectro de RMN de ^{13}C de **3** (**Figura A.6**, p. 160) observa-se o sinal referente ao carbono ligado ao bromo em $\delta 29,55$. No subespectro de DEPT 135 de **3**, é possível confirmar que se trata de um carbono metilênico.

4.1.3 Obtenção de 8-metil-5-nitroquinolina (**4**)



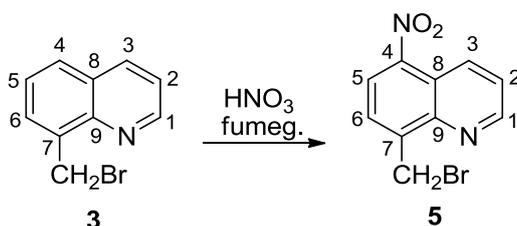
A quinolina nitrada **4** foi obtida por reação de substituição eletrofílica aromática utilizando-se ácido nítrico fumegante (86% de rendimento). A posição de entrada do grupo nitro (C-4) foi atribuída de acordo com dados descritos na literatura (EVANS *et al.*, 2005).

No espectro no infravermelho de **4** (**Figura A.7**, p. 161) são observadas as bandas referentes ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO_2 (1509 e 1324 cm^{-1}). No espectro de RMN de ^1H de **4** (**Figura A.8**, p. 161) observam-se os sinais referentes a cinco hidrogênios aromáticos. No espectro de RMN de ^{13}C de **4** (**Figura A.9**, p. 162) observa-se o sinal referente ao carbono ligado ao

grupo nitro, em deslocamento químico compatível com o de um carbono ligado a um substituinte retirador de elétrons (δ 146,12).

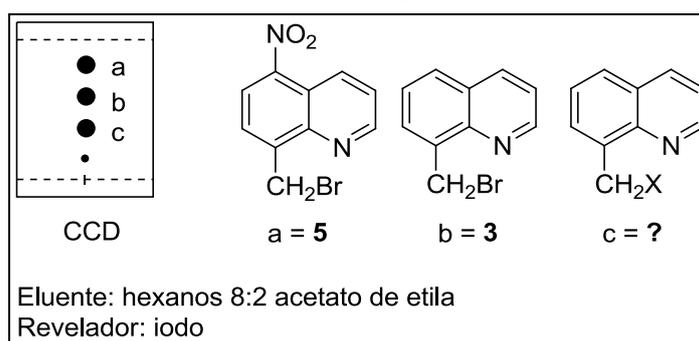
4.1.4 Obtenção de 8-bromometil-5-nitroquinolina (5)

Inicialmente a quinolina **5** foi sintetizada a partir do derivado bromado **3**, por reação de substituição eletrofílica aromática, utilizando-se ácido nítrico fumegante.



Entretanto o rendimento obtido nessa reação foi muito baixo (8%). Após elaboração da reação, foi possível observar por CCD a presença de três compostos diferentes, constituídos por 2 produtos e material de partida inalterado (**Figura 4.4**).

Figura 4.4 – Representação dos Compostos obtidos após reação de **3** com ácido nítrico fumegante.

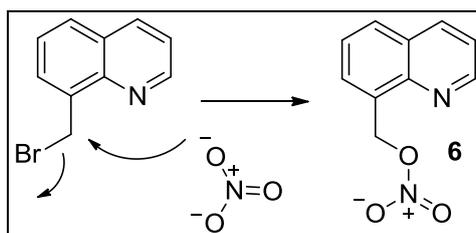


Esses compostos foram separados por CCS e caracterizados por espectroscopia no infravermelho e RMN de ^1H . A mancha “a” (5,0 mg, 8%) foi atribuída ao produto desejado **5** e a mancha “b” (17,6 mg) ao material de partida **3**. Já a mancha “c” (9,7 mg) não pôde ser elucidada somente por IV e RMN. Dessa forma esse subproduto foi submetido à espectroscopia de

massas. Após análise conjunta dos espectros, sugere-se que “c” pode se tratar de um produto apresentando um grupo nitrato na posição benzílica (**6**).

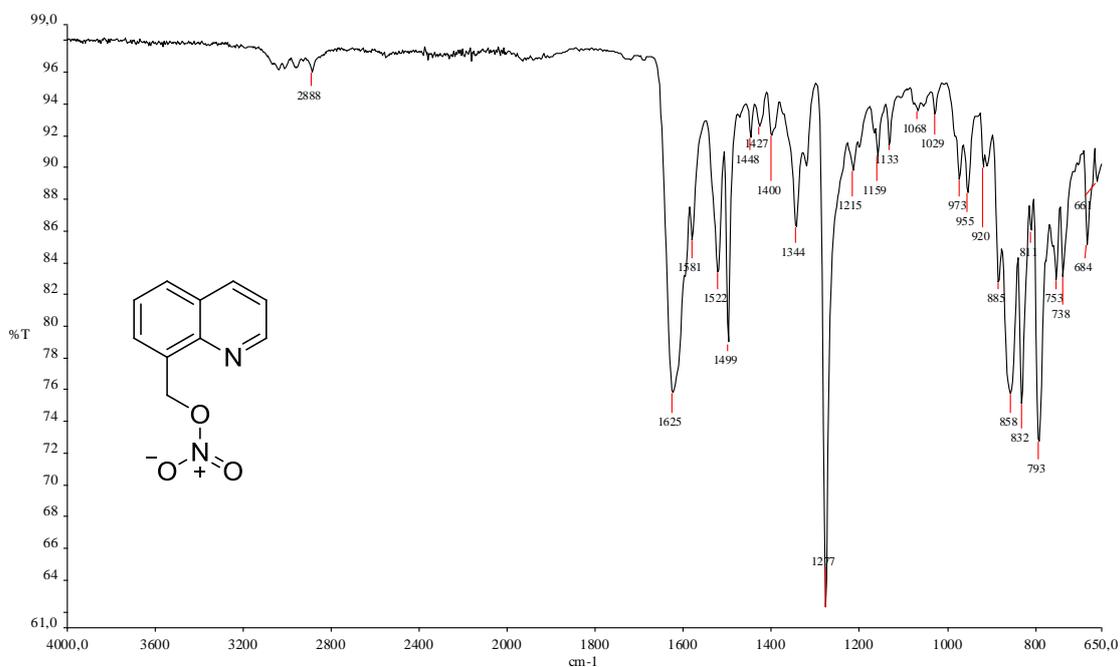
O ácido nítrico fumegante contém íons NO_3^- dissolvidos, que podem atuar como nucleófilo e substituir o brometo na posição benzílica, justificando, assim, a obtenção desse produto (**Figura 4.5**).

Figura 4.5 – Mecanismo proposto para a formação de 6.



No espectro no infravermelho de **6** observam-se duas bandas de intensidade forte, em 1625 e 1277 cm^{-1} , que foram atribuídas ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo nitrato (**Figura 4.6**).

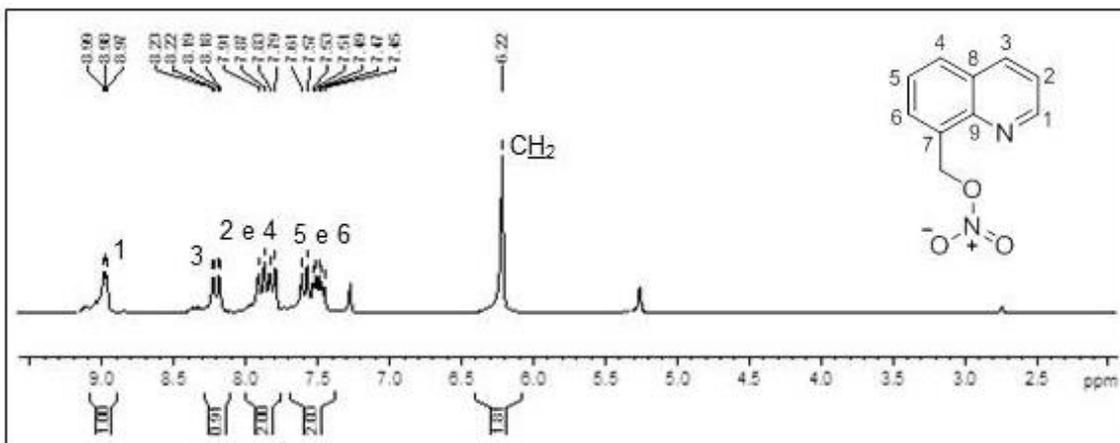
Figura 4.6 – Espectro no infravermelho de 6.



No espectro de RMN de ^1H de **6**, observam-se os sinais referentes a 6 hidrogênios aromáticos e o sinal referente aos hidrogênios benzílicos em $\delta 6,22$

(Figura 4.7). O valor do deslocamento químico do sinal dos hidrogênios benzílicos é compatível com a presença de um grupo vizinho fortemente retirador de elétrons.

Figura 4.7 – Espectro de RMN de ^1H de **6** (200 MHz, CDCl_3).



No espectro de massas de **6** não é possível observar o pico referente ao íon molecular. Entretanto, acredita-se que o íon molecular seja instável e se rearranje perdendo NO_2 para formar o derivado hidroxilado ($m/z = 160$), que aparece no espectro (Figuras 4.8 e 4.9).

Figura 4.8 – Espectro de massas ESI+ de **6**.

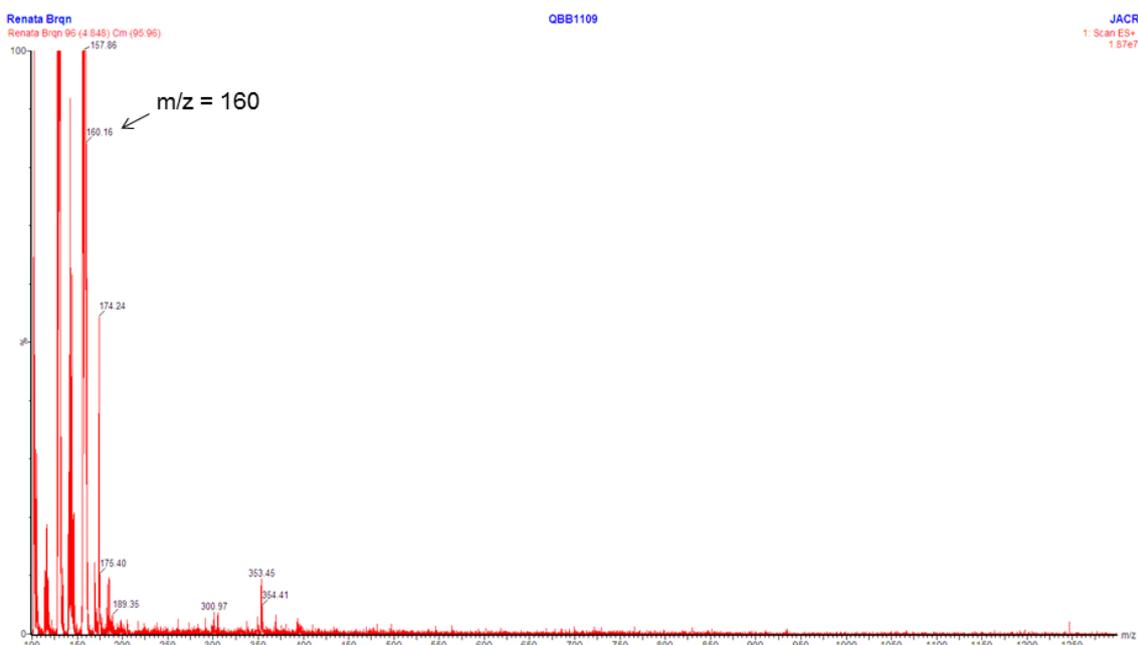
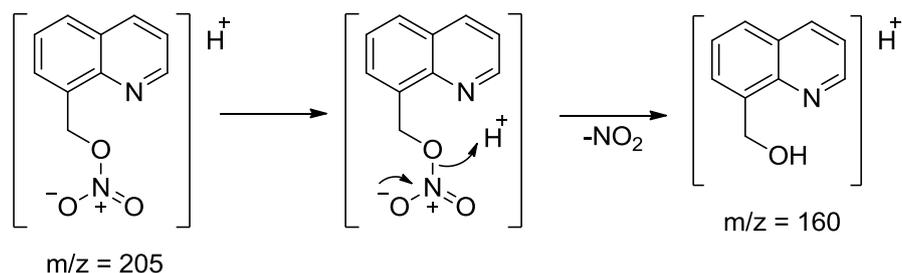
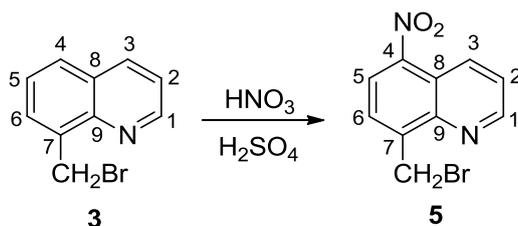


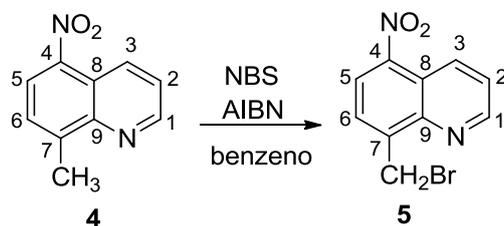
Figura 4.9 – Proposta de formação do produto hidroxilado detectado no espectro de massas ESI+.



Na tentativa de se obter um melhor rendimento para a síntese de **5**, tentou-se outro procedimento de nitração, descrito por HOWITZ e NOTHER (1907), utilizando ácido nítrico e ácido sulfúrico. Entretanto, o rendimento obtido com esse procedimento ainda foi muito baixo (11%).



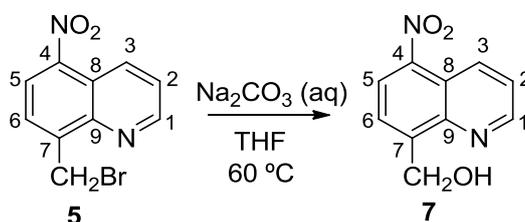
Devido ao baixo rendimento obtido nas reações anteriores, foi proposta uma nova rota de síntese, invertendo-se as etapas de reação. Na nova rota proposta realizou-se a bromação do derivado já nitrado.



Nessas condições, o produto **5** foi obtido com 56% de rendimento, após purificação por cromatografia em coluna de sílica.

No espectro no infravermelho de **5** (**Figura A.10, p. 162**) são observadas as bandas referentes ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO₂ (1511 e 1321 cm⁻¹). No espectro de RMN de ¹H de **5** (**Figura A.11, p. 163**) observa-se em δ 5,24 o sinal referente aos hidrogênios metilênicos com integral = 2H. No espectro de RMN de ¹³C de **5** (**Figura A.12, p. 163**) observa-se o sinal referente ao carbono ligado ao bromo (δ 27,77).

4.1.5 Obtenção de (5-nitroquinolin-8-il)metanol (**7**)



O derivado hidroxilado **7** foi sintetizado por reação de substituição nucleofílica, utilizando-se solução aquosa de carbonato de sódio e THF como solvente. Após purificação por CCS, obteve-se o produto com 46% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **7** (**Figura A.13, p. 164**) observa-se banda em 3265 cm⁻¹ referente ao estiramento de O-H. No espectro de RMN de ¹H de **7** (**Figura A.14, p. 164**) observa-se em δ 5,36 o sinal referente aos hidrogênios metilênicos (CH₂OH). No espectro de RMN de ¹³C de **7** (**Figura A.15, p. 165**) observa-se o sinal referente ao carbono ligado à hidroxila (δ 61,63).

Durante a reação observou-se que a mistura reacional era composta de duas diferentes fases: fase aquosa e fase orgânica. Na tentativa de se otimizar o rendimento (46%), repetiu-se a reação utilizando acetona como solvente para que não houvesse separação de fases e, possivelmente, aumentar o rendimento.

Entretanto, utilizando essa condição de reação, após elaboração e purificação por CCS, observou-se, com auxílio dos espectros de RMN e no IV, que não se tratava do produto desejado **7**. Nos espectros de RMN foi possível observar a

presença de outros sinais, além dos sinais esperados para o composto **7**. Como todos os sinais apresentavam integral de valor proporcional, pensou-se inicialmente se tratar de um único composto descartando a possibilidade de um contaminante.

Entretanto, após análise mais detalhada dos espectros, foi proposto que poderia se tratar de uma mistura ~ 1:1 do composto **7** e um subproduto **8**. Esse subproduto seria resultante de uma reação envolvendo a acetona utilizada como solvente da reação. Como esse subproduto possui o mesmo R_f que **7**, foi isolada, então, a mistura desses dois compostos (**Figuras 4.10 a 4.12**). A atribuição dos sinais foi totalmente compatível com a presença desses dois produtos.

Figura 4.10 – Espectro de RMN de ¹H da mistura de **7** e subproduto **8** (200 MHz, CDCl₃).

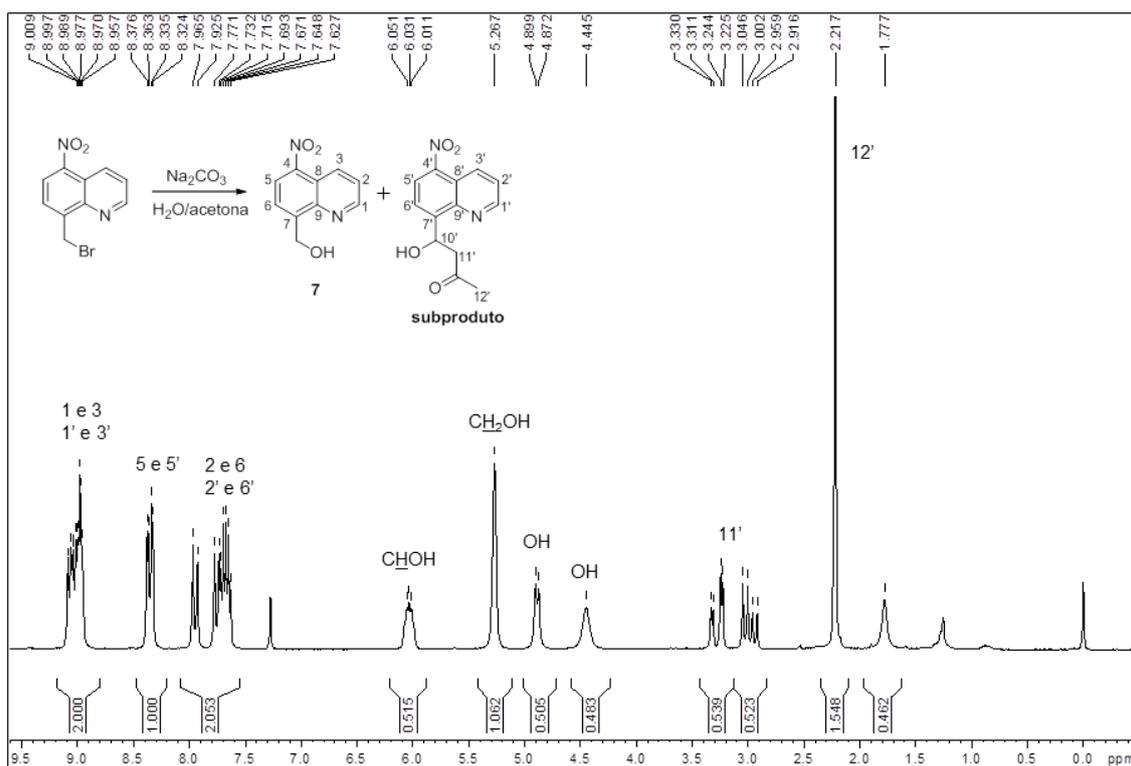


Figura 4.11 – Espectro de RMN de ^{13}C da mistura de 7 e subproduto 8 (50 MHz, CDCl_3).

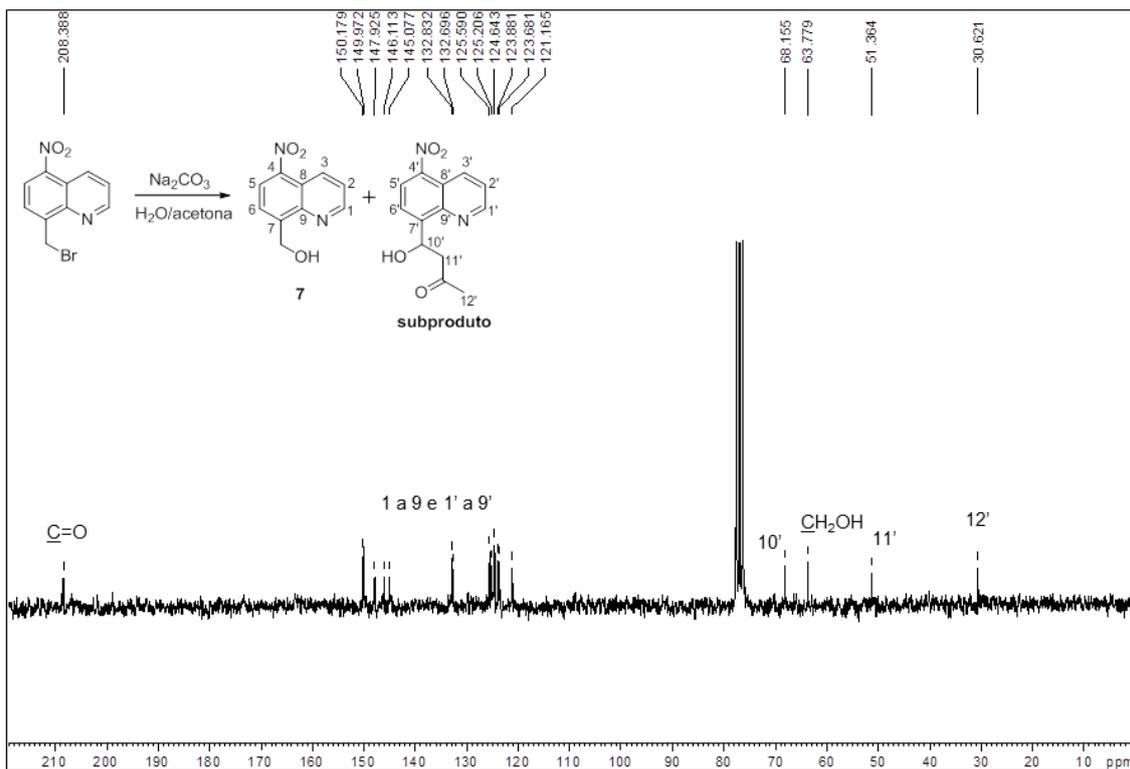
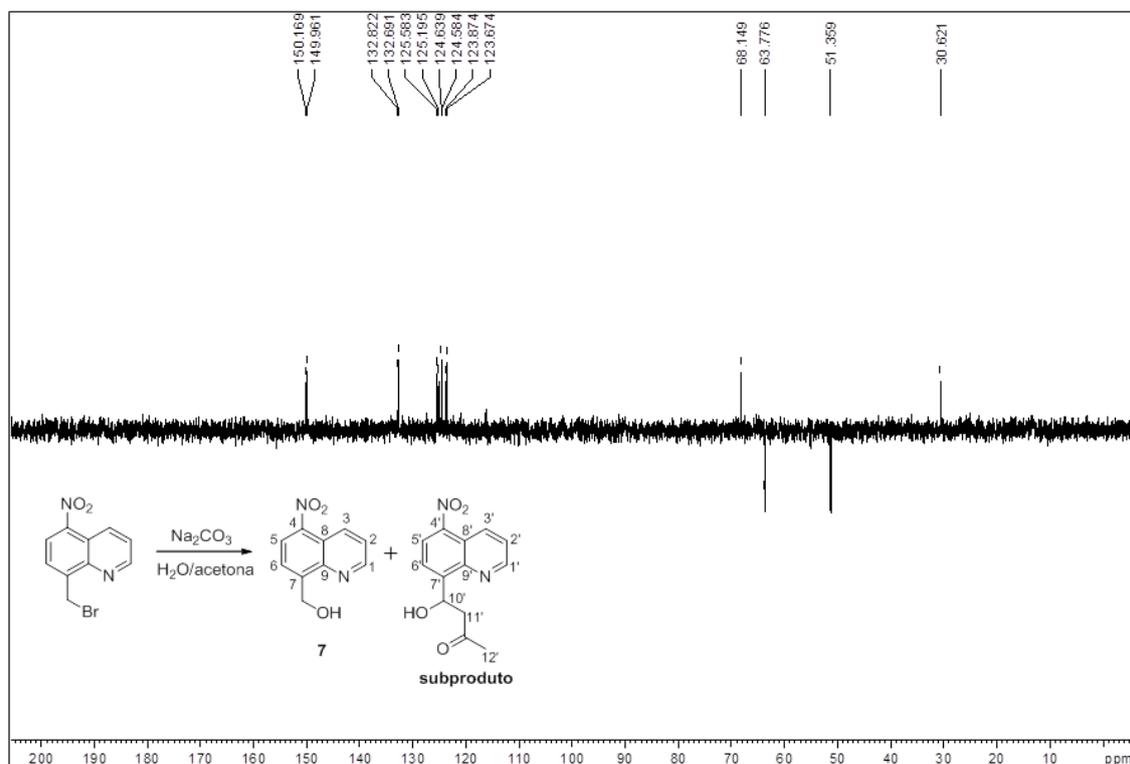
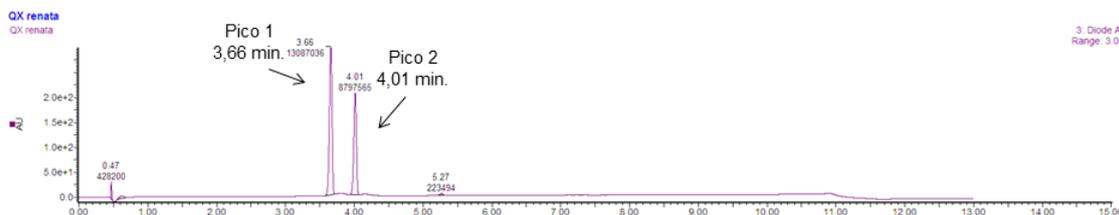


Figura 4.12 – Subespectro de DEPT 135 da mistura de 7 e subproduto 8 (50 MHz, CDCl_3).



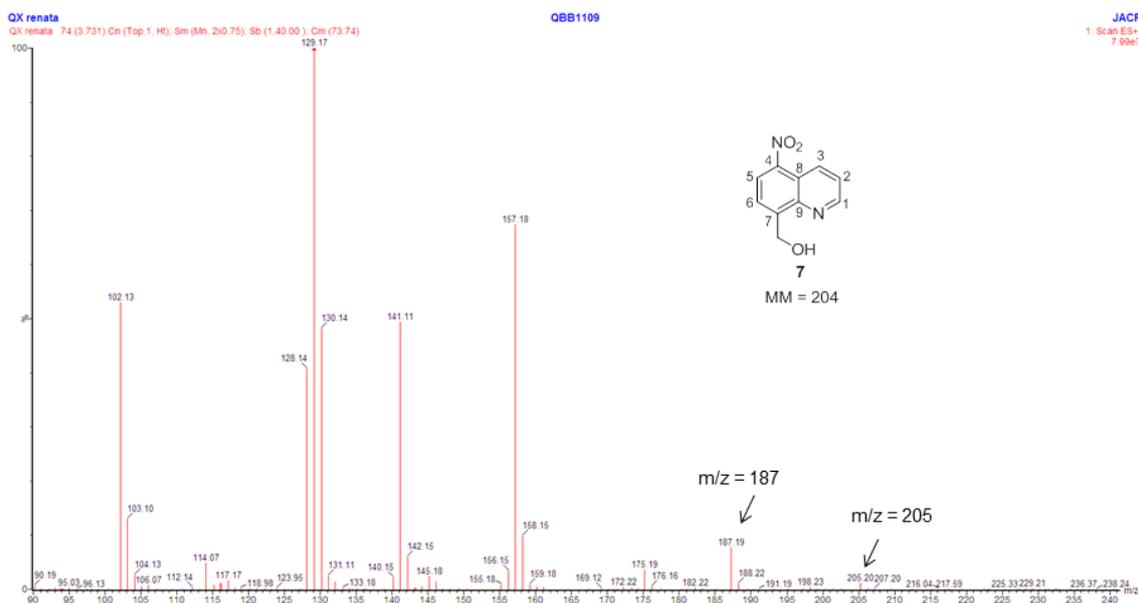
A fim de se confirmar o que foi proposto, a mistura foi submetida à LC-MS. No cromatograma (**Figura 4.13**) é possível observar a presença de 2 picos majoritários, confirmando a proposta que se trata de uma mistura de produtos.

Figura 4.13 – Cromatograma da mistura de 7 e subproduto 8.



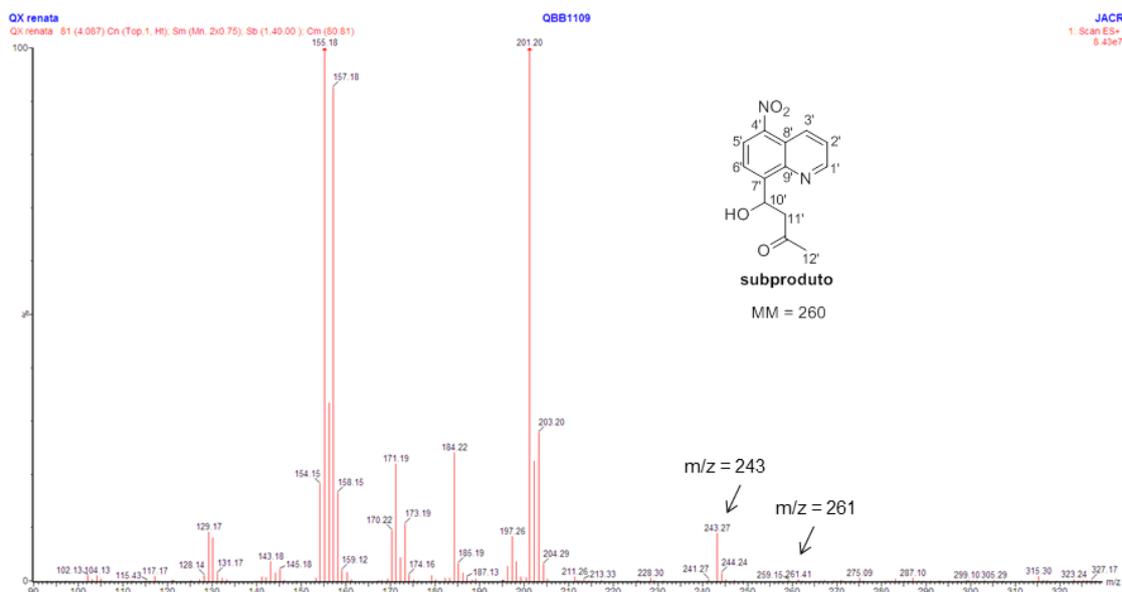
No espectro de massas ESI+ do composto referente ao pico 1 (**Figura 4.14**), é possível observar um pico em $m/z = 187$, referente a uma desidratação do íon molecular do composto **7** ($M + H^+ - H_2O$). O pico referente ao íon molecular também é detectado ($m/z = 205$), porém com uma intensidade muito menor.

Figura 4.14 – Espectro de massas ESI+ referente ao pico 1 do cromatograma.



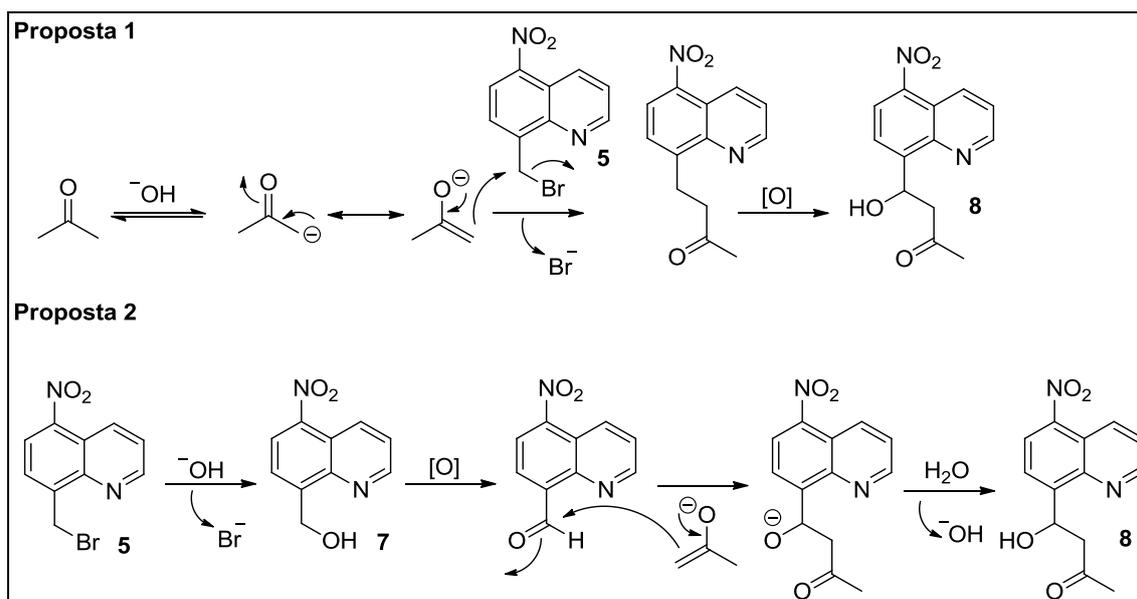
No espectro de massas ESI+ do composto referente ao pico 2 (**Figura 4.15**), é possível observar um pico em $m/z = 243$, referente a uma desidratação do íon molecular do subproduto **8** ($M + H^+ - H_2O$). O pico referente ao íon molecular também é detectado ($m/z = 261$), porém em uma intensidade muito menor.

Figura 4.15 – Espectro de massas ESI+ referente ao pico 2 do cromatograma.

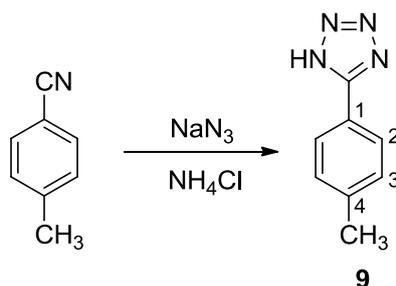


Duas propostas de mecanismo para formação do subproduto **8** foram representadas na **Figura 4.16**. Na proposta 1, o enolato da acetona seria alquilado por reação com uma molécula do material de partida **5** e, em seguida, ocorreria uma oxidação na posição benzílica para formação do composto **8**. O produto da oxidação de um carbono benzílico já foi previamente descrito em trabalhos desenvolvidos por nosso grupo de pesquisa (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Acredita-se que essa oxidação seja favorecida pela presença do oxigênio molecular. Na segunda proposta, o subproduto **8** seria obtido após oxidação do álcool **7** a um aldeído, seguida de uma adição aldólica envolvendo esse composto e o enolato formado a partir da acetona. Ambas as propostas dependem de uma etapa de oxidação para ocorrerem, sendo necessário, assim, repetir a reação na ausência de oxigênio (atmosfera inerte e meio de reação desaerado) para confirmação dessa hipótese.

Figura 4.16 – Propostas de mecanismo para formação do subproduto 8.



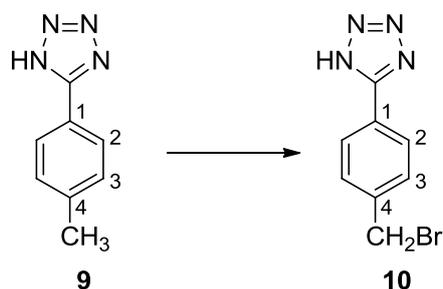
4.1.6 Obtenção do 5-(4-toluil)-1H-tetrazol (9)



O tetrazol **9** foi obtido por reação da *p*-tolunitrila com azida de sódio em presença de cloreto de amônio (MAXWELL *et al.*, 1984). O produto foi obtido com 85% de rendimento.

No espectro de RMN de ^1H de **9** (Figura A.17, p. 166) observam-se os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos e um sinal em δ 2,36, referente aos hidrogênios do grupo metila. No espectro de RMN de ^{13}C de **9** (Figura A.18, p. 166) observa-se, além dos sinais dos carbonos do anel benzênico, o sinal referente ao carbono do anel tetrazólico em δ 155,12.

4.1.7 Obtenção do 5-(4-(bromometil)fenil)-1H-tetrazol (10)



O derivado bromado **10** foi obtido por reação de bromação benzílica radicalar, utilizando-se NBS. Para obtenção de **10** foram testadas diversas condições de reação, variando-se solventes, proporções e reagentes, buscando-se a melhor condição para obtenção do produto bromado (**Tabela 4.1**).

Tabela 4.1 – Condições de reação para preparo de 10.

Condição	NBS (equiv.)	Iniciador radicalar / equiv.	Solvente	Tempo
1	1,1	peróxido de benzoíla / 0,02	benzeno	7 h
2	1,1	peróxido de benzoíla / 0,02	benzeno	18 h
3	1,1	peróxido de benzoíla / 0,02	THF	18 h
4	1,1	peróxido de benzoíla / 0,02	CCl_4	18 h
5	1,1	AIBN / 0,1	benzeno	18 h
6	1,1	AIBN / 0,1	benzeno	48 h
7	1,1	AIBN / 0,1	benzeno anidro	48 h
8	2,0	AIBN / 0,1	benzeno	18 h
9	2,0	AIBN / 0,1	benzeno	24 h
10	2,5	AIBN / 0,1	benzeno	48 h

Inicialmente foi empregada a condição 1, descrita na **tabela 4.1**, para o preparo do composto **10**. A reação não pôde ser acompanhada por CCD, já que o material de partida e o produto possuem o mesmo fator de retenção (Rf). Dessa forma, após elaboração, a análise do espectro de RMN de ^1H evidenciou que não houve consumo total do material de partida.

Como é difícil separar o material de partida do produto, uma vez que os dois possuem o mesmo Rf, empregaram-se outras condições na tentativa de se otimizar a reação para que houvesse consumo total do material de partida. Na

2ª condição testada, aumentou-se o tempo de reação mantendo-se os reagentes e proporções, entretanto não houve diferença significativa.

Nas condições 3 e 4 substituiu-se o benzeno por THF e CCl₄, respectivamente. Nessas condições não houve consumo do material de partida.

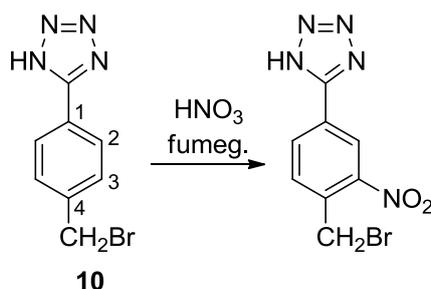
Substituindo-se o peróxido de benzoíla por AIBN (condição 5) também não houve consumo total do material de partida, nem mesmo após 48 horas de reação (condição 6).

A utilização de benzeno anidro como solvente (condição 7) foi desfavorável em relação ao benzeno não-tratado, uma vez que nessa condição quase não houve formação do produto bromado. Nas condições 8 e 9, aumentando-se a proporção de NBS, observou-se uma melhora significativa quando a reação permaneceu por 24 horas, porém não houve consumo total do material de partida.

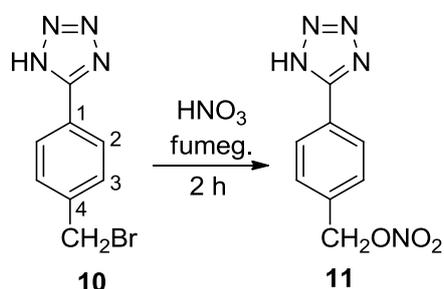
Na condição 10, aumentando-se ainda mais a proporção de NBS (2,5 equivalentes) e o tempo de reação de 48 horas notou-se o consumo total do tetrazol **9**. O produto bromado **10** foi obtido com 27% de rendimento.

No espectro de RMN de ¹H de **10** (Figura A.20, p. 167) observa-se o sinal referente aos hidrogênios metilênicos (δ 4,78), com integral igual a 2 hidrogênios.

4.1.8 Tentativa de síntese do 5-(3-nitro-4-(bromometil)fenil)-1H-tetrazol



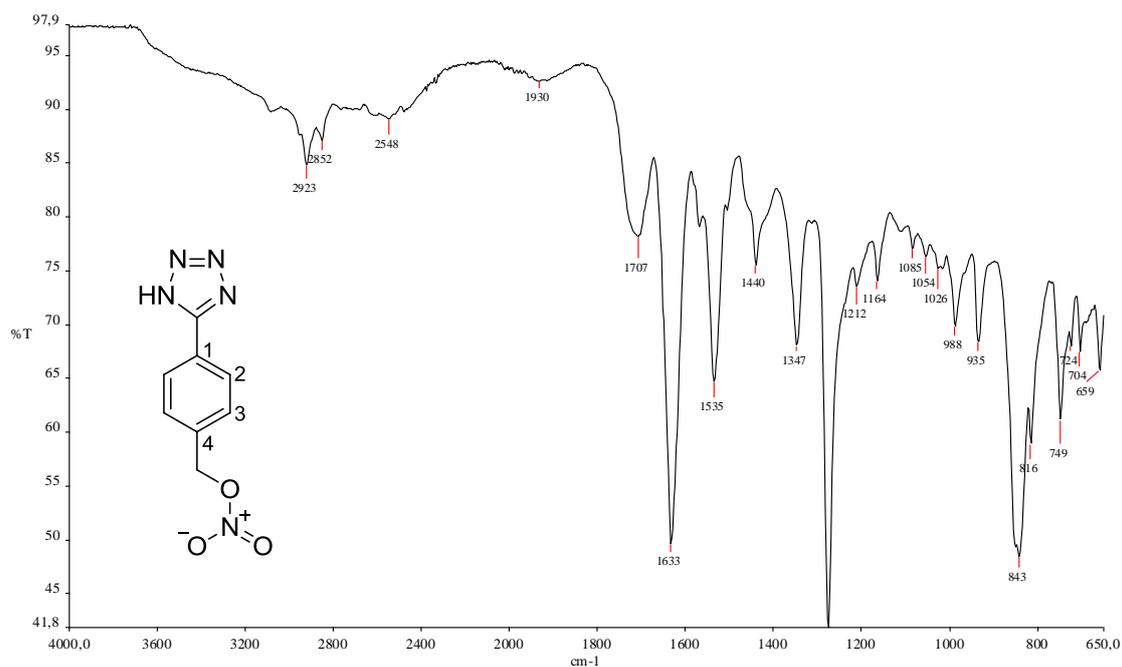
Para obtenção do composto tetrazólico nitrado, tentou-se a reação de **10** com ácido nítrico fumegante. Inicialmente, a reação foi mantida por 30 minutos, em banho de gelo. Após elaboração e análise por RMN de ^1H , observou-se que não ocorreu a nitração, recuperando-se assim o material de partida. Em uma segunda tentativa, a reação foi mantida por 2 horas. A nitração também não ocorreu, entretanto, observou-se que o material isolado não se tratava do material de partida. Acredita-se, com base na análise de seus espectros, que tenha se formado o produto nitrato (**11**), de forma semelhante à descrita no item 4.1.4.



Em uma terceira tentativa, deixou-se a reação de nitração por 18 horas a fim de se obter o produto apresentando o nitrato na posição benzílica, porém, também apresentando o grupo nitro no anel benzênico. Novamente a reação de nitração do anel não ocorreu e foi isolado somente o nitrato **11**. Esse produto foi caracterizado por espectroscopia no infravermelho e RMN (**Figuras 4.17 a 4.19**).

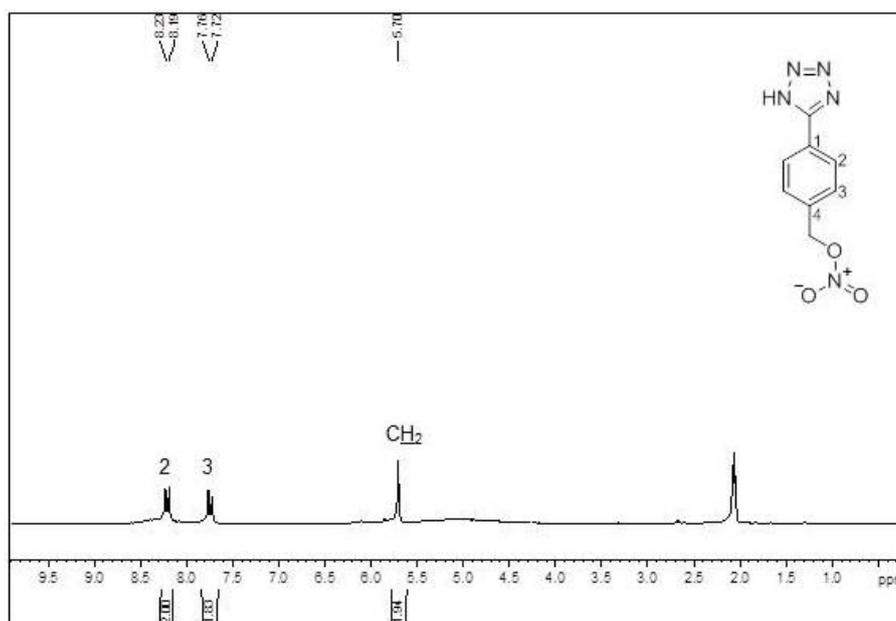
No espectro no infravermelho de **11** são observadas as bandas referentes ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo nitrato (1633 e 1275 cm^{-1}).

Figura 4.17 – Espectro no infravermelho de 11.



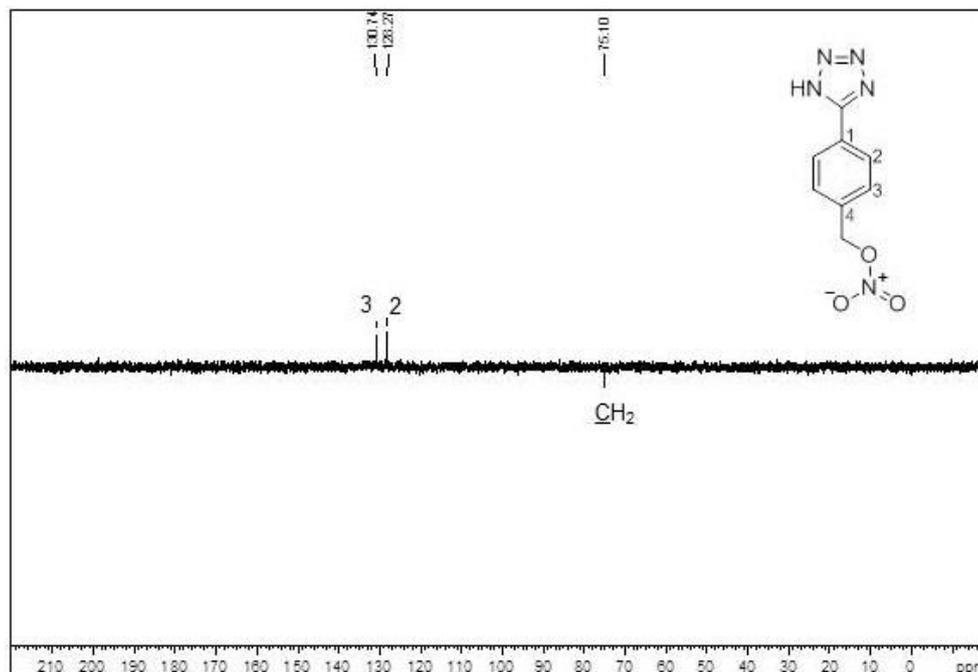
No espectro de RMN de ^1H de 11 observam-se os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos com multiplicidade característica de anel *p*-dissubstituído. Essa multiplicidade confirma que não ocorreu a reação de nitração do anel. Além disso, observa-se o sinal referente aos hidrogênios benzílicos em δ 5,70.

Figura 4.18 – Espectro de RMN de ^1H de 11 (200 MHz, acetona- d_6).

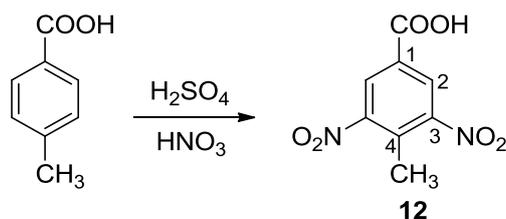


No subespectro de DEPT 135 de **11** observa-se sinal em $\delta 75,10$, referente ao carbono benzílico. Esse deslocamento é compatível com o de um carbono ligado ao oxigênio.

Figura 4.19 – Subespectro de DEPT 135 de **11** (50 MHz, acetona- d_6).



4.1.9 Obtenção do ácido 4-metil-3,5-dinitrobenzóico (**12**)

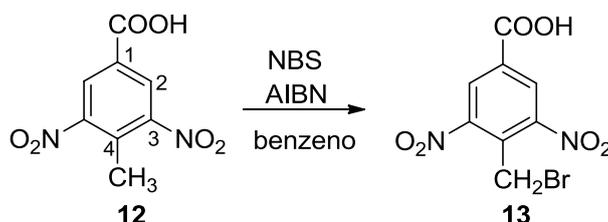


O produto dinitrado **12** foi obtido por reação de substituição eletrofílica aromática, utilizando ácido nítrico e ácido sulfúrico (JAMES e YONGHUI, 2010) com 98% de rendimento.

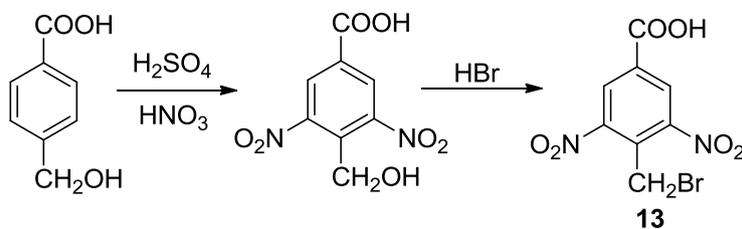
No espectro no infravermelho de **12** (Figura A.21, p. 168) são observadas as bandas referentes ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO₂ (1531 e 1343 cm⁻¹). No espectro de RMN de ¹H de **12** (Figura A.22, p. 168) observa-se um único sinal na região de hidrogênios aromáticos ($\delta 8,66$), com integral igual

a 2 hidrogênios, confirmando o padrão de substituição do anel com a presença de dois grupos nitro. No espectro de RMN de ^{13}C de **12** (Figura A.23, p. 169) observa-se o sinal referente ao carbono ligado ao grupo nitro (δ 152,55).

4.1.10 Obtenção do ácido 4-(bromometil)-3,5-dinitrobenzóico (**13**)

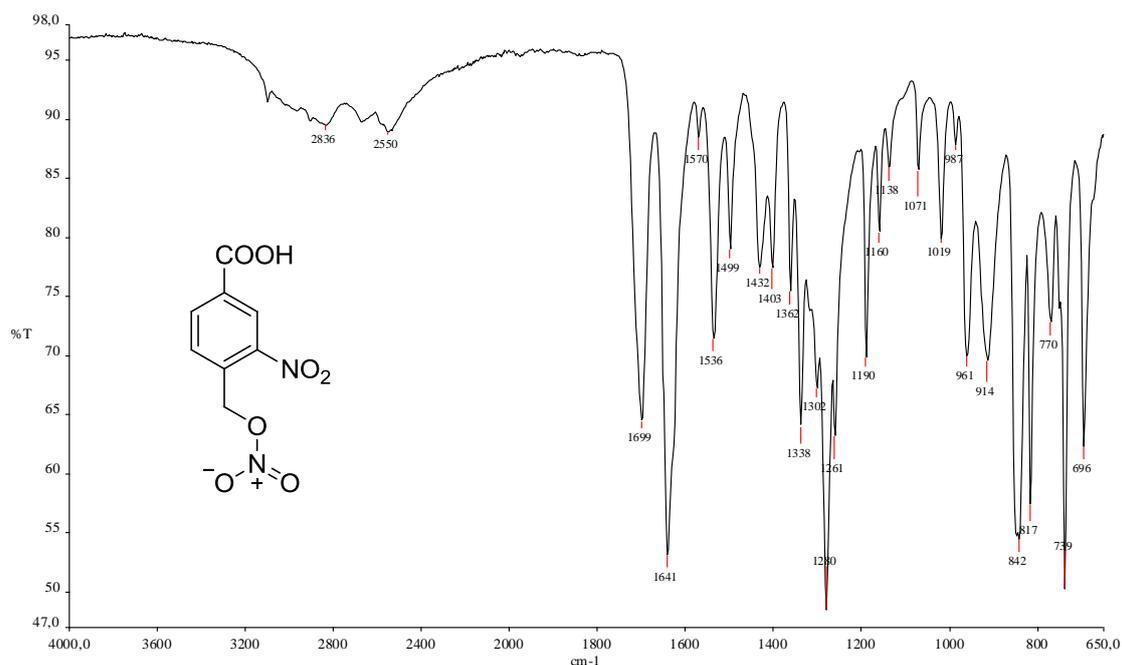


Para obtenção do produto bromado **13**, inicialmente, tentou-se a mesma técnica de bromação radicalar descrita para obtenção de **10**. Entretanto, análise do espectro de RMN de ^1H evidenciou que ainda restava grande quantidade do material de partida. Como é difícil separar o material de partida do produto, uma vez que os dois possuem o mesmo R_f , tentou-se uma nova rota sintética para obtenção de (**13**).



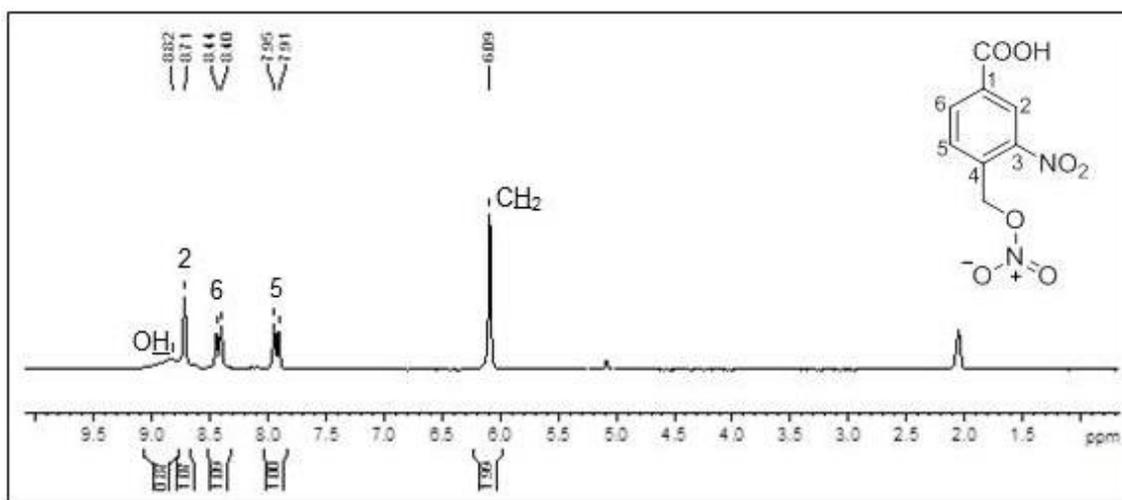
A nova rota proposta não pôde ser realizada, já que, na primeira etapa, não foi obtido o produto desejado e sim um produto mononitrado, apresentando um grupo nitrato na posição benzílica (**14**), formado de forma semelhante à descrita no item 4.1.4. Esse subproduto foi caracterizado por espectroscopia no infravermelho e RMN (Figuras 4.20 a 4.22).

Figura 4.20 – Espectro no infravermelho do produto nitrato 14.



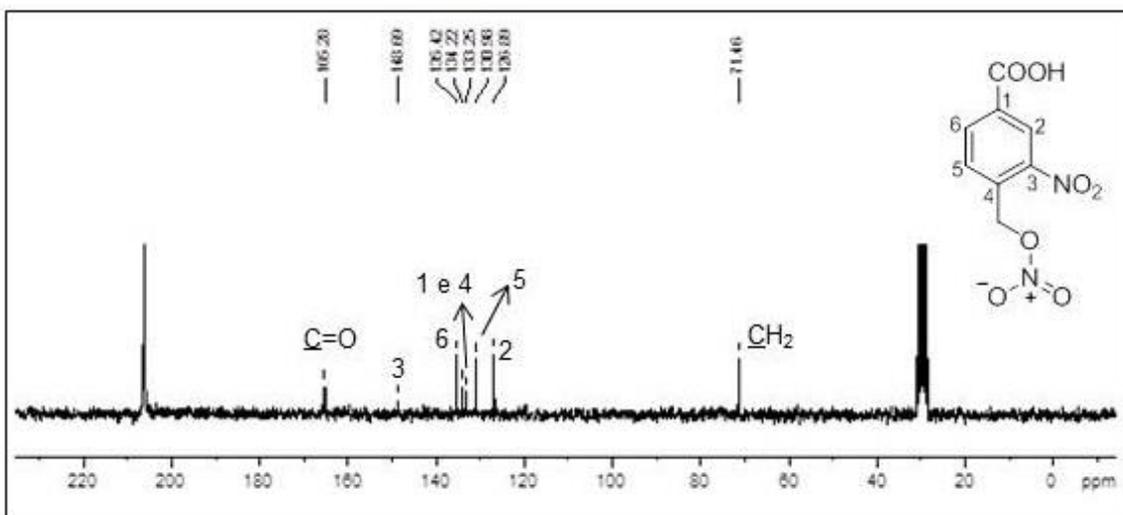
No espectro no infravermelho de **14** são observadas as bandas referentes ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO₂ (1536 e 1338 cm⁻¹) e ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo nitrato (1641 e 1280 cm⁻¹).

Figura 4.21 – Espectro de RMN de ¹H do produto nitrato 14 (200 MHz, acetona-d₆).



No espectro de RMN de ¹H de **14** observam-se os sinais referentes aos 3 hidrogênios aromáticos, ao hidrogênio ácido do grupo carboxila e aos hidrogênios benzílicos em δ 6,09.

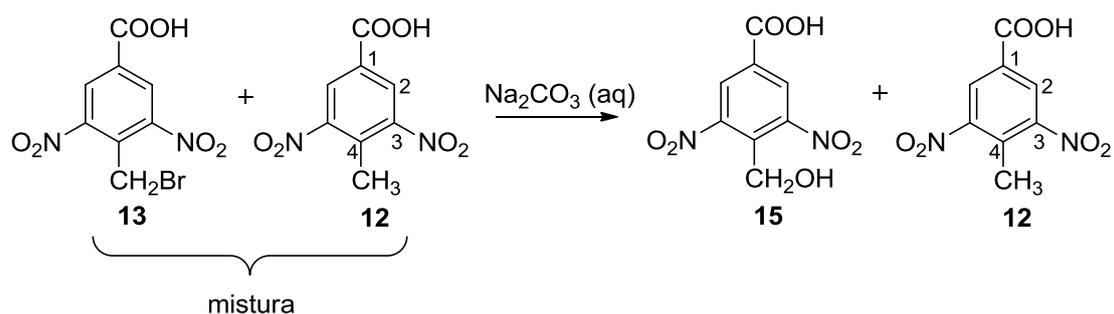
Figura 4.22 – Espectro de RMN de ^{13}C do produto nitrato **14** (50 MHz, acetona- d_6).



No espectro de RMN de ^{13}C de **14** observa-se sinal em $\delta 71,46$, referente ao carbono benzílico. Esse deslocamento é compatível com o de um carbono ligado a oxigênio.

Dessa forma, como não foi obtido o produto desejado, a mistura obtida na reação de bromação radicalar da primeira rota proposta foi utilizada, sem purificação, na próxima etapa.

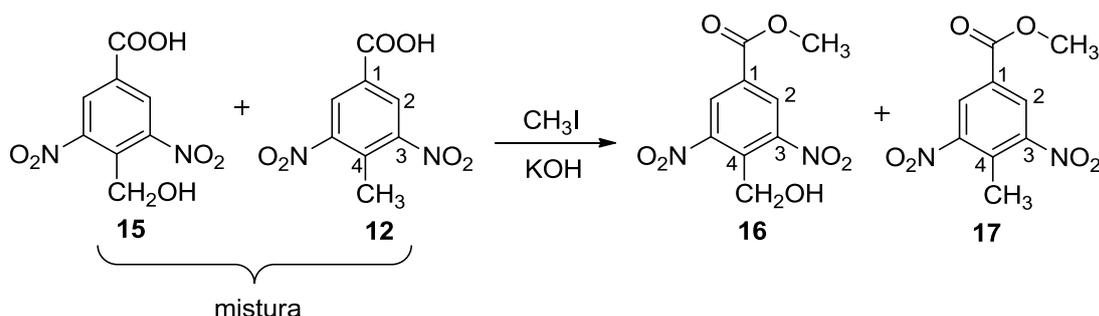
4.1.11 Obtenção do ácido 4-(hidroximetil)-3,5-dinitrobenzóico (**15**)



O derivado álcool **15** foi sintetizado por reação de substituição nucleofílica, utilizando-se carbonato de sódio. Como foi utilizada uma mistura dos derivados **13** e **12** na reação, foram obtidos como produtos o composto **15**, por substituição do brometo pela hidroxila, e o derivado **12** que não sofreu reação.

Como os produtos são ácidos carboxílicos e, sabendo-se que a purificação de ácidos por CCS é dificultada pelo seu perfil cromatográfico, realizou-se na etapa seguinte a esterificação desses ácidos para facilitar a purificação.

4.1.12 Obtenção de 4-(hidroximetil)-3,5-dinitrobenzoato de metila (**16**) e de 4-metil-3,5-dinitrobenzoato de metila (**17**)



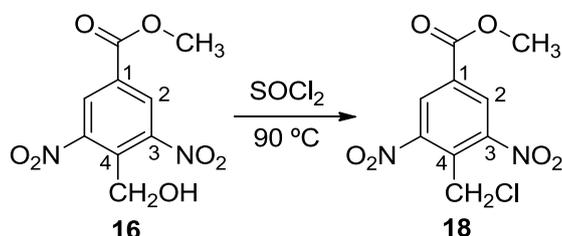
O derivado éster-álcool **16** foi obtido por reação com iodeto de metila em presença de KOH (ANDRADE *et al.*, 2014). Após purificação por CCS, o produto **16** foi obtido com 16% de rendimento a partir do derivado **12** (rendimento global - 3 etapas). O composto **17** também foi isolado com 23% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **16** (Figura A.24, p. 169) são observadas as bandas referentes ao estiramento de O-H (3481 cm^{-1}) e à carbonila de éster (1715 cm^{-1}). No espectro de RMN de ^1H de **16** (Figura A.25, p. 170) observa-se sinal em $\delta 5,05$, referente aos hidrogênios benzílicos e um sinal em $\delta 4,00$, referente aos hidrogênios metílicos. No espectro de RMN de ^{13}C de **16** (Figura A.26, p. 170) observa-se sinal referente ao carbono da carbonila do éster ($\delta 163,81$) e um sinal referente ao carbono ligado à hidroxila ($\delta 57,73$).

No espectro no infravermelho de **17** (Figura A.27, p. 171) é observada a banda referente à carbonila de éster (1723 cm^{-1}). No espectro de RMN de ^1H de **17** (Figura A.28, p. 171) observa-se sinal em $\delta 2,64$, referente aos hidrogênios benzílicos com integral igual a 3 hidrogênios e um sinal em $\delta 4,02$, referente ao grupo OCH_3 . No espectro de RMN de ^{13}C de **17** (Figura A.29, p. 172)

observam-se os sinais referentes ao carbono da carbonila do éster (δ 163,00), ao carbono benzílico (δ 15,21) e ao grupo OCH_3 (δ 53,28).

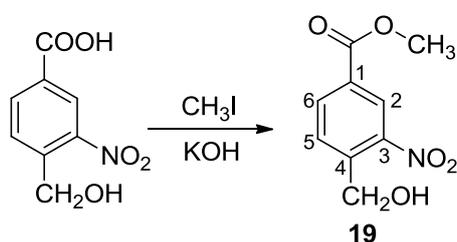
4.1.13 Obtenção de 4-(clorometil)-3,5-dinitrobenzoato de metila (18)



O produto clorado **18** foi obtido por reação do álcool **16** com cloreto de tionila à temperatura de 90 °C. Após purificação por CCS, **18** foi obtido com 44% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **18** (Figura A.30, p. 172) não é observada a banda referente ao estiramento de O-H. No espectro de RMN de ^1H de **18** (Figura A.31, p. 173) observa-se sinal em δ 5,07, referente aos hidrogênios benzílicos. No espectro de RMN de ^{13}C de **18** (Figura A.32, p. 173) observa-se o sinal referente ao carbono ligado ao cloro (δ 34,76).

4.1.14 Obtenção de 4-(hidroximetil)-3-nitrobenzoato de metila (19)

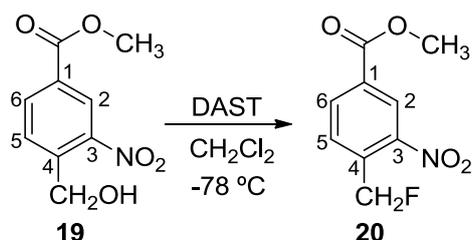


O derivado éster-álcool **19** foi obtido por reação com iodeto de metila em presença de KOH (ANDRADE *et al.*, 2014). A esterificação do derivado carboxilado se tornou necessária para a realização da próxima etapa de síntese, que consiste na introdução do átomo de flúor na posição benzílica, utilizando DAST. Quando a reação é realizada com um composto que contenha

um grupo ácido carboxílico livre, é obtido o fluoreto de acila correspondente, o que inviabiliza a reação. Após purificação por CCS, o produto **19** foi obtido com 73% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **19** (Figura A.33, p. 174) é observada a banda referente à carbonila de éster (1720 cm^{-1}). No espectro de RMN de ^1H de **19** (Figura A.34, p. 174) observa-se sinal em $\delta 3,97$, referente ao grupo OCH_3 . No espectro de RMN de ^{13}C de **19** (Figura A.35, p. 175) observam-se, dentre outros, os sinais referentes ao carbono da carbonila do éster ($\delta 164,91$), ao carbono benzílico ($\delta 61,98$) e ao grupo OCH_3 ($\delta 52,72$).

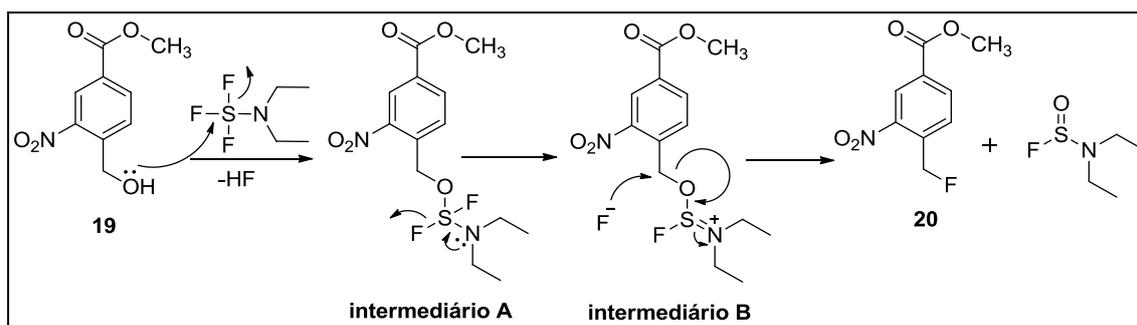
4.1.15 Obtenção de 4-(fluorometil)-3-nitrobenzoato de metila (20)



O derivado fluorado **20** foi sintetizado por reação de fluoração nucleofílica utilizando-se o DAST (MIDDLETON, 1975). Após purificação por CCS, o produto **20** foi obtido com 30% de rendimento.

Uma proposta de mecanismo para reação do álcool **19** com o DAST está ilustrada na Figura 4.23 (SINGH e SHREEVE, 2002).

Figura 4.23 – Proposta de mecanismo para reação de fluoração com DAST.

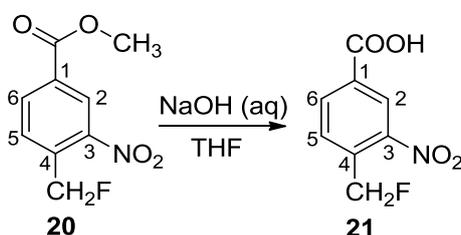


Em uma primeira etapa ocorre o ataque nucleofílico do oxigênio do álcool ao átomo de enxofre do DAST, com a consequente liberação de fluoreto de hidrogênio. Em seguida, liberação de fluoreto assistida pelo par de elétrons do nitrogênio amínico resulta na formação do **intermediário B**. Ataque nucleofílico do fluoreto liberado ao carbono benzílico desse intermediário, leva à formação do produto fluorado desejado.

No espectro no infravermelho de **20** (**Figura A.36, p. 175**) é observada a banda referente ao estiramento da ligação C-F (1010 cm^{-1}). No espectro de RMN de ^1H de **20** (**Figura A.37, p. 176**) observa-se sinal em $\delta 5,97$, referente a CH_2F . A multiplicidade do sinal (duplete) é uma evidência da obtenção do produto fluorado, pois é resultante do acoplamento entre os hidrogênios e o átomo de flúor. O valor da constante de acoplamento encontrada (47,6 Hz) está de acordo com o esperado para acoplamentos $^2J_{\text{H,F}}$ (44-81 Hz; PAVIA, 2001).

No espectro de RMN de ^{13}C de **20** (**Figura A.38, p. 176**) observa-se o sinal referente ao carbono benzílico ($\delta 82,02$). Esse sinal apresenta-se como um duplete devido ao acoplamento do carbono com o átomo de flúor. O valor da constante de acoplamento encontrada (170,0 Hz) está de acordo com o esperado para acoplamentos $^1J_{\text{C,F}}$ (165-370 Hz; PAVIA, 2001).

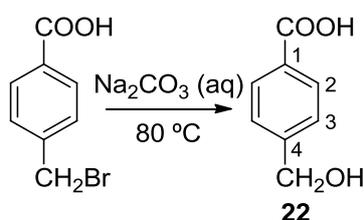
4.1.16 Obtenção do ácido 4-(fluorometil)-3-nitrobenzóico (**21**)



O ácido **21** foi obtido por reação de hidrólise, em meio básico, do éster **20**. O produto foi obtido com 80% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **21** (Figura A.39, p. 177) são observadas as bandas referentes ao estiramento de O-H ($3300-2200\text{ cm}^{-1}$) e C-O de carbonila de ácido carboxílico (1687 cm^{-1}).

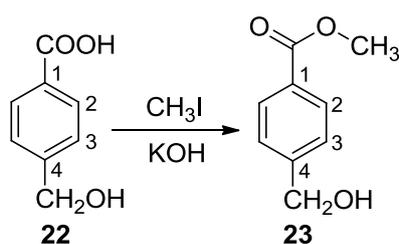
4.1.17 Obtenção do ácido 4-(hidroximetil)benzóico (**22**)



O derivado álcool **22** foi sintetizado por reação de substituição nucleofílica, utilizando-se carbonato de sódio. O produto foi obtido com 68% de rendimento.

No espectro de RMN de ¹H de **22** (Figura A.43, p. 179) observa-se em $\delta 4,67$ o sinal referente aos hidrogênios benzílicos (CH₂OH). No espectro de RMN de ¹³C de **22** (Figura A.44, p. 179) observa-se o sinal referente ao carbono ligado à hidroxila ($\delta 64,58$).

4.1.18 Obtenção de 4-(hidroximetil)benzoato de metila (**23**)

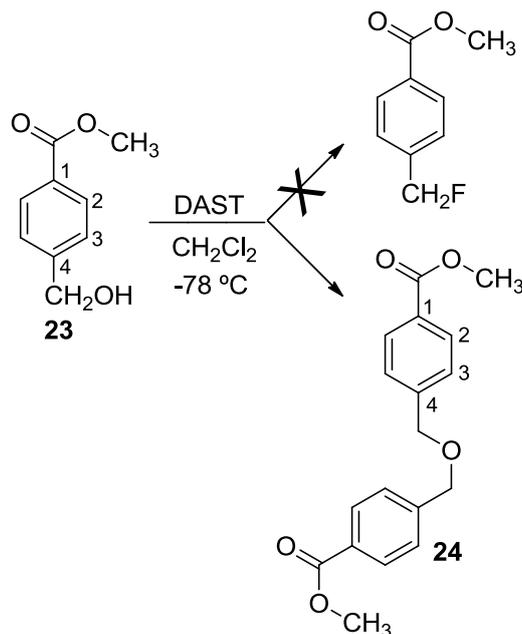


O derivado éster-álcool **23** foi obtido por reação com iodeto de metila em presença de KOH (ANDRADE *et al.*, 2014). Após purificação por CCS, o produto foi obtido com 76% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **23** (Figura A.45, p. 180) é observada a banda referente à carbonila de éster (1719 cm^{-1}). No espectro de RMN de ¹H de **23**

(Figura A.46, p. 180) observa-se sinal em δ 3,89, referente ao grupo OCH_3 . No espectro de RMN de ^{13}C de **23** (Figura A.47, p. 181) observam-se os sinais referentes ao carbono da carbonila do éster (δ 167,02), ao carbono benzílico (δ 64,47) e ao grupo OCH_3 (δ 52,06).

4.1.19 Tentativa de síntese de 4-(fluorometil)benzoato de metila



O álcool **23** foi submetido à reação com o reagente DAST, na tentativa de se obter um produto de fluoração nucleofílica. Entretanto, após análise dos espectros de RMN, observou-se que não houve a formação de um produto fluorado. Após análise conjunta dos espectros (no IV e de RMN) chegou-se à conclusão que poderia se tratar do dímero **24**. Esse composto foi obtido com 36% de rendimento, após purificação por CCS.

No espectro no infravermelho de **24** (Figura A.48, p. 181), observa-se a banda referente ao estiramento da carbonila de éster. Não se observa banda de O-H, o que indica que não se trata do material de partida.

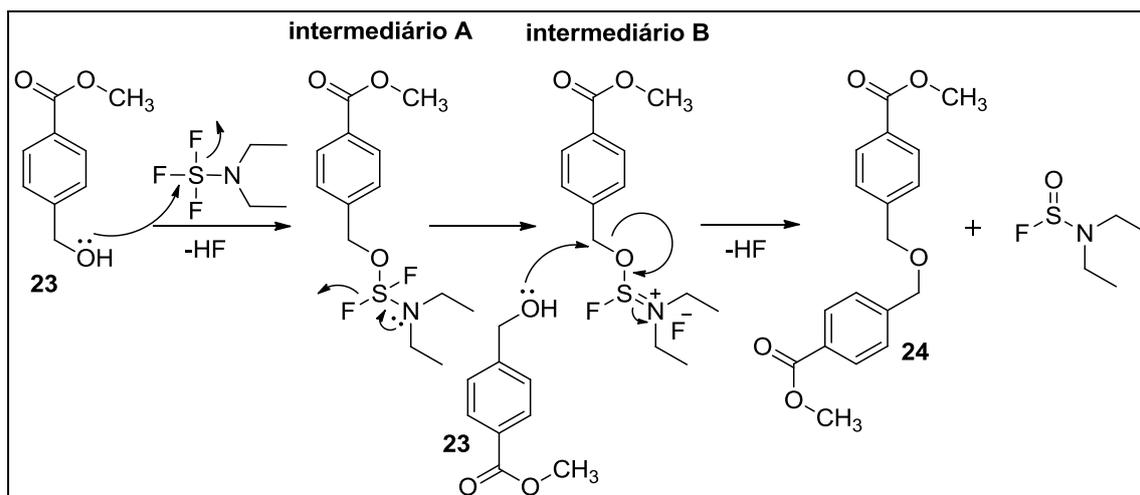
No espectro de RMN de ^1H de **24** (Figura A.49, p. 182), observa-se que o sinal referente aos hidrogênios benzílicos apresenta-se como um simpleto, em

δ 4,63, o que não condiz com um produto fluorado. Esse deslocamento químico e multiplicidade são compatíveis com o dímero proposto. Além disso, as integrais de cada sinal são compatíveis com a formação de um produto simétrico.

No espectro de RMN de ^{13}C de **24** (Figura A.50, p. 182) é possível observar o sinal referente ao carbono benzílico em δ 71,80. Esse deslocamento é compatível com o de um carbono ligado a oxigênio, confirmando a proposta de formação do dímero.

Uma proposta de mecanismo para a formação do dímero **24** está ilustrada na Figura 4.24.

Figura 4.24 – Mecanismo proposto para formação de **24**.



Assim como descrito anteriormente (Figura 4.23), inicialmente ocorre o ataque nucleofílico do oxigênio do álcool ao átomo de enxofre do DAST e formação do intermediário B. Entretanto, para que haja a formação de **24**, o ataque nucleofílico ao carbono benzílico deve ser feito por outra molécula do material de partida **23**.

Como descrito anteriormente (item 4.1.15), em reação semelhante para formação do composto **20**, o ataque nucleofílico é realizado por um íon fluoreto e não por uma molécula do material de partida. Acredita-se que, no caso desse composto, o grupo nitro volumoso exerceria um impedimento estérico,

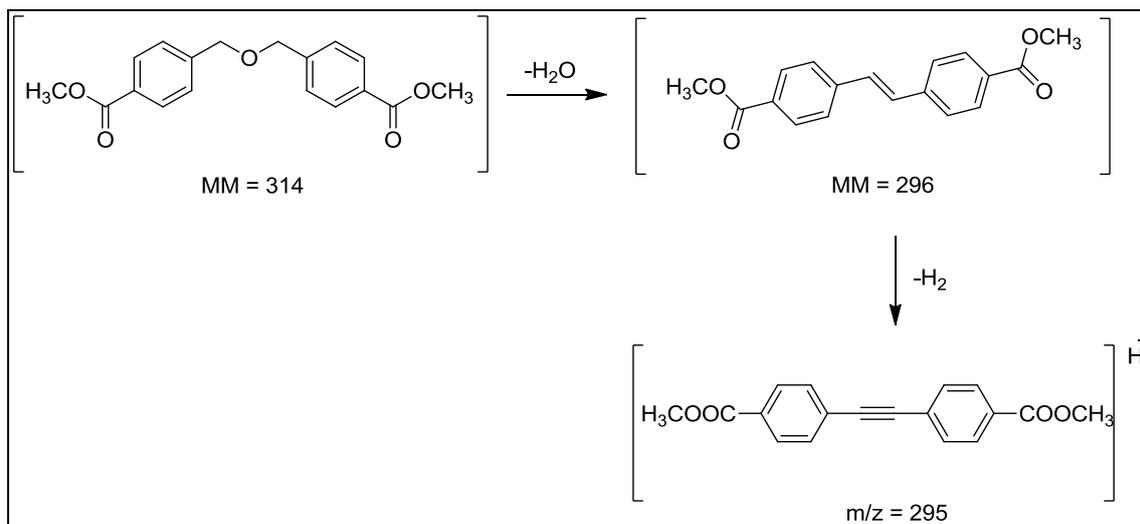
dificultando o ataque de outra molécula do material de partida. Como o fluoreto é pouco volumoso, ele seria capaz de realizar a substituição, permitindo a formação do produto fluorado.

A fim de se confirmar, de forma inequívoca, a proposta formulada, o produto **24** foi submetido à espectroscopia de massas. No espectro de massas de **24** (**Figura 4.25**) não é possível observar o pico referente ao íon molecular ($m/z = 314$). Entretanto, acredita-se que o íon molecular seja instável e se rearranja para formar o sistema superconjugado ($m/z = 295$) proposto na **Figura 4.26**.

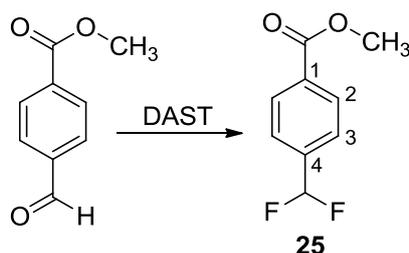
Figura 4.25 – Espectro de massas ESI+ de 24.



Figura 4.26 – Proposta de formação do derivado conjugado detectado no espectro de massas de 24.



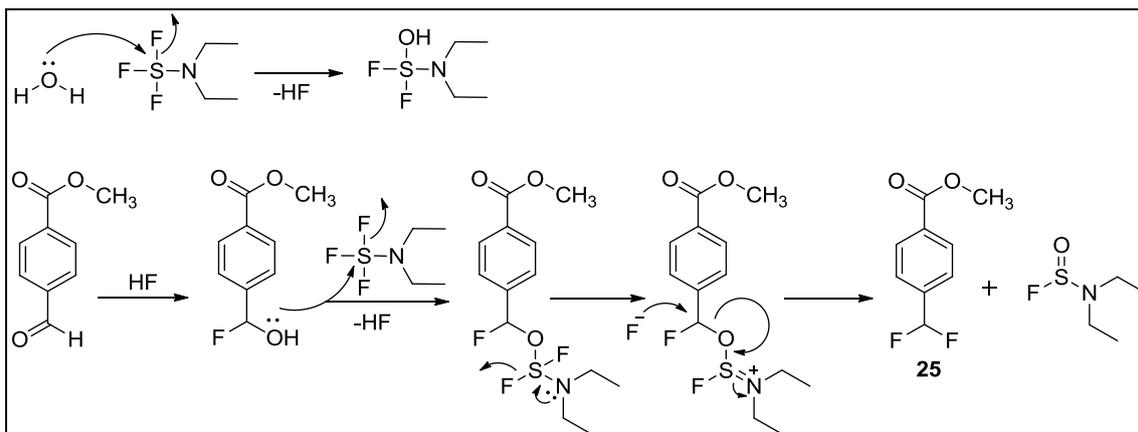
4.1.20 Obtenção de 4-(difluorometil)benzoato de metila (**25**)



O derivado difluorado **25** foi sintetizado por reação de fluoração nucleofílica do 4-formilbenzoato de metila, comercialmente disponível, utilizando-se o DAST (BAKER e PHILLIPS, 2011). Após purificação por CCS, o produto **25** foi obtido com 69% de rendimento.

O mecanismo de reação do DAST com aldeídos e cetonas inicia-se com uma adição de HF à carbonila. O ácido fluorídrico presente no meio é oriundo da decomposição do reagente DAST em presença de traços de água. Em seguida o α-flúor álcool formado reage com o DAST, de forma semelhante ao descrito para os álcoois (**Figura 4.27**). Dessa forma, ao final da reação, é obtido o produto difluorado (SINGH e SHREEVE, 2002).

Figura 4.27 – Mecanismo proposto para a formação de 25.

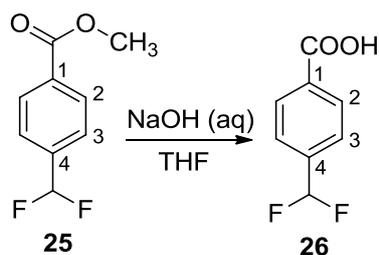


No espectro no infravermelho de **25** (Figura A.51, p. 183) é observada a banda referente ao estiramento da ligação C-F (1011 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **25** (Figura A.52, p. 183), observa-se sinal em $\delta 6,69$, referente a CHF_2 . A multiplicidade do sinal (triplete) é uma evidência da obtenção do produto difluorado, pois é resultante do acoplamento entre o hidrogênio e os átomos de flúor. O valor da constante de acoplamento encontrada (56,0 Hz) está de acordo com o esperado para acoplamentos $^2J_{\text{H,F}}$ (44-81 Hz; PAVIA, 2001).

No espectro de RMN de ^{13}C de **25** (Figura A.53, p. 184) observa-se o sinal referente ao carbono benzílico ($\delta 113,98$). Esse sinal apresenta-se como um triplete devido ao acoplamento do carbono com os átomos de flúor. O valor da constante de acoplamento encontrada (238,4 Hz) está de acordo com o esperado para acoplamentos $^1J_{\text{C,F}}$ (165-370 Hz; PAVIA, 2001).

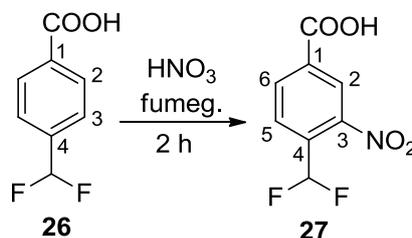
4.1.21 Obtenção do ácido 4-(difluorometil)benzóico (26)



O ácido **26** foi obtido por reação de hidrólise, em meio básico, do éster **25**. O produto foi obtido com 94% de rendimento.

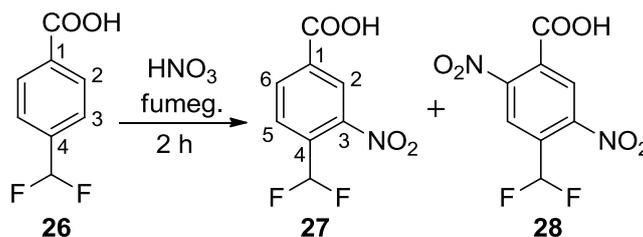
No espectro no infravermelho de **26** (Figura A.54, p. 184) são observadas as bandas referentes ao estiramento de O-H ($3300\text{-}2200\text{ cm}^{-1}$) e à carbonila de ácido carboxílico (1682 cm^{-1}).

4.1.22 Obtenção do ácido 4-(difluorometil)-3-nitrobenzóico (**27**)



O derivado nitrado **27** foi obtido por reação de nitração, utilizando-se ácido nítrico fumegante. Após purificação por CCD em escala preparativa, o produto foi obtido com 25% de rendimento.

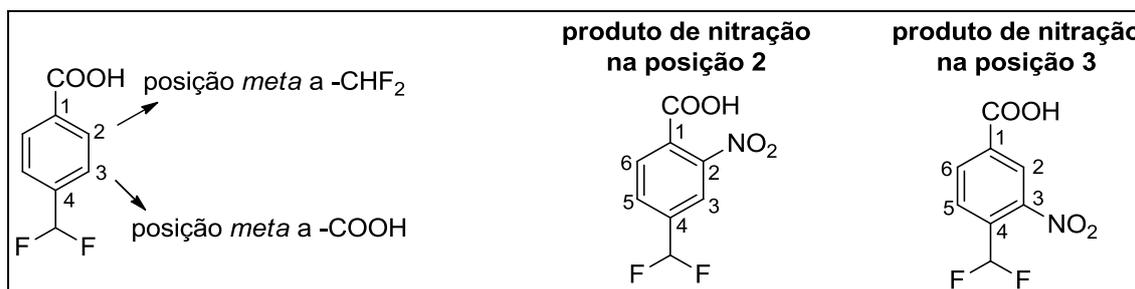
Inicialmente, a reação foi mantida por 30 minutos e, após elaboração e caracterização, observou-se que não houve consumo total do material de partida. Dessa forma, em uma nova tentativa, a reação foi mantida por um período de 2 horas. Após elaboração e caracterização, observou-se o consumo de todo o material de partida, porém com formação de dois produtos diferentes, de R_f muito próximos. Após análise dos espectros de RMN da mistura de produtos, esses compostos foram caracterizados como sendo o produto desejado **27** e o produto dinitrado **28**.



A mistura de produtos foi submetida à purificação por CCD em escala preparativa. O produto desejado **27** foi isolado e caracterizado por seus espectros no IV e de RMN. O produto **28** não foi isolado em quantidade suficiente para caracterização.

Como se trata de uma reação de substituição eletrofílica aromática, os substituintes já existentes no anel aromático influenciam a posição de entrada do grupo nitro na reação. Como esses substituintes são grupos retiradores de elétrons (-COOH e -CHF₂), as posições mais favoráveis para a nitração seriam as posições que se encontram *meta* a esses grupos. Dessa forma poderíamos esperar produtos de nitração na posição 2 ou 3 (**Figura 4.28**). A fim de confirmar a posição de entrada do grupo nitro em C-3, e não em C-2, foi realizado também o experimento de HMBC do composto **27**.

Figura 4.28 – Posições esperadas para entrada do grupo nitro e seus respectivos produtos.



No espectro no infravermelho de **27** (**Figura A.57, p. 186**) são observadas as bandas referentes ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO₂ (1542 e 1292 cm⁻¹).

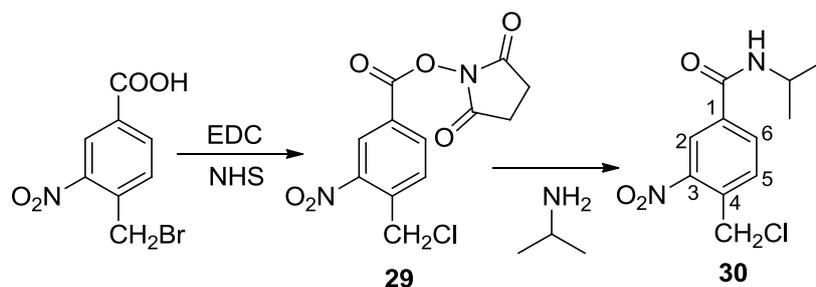
No espectro de RMN de ¹H de **27** (**Figura A.58, p. 186**) observam-se os sinais referentes aos três hidrogênios aromáticos e o sinal referente ao hidrogênio benzílico. A multiplicidade dos sinais é condizente com o padrão de substituição proposto. O sinal referente ao hidrogênio benzílico se apresenta como um tripleto devido ao acoplamento com o átomo de flúor ($J = 54,0$ Hz).

No espectro de RMN de ¹³C de **27** (**Figura A.59, p. 187**) observam-se os sinais referentes aos carbonos aromáticos, à carbonila e ao carbono benzílico. Os

sinais referentes a C-5 e ao carbono benzílico se apresentam como um tripleto devido ao acoplamento com o átomo de flúor ($J = 8,4$ e $237,4$ respectivamente). O sinal referente a C-3 ($\delta 148,55$) não aparece no espectro de ^{13}C e foi determinado por detecção indireta, utilizando-se o mapa de contornos HMBC e as correlações 2J entre H-2/C-3 e 3J entre H-5/C-3.

No mapa de contornos HMBC de **27** (Figura A.60, p. 187) é possível observar a correlação 3J entre H-2 (simpleto)/C=O, uma evidência da formação do produto com o grupo nitro na posição desejada. Além disso, a presença da correlação 3J entre H-5/C-3 (carbono com deslocamento característico de C-NO₂) corrobora com este fato.

4.1.23 Obtenção de 4-(clorometil)-3-nitro-*N*-isopropilbenzamida (**30**)



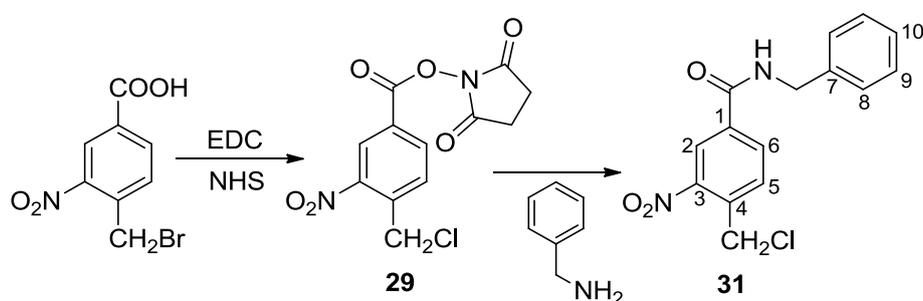
A amida **30** foi sintetizada a partir do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico via intermediário éster ativado **29**.

O éster ativado foi obtido por reação do ácido com EDC e NHS e utilizado na etapa seguinte sem purificação prévia. Durante a formação de **29** ocorre substituição do brometo por íons cloreto presentes no meio de reação, originados do reagente EDC, utilizado na forma de cloridrato. O tempo necessário para substituição completa do brometo pelo cloreto foi estabelecido previamente (LOPES *et al.*, 2011).

Na etapa seguinte, acoplamento da isopropilamina com **29**, obteve-se a amida **30** com 38% de rendimento após purificação por CCS.

No espectro no infravermelho de **30** (Figura A.61, p. 188) são observadas as bandas referentes ao estiramento de N-H (3297 cm^{-1}) e à carbonila de amida (1636 cm^{-1}). No espectro de RMN de ^1H de **30** (Figura A.62, p. 188) observam-se os sinais referentes aos hidrogênios do grupo isopropila em $\delta 4,28$ (CH) e $\delta 1,28$ (CH₃). No espectro de RMN de ^{13}C de **30** (Figura A.63, p. 189) observa-se o sinal referente ao carbono da carbonila da amida ($\delta 163,71$). O deslocamento químico do sinal referente ao carbono benzílico ($\delta 42,31$) confirma a substituição do átomo de bromo pelo átomo de cloro.

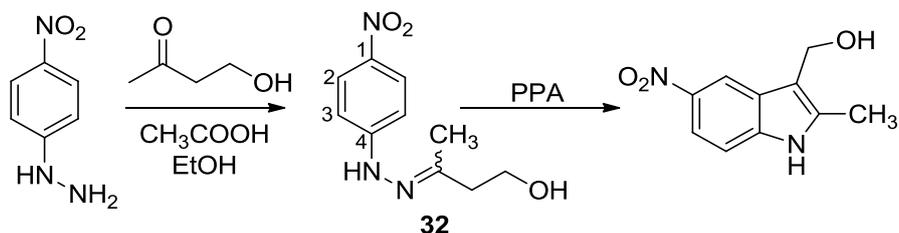
4.1.24 Obtenção de *N*-benzil-4-(clorometil)-3-nitrobenzamida (**31**)



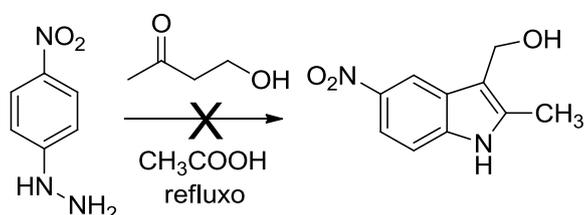
A amida **31** foi sintetizada de forma semelhante à descrita para a amida **30**, utilizando-se a benzilamina na etapa de acoplamento. Obteve-se **31** com 38% de rendimento após purificação por CCS.

No espectro no infravermelho de **31** (Figura A.64, p. 189) são observadas as bandas referentes ao estiramento de N-H (3300 cm^{-1}) e à carbonila de amida (1640 cm^{-1}). No espectro de RMN de ^1H de **31** (Figura A.65, p. 190) observam-se os sinais referentes aos hidrogênios da cadeia benzilamida em $\delta 7,40$ - $7,24$ (H-8, 9 e 10) e $\delta 4,63$ (CH₂N). No espectro de RMN de ^{13}C de **31** (Figura A.66, p. 190) observa-se o sinal referente ao carbono da carbonila da amida ($\delta 164,77$).

4.1.25 Tentativa de síntese de (2-metil-5-nitroindol-3-il)metanol



Inicialmente, tentou-se sintetizar o indol em uma única etapa, misturando-se a hidrazina e a cetona, em ácido acético, sob refluxo. (ABOU-GHARBIA *et al.*, 1988).

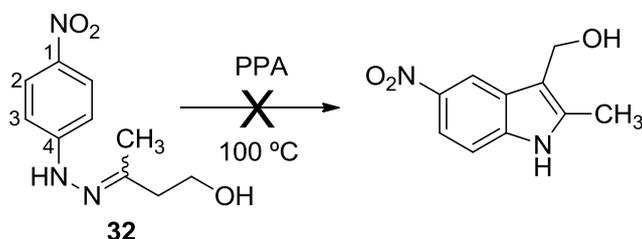


Entretanto, nessas condições, não houve a formação do produto desejado, o que levou à tentativa de síntese em duas etapas, isolando-se a hidrazona correspondente.

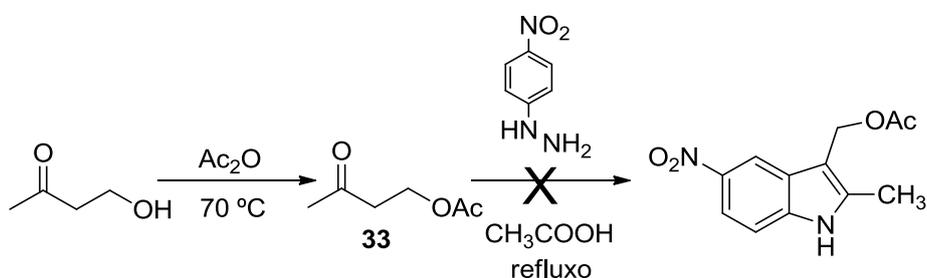
A hidrazona **32** foi isolada, então, a partir da reação entre a 4-nitrofenilhidrazina e 4-hidroxi-2-butanona, com 35% de rendimento (ZHANG *et al.*, 2011).

No espectro no infravermelho de **32** (Figura A.67, p. 191) são observadas as bandas referentes ao estiramento de N-H/O-H (3232 cm⁻¹) e as bandas referentes ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO₂ (1501 e 1321 cm⁻¹). No espectro de RMN de ¹H de **32** (Figura A.68, p. 191) são observados os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos H-2 (δ8,09) e H-3 (δ7,19) e aos hidrogênios da cadeia alifática (δ3,84-2,00). No espectro de RMN de ¹³C de **32** (Figura A.69, p. 192) observa-se o sinal referente ao carbono da ligação dupla (C=N), em δ152,57.

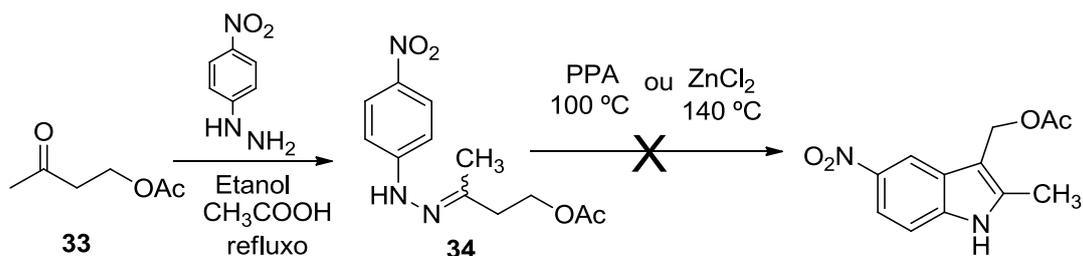
Tentou-se então a obtenção do indol por reação da hidrazona **32** em ácido polifosfórico (PPA) a 100 °C (ZHANG *et al.*, 2011). Entretanto não houve a formação do produto desejado, observando-se degradação do material de partida.



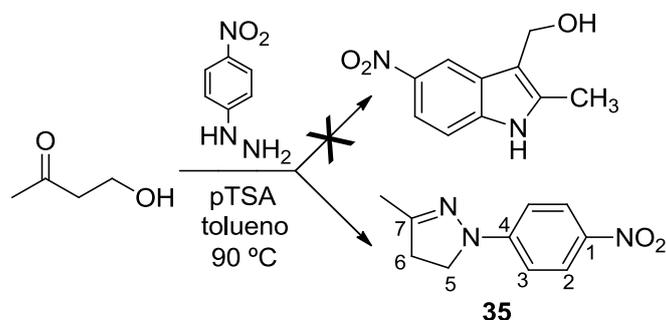
Acreditando que uma das possíveis causas para o insucesso da reação poderia ser a presença da hidroxila na cadeia, passível de eliminação em meio ácido, propôs-se então a acetilação dessa hidroxila por reação com anidrido acético. A partir da cetona protegida, tentou-se a síntese do indol em uma única etapa, utilizando-se ácido acético. Novamente não houve formação do produto desejado e observou-se degradação dos materiais de partida.



Dessa forma, foi sintetizada então a hidrazona também acetilada (**34**), para uma tentativa de síntese do indol em duas etapas. Foram utilizadas duas diferentes condições (ZHANG *et al.*, 2011; McKEW *et al.*, 2006), entretanto, em nenhuma delas houve formação do indol, observando-se também degradação dos materiais de partida.

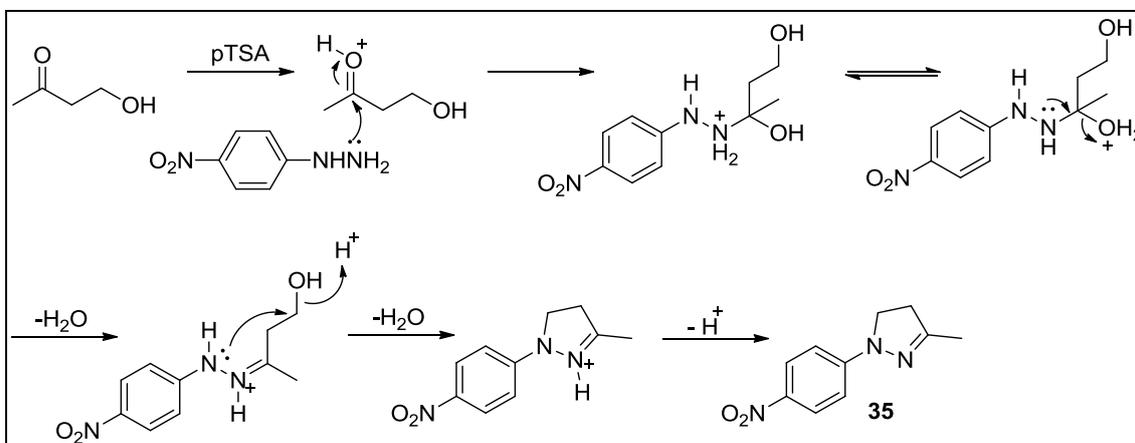


Como a estratégia de utilização da hidroxila protegida não foi bem sucedida, decidiu-se, nesse momento, voltar à utilização da 4-hidroxi-2-butanona (com a hidroxila livre), porém, variando-se a condição de reação. Em uma nova tentativa, propôs-se a utilização de ácido *p*-toluenossulfônico em tolueno para obtenção do indol (JIANG *et al.*, 2010).



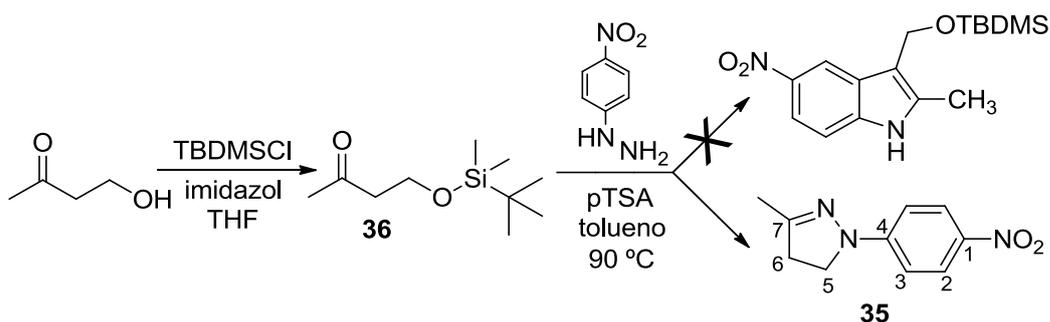
Ao contrário do esperado, foi obtido um produto apresentando um anel diidropirazólico e não o anel indólico desejado. Um mecanismo proposto para obtenção do diidropirazol **35** está ilustrado na **Figura 4.29**.

Figura 4.29 – Mecanismo proposto para a formação do diidropirazol **35**.



Inicialmente ocorre o ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio da hidrazina à carbonila da cetona, formando como intermediário a hidrazona correspondente. Em seguida, ocorre a ciclização com o ataque do nitrogênio da hidrazona ao carbono terminal da cadeia alifática, com a saída do grupo hidroxila na forma de água. O produto resultante perde um próton, formando o composto diidropirazol **35** (Figura 4.29).

Observando-se o mecanismo descrito acima, a hidroxila presente na cadeia alifática comporta-se como grupo abandonador, permitindo a ciclização na posição indesejada. Dessa forma, propôs-se novamente a proteção da hidroxila, porém utilizando um grupo protetor possivelmente mais resistente, a fim de evitar essa ciclização. Assim, o cloreto de *tert*-butildimetilsilano foi escolhido como agente protetor. A cetona protegida **36** foi então submetida à reação com a 4-nitrofenilhidrazina.



Novamente, o indol desejado não foi obtido e sim o produto **35**, sugerindo que o grupo protetor não resistiu ao meio reacional, ou, se comportou como grupo abandonador, de forma semelhante ao mecanismo já descrito (Figura 4.29).

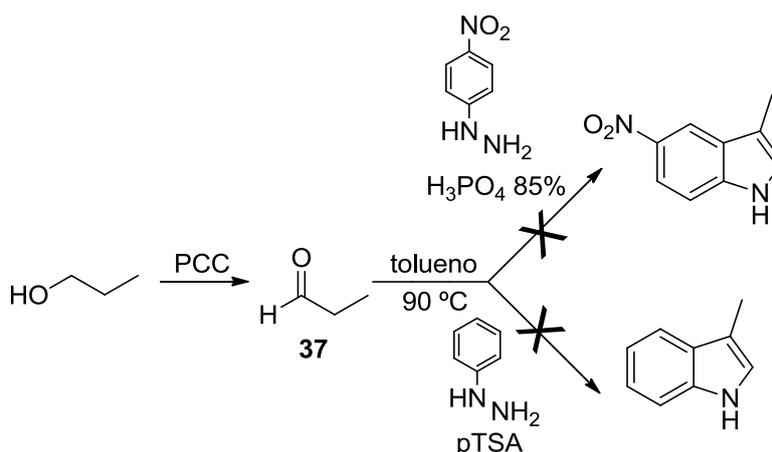
O produto **35** foi obtido com 27% de rendimento e foi caracterizado por seus espectros no IV, RMN de ¹H e RMN de ¹³C.

No espectro no infravermelho de **35** (Figura A.70, p. 192) são observadas as bandas referentes ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO₂ (1484 e 1296 cm⁻¹). Não se observa banda referente ao estiramento de ligação N-H, o que já é um indício de não se tratar do indol ou da hidrazona correspondente.

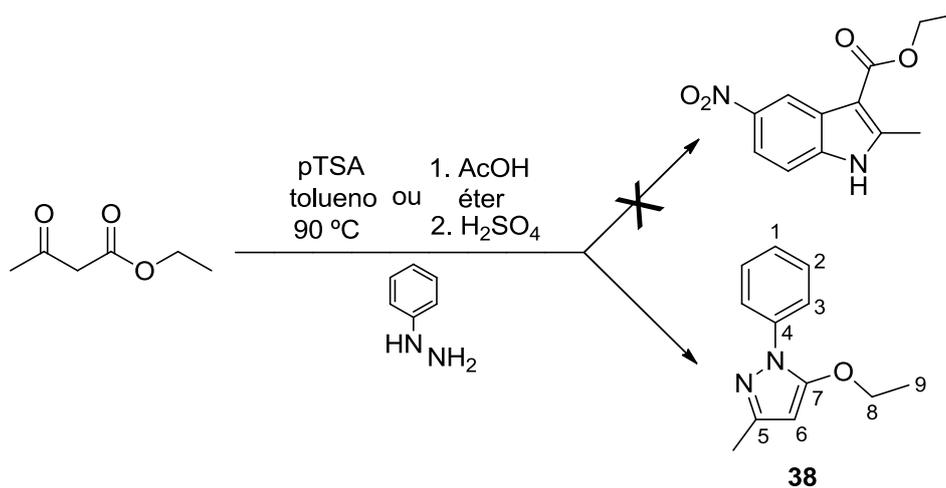
No espectro de RMN de ^1H de **35** (Figura A.71, p. 193), observam-se os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos (δ 8,12 e 6,88), com multiplicidade característica do anel benzeno *p*-dissubstituído, o sinal referente aos hidrogênios metílicos (δ 2,13) e aos hidrogênios do anel diidropirazol (δ 3,81 e 2,98). A ausência dos sinais referentes ao grupo protetor evidencia a eliminação desse grupo durante a reação.

No espectro de RMN de ^{13}C de **35** (Figura A.72, p. 193) observam-se os sinais referentes aos carbonos aromáticos (δ 149,61-110,69), aos carbonos C-7, C-5 e C-6 do anel diidropirazol (δ 154,96, 46,63 e 36,48, respectivamente) e ao carbono metílico (δ 15,98).

Alternativamente, tentou-se a síntese do indol a partir do aldeído **37** e a 4-nitrofenilhidrazina, utilizando ácido fosfórico 85% (KATRITZKY *et al.*, 1991). Outra tentativa foi realizada com o mesmo aldeído e a fenilhidrazina. Caso o indol fosse obtido, reações subseqüentes de nitração e/ou bromação radicalar seriam realizadas. Entretanto, em ambos os casos, observou-se degradação dos reagentes e não foi isolado nenhum produto.

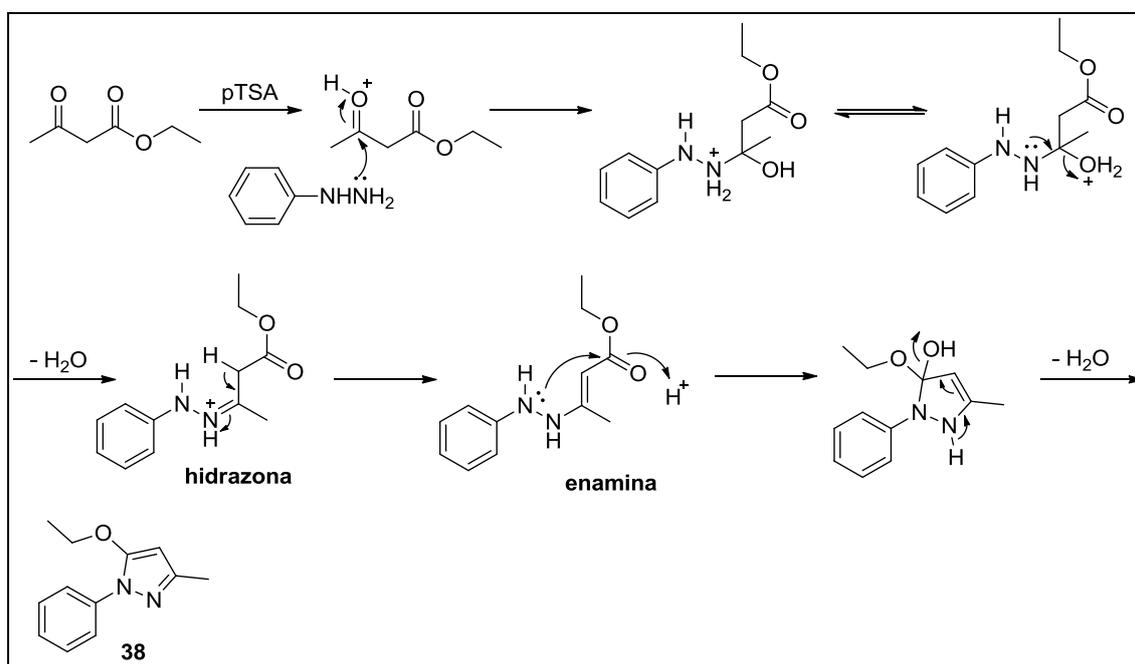


Uma nova rota de síntese foi proposta utilizando-se o acetoacetato de etila e a fenilhidrazina. Foram conduzidas duas condições diferentes, conforme ilustrado adiante (DHAYALAN *et al.*, 2009; JIANG *et al.*, 2010).



Entretanto, nas duas condições, não se observou a formação de um produto com o anel indólico, mas sim um produto contendo um anel pirazólico (**38**). Um mecanismo proposto para a formação desse produto está ilustrado na **Figura 4.30**.

Figura 4.30 – Mecanismo proposto para a formação do pirazol **38**.



O mecanismo inicia-se com o ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio da hidrazina à carbonila da cetona do acetoacetato de etila, formando como intermediário a hidrazona correspondente. Essa hidrazona se rearranja para formar a enamina correspondente. Em seguida, ocorre a

ciclização com o ataque do nitrogênio da enamina à carbonila do éster. Nessa etapa, é importante destacar que não acontece a perda do grupo etoxila. Dessa forma, esse intermediário se desidrata, o que é favorecido pela formação do sistema aromático, originando, assim, o anel pirazólico (**Figura 4.30**).

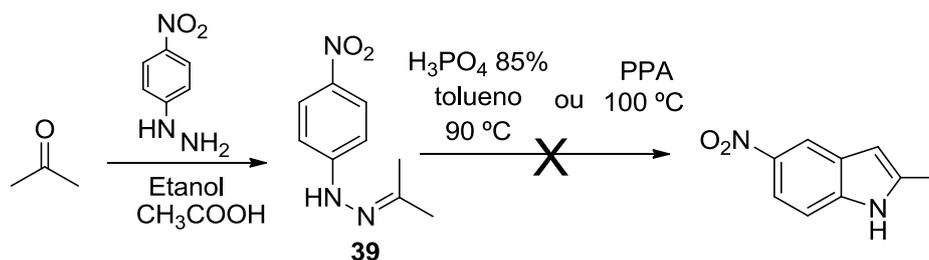
O pirazol **38** foi obtido com 8% de rendimento e foi caracterizado por seus espectros no IV, RMN de ^1H e RMN de ^{13}C .

No espectro no infravermelho de **38** (**Figura A.74, p. 194**) são observadas as bandas referentes ao estiramento C-O do grupo éter (1141 e 1048 cm^{-1}). Não se observa banda referente ao estiramento de ligação N-H, o que é um indício de que não se trata do indol ou da hidrazona correspondente.

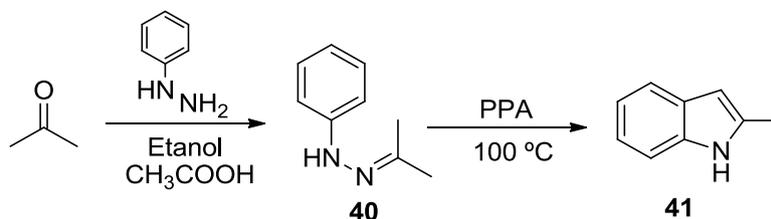
No espectro de RMN de ^1H de **38** (**Figura A.75, p. 195**) observam-se os sinais referentes aos 5 hidrogênios do anel benzênico ($\delta 7,70$ - $7,22$), ao hidrogênio do anel pirazólico ($\delta 5,47$), aos hidrogênios metílicos ($\delta 2,13$) e aos hidrogênios do grupo etoxila ($\delta 4,13$ e $1,43$).

No espectro de RMN de ^{13}C de **38** (**Figura A.76, p. 195**) observam-se os sinais referentes aos carbonos do anel benzênico ($\delta 138,75$ - $121,72$), aos carbonos C-5 ($\delta 154,80$), C-6 ($\delta 86,21$) e C-7 ($\delta 148,69$) do anel pirazólico e aos carbonos alifáticos ($\delta 67,73$ - $14,58$).

Como a proposta de síntese com o acetoacetato de etila não levou à obtenção do produto com anel indólico, tentou-se a síntese utilizando-se a acetona e a 4-nitrofenilhidrazina, em duas diferentes condições. Novamente não foi obtido o produto desejado e observou-se degradação dos materiais de partida.



Entretanto, uma nova tentativa de síntese, substituindo a 4-nitrofenilhidrazina pela fenilhidrazina nas mesmas condições anteriores, resultou, finalmente, na obtenção do indol desejado com 30% de rendimento.

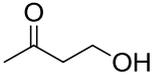
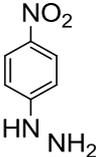
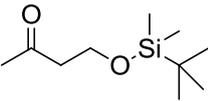
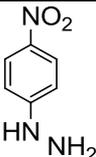
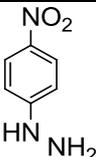
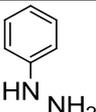
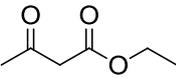
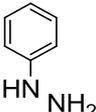
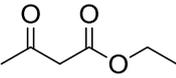
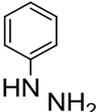
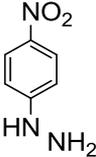
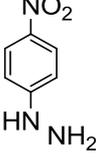
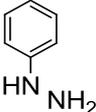


Um resumo de todas as reações descritas anteriormente está ilustrado na **Tabela 4.2**.

Tabela 4.2 – Descrição das reações para tentativa de obtenção do anel indólico.

Reação	Cetona/Aldeído	Hidrazina	Nº etapas	Condição	Resultado
1			1	CH ₃ COOH refluxo	degradação
2			2	1. EtOH/CH ₃ COOH 2. PPA/100 °C	degradação
3			1	CH ₃ COOH refluxo	degradação
4			2	1. EtOH/CH ₃ COOH 2. PPA/100 °C	degradação
5			2	1. EtOH/CH ₃ COOH 2. ZnCl ₂ /140 °C	degradação

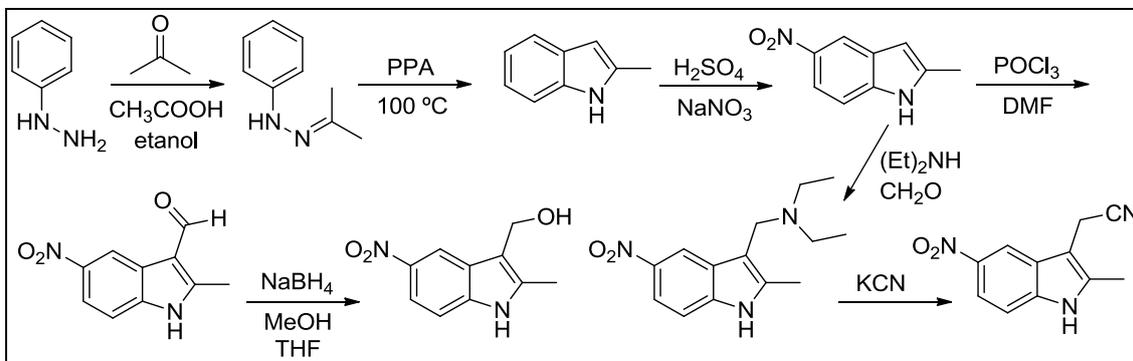
Tabela 4.2 – Descrição das reações para tentativa de obtenção do anel indólico
(conclusão).

Reação	Cetona/Aldeído	Hidrazina	Nº etapas	Condição	Resultado
6			1	pTSA tolueno 90 °C	diidropirazol (9%)
7			1	pTSA tolueno 90 °C	diidropirazol (27%)
8			1	H ₃ PO ₄ 85% tolueno 90 °C	degradação
9			1	pTSA tolueno 90 °C	degradação
10			1	pTSA tolueno 90 °C	pirazol (8%)
11			1	AcOH éter H ₂ SO ₄	pirazol (7%)
12			2	1. EtOH/CH ₃ COOH 2. H ₃ PO ₄ 85% / tolueno/90 °C	degradação
13			2	1. EtOH/CH ₃ COOH 2. PPA/100 °C	degradação
14			2	1. EtOH/CH ₃ COOH 2. PPA/100 °C	indol (30%)

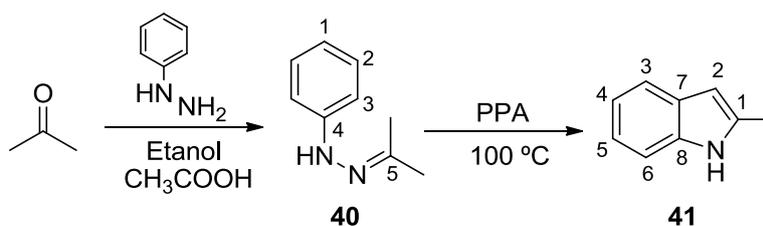
Devido ao sucesso na obtenção do 2-metilindol (**41**) foi proposta uma nova rota de síntese (**Figura 4.31**) com reações subsequentes à formação desse

produto. Todas essas reações estão discutidas nos itens a seguir (**itens 4.1.26 a 4.1.31**).

Figura 4.31 – Nova rota de síntese para obtenção dos compostos com anel indólico.



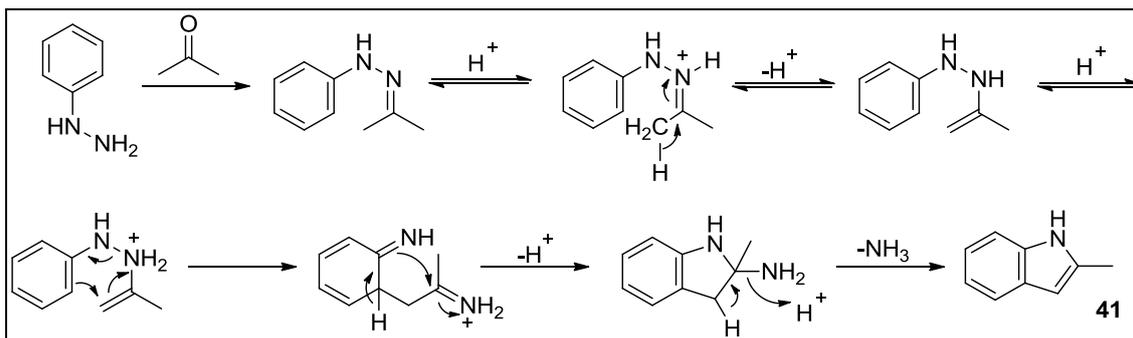
4.1.26 Obtenção de 2-metilindol (**41**)



O indol **41** foi obtido por reação entre a acetona e a fenilhidrazina (ZHANG *et al.*, 2011). Em uma primeira etapa, em etanol e ácido acético, é formada a hidrazona **40**. Em seguida, na presença de PPA a 100 °C, obteve-se o indol desejado com 30% de rendimento.

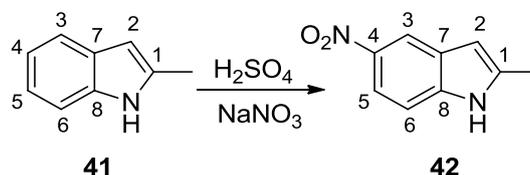
Um mecanismo proposto para a formação do indol **41** está ilustrado na **Figura 4.32**. Inicialmente, reação da fenilhidrazina com a acetona permite a obtenção da hidrazona correspondente que, em meio ácido, se rearranja para formação da eno-hidrazina. Esse intermediário sofre rearranjo [3,3] sigmatrópico resultando na diimina, que, após ciclização, perde amônia e dá origem ao anel indólico.

Figura 4.32 – Mecanismo proposto para obtenção de 41 via reação de Fischer.



No espectro no infravermelho de **41** (Figura A.78, p. 196) observa-se, em 3321 cm^{-1} , a banda referente ao estiramento da ligação N-H. No espectro de RMN de ^1H de **41** (Figura A.79, p. 197) observam-se os sinais referentes aos 5 hidrogênios aromáticos, aos hidrogênios metílicos ($\delta 2,45$) e ao N-H ($\delta 7,74$). No espectro de RMN de ^{13}C de **41** (Figura A.80, p. 197) observam-se os sinais referentes aos 8 carbonos aromáticos e ao carbono do grupo metila ($\delta 13,58$).

4.1.27 Obtenção de 2-metil-5-nitroindol (42)



O derivado **42** foi obtido por reação de nitração, utilizando-se ácido sulfúrico e nitrato de sódio a $0\text{ }^\circ\text{C}$ (NOLAND *et al.*, 1963). O produto foi obtido com 63% de rendimento.

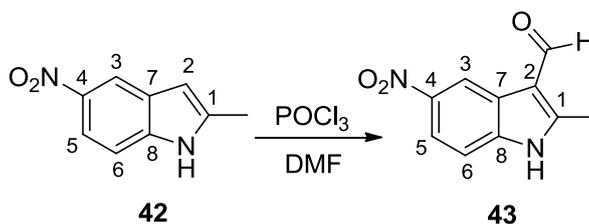
No espectro no infravermelho de **42** (Figura A.81, p. 198) são observadas as bandas referentes ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO₂ (1469 e 1314 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **42** (Figura A.82, p. 198) observam-se os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos H-3 (duplete; $\delta 8,41$), H-5 (duplete-duplo; $\delta 7,95$), H-6 (duplete; $\delta 7,44$) e H-2 (simpleto; $\delta 6,43$). A presença de

somente 4 hidrogênios aromáticos e a multiplicidade dos sinais confirmam a entrada do grupo nitro na posição desejada.

No espectro de RMN de ^{13}C de **42** (Figura A.83, p. 199) observa-se o sinal referente a C-5 ($\delta 140,61$). Esse deslocamento é compatível com o esperado para um carbono aromático ligado ao grupo nitro.

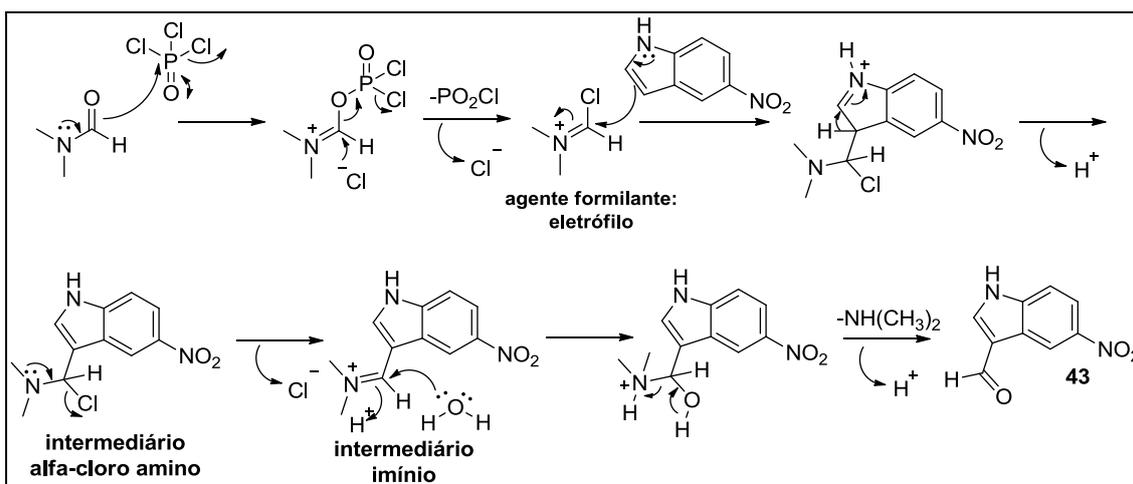
4.1.28 Obtenção de 2-metil-3-formil-5-nitroindol (**43**)



O derivado aldeído **43** foi sintetizado por reação de Vilsmeier, utilizando-se POCl_3 e DMF (EGGER *et al.*, 2013). Após purificação por CCS, obteve-se o produto com 61% de rendimento.

O mecanismo proposto para obtenção de **43** está ilustrado na Figura 4.33. Inicialmente, o agente formilante é formado *in situ*, pela reação entre a DMF e o cloreto de fosforila. Em seguida, uma reação de substituição eletrofílica aromática ocorre entre uma molécula do material de partida **42** e o eletrófilo formado, originando o intermediário α -cloro amino. Após saída do cloreto, assistida pelo par de elétrons do nitrogênio, o derivado imínio correspondente é hidrolisado levando à obtenção do aldeído desejado.

Figura 4.33 – Mecanismo proposto para obtenção de 43 via reação de Vilsmeier.

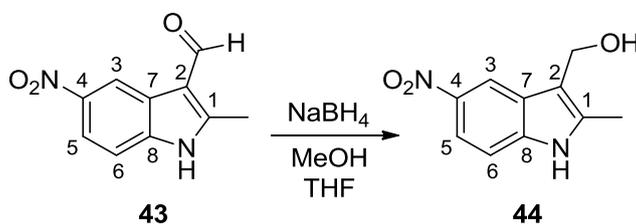


No espectro no infravermelho de **43** (Figura A.84, p. 199) observa-se a banda referente ao estiramento de C=O de aldeído (1633 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **43** (Figura A.85, p. 200) observam-se os sinais referentes ao CHO ($\delta 10,09$) e aos 3 hidrogênios aromáticos, o que confirma a introdução do grupo aldeído ao anel aromático.

No espectro de RMN de ^{13}C de **43** (Figura A.86, p. 200) observa-se o sinal referente à carbonila do aldeído ($\delta 184,90$). No subespectro de DEPT 135 observa-se também o sinal em $\delta 184,90$, confirmando se tratar de carbonila de aldeído.

4.1.29 Obtenção de (2-metil-5-nitroindol-3-il)metanol (**44**)



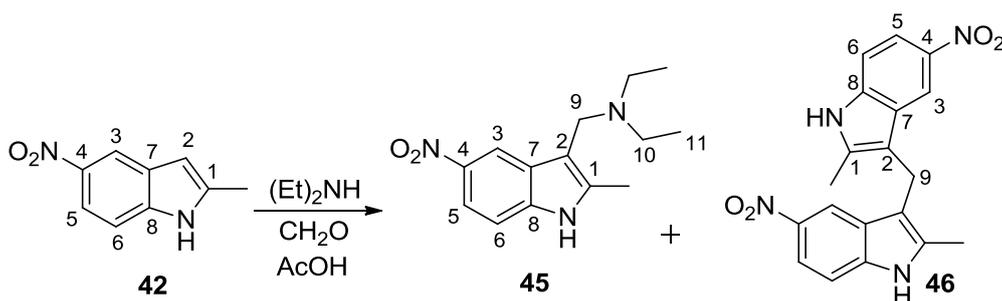
O derivado álcool **44** foi obtido por reação de redução, utilizando-se NaBH₄ em metanol e THF, com 89% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **44** (Figura A.87, p. 201) observa-se uma banda larga em $3600\text{-}2990\text{ cm}^{-1}$, característica de estiramento de ligação O-H e N-H.

No espectro de RMN de ^1H de **44** (Figura A.88, p. 201) observa-se o sinal referente aos hidrogênios metilênicos do grupo CH_2OH ($\delta 4,67$), confirmando a redução do grupo aldeído a álcool.

No espectro de RMN de ^{13}C de **44** (Figura A.89, p. 202) é possível observar o sinal referente ao CH_2OH ($\delta 55,01$), em deslocamento compatível com o esperado para carbono ligado a hidroxila.

4.1.30 Obtenção de 2-metil-3-(dietilaminometil)-5-nitroindol (**45**) e de 3,3'-[bis(metileno)]-2-metil-5-nitroindol (**46**)



O derivado amino **45** foi obtido por reação de Mannich, utilizando-se dietilamina, formaldeído e ácido acético. Após purificação por CCS, o produto **45** foi obtido com 67% de rendimento. O dímero **46** também foi isolado com 16% de rendimento.

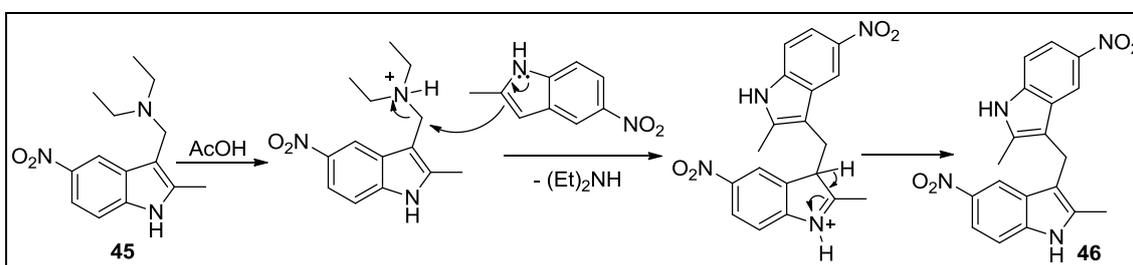
No espectro no infravermelho de **45** (Figura A.90, p. 202) são observadas as bandas referentes ao estiramento de N-H (3333 cm^{-1}) e ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO_2 (1467 e 1312 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **45** (Figura A.91, p. 203) observam-se os sinais referentes aos hidrogênios H-10 ($\delta 2,51$) e H-11 ($\delta 1,03$) da cadeia dietilamina e aos hidrogênios metilênicos H-9 ($\delta 3,63$).

No espectro de RMN de ^{13}C de **45** (Figura A.92, p. 203) observam-se os sinais referentes aos carbonos C-10 ($\delta \sim 47$) e C-11 ($\delta \sim 10$) da cadeia dietilamina e ao carbono C-9 ($\delta \sim 47$).

Acredita-se que o dímero **46** seja formado por uma reação de substituição eletrofílica aromática entre o material de partida **42** e o amino indol **45**, conforme mecanismo proposto na figura 4.34.

Figura 4.34 – Mecanismo proposto para a formação do dímero 46.

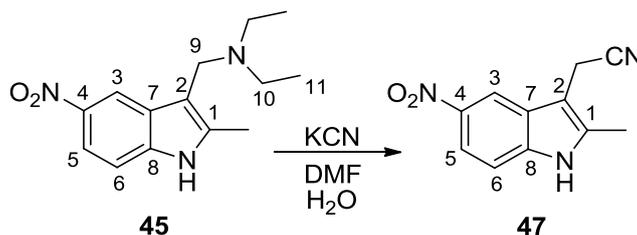


No espectro no infravermelho de **46** (Figura A.93, p. 204) são observadas as bandas referentes ao estiramento de N-H (3360 cm^{-1}) e ao estiramento assimétrico e simétrico de Ar-NO₂ (1470 e 1323 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **46** (Figura A.94, p. 204) observa-se o sinal referente aos hidrogênios metilênicos ($\delta 4,17$) com integral igual a 2 hidrogênios. A simplicidade do espectro e as integrais de cada sinal são compatíveis com a formação do dímero simétrico.

No espectro de RMN de ^{13}C de **46** (Figura A.95, p. 205) observa-se o sinal referente ao carbono metilênico ($\delta 18,58$). Esse deslocamento é compatível com o de um carbono ligado a outro carbono e não a um heteroátomo.

4.1.31 Obtenção de 2-(2-metil-5-nitroindol-3-il)acetonitrila (**47**)



O derivado ciano **47** foi obtido por reação com cianeto de potássio em DMF e água. Após purificação por CCS o produto foi obtido com 45% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **47** (**Figura A.96, p. 205**) observa-se a banda referente ao estiramento de ligação C-N (2255 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **47** (**Figura A.97, p. 206**) observa-se o sinal referente aos hidrogênios metilênicos ($\delta 4,09$). Esse deslocamento é compatível com o esperado para o grupo CH_2CN .

No espectro de RMN de ^{13}C de **47** (**Figura A.98, p. 206**) observam-se os sinais referentes ao CN ($\delta 118,92$) e ao carbono metilênico ($\delta 12,58$). O deslocamento do carbono metilênico é compatível com o esperado para carbono ligado à nitrila.

4.2 Avaliação da atividade antiproliferativa

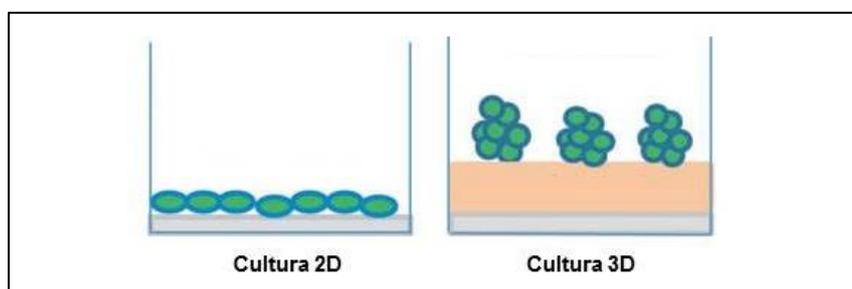
A atividade antiproliferativa de alguns dos compostos sintetizados foi avaliada, utilizando-se três linhagens de células tumorais humanas: MDA-MB (adenocarcinoma de mama), MCF-7 (adenocarcinoma de mama estrógeno-dependente) e HCT (carcinoma colorretal). Foram realizados experimentos em culturas de células bidimensionais (2D) e tridimensionais (3D).

Em culturas de células bidimensionais, as células se aderem à superfície do vidro ou plástico, formando uma monocamada composta basicamente por células em proliferação. Nas culturas 3D, uma camada base de uma matriz

(ágar) é adicionada previamente, o que impede a aderência das células e formação da monocamada. Deste modo, as células formam pequenos agregados (esferóides), que mimetizam com mais realidade as características dos tumores (**Figura 4.35**). As camadas externas dos esferóides, que estão expostas ao meio, são compostas de células em proliferação. As células das camadas mais internas recebem menos oxigênio e nutrientes do meio e tendem a estar em um estado de repouso e hipóxia (EDMONDSON *et al.*, 2014).

Figura 4.35 – Representação das culturas 2D e 3D.

(Adaptado de EDMONDSON *et al.*, 2014).



Esse experimento foi utilizado para comparar a atividade dos compostos em um ambiente com presença de hipóxia com a atividade em um ambiente de normóxia (2D). Estudos têm demonstrado que experimentos em cultura 3D são mais similares ao comportamento de um tumor *in vivo* e que fármacos antitumorais são mais resistentes a essas células, comparado ao experimento 2D. Essa resistência aumentada se deve à difusibilidade limitada e às áreas de hipóxia (EDMONDSON *et al.*, 2014).

As substâncias foram testadas, inicialmente, na concentração de 50 μM e foi determinado o valor de porcentagem de inibição. Nos casos onde houve atividade significativa e diferença de atividade entre as culturas 2D e 3D, o composto foi atribuído como SH+ (seletividade para hipóxia positivo).

A concentração que inibe 50% do crescimento celular (CI_{50}) também foi determinada para as substâncias ativas na triagem inicial na cultura 2D (% proliferação celular $\leq 50\%$). A toxicidade das substâncias para as células

normais foi avaliada, utilizando-se células epiteliais renais de macaco (VERO).

Os resultados obtidos estão ilustrados nas **Tabelas 4.3 e 4.4**.

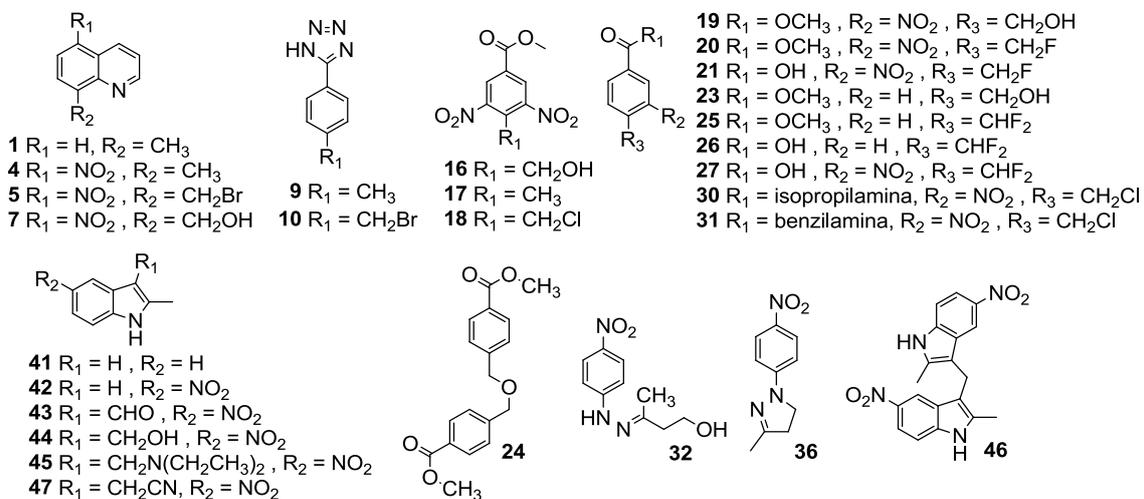


Tabela 4.3 – Valores de porcentagem de inibição dos compostos para as linhagens de células tumorais MDA-MB, MCF-7 e HCT em culturas 2D e 3D.

Comp.	% inibição ± DP								
	MDA-MB			MCF-7			HCT		
	2D	3D	SH	2D	3D	SH	2D	3D	SH
1	-0,8±1	-6,4±19	-	7,0±0,1	0,5±12	-	3,7±3	4,9±1	-
4	15,3±2	13,2±1	-	19,6±5	28,1±29	-	-5,7±0,5	36,0±0,3	+
5	78,6±2	53,5±9	-	74,9±0,2	59,1±10	-	85,1±1	89,5±0,3	-
7	6,0±11	-3,6±2	-	8,4±12	14,1±14	-	8,0±2	27,8±4	-
9	12,6±4	13,3±11	-	17,3±12	-19,6±15	-	2,3±13	18,8±6	-
10	60,2±2	13,9±24	-	58,7±9	0,0±27	-	64,3±8	20,1±9	-
16	9,4±5	-12,3±7	-	6,1±4	14,9±15	-	7,0±1	3,0±1	-
17	6,0±7	-3,5±10	-	11,8±12	-28,5±5	-	18,3±3	4,1±17	-
18	83,7±3	59,4±5	-	79,44±2	64,0±4	-	89,8±2	90,6±1	-
19	-2,9±1	-32,0±0,1	-	9,6±3	-17,5±25	-	14,6±1	-0,21±14	-
20	5,1±2	-18,4±24	-	13,3±6	-2,5±27	-	4,4±2	-0,3±6	-
21	21,3±0,1	-0,5±7	-	26,0±4	28,9±14	-	3,3±4	20,2±8	-
23	-0,9±5	-17,3±5	-	0,0±2	5,1±19	-	-2,1±2	-8,3±2	-
24	7,6±0,4	-14,1±6	-	1,8±2	6,7±1	-	-0,9±6	-9,2±5	-
25	-1,0±4	-18,3±1	-	7,9±14	-26,4±27	-	16,7±4	-4,8±10	-
26	1,5±5	-7,7±6	-	-1,2±10	-2,2±13	-	-3,5±13	0,33±1	-
27	-3,5±6	-14,3±2	-	0,2±6	-6,6±13	-	7,9±0,1	-14,7±1	-
30	79,6±2	48,6±9	-	75,8±3	55,6±8	-	85,2±2	82,9±4	-
31	77,4±1	31,5±0,2	-	77,8±1	58,5±7	-	82,4±1	81,4±1	-
32	-0,1±5	-44,4±12	-	7,8±18	5,1±28	-	8,2±4	-8,7±0,5	-
36	-2,5±1	-4,0±0,5	-	8,5±6	16,5±20	-	2,6±2	7,8±2	-
41	0,6±2	-13,2±13	-	2,2±8	-8,6±26	-	8,6±3	-20,5±9	-
42	-5,8±0,5	-76,9±36	-	1,3±8	42,2±3	+	9,8±13	34,0±2	+
43	0,1±6	-3,5±8	-	19,1±15	23,6±8	-	23,1±0,2	25,1±7	-
44	-15,4±5	-13,5±5	-	3,8±11	30,0±10	+	2,0±6	54,6±3	+
45	5,1±8	-20,4±21	-	16,6±7	11,9±13	-	3,8±9	2,0±14	-
46	-8,3±2	-34,1±5	-	-4,5±4	-33,9±16	-	13,2±7	-2,5±2	-
47	15,4±7	-1,6±9	-	13,0±8	40,8±2	+	2,9±2	44,1±4	+

Ao analisar os resultados de porcentagem de inibição dos compostos (**Tabela 4.3**), é possível observar que todas as substâncias que possuem grupo abandonador reativo (**5, 10, 18, 30 e 31**), como Cl e Br, apresentaram atividade antiproliferativa significativa em todas as linhagens celulares avaliadas. Além disso, esses compostos exibiram atividade equivalente ou menor na cultura 3D,

comparado à cultura 2D. Com exceção do composto **10**, os demais possuem o grupo nitro em sua estrutura, entretanto os resultados de inibição menores em cultura 3D podem ser um indicativo de que a biorredução desse grupo não está ocorrendo ou que as substâncias apresentam dificuldade em se difundir pelas multicamadas de células.

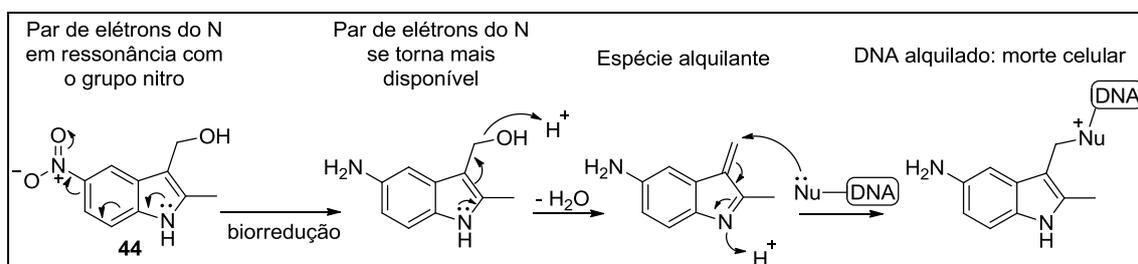
Em relação aos compostos apresentando o anel indólico, mesmo com baixos valores de % de inibição, nas linhagens MCF-7 e HCT, é possível observar uma tendência de maior atividade antiproliferativa nas culturas 3D, comparado à cultura 2D (compostos **42**, **44** e **47**). Essas três substâncias apresentam o grupo nitro em sua estrutura e essa diferença de atividade pode estar relacionada com a biorredução desse grupo. O nitroindol **42** apresentou valores de inibição significativamente maiores que seu análogo não nitrado **41**, que exibiu atividade inibitória próxima a zero.

Assim como o indol **42**, apesar dos valores baixos de % de inibição, a nitroquinolina **4** também apresentou diferença significativa de atividade entre as duas culturas e em relação ao seu análogo não nitrado **1** na linhagem HCT.

A atividade antiproliferativa de **42** e **4** na cultura 3D pode se dar devido à biorredução do grupo nitro, com consequente formação de espécies radiculares reativas. Já os derivados **44** e **47** poderiam gerar um intermediário alquilante após biorredução (**Figura 4.36**).

Figura 4.36 – Proposta de formação de espécie alquilante após biorredução do indol

44.



Apesar dos indóis **42**, **44** e **47** apresentarem valores de inibição considerados baixos é importante ressaltar que esses compostos exibiram uma diferença

significativa entre os modelos de cultura. Nesse estágio inicial de desenvolvimento é muito importante observar o potencial dos compostos de sofrerem biorredução. Estudos adicionais podem ser realizados com o objetivo de aumentar a potência e conhecer a relação entre a estrutura e a atividade.

A toxicidade dos compostos para células normais foi avaliada utilizando-se células epiteliais renais de macaco (VERO). Entre os compostos avaliados apenas 5 (**5**, **10**, **18**, **30** e **31**) apresentaram toxicidade significativa e foram submetidos a determinação de CI_{50} . Os resultados de CI_{50} para VERO, bem como para as linhagens tumorais, estão apresentados na **Tabela 4.4**. O índice de seletividade (IS) dos compostos para as células normais também foi determinado.

Tabela 4.4 – CI_{50} (μM) dos compostos 5, 10, 18, 30 e 31 para as linhagens de células tumorais MDA-MB, MCF-7, HCT e VERO em cultura 2D.

Comp.	CI_{50} (μM) \pm DP						
	MDA-MB	IS	MCF-7	IS	HCT	IS	VERO
5	30,5 \pm 2,0	-	17,6 \pm 4,6	1,7	6,5 \pm 0,5	4,6	30,1 \pm 0,7
10	36,1 \pm 2,5	>2,8	>100	-	44,8 \pm 0,9	>2,2	>100
18	1,9 \pm 0,3	5,4	6,5 \pm 0,7	1,6	6,2 \pm 0,2	1,7	10,3 \pm 0,1
30	19,0 \pm 0,2	3,5	90,4 \pm 9,1	-	20,5 \pm 1,1	3,2	65,7 \pm 8,4
31	9,4 \pm 2,1	4,6	34,5 \pm 4,7	1,3	11,0 \pm 0,2	4,0	43,6 \pm 1,2

Como dito anteriormente, todas as substâncias ativas possuem em comum um bom grupo abandonador na posição benzílica, o que corrobora com a proposta de citotoxicidade pelo mecanismo de alquilação.

Os compostos ativos, apesar de possuírem valores de CI_{50} semelhantes ou até menores que as amidas protótipo desse trabalho, apresentaram pouca ou nenhuma seletividade para o modelo de hipóxia. Entretanto são promissores como agentes antitumorais *per se*, com valores de CI_{50} na faixa de micromolar baixo. Um destaque se dá para o composto **5** na linhagem HCT, onde apresentou CI_{50} = 6,5 μM e IS = 4,6 e o composto **18** na linhagem MDA-MB, com CI_{50} = 1,9 μM e IS = 5,4. A amida **31** também apresentou um bom resultado na linhagem MDA-MB, com CI_{50} = 9,4 μM e IS = 4,6 e na linhagem

HCT com $CI_{50} = 11,0$ e $IS = 4,0$. De acordo com Badisa (2009) e Mahavorasirikul (2010), uma substância que possui índice de seletividade maior que 3 é considerada seletiva.

De uma maneira geral, os compostos ativos foram mais citotóxicos para as células tumorais, comparado às células normais (VERO), indicando seletividade.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Material e métodos gerais

As faixas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF 301 (Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFMG) e não foram corrigidas.

Os espectros no infravermelho foram obtidos em aparelho Spectrum One da Perkin-Elmer, com sistema ATR (Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFMG). Todas as atribuições apresentadas na descrição dos espectros no infravermelho correspondem a estiramentos, salvo quando especificado.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados em espectrômetros Bruker Avance DPX-200 (Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução – LAREMAR, Departamento de Química, ICEX, UFMG). Como referência interna foi utilizado o tetrametilsilano (TMS). Para processar os espectros utilizou-se o programa TOPSPIN 1.3 – Bruker. A numeração atribuída aos átomos de hidrogênio e carbono de todas as estruturas químicas presentes neste trabalho é para facilitar a identificação dos sinais nos espectros; não há correlação com a nomenclatura IUPAC.

As análises de UPLC-MS foram realizadas em colaboração com o Prof. Dr. Rodrigo Maia de Pádua (Faculdade de Farmácia, UFMG) em equipamento ACQUITY Ultra Performance LC System (Waters, Milford, MA, USA) acoplado simultaneamente a detector de arranjo de fotodiodo PDA 2996 (Waters, Milford, MA, USA) e detector ACQUITY TQ (Waters MS Technologies, Manchester, UK) equipado com fonte de ionização electrospray (ESI), operando em modo positivo. A aquisição e processamento dos dados foram realizados utilizando MassLynks software (versão 4.1, Waters, Milford, MA, USA).

A evolução das reações foi acompanhada por cromatografia em camada delgada de sílica (CCD) com 0,25 mm de espessura de sílica (sílica gel 60G Merck), utilizando-se como revelador vapor de iodo, solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v, solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v, ou solução etanólica de 2,4-dinitrofenilhidrazina 2,5% p/v, contendo 10% de HCl concentrado.

As purificações por cromatografia em coluna de sílica (CCS) foram realizadas com sílica gel 60 (0,063-0,200 mm/70-230 mesh Merck/Sigma Aldrich) ou sílica gel 60 flash (0,040-0,063 mm/230-400 mesh Merck/Sigma Aldrich).

O diclorometano anidro foi obtido por tratamento com peneira molecular 4 Å (pellet, 3,2 mm). O solvente foi destilado e utilizado imediatamente.

O benzeno anidro foi obtido pelo tratamento com sódio metálico em presença de benzofenona. A mistura foi refluxada até adquirir coloração púrpura. O solvente foi destilado e utilizado imediatamente.

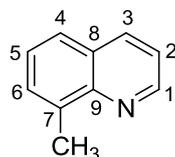
Para reações a -78 °C foi utilizado banho de acetato de etila e gelo seco.

A avaliação da atividade antiproliferativa *in vitro* foi realizada em colaboração com a Prof. Dra. Elaine Maria de Souza Fagundes (Instituto de Ciências Biológicas, UFMG). Nos ensaios em monocamada (2D), as suspensões de células MDA-MB-231, MCF-7, HCT-116 e VERO foram cultivadas na concentração de 10.000 células por poço (placa de 96 poços) e pré-incubadas *overnight* para estabilização. Após estabilização, todas as células foram tratadas com as substâncias puras por 72 horas. Todas as substâncias foram testadas em triplicata em dois experimentos independentes e como controle foi utilizado o solvente DMSO (0,5%). A viabilidade celular foi determinada pela redução mitocondrial do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium (MTT). O cultivo de células tumorais em um modelo tridimensional (3D) foi realizado de acordo com Anderson e colaboradores (2007), com modificações. Preparou-se uma mistura de ágar a 0,6%, meio de cultura DMEM suplementado com 20% de soro fetal bovino e 2% de solução

antibiótica (100 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina), tendo sido 70 µL dessa mistura adicionados em cada poço, para formar a camada base que impede a aderência e a formação da monocamada celular de placas de 96 poços. A camada superior foi preparada com uma suspensão de células tumorais na densidade de 10000 células por poço para linhagem MDA-MB-231 e 5000 células por poço para linhagens MCF-7 e HCT-116, em 80 µL de uma mistura de ágar a 0,4% com meio DMEM preparado conforme descrito acima e incubadas 24 horas para estabilização. Após esse período, todas as linhagens foram tratadas com as substâncias puras durante sete dias e a avaliação da viabilidade celular foi realizada pelo método de resazurina.

5.2 Procedimentos

5.2.1 Síntese de 8-metilquinolina (1)



1

A um balão de fundo redondo contendo *o*-toluidina (2,00 g; 0,019 mol), FeSO₄·7H₂O (0,62 g; 2,24 mmol), nitrobenzeno (1,15 mL; 0,011 mol), ácido bórico (1,16 g; 0,019 mol) e glicerol (6,88 g; 0,075 mol), resfriado em banho de água gelada (aprox. 10 °C), adicionou-se, lentamente, ácido sulfúrico concentrado (3,3 mL). Após a adição, a mistura permaneceu sob agitação magnética a 150 °C por 20 horas. Em seguida, resfriou-se em banho de gelo e alcalinizou-se com solução aquosa de NaOH 5 mol/L até pH 10. O precipitado formado foi filtrado e o filtrado obtido foi extraído com éter etílico (3 x 80 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com solução saturada de NaCl (80 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 97,5:2,5). Obteve-se 0,850 g de um óleo amarelado (32% de rendimento).

F.M.: C₁₀H₉N

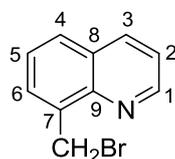
M.M.: 143,19 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3038, 3004 (C-H arom.); 2951, 2921 (C-H); 1615, 1594, 1577, 1497 (C-C arom.); 818, 785 (deformação angular C-H arom.).

RMN de ¹H (δ /ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 8,96 (sl; 1H; H-1); 8,13 (d; 1H; H-3; J_{3,2} = 8,2); 7,68-7,40 (m; 4H; H-2, H-4, H-5 e H-6); 2,83 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ /ppm; CDCl₃; 50 MHz): 149,07 (C-1); 147,17 (C-9); 136,88 (C-7); 136,18 (C-3); 129,50 (C-6); 128,11 (C-8); 126,16 (C-4); 125,74 (C-5); 120,68 (C-2); 18,04 (C-CH₃).

5.2.2 Síntese de 8-(bromometil)quinolina (3)



3

A um balão de fundo redondo contendo **1** (0,485 g; 3,39 mmol), AIBN (0,0556 g; 0,339 mmol) e NBS (0,6641 g; 3,73 mmol) adicionou-se benzeno (20 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 18 horas. Após resfriamento até temperatura ambiente filtrou-se o precipitado formado e secou-se o filtrado em evaporador rotatório. Ao resíduo obtido adicionou-se acetato de etila (40 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi recristalizado em éter de petróleo fornecendo **3** como um sólido branco (0,3644 g, 48% de rendimento).

F.M.: C₁₀H₈NBr

M.M.: 222,08 g/mol

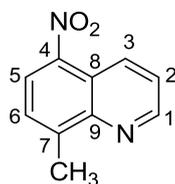
F.F.: 75,4 – 77,1 °C; lit.: 83 – 84 °C (TULYAGANOV e ALLABERDIEV, 2003).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3037 (C-H arom.); 2976, 2924 (C-H); 1592, 1573 (C-C arom.); 829, ~800 (deformação angular C-H arom.).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 9,02 (dd; 1H; H-1; *J*_{1,2} = 4,1; *J*_{1,3} = 1,6); 8,17 (dd; 1H; H-3; *J*_{2,3} = 8,2; *J*_{1,3} = 1,6); 7,86-7,79 (m; 2H; H-4 e H-6); 7,55-7,42 (m; 2H; H-2 e H-5); 5,26 (s; 2H; CH₂Br).

RMN de ¹³C (δ /ppm; CDCl₃; 50 MHz): 150,12 (C-1); 145,76 (C-9); 136,28 (C-3); 136,05 (C-7); 130,59 (C-6); 128,84 (C-4); 128,45 (C-8); 126,31 (C-5); 121,51 (C-2); 29,55 (CH₂Br).

5.2.3 Síntese de 8-metil-5-nitroquinolina (4)



4

A um balão de fundo redondo contendo **1** (0,2898 g; 1,30 mmol), a 0 °C, adicionou-se HNO₃ fumegante (10 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 3 horas e sob refrigeração em geladeira por mais 18 horas. Em seguida, adicionou-se ao balão gelo pilado e alcalinizou-se com solução aquosa de NaOH 5 mol/L até pH 13. Filtrou-se o precipitado formado lavando com água destilada gelada. Foi obtido 0,3264 g de um sólido rosado (86% de rendimento).

F.M.: C₁₀H₈O₂N₂

M.M.: 188,18 g/mol

F.F.: 81,2 – 82,2 °C; lit.: 94 – 95 °C (EVANS *et al.*, 2005).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3043 (C-H arom.); 2926 (C-H); 1596, 1570 (C-C arom.); 1509 (ArNO₂, N=O assim.); 1324 (ArNO₂, N=O sim.); 831, 812, 784 (deformação angular C-H arom.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 9,00 (m; 2H; H-1 e H-3); 8,28 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 7,2); 7,62 (m; 2H; H-2 e H-6); 2,87 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CDCl₃; 50 MHz): 150,16 (C-1); 146,75 (C-9); 146,12 (C-4); 143,68 (C-7); 132,12 (C-3); 127,47 (C-6); 124,53 (C-5); 123,59 (C-2); 121,02 (C-8); 19,05 (CH₃).

5.2.4 Síntese de 8-bromometil-5-nitroquinolina (5)



5

A um balão de fundo redondo contendo **4** (0,3000 g; 1,60 mmol), AIBN (0,0261 g; 0,16 mmol) e NBS (0,3124 g; 1,76 mmol), adicionou-se benzeno (10 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 18 horas. Após resfriamento, removeu-se o solvente em evaporador rotatório e ao resíduo obtido adicionou-se acetato de etila (40 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 97,5:2,5). Obteve-se 0,2406 g de um sólido amarelo (56% de rendimento).

F.M.: C₁₀H₇O₂N₂Br

M.M.: 267,08 g/mol

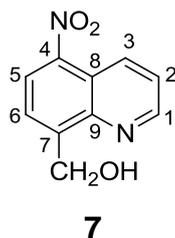
F.F.: 112,6 – 112,9 °C; lit.: 112 – 113 °C (GRACHEVA *et al.*, 1983).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3046 (C-H arom.); 2826 (C-H); 1593, 1498 (C-C arom.); 1511 (ArNO₂, N=O assim.); 1321 (ArNO₂, N=O sim.); 832, 789 (deformação angular C-H arom.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 9,09-8,99 (m; 2H; H-1 e H-3); 8,34 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 7,0); 7,95 (d; 1H; H-6; J_{5,6} = 7,0); 7,67 (m; 1H; H-2); 5,24 (s; 2H; CH₂Br).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CDCl₃; 50 MHz): 150,99 (C-1 e C-4); 145,56 (C-9); 143,70 (C-7); 132,19 (C-3); 128,52 (C-6); 124,17 (C-2 e C-5); 121,32 (C-8); 27,77 (CH₂Br).

5.2.5 Síntese de (5-nitroquinolin-8-il)metanol (7)



A um balão de fundo redondo contendo **5** (0,0500 g; 0,187 mmol) e THF (2 mL) adicionou-se solução de Na₂CO₃ (0,1985 g; 1,87 mmol) em 1 mL de água destilada. A mistura permaneceu sob agitação magnética a 60 °C por 24 horas. Em seguida, resfriou-se a mistura até temperatura ambiente e adicionou-se acetato de etila (40 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 1:1). Obteve-se 0,0174 g de um sólido marrom (46% de rendimento).

F.M.: C₁₀H₈O₃N₂

M.M.: 204,18 g/mol

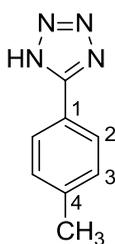
F.F.: 140,1 – 141,6 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3265 (O-H); 2890 (C-H); 1595 (C-C arom.); 1524 (ArNO₂, N=O assim.); 1317 (ArNO₂, N=O sim.); 1082 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-d₆; 200 MHz): 9,02 (dd; 1H; H-1; J_{1,2} = 5,0; J_{1,3} = 2,0); 8,95 (dd; 1H; H-3; J_{3,1} = 2,0; J_{3,2} = 8,0); 8,44 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 8,07 (d; 1H; H-6; J_{5,6} = 8,0); 7,79 (dd; 1H; H-2; J_{2,1} = 4,0; J_{2,3} = 8,0); 5,36 (s; 2H; CH₂OH).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-d₆; 50 MHz): 151,37 (C-1 e C-4); 149,24 (C-9); 145,92 (C-7); 132,74 (C-3); 125,41, 125,03 e 124,80 (C-2, C-5 e C-6); 121,13 (C-8); 61,63 (CH₂OH).

5.2.6 Síntese de 5-(4-toluil)-1H-tetrazol (9)



9

A um balão de fundo redondo foram adicionados *p*-tolunitrila (2,50 g; 0,021 mol), azida de sódio (1,53 g; 0,023 mol), cloreto de amônio (1,26 g; 0,023 mol) e DMF (20 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 18 horas. Em seguida, adicionou-se gelo pilado e acidificou-se a mistura até pH 2 com solução aquosa de HCl 2 mol/L. O precipitado formado foi filtrado a vácuo

e lavado com água destilada gelada. Foram obtidos 2,92 g de um sólido branco (85% de rendimento).

F.M.: C₈H₈N₄

M.M.: 160,18 g/mol

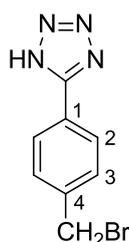
F.F.: 247,3 – 247,9 °C; lit.: 248 – 249 °C (JIN *et al.*, 2008)

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3000-2200 (N-H); 1612, 1579, 1569 (C-C arom.); 821, 741 (deformação angular C-H arom.).

RMN de ¹H (δ /ppm; J/Hz; DMSO-*d*₆; 200 MHz): 7,92 (d; 2H; H-2; *J*_{2,3} = 6,2); 7,38 (d; 2H; H-3; *J*_{2,3} = 6,2); 2,36 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ /ppm; DMSO-*d*₆; 50 MHz): 155,12 (C=N); 141,25 (C-4); 129,96 (C-3); 126,91 (C-2); 121,28 (C-1); 21,05 (CH₃).

5.2.7 Síntese de 5-(4-(bromometil)fenil)-1*H*-tetrazol (10)



10

A um balão de fundo redondo contendo **9** (0,100 g; 0,62 mmol), AIBN (0,0102 g; 0,062 mmol) e NBS (0,2781 g; 1,56 mmol) adicionou-se benzeno (4 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 48 horas. Após resfriamento até temperatura ambiente, filtrou-se o precipitado formado. Em seguida adicionou-se água (3 mL) ao precipitado coletado e aqueceu-se a mistura em banho de óleo a 75 °C. Após 1 hora, o produto desejado foi obtido

por filtração a quente e lavado com água em ebulição. Foi obtido 0,0407 g de um sólido amarelo claro (27% de rendimento).

F.M.: $C_8H_7N_4Br$

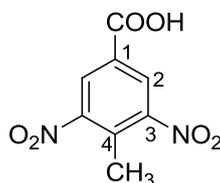
M.M.: 239,07 g/mol

F.F.: $>300\text{ }^\circ\text{C}$

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3000-2200 (N-H); 1616, 1569 (C-C arom.); 840, 818 (deformação angular C-H arom.).

RMN de ^1H (δ /ppm; J /Hz; DMSO- d_6 ; 200 MHz): 8,03 (d; 2H; H-2; $J_{2,3} = 8,0$); 7,68 (d; 2H; H-3; $J_{2,3} = 8,0$); 4,78 (s; 2H; CH_2Br).

5.2.8 Síntese do ácido 4-metil-3,5-dinitrobenzóico (12)



12

A um balão de fundo redondo contendo ácido *p*-tolúico (5,00 g; 0,036 mol) e ácido sulfúrico concentrado (50,0 mL) a aproximadamente $18\text{ }^\circ\text{C}$, adicionou-se, gota-a-gota, ácido nítrico concentrado (20,0 mL) sob agitação magnética. Após a adição a mistura aqueceu-se naturalmente até temperatura ambiente e permaneceu sob agitação magnética por mais 2 horas. Em seguida adicionou-se, cuidadosamente, gelo pilado ao meio reagente e filtrou-se o precipitado formado, lavando com água destilada gelada. Foram obtidos 8,15 g de um sólido amarelado (98% de rendimento).

F.M.: $C_8H_6O_6N_2$

M.M.: 226,14 g/mol

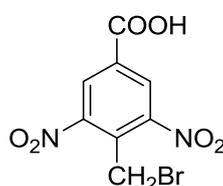
F.F.: 153,6 – 155,4 °C; lit.: 154 – 155 °C (WINDAUS *et al.*, 1932).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3400-2300 (O-H); 1697 (C=O); 1622 (C-C arom.); 1531 (ArNO₂, N=O assim.); 1343 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,66 (s; 2H; H-2); 2,63 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ /ppm; acetona-*d*₆; 50 MHz): 164,09 (C=O); 152,55 (C-3); 132,04 (C-4); 131,66 (C-1); 128,73 (C-2); 15,26 (CH₃).

5.2.9 Síntese do ácido 4-(bromometil)-3,5-dinitrobenzóico (**13**)



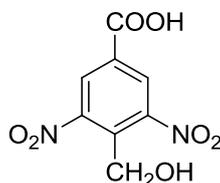
13

A um balão de fundo redondo contendo **8** (2,4 g; 0,01 mol), AIBN (0,1742 g; 0,001 mol) e NBS (4,73 g; 0,027 mol) adicionou-se benzeno (75 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 48 horas. Após resfriamento removeu-se o solvente em evaporador rotatório e ao resíduo obtido adicionou-se acetato de etila (60 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 40 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. Foram obtidos 4,52 g de uma mistura de **8** e **13**, que foram utilizados na próxima etapa sem purificação.

F.M.: C₈H₅O₆N₂Br

M.M.: 305,04 g/mol

5.2.10 Síntese do ácido 4-(hidroximetil)-3,5-dinitrobenzóico (15)



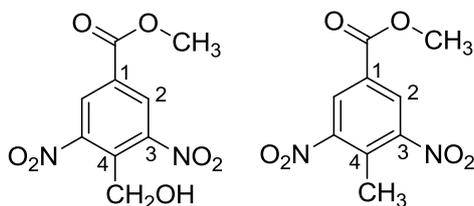
15

A um balão de fundo redondo contendo uma mistura de **8** e **13** (4,52 g; ~ 0,015 mol) adicionou-se solução aquosa saturada de Na_2CO_3 (100 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética a 60 °C por 4 horas. Após resfriamento até temperatura ambiente, acidificou-se com solução aquosa de HCl 2 mol/L até pH 1. Extraiu-se com acetato de etila (200 mL) e, em seguida, a fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 100 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. Foram obtidos 3,35 g de uma mistura de **8** e **15** que foram utilizados na próxima etapa sem purificação.

F.M.: $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_7\text{N}_2$

M.M.: 242,14 g/mol

5.2.11 Síntese de 4-(hidroximetil)-3,5-dinitrobenzoato de metila (16) e de 4-metil-3,5-dinitrobenzoato de metila (17)



16

17

A um balão de fundo redondo contendo uma mistura de **8** e **15** (3,35 g; ~ 0,014 mol), carbonato de potássio (2,10 g; 0,015 mol) e DMF (35 mL) adicionou-se

iodeto de metila (1,72 mL; 0,028 mol). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 3 horas. Em seguida adicionou-se água destilada (100 mL) e extraiu-se com acetato de etila (200 mL). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl (100 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluentes: hexanos/acetato de etila 9:1 e 8:2). Obteve-se 0,4234 g de um sólido marrom (**16**) (16% de rendimento a partir do derivado **12**, 3 etapas). O composto **17** também foi isolado como um sólido amarelo claro (0,5777 g; 23% de rendimento).

Dados de **16**:

F.M.: C₉H₈O₇N₂

M.M.: 256,17 g/mol

F.F.: 80,6 – 81,7 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3481 (O-H); 3102 (C-H arom.); 2961 (C-H); 1715 (C=O); 1629 (C-C arom.); 1545 (ArNO₂, N=O assim.); 1352 (ArNO₂, N=O sim.); 1044 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-d₆; 200 MHz): 8,59 (s; 2H; H-2); 5,05 (s; 2H; CH₂OH); 4,00 (s; 3H; OCH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-d₆; 50 MHz): 163,81 (C=O); 151,74 (C-3); 135,96 (C-4); 132,43 (C-1); 128,47 (C-2); 57,73 (CH₂OH); 53,56 (OCH₃).

Dados de **17**:

F.M.: C₉H₈O₆N₂

M.M.: 240,17 g/mol

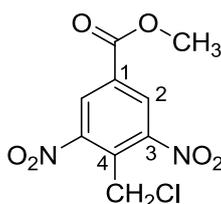
F.F.: 85,1 – 85,9 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3086, 3072 (C-H arom.); 2967 (C-H); 1723 (C=O); 1624 (C-C arom.); 1536 (ArNO₂, N=O assim.); 1348 (ArNO₂, N=O sim.); 1282 (C-O); 1151 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 8,60 (s; 2H; H-2); 4,02 (s; 3H; OCH₃); 2,64 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CDCl₃; 50 MHz): 163,00 (C=O); 151,59 (C-3); 131,54 (C-4); 130,23 (C-1); 127,87 (C-2); 53,28 (OCH₃); 15,21 (CH₃).

5.2.12 Síntese de 4-(clorometil)-3,5-dinitrobenzoato de metila (18)



18

A um balão de fundo redondo contendo **16** (0,0500g; 0,195 mmol) adicionou-se cloreto de tionila (2,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética a 90 °C por 18 horas. Após resfriamento até temperatura ambiente adicionou-se gelo pilado e solução aquosa saturada de NaHCO₃ (10 mL). Em seguida extraiu-se com acetato de etila (40 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 9:1). Obteve-se 0,0237 g de um sólido amarelado (44% de rendimento).

F.M.: C₉H₇O₆N₂Cl

M.M.: 274,61 g/mol

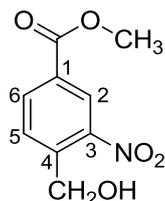
F.F.: 67,7 – 68,4 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3092 (C-H arom.); 2958, 2888 (C-H); 1731 (C=O); 1626 (C-C arom.); 1539 (ArNO₂, N=O assim.); 1344 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 8,69 (s; 2H; H-2); 5,07 (s; 2H; CH₂Cl); 4,04 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CDCl₃; 50 MHz): 162,53 (C=O); 150,43 (C-3); 132,74 (C-1); 130,14 (C-4); 128,89 (C-2); 53,58 (CH₃); 34,76 (CH₂Cl).

5.2.13 Síntese de 4-(hidroximetil)-3-nitrobenzoato de metila (19)



19

A um balão de fundo redondo contendo ácido 4-hidroximetil-3-nitrobenzóico (0,7000 g; 3,55 mmol), sintetizado previamente (LOPES, 2012), carbonato de potássio (0,5394 g; 3,91 mmol) e DMF (7,0 mL) adicionou-se iodeto de metila (0,44 mL; 7,11 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 3 horas. Em seguida adicionou-se água destilada (20 mL) e extraiu-se com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (elute: hexanos/acetato de etila 7,5:2,5). Obteve-se 0,5460 g de um sólido amarelo (73% de rendimento).

F.M.: C₉H₉O₅N

M.M.: 211,17 g/mol

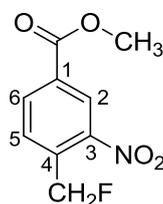
F.F.: 65,2 – 65,9 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3235 (O-H); 2954 (C-H); 1720 (C=O); 1621 (C-C arom.); 1527 (ArNO₂, N=O assim.); 1341 (ArNO₂, N=O sim.); 1038 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 8,69 (d; 1H; H-2; J_{2,6} = 1,4); 8,28 (dd; 1H; H-6; J_{2,6} = 1,4; J_{5,6} = 8,2); 7,91 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,2); 5,06 (s; 2H; CH₂OH); 3,97 (s; 3H; OCH₃); 2,58 (sl; 1H; OH).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CDCl₃; 50 MHz): 164,91 (C=O); 147,09 (C-3); 141,64 (C-4); 134,39 (C-6); 130,44 (C-1); 129,45 (C-5); 125,95 (C-2); 61,98 (CH₂OH); 52,72 (OCH₃).

5.2.14 Síntese de 4-(fluorometil)-3-nitrobenzoato de metila (20)



20

A um balão de fundo redondo contendo **19** (0,4000 g; 1,90 mmol) e diclorometano anidro (5,0 mL) adicionou-se, lentamente, a -78 °C e sob atmosfera de N₂ e agitação magnética, solução de DAST (0,28 mL; 2,09 mmol) em diclorometano anidro (5,0 mL). A mistura foi aquecida naturalmente até temperatura ambiente e deixada sob agitação magnética e atmosfera de N₂ por mais 5 horas. Em seguida adicionou-se solução aquosa saturada de NaHCO₃ (20 mL) e extraiu-se com diclorometano (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por

CCS (eluyente: hexanos/acetato de etila 9,5:0,5). Obteve-se 0,1200 g de um sólido esverdeado (30% de rendimento).

F.M.: $C_9H_8O_4NF$

M.M.: 213,16 g/mol

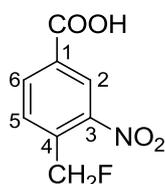
F.F.: 56,0 – 56,2 °C

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3089, 3053, 3005 (C-H arom.); 2956, 2925 (C-H); 1726 (C=O); 1625 (C-C arom.); 1527 (ArNO₂, N=O assim.); 1342 (ArNO₂, N=O sim.); 1010 (C-F).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,71 (s; 1H; H-2); 8,42 (d; 1H; H-6; $J_{6,5} = 8,0$); 7,96 (d; 1H; H-5, $J_{5,6} = 8,0$); 5,97 (d; 2H; CH₂F; $J_{CH_2,F} = 47,6$); 3,97 (s; 3H; OCH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 50 MHz): 165,23 (C=O); 139,29 (C-4); 135,32 (C-6); 131,83 (C-1); 128,30 (d; C-5; $J_{C-5,F} = 17,2$); 126,24 (C-2); 82,02 (d; CH₂F; $J_{CH_2,F} = 170,0$); 53,08 (OCH₃).

5.2.15 Síntese do ácido 4-(fluorometil)-3-nitrobenzóico (21)



21

A um balão de fundo redondo foram adicionados **20** (0,0600 g; 0,28 mmol), THF (4,0 mL) e solução aquosa de NaOH 1 mol/L (0,85 mL; 0,84 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 18 horas. Em seguida, diluiu-se essa mistura com solução aquosa de NaOH 0,1 mol/L (30 mL) e adicionou-se acetato de etila (30 mL). Após extração, isolou-se a fase aquosa que, em

seguida, foi acidificada com solução aquosa de HCl 2 mol/L até pH 1 e extraída com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,0450 g de um sólido amarelo claro (80% de rendimento).

F.M.: C₈H₆O₄NF

M.M.: 199,14 g/mol

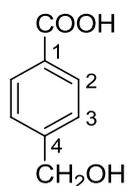
F.F.: 161,2 – 162,4 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3300-2200 (O-H); 1687 (C=O); 1624 (C-C arom.); 1534 (ArNO₂, N=O assim.); 1348 (ArNO₂, N=O sim.); 1022 (C-F).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,73 (s; 1H; H-2); 8,43 (d; 1H; H-6; *J*_{6,5} = 8,0); 7,95 (d; 1H; H-5; *J*_{5,6} = 8,0); 5,97 (d; 2H; CH₂F; *J*_{CH₂,F} = 47,8).

RMN de ¹³C (δ /ppm; *J*/Hz; acetona-*d*₆; 50 MHz): 165,51 (C=O); 146,89 (C-3); 139,32 (d; C-4; *J*_{C-4,F} = 18,8); 135,60 (C-6); 132,29 (C-1); 128,21 (d; C-5; *J*_{C-5,F} = 17,2); 126,47 (C-2); 82,04 (d; CH₂F; *J*_{CH₂,F} = 169,9).

5.2.16 Síntese do ácido 4-(hidroximetil)benzóico (22)



22

A um balão de fundo redondo contendo ácido 4-bromometilbenzóico (1,00 g; 4,65 mmol), sintetizado previamente (LOPES, 2012), adicionou-se solução aquosa saturada de Na₂CO₃ (28,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética a 80 °C por 2 horas. Após resfriamento até temperatura ambiente,

acidificou-se com solução aquosa de HCl 2 mol/L até pH 1. Filtrou-se o precipitado formado lavando com água destilada. Foi obtido 0,479 g de um sólido branco (68% de rendimento).

F.M.: C₈H₈O₃

M.M.: 152,15 g/mol

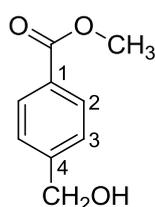
F.F.: 176,6 – 178,8 °C; lit.: 180 – 182 °C (TRINCADO *et al.*, 2010).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3450-2300 (O-H); 1682 (C=O); 1610, 1576 (C-C arom.); 1292 (C-O); 1040 (C-O).

RMN de ¹H (δ /ppm; J/Hz; CD₃OD; 200 MHz): 7,99 (d; 2H; H-2; J_{2,3} = 7,2); 7,44 (d; 2H; H-3; J_{3,2} = 7,2); 4,67 (s; 2H; CH₂OH).

RMN de ¹³C (δ /ppm; CD₃OD; 50 MHz): 169,79 (C=O); 148,27 (C-4); 130,83 (C-2); 130,66 (C-1); 127,53 (C-3); 64,58 (CH₂OH).

5.2.17 Síntese de 4-(hidroximetil)benzoato de metila (23)



23

A um balão de fundo redondo contendo **22** (0,2000 g; 1,32 mmol), carbonato de potássio (0,1997 g; 1,45 mmol) e DMF (4,0 mL) adicionou-se iodeto de metila (0,16 mL; 2,63 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 2 horas. Em seguida, adicionou-se água destilada (20 mL) e extraiu-se com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o

solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 7:3). Obteve-se 0,1662 g de um sólido branco (76% de rendimento).

F.M.: C₉H₁₀O₃

M.M.: 166,17 g/mol

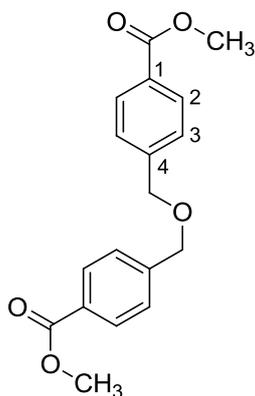
F.F.: 46,9 – 47,3 °C; lit.: 46 – 48 °C (SHAIKH *et al.*, 2007).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3299 (O-H); 3016 (C-H arom.); 2959, 2914, 2861 (C-H); 1719 (C=O); 1613 (C-C arom.).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 7,98 (d; 2H; H-2; *J*_{2,3} = 8,0); 7,39 (d; 2H; H-3; *J*_{3,2} = 8,0); 4,73 (s; 2H; CH₂OH); 3,89 (s; 3H; OCH₃); 2,63 (s; 1H; OH).

RMN de ¹³C (δ /ppm; CDCl₃; 50 MHz): 167,02 (C=O); 146,07 (C-4); 129,72 (C-2); 129,09 (C-1); 126,38 (C-3); 64,47 (CH₂OH); 52,06 (OCH₃).

5.2.18 Síntese do éter bis[(4,4'-metoxicarbonil)fenilmetílico] (24)



24

A um balão de fundo redondo contendo **23** (0,1000 g; 0,60 mmol) e diclorometano anidro (4,0 mL) adicionou-se, lentamente, a -78 °C e sob

atmosfera de N₂ e agitação magnética, solução de DAST (0,095 mL; 0,72 mmol) em diclorometano anidro (4,0 mL). A mistura foi aquecida naturalmente até temperatura ambiente e deixada sob agitação magnética e atmosfera de N₂ por mais 4 horas. Em seguida, adicionou-se solução aquosa saturada de NaHCO₃ (20 mL) e extraiu-se com diclorometano (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 9,5:0,5). Obteve-se 0,0338 g de um sólido branco (36% de rendimento).

F.M.: C₁₈H₁₈O₅

M.M.: 314,33 g/mol

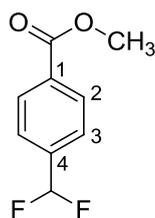
F.F.: 106,1 – 106,7 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3022 (C-H arom.); 2962, 2924, 2856 (C-H); 1716 (C=O); 1611 (C-C arom.); 1271, 1103, 1090 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 8,04 (d; 4H; H-2; J_{2,3} = 8,4); 7,44 (d; 4H; H-3; J_{3,2} = 8,4); 4,63 (s; 4H, CH₂O); 3,92 (s; 6H; OCH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CDCl₃; 50 MHz): 166,84 (C=O); 143,16 (C-4); 129,74 (C-2 e C-1); 127,23 (C-3); 71,80 (CH₂O); 52,05 (OCH₃).

5.2.19 Síntese de 4-(difluorometil)benzoato de metila (25)



25

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 4-formilbenzoato de metila (0,3000 g; 1,83 mmol) e DAST (1,2 mL; 9,15 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 18 horas. Em seguida adicionou-se água destilada (40 mL) e extraiu-se com diclorometano (40 mL). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaHCO₃ (2 x 20 mL), solução aquosa saturada de NaCl (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 9,5:0,5). Obteve-se 0,2340 g de um sólido branco (69% de rendimento).

F.M.: C₉H₈O₂F₂

M.M.: 186,16 g/mol

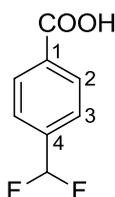
F.F.: 38,7 – 39,1 °C; lit.: 36,5 – 37 °C (FURUYA *et al.*, 2005).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3012 (C-H arom.); 2960, 2854 (C-H); 1717 (C=O); 1582 (C-C arom.); 1275 (C-O); 1011 (C-F).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 8,13 (d; 2H; H-2; *J*_{2,3} = 8,0); 7,59 (d; 2H; H-3; *J*_{3,2} = 8,0); 6,69 (t; 1H; CHF₂; *J*_{CH,F} = 56,0); 3,95 (s; 3H; OCH₃).

RMN de ¹³C (δ /ppm; *J*/Hz; CDCl₃; 50 MHz): 166,22 (C=O); 138,44 (t; C-4); 132,33 (C-1); 129,93 (C-2); 125,62 (C-3); 113,98 (t; CHF₂, *J*_{CH,F} = 238,4); 52,34 (OCH₃).

5.2.20 Síntese do ácido 4-(difluorometil)benzóico (26)



26

A um balão de fundo redondo foram adicionados **25** (0,2000 g; 1,07 mmol), THF (8,0 mL) e solução aquosa de NaOH 1 mol/L (3,20 mL; 3,22 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 18 horas. Em seguida, diluiu-se a mistura com solução aquosa de NaOH 0,5 mol/L (30 mL) e adicionou-se acetato de etila (30 mL). Após extração, isolou-se a fase aquosa que, em seguida, foi acidificada com solução aquosa de HCl 2 mol/L até pH 1 e extraída com acetato de etila (2 x 30 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (30 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,1740 g de um sólido branco (94% de rendimento).

F.M.: C₈H₆O₂F₂

M.M.: 172,13 g/mol

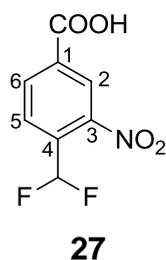
F.F.: 182,6 – 185,0 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3300-2200 (O-H); 1682 (C=O); 1582 (C-C arom.); 1287 (C-O); 1017 (C-F).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,17 (d; 2H; H-2; *J*_{2,3} = 7,8); 7,73 (d; 2H; H-3; *J*_{3,2} = 7,8); 7,00 (t; 2H; CHF₂; *J*_{CH,F} = 55,8).

RMN de ¹³C (δ /ppm; *J*/Hz; acetona-*d*₆; 50 MHz): 166,90 (C=O); 139,56 (C-4); 133,71 (C-1); 130,88 (C-2); 126,70 (t; C-3; *J*_{C-3,F} = 5,9); 115,39 (t; CHF₂; *J*_{CH,F} = 235,5).

5.2.21 Síntese do ácido 4-(difluorometil)-3-nitrobenzóico (27)



A um balão de fundo redondo contendo ácido nítrico fumegante (1,5 mL), sob banho de gelo, adicionou-se o ácido **26** (0,0300 g; 0,17 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética a 0 °C por 3 horas. Em seguida, foram adicionados gelo pilado e água destilada (10 mL) e extraiu-se com 30 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 10 mL) e solução aquosa saturada de NaCl (10 mL), secada com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCD em escala preparativa (eluentes: hexanos/acetato de etila/ácido acético 6:3:1). Foi obtido 0,0096 g de um sólido amarelado (25% de rendimento).

F.M.: C₈H₅F₂NO₄

M.M.: 217,13 g/mol

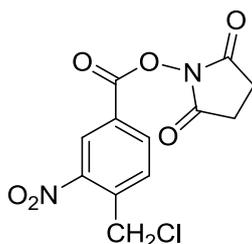
F.F.: 122,0 – 123,6 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3625-2300 (O-H); 1698 (C=O); 1542 (ArNO₂, N=O assim.); 1292 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ /ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 400 MHz): 8,71 (s; 1H; H-2); 8,50 (d; 1H; H-6; J_{6,5} = 8,0); 8,09 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 7,52 (t; 1H; CHF₂; J_{CH,F} = 54,0).

RMN de ^{13}C (δ/ppm ; J/Hz ; acetona- d_6 ; 100 MHz): 165,07 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$); 148,55 (C-3; detecção indireta); 135,63 (C-6); 135,19 (C-1); 133,46 (C-4); 128,65 (t; C-5; $J_{\text{C-5,F}} = 8,4$); 126,76 (C-2); 111,94 (t; $\underline{\text{C}}\text{HF}_2$; $J_{\text{C,H,F}} = 237,4$).

5.2.2 Síntese de *N*-[4-(clorometil)-3-nitrobenzoiloxi]succinimida (29)



29

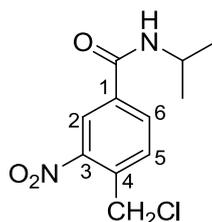
A um balão de fundo redondo foram adicionados o ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico (0,3 g, 1,15 mmol), sintetizado previamente (LOPES, 2012), NHS (0,212 g, 1,85 mmol), EDC (0,354 g, 1,85 mmol) e diclorometano (6 mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 4 horas. Em seguida adicionaram-se ao balão 50 mL de diclorometano e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (3 x 50 mL), secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Obteve-se 0,333 g de um sólido amarelado (92% de rendimento).

F.M.: $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{O}_6\text{N}_2\text{Cl}$

M.M.: 312,66 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 2996, 2953 (C-H); 1770 (C=O succinimida); 1730 (C=O de éster); 1618 (C-C arom.); 1533 (ArNO₂, N=O assim.); 1348 (ArNO₂, N=O sim.); 1200 (C-O).

5.2.23 Síntese de 4-(clorometil)-3-nitro-*N*-isopropilbenzamida (**30**)

**30**

A um balão de fundo redondo contendo solução de **29** (0,1000 g; 0,32 mmol) em diclorometano (2 mL) adicionou-se, gota a gota, solução de isopropilamina (0,0380 g; 0,64 mmol) em diclorometano (2 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 4 horas. Em seguida adicionou-se acetato de etila (40 mL) e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 mol/L (3 x 30 mL), solução aquosa saturada de NaHCO₃ (20 mL), água destilada (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 7:3). Obteve-se 0,0309 g de um sólido branco (38% de rendimento).

F.M.: C₁₁H₁₃O₃N₂Cl

M.M.: 256,69 g/mol

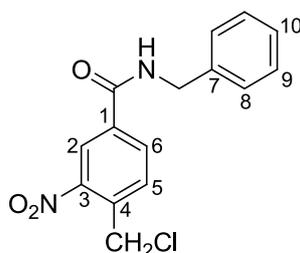
F.F.: 106,5 – 108,0 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3297 (N-H); 3085 (C-H arom.); 2978 (C-H); 1636 (C=O); 1521 (ArNO₂, N=O assim.); 1340 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 8,39 (d; 1H; H-2; J_{2,6} = 1,6); 8,05 (dd; 1H; H-6; J_{6,2} = 1,6; J_{6,5} = 8,0); 7,74 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 6,45 (d; 1H; NH; J_{NH,CH} = 6,2); 4,96 (s; 2H; CH₂Cl); 4,28 (o; 1H; CH; J_{CH,CH3} = 6,6); 1,28 (d; 6H; CH₃; J_{CH,CH3} = 6,6).

RMN de ^{13}C (δ/ppm ; CDCl_3 ; 50 MHz): 163,71 ($\text{C}=\text{O}$); 147,70 (C-3); 136,28 (C-4); 135,01 (C-1); 132,06 (C-6); 131,88 (C-5); 123,52 (C-2); 42,49 (CH); 42,31 (CH_2Cl); 22,58 (CH_3).

5.2.24 Síntese de *N*-benzil-4-(clorometil)-3-nitrobenzamida (31)



31

A um balão de fundo redondo contendo solução de **29** (0,1000 g; 0,32 mmol) em diclorometano (2 mL) adicionou-se, gota a gota, solução de benzilamina (0,0450 g; 0,42 mmol) em diclorometano (2 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 4 horas. Em seguida adicionou-se acetato de etila (40 mL) e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 mol/L (3 x 30 mL), solução aquosa saturada de NaHCO_3 (20 mL), água destilada (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 7,5:2,5). Obteve-se 0,0366 g de um sólido branco (38% de rendimento).

F.M.: $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}_2\text{Cl}$

M.M.: 304,73 g/mol

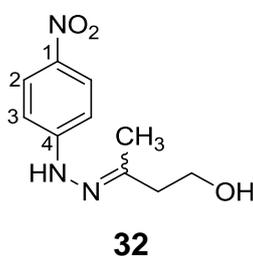
F.F.: 98,4 – 98,7 °C

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3300 (N-H); 3064, 3031 (C-H arom.); 2926, 2870 (C-H); 1640 (C=O); 1525 (ArNO_2 , N=O assim.); 1345 (ArNO_2 , N=O sim.).

RMN de ^1H (δ /ppm; J /Hz; acetona- d_6 ; 200 MHz): 8,64 (sl; 1H; NH); 8,58 (d; 1H; H-2; $J_{2,6} = 1,6$); 8,29 (dd; 1H; H-6; $J_{6,2} = 1,6$; $J_{6,5} = 8,0$); 7,89 (d; 1H; H-5; $J_{5,6} = 8,0$); 7,40-7,24 (m; 5H; H-8, H-9 e H-10); 5,10 (s; 2H; CH_2Cl); 4,63 (d; 2H; CH_2NH ; $J_{\text{CH}_2,\text{NH}} = 5,8$).

RMN de ^{13}C (δ /ppm; acetona- d_6 ; 50 MHz): 164,77 ($\text{C}=\text{O}$); 149,05 (C-3); 139,91 (C-7); 137,13 (C-4); 135,79 (C-1); 133,04 (C-6); 129,20, 128,49 e 127,87 (C-5, C-8, C-9 e C-10); 124,78 (C-2); 44,24 (CH_2NH); 42,98 (CH_2Cl).

5.2.25 Síntese de 3-(2-(4-nitrofenil)hidrazono)butan-1-ol (32)



A um balão de fundo redondo contendo 4-nitrofenilhidrazina (0,2000 g; 1,31 mmol), 4-hidroxi-2-butanona (0,1841; 2,09 mmol) e etanol (4 mL) adicionou-se ácido acético glacial (0,016 mL; 0,26 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 3 horas. Após resfriamento, removeu-se o solvente em evaporador rotatório e ao resíduo obtido adicionou-se acetato de etila (30 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi purificado por CCS (eluentes: hexanos/acetato de etila 8:2, 7:3 e 6:4). Obteve-se 0,1030 g de um sólido alaranjado (35% de rendimento).

F.M.: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}_3$

M.M.: 223,23 g/mol

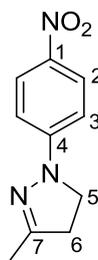
F.F.: 122,0 – 124,2 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3232 (N-H, O-H); 3061 (C-H arom.); 2956, 2909 (C-H); 1640 (C=O); 1501 (ArNO₂, N=O assim.); 1321 (ArNO₂, N=O sim.); 1054 (C-O).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 9,19 (s; 1H; NH); 8,09 (d; 2H; H-2; *J*_{2,3} = 8,0); 7,19 (d; 2H; H-3; *J*_{3,2} = 8,0); 3,84 (t; 2H; CH₂OH; *J*_{CH₂OH, CCH₂} = 6,0); 2,55 (t; 2H; CCH₂; *J*_{CCH₂, CH₂OH} = 6,0); 2,00 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ /ppm; acetona-*d*₆; 50 MHz): 152,57 (C=N); 150,79 (C-4); 139,78 (C-1); 126,49 (C-2); 112,22 (C-3); 60,03 (CH₂OH); 42,61 (CCH₂); 15,90 (CH₃).

5.2.26 Síntese de 3-metil-1-(4-nitrofenil)-4,5-diidropirazol (35)



35

A um balão de fundo redondo contendo a cetona **36** (0,2000 g; 0,99 mmol), 4-nitrofenilhidrazina (0,1515 g; 0,99 mmol) e tolueno (5 mL) adicionou-se pTSA.H₂O (0,2069 g; 1,09 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 2 horas. O solvente foi removido em evaporador rotatório e o resíduo obtido foi purificado por CCS (eluentes: hexanos/acetato de etila 9:1 e 8:2). Foi obtido 0,0555 g de um sólido amarelo (27% de rendimento).

F.M.: C₁₀H₁₁N₃O₂

M.M.: 205,21 g/mol

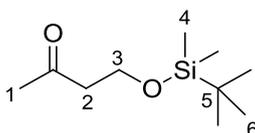
F.F.: 144,8 – 146,8 °C; lit.: 152 °C (ELGUERO e JACQUIER, 1966).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2923, 2876 (C-H); 1484 (ArNO₂, N=O assim.); 1296 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 8,12 (d; 2H; H-2; J_{2,3} = 10,0); 6,88 (d; 2H; H-3; J_{3,2} = 10,0); 3,81 (t; 2H; H-5; J_{5,6} = 9,5); 2,98 (t; 2H; H-6; J_{6,5} = 9,5); 2,13 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CDCl₃; 50 MHz): 154,96 (C-7); 149,61 (C-4); 138,31 (C-1); 126,09 (C-2); 110,69 (C-3); 46,63 (C-5); 36,48 (C-6); 15,98 (CH₃).

5.2.27 Síntese de 4-(*tert*-butildimetilsililoxi)-2-butanona (36)



36

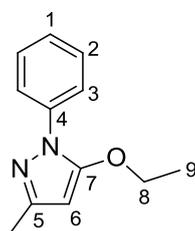
A um balão de fundo redondo contendo 4-hidoxi-2-butanona (0,5000 g; 5,68 mmol) e imidazol (0,4255 g; 6,25 mmol) em THF (4 mL) adicionou-se solução de cloreto de *tert*-butildimetilsilano (0,9421 g; 6,25 mmol) em THF (4 mL) sob banho de gelo e agitação magnética. Após a adição a mistura permaneceu sob agitação à temperatura ambiente por 18 horas. Ao final da reação secou-se o solvente em evaporador rotatório e adicionou-se éter etílico. A fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20 mL), secada com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 97,5:2,5). Obteve-se 0,4111 g de um óleo amarelado (36% de rendimento).

F.M.: C₁₀H₂₂O₂Si

M.M.: 202,37 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2955, 2930, 2886, 2857 (C-H); 1716 (C=O); 1101 (C-O).

5.2.28 Síntese de 5-etoxi-3-metil-1-fenilpirazol (38)



38

A um balão de fundo redondo contendo acetoacetato de etila (0,2000 g; 1,54 mmol), fenilhidrazina (0,1661 g; 1,54 mmol) e tolueno (5 mL) adicionou-se pTSA.H₂O (0,3215 g; 1,69 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 3 horas. O solvente foi removido em evaporador rotatório e o resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: hexanos/acetato de etila 95:5). Foi obtido 0,0245 g de um óleo amarelado (8% de rendimento).

F.M.: C₁₂H₁₄N₂O

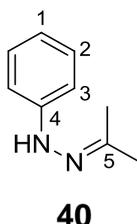
M.M.: 202,25 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2982, 2933 (C-H); 1141, 1048 (C-O).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 7,70 (d; 2H; H-3; *J*_{3,2} = 8,0); 7,39 (t; 2H; H-2; *J*_{2,1} = *J*_{2,3} = 8,0); 7,22 (t; 1H; H-1; *J*_{1,2} = 8,0); 5,47 (s; 1H; H-6); 4,13 (q; 2H; H-8; *J*_{8,9} = 6,8); 2,27 (s; 3H; CH₃); 1,43 (t; 3H; H-9; *J*_{9,8} = 6,8).

RMN de ¹³C (δ /ppm; CDCl₃; 50 MHz): 154,80 (C-5); 148,69 (C-7); 138,75 (C-4); 128,68 (C-2); 125,67 (C-1); 121,72 (C-3); 86,21 (C-6); 67,73 (C-8); 14,58, 14,49 (C-9 e CH₃).

5.2.29 Síntese de 1-fenil-2-propan-2-ilideno hidrazina (**40**)



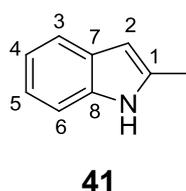
A um balão de fundo redondo contendo fenilhidrazina (1,00 g; 9,26 mmol), acetona (0,6444 g; 0,011 mol) e etanol (10 mL), adicionou-se ácido acético glacial (4 gotas). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 2 horas. Após remoção do solvente em evaporador rotatório, obteve-se 1,58 g do produto que foi utilizado na etapa seguinte sem purificação prévia.

F.M.: C₉H₁₂N₂

M.M.: 148,20 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3347 (N-H); 3054 (C-H arom.); 2984, 2936, 2909 (C-H).

5.2.30 Síntese de 2-metilindol (**41**)



A um balão de fundo redondo contendo a hidrazona **40** (0,4000 g; 2,70 mmol) adicionou-se PPA (4,0 g). A mistura foi mantida a 100 °C e agitação manual (com bastão de vidro) por 30 minutos. Em seguida, foram adicionados gelo pilado e água destilada (20 mL) e extraiu-se com acetato de etila (2 x 40 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi purificado por CCS

(eluente: hexanos/acetato de etila 97:3). Obteve-se 0,1057 g de um sólido amarelado (30% de rendimento).

F.M.: C₉H₉N

M.M.: 131,17 g/mol

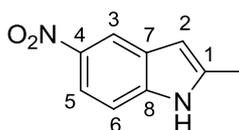
F.F.: 53,8 – 55,6 °C; lit.: 56 – 59 °C (KISSMAN *et al.*, 1952).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3321 (N-H); 3076 (C-H arom.); 2909 (C-H).

RMN de ¹H (δ /ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 7,74 (s; 1H; NH); 7,59 (dd; 1H; H-6; J_{6,5} = 5,0; J_{6,4} = 3,0); 7,32-7,13 (m; 3H; H-3, H-4 e H-5); 6,28 (s; 1H; H-2); 2,45 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ /ppm; CDCl₃; 50 MHz): 135,96 (C-8); 135,05 (C-1); 128,96 (C-7); 120,83 (C-5); 119,54 (C-3 e C-4); 110,19 (C-6); 100,25 (C-2); 13,58 (CH₃).

5.2.31 Síntese de 2-metil-5-nitroindol (42)



42

A um balão de fundo redondo contendo **41** (2,0 g; 0,015 mol) e H₂SO₄ concentrado (8 mL) a 0 °C, adicionou-se, lentamente, solução de NaNO₃ (1,30 g; 0,015 mol) em H₂SO₄ concentrado (8 mL). Após a completa adição, a mistura foi mantida a 0 °C e agitação magnética por mais 5 minutos. Em seguida adicionou-se gelo pilado e filtrou-se a vácuo lavando com água destilada. Ao sólido obtido adicionou-se diclorometano e filtrou-se lavando exaustivamente com mais diclorometano. O filtrado foi evaporado em

evaporador rotatório obtendo-se 1,70 g de um sólido amarelo (63% de rendimento).

F.M.: C₉H₈N₂O₂

M.M.: 176,17 g/mol

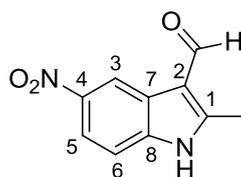
F.F.: 168,1 – 170,1 °C; lit.: 176 – 176,5 °C, 171,5 – 172,5 °C (NOLAND *et al.*, 1963).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3318 (N-H); 2920 (C-H); 1469 (ArNO₂, N=O assim.); 1314 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-d₆; 200 MHz): 10,76 (s; 1H; NH); 8,41 (d; 1H; H-3; J_{3,5} = 2,0); 7,95 (dd; 1H; H-5; J_{5,3} = 2,0; J_{5,6} = 8,5); 7,44 (d; 1H; H-6; J_{6,5} = 8,5); 6,43 (s; 1H; H-2); 2,47 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-d₆; 50 MHz): 142,18 (C-8); 140,61 (C-1 e C-4); 129,35 (C-7); 116,67 (C-3 e C-5); 111,27 (C-6); 102,67 (C-2); 13,52 (CH₃).

5.2.32 Síntese de 2-metil-3-carboxaldeído-5-nitroindol (43)



43

A um balão de fundo redondo contendo dimetilformamida (1,5 mL) a 0 °C, adicionou-se, lentamente, POCl₃ (0,53 mL; 5,68 mmol) sob agitação magnética. Em seguida, uma solução do indol **42** (0,1000 g; 0,57 mmol) em dimetilformamida (1,5 mL) foi adicionada lentamente à mistura resfriada. Após a adição, aqueceu-se a reação até 35 °C e assim permaneceu sob agitação magnética por 1 hora. Após resfriamento, adicionou-se, cuidadosamente, gelo

pilado e solução de NaOH 5 mol/L até pH ~ 4. Em seguida a mistura permaneceu sob refluxo e agitação magnética por 30 minutos. Após resfriamento filtrou-se o precipitado formado, a vácuo, lavando com água destilada. O produto obtido foi purificado por CCS (eluentes: hexanos/acetato de etila 8:2, 7:3, 1:1, acetato de etila 100% e acetato de etila com 10% de metanol). Obteve-se 0,071 g de um sólido amarelo (61% de rendimento).

F.M.: C₁₀H₈N₂O₃

M.M.: 204,18 g/mol

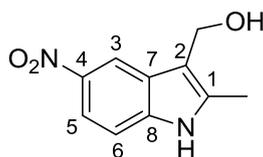
F.F.: deg. ~ 290 °C; lit.: 322 – 324 °C (KRICHEVSKII *et al.*, 1990).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3156 (N-H); 1633 (C=O); 1465 (ArNO₂, N=O assim.); 1335 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; DMSO-*d*₆; 200 MHz): 12,57 (s; 1H; NH); 10,09 (s; 1H; CHO); 8,83 (d; 1H; H-3; *J*_{3,5} = 2,0); 8,04 (dd; 1H; H-5; *J*_{5,3} = 2,0; *J*_{5,6} = 9,0); 7,53 (d; 1H; H-6; *J*_{6,5} = 9,0); 2,72 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; DMSO-*d*₆; 50 MHz): 184,90 (CHO); 152,03 (C-8); 142,64 (C-4); 138,74 (C-1); 124,93 (C-7); 118,17 (C-3); 116,06 (C-5); 114,58 (C-2); 111,97 (C-6); 11,63 (CH₃).

5.2.33 Síntese de (2-metil-5-nitroindol-3-il)metanol (44)



44

A um balão de fundo redondo contendo solução do indol **43** (0,1000 g; 0,49 mmol) em metanol (4 mL) e THF (4 mL) adicionou-se NaBH₄ (0,1112 g; 2,94

mmol) sob banho de gelo e agitação magnética. Após a adição, removeu-se o banho de gelo e a mistura permaneceu sob agitação por mais 1 hora. Em seguida, o volume do solvente foi reduzido em evaporador rotatório e adicionou-se gelo pilado. O precipitado formado foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada. Foi obtido 0,0903 g de um sólido alaranjado (89% de rendimento).

F.M.: $C_{10}H_{10}N_2O_3$

M.M.: 206,20 g/mol

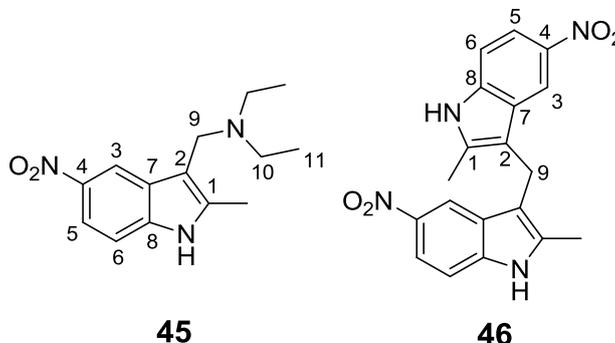
F.F.: 170,8 – 171,6 °C

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3600-2990 (N-H e O-H); 2923 (C-H); 1470 (ArNO₂, N=O assim.); 1303 (ArNO₂, N=O sim.); 1069 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CD₃OD; 200 MHz): 8,42 (d; 1H; H-3; $J_{3,5} = 2,5$); 7,86 (dd; 1H; H-5; $J_{5,3} = 2,5$; $J_{5,6} = 9,5$); 7,21 (d; 1H; H-6; $J_{6,5} = 9,5$); 4,67 (s; 2H; CH₂OH); 2,36 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CD₃OD; 50 MHz): 142,41 (C-8); 140,25 (C-4); 138,93 (C-1); 129,01 (C-7); 117,27 (C-3); 115,92 (C-5); 114,23 (C-2); 111,29 (C-6); 55,01 (CH₂OH); 11,26 (CH₃).

5.2.34 Síntese de 2-metil-3-(dietilaminometil)-5-nitroindol (**45**) e de 3,3'-[bis(metileno)]-2-metil-5-nitroindol (**46**)



A um balão de fundo redondo contendo dietilamina (0,41 mL; 3,98 mmol) adicionou-se ácido acético (5 mL) sob banho de gelo e agitação magnética. Em seguida adicionou-se solução aquosa de formaldeído 35% p/v (0,34 mL; 3,98 mmol). Após 5 minutos, adicionou-se o indol **42** (0,5000 g; 2,84 mmol) e a reação foi mantida sob agitação magnética e à temperatura ambiente por 2 horas. Em seguida, foram adicionados gelo pilado e solução de NaOH 5 mol/L até pH ~10 e extraiu-se com acetato de etila (40 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (20 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi purificado por CCS (eluentes: acetato de etila/metanol 100 a 0%). Obteve-se 0,4941 g de **45** na forma de um sólido alaranjado (67% de rendimento). O composto **46** também foi isolado como um sólido amarelo (16% de rendimento).

Dados de **45**:

F.M.: C₁₄H₁₉N₃O₂

M.M.: 261,32 g/mol

F.F.: 124,4 – 126,7 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3333 (N-H); 2974, 2922, 2816 (C-H); 1467 (ArNO₂, N=O assim.); 1312 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; CD₃OD; 200 MHz): 8,42 (d; 1H; H-3; *J*_{3,5} = 2,0); 7,85 (dd; 1H; H-5; *J*_{5,3} = 2,0; *J*_{5,6} = 8,0); 7,22 (d; 1H; H-6; *J*_{6,5} = 8,0); 3,63 (s; 1H; H-9); 2,51 (q; 4H; H-10; *J*_{10,11} = 6,85); 2,34 (s; 3H; CH₃); 1,03 (t; 6H; H-11; *J*_{11,10} = 6,85).

RMN de ¹³C (δ /ppm; CD₃OD; 50 MHz): 142,60 (C-8); 140,95 (C-4); 140,30 (C-1); 129,54 (C-7); 117,52 (C-3); 116,09 (C-5); 111,59 (C-6); 108,50 (C-2); 47,88, 47,66 (C-9 e C-10); 11,89, 10,02 (C-11 e CH₃).

Dados de **46**:

F.M.: C₁₉H₁₆N₄O₄

M.M.: 364,35 g/mol

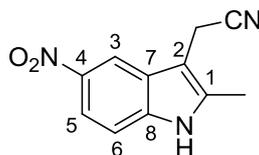
F.F.: deg. ~ 330 °C; lit.: > 350 °C (NOLAND e RUSH, 1963).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3360 (N-H); 2909 (C-H); 1470 (ArNO₂, N=O assim.); 1323 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ /ppm; *J*/Hz; DMSO-*d*₆; 200 MHz): 11,61 (s; 2H; NH); 8,20 (s; 2H; H-3); 7,87 (d; 2H; H-5; *J*_{5,6} = 8,0); 7,38 (d; 2H; H-6; *J*_{6,5} = 8,0); 4,15 (s; 2H; H-9); 2,50 (s; 6H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ /ppm; DMSO-*d*₆; 50 MHz): 139,89 (C-8); 138,56 (C-4); 135,80 (C-1); 127,47 (C-7); 115,67 (C-3); 114,51 (C-5); 111,96 (C-2); 110,69 (C-6); 18,58 (C-9); 11,58 (CH₃).

5.2.35 Síntese de 2-(2-metil-5-nitroindol-3-il)acetonitrila (47)



47

A um balão de fundo redondo contendo solução do indol **45** (0,1000 g; 0,38 mmol) em DMF (3 mL) adicionou-se solução de KCN (0,0747 g; 1,15 mmol) em água destilada (3 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética a 90 °C por 4 horas. Após resfriamento, adicionou-se água destilada (20 mL) e extraiu-se com 40 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20 mL), secada com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluentes: hexanos/acetato de etila 8:2 e 7:3). Foi obtido 0,0367 g de um sólido alaranjado (45% de rendimento).

F.M.: C₁₁H₉N₃O₂

M.M.: 215,21 g/mol

F.F.: 180,5 – 182,7 °C; lit.: 185 – 186°C (NOLAND e RUSH, 1963).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3303 (N-H); 2922 (C-H); 2255 (C-N); 1471 (ArNO₂, N=O assim.); 1330 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-d₆; 200 MHz): 10,93 (s; 1H; NH); 8,58 (d; 1H; H-3; J_{3,5} = 2,0); 8,00 (dd; 1H; H-5; J_{5,3} = 2,0; J_{5,6} = 8,0); 7,48 (d; 1H; H-6; J_{6,5} = 8,0); 4,09 (s; 2H; H-9); 2,52 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-d₆; 50 MHz): 142,33 (C-8); 139,52 (C-4); 138,51 (C-1); 127,75 (C-7); 118,92 (CN); 117,37 (C-3); 115,02 (C-5); 111,76 (C-6); 103,71 (C-2); 12,58 (C-9); 11,43 (CH₃).

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram sintetizadas 47 substâncias (15 inéditas), que representam uma grande diversidade estrutural, tais como derivados nitrados e não-nitrados contendo anel benzeno, tetrazol, quinolina e indol. Os derivados que apresentam o anel benzeno foram sintetizados a partir do ácido *p*-tolúico, utilizando reações como bromação radicalar, fluoração, nitração, formação de amida, dentre outras. Os anéis heteroaromáticos foram construídos por meio de reações clássicas da química de heterociclos. O anel tetrazol foi sintetizado a partir do derivado ciano correspondente, por reação com azida de sódio. Para a síntese do anel quinolínico, utilizou-se a reação de Skraup. Já o indol foi sintetizado pelo método de Fischer. Uma vez sintetizados os heterociclos, reações adicionais foram conduzidas para obtenção dos derivados planejados. Os compostos foram obtidos com rendimentos na faixa de 8 a 98%.

Dentre os compostos que apresentaram atividade citotóxica contra linhagens de células tumorais, destacam-se a quinolina **5**, o derivado dinitrado **18** e a amida **31**. Todos esses compostos apresentam um bom grupo abandonador na posição benzílica (Br ou Cl), o que parece confirmar o mecanismo de ação por meio de alquilação. Apesar de não apresentarem seletividade para o modelo de hipóxia, esses compostos são promissores como agentes antitumorais *per se*, com valores de Cl_{50} na faixa de micromolar baixo. Além disso, essas substâncias foram mais citotóxicas para as células tumorais, comparado às células normais (VERO), indicando seletividade.

Apesar de apresentarem baixa potência, os nitroindóis **42**, **44** e **47** e a nitroquinolina **4** se mostraram mais efetivos no modelo de hipóxia (cultura 3D), comparado ao modelo de normóxia (cultura 2D), um indicativo da biorredução do grupo nitro. Esses compostos podem ser utilizados como protótipos na síntese de análogos apresentando melhores resultados de atividade e seletividade para células em hipóxia.

Os resultados obtidos neste trabalho são de fundamental importância para o planejamento e direcionamento dos estudos para o desenvolvimento de novos compostos como agentes biorredutíveis para o tratamento do câncer.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU-GHARBA, M.; PATEL, U.; TOKOLICS, J.; FREED, M. Synthesis and anti-arrhythmic activity of cycloalkaneindoles. **Eur. J. Med. Chem.**, 23, 373-377, 1988.

ANDERSON, S. N.; TOWNE, D. L.; BURNS, D. J.; WARRIOR, U. A High-throughput soft agar assay for identification of anticancer compound. **J. Biomol. Screen.**, 12, 938-945, 2007.

ANDRADE, S. F.; CAMPOS, E. F. S.; TEIXEIRA, C. S.; BANDEIRA, C. C.; LAVORATO, S. N.; ROMEIRO, N. C.; BERTOLLO, C. M.; OLIVEIRA, M. C.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; ALVES, R. J. Synthesis of novel 2,3,4-trisubstituted-oxazolidine derivatives and *in vitro* cytotoxic evaluation. **Med. Chem.**, in press, 2014.

AVENDAÑO, C.; MENENDEZ, J. C. **Medicinal chemistry of anticancer drugs.**, Cap. 1. Introduction, 1st edition., Elsevier, 1-7, 2008(a).

AVENDAÑO, C.; MENENDEZ, J. C. **Medicinal chemistry of anticancer drugs.**, Cap. 4. Anticancer drugs acting via radical species, photosensitizers and photodynamic therapy of cancer, 1st edition., Elsevier, 93-135, 2008(b).

AVENDAÑO, C., MENENDEZ, J. C., **Medicinal chemistry of anticancer drugs.**, Cap. 5. DNA alkylating agents, 1^a ed., Elsevier, 139-174, 2008(c).

AVENDAÑO, C.; MENENDEZ, J. C. **Medicinal chemistry of anticancer drugs.**, Cap. 11. Drug targeting in anticancer chemotherapy, 1st edition., Elsevier, 351-383, 2008(d).

BADISA, R. B.; DARLING-REED, S. F.; JOSEPH, P.; COOPERWOOD, J. S.; LATINWO, L. M.; GOODMAN, C. B. Selective cytotoxic activities of two novel

synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. **Anticancer Res.**, 29, 2993-2996, 2009.

BAEK, J. Y.; KANG, M. H.; HONG, Y. S.; KIM, T. W.; KIM, D. Y.; OH, J. H.; LEE, S. H.; PARK, J. H.; KIM, J. H.; KIM, S. Y. Characteristics and prognosis of patients with colorectal cancer-associated brain metastases in the era of modern systemic chemotherapy. **J. Neurooncol.**, 104, 745-753, 2011.

BAKER, M. S.; PHILLIPS, S. T. A two-Component small molecule system for activity-based detection and signal amplification: application to the visual detection of threshold levels of Pd(II). **J. Am. Chem. Soc.**, 133, 5170-5173, 2011.

BARANY, G., ALBERICIO, F., A three-dimensional orthogonal protection scheme for solid-phase peptide synthesis under mild conditions. **J. Am. Chem. Soc.**, 107, 4936-4942, 1985.

BAUER, R. A. Covalent inhibitors in drug discovery: from accidental discoveries to avoided liabilities and designed therapies. **Drug Discov. Today.**, 20, 1061-1073, 2015.

BOGER, D. L.; ISHIZAKI, T.; KITOS, P. A.; SUNTORNWAT, O. Synthesis of *N*-(tert-butyloxycarbonyl)-CBI, CBI, CBI-CDPI1, and CBI-CDPI2: enhanced functional analogs of CC-1065 incorporating the 1,2,9,9a-tetrahydrocyclopropa[*c*]benz[*e*]indol-4-one (CBI) left-hand subunit. **J. Org. Chem.**, 55, 23, 5823-5832, 1990.

BOGER, D. L.; JOHNSON, D. S. CC-1065 and the duocarmycins: unraveling the keys to a new class of naturally derived DNA alkylating agents. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 92, 3642-3649, 1995.

BOURHIS, J.; LEFEBVRE, J. L.; VERMORKEN, J. B. Cetuximab in the management of locoregionally advanced head and neck cancer: expanding the treatment options? **Eur. J. Cancer**, 46, 1979-1989, 2010.

BROOKES, P., LAWLEY, P.D., The reaction of mono- and di-functional alkylating agents with nucleic acids. **Biochem. J.**, 80, 496-503, 1961.

BROWN, J. M.; WILSON, W. R. Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. **Nat. Rev. Cancer**, 4, 437-447, 2004.

CHEN, Y.; HU, L. Design of anticancer prodrugs for reductive activation. **Med. Res. Rev.**, 29, 1, 29-64, 2009.

DANSON, S. J.; JOHNSON, P.; WARD, T. H.; DAWSON, M.; DENNENY, O.; DICKINSON, G.; AARON, L.; WATSON, A.; JOWLE, D.; CUMMINGS, J.; ROBSON, L.; HALBERT, G.; DIVE, C.; RANSON, M. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the bioreductive drug RH1. **Ann. Oncol.**, 22, 7, 1653-1660, 2011.

DHAYALAN, V.; CLEMENT, J. A.; JAGAN, R.; MOHANAKRISHNAN, A. K. A versatile synthesis of annulated carbazole analogs involving a domino reaction of bromomethylindoles with arenes/heteroarenes. **Eur. J. Org. Chem.**, 4, 531-546, 2009.

DISILVESTRO, P. A.; CRAIGHEAD, P. S.; LUCCI, J. A.; LEE, Y. C.; COHN, D. E.; SPIRTOS, N. M.; TEWARI, K. S.; MULLER, C.; GAIEWSKI, W. H.; STEINHOFF, M. M.; MONK, B. J. Phase III randomized trial of weekly cisplatin and irradiation versus cisplatin and tirapazamine and irradiation in stages IB2, IIA, IIB, IIIB, and IVA cervical carcinoma limited to the pelvis: a Gynecologic Oncology Group study. **J. Clin. Oncol.**, 32, 5, 458-464, 2014.

EGGER, J.; WECKERLE, C.; CUTTING, B.; SCHWARDT, O.; RABBANI, S.; LEMME, K.; ERNST, B. Nanomolar E-selectin antagonists with prolonged half-lives by a fragment-based approach. **J. Am. Chem. Soc.**, 135, 9820-9828, 2013.

EDMONDSON, R.; BROGLIE, J. J.; ADCOCK, A. F.; YANG, L. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. **Assay Drug. Dev. Technol.**, 12, 207-218, 2014.

ELGUERO, J.; JACQUIER, R. Azole series. III. Alkylation and halogenation of 2-pyrazolines. **Bulletin de la Societe Chimique de France**, 2, 610-617, 1966.

EVANS, P.; HOGG, P.; GRIGG, R.; NURNABI, M.; HINSLEY, J.; SRIDHARAN, V.; SUGANTHAN, S.; KORN, S.; COLLARD, S.; MUIR, J. E. 8-Methylquinoline palladacycles: stable and efficient catalysts for carbon-carbon bond formation. **Tetrahedron**, 61, 41, 9696-9704, 2005.

FURUYA, T.; FUKUHARA, T.; HARA, S. Synthesis of *gem*-difluorides from aldehydes using DFMB. **J. Fluorine Chem.**, 126, 5, 721-725, 2005.

GRACHEVA, I. N.; KOVEL'MAN, I. R.; TOCHILKIN, A. I.; VEREVKINA, I. V.; IOFFINA, D. I.; GORKIN, V. Z. Synthesis and antimonamine-oxidase activity of 8-(*N*-methyl-*N*-2-propynyl) aminomethylquinoline. **Khimiko-Farmatsevticheski Zhurnal**, 17, 9, 1055-1060, 1983.

HANSEN, O.; SCHYTTE, T.; NIELSEN, M.; BRINK, C. Age dependent prognosis in concurrent chemo-radiation of locally advanced NSCLC. **Acta Oncol.**, 54, 333-339, 2015.

HICKS, K. O.; SIIM, B. G.; JAISWAL, J. K.; PRUIJN, F. B.; FRASER, A. M.; PATEL, R.; HOGG, A.; LIYANAGE, H. D. S.; DORIE, M. J.; BROWN, J. M.; DENNY, W. A.; HAY, M. P.; WILSON, W. R. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling identifies SN30000 and SN29751 as tirapazamine analogues with improved tissue penetration and hypoxic cell killing in tumors. **Clin. Cancer Res.**, 16, 4946-4957, 2010.

HOWITZ, J.; NOTHER, P. Halogen derivatives of o-toluquinoline, nitro-o-quinoline aldehyde. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, 39, 2705-2713, 1907.

HUANG, Z.; XU, Z.; ZHOU, Y. Chemotherapy alone versus chemotherapy followed consolidative radiotherapy for limited-stage aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Cancer Radiother.**, 17, 736-743, 2013.

HURLEY, L.H., DNA and its associated processes as targets for cancer therapy. **Nat. Rev. Cancer**, 2, 188-200, 2002.

INCA. Situação do câncer no Brasil. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/situacao>. Acesso em 22 fev. 2016.

JAIN, R. K. Barriers to drug delivery in solid tumors. **Scientific Amer.**, 271, 1, 42-49, 1994.

JAIN, R. K. Delivery of novel therapeutic agents in tumors: physiological barriers and strategies. **J. Natl. Cancer Inst.**, 81, 8, 570-576, 1989.

JAMES, S.M., YONGHUI, W., Prolyl hydroxylase inhibitors. WO2010059549 A1, may 2010.

JIANG, H.; WANG, Y.; WAN, W.; HAO, J. *p*-TsOH promoted Fischer indole synthesis of multi-substituted 2-trifluoromethyl indole derivatives. **Tetrahedron**, 66, 2746-2751, 2010.

JIN, T.; KITAHARA, F.; KAMIJO, S.; YAMAMOTO, Y. Copper-catalyzed synthesis of 5-substituted 1*H*-tetrazoles via the [3+2] cycloaddition of nitriles and trimethylsilyl azide. **Tetrahedron Letters**, 49, 2824-2827, 2008.

JOHNSON, D. S.; WEERAPANA, E.; CRAVATT, B. F. Strategies for discovering and derisking covalent, irreversible enzyme inhibitors. **Future Med. Chem.**, 2, 949-964, 2010.

KATRITZKY, A. R.; RACHWAL, S.; BAYYUK, S. An improved Fischer synthesis of nitroindoles. 1,3-dimethyl-4-, 5- and 6-nitroindoles. **Org. Prep. Proced. Int.**, 23, 357-363, 1991.

KIM, E. Y.; LIU, Y.; AKINTUJOYE, O. M.; SHYAM, K.; GROVE, T. A.; SARTORELLI, A. C.; ROCKWELL, S. Preliminary studies with a new hypoxia-selective cytotoxin KS119W, *in vitro* and *in vivo*. **Radiat. Res.**, 178, 3, 126-137, 2012.

KISSMAN, H. M.; FARNSWORTH, D. W.; WITKOP, B. Fischer indole syntheses with polyphosphoric acid. **J. Am. Chem. Soc.**, 74, 3948-3949, 1952.

KRICHEVSKII, E. S.; ALEKSEEVA, L. M.; GRANIK, V. G. Acetals of lactams and of acid amides. 60. New approach to the synthesis of γ -carbolines. **Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii**, 11, 1483-1486, 1990.

LIN, A. J.; COSBY, L. A.; SHANSKY, C. W.; SARTORELLI, A. C. Potencial bioreductive alkylating agents. 1. Benzoquinone derivatives. **J. Med. Chem.**, 5, 12, 1247-1252, 1972.

LOPES, M. S. Síntese e avaliação da atividade citotóxica, leishmanicida e tripanocida de derivados nitroaromáticos. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFMG, fev. 2012.

LOPES, M. S.; PIETRA, R. C. C. S.; BORGATI, T. F.; ROMEIRO, C. F. D.; JÚNIOR, P. A. S.; ROMANHA, A. J.; ALVES, R. J.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; FERNANDES, A. P. S. M.; OLIVEIRA, R. B. Synthesis and evaluation of the anti parasitic activity of aromatic nitro compounds. **Eur. J. Med. Chem.**, 46, 5443-5447, 2011.

LU, B.; LI, C.; ZHANG, L., Gold-catalyzed highly regioselective oxidation of C–C triple bonds without acid additives: propargyl moieties as masked α,β -unsaturated carbonyls. **J. Am. Chem. Soc.**, 132, 40, 14070-14072, 2010.

MAHAVORASIRIKUL, W.; VIYANANT, V.; CHAIJAROENKUL, W.; ITHARAT, A.; NA-BANGCHANG, K. Cytotoxic activity of Thai medicinal plants against human cholangiocarcinoma, laryngeal and hepatocarcinoma cells *in vitro*. **BMC Complement. Alt. Med.**, 10, 55, 2010.

MAXWELL, J.R., WASDAHL, D.A., WOLFSON, A.C., STENBERG, V.I., Synthesis of 5-aryl-2H-tetrazole-2-acetic acids, and [(4-phenyl-5-aryl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio]acetic acids as possible superoxide scavengers and antiinflammatory agents. **J. Med. Chem.**, 27, 12, 1566-1570, 1984.

McKEAGE, M. J.; JAMESON, M. B.; RAMANATHAN, R. K.; RAIENDRAN, J.; GU, Y.; WILSON, W. R.; MELINK, T. J.; TCHEKMEDVIAN, N. S. PR-104 a bio-reductive pre-prodrug combined with gemcitabine or docetaxel in a phase Ib study of patients with advanced solid tumours. **BMC Cancer**, 12, 496-505, 2012.

McKEW, J.C.; FOLEY, M. A.; THAKKER, P.; BEHNKE, M. L.; LOVERING, F. E.; FUK-WAH, S.; TAM, S.; WU, K.; SHEN, M. W. H.; ZHANG, W.; GONZALEZ, M.; LIU, S.; MAHADEVAN, A.; SARD, H.; KHOR, S. P.; CLARK, J. D. Inhibition of cytosolic phospholipase A₂α: hit to lead optimization. **J. Med. Chem.**, 49, 135-158, 2006.

MIDDLETON, M. R.; MARGISON, G. P. Improvement of chemotherapy efficacy by inactivation of a DNA-repair pathway. **Lancet Oncol.**, 4, 37-44, 2003.

MIDDLETON, W.J., New fluorinating reagents. Dialkylaminosulfur fluorides. **J. Org. Chem.**, 40, 5, 574-578, 1975.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Annual Survey of American Chemistry**. Volume V. National Academies, New York, 1931.

NOLAND, W. E.; SMITH, L. R.; JOHNSON, D. C. Nitration of indoles. II. The mononitration of methylindoles. **J. Org. Chem.**, 28, 2262-2266, 1963.

NOLAND, W. E.; RUSH, K. R. Syntheses based on 2-methyl-5-nitrogramine. Preparation of 2-methyl-5-nitroindole-3-acetic acid. **J. Org. Chem.**, 28, 2921-2922, 1963.

OLIVEIRA, R. B.; ALVES, R. J. Agentes antineoplásicos biorredutíveis: uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. **Quim. Nova**, 25, 6, 976-984, 2002.

OLIVEIRA, R. B.; SOUZA FILHO, J. D.; PRADO, M. A. F.; EBERLIN, M. N.; MEURER, E. C.; SANTOS, L. S.; ALVES, R. J. Synthesis of unexpected six-membered imides by free-radical carbocyclisation on carbohydrate templates. **Tetrahedron**, 60, 9901-9908, 2004.

PAPADOPOULOU, M. V.; BLOOMER, W. D. NLCQ-1 (NSC 709257): Exploiting hypoxia with a weak DNA-intercalating bioreductive drug. **Clin. Cancer. Res.**, 9, 5714-5720, 2003.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy**. 3rd edition, Brooks-Cole (Thomson Learning), USA, 2001.

ROSA, D. D.; MEDEIROS, L. R.; EDELWEISS, M. I.; POHLMANN, P. R.; STEIN, A. T. Adjuvant platinum-based chemotherapy for early stage cervical cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 13;6:CD005342, 2012.

SCHNELL, J. R.; KETCHEM, R. R.; BOGER, D. L.; CHAZIN, W. J. Binding-induced activation of DNA alkylation by duocarmycin SA: insights from the structure of an indole derivative-DNA adduct. **J. Am. Chem. Soc.**, 121, 5645-5652, 1999.

SEGOVIA-MENDOZA, M.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, M. E.; BARRERA, D.; DIAZ, L.; GARCÍA-BECERRA, R. Efficacy and mechanism of action of the tyrosine kinase inhibitors gefitinib, lapatinib and neratinib in the treatment of

HER2-positive breast cancer: preclinical and clinical evidence. **Am. J. Cancer Res.**, 5, 2531-2561, 2015.

SEOW, H. A.; PENKETH, P. G.; SHYAM, K.; ROCKWELL, S.; SARTORELLI, A. C. 1,2-bis(methylsulfonyl)-1-(2-chloroethyl)-2-[[1-(4-nitrophenyl)ethoxy]carbonyl]hydrazine: an anticancer agent targeting hypoxic cells. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 102, 26, 9282-9287, 2005.

SHAIKH, N. S.; JUNGE, K.; BELLER, M. A convenient and general iron-catalyzed hydrosilylation of aldehydes. **Org. Lett.**, 9, 26, 5429-5432, 2007.

SINGH, J.; PETTER, R. C.; BAILLIE, T. A.; WHITTY, A. The resurgence of covalent drugs. **Nat. Rev. Drug Discov.**, 10, 307-317, 2011.

SINGH, R. P.; SHREEVE, J. M. Recent advances in nucleophilic fluorination reactions of organic Compounds using deoxofluor and DAST. **Synthesis**, 17, 2561-2578, 2002.

SOLCA, F.; DAHL, G.; ZOEPHEL, Z.; BADER, G.; SANDERSON, M.; KLEIN, C.; KRAEMER, O.; HIMMELSBACH, F.; HAAKSMA, E.; ADOLF, G. R. Target binding properties and cellular activity of afatinib (BIBW 2992), an irreversible ErbB family blocker. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 343, 342-350, 2012.

STEVENSON, R. J.; DENNY, W. A.; TERCEL, M.; PRUIJN, F. B.; ASHOORZADEH, A. Nitro *seco* analogues of the duocarmycins containing sulfonate leaving groups as hypoxia-activated prodrugs for cancer therapy. **J. Med. Chem.**, 55, 2780-2802, 2012.

TEICHER, B. A.; SARTORELLI, A. C. Nitrobenzyl halides and carbamates as prototype bioreductive alkylating agents. **J. Med. Chem.**, 23, 8, 955-960, 1980.

TERCEL, M.; ATWELL, G. J.; YANG, S.; STEVENSON, R. J.; BOTTING, K. J.; BOYD, M.; SMITH, E.; ANDERSON, R. F.; DENNY, W. A.; WILSON, W. R.; PRUIJN, F. B. Hypoxia-activated prodrugs: substituent effects on the properties

of nitro *seco*-1,2,9,9a –tetrahydrocyclopropa[*c*]benz[*e*]indol-4-one (nitroCBI) prodrugs of DNA minor groove alkylating agents. **J. Med. Chem.**, *52*, 7258-7272, 2009.

TERCEL, M.; ATWELL, G. J.; YANG, S.; ASHOORZADEH, A.; STEVENSON, R. J.; BOTTING, K. J.; GU, Y.; MEHTA, S. Y.; DENNY, W. A.; WILSON, W. R.; PRUIJN, F. B. Selective treatment of hypoxic tumor cells in vivo: phosphate preprodrugs of nitro analogues of the duocarmycins. **Angew. Chem. Int. Ed.**, *50*, 2606-2609, 2011.

TRÉDAN, O., GALMARINI, C. M., PATEL, K., TANNOCK, I. F., Drug resistance and the solid tumor microenvironment. **J. Natl. Cancer Inst.**, *99*, 1441-1454, 2007.

TRINCADO, M.; GRUTZMACHER, H.; VIZZA, F.; BIANCHINI, C. Domino rhodium/palladium-catalyzed dehydrogenation reactions of alcohols to acids by hydrogen transfer to inactivated alkenes. **Chem. Eur. J.**, *16*, 9, 2751-2757, 2010.

TULYAGANOV, T. S.; ALLABERDIEV, F. K. Alkaloids from plants of the *Nitraria* genus. Structure of sibiridine. **Chem. Nat. Comp.**, *39*, 3, 292-293, 2003.

VASCONCELOS, C. C.; GOULART, M. O. F.; LOPES, M. S.; LAGES, E. B.; ALVES, R. J.; OLIVEIRA, R. B. Comportamento eletroquímico de derivados nitrobenzílicos com potencial leishmanicida: evidência de auto-protonação e de transferência de elétrons dissociativa. **XX SIBAE**, 2012.

WARWICK, G.P., The mechanism of action of alkylating agents. **Cancer Res.**, *23*, 1315-1333, 1963.

WILSON, W. R.; HAY, M. P. Targeting hypoxia in cancer therapy. **Nat. Rev. Cancer**, *11*, 393-410, 2011.

WINDAUS, A.; WERDER, F.; LUTTRINGHAUS, A.; FERNHOLZ, E. Tachysterol. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, 499, 188-200, 1932.

ZHANG, F.; ZHAO, Y.; SUN, L.; DING, L.; GU, Y.; GONG, P. Synthesis and anti-tumor activity of 2-amino-3-cyano-6-(1H-indol-3-yl)-4-phenylpyridine derivatives *in vitro*. **Eur. J. Med. Chem.**, 46, 3149-3157, 2011.

APÊNDICE A – Espectros no IV e de RMN

Figura A.1 – Espectro no infravermelho de 1.

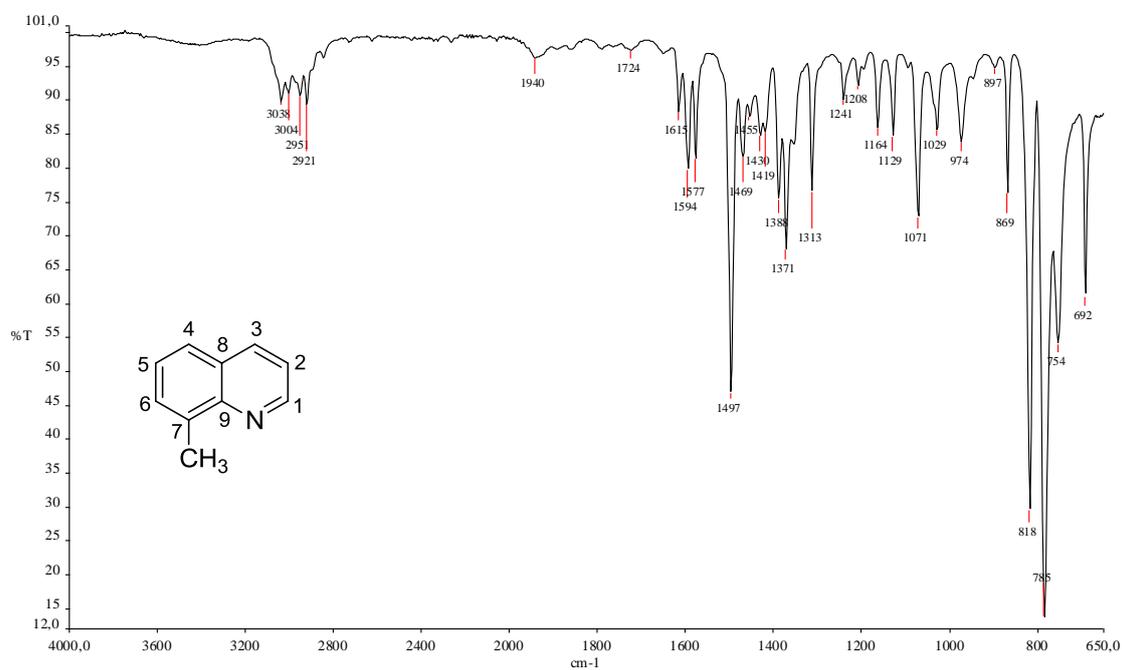


Figura A.2 – Espectro de RMN de ¹H de 1 (200 MHz, CDCl₃)

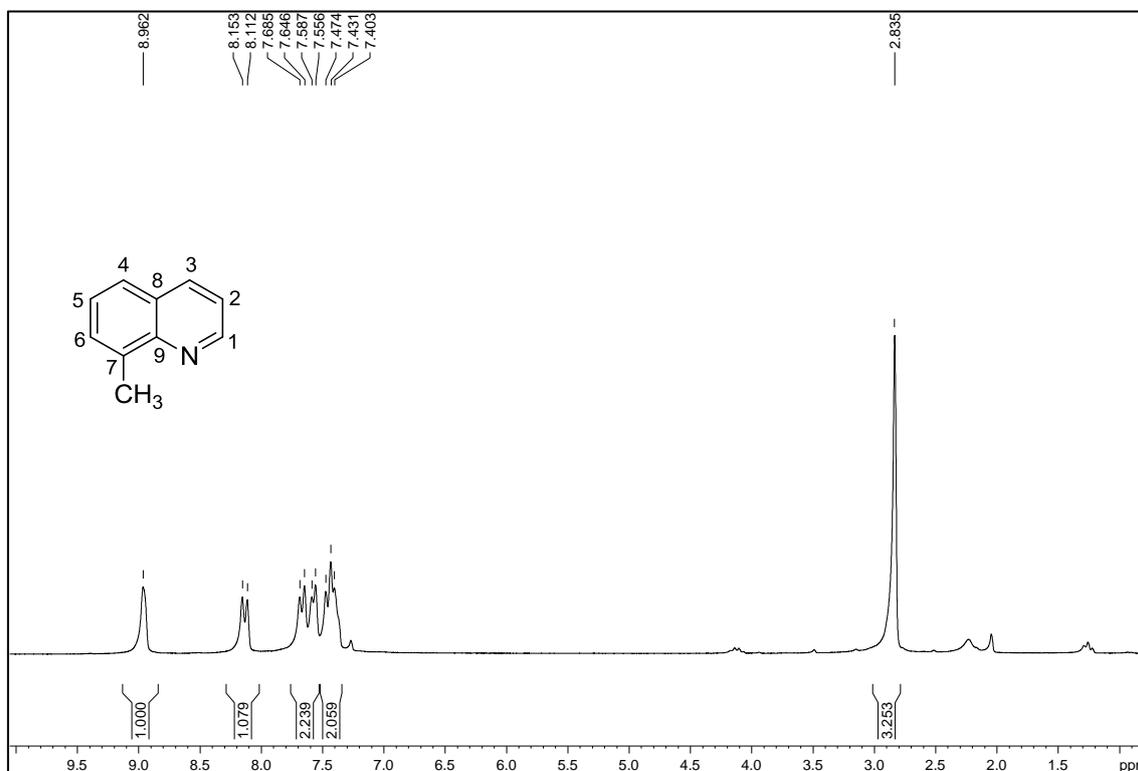


Figura A.3 – Espectro de RMN de ^{13}C de 1 (50 MHz, CDCl_3).

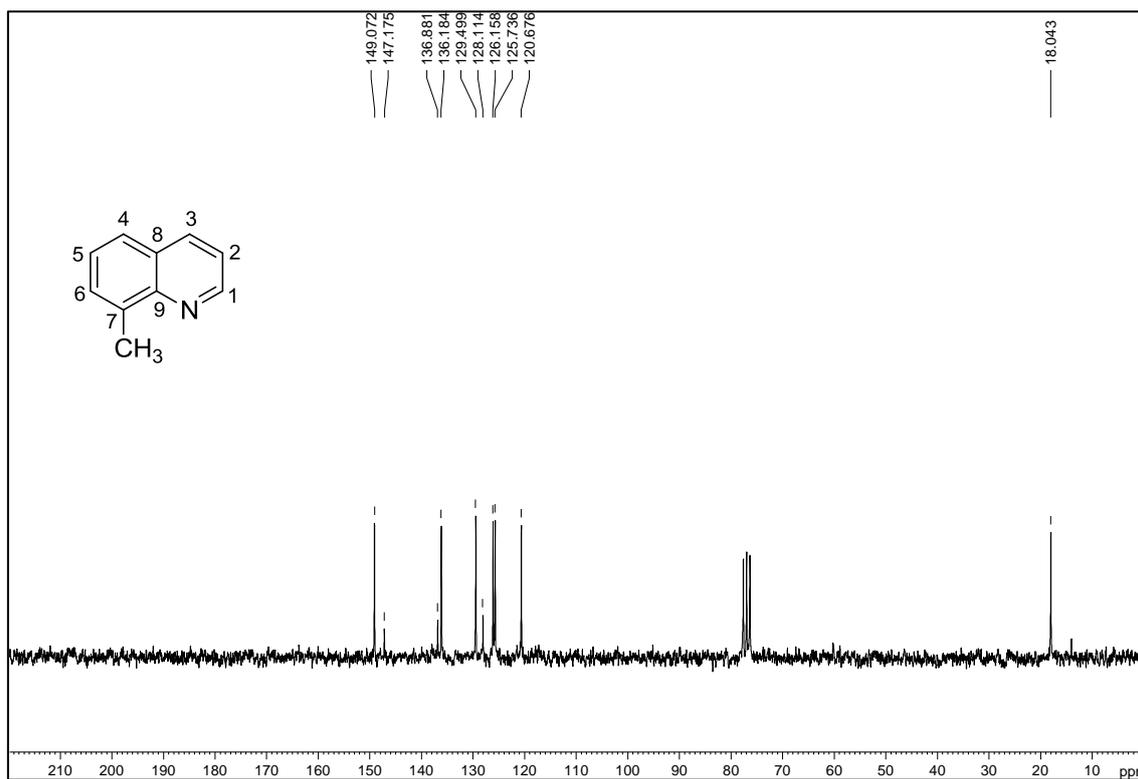


Figura A.4 – Espectro no infravermelho de 3.

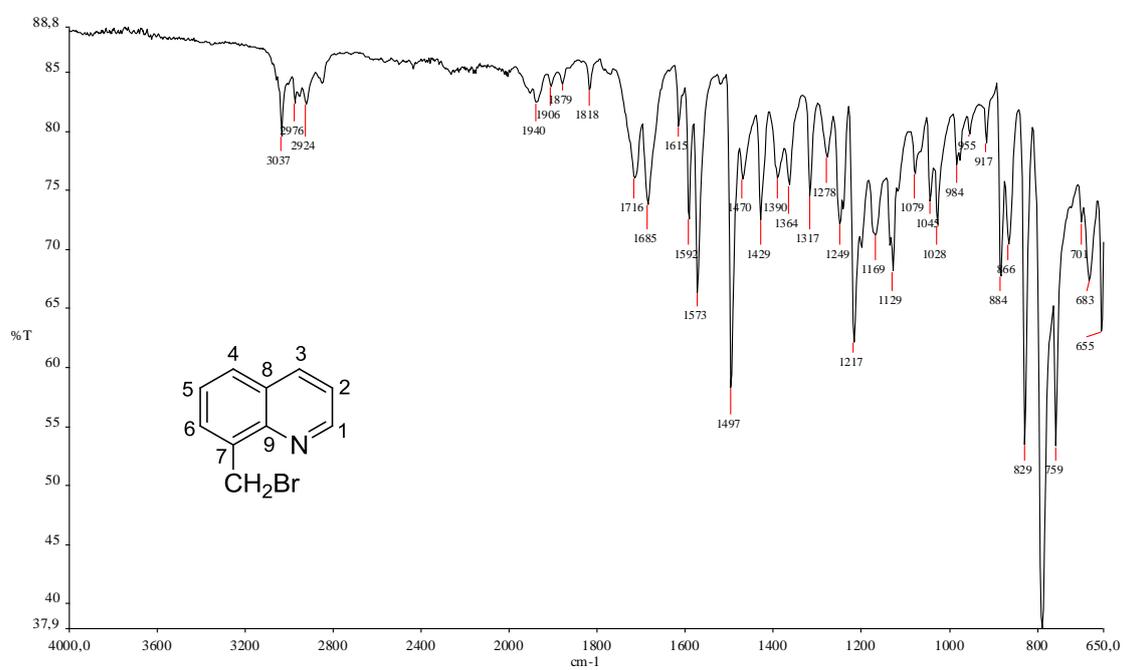


Figura A.5 – Espectro de RMN de ^1H de 3 (200 MHz, CDCl_3).

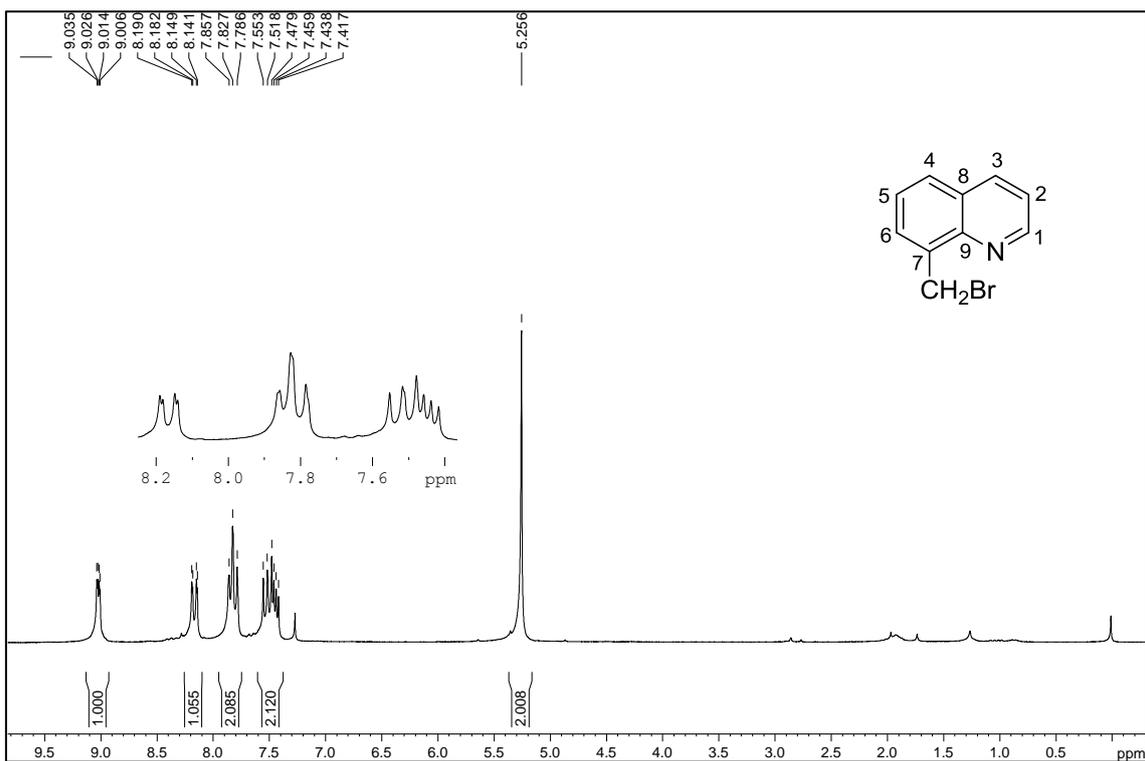


Figura A.6 – Espectro de RMN de ^{13}C de 3 (50 MHz, CDCl_3).

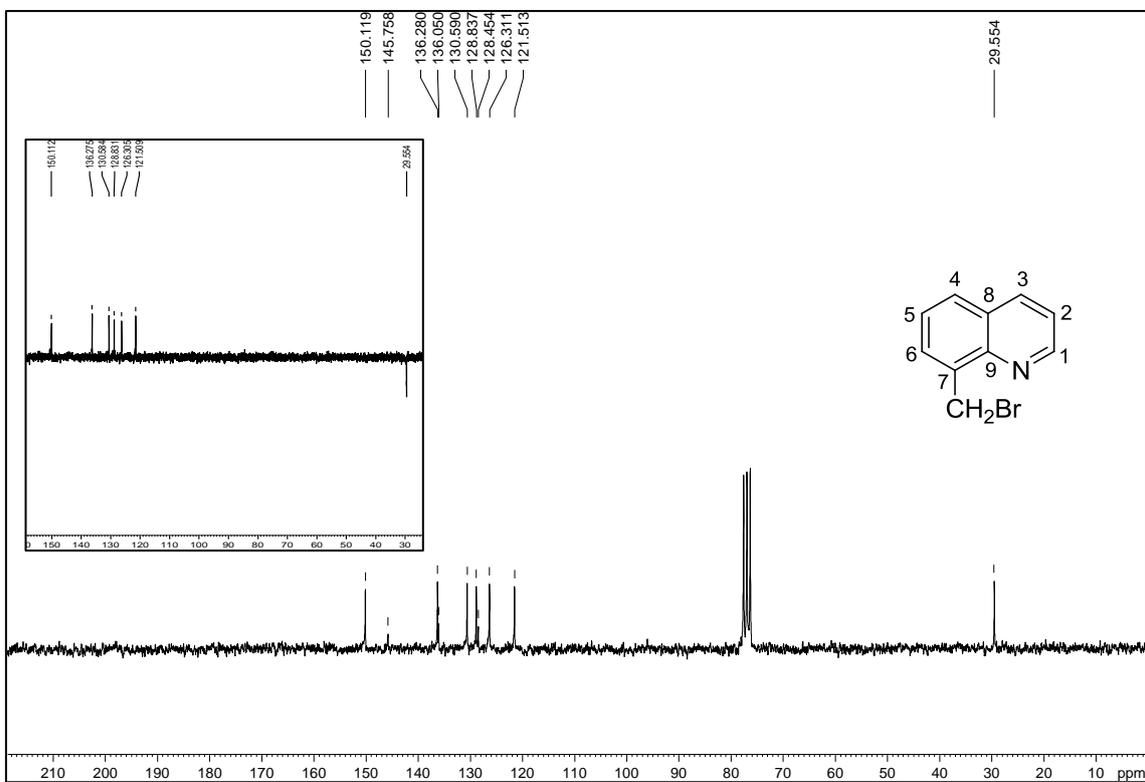


Figura A.7 – Espectro no infravermelho de 4.

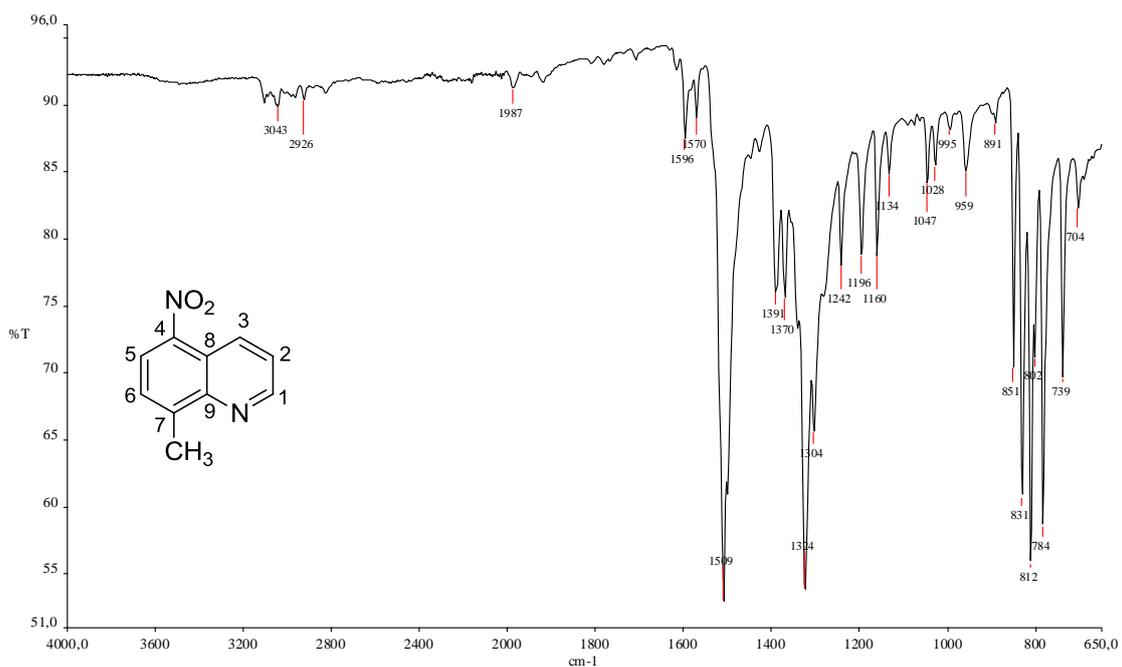
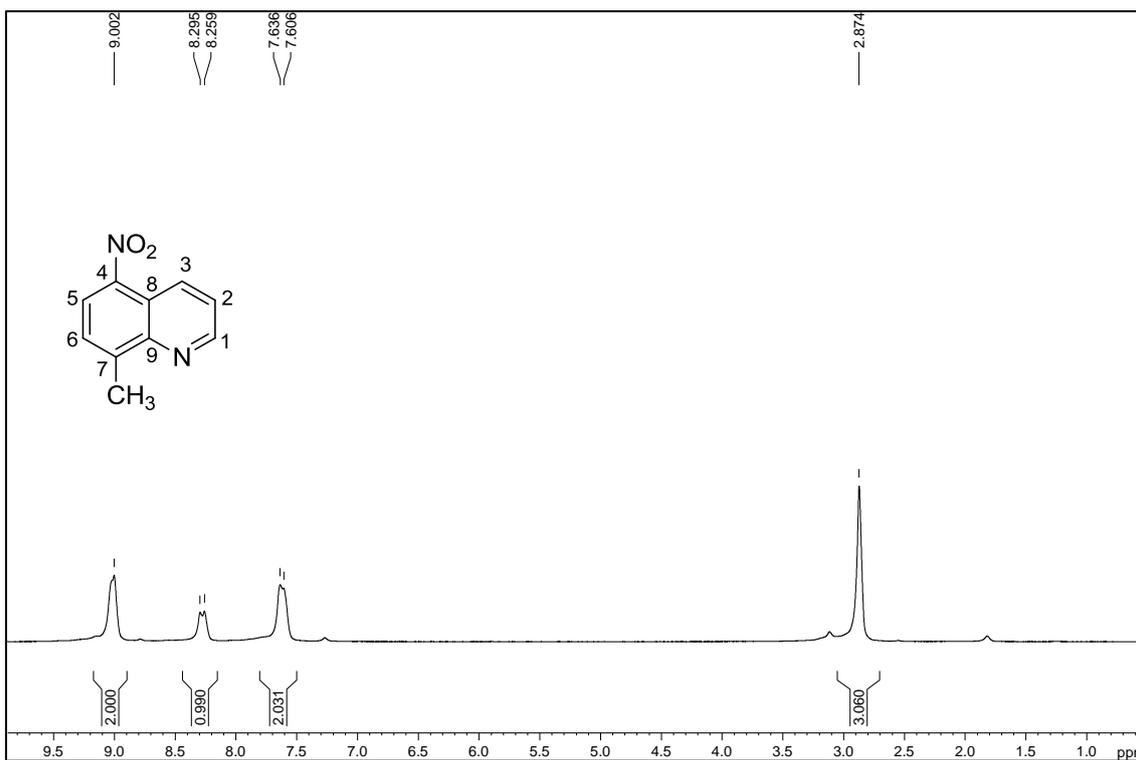
Figura A.8 – Espectro de RMN de ¹H de 4 (200 MHz, CDCl₃).

Figura A.9 – Espectro de RMN de ^{13}C de 4 (50 MHz, CDCl_3).

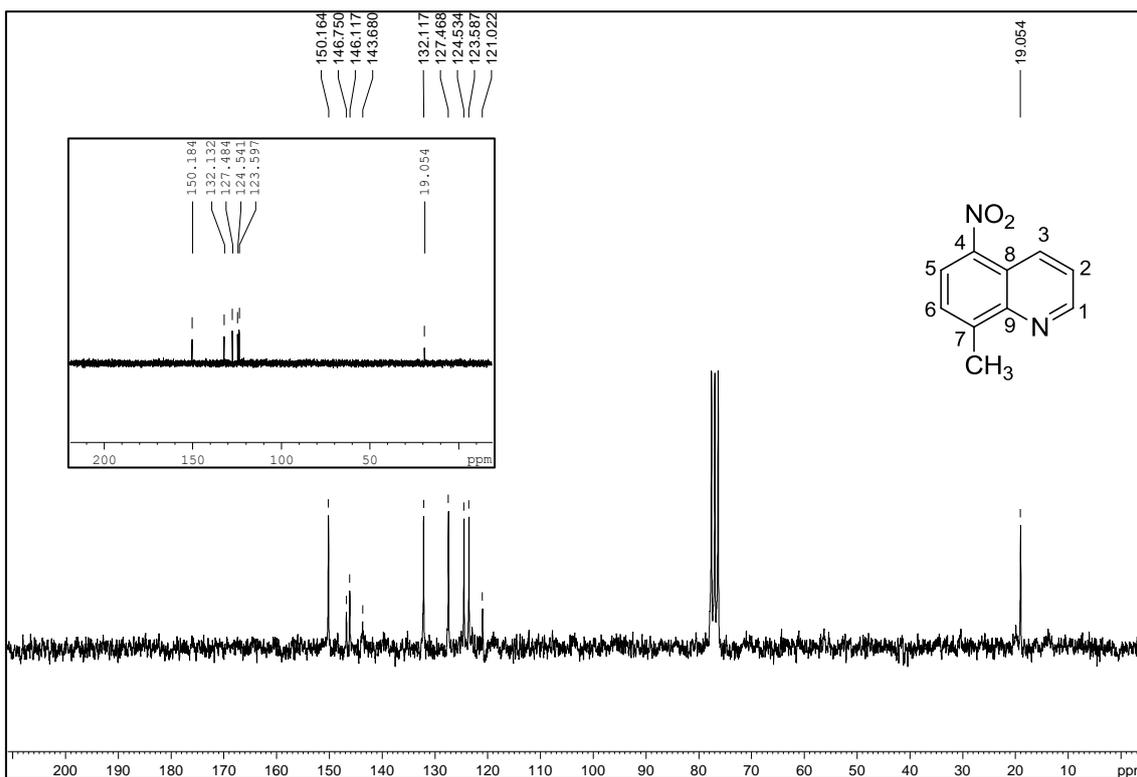


Figura A.10 – Espectro no infravermelho de 5.

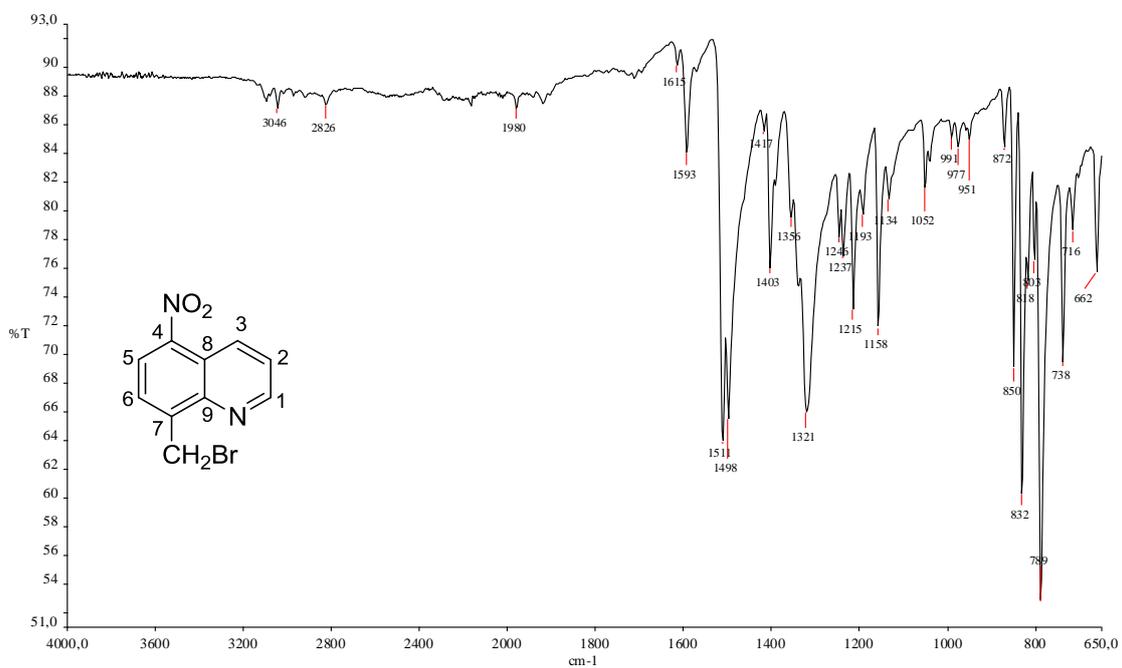


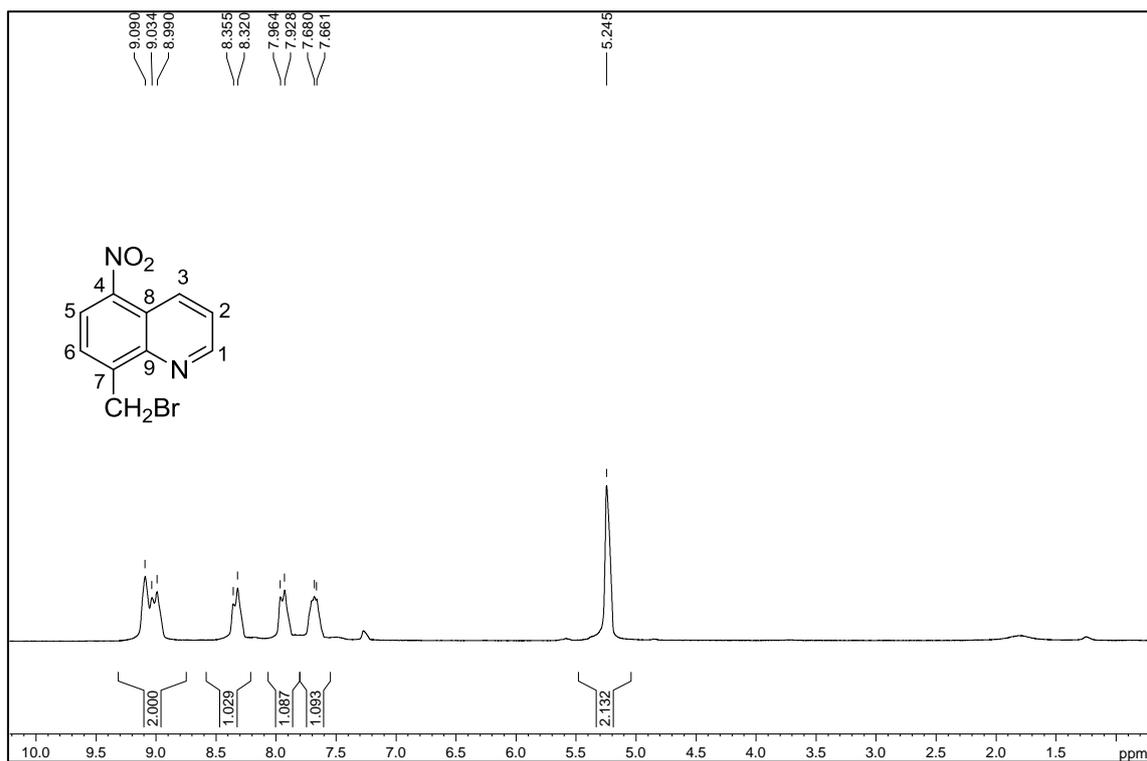
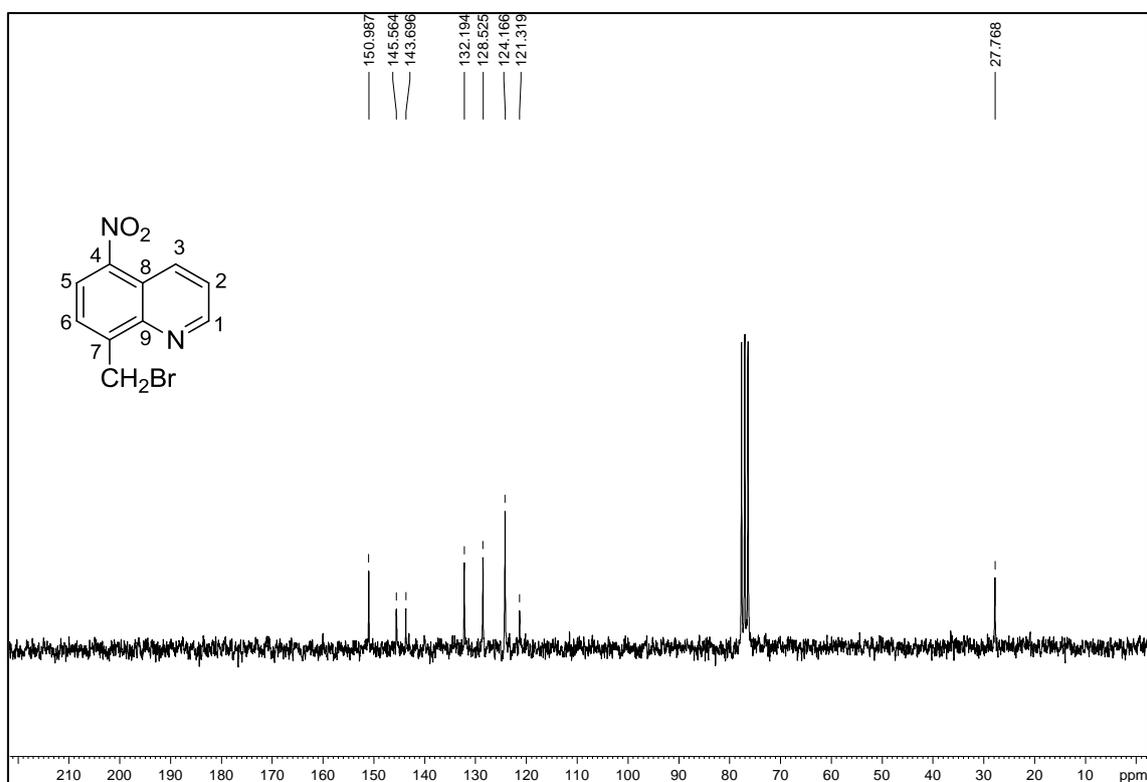
Figura A.11 – Espectro de RMN de ^1H de 5 (200 MHz, CDCl_3).Figura A.12 – Espectro de RMN de ^{13}C de 5 (50 MHz, CDCl_3).

Figura A.13 – Espectro no infravermelho de 7.

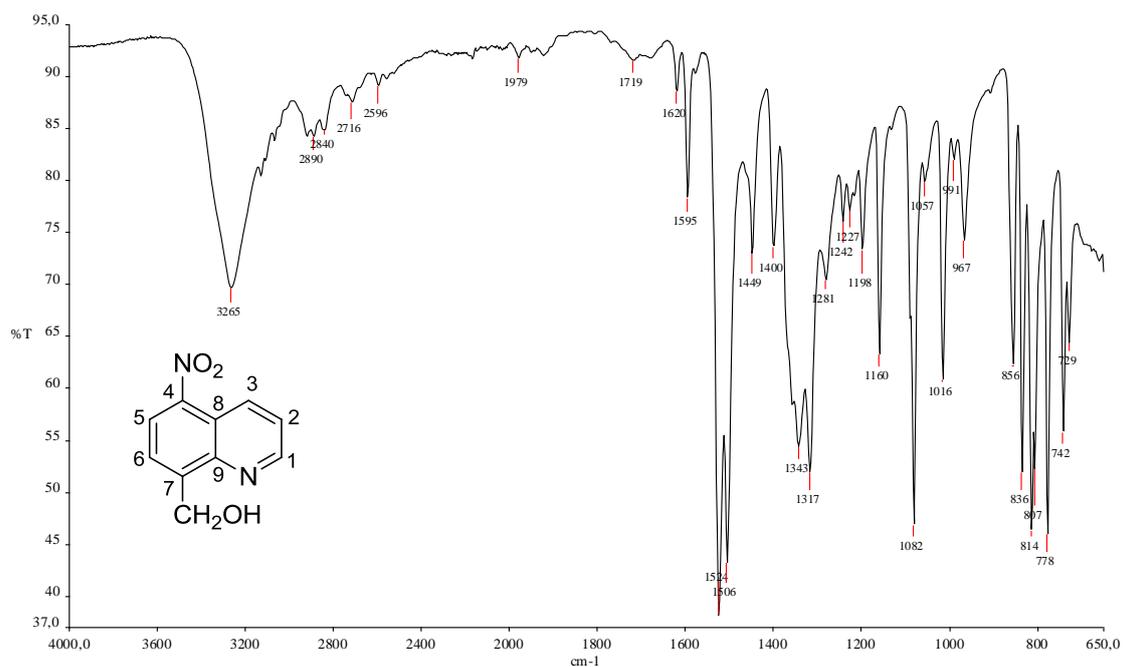
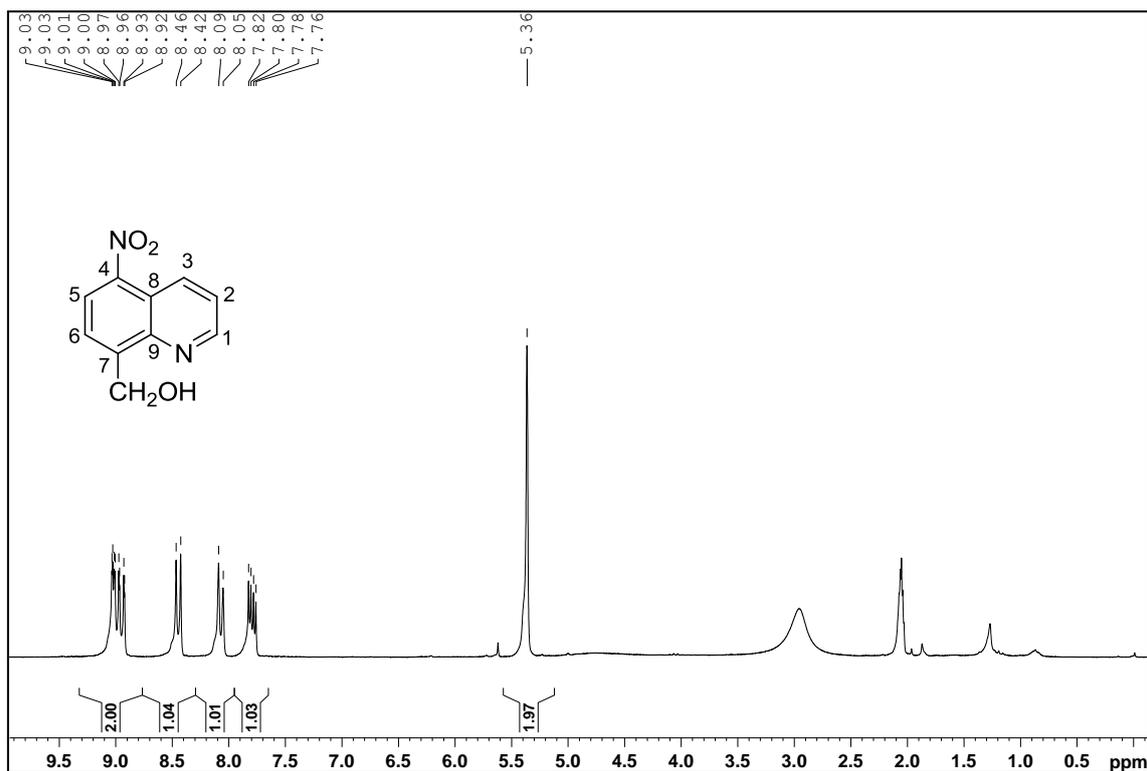
Figura A.14 – Espectro de RMN de ^1H de 7 (200 MHz, acetona- d_6).

Figura A.15 – Espectro de RMN de ^{13}C de 7 (50 MHz, acetona- d_6).

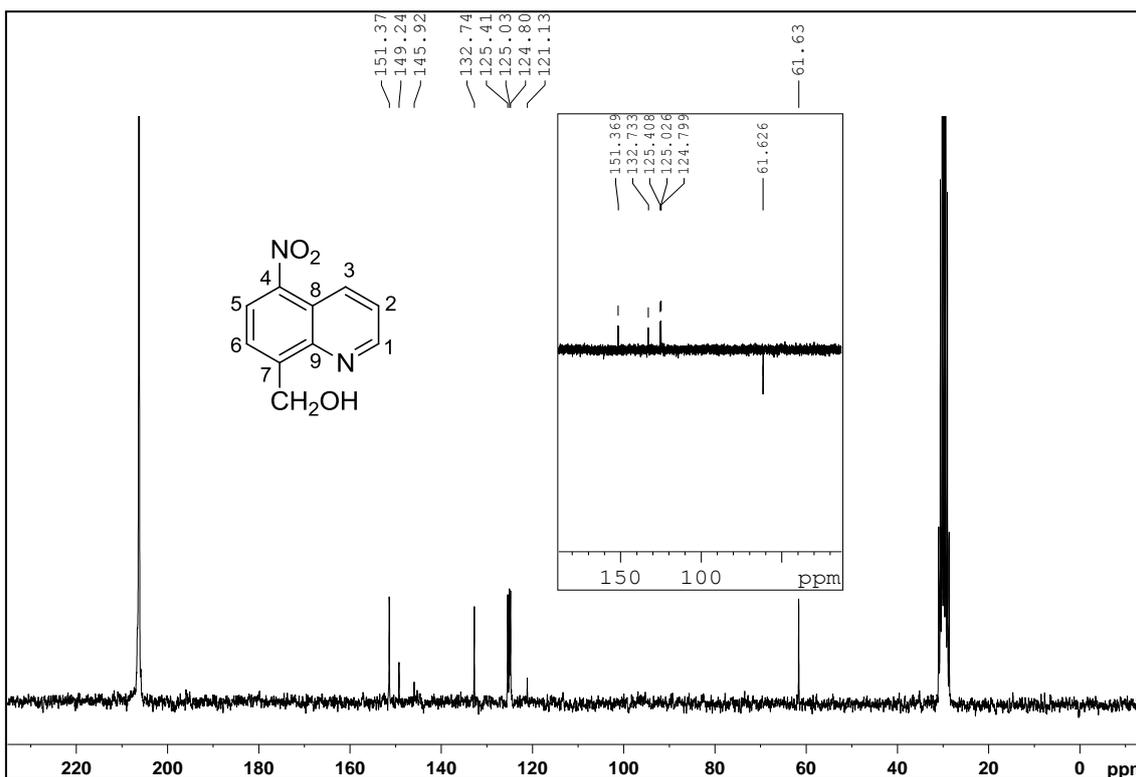


Figura A.16 – Espectro no infravermelho de 9.

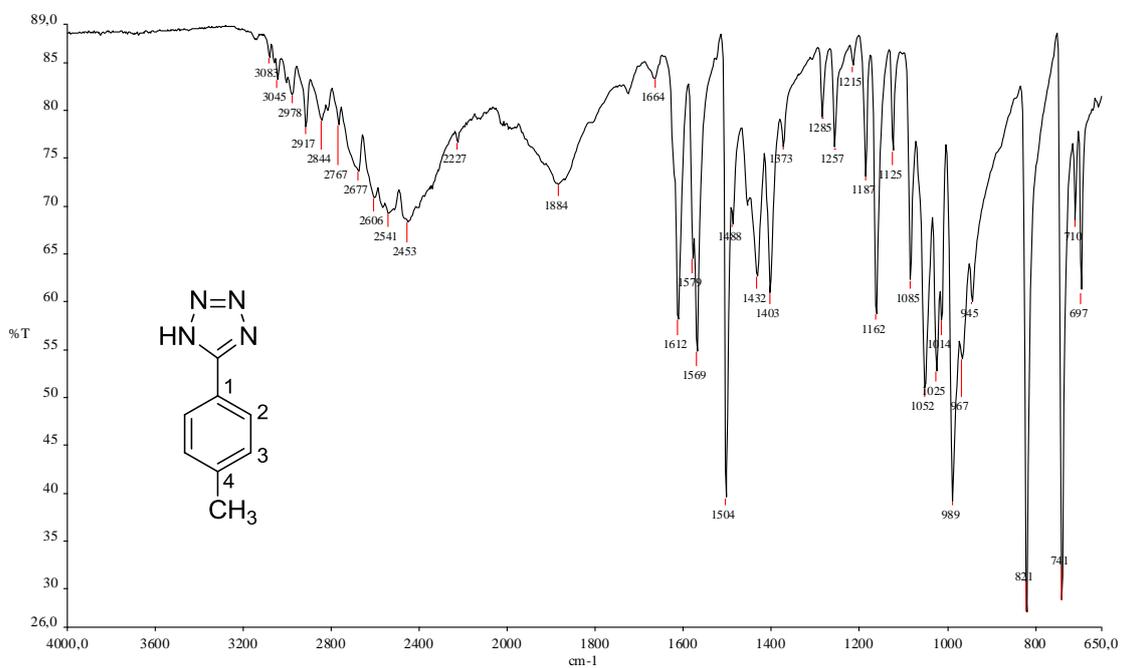


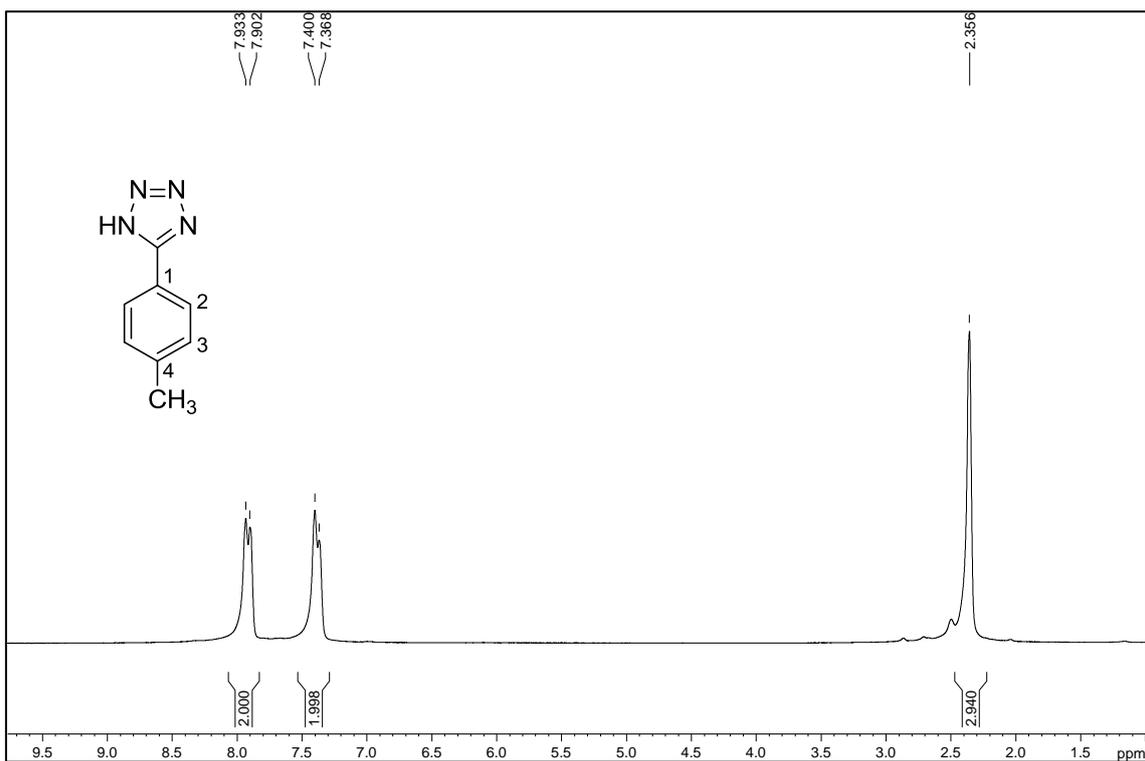
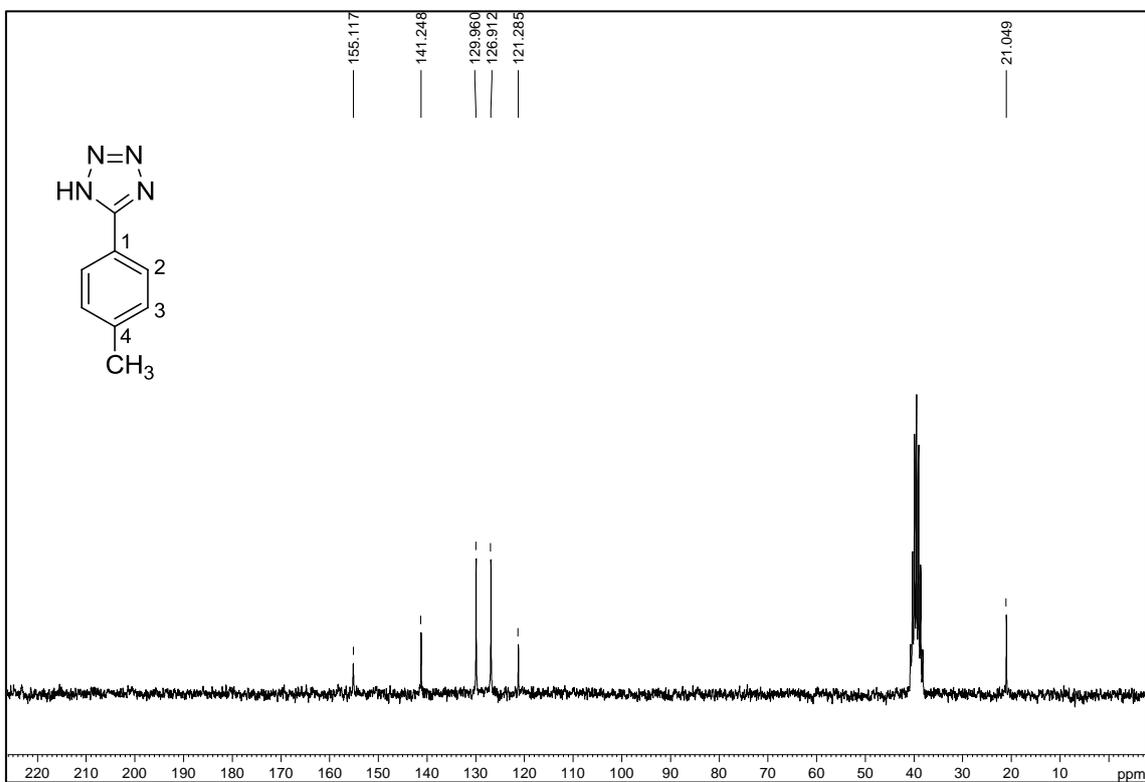
Figura A.17 – Espectro de RMN de ^1H de 9 (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Figura A.18 – Espectro de RMN de ^{13}C de 9 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Figura A.19 – Espectro no infravermelho de 10.

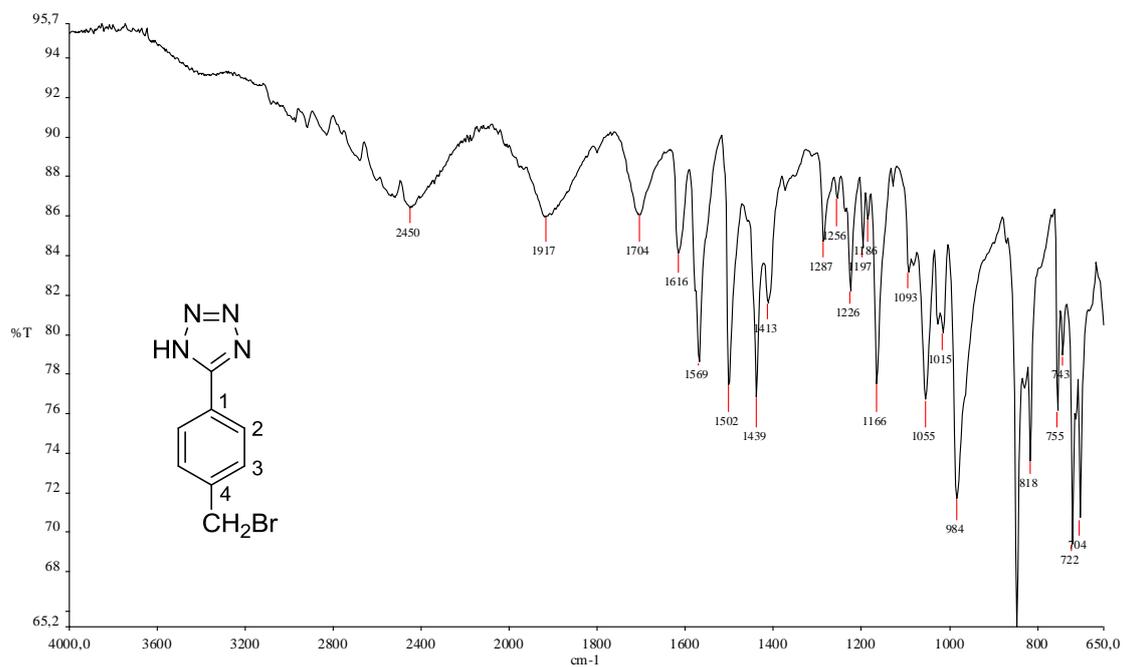
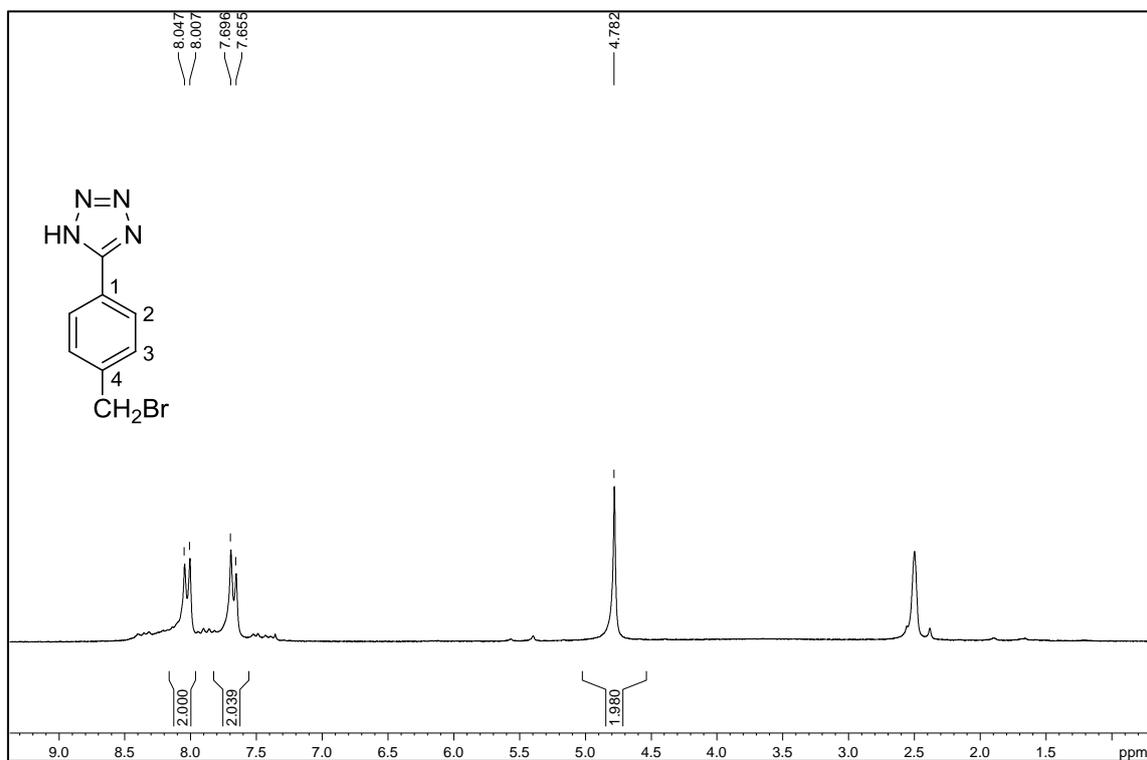
Figura A.20 – Espectro de RMN de ¹H de 10 (200 MHz, DMSO-d₆)

Figura A.21 – Espectro no infravermelho de 12.

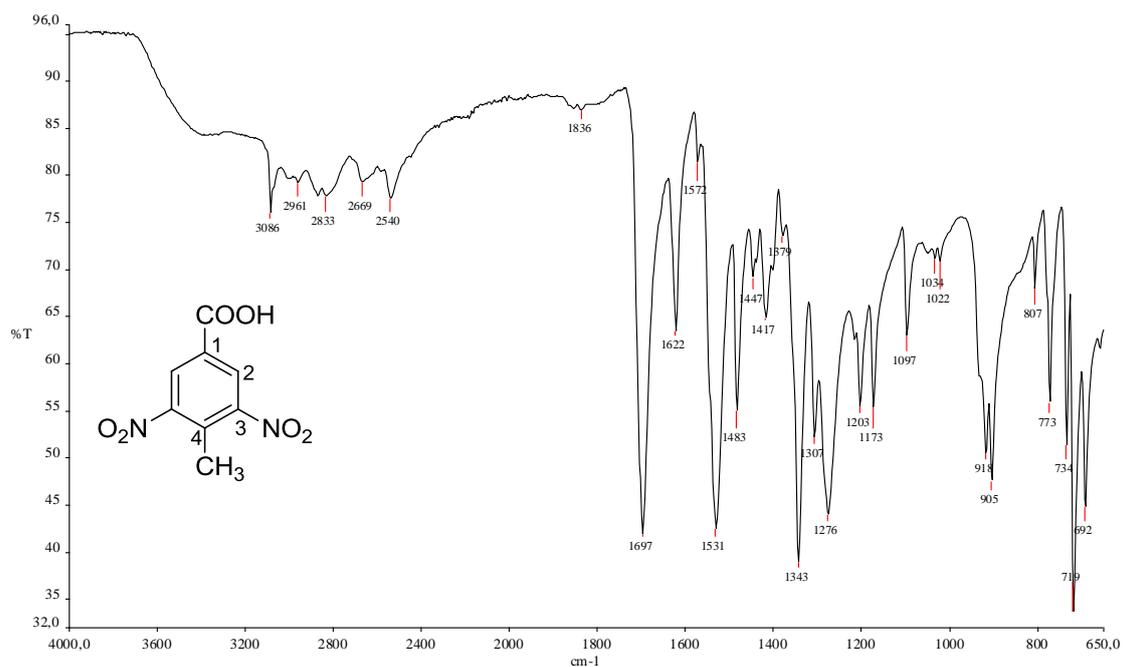
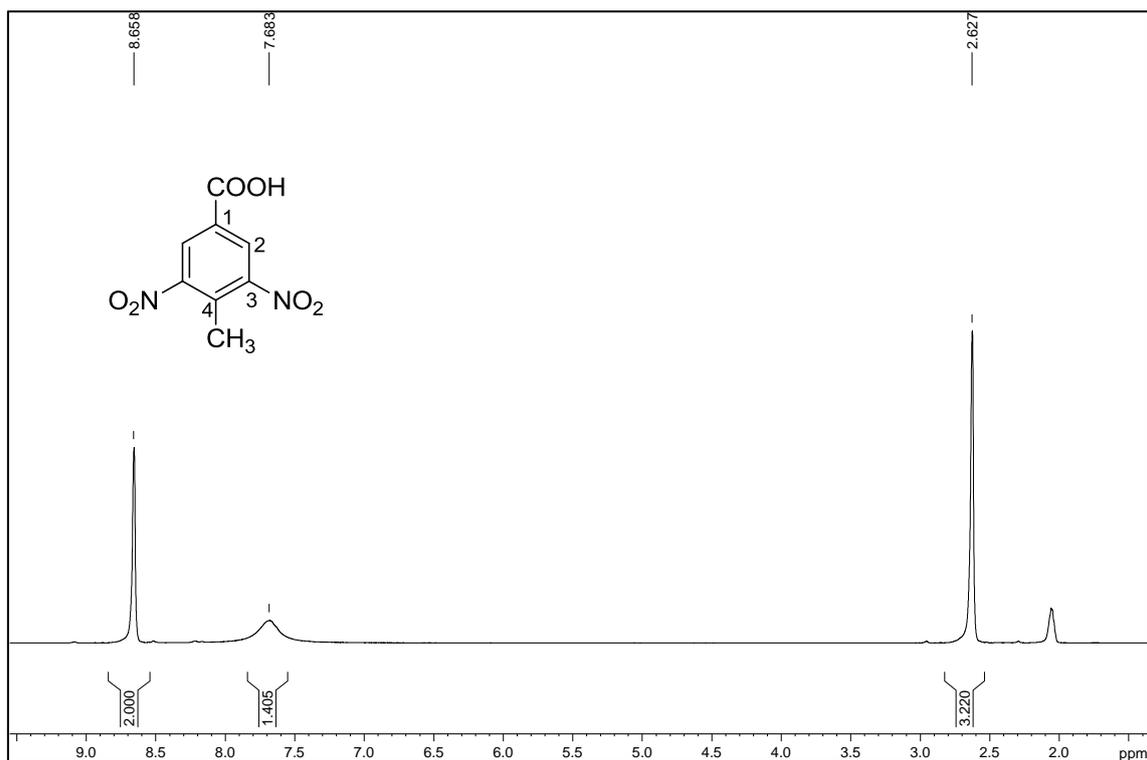
Figura A.22 – Espectro de RMN de ¹H de 12 (200 MHz, acetona-d₆).

Figura A.23 – Espectro de RMN de ^{13}C de 12 (50 MHz, acetona- d_6).

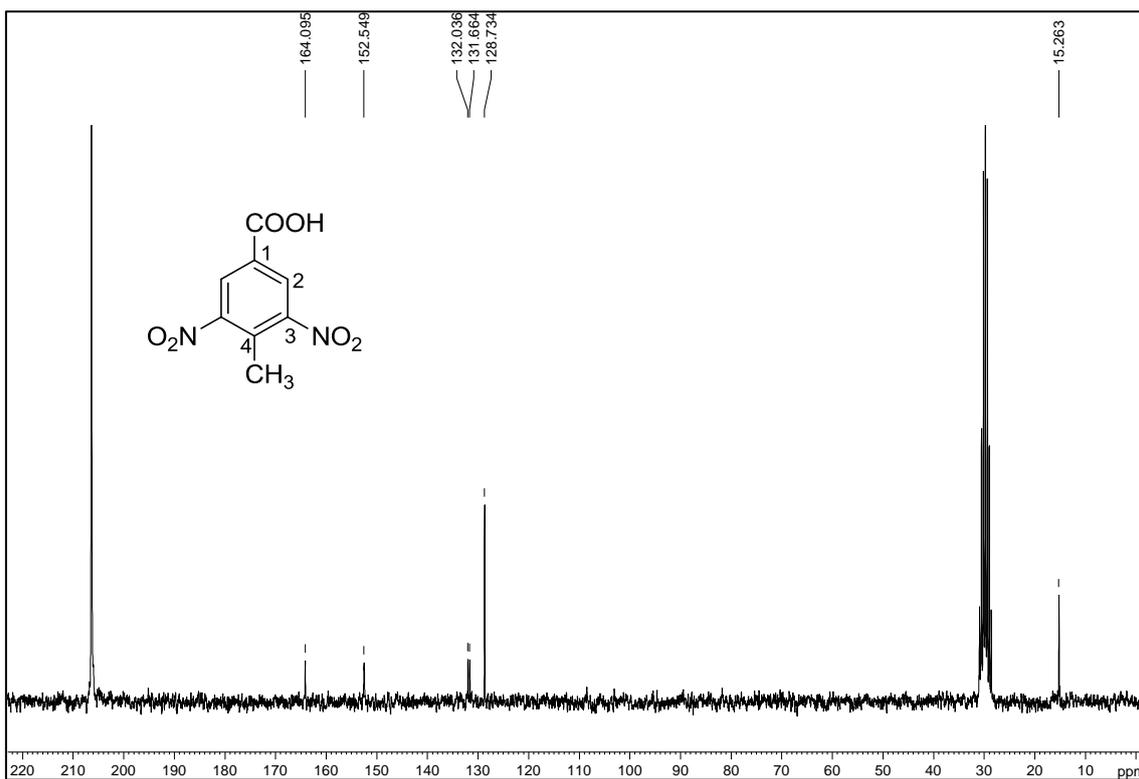


Figura A.24 – Espectro no infravermelho de 16.

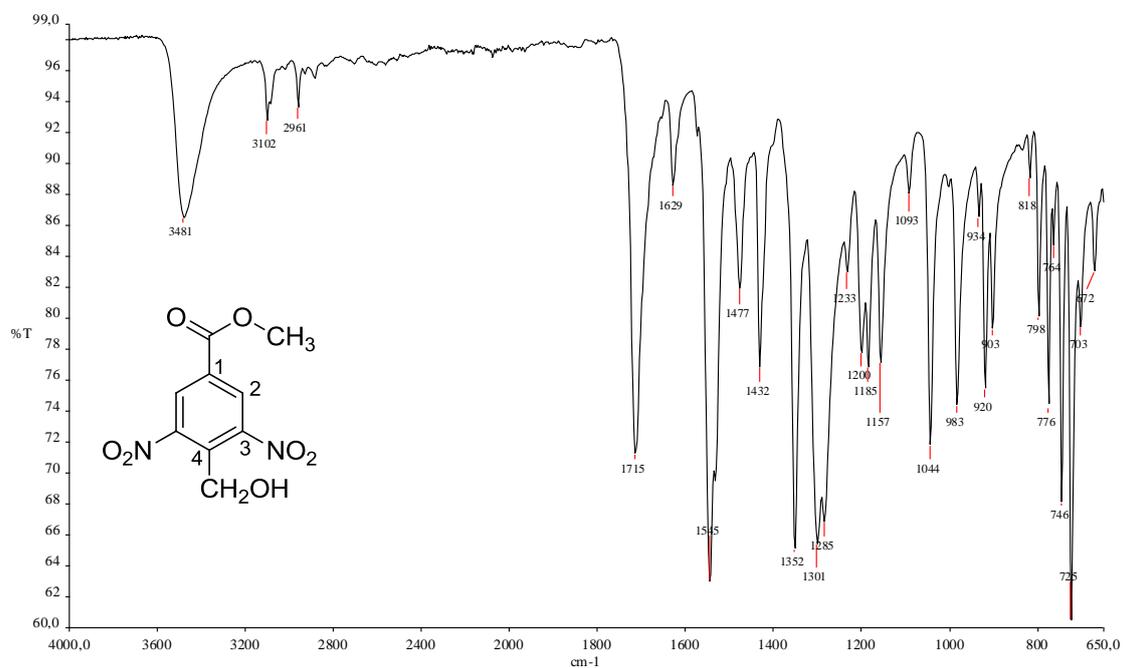


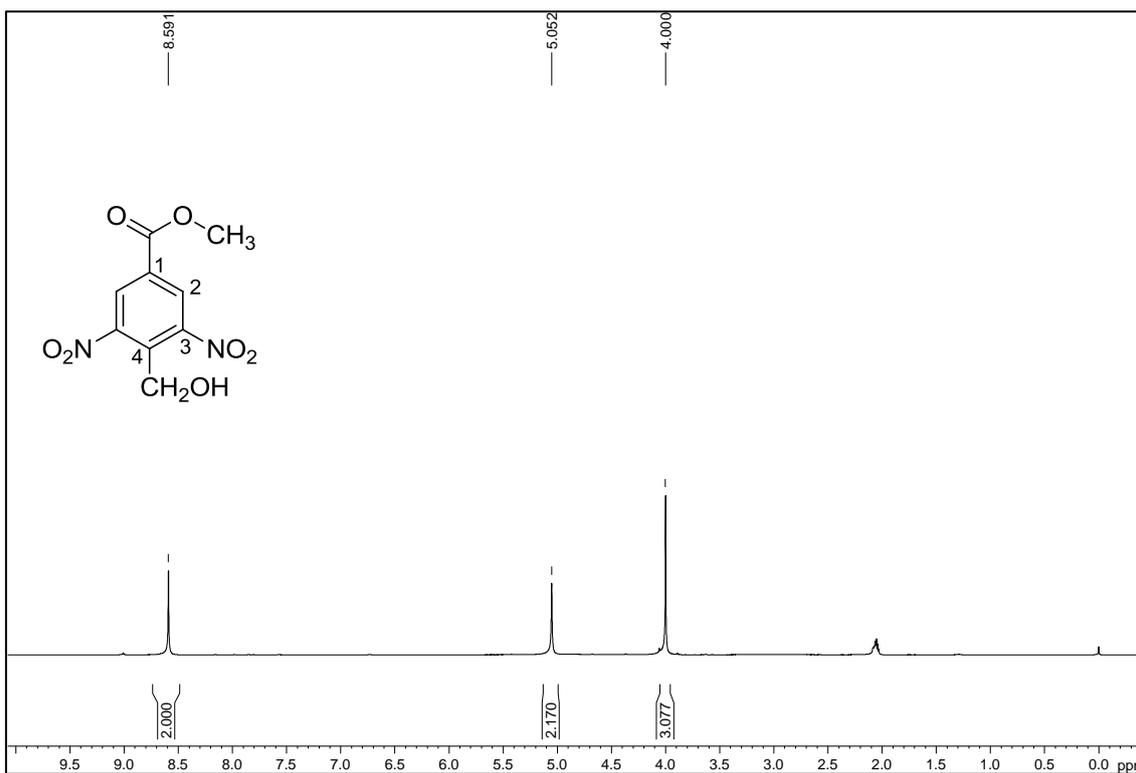
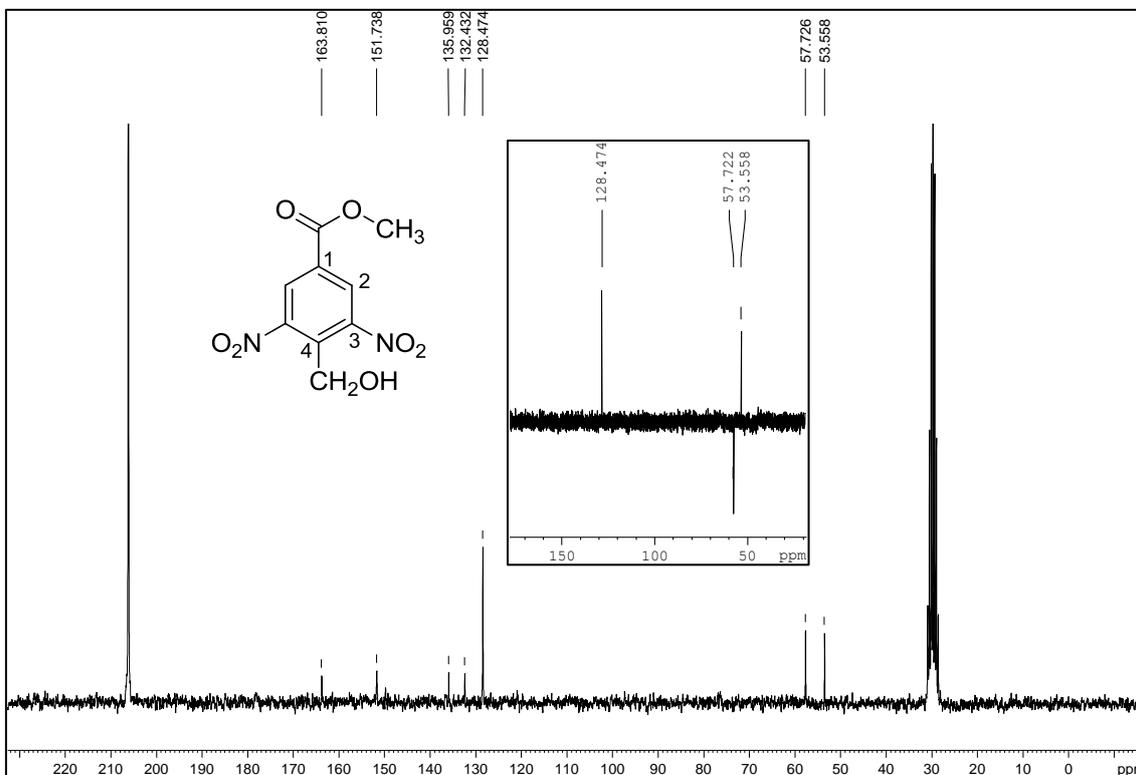
Figura A.25 – Espectro de RMN de ^1H de 16 (200 MHz, acetona- d_6).Figura A.26 – Espectro de RMN de ^{13}C de 16 (50 MHz, acetona- d_6).

Figura A.27 – Espectro no infravermelho de 17.

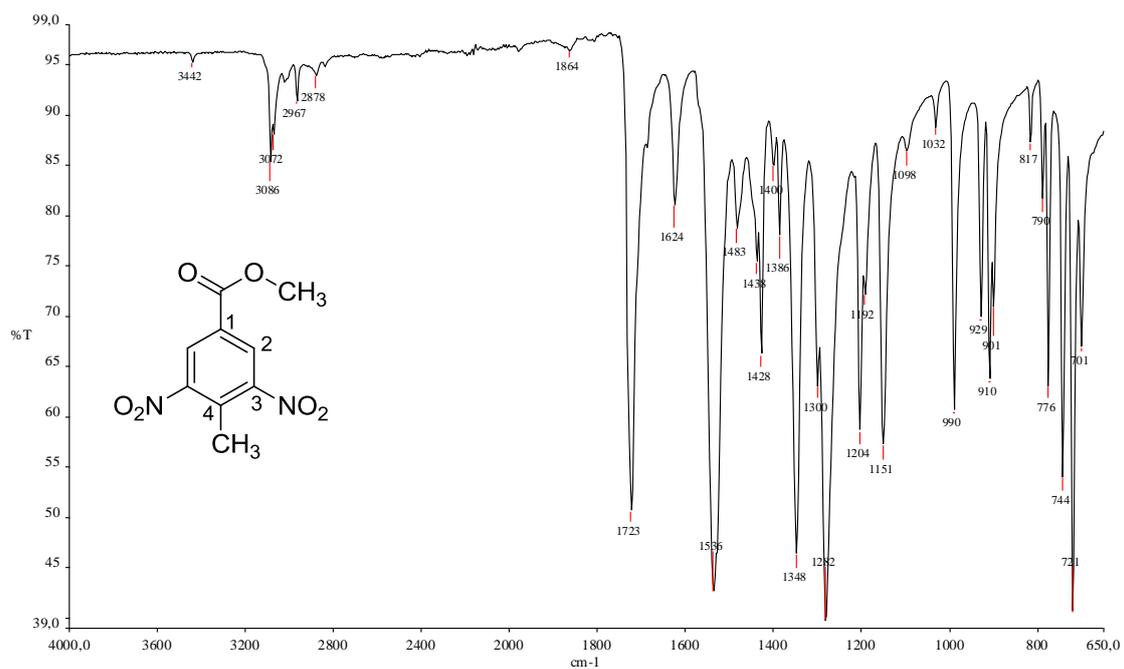
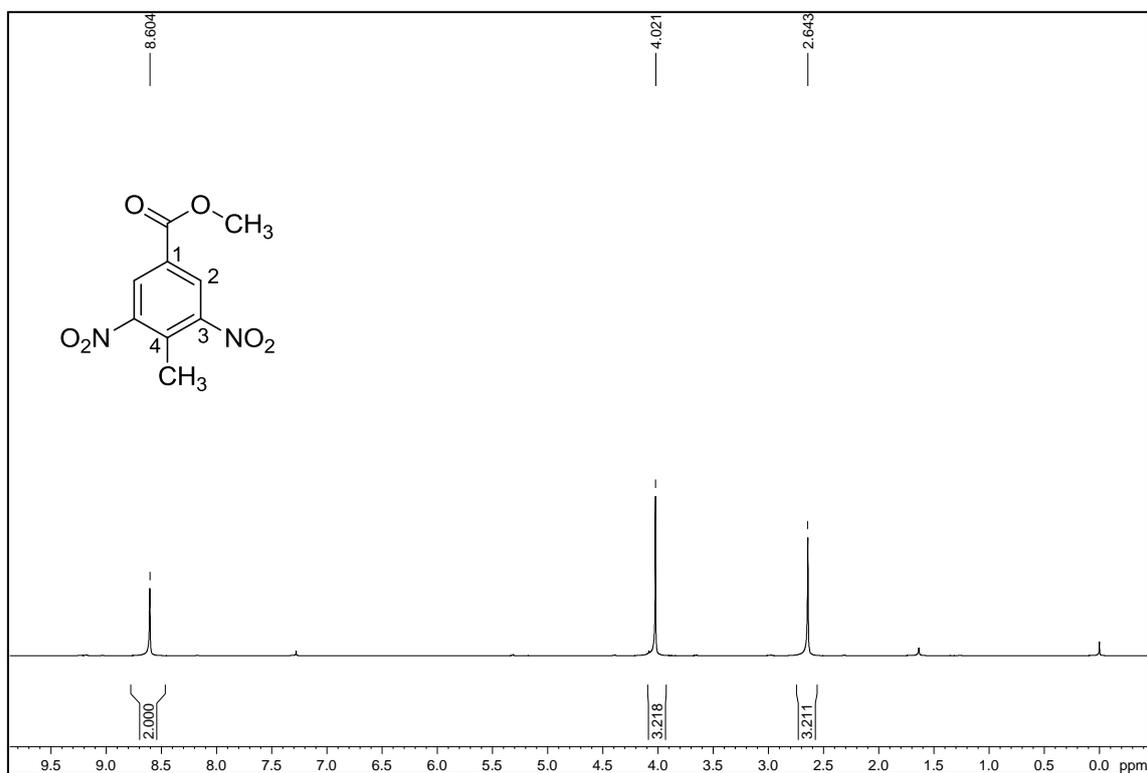
Figura A.28 – Espectro de RMN de ¹H de 17 (200 MHz, CDCl₃).

Figura A.29 – Espectro de RMN de ^{13}C de 17 (50 MHz, CDCl_3).

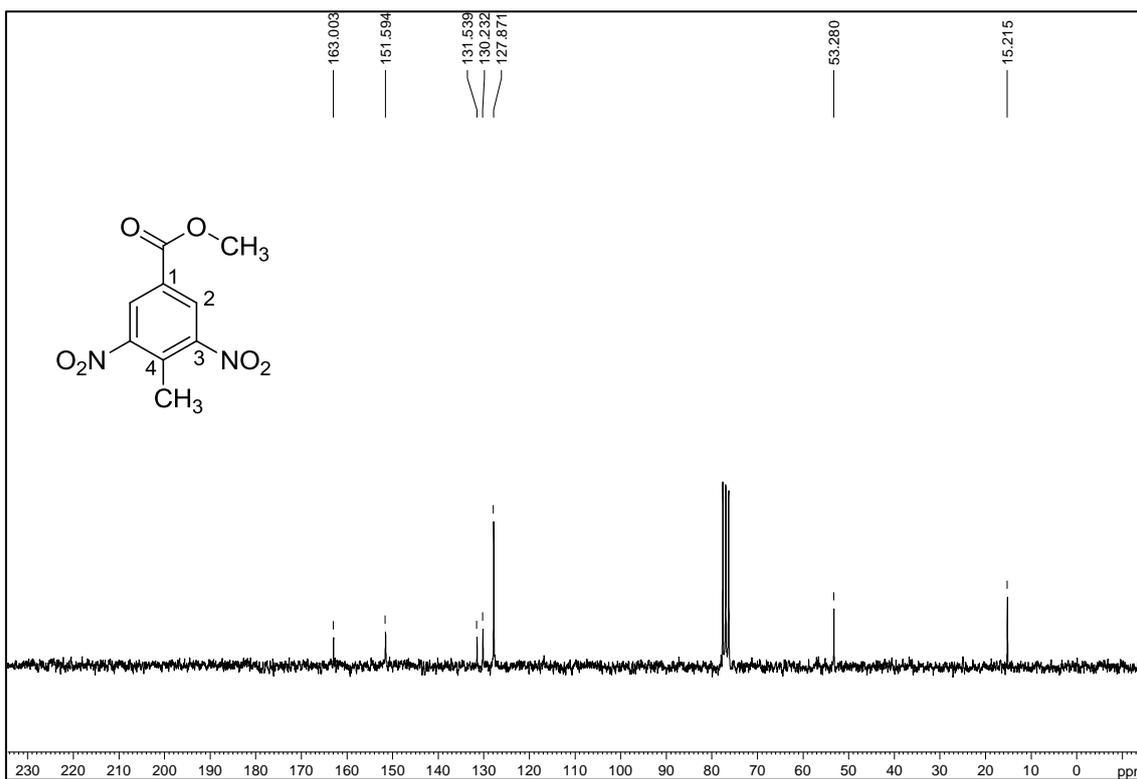


Figura A.30 – Espectro no infravermelho de 18.

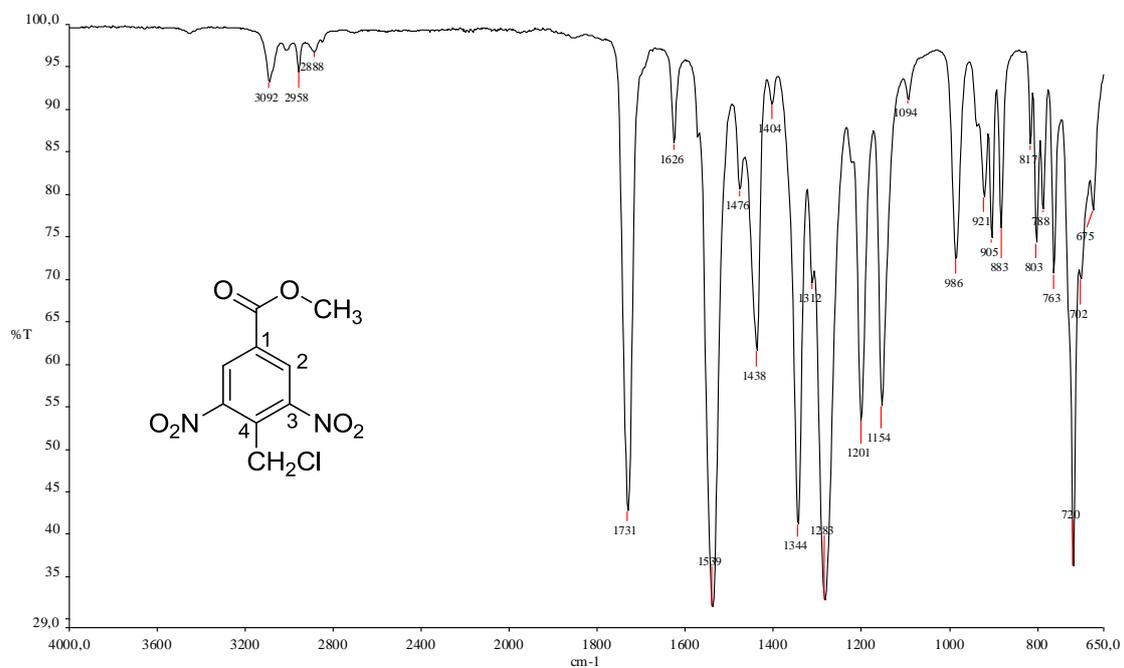


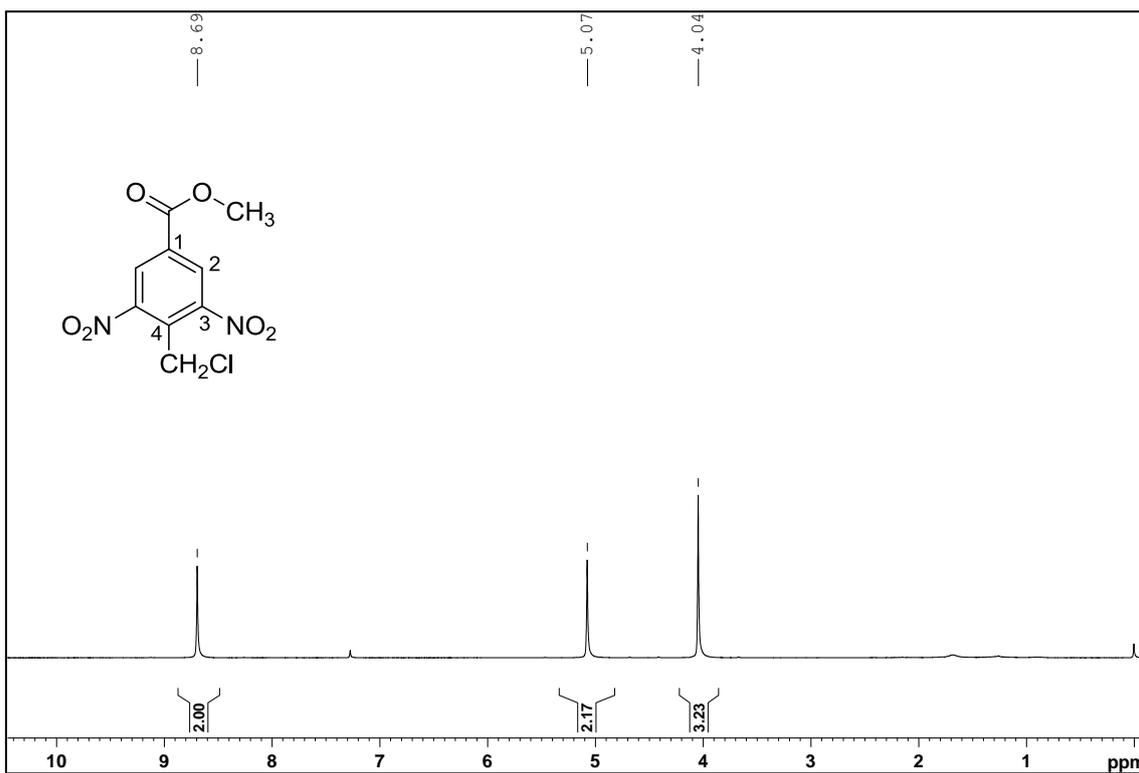
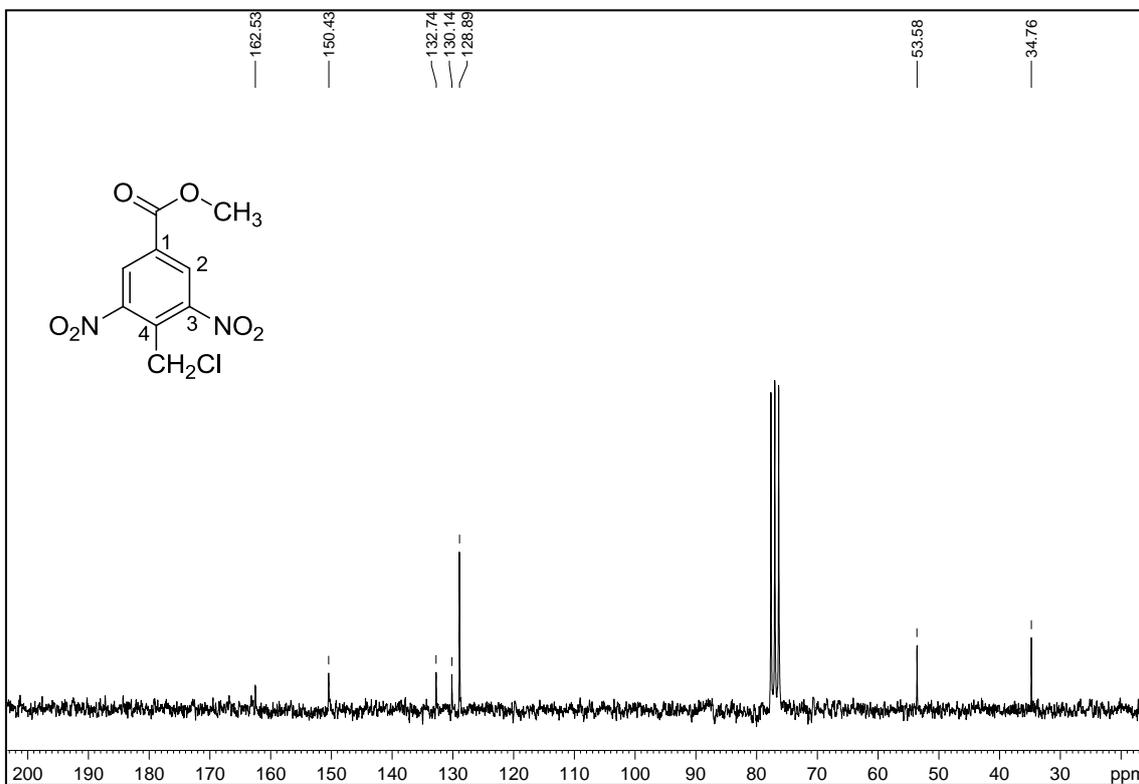
Figura A.31 – Espectro de RMN de ^1H de 18 (200 MHz, CDCl_3).Figura A.32 – Espectro de RMN de ^{13}C de 18 (50 MHz, CDCl_3).

Figura A.33 – Espectro no infravermelho de 19.

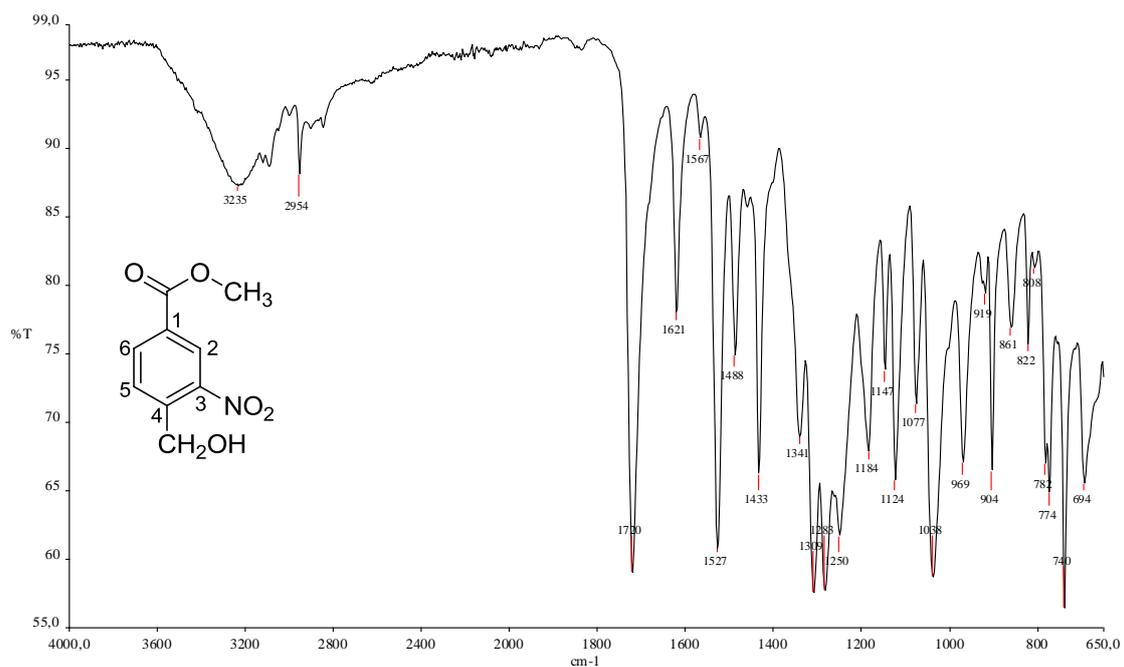
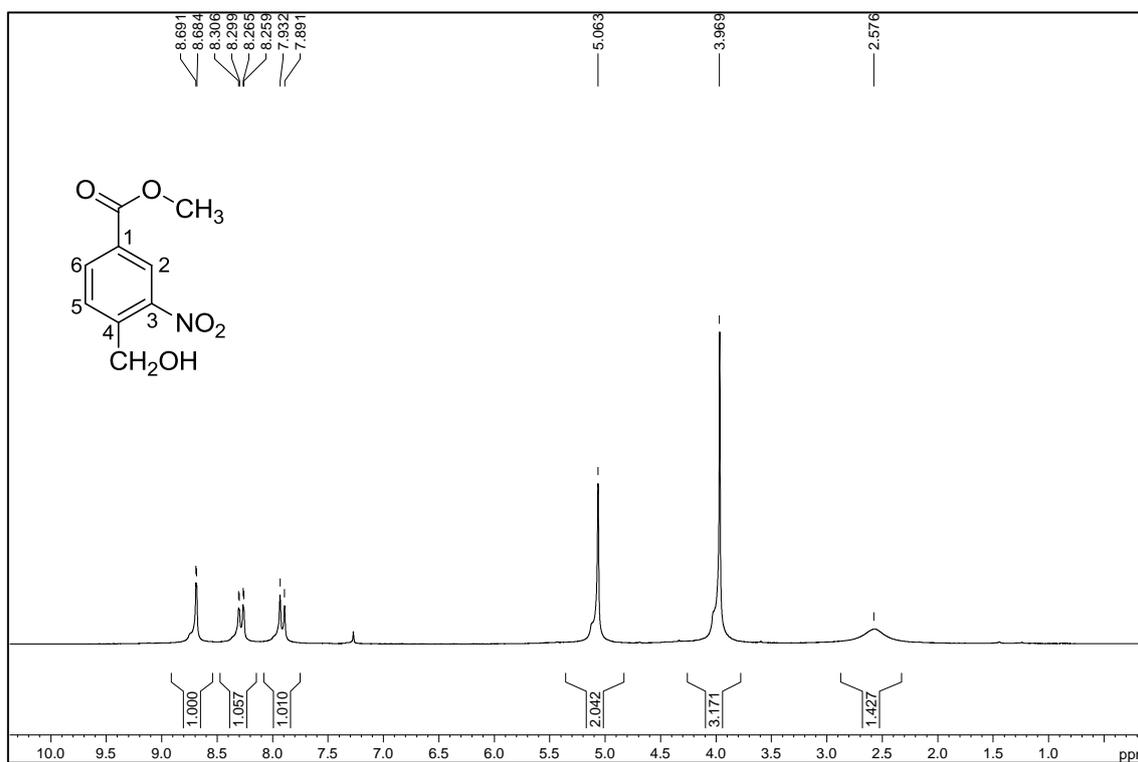
Figura A.34 – Espectro de RMN de ^1H de 19 (200 MHz, CDCl_3).

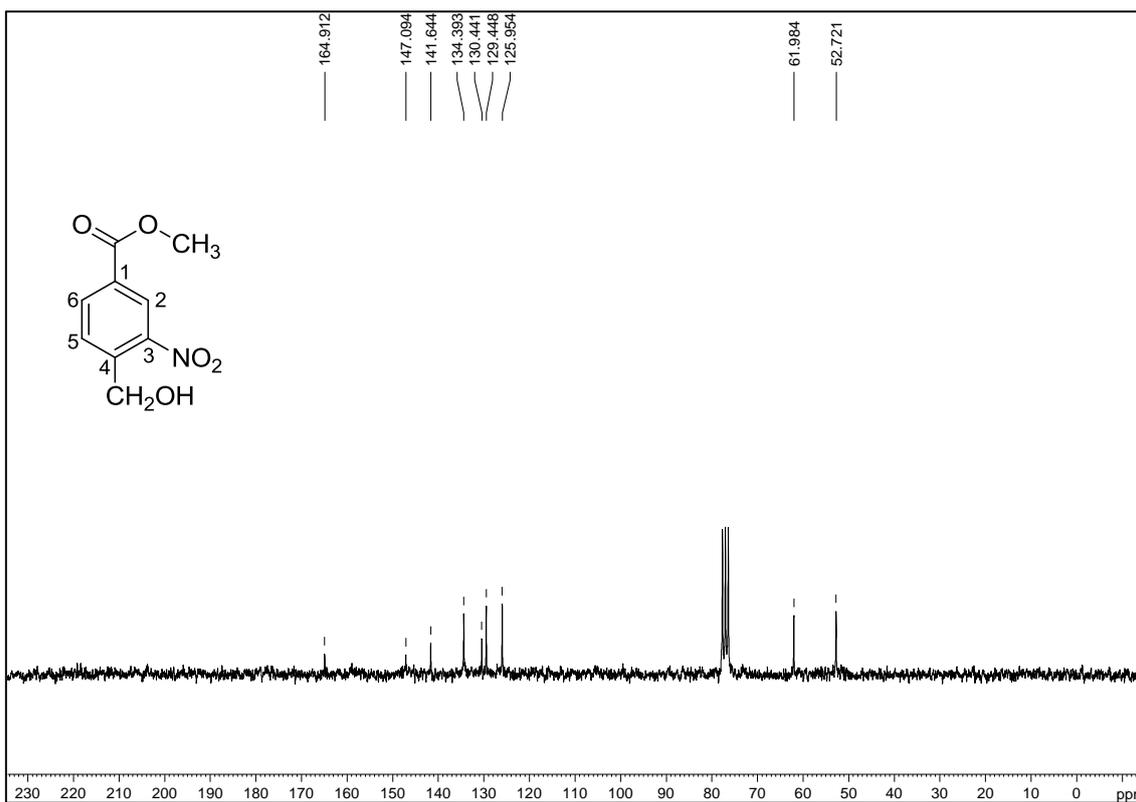
Figura A.35 – Espectro de RMN de ^{13}C de 19 (50 MHz, CDCl_3).

Figura A.36 – Espectro no infravermelho de 20.

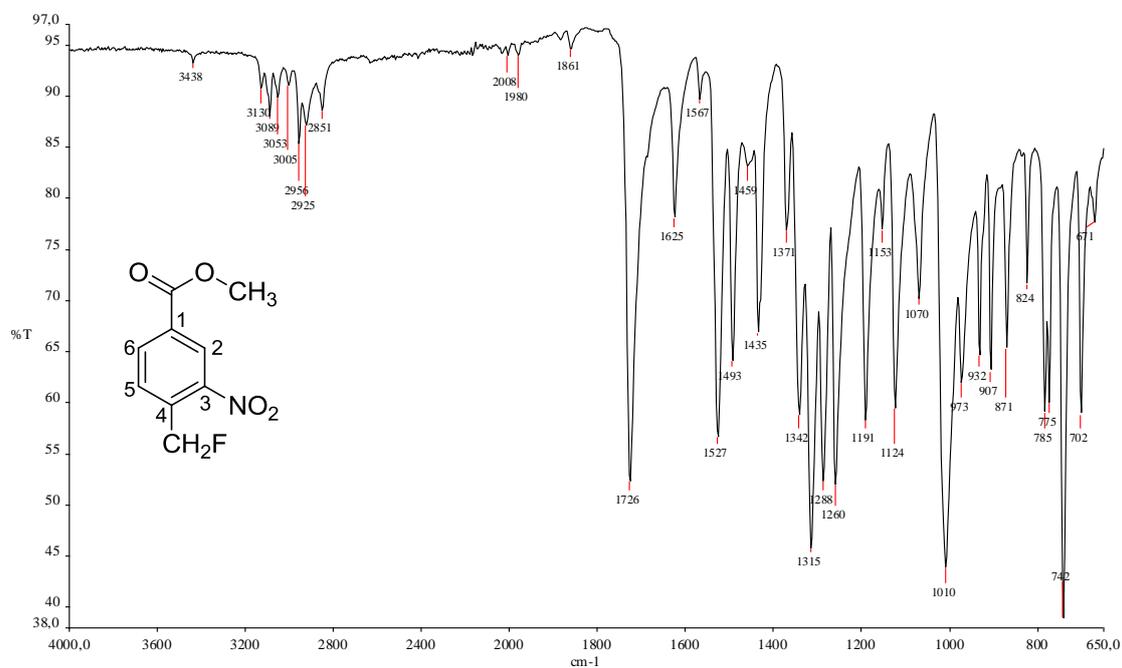


Figura A.37 – Espectro de RMN de ^1H de 20 (200 MHz, acetona- d_6).

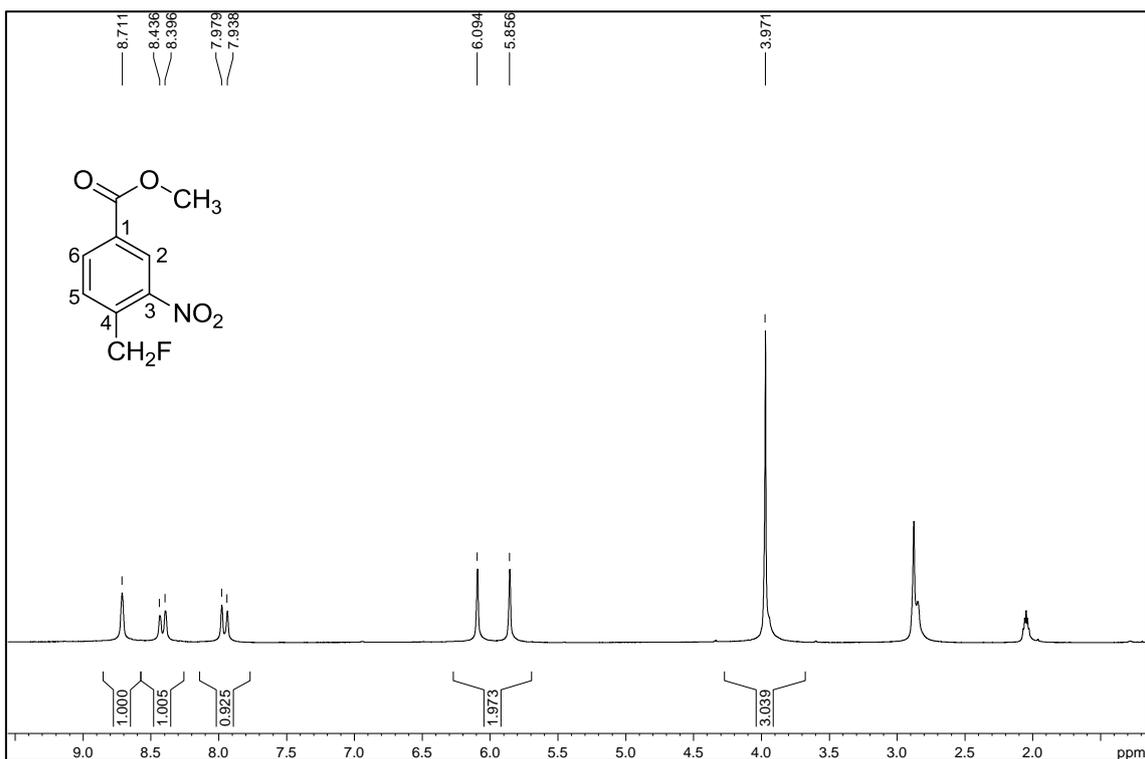


Figura A.38 – Espectro de RMN de ^{13}C de 20 (50 MHz, acetona- d_6).

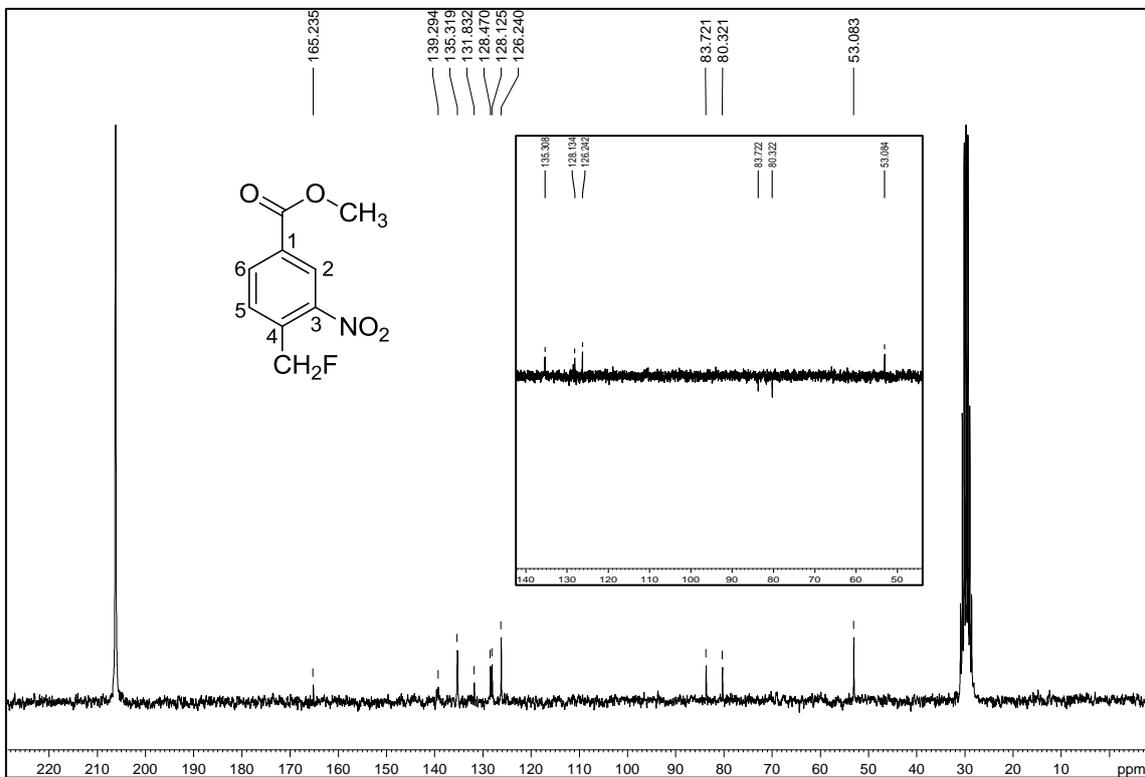


Figura A.39 – Espectro no infravermelho de 21.

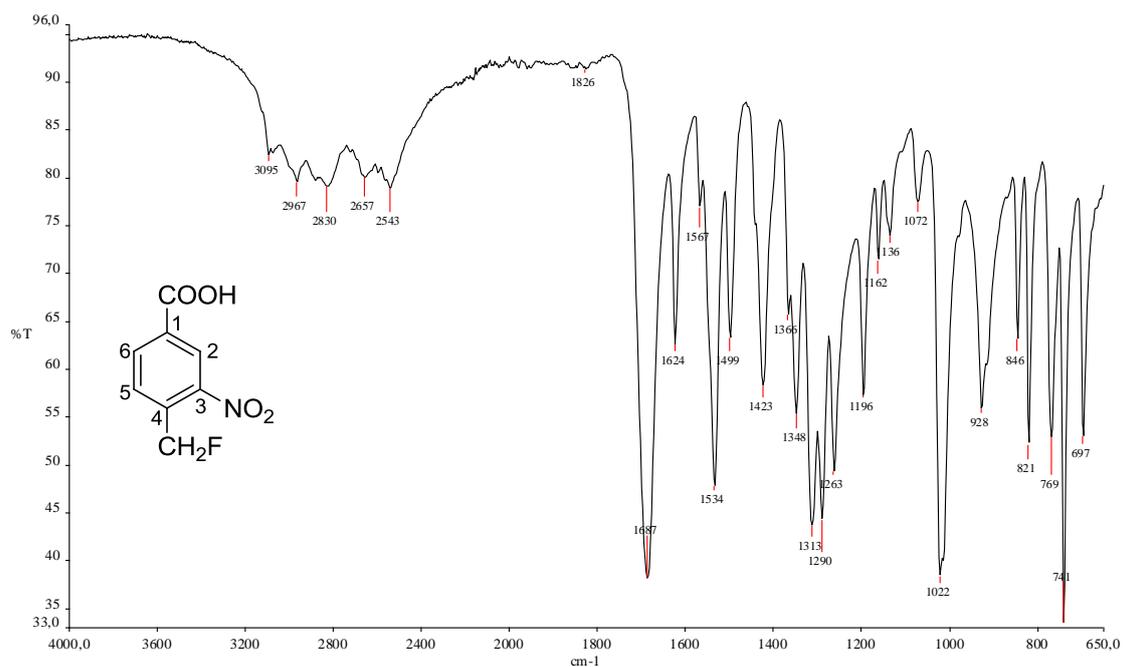
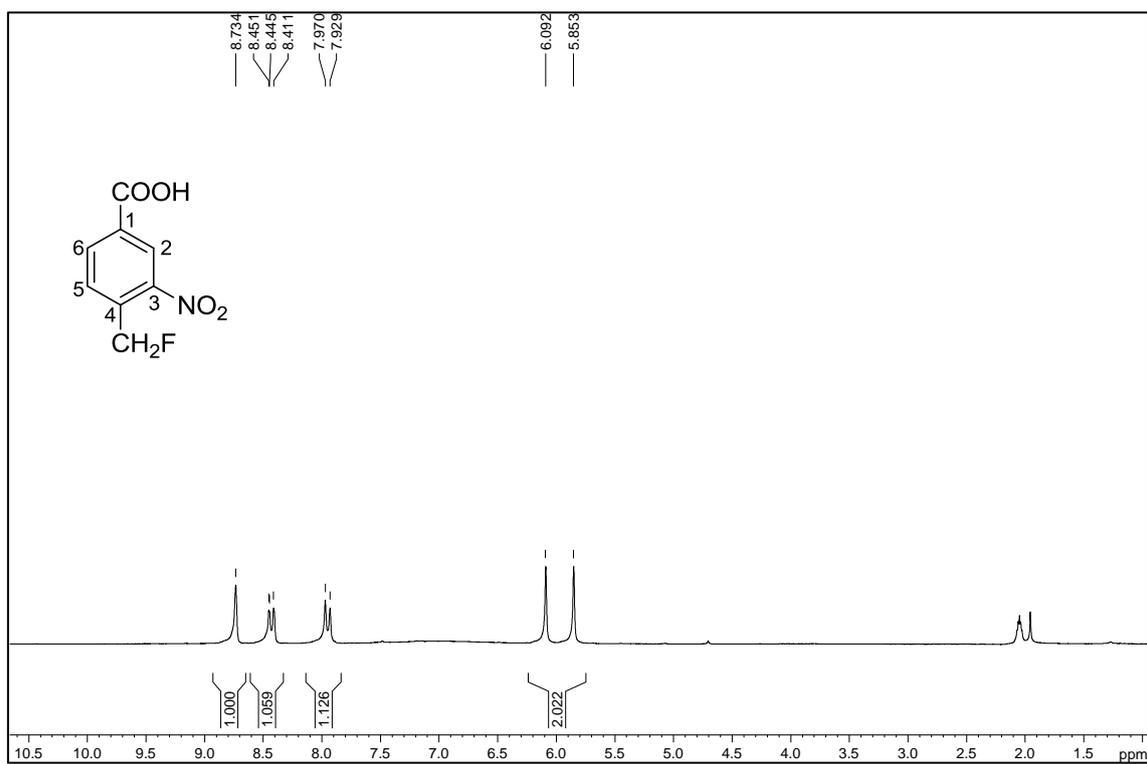
Figura A.40 – Espectro de RMN de ¹H de 21 (200 MHz, acetona-d₆).

Figura A.41 – Espectro de RMN de ^{13}C de 21 (50 MHz, acetona- d_6).

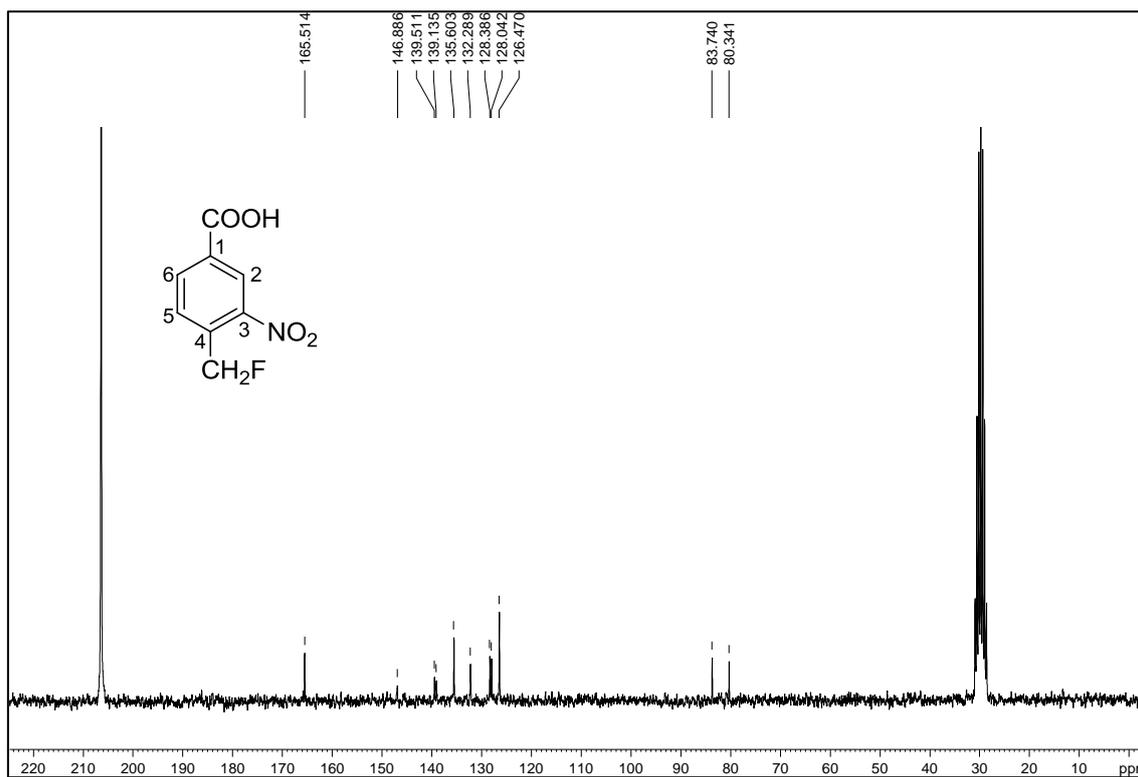


Figura A.42 – Espectro no infravermelho de 22.

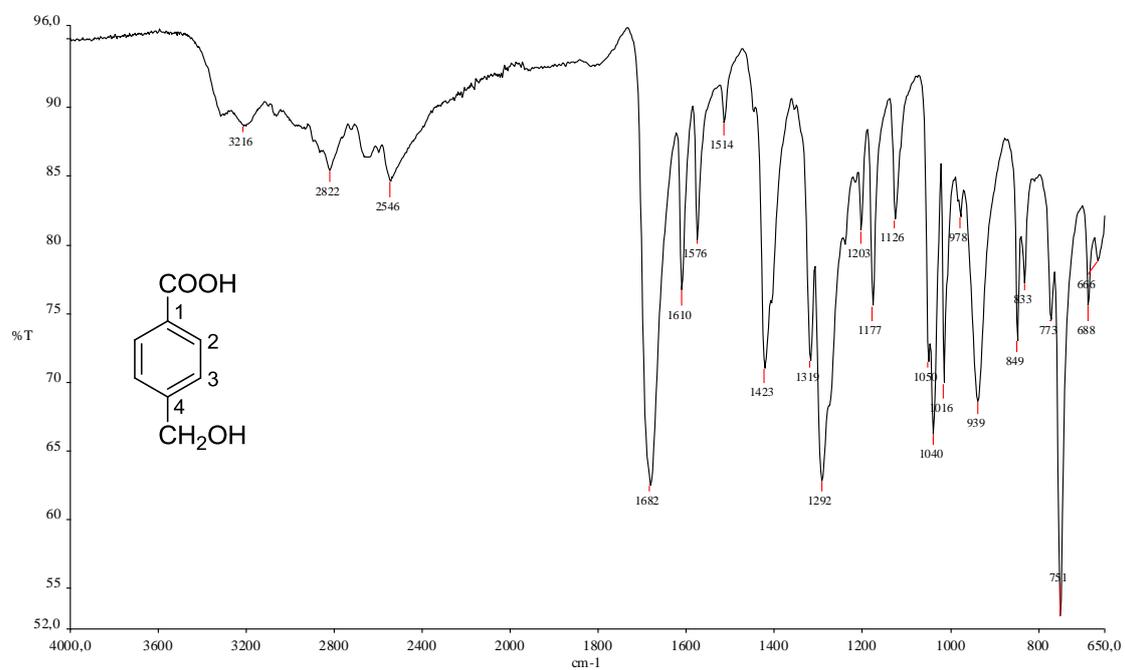


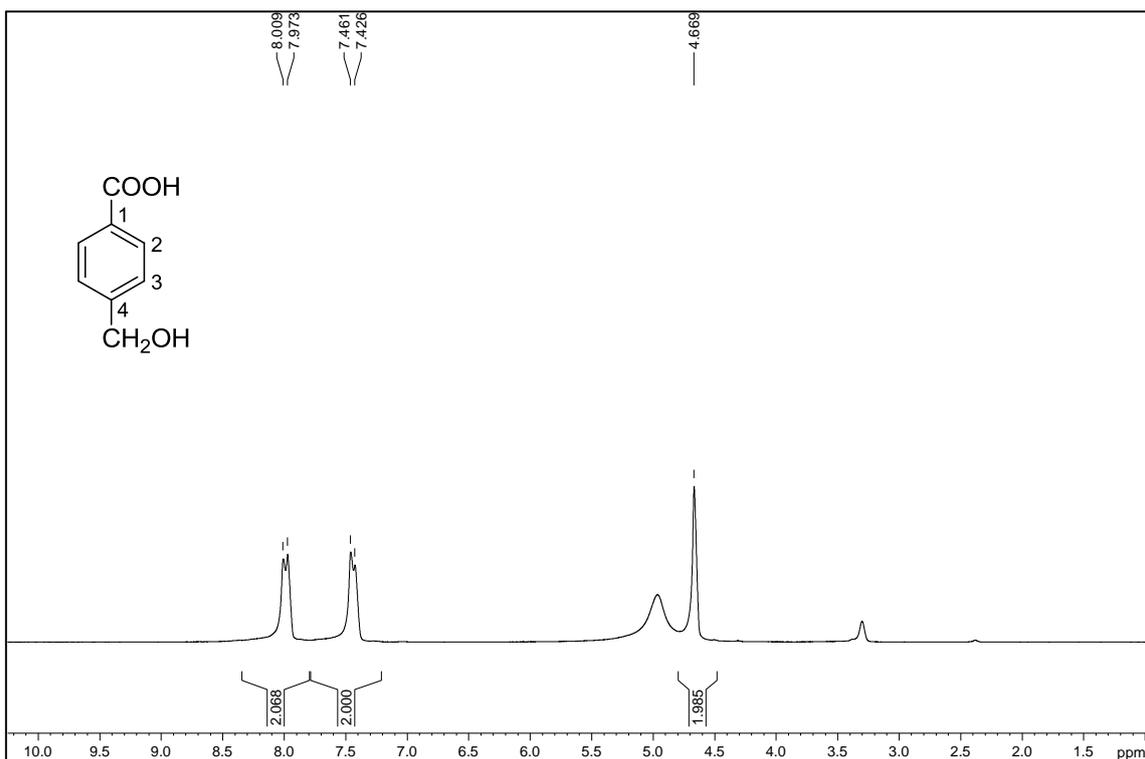
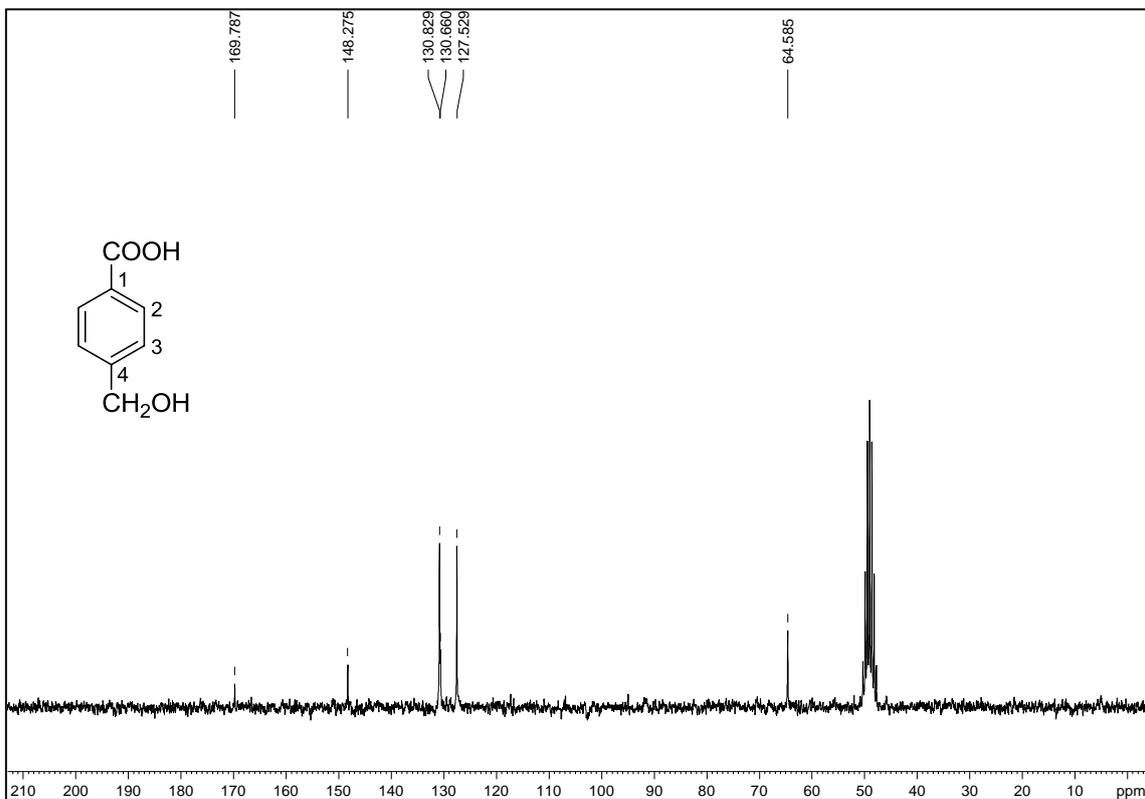
Figura A.43 – Espectro de RMN de ^1H de 22 (200 MHz, CD_3OD).Figura A.44 – Espectro de RMN de ^{13}C de 22 (50 MHz, CD_3OD).

Figura A.45 – Espectro no infravermelho de 23.

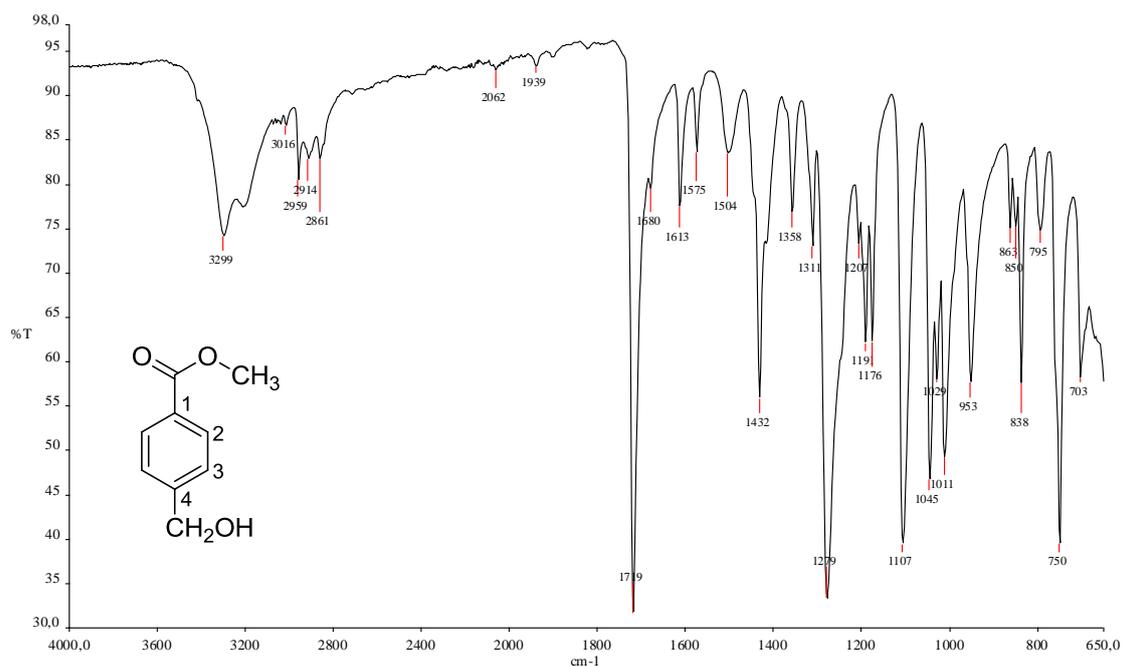
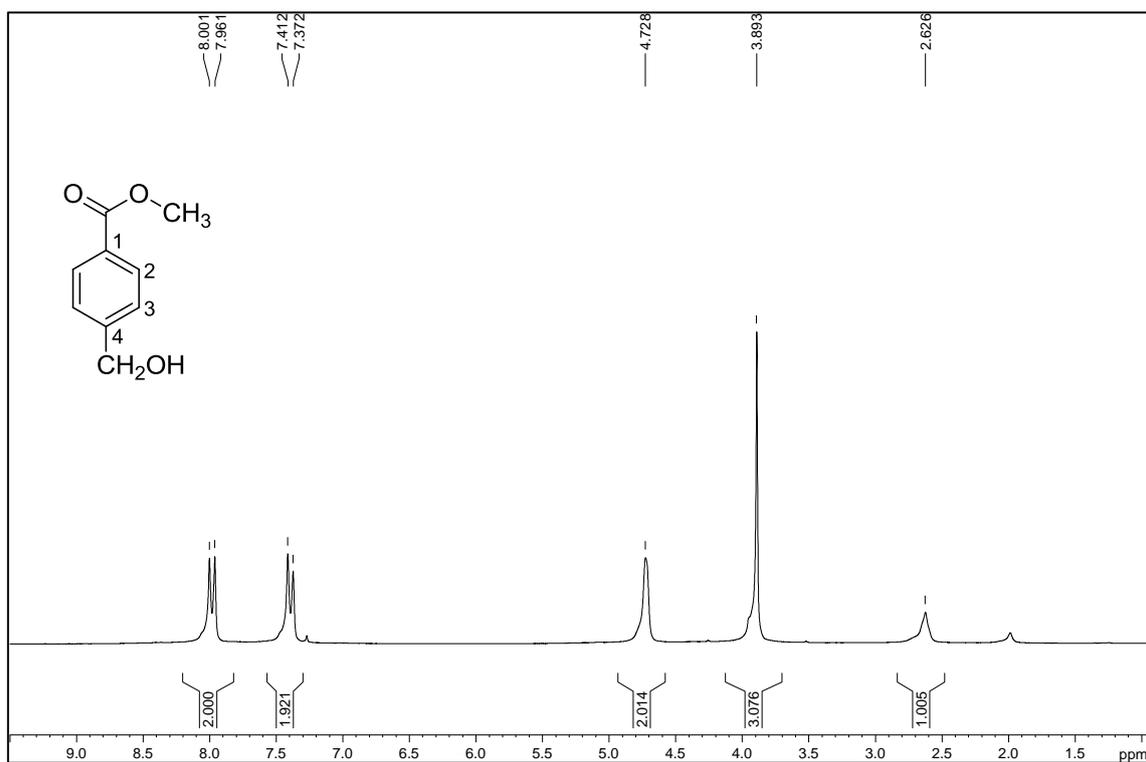
Figura A.46 – Espectro de RMN de ¹H de 23 (200 MHz, CDCl₃).

Figura A.47 – Espectro de RMN de ^{13}C de 23 (50 MHz, CDCl_3).

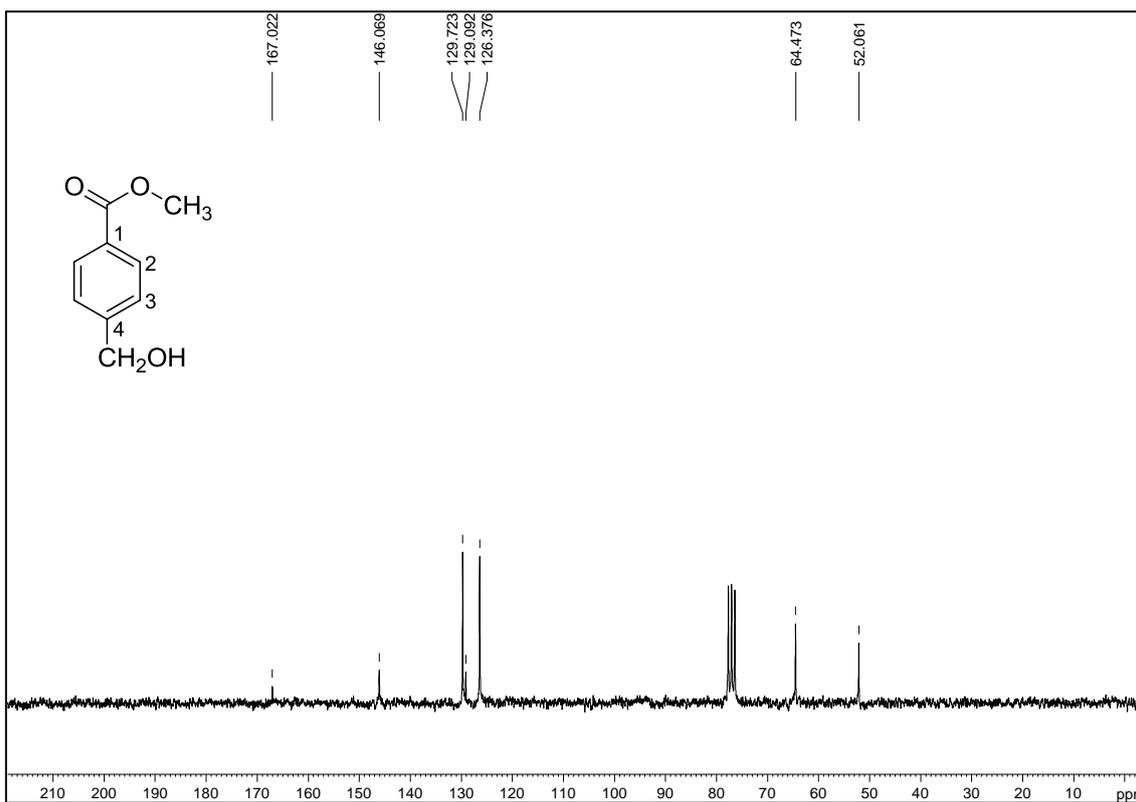


Figura A.48 – Espectro no infravermelho de 24.

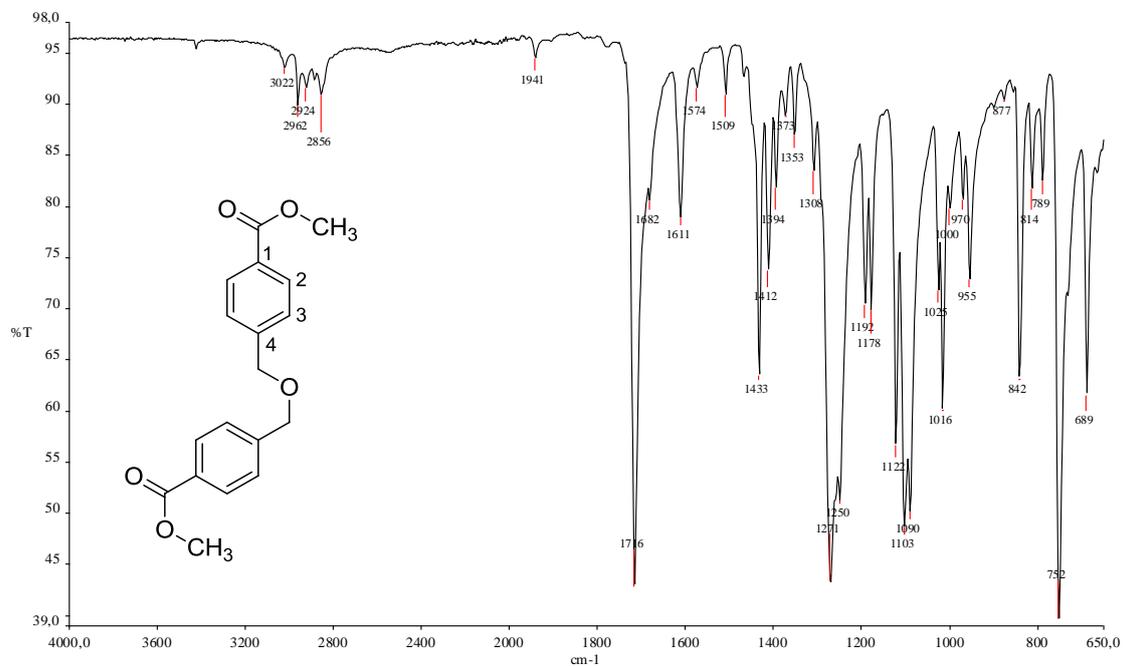


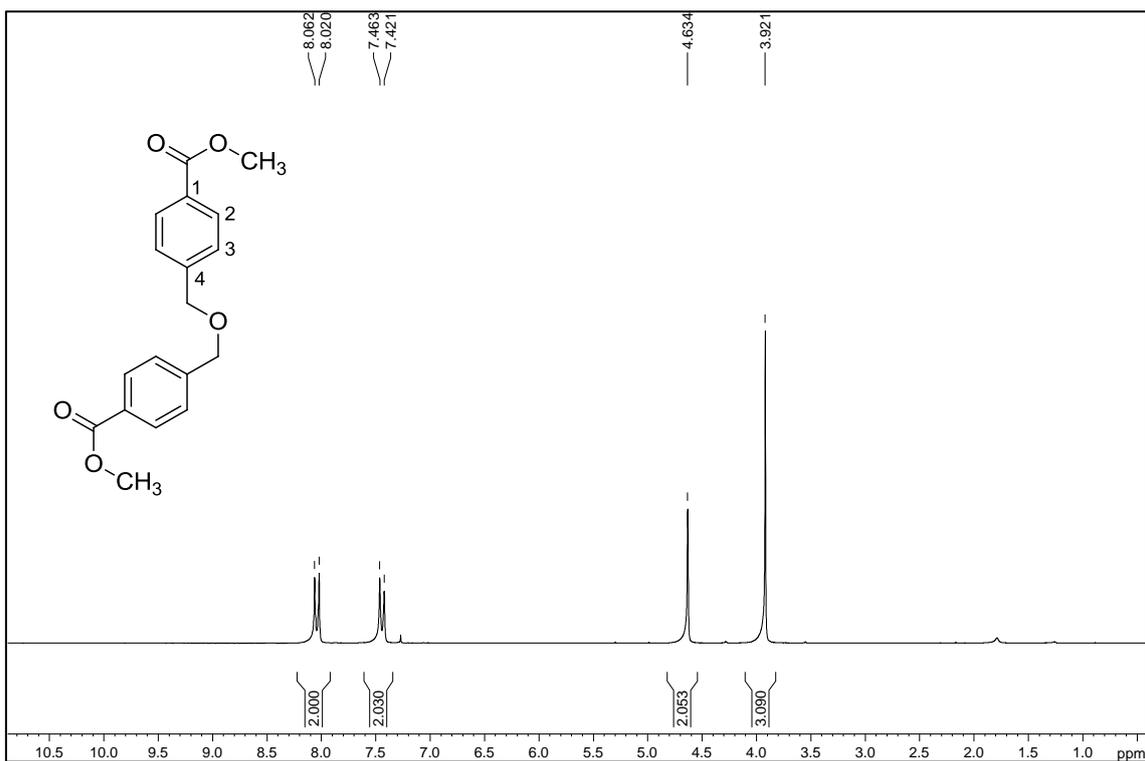
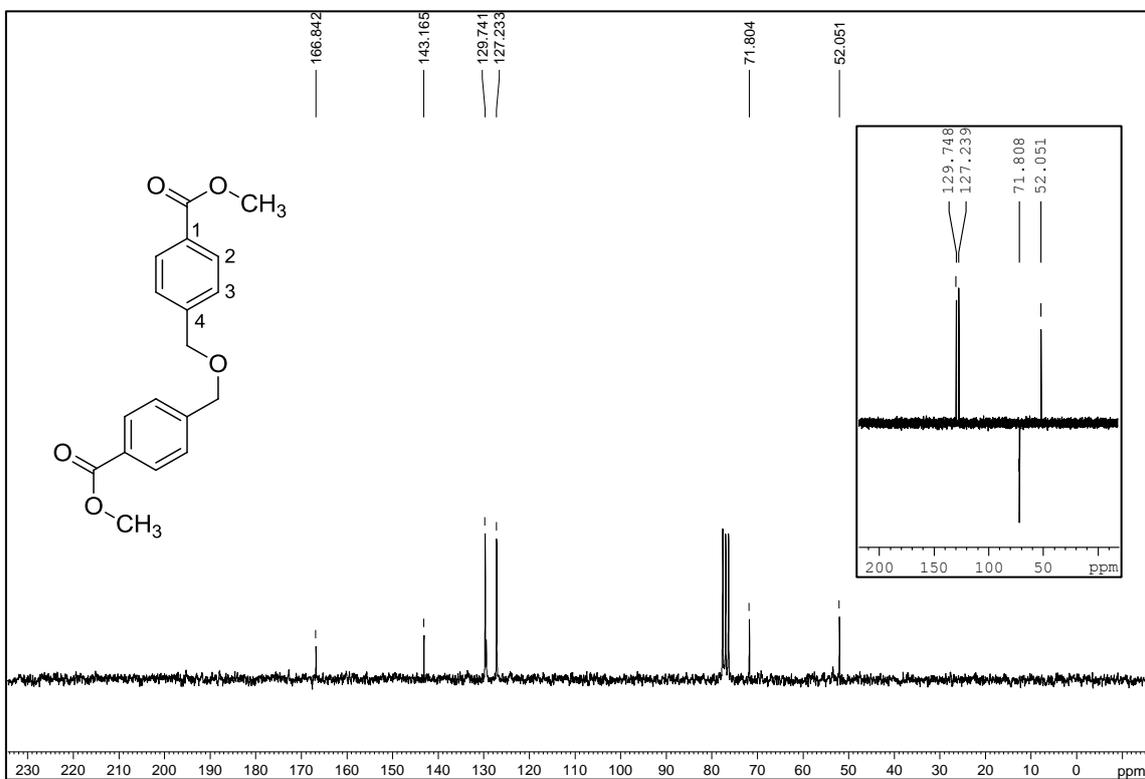
Figura A.49 – Espectro de RMN de ^1H de 24 (50 MHz, CDCl_3).Figura A.50 – Espectro de RMN de ^{13}C de 24 (50 MHz, CDCl_3).

Figura A.51 – Espectro no infravermelho de 25.

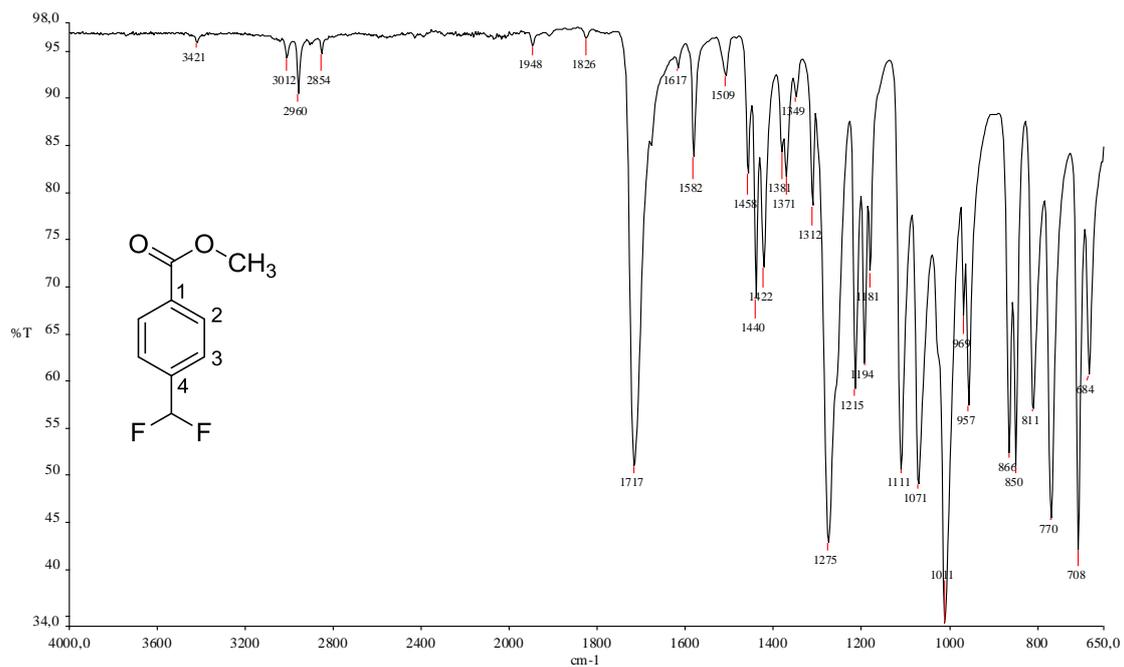
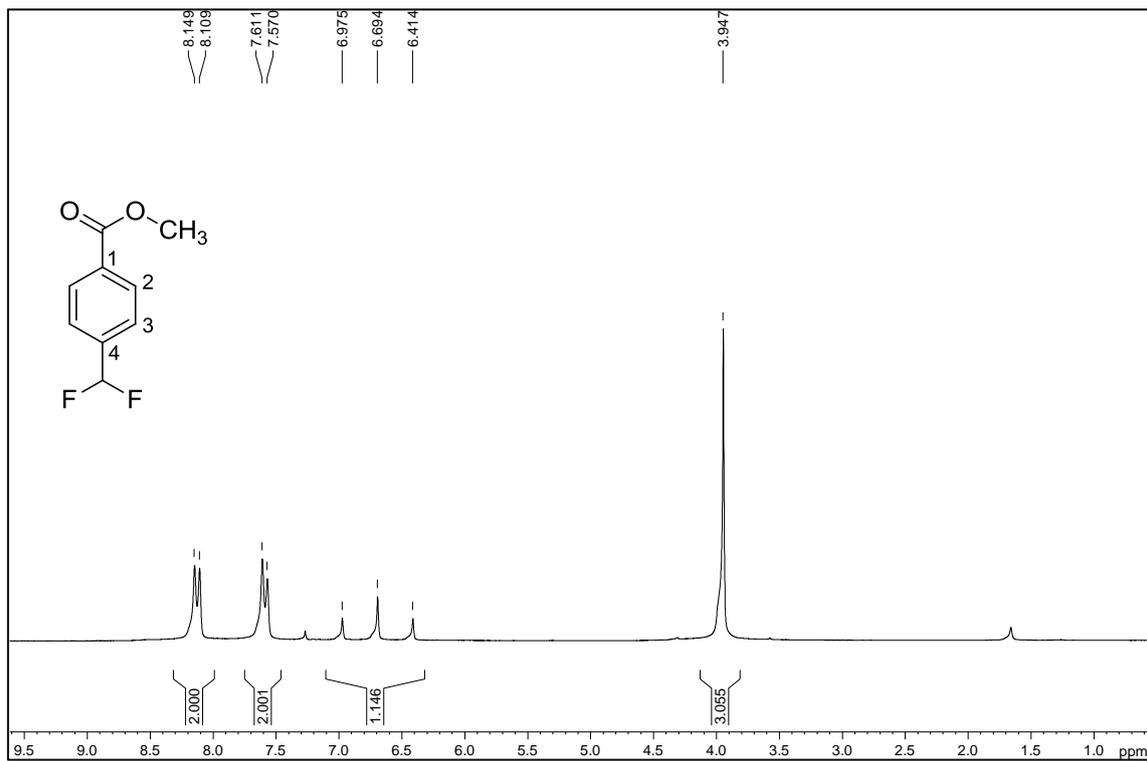
Figura A.52 – Espectro de RMN de ^1H de 25 (200 MHz, CDCl_3).

Figura A.53 – Espectro de RMN de ^{13}C de 25 (50 MHz, CDCl_3).

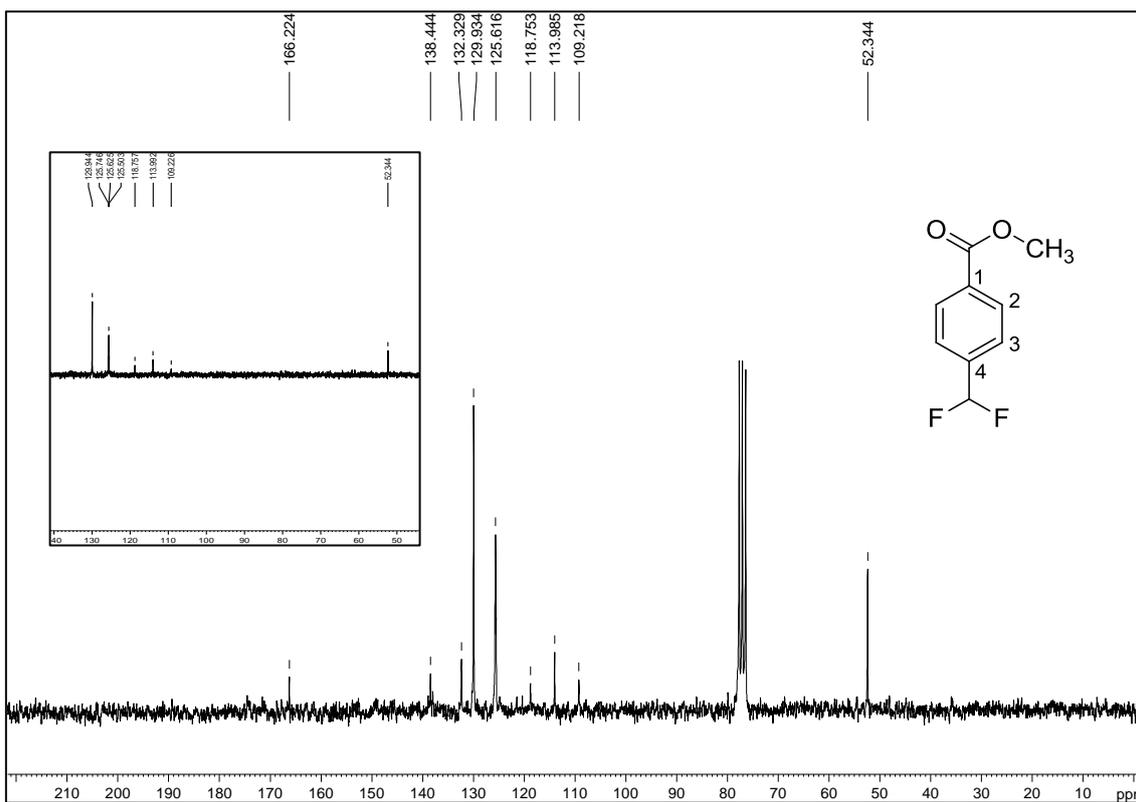


Figura A.54 – Espectro no infravermelho de 26.

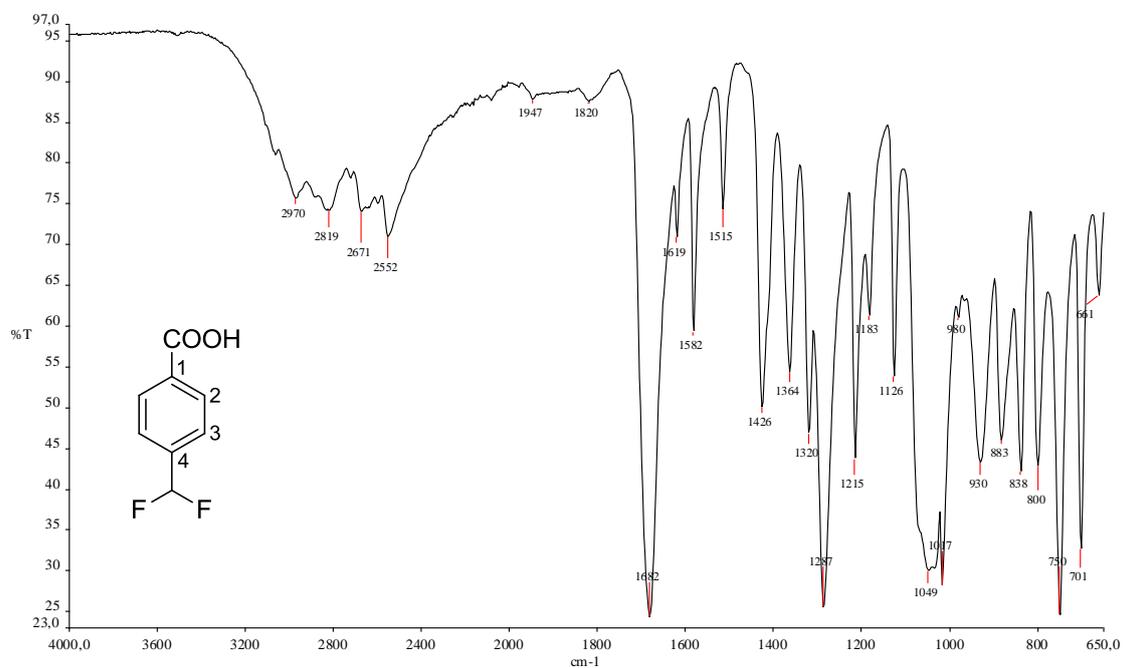


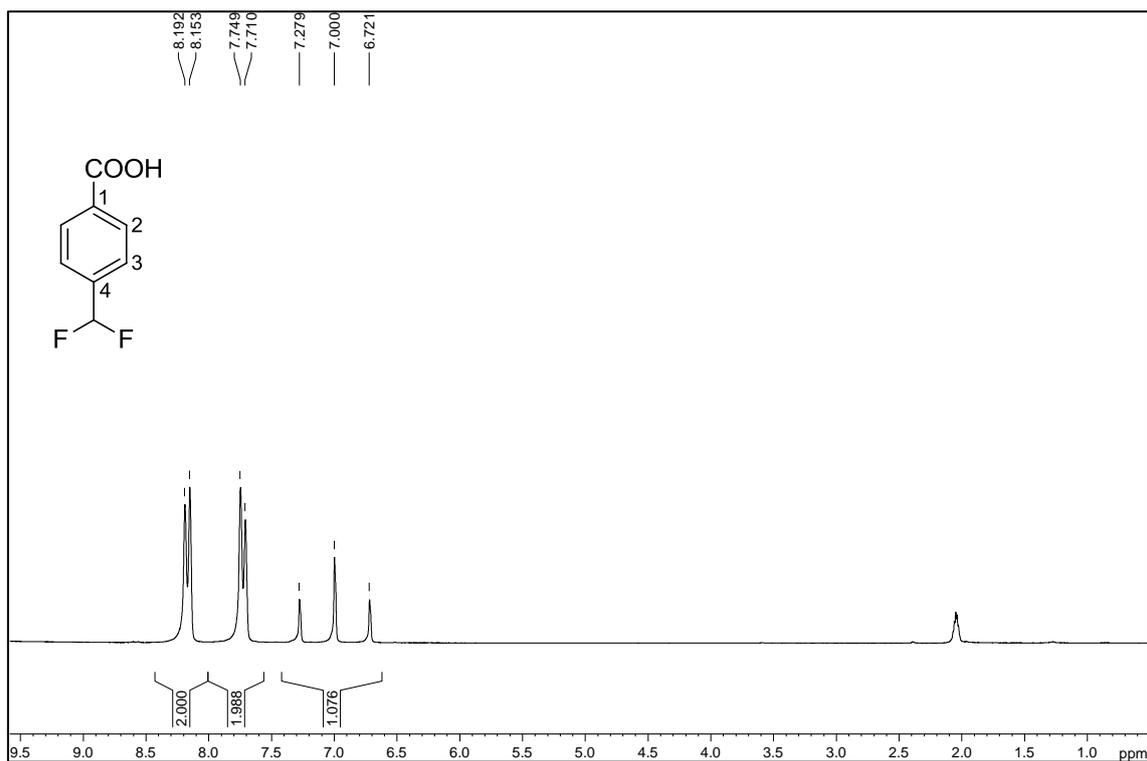
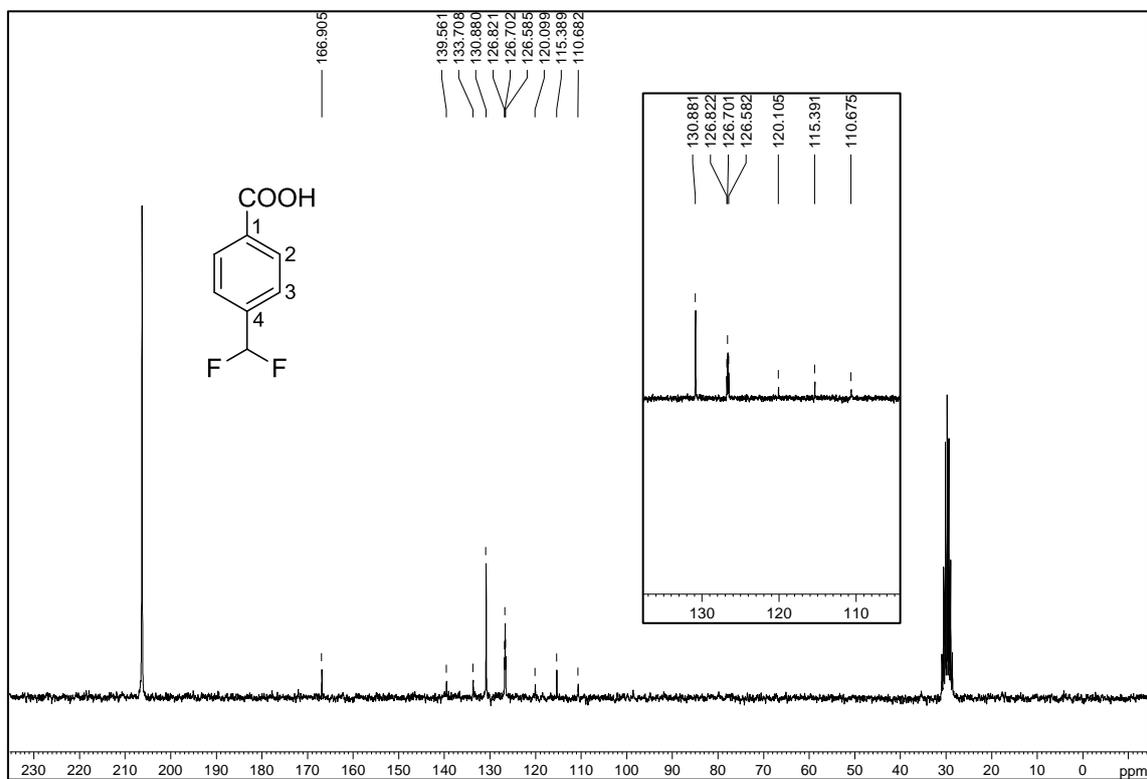
Figura A.55 – Espectro de RMN de ^1H de 26 (200 MHz, acetona- d_6).Figura A.56 – Espectro de RMN de ^{13}C de 26 (50 MHz, acetona- d_6).

Figura A.57 – Espectro no infravermelho de 27.

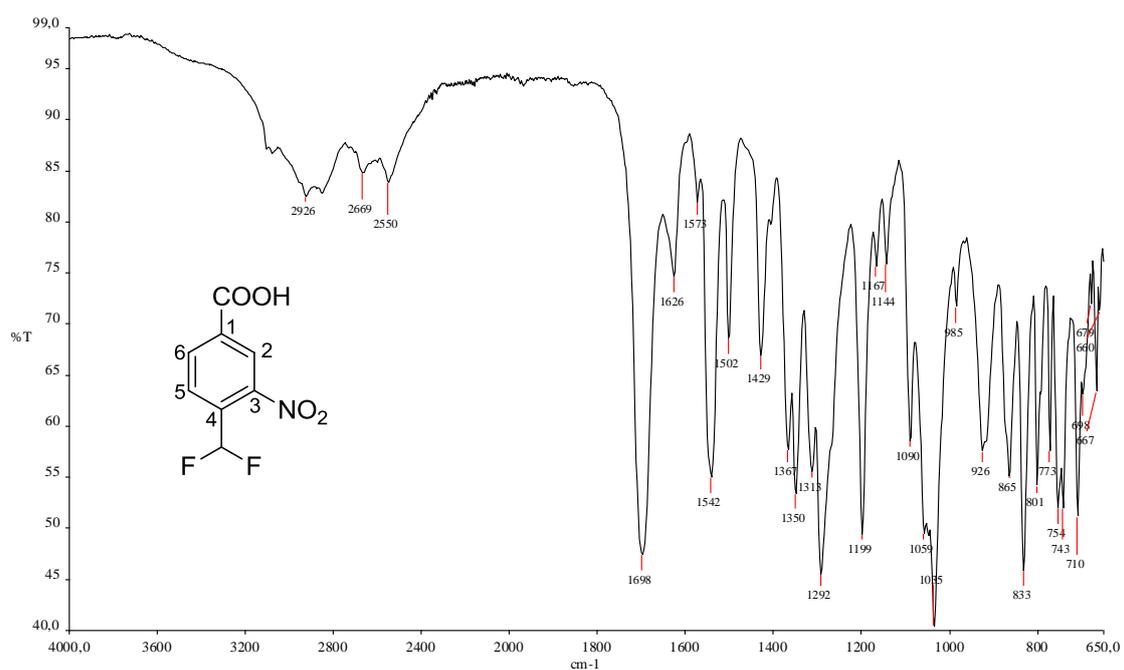
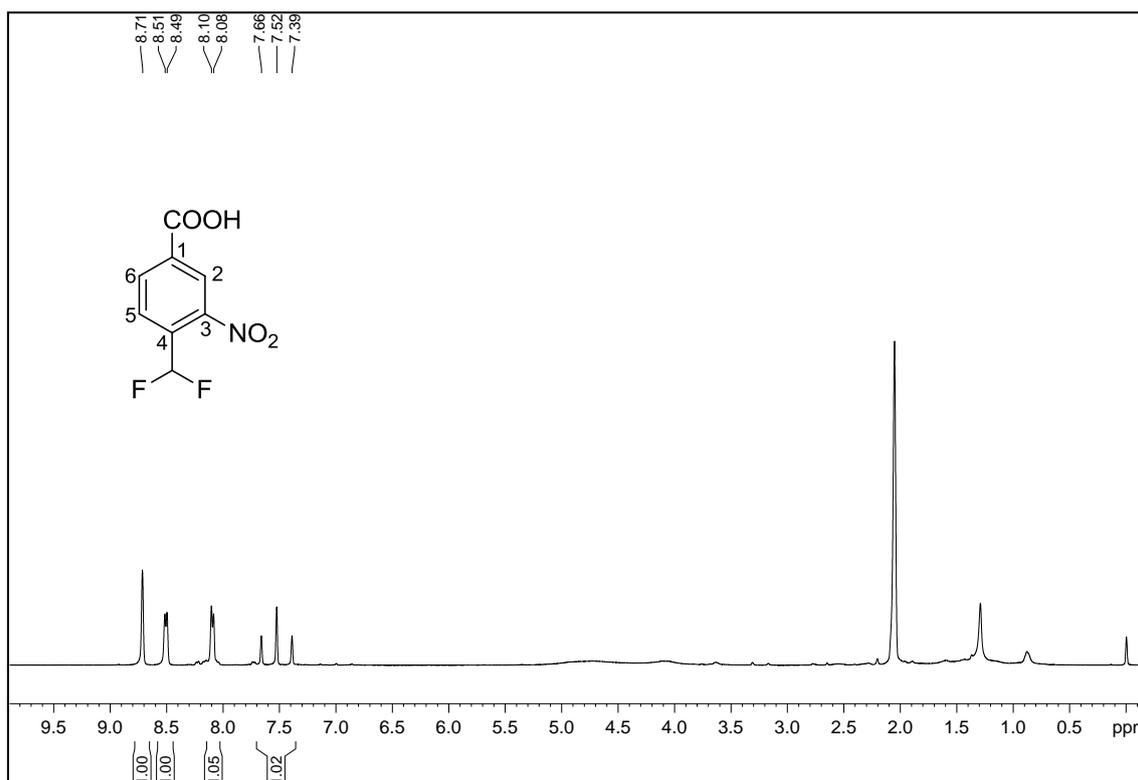
Figura A.58 – Espectro de RMN de ¹H de 27 (400 MHz, acetona-d₆).

Figura A.59 – Espectro de RMN de ^{13}C de 27 (100 MHz, acetona- d_6).

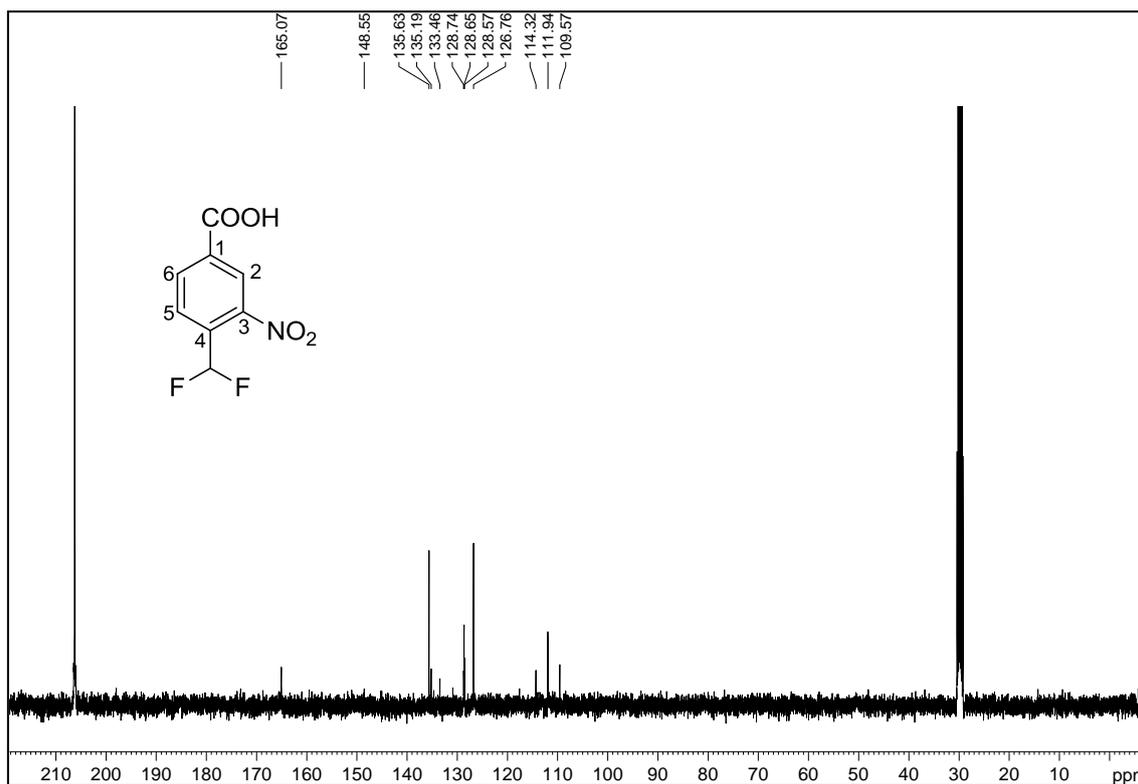


Figura A.60 – Mapa de contornos HMBC de 27 (400 MHz, acetona- d_6).

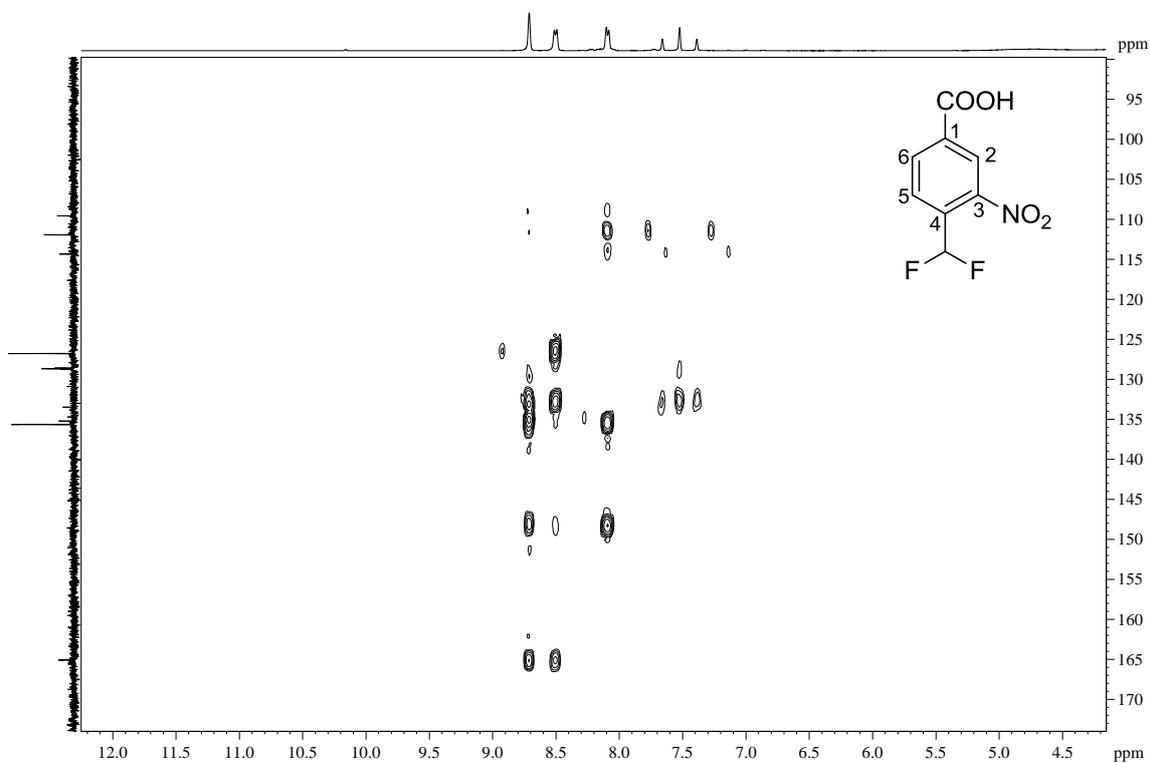


Figura A.61 – Espectro no infravermelho de 30.

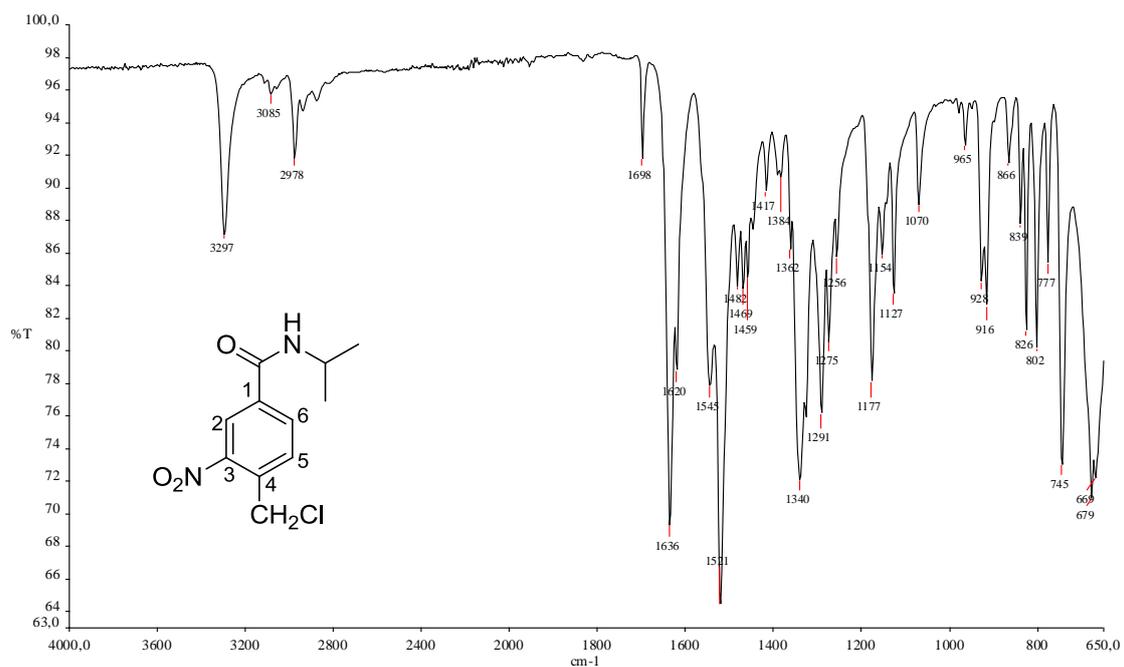
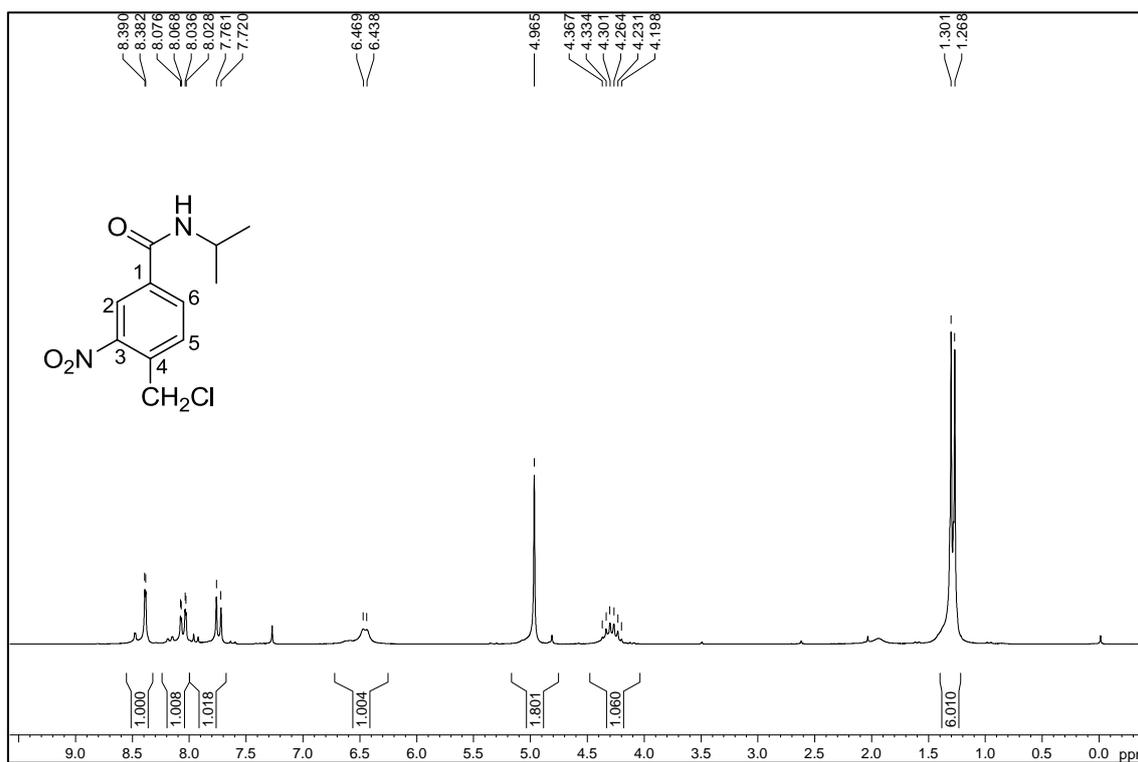
Figura A.62 – Espectro de RMN de ¹H de 30 (200 MHz, CDCl₃).

Figura A.63 – Espectro de RMN de ^{13}C de 30 (50 MHz, CDCl_3).

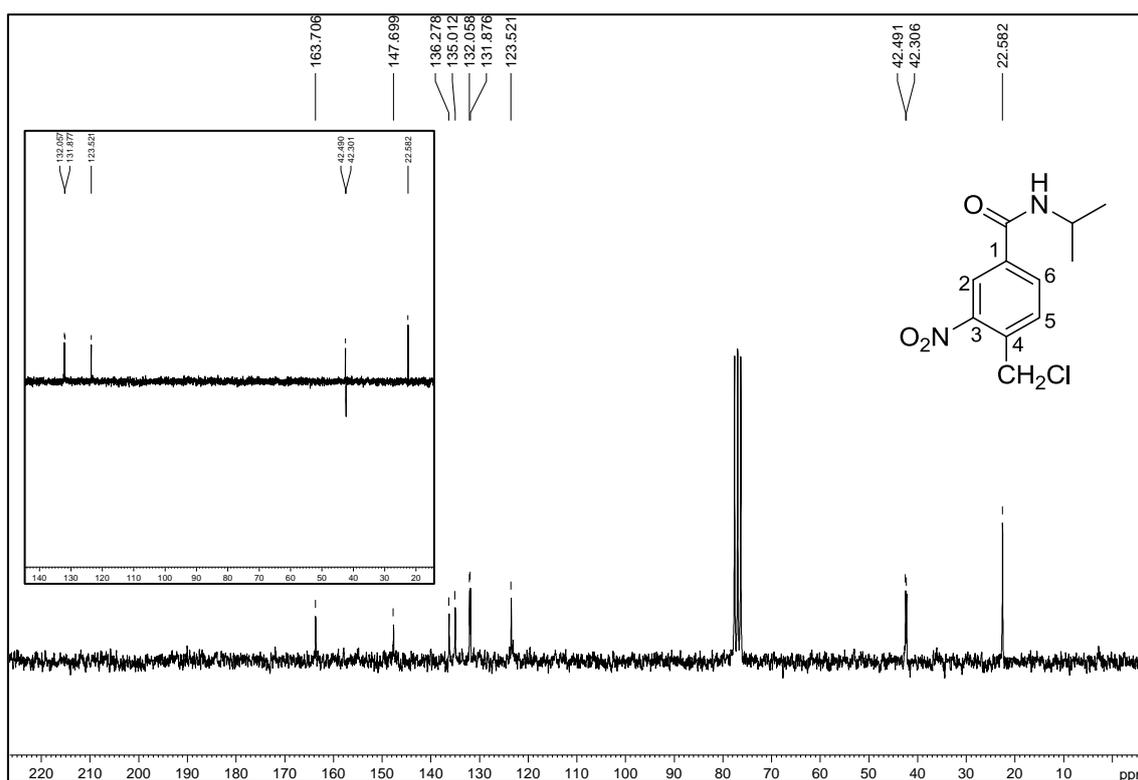


Figura A.64 – Espectro no infravermelho de 31.

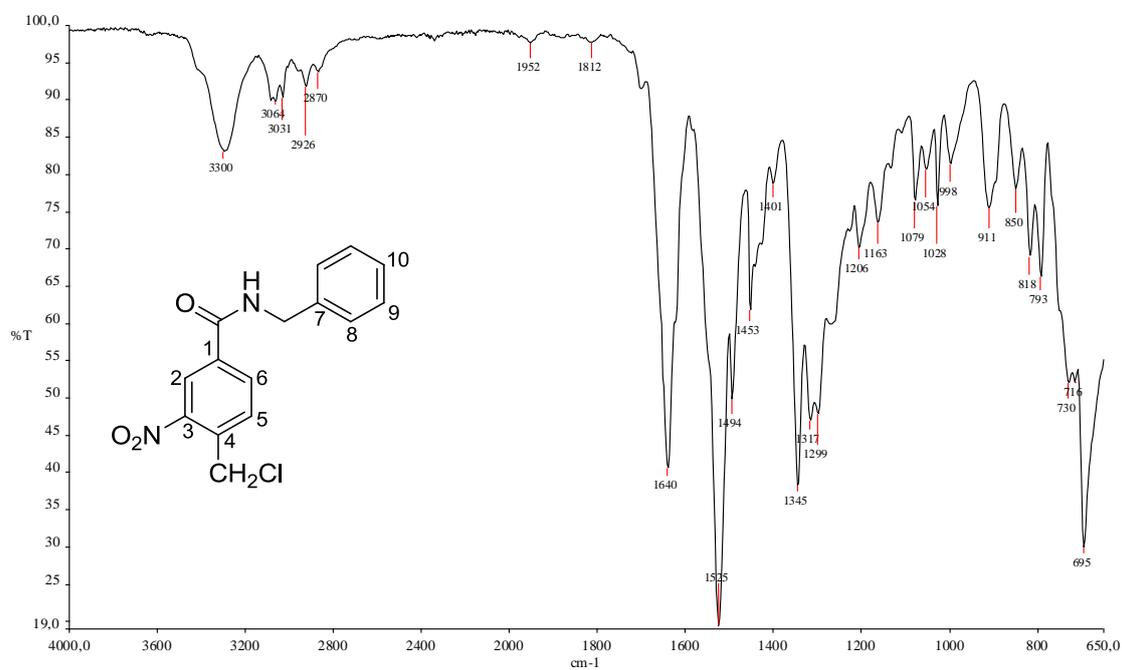


Figura A.65 – Espectro de RMN de ^1H de 31 (200 MHz, acetona- d_6).

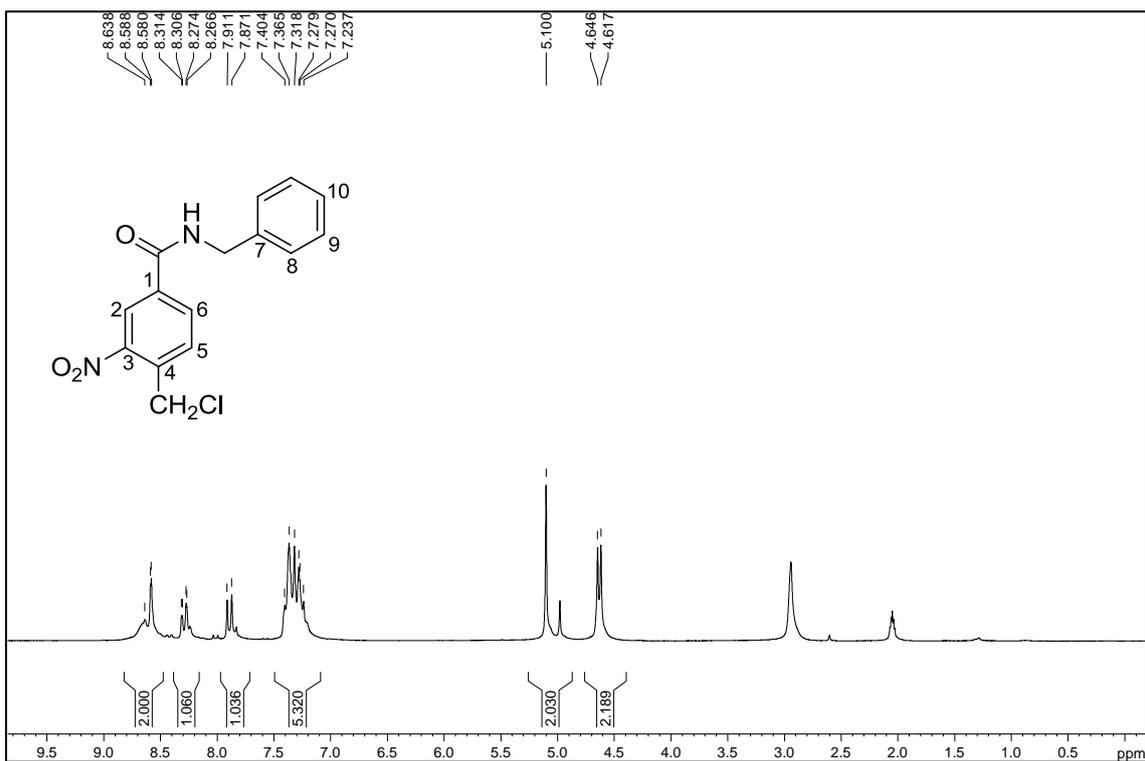


Figura A.66 – Espectro de RMN de ^{13}C de 31 (50 MHz, acetona- d_6).

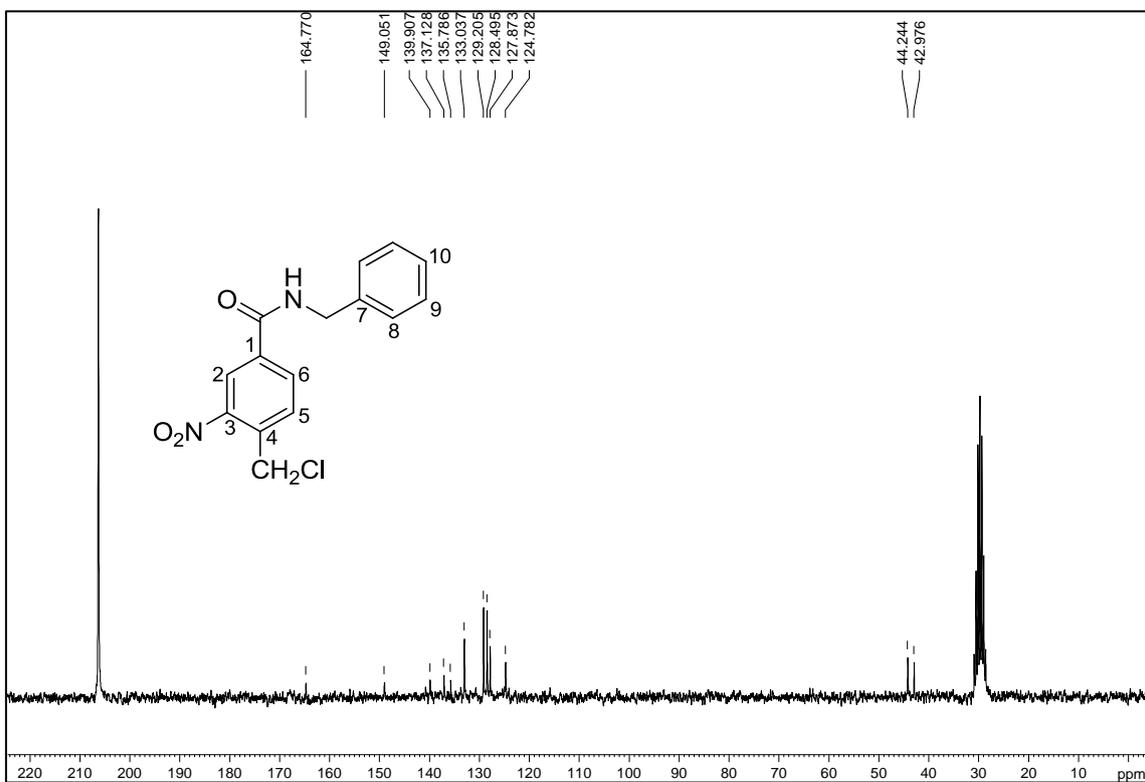


Figura A.67 – Espectro no infravermelho de 32.

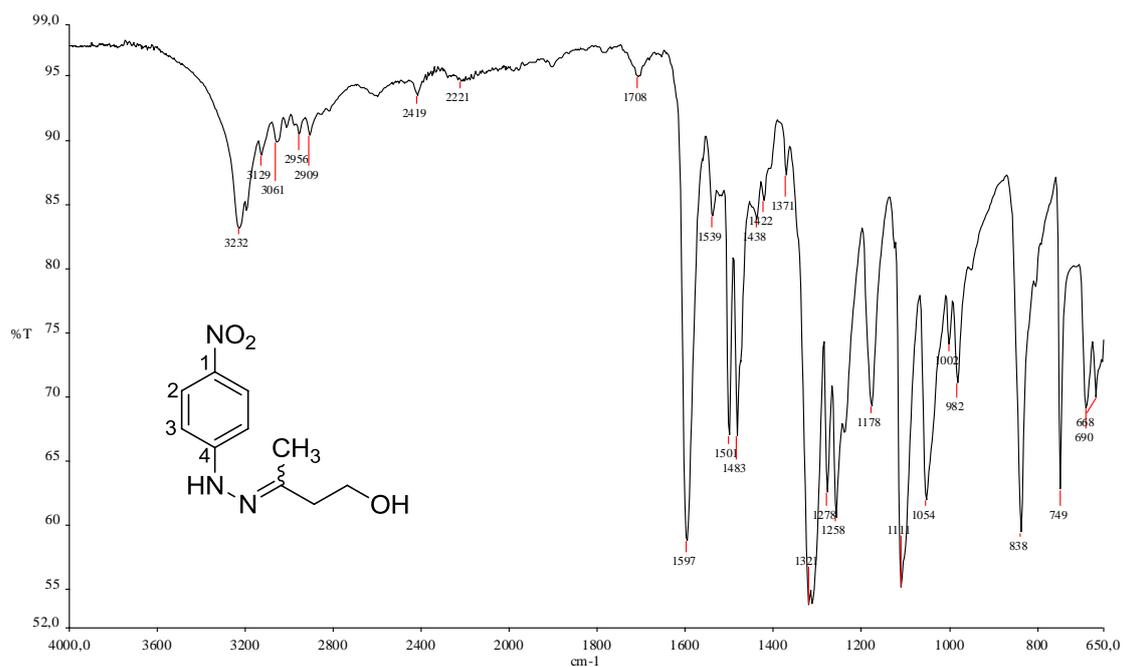
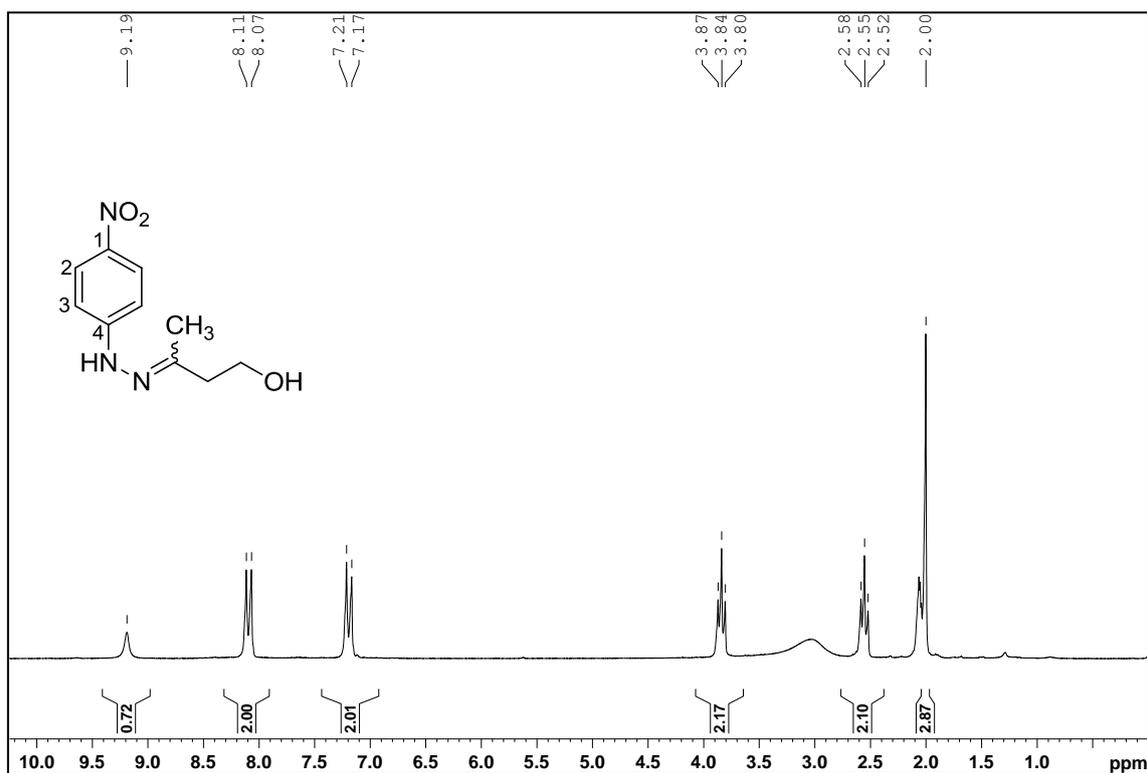
Figura A.68 – Espectro de RMN de ¹H de 32 (200 MHz, acetona-d₆).

Figura A.69 – Espectro de RMN de ^{13}C de 32 (50 MHz, acetona- d_6).

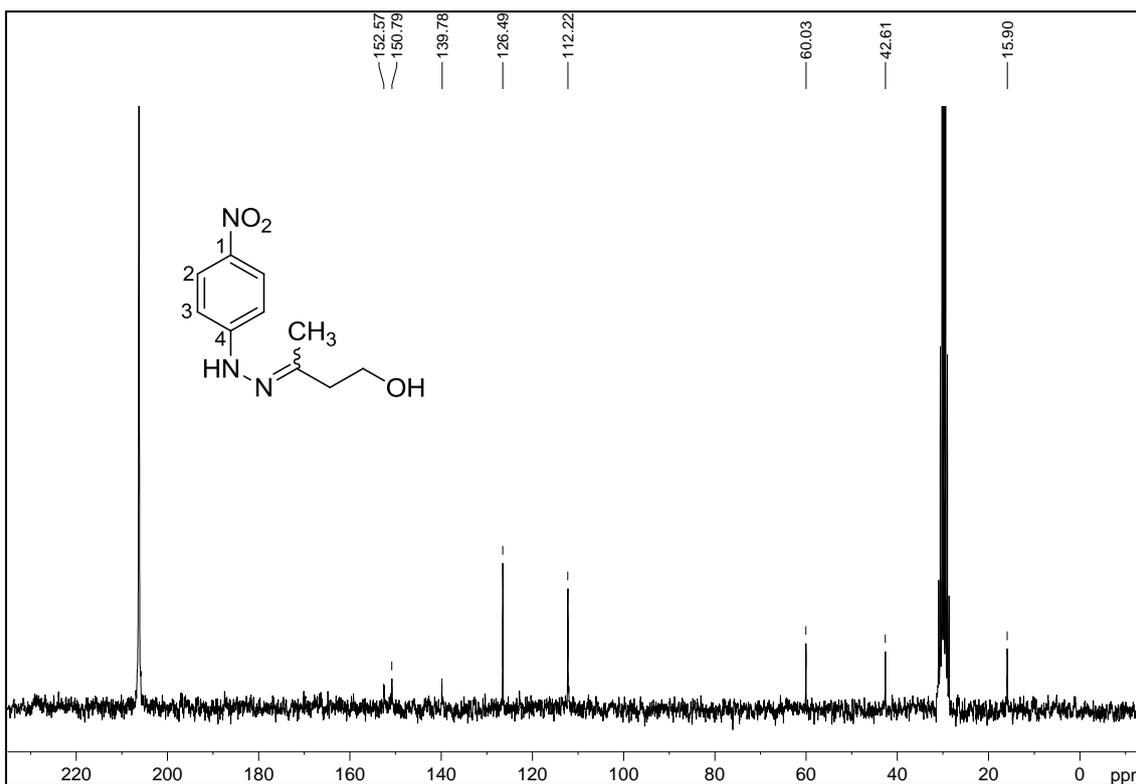


Figura A.70 – Espectro no infravermelho de 35.

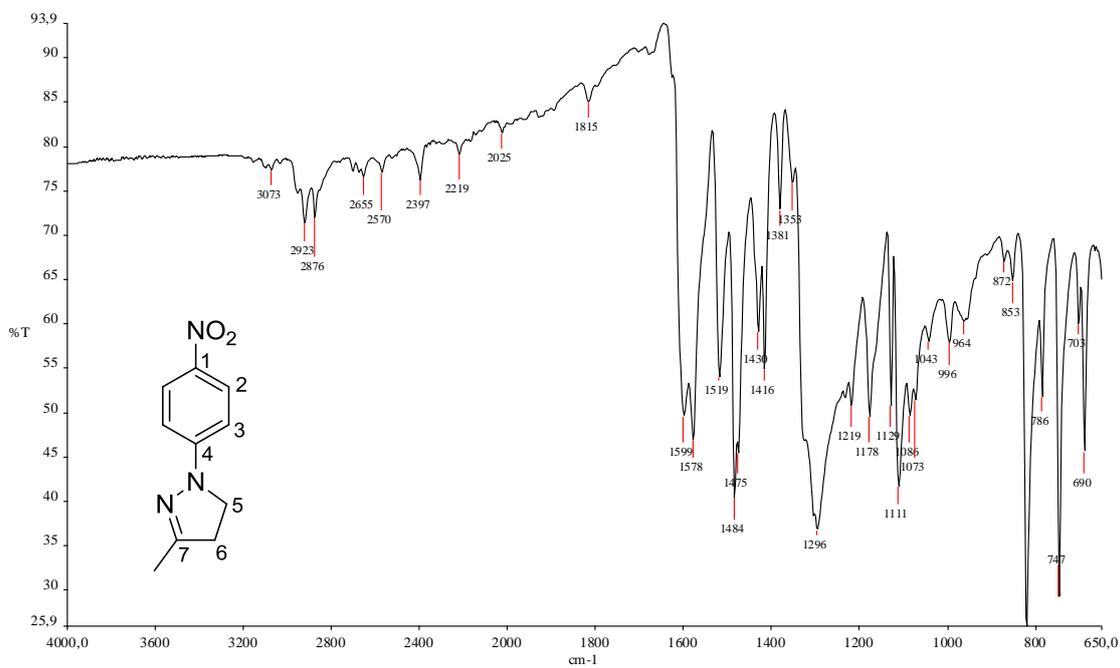


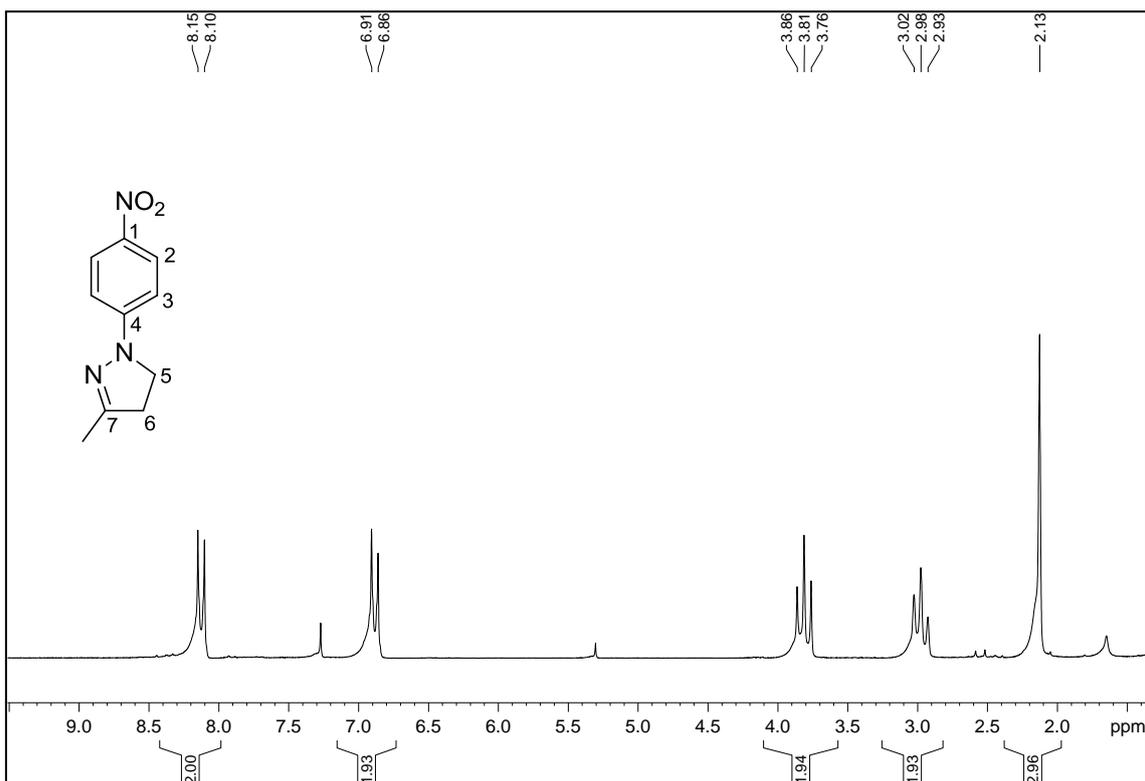
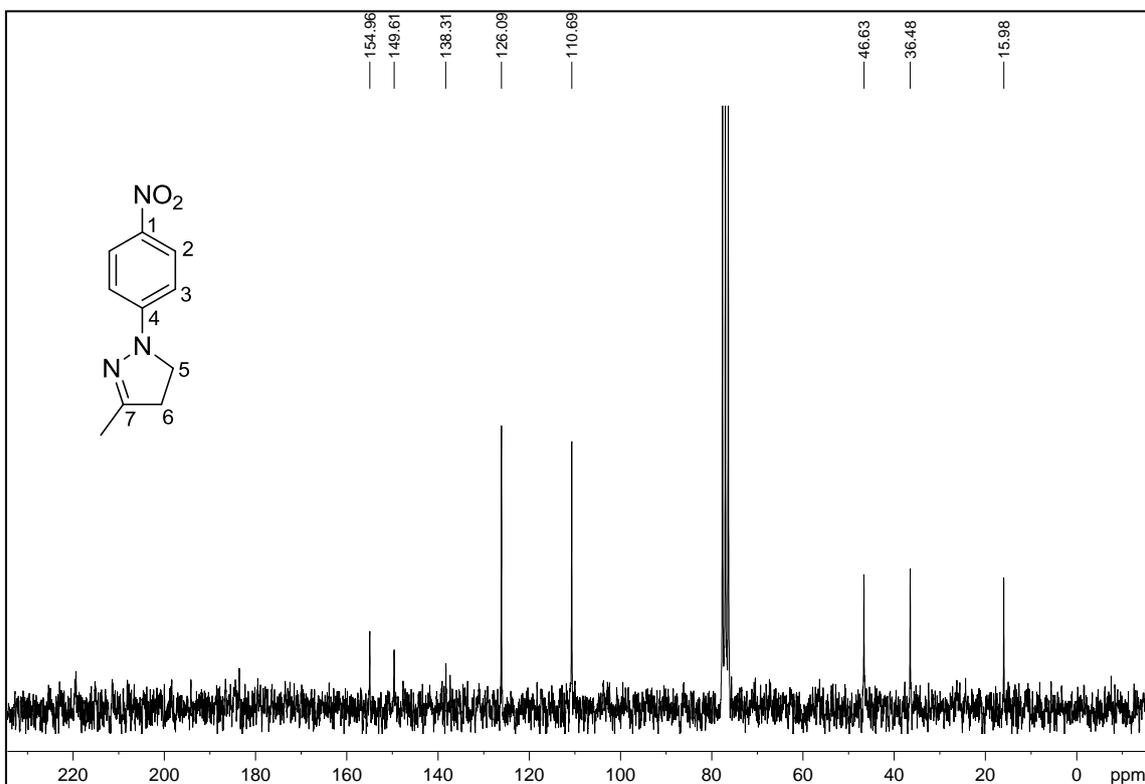
Figura A.71 – Espectro de RMN de ^1H de 35 (200 MHz, CDCl_3).Figura A.72 – Espectro de RMN de ^{13}C de 35 (50 MHz, CDCl_3).

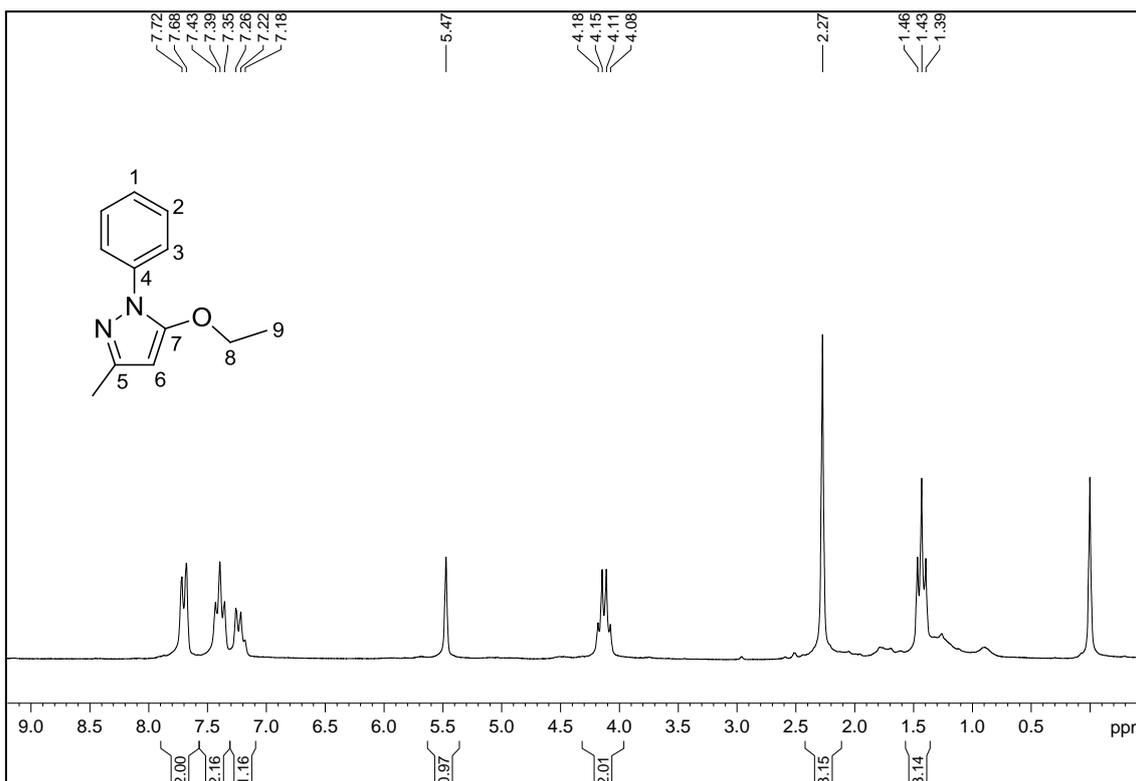
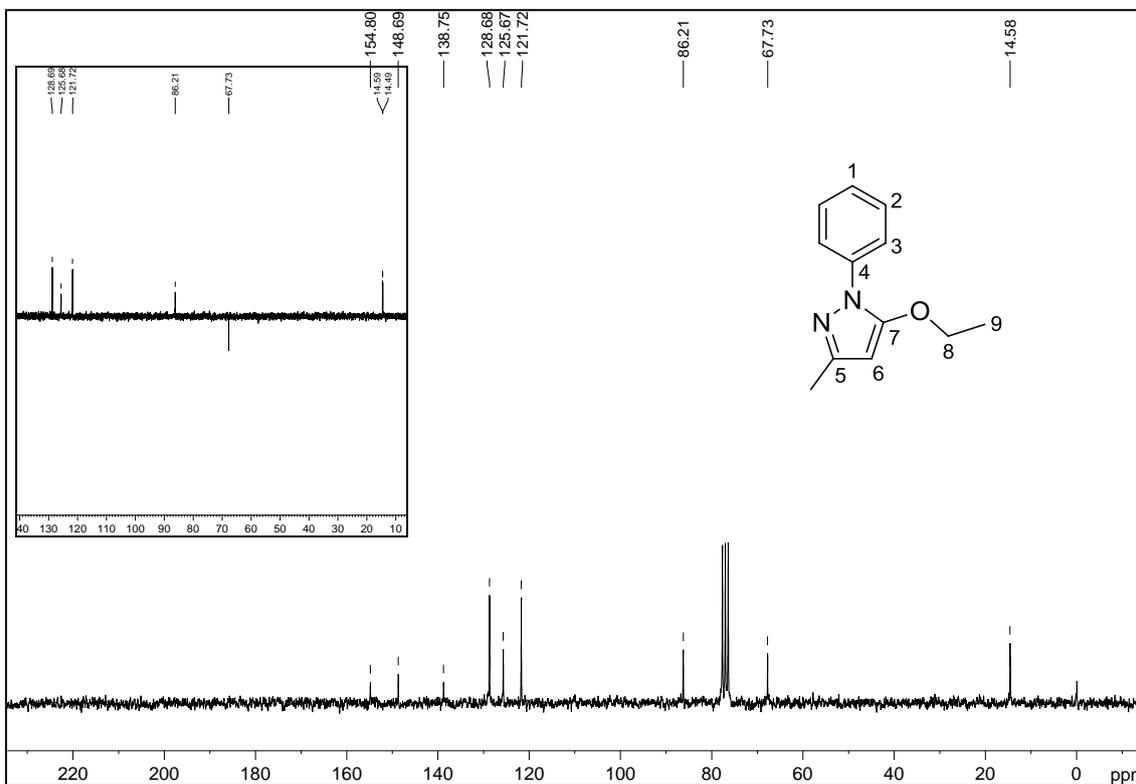
Figura A.75 – Espectro de RMN de ^1H de 38 (200 MHz, CDCl_3).Figura A.76 – Espectro de RMN de ^{13}C de 38 (50 MHz, CDCl_3).

Figura A.77 – Espectro no infravermelho de 40.

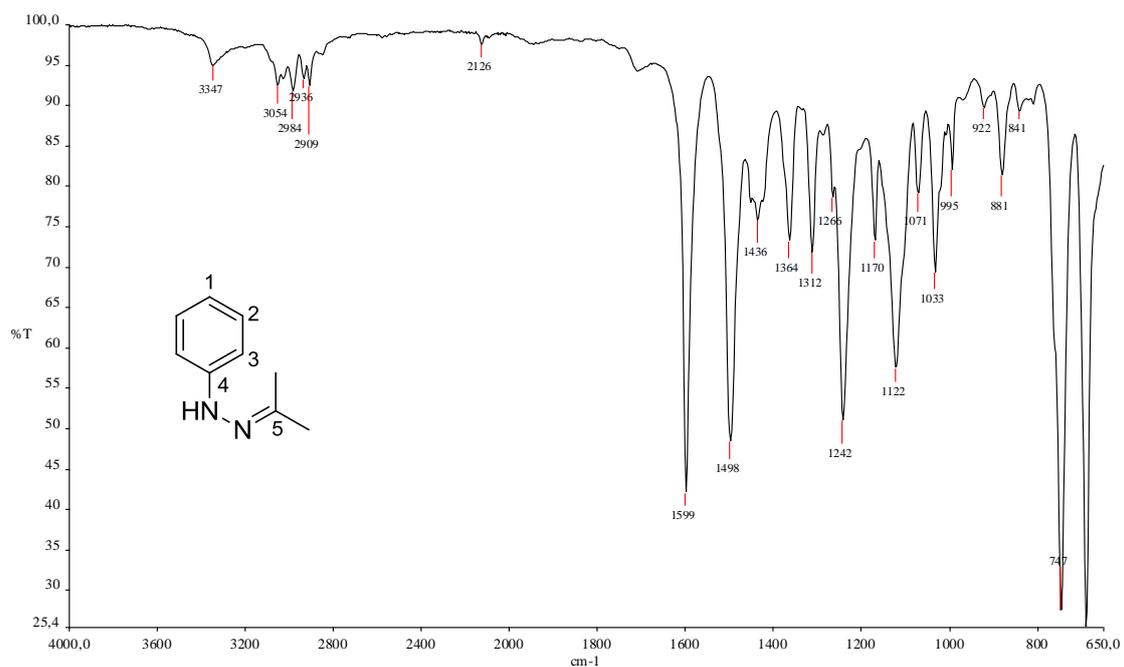


Figura A.78 – Espectro no infravermelho de 41.

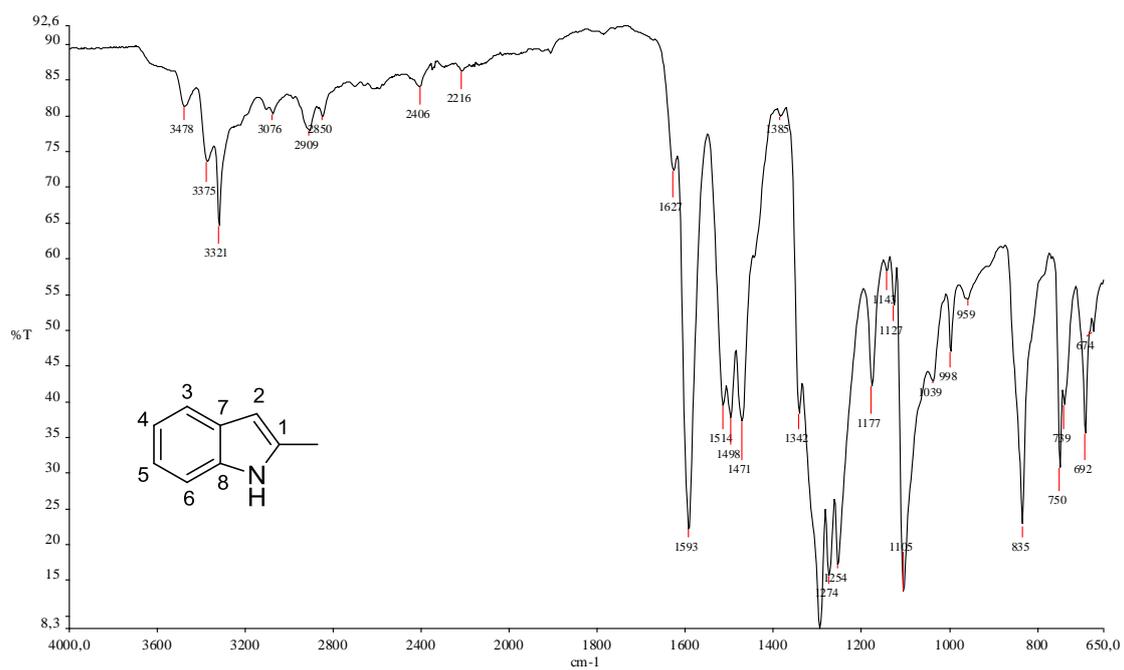


Figura A.79 – Espectro de RMN de ^1H de 41 (200 MHz, CDCl_3).

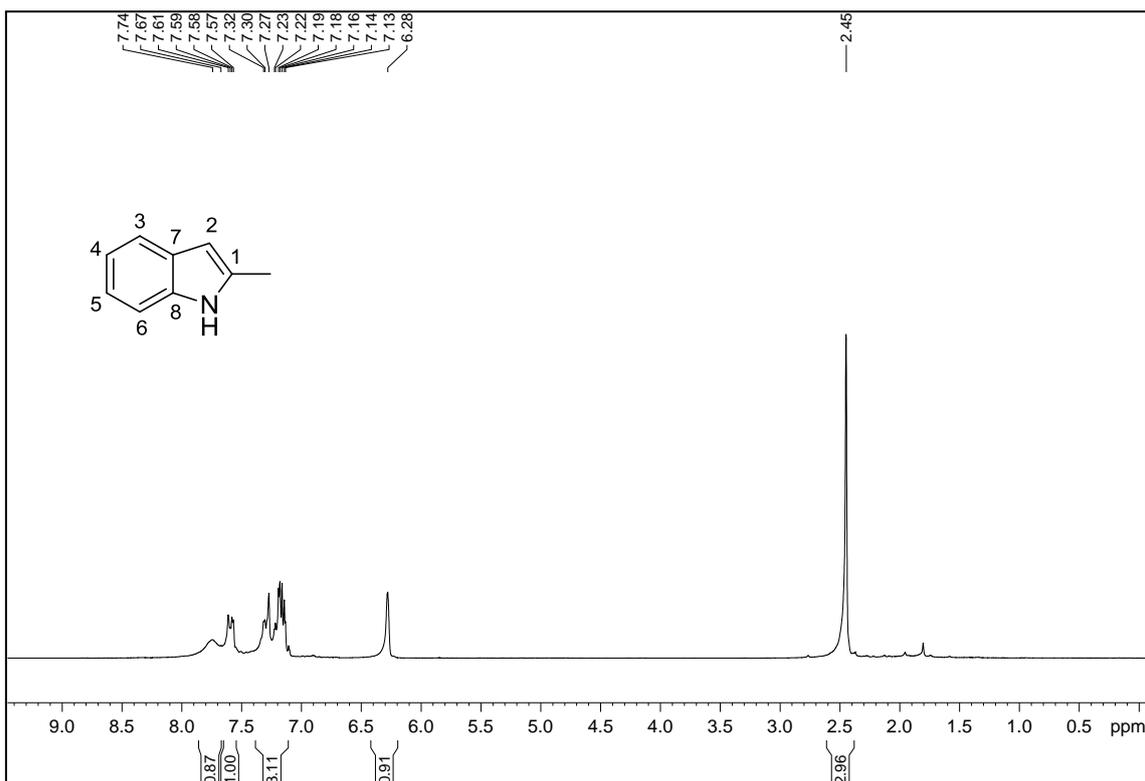


Figura A.80 – Espectro de RMN de ^{13}C de 41 (50 MHz, CDCl_3).

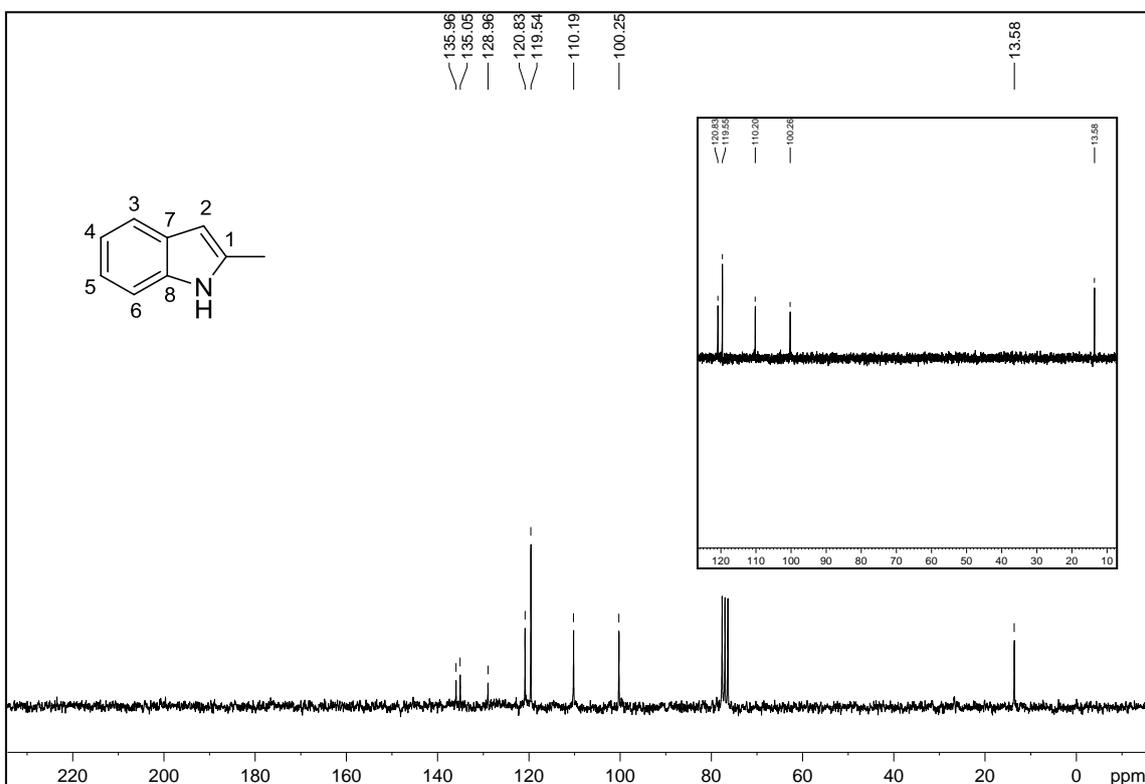


Figura A.81 – Espectro no infravermelho de 42.

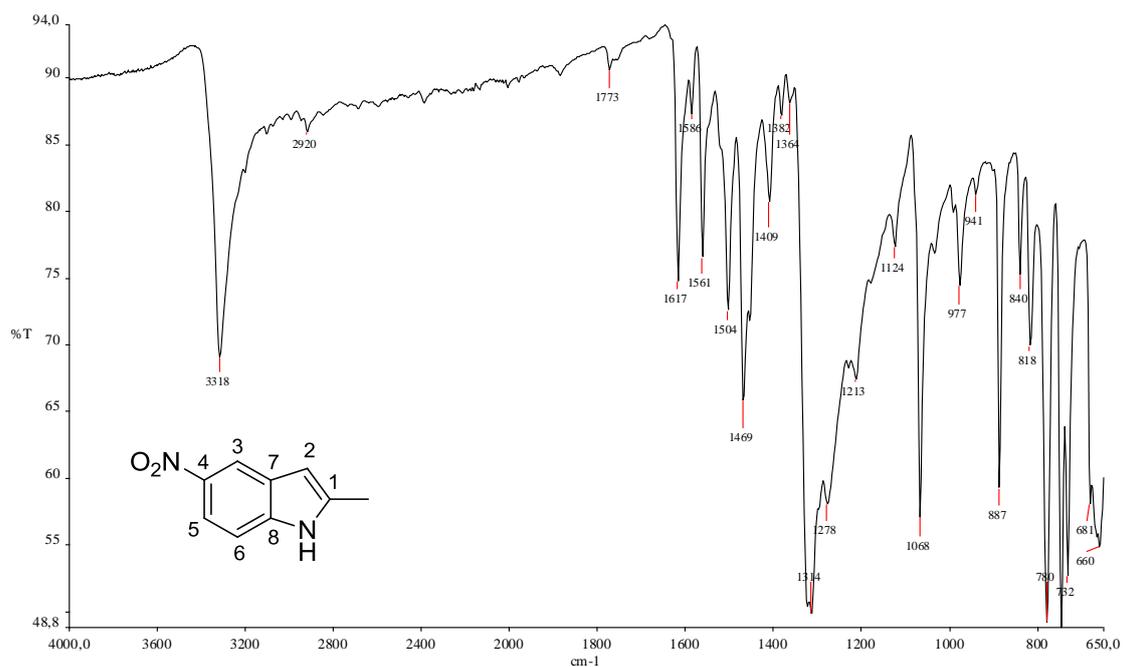
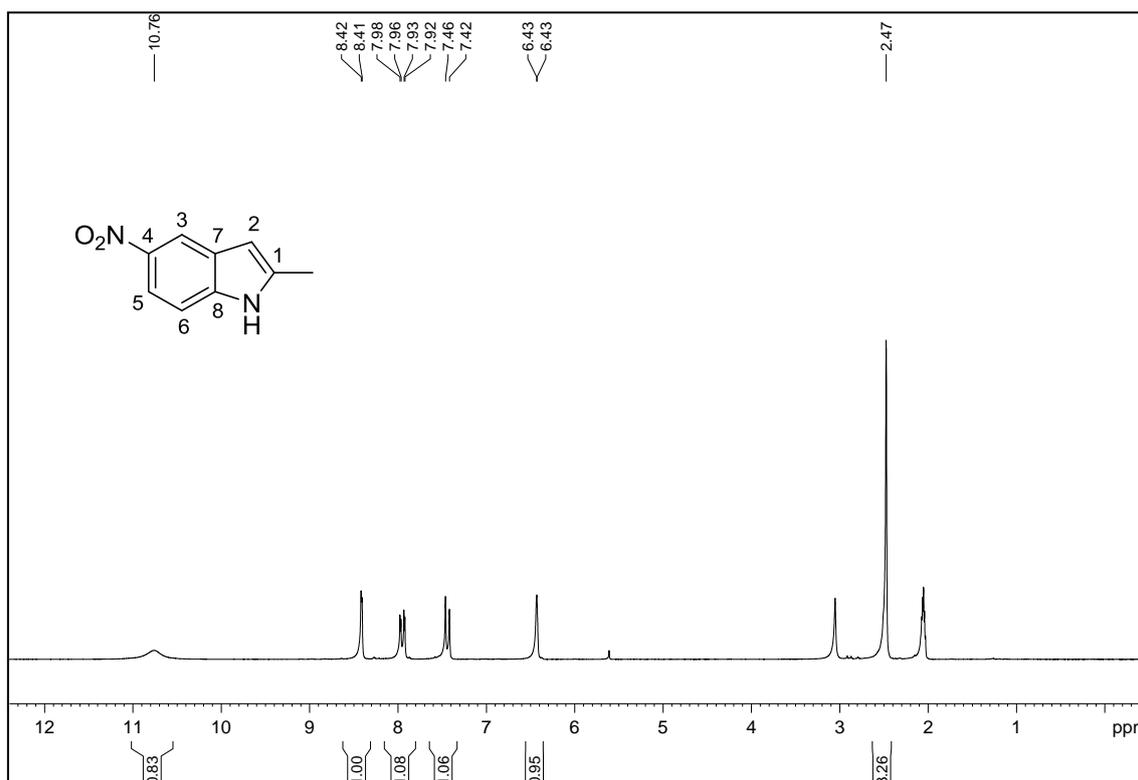
Figura A.82 – Espectro de RMN de ¹H de 42 (200 MHz, acetona-d₆).

Figura A.83 – Espectro de RMN de ^{13}C de 42 (50 MHz, acetona- d_6).

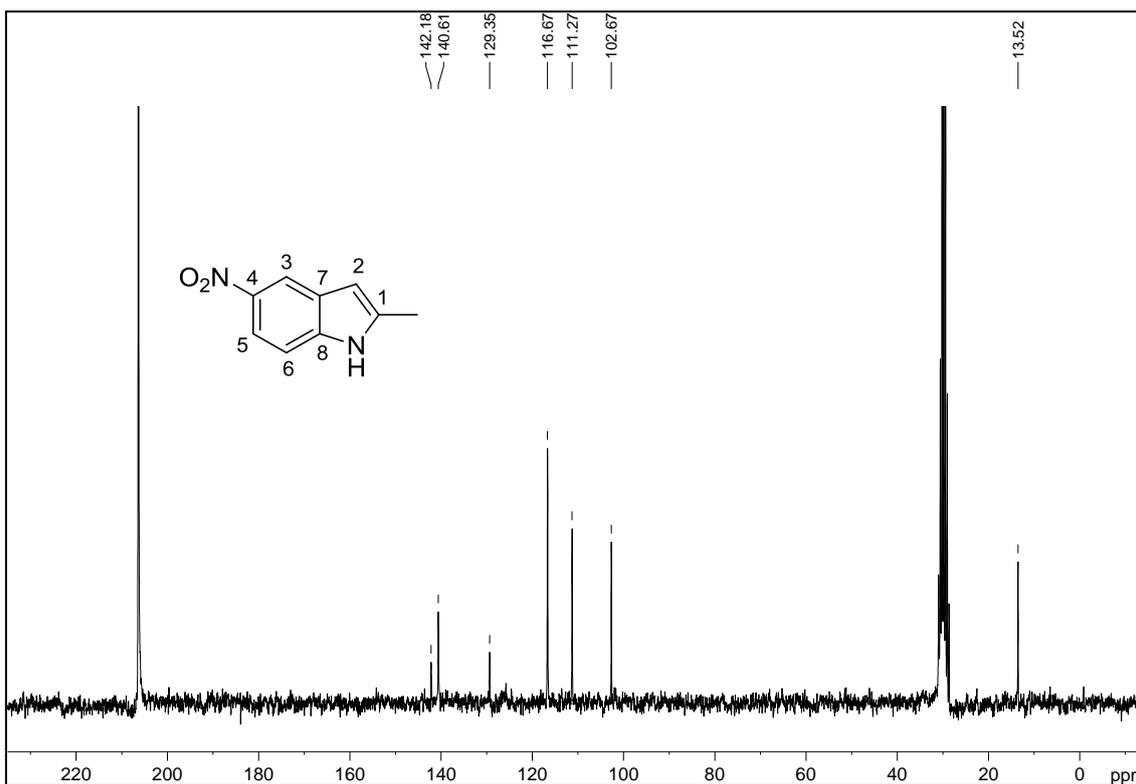


Figura A.84 – Espectro no infravermelho de 43.

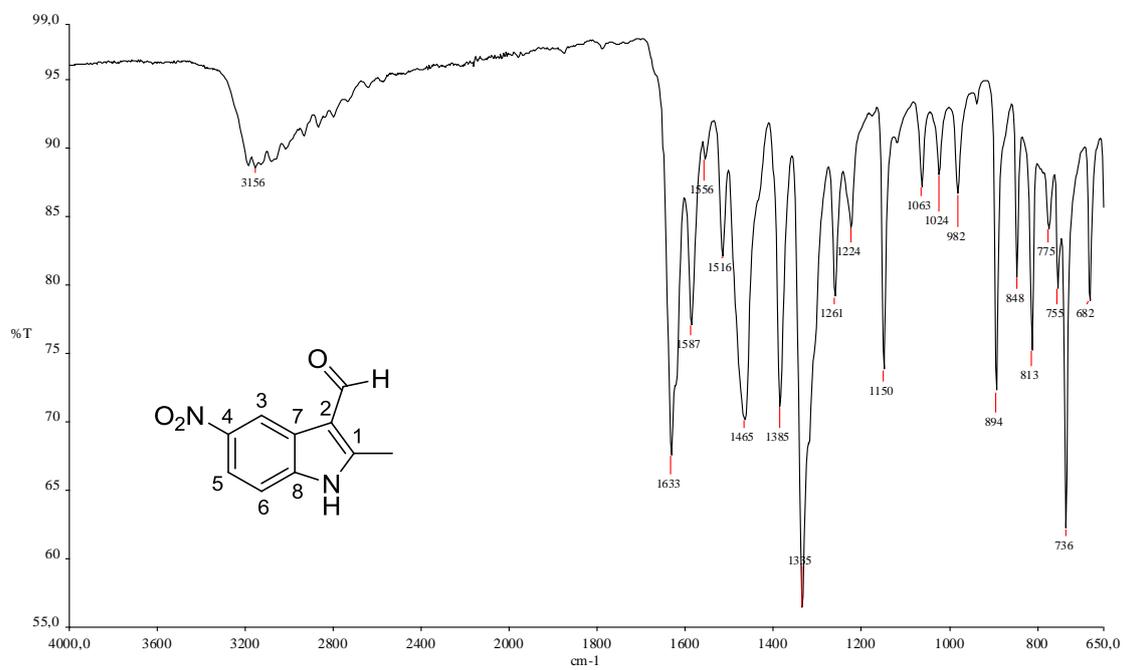


Figura A.85 – Espectro de RMN de ^1H de 43 (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

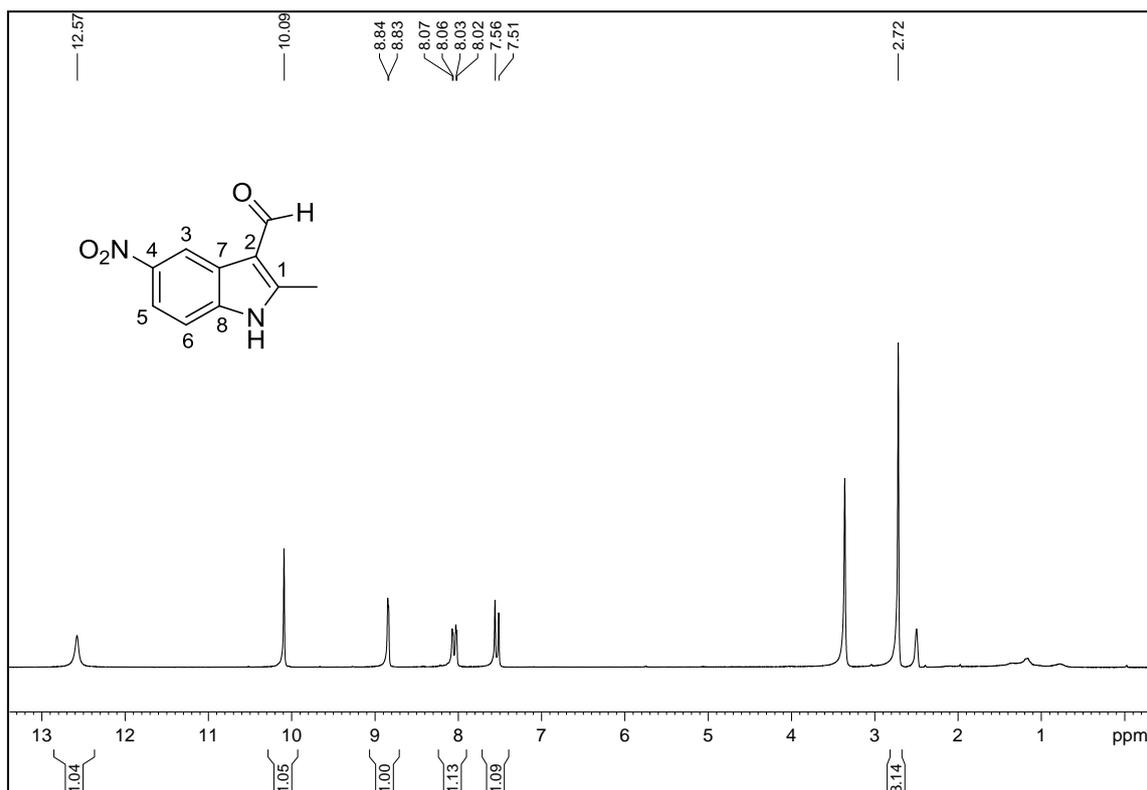


Figura A.86 – Espectro de RMN de ^{13}C de 43 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

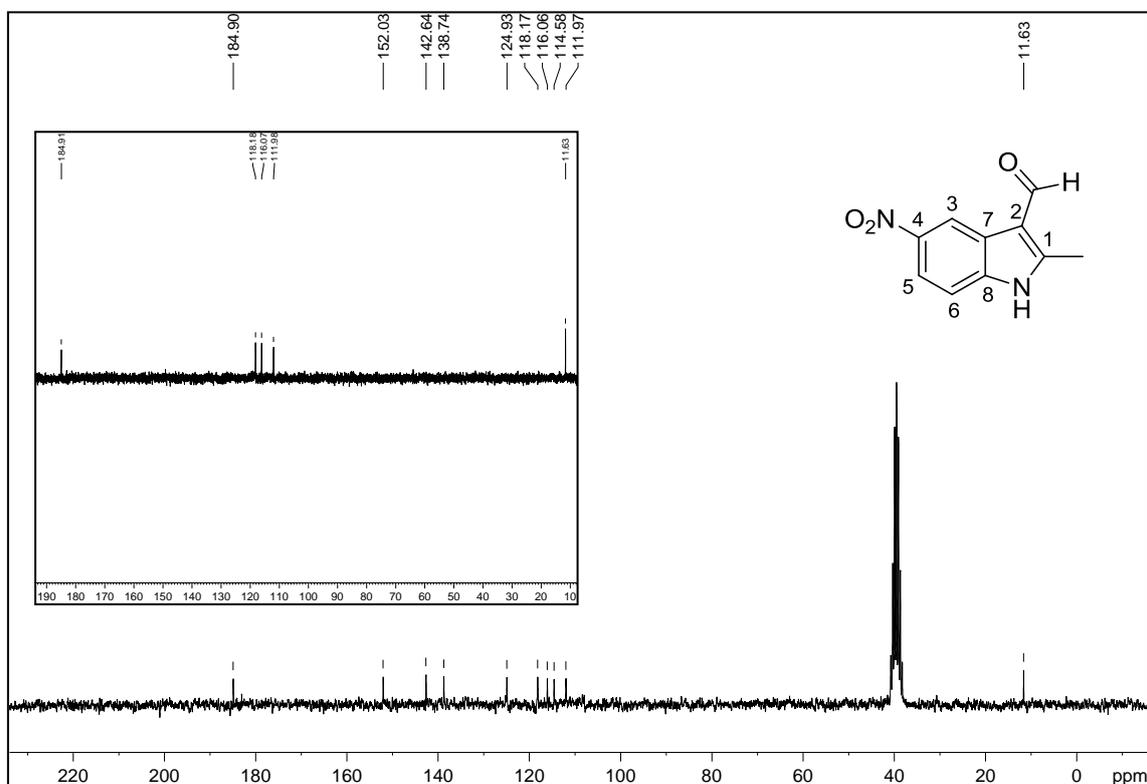


Figura A.87 – Espectro no infravermelho de 44.

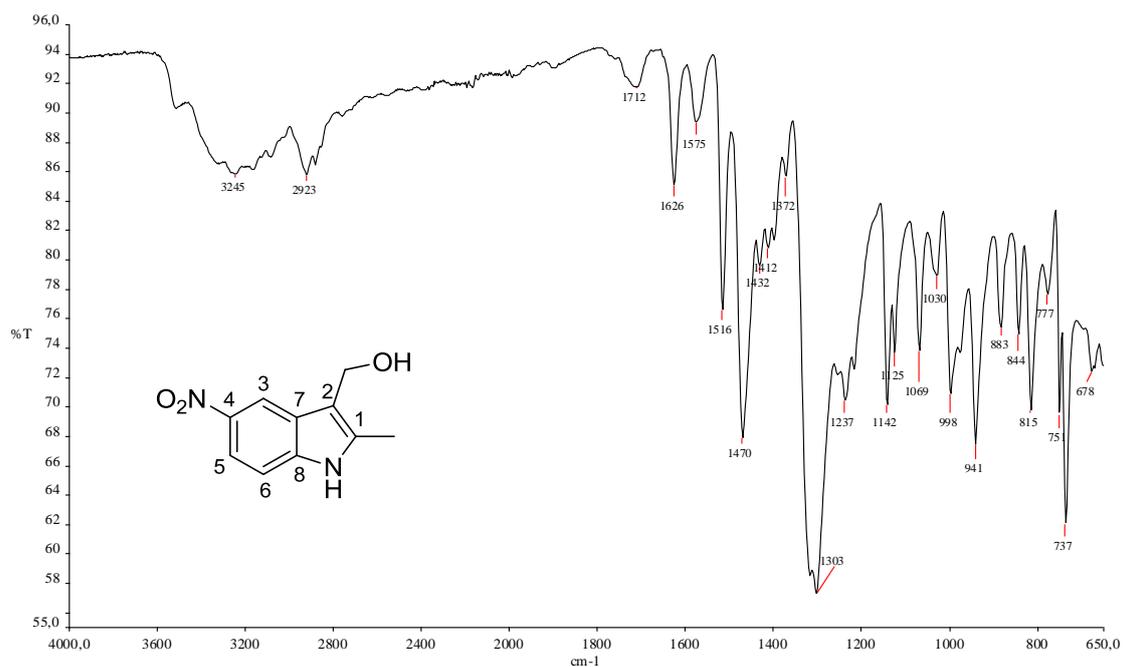
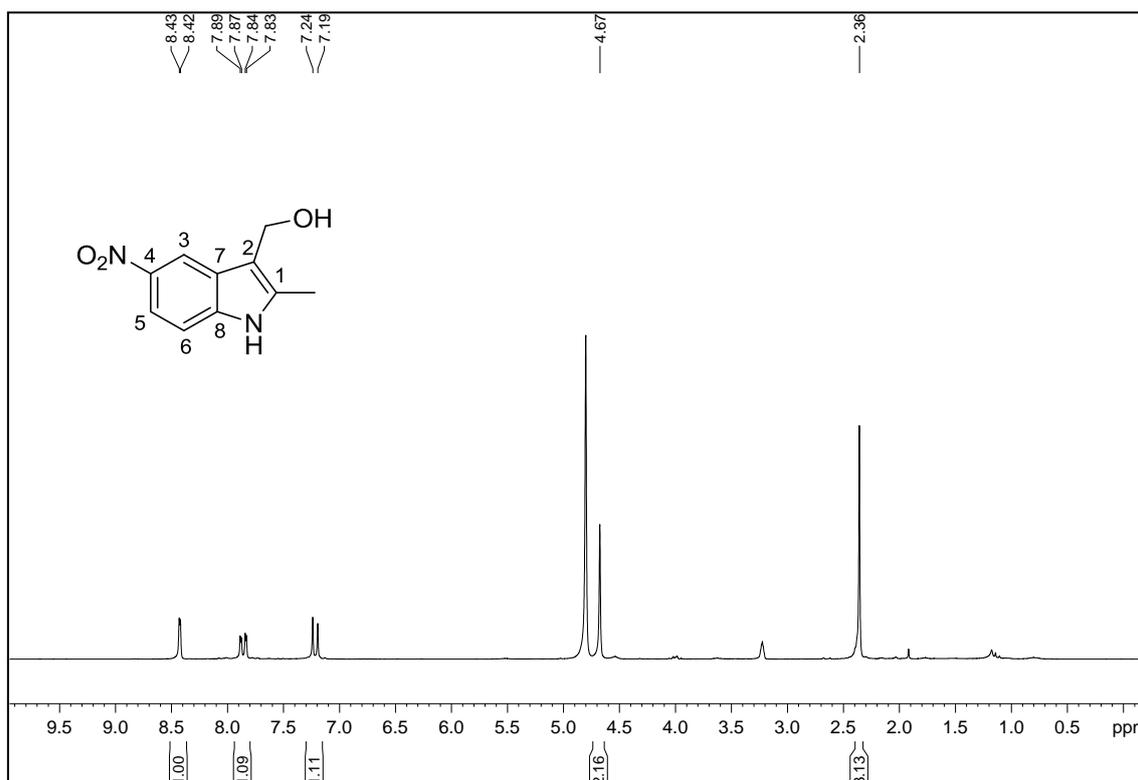
Figura A.88 – Espectro de RMN de ¹H de 44 (200 MHz, CD₃OD).

Figura A.89 – Espectro de RMN de ^{13}C de 44 (50 MHz, CD_3OD).

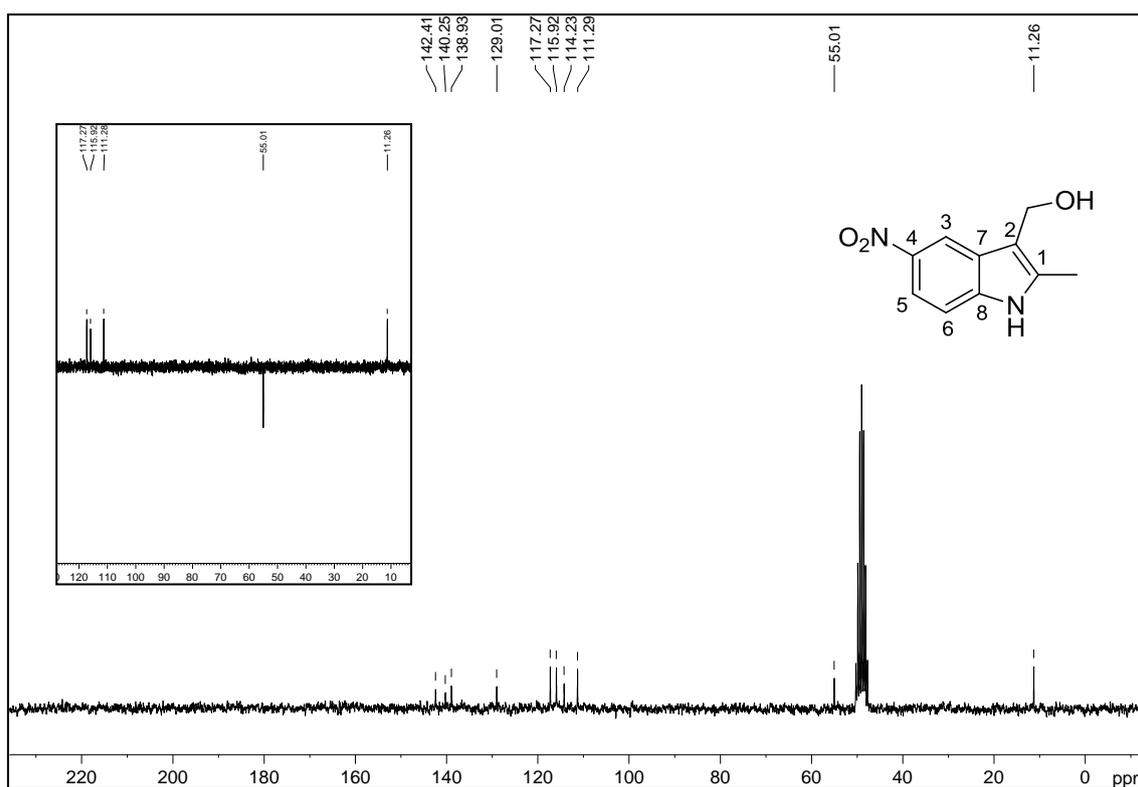


Figura A.90 – Espectro no infravermelho de 45.

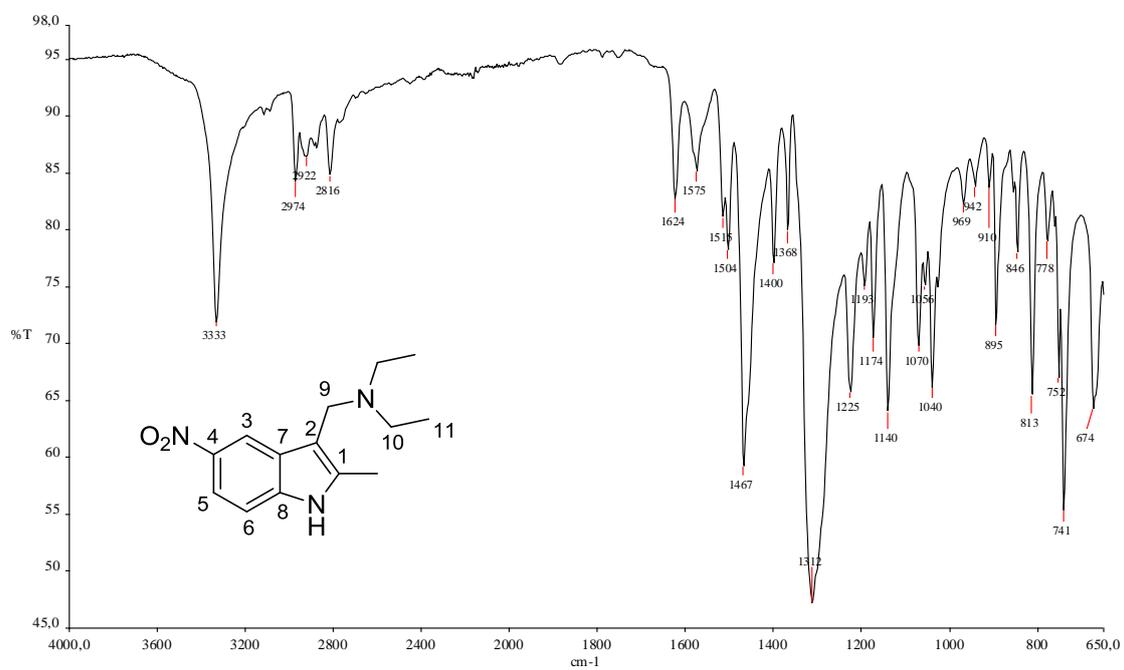


Figura A.91 – Espectro de RMN de ^1H de 45 (200 MHz, CD_3OD).

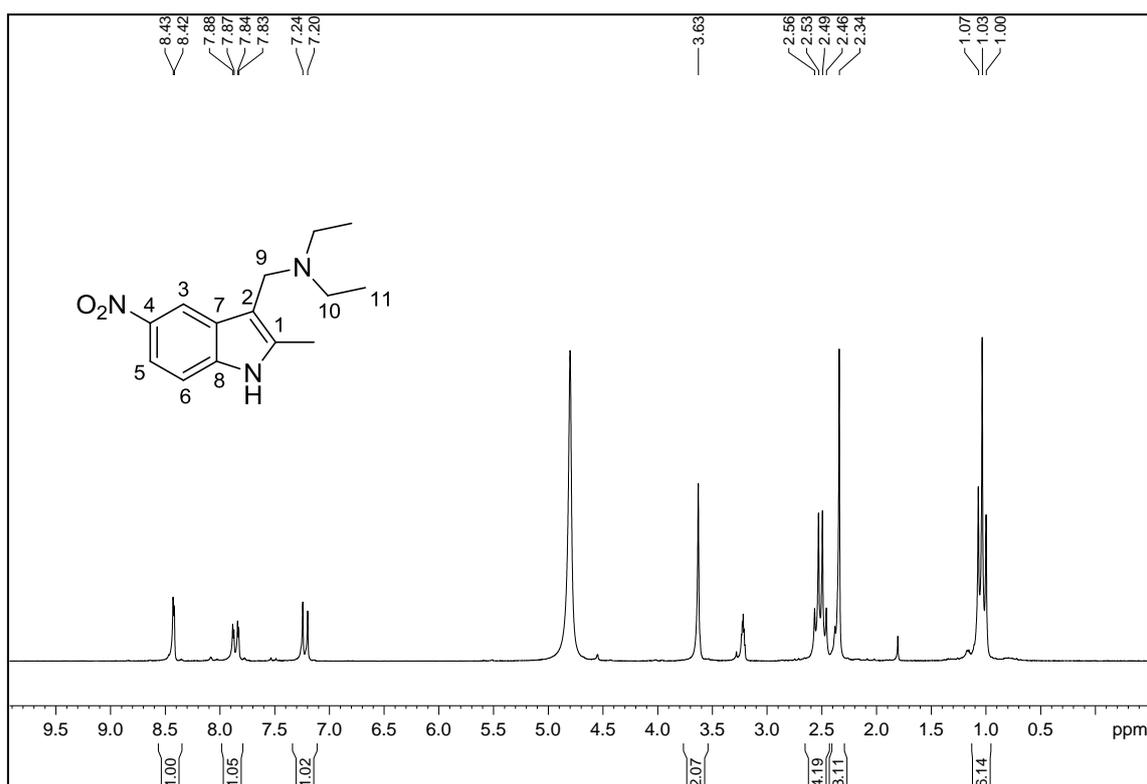


Figura A.92 – Espectro de RMN de ^{13}C de 45 (50 MHz, CD_3OD).

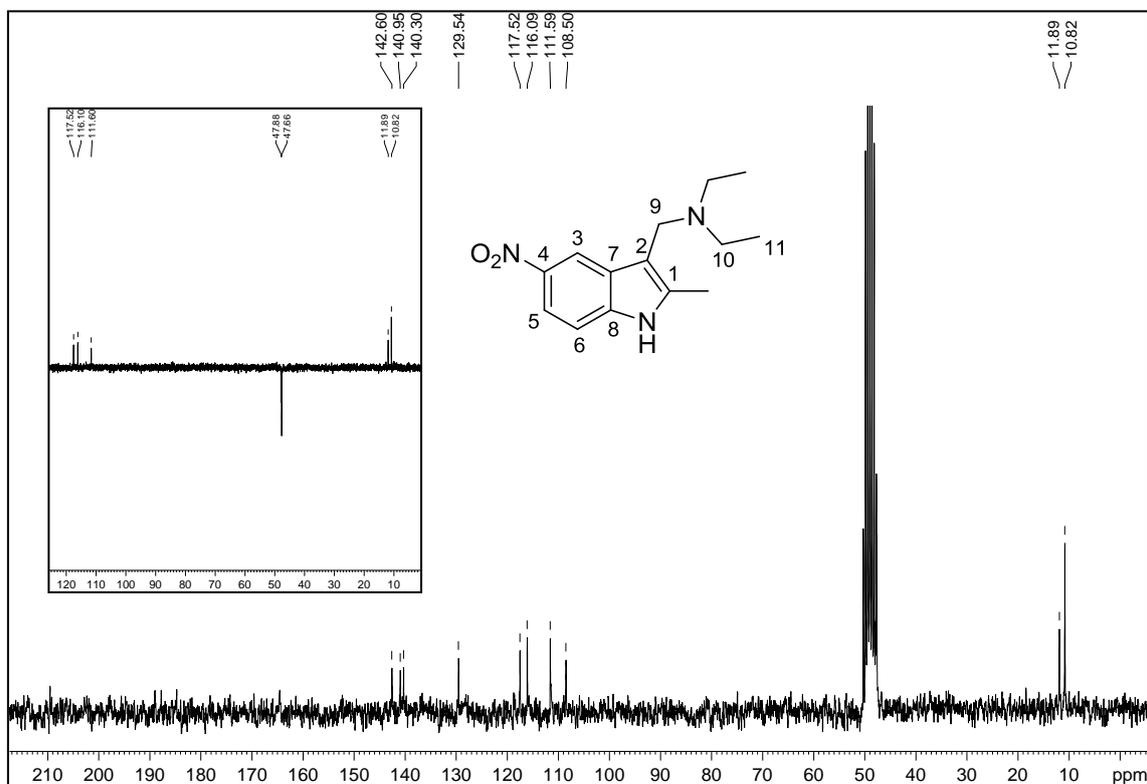


Figura A.93 – Espectro no infravermelho de 46.

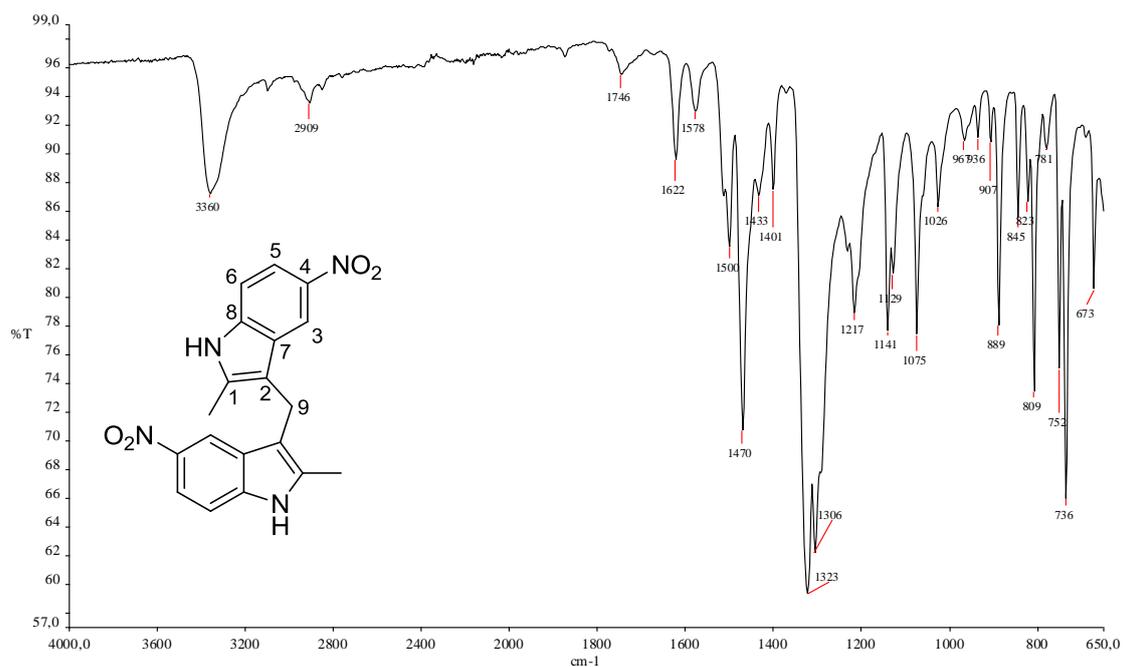
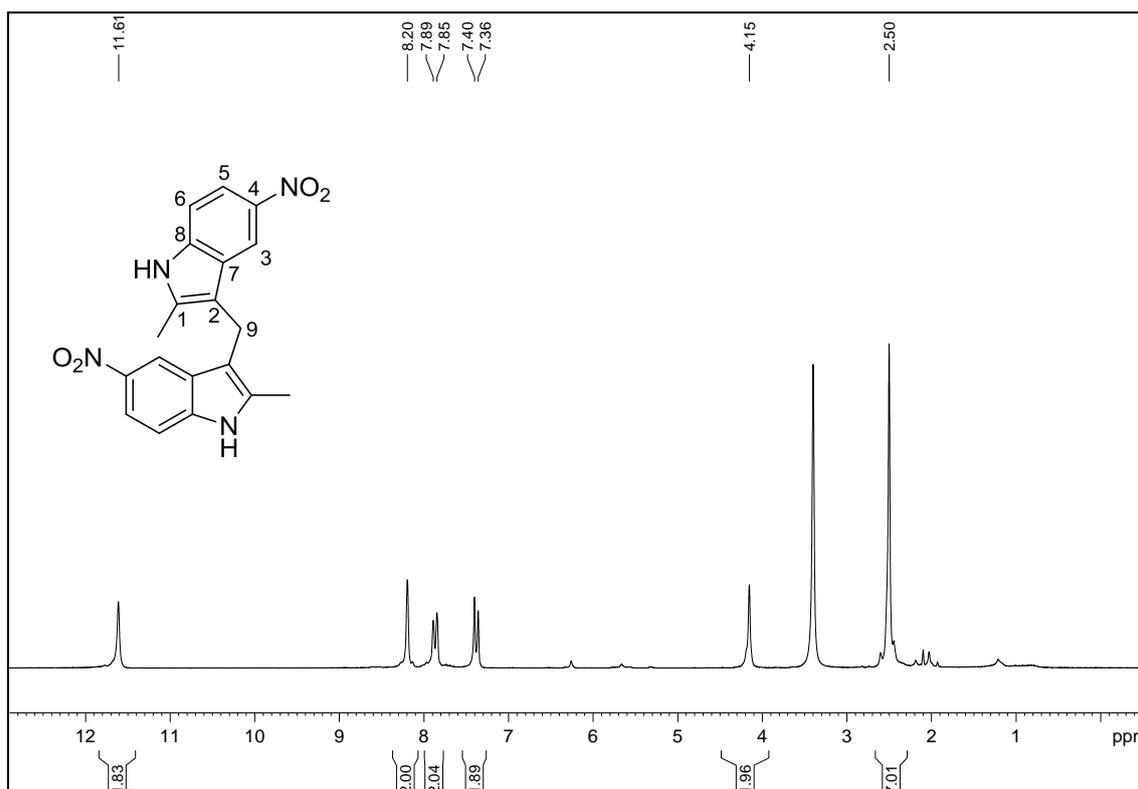
Figura A.94 – Espectro de RMN de ¹H de 46 (200 MHz, DMSO-d₆).

Figura A.95 – Espectro de RMN de ^{13}C de 46 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

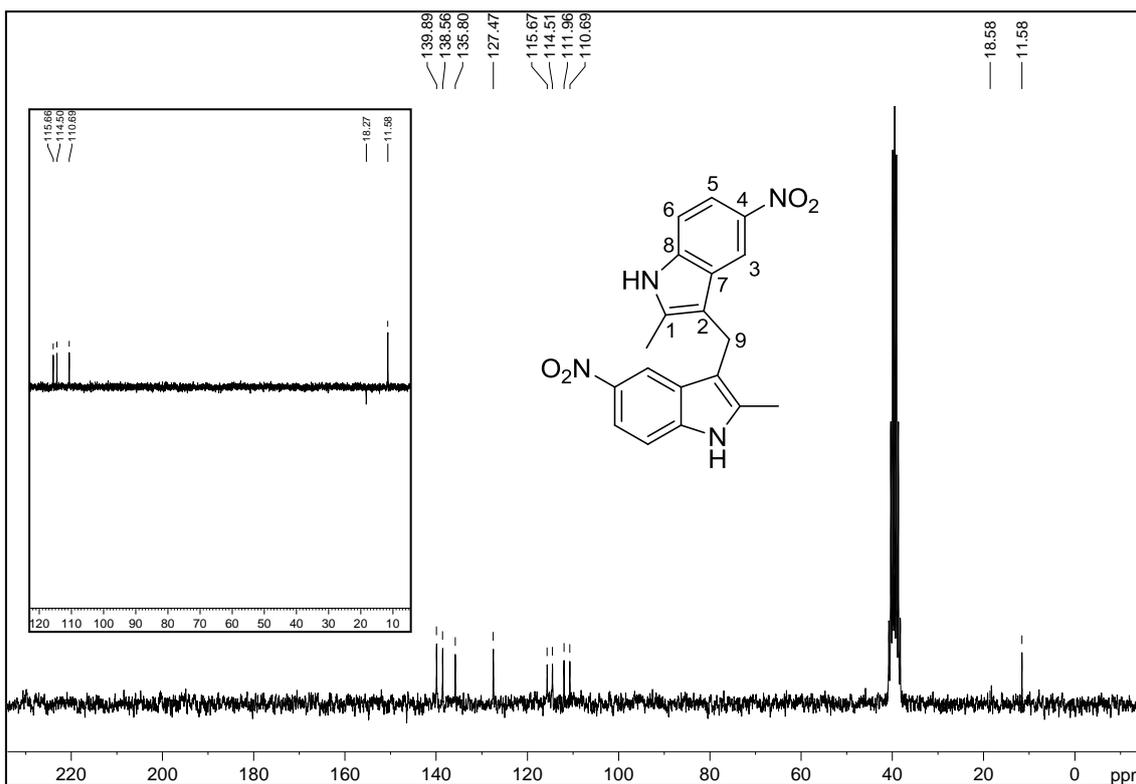


Figura A.96 – Espectro no infravermelho de 47.

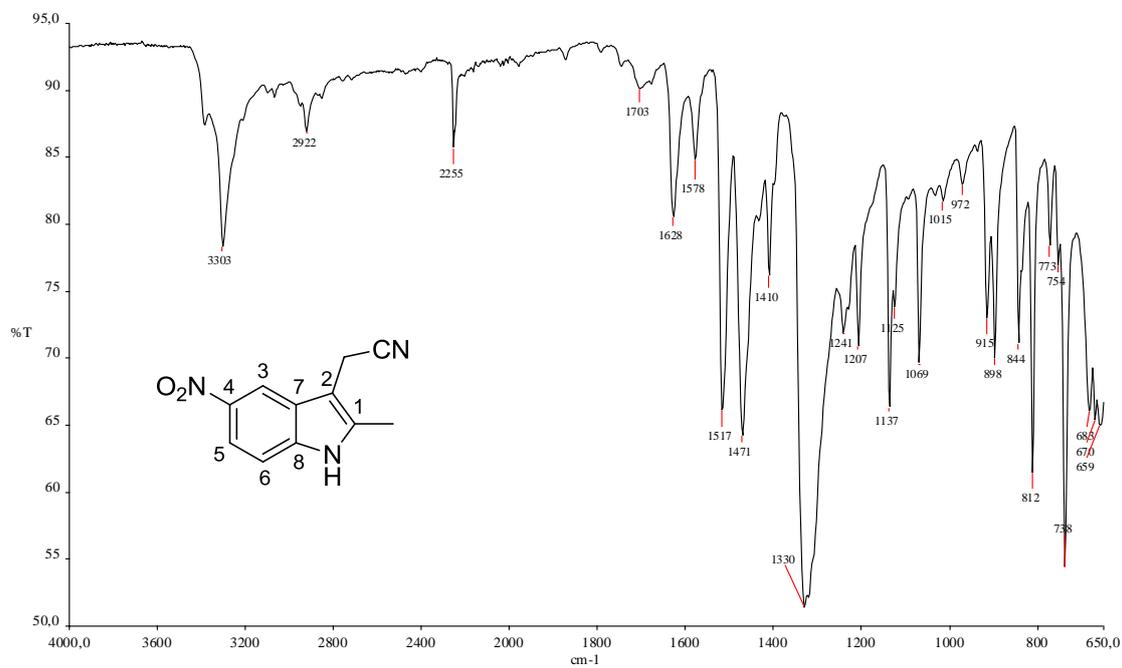


Figura A.97 – Espectro de RMN de ^1H de 47 (200 MHz, acetona- d_6).

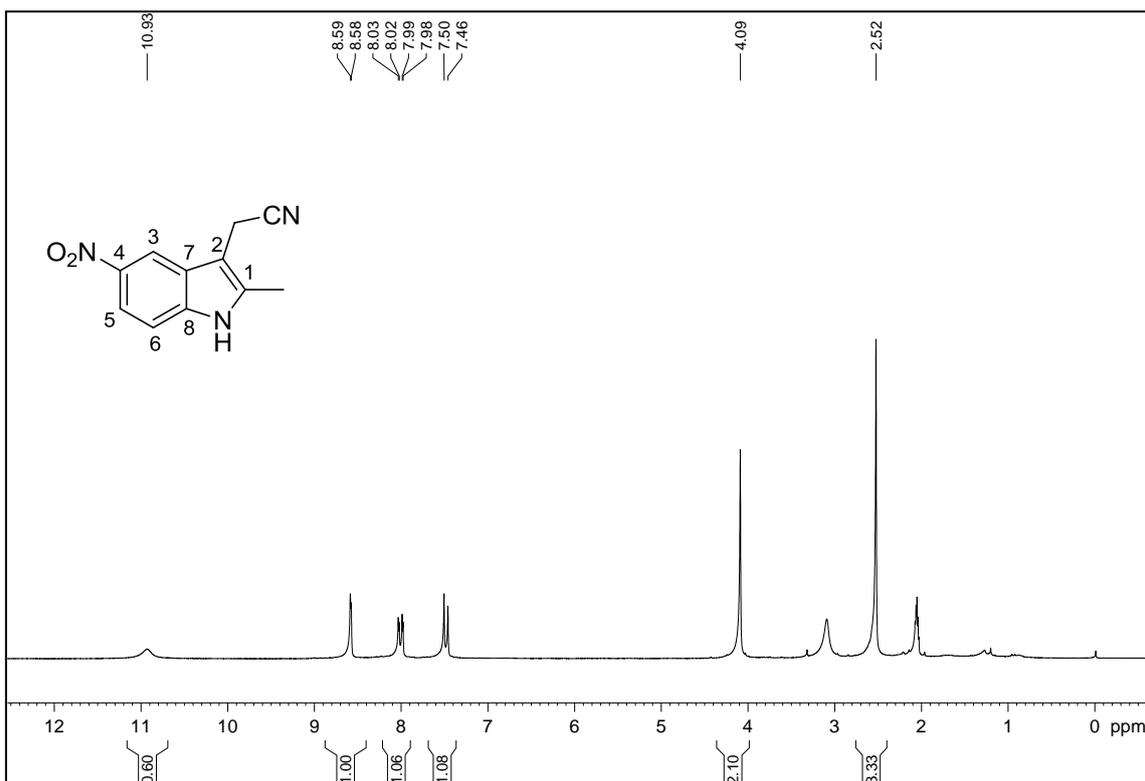


Figura A.98 – Espectro de RMN de ^{13}C de 47 (50 MHz, acetona- d_6).

