

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

MARCELA SILVA LOPES

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA, LEISHMANICIDA E
TRIPANOCIDA DE DERIVADOS NITROAROMÁTICOS**

Belo Horizonte – MG
2012

MARCELA SILVA LOPES

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA, LEISHMANICIDA E
TRIPANOCIDA DE DERIVADOS NITROAROMÁTICOS**

Dissertação, como requisito parcial, para obter o grau de mestre 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
2012

FOLHA DE APROVAÇÃO

MARCELA SILVA LOPES

**“Síntese e Avaliação da Atividade Citotóxica,
Leishmanicida e Tripanocida de Derivados
Nitroaromáticos”**

Dissertação, como requisito parcial para obter o grau de mestre em Ciências Farmacêuticas, submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais e aprovada em vinte e sete de fevereiro de 2012.

COMISSÃO EXAMINADORA


Dr. Josiano Gomes Chaves


Prof. Dr. Ricardo José Alves - UFMG


Profa. Dra. Renata Barbosa de Oliveira - UFMG

“A química é, sem dúvida, muito singular porque é o único ramo da ciência que cria, por si mesmo, seu próprio objeto de estudo: as moléculas. Em especial a química orgânica, em que a versatilidade do carbono como seu elemento primordial não tem limites na formação de estruturas, exceto a da imaginação do pesquisador. A prática da química orgânica é, definitivamente, uma viagem excitante rumo ao desconhecido”.

Rudolph Criegge e Dieter Seebach

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me presentear com essa oportunidade e por colocar pessoas tão boas em meu caminho.

Ao meu pai e minha mãe pelo carinho, dedicação e apoio incondicional durante toda a minha formação.

A minha irmã pela amizade e companhia divertida.

Ao Saulo pelo carinho, pelos conselhos e por ter me incentivado a seguir nesse belo caminho que é a química farmacêutica.

A minha querida orientadora Renata por me inspirar com seus brilhantes ensinamentos, pela paciência, alegria, e por nunca medir esforços para tornar meu trabalho cada dia mais empolgante e agradável.

Ao professor Ricardo pelo aprendizado, sabedoria e por compartilhar comigo o amor aos animais que tornam nossos dias na Faculdade mais alegres e divertidos.

Ao professor Basílio pelo “espírito crítico” e pela contribuição na normatização desse trabalho.

À professora Thais pela presença alegre e amizade.

Ao meu companheiro de bancada e de mestrado Saulo Braga pelos estudos, conversas e amizade.

À Tati, Dudu e Isadora pela contribuição nesse trabalho, sempre com um sorriso e boa vontade em me ajudar.

AGRADECIMENTOS (Conclusão)

Aos amigos do laboratório: Thiago, Stefânia, Bruno, Dimas, Lucas, Bárbara, Larissa, Giovanna, Ana Luiza, Nayara, Mário, Luíza, Vitor, Rachelzinha, Flavia, Mara, Érika, Isabela, Camila e Betânia pela convivência alegre e prazerosa.

As minhas amigas da Fitoquímica Ana Bárbara e Bruna pela ajuda nos estudos e momentos de descontração.

À Raquel, Lavina, Kênia e Ayeska pela ajuda e pelas risadas.

À Renata Pietra por me ajudar tanto nos ensaios com Leishmania.

Ao professor Armando por conduzir, com competência, a nossa Pós-graduação.

Aos funcionários Batista, Soninha, Eduardo, Ludmila e Silas por estarem sempre dispostos a ajudar.

RESUMO

Neste trabalho é relatada a síntese de ácidos e amidas derivados do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico como agentes com potencial atividade antitumoral, leishmanicida e tripanocida. Para obtenção dos ácidos carboxílicos adequadamente substituídos, foram utilizadas reações de bromação radicalar, substituição eletrofílica aromática e substituição nucleofílica. As amidas foram obtidas a partir dos ácidos carboxílicos, utilizando-se diferentes aminas e EDC como reagente de acoplamento. Derivados híbridos da porção nitroaromático com ácidos graxos (DHA e ácido butírico) bioativos foram sintetizados na tentativa de otimizar a atividade dos compostos. A atividade dos compostos sintetizados foi avaliada *in vitro* em três linhagens de células tumorais humanas (HL60 (leucemia), Jurkat (linfoma) e MCF-7 (tumor de mama)), formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi*. A toxicidade das substâncias para as células normais também foi avaliada utilizando-se células mononucleares do sangue periférico (PBMC). Dentre os compostos avaliados nos ensaios de citotoxicidade, destaca-se a 4-(clorometil)-3-nitro-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida (**4**), composto mais ativo contra as linhagens de células tumorais HL60 (CI₅₀ 9,0 µM) e Jurkat (CI₅₀ 19,4 µM). As amidas 4-(bromometil)-3-nitro-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida (**6**) e *N*-(2-butanoiloxietil)-4-clorometil-3-nitrobenzamida (**19**) apresentaram atividade significativa contra *L. amazonensis* (CI₅₀ 23,1 µM) e *T. cruzi* (CI₅₀ 13,9 µM), respectivamente. Em geral, os compostos apresentaram baixa toxicidade para as células normais (PBMC).

ABSTRACT

In this work, a series of carboxylic acids and amides derived from 4-(bromomethyl)-3-nitrobenzoic acid was synthesized and evaluated as potential antitumoral, antileishmanial and trypanocidal agents. The carboxylic acid derivatives were obtained by radical bromination, electrophilic aromatic substitution and nucleophilic substitution reactions. The amides were synthesized from carboxylic acids and different amines using EDC as the coupling reagent. Conjugates of nitroaromatic unit and bioactive fatty acids (DHA and butyric acid) were synthesized in an attempt to optimize the activity of the compounds. The activity of the compounds was evaluated *in vitro* against three cancer cells lines (HL60 (leukemia), Jurkat (linfoma) and MCF-7 (breast cancer)), promastigotes forms of *Leishmania amazonensis* and amastigotes forms of *Trypanosoma cruzi*. *In vitro* cytotoxicity on the normal cells was evaluated using human peripheral blood mononuclear cells (PBMC). Among the compounds evaluated in the cytotoxic assay, the 4-(chloromethyl)-3-nitro-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamide (**4**) was found to be the most active against HL60 (IC₅₀ 9.0 μM) and Jurkat (IC₅₀ 19.4 μM) cells lines. The amides 4-(bromomethyl)-3-nitro-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamide (**6**) and *N*-(2-butanoyloxyethyl)-4-chloromethyl-3-nitrobenzamide (**19**) displayed significant activity against *L. amazonensis* (IC₅₀ 23.1 μM) and *T. cruzi* (IC₅₀ 13.9 μM), respectively. In a general way, the compounds showed low cytotoxicity to mammalian cells (PBMC).

LISTA DE FIGURAS

1.1 Vasos sanguíneos de um tecido normal e vasos sanguíneos do tumor	20
1.2 Secção transversal de um tumor sólido mostrando a diminuição da concentração de oxigênio em relação à distância capilar	21
1.3 Proposta de mecanismo de resistência das células em hipóxia à radioterapia	22
1.4 Representação das barreiras que o agente antineoplásico deve vencer para alcançar as células em hipóxia.....	23
1.5 Comparação entre o processo redutivo em um tecido oxigenado e um tecido em hipóxia	25
1.6 Ativação biorredutiva da mitomicina C.....	27
1.7 Ativação biorredutiva das aziridinil-quinonas	28
1.8 Mecanismo proposto para ativação biorredutiva da tirapazamina.....	29
1.9 Ativação biorredutiva de AQ4N	31
1.10 Etapas de biorredução de compostos nitroaromáticos	32
1.11 Mecanismo de ação proposto para RSU-1069.....	33
1.12 Ativação das mostardas nitroaromáticas após biorredução	34
1.13 Biorredução da mostarda SN-23862.....	35
1.14 Ativação da mostarda PR-104	37
1.15 Biorredução de compostos nitrobenzílicos.....	37
1.16 Biorredução do butirato de 2-nitrobenzila	38
1.17 Quimioterápicos utilizados no tratamento das leishmanioses.....	42
1.18 Gráfico de comparação de crescimento tumoral entre grupo controle e o ANB.....	43
3.1 Plano de síntese para obtenção dos ácidos (1), (2), (11), (14), (17), (34) e (35)	47
3.2 Plano de síntese para obtenção das amidas (4), (6), (8), (10) e (13)	48
3.3 Plano de síntese para obtenção de (15) e (16)	49
3.4 Plano de síntese para obtenção de (21), (22) e (24).....	50
3.5 Plano de síntese para obtenção de potenciais agentes bisalquilantes	51
3.6 Plano de síntese para obtenção de (19), (20) e (28).....	51
4.1 Estrutura do reagente EDC	55
4.2 Subespectro de DEPT 135 de (8) após 4 horas de reação do intermediário (7).....	55
4.3 Proposta de mecanismo para formação das amidas (4), (6), (8), (10) e (13).....	58
4.4 Desfavorecimento da reação do tipo SN ₁	60

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

4.5 Mecanismo proposto para a formação de (18)	61
4.6 Papel do DMAP como catalisador em reações de acoplamento utilizando carbodiimidas	63
4.7 Proposta simplificada de mecanismo para a formação de (24)	67
4.8 Deslocamento químico dos carbonos do heterociclo simulados pelo programa <i>ACD Labs Software</i> e deslocamento obtido para (24)	68
4.9 Mecanismo intramolecular proposto para a formação de (31)	70
4.10 Estruturas de ressonância para ésteres e amidas	71
4.11 Mecanismo proposto para a formação de (34)	75
A.1 Espectro no infravermelho de 1	130
A.2 Espectro no infravermelho de 2	130
A.3 Espectro no infravermelho de 3	131
A.4 Espectro no infravermelho de 4	131
A.5 Espectro no infravermelho de 5	132
A.6 Espectro no infravermelho de 6	132
A.7 Espectro no infravermelho de 7	133
A.8 Espectro no infravermelho de 8	133
A.9 Espectro no infravermelho de 9	134
A.10 Espectro no infravermelho de 10	134
A.11 Espectro no infravermelho de 11	135
A.12 Espectro no infravermelho de 12	135
A.13 Espectro no infravermelho de 13	136
A.14 Espectro no infravermelho de 14	136
A.15 Espectro no infravermelho de 15	137
A.16 Espectro no infravermelho de 16	137
A.17 Espectro no infravermelho de 17	138
A.18 Espectro no infravermelho de 18	138
A.19 Espectro no infravermelho de 19	139
A.20 Espectro no infravermelho de 20	139
A.21 Espectro no infravermelho de 21	140
A.22 Espectro no infravermelho de 22	140

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

A.23	Espectro no infravermelho de 23	141
A.24	Espectro no infravermelho de 24	141
A.25	Espectro no infravermelho de 25	142
A.26	Espectro no infravermelho de 26	142
A.27	Espectro no infravermelho de 27	143
A.28	Espectro no infravermelho de 28	143
A.29	Espectro no infravermelho de 29	144
A.30	Espectro no infravermelho de 30	144
A.31	Espectro no infravermelho de 31	145
A.32	Espectro no infravermelho de 32	145
A.33	Espectro no infravermelho de 33	146
A.34	Espectro no infravermelho de 34	146
B.1	Espectro de RMN de ^1H de 1 (200 MHz, acetona- d_6)	147
B.2	Espectro de RMN de ^{13}C de 1 (50 MHz, acetona- d_6)	148
B.3	Espectro de RMN de ^1H de 2 (200 MHz, acetona- d_6)	149
B.4	Espectro de RMN de ^{13}C de 2 (50 MHz, acetona- d_6)	150
B.5	Espectro de RMN de ^1H de 4 (200 MHz, DMSO- d_6)	151
B.6	Espectro de RMN de ^{13}C de 4 (50 MHz, DMSO- d_6)	152
B.7	Espectro de RMN de ^1H de 6 (200 MHz, DMSO- d_6)	153
B.8	Espectro de RMN de ^{13}C de 6 (50 MHz, DMSO- d_6)	154
B.9	Espectro de RMN de ^1H de 8 (200 MHz, DMSO- d_6)	155
B.10	Espectro de RMN de ^{13}C de 8 (50 MHz, DMSO- d_6)	156
B.11	Espectro de RMN de ^1H de 10 (200 MHz, DMSO- d_6)	157
B.12	Espectro de RMN de ^{13}C de 10 (50 MHz, DMSO- d_6)	158
B.13	Espectro de RMN de ^1H de 13 (200 MHz, DMSO- d_6)	159
B.14	Espectro de RMN de ^{13}C de 13 (50 MHz, DMSO- d_6)	160
B.15	Espectro de RMN de ^1H de 14 (200 MHz, acetona- d_6)	161
B.16	Espectro de RMN de ^{13}C de 14 (50 MHz, acetona- d_6)	162
B.17	Espectro de RMN de ^1H de 15 (200 MHz, acetona- d_6)	163
B.18	Espectro de RMN de ^{13}C de 15 (50 MHz, acetona- d_6)	164

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

B.19	Espectro de RMN de ^1H de 16 (200 MHz, acetona- d_6).....	165
B.20	Espectro de RMN de ^{13}C de 16 (50 MHz, acetona- d_6).....	166
B.21	Espectro de RMN de ^1H de 17 (200 MHz, acetona- d_6).....	167
B.22	Espectro de RMN de ^{13}C de 17 (50 MHz, acetona- d_6).....	168
B.23	Espectro de RMN de ^1H de 18 (200 MHz, acetona- d_6).....	169
B.24	Espectro de RMN de ^{13}C de 18 (50 MHz, acetona- d_6).....	170
B.25	Espectro de RMN de ^1H de 19 (200 MHz, CDCl_3).....	171
B.26	Espectro de RMN de ^{13}C de 19 (50 MHz, CDCl_3).....	172
B.27	Espectro de RMN de ^1H de 20 (200 MHz, acetona- d_6).....	173
B.28	Espectro de RMN de ^{13}C de 20 (50 MHz, acetona- d_6).....	174
B.29	Subespectro de DEPT 135 de 20 (50 MHz, acetona- d_6).....	175
B.30	Espectro de RMN de ^1H de 21 (200 MHz, CD_3OD).....	176
B.31	Espectro de RMN de ^{13}C de 21 (50 MHz, CD_3OD).....	177
B.32	Espectro de RMN de ^1H de 22 (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	178
B.33	Espectro de RMN de ^{13}C de 22 (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	179
B.34	Espectro de RMN de ^1H de 23 (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	180
B.35	Espectro de RMN de ^{13}C de 23 (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	181
B.36	Espectro de RMN de ^1H de 24 (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	182
B.37	Espectro de RMN de ^{13}C de 24 (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	183
B.38	Espectro de RMN de ^1H de 25 (200 MHz, CDCl_3).....	184
B.39	Espectro de RMN de ^{13}C de 25 (50 MHz, CDCl_3).....	185
B.40	Espectro de RMN de ^1H de 26 (200 MHz, CD_3OD).....	186
B.41	Espectro de RMN de ^{13}C de 26 (50 MHz, CD_3OD).....	187
B.42	Espectro de RMN de ^1H de 27 (200 MHz, acetona- d_6).....	188
B.43	Espectro de RMN de ^{13}C de 27 (50 MHz, acetona- d_6).....	189
B.44	Espectro de RMN de ^1H de 28 (200 MHz, acetona- d_6).....	190
B.45	Espectro de RMN de ^{13}C de 28 (50 MHz, acetona- d_6).....	191
B.46	Subespectro de DEPT 135 de 28 (50 MHz, acetona- d_6).....	192
B.47	Espectro de RMN de ^1H de 29 (200 MHz, CDCl_3).....	193
B.48	Espectro de RMN de ^{13}C de 29 (50 MHz, CDCl_3).....	194

LISTA DE FIGURAS (Conclusão)

B.49	Espectro de RMN de ^1H de 33 (200 MHz, acetona- d_6).....	195
B.50	Espectro de RMN de ^{13}C de 33 (50 MHz, acetona- d_6)	196
B.51	Subespectro de DEPT 135 de 33 (50 MHz, acetona- d_6)	197
B.52	Espectro de RMN de ^1H de 34 (200 MHz, DMSO- d_6).....	198
B.53	Espectro de RMN de ^{13}C de 34 (50 MHz, DMSO- d_6)	199

LISTA DE TABELAS

1.1 Estudos clínicos com a tirapazamina	30
1.2 CI_{50} (μM) de alguns derivados para células NTR+ e índice de seletividade (IS).....	36
1.3 Resultados da avaliação da atividade tripanocida do ANB.....	44
4.1 Dados de caracterização das amidas (4), (6), (8), (10) e (13)	56
4.2 CI_{50} (μM) dos compostos (1) a (34) para a inibição do crescimento das linhagens de células tumorais e PBMC	77
4.3 CI_{50} (μM) dos compostos (1) a (34) para a inibição do crescimento dos parasitos <i>L. amazonensis</i> e <i>T. cruzi</i>.....	80

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADN	Ácido desoxirribonucléico
AmB	Anfotericina B
ArNO ₂	Nitroaromático
assim.	Assimétrica
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCS	Cromatografia em coluna de sílica
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
dec.	Decomposição
DEPT	<i>Distortionless enhancement by polarization</i>
DHA	Ácido (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenóico
dl	Dupleto largo
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDC	Cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
F.F.	Faixa de fusão
F.M.	Fórmula molecular
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
lit.	Literatura
m	Multiplete
M.M.	Massa molar
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
NHS	<i>N</i> -hidroxisuccinimida
p/v	Peso por volume
Pd/C	Paládio 10% (p/p) em carvão ativado
q	Quarteto
qt	Quinteto

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS (Conclusão)

RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Simpleto
sim.	Simétrica
sl	Simpleto largo
sx	Sexteto
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
THIQ	Tetrahidroisoquinolina
v/v	Volume por volume
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 Câncer	19
1.1.1 <u>Características dos tumores sólidos</u>	19
1.1.2 <u>Resistência das células tumorais em hipóxia à radioterapia</u>	21
1.1.3 <u>Resistência das células tumorais em hipóxia à quimioterapia</u>	23
1.1.4 <u>Principais classes de agentes antineoplásicos biorredutíveis</u>	24
1.1.5 <u>Outras estratégias no combate ao câncer</u>	38
1.2 Doença de Chagas e Leishmanioses	40
1.3 Atividade biológica do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico	42
1.3.1 <u>Atividade antitumoral do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico</u>	42
1.3.2 <u>Atividade tripanocida do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico</u>	43
2 OBJETIVOS	45
3 PLANO DE SÍNTESE.....	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 Síntese	52
4.1.1 <u>Obtenção do ácido 4-bromometilbenzóico (1)</u>	52
4.1.2 <u>Obtenção dos ácidos (2), (11) e (14)</u>	52
4.1.3 <u>Obtenção das amidas (4), (6), (8), (10) e (13)</u>	54
4.1.4 <u>Obtenção das amidas (15) e (16)</u>	58
4.1.5 <u>Obtenção do ácido 4-(hidroximetil)-3-nitrobenzóico (17)</u>	59
4.1.6 <u>Obtenção de 4-(clorometil)-3-nitro-<i>N</i>-(2-cloroetil)benzamida (18)</u>	60
4.1.7 <u>Obtenção de (19) e (20)</u>	62
4.1.8 <u>Obtenção de (21) e (22)</u>	64
4.1.9 <u>Obtenção de 4-[4-(2-hidroxietil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il]metil-3-nitro-<i>N</i>-(2-hidroxietil)benzamida (24)</u>	65
4.1.10 <u>Obtenção de <i>N,N</i>-bis-(4-clorometil-3-nitrobenzoil)-1,3-diaminopropan-2-ol (27)</u>	68
4.1.11 <u>Obtenção de <i>N,N</i>-bis-(4-clorometil-3-nitrobenzoil)-2-butanoiloxi-1,3-diaminopropano (28)</u>	70
4.1.12 <u>Obtenção de <i>N,N</i>-dibutanoil-2-[4-(clorometil)-3-nitrobenzoiloxi]-1,3-diaminopropano (33)</u>	73

SUMÁRIO (Continuação)

4.1.13 <u>Obtenção do ácido 4-(mercaptometil)benzóico (34)</u>	75
4.1.14 <u>Obtenção do ácido 4-(mercaptometil)-3-nitrobenzóico (35)</u>	76
4.2 Ensaio biológicos.....	76
4.2.1 <u>Avaliação da atividade citotóxica</u>	76
4.2.2 <u>Avaliação da atividade tripanocida e leishmanicida</u>	79
5 PARTE EXPERIMENTAL.....	82
5.1 Material e métodos gerais.....	82
5.2 Procedimentos	85
5.2.1 <u>Síntese do ácido 4-(bromometil)benzóico (1)</u>	85
5.2.2 <u>Síntese do ácido 4-(bromometil)-3-nitrobenzóico (2)</u>	86
5.2.3 <u>Síntese de N-[4-(clorometil)-3-nitrobenzoiloxi]succinimida (3)</u>	87
5.2.4 <u>Síntese de 4-(clorometil)-3-nitro-N-(2-hidroxietil)benzamida (4)</u>	87
5.2.5 <u>Síntese de N-[4-(bromometil)-3-nitrobenzoiloxi]succinimida (5)</u>	89
5.2.6 <u>Síntese de 4-(bromometil)-3-nitro-N-(2-hidroxietil)benzamida (6)</u>	89
5.2.7 <u>Síntese de N-[4-(clorometil)benzoiloxi]succinimida (7)</u>	91
5.2.8 <u>Síntese de 4-(clorometil)-N-(2-hidroxietil)benzamida (8)</u>	91
5.2.9 <u>Síntese de N-[4-(bromometil)benzoiloxi]succinimida (9)</u>	93
5.2.10 <u>Síntese de 4-(bromometil)-N-(2-hidroxietil)benzamida (10)</u>	93
5.2.11 <u>Síntese do ácido 4-metil-3-nitrobenzóico (11)</u>	94
5.2.12 <u>Síntese de N-[4-metil-3-nitrobenzoiloxi]succinimida (12)</u>	95
5.2.13 <u>Síntese de 4-metil-3-nitro-N-(2-hidroxietil)benzamida (13)</u>	96
5.2.14 <u>Síntese do ácido 4-(clorometil)-3-nitrobenzóico (14)</u>	97
5.2.15 <u>Síntese de N-[4-(clorometil)-3-nitrobenzoil]morfolina (15)</u>	98
5.2.16 <u>Síntese de 4-(clorometil)-3-nitro-N-propilbenzamida (16)</u>	99
5.2.17 <u>Síntese do ácido 4-(hidroximetil)-3-nitrobenzóico (17)</u>	100
5.2.18 <u>Síntese de 4-(clorometil)-3-nitro-N-(2-cloroetil)benzamida (18)</u>	101
5.2.19 <u>Síntese de N-(2-butanoiloxietil)-4-(clorometil)-3-nitrobenzamida (19)</u>	102
5.2.20 <u>Síntese de N-(cis-4,7,10,13,16,19-docosahexenoiloxietil)-4-(clorometil)-3-nitrobenzamida (20)</u>	103

SUMÁRIO (Conclusão)

5.2.21 <u>Síntese de 4-(morfolinometil)-3-nitro-<i>N</i>-(2-hidroxietil)benzamida (21)</u>	105
5.2.22 <u>Síntese de 4-(tetra-hidroisoquinolinilmetil)-3-nitro-<i>N</i>-(2-hidroxietil)benzamida (22)</u>	106
5.2.23 <u>Síntese de 4-(azidometil)-3-nitro-<i>N</i>-(2-hidroxietil)benzamida (23)</u>	107
5.2.24 <u>Síntese de 4-[4-(2-hidroxietil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il]metil-3-nitro-<i>N</i>-(2-hidroxietil)benzamida (24)</u>	108
5.2.25 <u>Síntese de 1,3-diazido-2-propanol (25)</u>	109
5.2.26 <u>Obtenção de 1,3-diamino-2-propanol (26)</u>	110
5.2.27 <u>Síntese de <i>N,N'</i>-bis-4-clorometil-3-nitrobenzoil-1,3-diaminopropan-2-ol (27)</u>	111
5.2.28 <u>Síntese de <i>N,N'</i>-bis-4-clorometil-3-nitrobenzoil-2-butanoiloxi-1,3-diaminopropano (28)</u>	112
5.2.29 <u>Síntese de 2-butanoiloxi-1,3-diazidopropano (29)</u>	114
5.2.30 <u>Síntese de <i>N</i>-butanoiloxisuccinimida (30)</u>	115
5.2.31 <u>Síntese de <i>N</i>-butanoil-1,3-diaminopropan-2-ol (31)</u>	115
5.2.32 <u>Síntese de <i>N,N</i>-dibutanoil-1,3-diaminopropan-2-ol (32)</u>	116
5.2.33 <u>Síntese de <i>N,N'</i>-dibutanoil-2-[4-(clorometil)-3-nitrobenzoiloxi]-1,3-diaminopropano (33)</u>	117
5.2.34 <u>Síntese do ácido 4-(mercaptometil)benzóico (34)</u>	118
6 CONCLUSÃO	120
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122
APÊNDICE A.....	130
APÊNDICE B.....	147

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, 2012).

A terapia do câncer é baseada na cirurgia, radioterapia, imunoterapia e quimioterapia. Entretanto, aproximadamente metade dos pacientes com câncer não são curados por esses tratamentos e cada uma dessas modalidades tem suas limitações (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008a).

Uma das principais limitações da quimioterapia e radioterapia está relacionada ao tratamento de tumores sólidos, que apresentam divisão celular relativamente lenta e áreas de baixa concentração de oxigênio, tais como os carcinomas de pulmão, colón e mama (OLIVEIRA e ALVES, 2002). A seguir serão abordadas as principais características dos tumores sólidos que os tornam um desafio no tratamento do câncer.

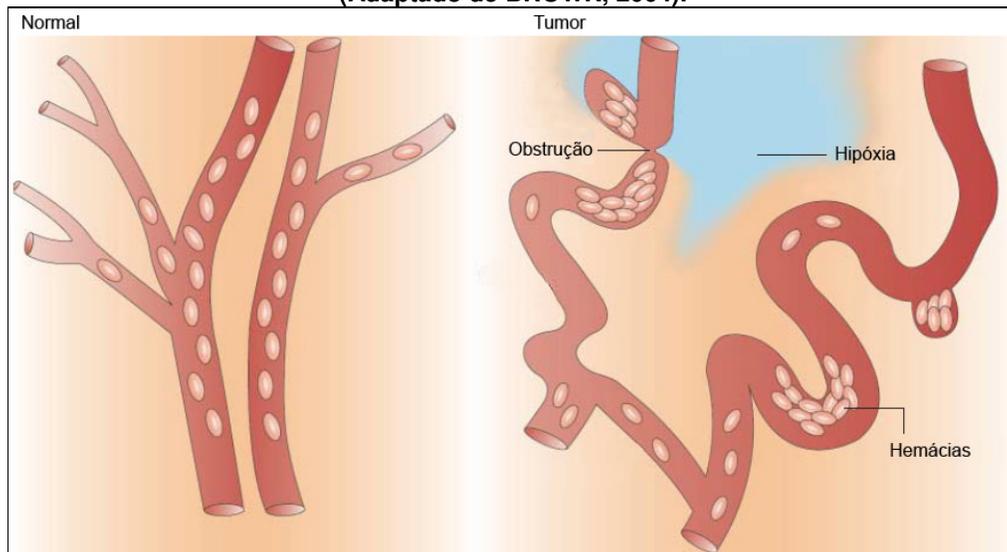
1.1.1 Características dos tumores sólidos

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 1.1).

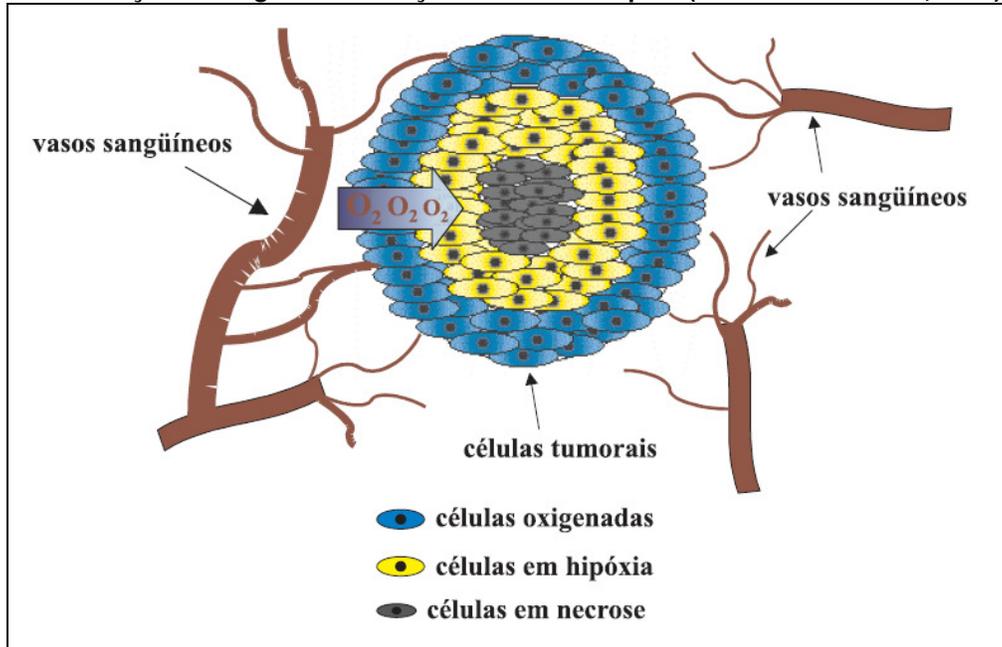
Figura 1.1 – Vasos sanguíneos de um tecido normal e vasos sanguíneos do tumor (Adaptado de BROWN, 2004).



Consequentemente, 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 1.2) (JAIN, 1989, 1994).

Figura 1.2 – Secção transversal de um tumor sólido mostrando a diminuição da concentração de oxigênio em relação à distância capilar (OLIVEIRA e ALVES, 2002).



As células em condições de hipóxia, apesar de serem capazes de se dividirem, apresentam um ciclo celular prolongado e permanecem indefinidamente em repouso. A proliferação celular diminui como resultado da diminuição dos níveis de oxigênio (KIZAKA-KONDOH, 2003; KENNEDY, 1987).

A associação desses fatores explica as dificuldades existentes no tratamento da maioria dos tumores sólidos, tanto com relação à radioterapia, quanto em relação à quimioterapia.

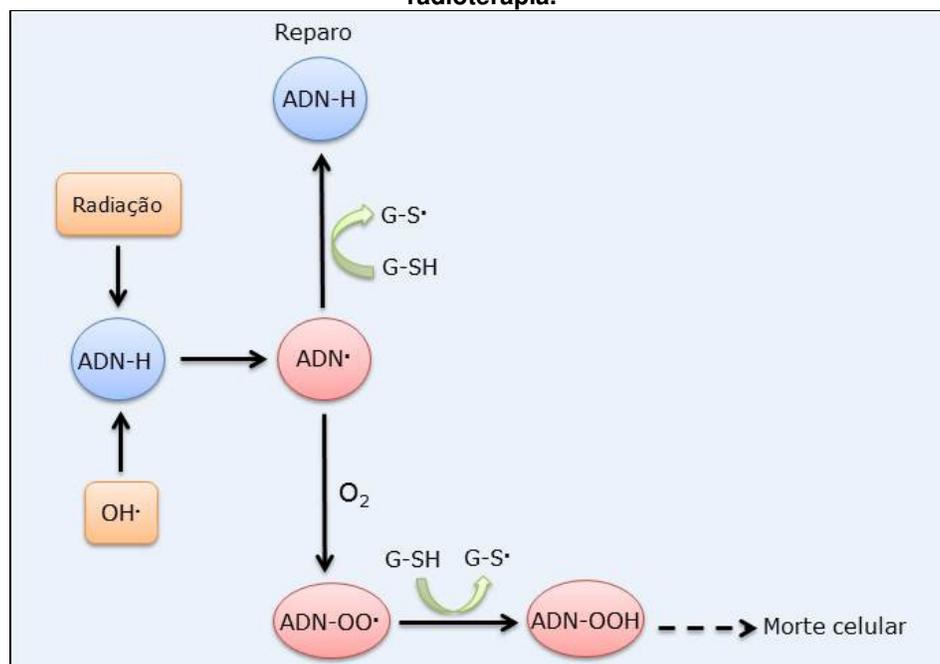
1.1.2 Resistência das células tumorais em hipóxia à radioterapia

A radioterapia é uma das principais modalidades para a terapia do câncer e pode ser definida como o uso medicinal da radiação ionizante como parte do tratamento das neoplasias. Ela é baseada na geração de radicais hidroxila a partir da fragmentação homolítica de moléculas de água no local da aplicação da radiação. Esses radicais formados podem reagir com moléculas biológicas

como o ADN gerando um radical da biomolécula. A radiação também pode provocar dano direto ao ADN. As defesas celulares contra esses processos são variadas, mas normalmente estão relacionadas com a reação dos radicais formados com moléculas antioxidantes como a glutathiona. Essa molécula reage com os radicais das biomoléculas, reparando-os e levando à formação da glutathiona-radical que se dimeriza ao derivado dissulfeto. (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008b).

Os danos causados pela radiação podem ser reforçados pela presença de oxigênio. Isso é devido à propriedade do oxigênio em reagir com os radicais das biomoléculas gerando outros radicais que não podem ser reparados. A ação da glutathiona (G-SH), nesse caso, não leva à molécula original e sim a um derivado oxidado (ADN-OOH) (**Figura 1.3**) (OLIVEIRA e ALVES, 2002; AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008b; FELS, 2006).

Figura 1.3 – Proposta de mecanismo de resistência das células em hipóxia à radioterapia.

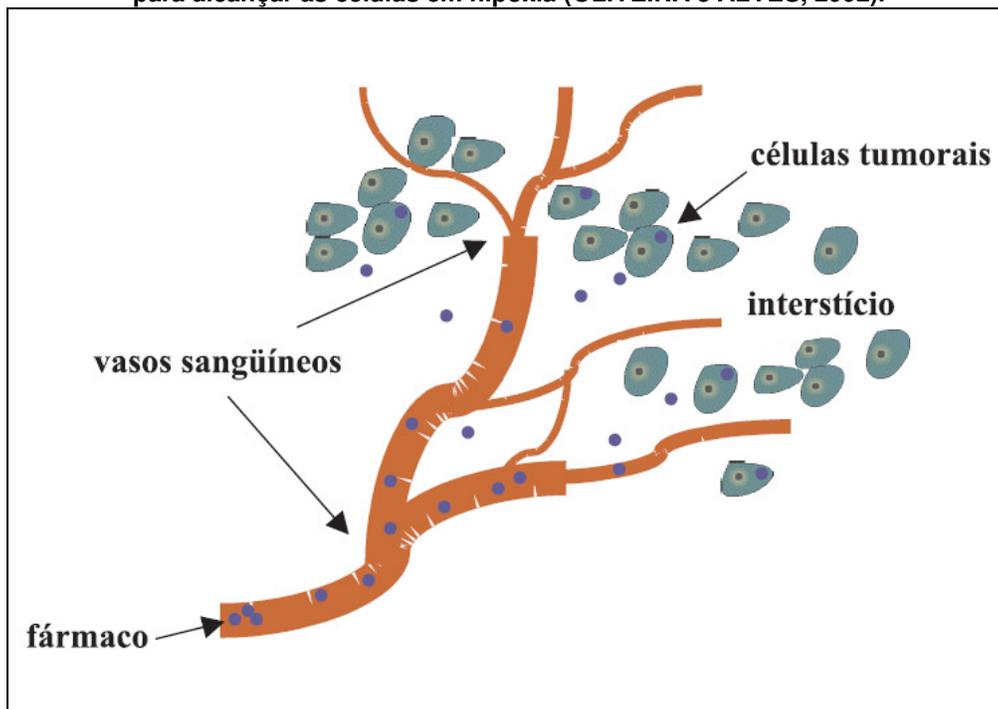


Dessa forma, como as células tumorais em hipóxia localizam-se em regiões de baixa concentração de oxigênio, tais células tornam-se extremamente resistentes à radioterapia.

1.1.3 Resistência das células tumorais em hipóxia à quimioterapia

Um dos fatores que explicam a resistência dos tumores sólidos à quimioterapia é a dificuldade do fármaco em alcançar as células em hipóxia em concentrações terapêuticas, já que tais células estão localizadas em uma região pouco acessível. Para alcançar as células em hipóxia, um agente quimioterápico deve vencer alguns obstáculos: a) atingir os vasos sanguíneos do tumor; b) atravessar a parede destes vasos em direção ao interstício e c) difundir pelo interstício em direção às células em hipóxia (**Figura 1.4**) (OLIVEIRA e ALVES, 2002; BROWN e WILSON, 2004).

Figura 1.4 – Representação das barreiras que o agente antineoplásico deve vencer para alcançar as células em hipóxia (OLIVEIRA e ALVES, 2002).



Como as células em hipóxia se localizam em uma região afastada da vascularização sanguínea, elas recebem poucos nutrientes e precursores bioquímicos essenciais ao processo de divisão celular. Conseqüentemente, tais células se dividem muito lentamente (fase G0 do ciclo celular) e, portanto, são resistentes aos quimioterápicos que interferem na divisão celular e atuam,

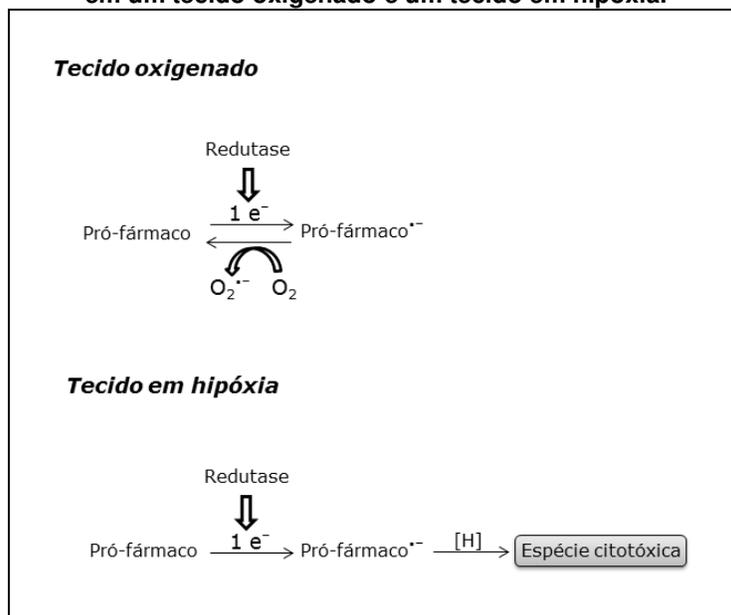
principalmente, sob células em rápida divisão (OLIVEIRA e ALVES, 2002; BROWN e WILSON, 2004).

1.1.4 Principais classes de agentes antineoplásicos biorredutíveis

Em 1972, Sartorelli e colaboradores levantaram a hipótese que reações de redução ocorreriam com maior facilidade em células com baixa concentração de oxigênio quando comparadas às células normalmente oxigenadas. Foi proposto, então, 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 1.5**) (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008e).

Figura 1.5 – Comparação entre o processo redutivo em um tecido oxigenado e um tecido em hipóxia.

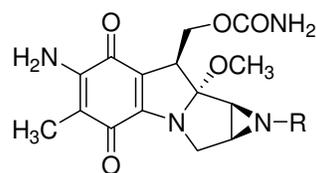


Três propriedades são fundamentais para o sucesso no planejamento de agentes antineoplásicos seletivos para células em hipóxia: solubilidade e difusibilidade adequadas, redução a espécies reativas somente nas regiões em hipóxia e atividade apenas das espécies reduzidas (OLIVEIRA e ALVES, 2002). Para 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 de 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 nitroaromáticos. Alguns exemplos serão mostrados a seguir.

1.1.4.1 Quinonas

As quinonas estão entre os primeiros compostos biorredutíveis estudados. A mitomicina C e a porfiromicina podem ser consideradas como protótipos de agentes alquilantes ativados por redução (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008d).

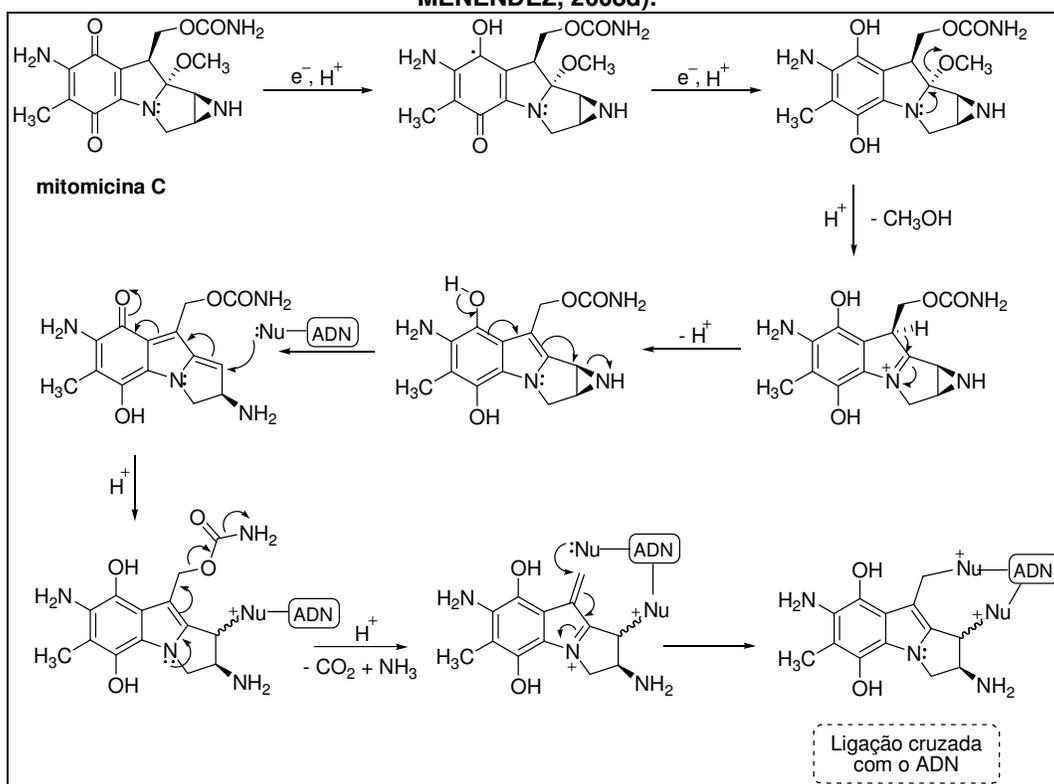


R = H **mitomicina C**
 R = CH₃ **porfiromicina**

A mitomicina C é um produto natural extraído da cultura de *Streptomyces caespitosus*, que contém as unidades quinona e aziridina. Ela é usada como citotoxina desde 1960 e é ativa contra vários tipos de tumores sólidos, mas seu uso é limitado em razão dos efeitos colaterais tais como mielosupressão e danos gastrintestinais (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008d).

O mecanismo de ação da mitomicina C em regiões de hipóxia envolve duas reduções monoeletrônicas consecutivas levando à correspondente semiquinona e em seguida à hidroquinona. A partir desse ponto inicia-se uma cascata de reações que levam à alquilação do ADN (**Figura 1.6**) (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008d).

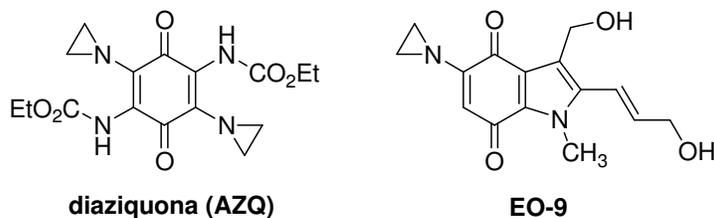
Figura 1.6 – Ativação biorredutiva da mitomicina C (Adaptado de AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008d).



A eliminação espontânea de metanol da hidroquinona acontece somente em solução aquosa o que sugere que a protonação do grupo abandonador pela água é essencial. Uma reação de eliminação similar não é possível na mitomicina C, pois o nitrogênio do anel possui caráter de nitrogênio de amida, pois seu par de elétrons está em ressonância com a carbonila da quinona.

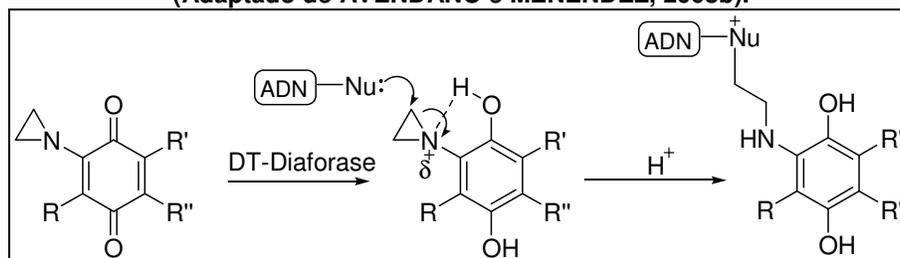
A porfiromicina, derivado *N*-metil da mitomicina C, também é de origem natural e encontra-se em estudos clínicos de fase III, em associação com a radioterapia, no tratamento de carcinoma cerebral e de pescoço (CLINICAL TRIALS, 2012a).

Um segundo tipo estrutural de quinonas ativadas por biorredução são as aziridinil-quinonas, representadas pela diaziquona (AZQ), derivada da benzoquinona, e indolequinona EO-9.



Essas quinonas são bioativadas por redução de 2 elétrons, particularmente pela redutase DT-diaforase (**Figura 1.7**), uma enzima que é superexpressa em muitos tumores. O mecanismo de bioativação dessas quinonas é similar ao da mitomicina C.

Figura 1.7 – Ativação biorredutiva das aziridinil-quinonas
(Adaptado de AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008b).



Após a biorredução, a basicidade do nitrogênio do anel aziridínio aumenta, favorecendo a protonação do nitrogênio, resultando em uma espécie altamente eletrofílica capaz de alquilar o ADN. Entretanto, os resultados clínicos para esses compostos não foram satisfatórios (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008e; OLIVEIRA e ALVES, 2002).

Em um estudo clínico de fase II, a atividade antitumoral de EO-9 foi avaliada em pacientes com carcinoma de mama, gástrico, colorretal ou pancreático. EO-9 não apresentou atividade antitumoral contra os tipos de câncer estudados (DIRIX *et al.*, 1996).

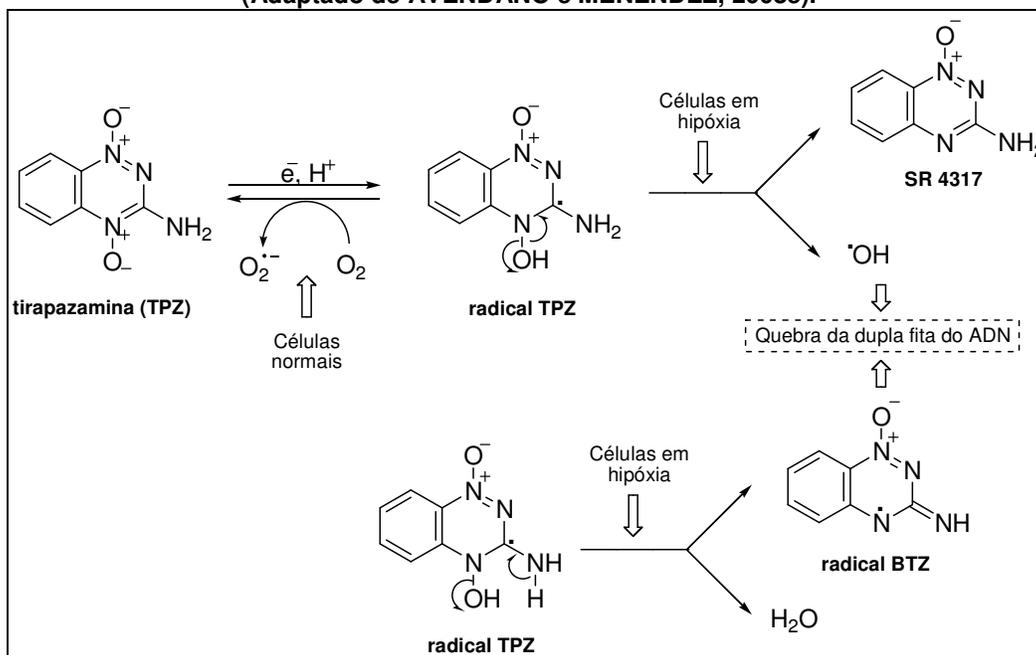
Também em estudos clínicos de fase II AZQ não apresentou atividade significativa para adenocarcinoma, carcinoma renal, melanoma maligno e carcinoma de mama (DECKER, *et al.*, 1984, 1986; HOST *et al.*, 1983; MARTINO *et al.*, 1988).

1.1.4.2 N-óxidos

Em 1986, Brown e colaboradores descobriram a toxicidade seletiva para células em hipóxia da tirapazamina (TPZ) e esse foi o primeiro composto desenvolvido especificamente para atuar como citotoxina com seletividade para as células em hipóxia (BROWN e WILSON, 2004).

A tirapazamina é um excelente substrato para várias redutases intracelulares, as quais a reduzem, pela adição de um elétron, resultando na formação de um intermediário radicalar altamente reativo (radical TPZ). Em células normais essas espécies reagem com oxigênio regenerando a TPZ e originando um radical superóxido. Entretanto, em condições de hipóxia, o radical TPZ sofre dois tipos de reações de fragmentação levando à formação de radical hidroxila e radical benzotriazinila (BZT), que causam quebra da dupla fita do ADN e inibição da topoisomerase II (**Figura 1.8**) (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008e).

Figura 1.8 – Mecanismo proposto para ativação biorredutiva da tirapazamina (Adaptado de AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008e).



Como a tirapazamina é seletivamente reduzida nas regiões em hipóxia, é necessário que, após sofrer biorredução, a espécie reativa formada atue sobre

as células em hipóxia e se difunde para a periferia do tumor para matar, também, as células tumorais bem oxigenadas. Entretanto, estudos de triagem clínica já demonstraram que a TPZ tem baixa capacidade de difusão, não sendo capaz de erradicar todo o tumor. Como alternativa, quando combinada com a radioterapia, a TPZ é altamente efetiva e potencializa a morte das células tumorais. Ela é, também, extremamente efetiva para a potencialização da atividade antitumoral da cisplatina (KOVACS *et al.*, 1999).

Estudos clínicos de fase III utilizando a associação da TPZ com radioterapia e cisplatina no tratamento de pacientes com câncer de pescoço e cabeça já foram concluídos. Entretanto, nesse estudo, a TPZ não foi capaz de aumentar a sobrevivência dos pacientes com câncer em estado avançado (RISCHIN *et al.*, 2010). Um resumo dos estudos clínicos realizados com a TPZ está ilustrado na **Tabela 1.1**. Atualmente, a tirapazamina encontra-se em estudos de fase III para o tratamento de pacientes com câncer cervical (SRI BIOSCIENCES, 2011).

Tabela 1.1 – Estudos clínicos com a tirapazamina.

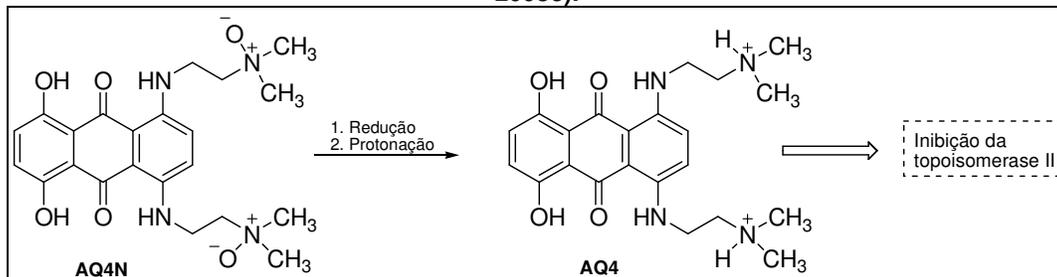
Fase	Tratamento	Estudo	Pacientes	Status
I-II	TPZ + CIS +	EFC2938	17	Concluído
	XRT	DF14729	25	Concluído
IIb	TPZ + CIS + 5FU + XRT	EFC3344	122	Concluído
II	TPZ + CIS + 5FU + XRT	EFC4511	62	Concluído
III	TPZ + CIS +	EFC5512	550	Concluído
	XRT	EFC4690	861	Concluído

CIS = cisplatina; XRT = irradiação; 5FU = 5-fluorouracila.

Outro exemplo de agentes biorredutíveis são os *N*-óxidos alifáticos e o representante mais conhecido dessa classe é o *N*-óxido de dimetilaminoantraquinona AQ4N. Após ativação redutiva, AQ4N é convertido em AQ4, o qual tem alta afinidade pelo ADN e inibe a enzima topoisomerase II (**Figura 1.9**). A interação de AQ4 é facilitada pela sua estrutura planar, deficiente de elétrons, capaz de intercalar entre pares de bases adjacentes do ADN. Este complexo é estabilizado por interações eletrostáticas e ligações de

hidrogênio com os grupos fosfato da desoxirribose (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008b; OLIVEIRA e ALVES, 2002; PAPADOPOULOS, 2008).

Figura 1.9 – Ativação biorredutiva de AQ4N (Adaptado de AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008e).



Atualmente AQ4N está em estudos clínicos de fase I/II em associação com radioterapia e temozolomida para o tratamento de pacientes com glioblastoma multiforme (WILLIAMS *et al.*, 2009; CLINICAL TRIALS, 2012b).

1.1.4.3 Derivados nitroaromáticos

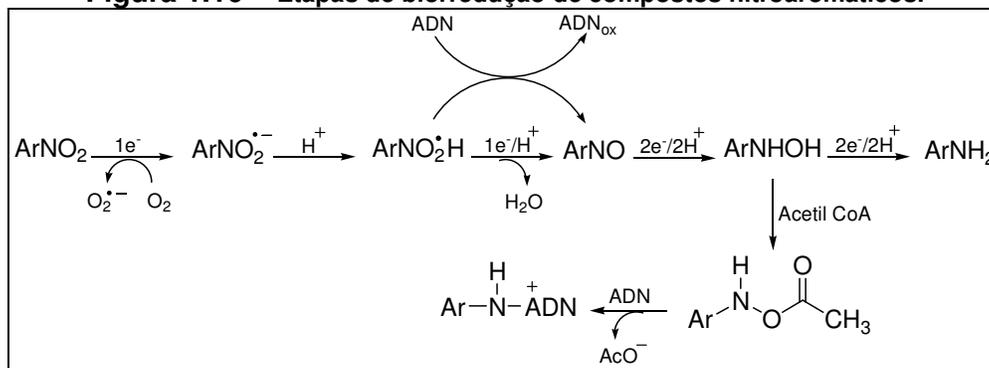
No final da década de 60, Adams, Fowler e colaboradores foram os pioneiros na utilização de nitroimidazóis como radiosensibilizadores para células em hipóxia. Radiossensibilizadores mimetizam os efeitos do oxigênio reagindo com os radicais formados pela radiação. O sucesso do tratamento de tumores sólidos com o metronidazol foi a confirmação *in vivo* dessa hipótese (ADAMS, 1973).

Estes compostos foram desenvolvidos como radiosensibilizadores, mas, posteriormente, foi demonstrado que a exposição prolongada das células em hipóxia aos nitroimidazóis resulta na morte seletiva de tais células, mesmo na ausência de radiação (TAYLOR e RAUTH, 1978).

Isso ocorre devido à redução metabólica do grupo nitro com consequente formação de intermediários altamente reativos, sendo o ânion nitro radical e a hidroxilamina os principais responsáveis pela citotoxicidade (**Figura 1.10**).

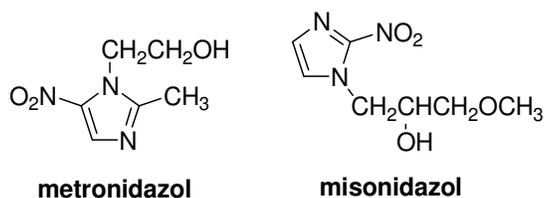
Acredita-se que o ânion nitro radical atue como aceptor de prótons e elétrons, oxidando o ADN com consequente destruição da dupla fita do ácido nucléico. Em relação à hidroxilamina, Knox e colaboradores propuseram que a capacidade desse composto em se ligar ao ADN é devido à sua acetilação *in vivo* e subsequente reação do derivado *N*-acetóxido com o ADN (KNOX, 1988, 1991).

Figura 1.10 – Etapas de biorredução de compostos nitroaromáticos.



A formação do ânion nitro radical pode ser revertida ou inibida pela presença de oxigênio no meio e, conseqüentemente, a sequência das etapas de biorredução é restrita a células em hipóxia.

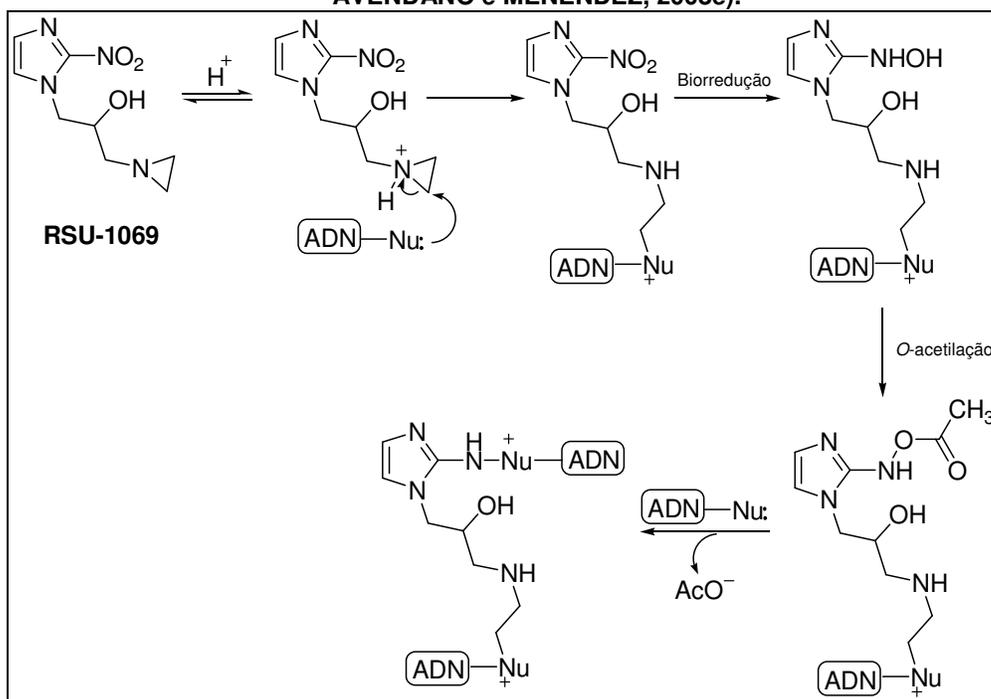
Apesar de os nitroimidazóis tais como o metronidazol e o misonidazol possuírem seletividade para células em hipóxia, eles apresentam baixa potência e, conseqüentemente, elevadas doses são necessárias para exercerem uma ação citotóxica. (HAY *et al.*, 1995).



Em função disso, novos compostos dessa classe foram estudados, como, por exemplo, o análogo RSU-1069. A presença do anel aziridino na estrutura do RSU-1069 aumenta a potência desse composto, pois representa um ponto de

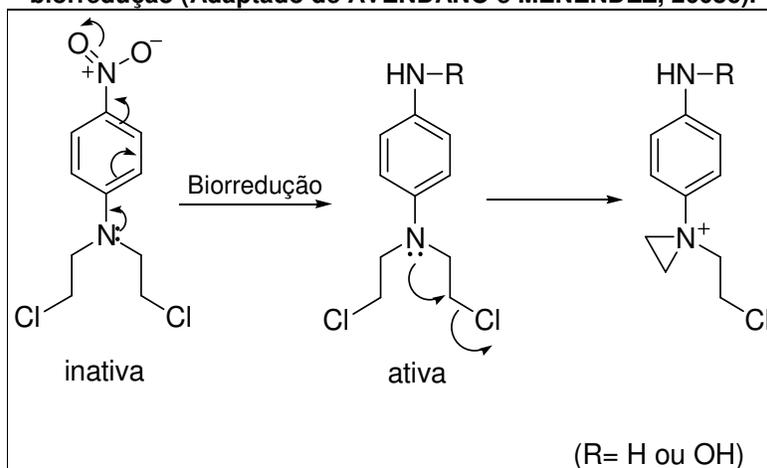
interação adicional, conforme mostrado na **Figura 1.11**. Em tecidos normais o RSU-1069 se comporta como um agente monoalquilante, pela alquilação do ADN pelo anel aziridínio. Em condições de hipóxia, ele se torna um agente bifuncional, capaz de realizar ligação cruzada com o ADN. Após biorredução, o RSU-1069 se torna 50 a 100 vezes mais citotóxico, entretanto, estudos clínicos demonstraram alta toxicidade intestinal o que impossibilitou o prosseguimento dos estudos (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008e).

Figura 1.11 – Mecanismo de ação proposto para RSU-1069 (Adaptado de AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008e).



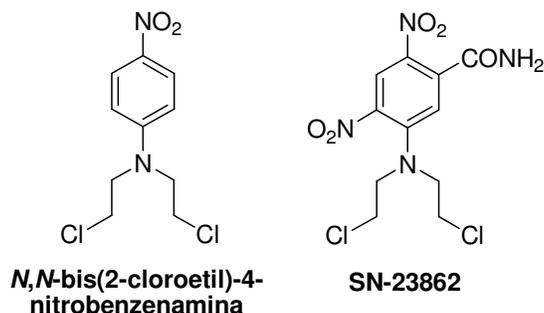
Além dos nitroimidazóis, outra classe de nitroaromáticos importante são as mostardas nitroaromáticas. A atividade das mostardas nitrogenadas está relacionada com a densidade eletrônica no nitrogênio da mostarda. Em 1986, Denny e Wilson sintetizaram uma série de mostardas nitroaromáticas e avaliaram o seu potencial como agentes citotóxicos seletivos para células em hipóxia. A presença do grupo nitro (fortemente retirador de elétrons) desativa a mostarda por deslocalização do par de elétrons do nitrogênio amínico. Em células em hipóxia, o grupo nitro seria reduzido a amino ou hidroxilamino (fortemente doador de elétrons) ativando, assim, a mostarda (**Figura 1.12**) (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008c).

Figura 1.12 – Ativação das mostardas nitroaromáticas após biorredução (Adaptado de AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008c).



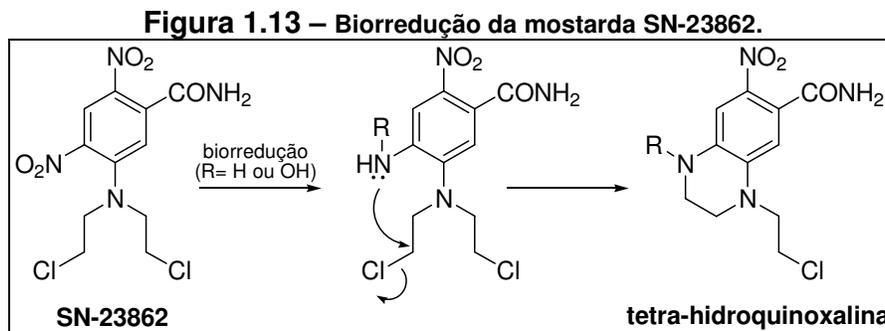
O exemplo mais simples desse tipo de pró-fármaco é a *N,N*-bis(2-cloroetil)-4-nitrobenzenamina. Entretanto essa mostarda apresentou baixa solubilidade em água e potencial de redução fora da faixa ideal (-515 mV). O baixo potencial de redução dessa mostarda dificulta a sua redução mesmo em regiões de hipóxia (AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008e; DENNY *et al.*, 1990).

Para contornar essas limitações, uma série de mostardas derivadas da 2,4-dinitroanilina, ligadas a uma cadeia hidrofílica foi preparada. O análogo mais seletivo foi o SN-23862 que apresentou potencial de redução adequado (-460 mV) e hidrossolubilidade moderada (PALMER *et al.*, 1992).



Estudos adicionais foram realizados com o SN-23862. Entretanto, durante esses estudos demonstrou-se que o grupo nitro localizado em orto em relação à mostarda era reduzido preferencialmente, resultando na formação do metabólito 4-amino ou hidroxilamino correspondente. Porém, esse metabólito

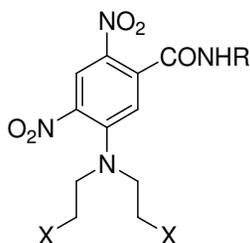
sofre uma rápida ciclização intramolecular, originando a tetra-hidroquinoxalina que possui citotoxicidade muito inferior a dos derivados 4-amino e hidroxilamino (**Figura 1.13**) (PALMER *et al.*, 1995, 1996).



A formação da tetra-hidroquinoxalina constituiu um empecilho na utilização da mostarda em estudos adicionais. Entretanto, esse problema foi solucionado quando Anlezark e colaboradores isolaram e purificaram uma nitrorredutase de *E. coli* capaz de reduzir seletivamente o grupo nitro de SN-23862 localizado na posição orto ao grupo carboxamido. A redução desse grupo a hidroxilamino leva à ativação da mostarda e evita a formação do produto de ciclização (ANLEZARK *et al.*, 1992 e 1995).

Atwell e colaboradores avaliaram a relação estrutura-atividade de 2,4-dinitrobenzamida-5-mostardas, incluindo 32 novos exemplos, como potenciais pró-fármacos para GDEPT (*Gene-Directed Enzyme-Prodrug Therapy*) com nitrorredutase de *E. coli*. O sistema GDEPT envolve a transferência de um gene às células tumorais, capaz de codificar a transcrição de uma enzima, que será responsável pela ativação do pró-fármaco. A seletividade (IS) dos compostos foi avaliada pela razão entre a Cl_{50} para as linhagens de células tumorais que não codificam a enzima (NTR-) e a Cl_{50} para as linhagens de células que expressam a nitrorredutase (NTR+). Alguns dados relevantes estão ilustrados na **Tabela 1.2**. (ATWELL *et al.*, 2007).

Tabela 1.2 – CI_{50} (μm) de alguns derivados para células NTR+ e índice de seletividade (IS).



X	R	CI_{50}	IS
Cl	$(CH_2)_2OH$	4,48	179
Br	$(CH_2)_2OH$	0,20	350
Br/OMs	$(CH_2)_2OH$	0,46	537
Cl	$CH_2CH(OH)CH_2OH$	4,33	275
Br	$CH_2CH(OH)CH_2OH$	0,24	819
OMs	$CH_2CH(OH)CH_2OH$	12,3	28
Cl	$(CH_2)_2N(CH_3)_2$	46,7	2,1
Cl	$(CH_2)_2N\text{morfolida}$	71,6	4,2

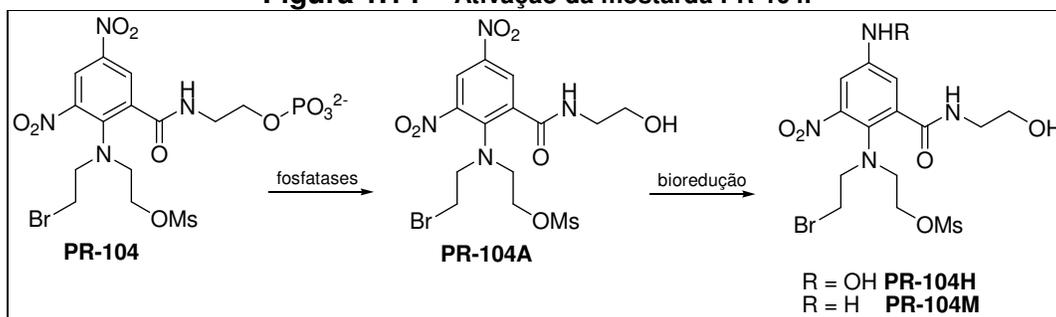
* média geométrica considerando 3 linhagens de células tumorais: EMT6 (carcinoma mamário de camundongo), WiDr (carcinoma de cólon humano) e Skov3 (carcinoma de ovário humano).

Análogos com grupos abandonadores mais reativos (especialmente bromo e mesilato) apresentaram maior potência e seletividade do que as dicloromostardas. Variações das cadeias carboxamidas (especialmente monoálcoois) são bem toleradas e podem ser usadas para aumentar a solubilidade aquosa, embora as cadeias contendo aminas terciárias básicas suprimem a seletividade em todos os casos e a cadeia dihidroxi diminui a potência quando combinada com grupo abandonador mesilato na unidade da mostarda. Com base nos resultados *in vitro*, uma série representativa de 19 compostos foi selecionada para estudos *in vivo*, utilizando camundongos com tumor EMT-6 ou WiDr. Surpreendentemente, a toxicidade das mostardas em camundongos foi menor para os análogos dibromo, dimesilato e bromomesilato do que para as menos reativas dicloromostardas (ATWELL *et al.*, 2007).

Estudos mais avançados com as mostardas nitroaromáticas resultaram no desenvolvimento da mostarda PR-104, considerada como um “pré-pró-fármaco”. PR-104 possui um éster fosfato hidrofílico na cadeia lateral que é rapidamente convertida *in vivo* ao álcool PR-104A. PR-104A é reduzido seletivamente em condições de hipóxia aos metabólitos citotóxicos hidroxilamino (PR-104H) e amino (PR-104M) (**Figura 1.14**) que exercem seus

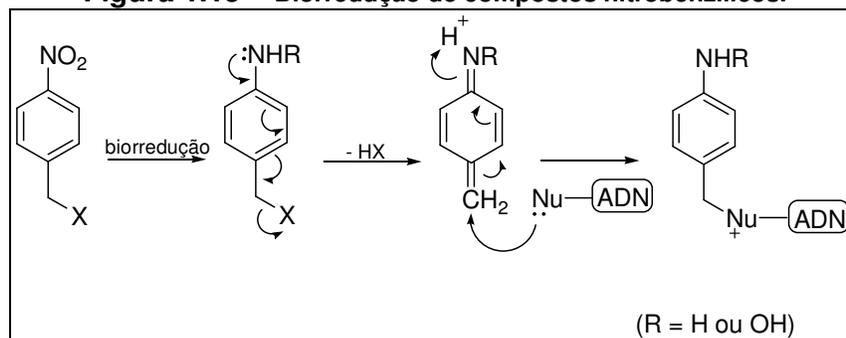
efeitos tóxicos pela formação de ligações cruzadas com o ADN (GU *et al.*, 2011). PR-104 entrou, recentemente, em estudos de triagem clínica para determinação de toxicidade em vinte e seis pacientes portadores de tumor sólido avançado, dentre eles melanoma, carcinoma colorretal, tumor das glândulas salivares e glioblastoma (MCKEAGE *et al.*, 2011).

Figura 1.14 – Ativação da mostarda PR-104.



Outra classe de nitroaromáticos estudada são os haletos e carbamatos nitrobenzílicos nas posições *orto* ou *para*. 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 ADN (**Figura 1.15**) (TEICHER e SARTORELLI, 1980; WAKSELMAN *et al.*, 1990; AVENDAÑO e MENENDEZ, 2008e).

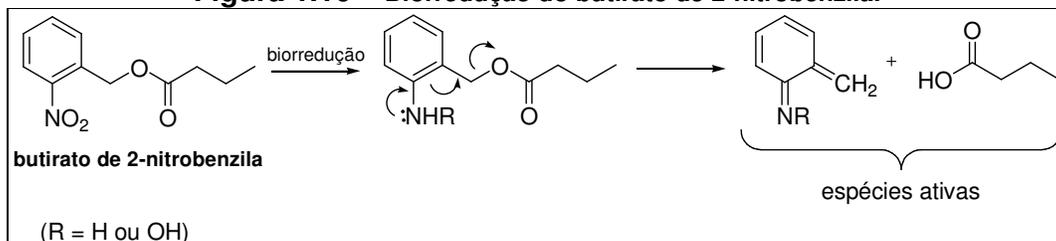
Figura 1.15 – Biorredução de compostos nitrobenzílicos.



Em 1990, Walkseman e colaboradores sintetizaram uma série de ésteres e haletos nitrobenzílicos. O efeito antitumoral dos compostos foi avaliado em camundongos com sarcoma de Crocker. O derivado mais ativo foi o butirato de

2-nitrobenzila. A atividade desse composto parece estar relacionada com a formação de espécie altamente eletrofílica capaz de alquilar o ADN após biorredução e consequente liberação de ácido butírico (**Figura 1.16**). O ácido butírico é um ácido graxo com conhecida atividade antitumoral que será abordada posteriormente (**subitem 1.1.5.2**).

Figura 1.16 – Biorredução do butirato de 2-nitrobenzila.

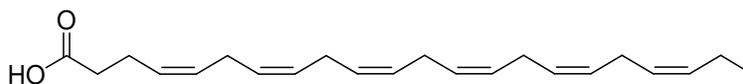


1.1.5 Outras estratégias no combate ao câncer

1.1.5.1 Ácido (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenóico (DHA)

Uma estratégia para um maior sucesso da quimioterapia é encontrar uma propriedade bioquímica ou fisiológica do tecido tumoral que possa ser explorada no direcionamento de fármacos para o tumor. Sauer e colaboradores relataram que tumores absorvem rapidamente alguns tipos de ácidos graxos naturais do sangue, presumivelmente para uso como precursores bioquímicos e energia (BRADLEY *et al.*, 2001; SAUER *et al.*, 1982, 1986, 1990 e 1992).

Estudos indicaram que alguns ácidos graxos de cadeia longa, dentre eles o DHA, são capazes de inibir o crescimento de tumor de mama humano tanto em cultura de células quanto em roedores e de aumentar a eficácia de fármacos antitumorais (MAHÉO *et al.*, 2005).



DHA

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a atividade dos ácidos graxos poli-insaturados contra células cancerosas, incluindo alteração na expressão gênica, modulação da proliferação celular, apoptose e diferenciação, aumento do transporte do fármaco através da membrana celular, geração de radicais livres e peroxidação lipídica (MAHÉO *et al.*, 2005).

Bradley e colaboradores demonstraram que o conjugado DHA-paclitaxel apresentou eficácia terapêutica superior quando comparado ao paclitaxel livre em modelos de tumores experimentais, além de provocar menos efeitos colaterais. A maior eficácia do DHA-paclitaxel foi atribuída principalmente a sua extensiva ligação a proteínas plasmáticas, o que resulta em um menor volume de distribuição e *clearance* sistêmico lento (WANG *et al.*, 2006; BRADLEY *et al.*, 2001).

Atualmente o conjugado DHA-paclitaxel está em estudos clínicos de fase II para o tratamento de pacientes com câncer pancreático (CLINICAL TRIALS, 2012c).

Os conjugados DHA-doxorrubicina e DHA-10-hidroxicamptotecina foram sintetizados por Wang e colaboradores e em ambos a atividade antitumoral do conjugado apresentou maior eficácia comparado ao fármaco livre (WANG *et al.*, 2006, 2005).

Dessa forma, a conjugação com o DHA pode ser uma estratégia válida para aumentar a eficácia de agentes antitumorais.

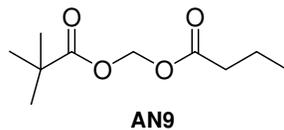
1.1.5.2 Ácido butírico

O ácido butírico é um ácido graxo de cadeia curta (4 carbonos) que ocorre naturalmente no corpo (PRASAD, 1980).

Estudos têm demonstrado que a atividade antitumoral do ácido butírico está relacionada com a indução de diferenciação celular. O ácido butírico foi capaz de induzir diferenciação em uma ampla variedade de células neoplásicas *in*

vitro. O potencial uso clínico do ácido butírico é limitado pela dificuldade aparente de atingir concentrações efetivas devido ao seu rápido metabolismo (NIITSU *et al.*, 2000; CHEN e BREITMAN, 1994; PRASAD, 1980).

Niitsu e colaboradores relataram que a associação entre um pró-fármaco do ácido butírico, o butirato de pivaloiloximetila (AN9), e a doxorubicina inibiu sinergicamente o crescimento de células de linfoma e carcinoma de pulmão (NIITSU *et al.*, 2000).



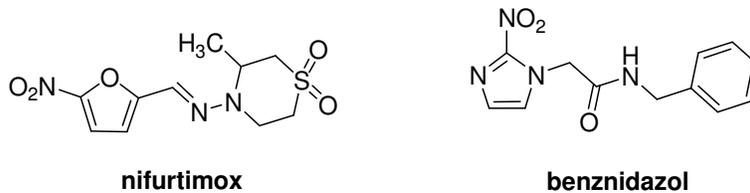
A busca por pró-fármacos do ácido butírico que possam melhorar seu perfil farmacocinético bem como a sua associação com outros agentes antitumorais é de grande interesse.

1.2 Doença de Chagas e Leishmanioses

Protozoários tripanossomatídeos são responsáveis por causar diversas doenças em seres humanos incluindo a Doença de Chagas e as leishmanioses.

A doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e é encontrada principalmente na América Latina. Estima-se que 10 milhões de pessoas estejam infectadas em todo o mundo e que mais de 25 milhões vivam em regiões de risco. Em 2008, calcula-se que a doença de Chagas tenha matado mais de 10.000 pessoas (OMS, 2012).

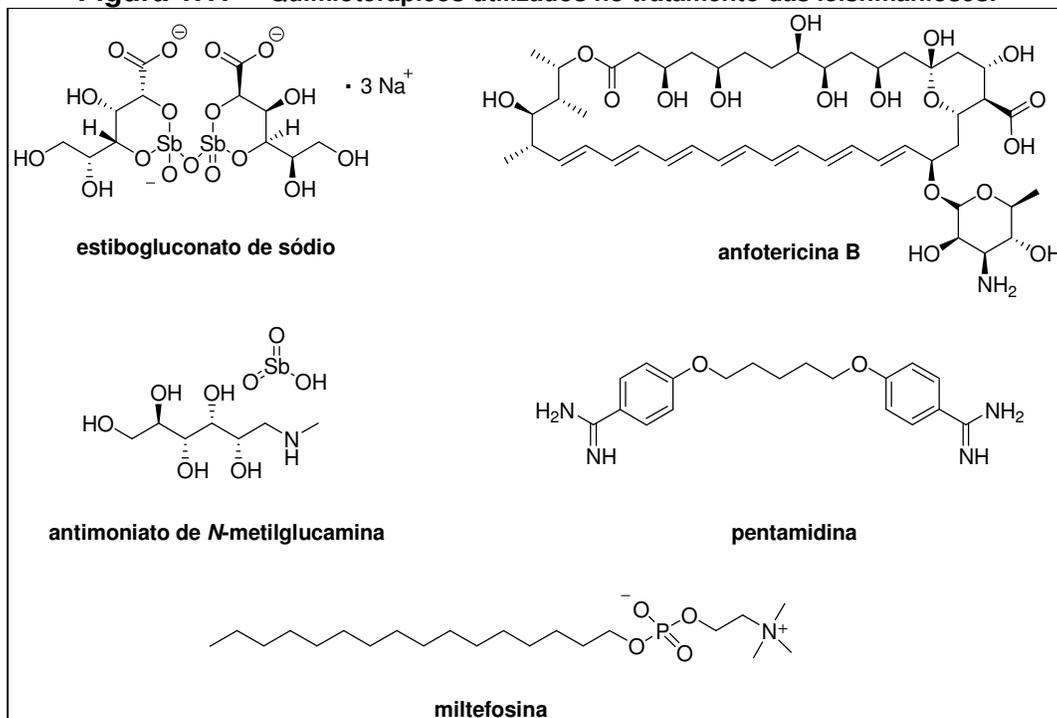
A quimioterapia atualmente disponível para o tratamento da doença de Chagas baseia-se em apenas dois fármacos: o nifurtimox e o benznidazol. O tratamento com esses fármacos é considerado insatisfatório devido a sua limitada eficácia na fase crônica e seus efeitos colaterais graves (URBINA, 2003).



A leishmaniose é uma doença tropical negligenciada causada pelo protozoário do gênero *Leishmania* e ameaça 350 milhões de pessoas em 88 países. Existem diferentes formas de leishmanioses sendo a cutânea e a visceral as mais comuns. As espécies causadoras de leishmaniose cutânea são *Leishmania (Leishmania) amazonenses*, *L. (L.) major*, *L. (L.) tropica*, *L. (L.) ethiopica*, *L. (Viannia) braziliensis* e *L. (L.) mexicana*. Os principais agentes etiológicos das leishmanioses viscerais são *L. (L.) donovani* e *L. (L.) infantum*. (CROFT, 2003).

Os compostos antimoniais pentavalentes são utilizados como fármacos de primeira escolha para o tratamento das leishmanioses, seguidos da anfotericina B, pentamidina e miltefosina (**Figura 1.17**). Entretanto, todos os agentes quimioterápicos atualmente disponíveis possuem sérias limitações, como necessidade de administração parenteral por um longo tempo e efeitos adversos graves (CROFT, 2003; SHUKLA, 2010).

Figura 1.17 – Quimioterápicos utilizados no tratamento das leishmanioses.

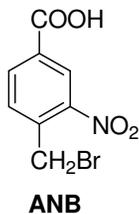


Em razão desse cenário desfavorável, a busca de novos fármacos mais seletivos e eficazes para a doença de Chagas e leishmanioses é de extrema importância.

1.3 Atividade biológica do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico

1.3.1 Atividade antitumoral do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico

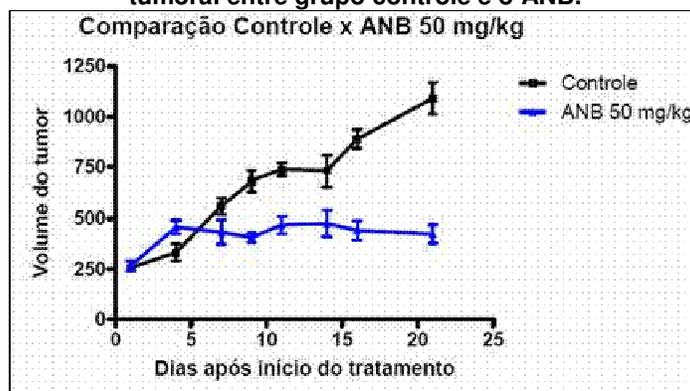
Dentre as substâncias nitroaromáticas bioativas sintetizadas no Laboratório de Química Farmacêutica (FAFAR-UFMG), destaca-se o ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico (ANB).



Soares e colaboradores (2010) avaliaram a atividade citotóxica *in vitro* do ANB frente à linhagem de células tumorais humanas UACC-2 (melanoma) e JURKAT (leucemia linfóide). A porcentagem da proliferação após tratamento das células com o ANB na concentração de 100 μ M foi de $84\% \pm 17\%$ (UACC-2) e $57\% \pm 3\%$ (JURKAT).

Estudos de avaliação da atividade antitumoral *in vivo* do ANB foram posteriormente conduzidos. Nesses estudos foram utilizados camundongos portadores de tumor sólido de Ehrlich. O ANB foi administrado por via intratumoral, na dose de 50 mg/Kg. A avaliação da eficácia do composto foi determinada por meio da medida do volume do tumor (mm^3) e comparação com o grupo controle não tratado. O ANB apresentou atividade antitumoral significativa quando comparado ao grupo controle (**Figura 1.18**) (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Figura 1.18 - Gráfico de comparação de crescimento tumoral entre grupo controle e o ANB.



Considerando a importância dos nitroaromáticos como agentes biorredutíveis e com base na atividade antitumoral apresentada pelo ANB, foi proposta nesse trabalho a síntese de análogos do ANB com potencial atividade citotóxica e seletividade para células em hipóxia.

1.3.2 Atividade tripanocida do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico

Inicialmente, a atividade tripanocida *in vitro* do ANB foi avaliada contra as formas tripomastigotas de cepas Y de *T. cruzi*. Nas doses 500 e 250 μ g/ml, o

ANB foi capaz de eliminar o parasito do sangue murino infectado (OLIVEIRA *et al.*, 2003). Além do estresse oxidativo que o ANB pode provocar no interior do parasito em razão da biorredução do grupo nitro, outro provável mecanismo da ação tripanocida do ANB pode estar relacionado com sua capacidade de inibir a atividade da enzima tripanotiona redutase (TR) (resultados não publicados) (**Tabela 1.3**).

Tabela 1.3 - Resultados da avaliação da atividade tripanocida do ANB.

ANB	Atividade contra <i>T. cruzi</i>				Inibição da TR			
	(% lise) ^a				(% inibição) ^b			
Concentração (µg/ml)	500	250	125	62,5	26	13	6,5	3,25
Resultado (%)	100	100	53	13	104	95	78	65

^aVioleta de genciana foi utilizada como controle positivo na dose 7,5 µg/ml; ^bClomipramina foi utilizada como controle positivo na dose 6,5 µM.

Acredita-se que o ANB possa atuar como um substrato subversivo da TR, sendo reduzido por essa enzima ao correspondente ânion radical, o qual reage com o oxigênio molecular resultando na formação de radicais livres. Concomitantemente, a redução fisiológica do substrato natural da TR (tripanotiona dissulfeto) é inibida, pois a enzima está envolvida na redução dos radicais livres formados a partir da redução do ANB. A TR é uma enzima essencial para a sobrevivência dos tripanossomatídeos e, conseqüentemente, sua inibição resulta na morte do parasito.

Tendo em vista a atividade tripanocida apresentada pelo ANB, propõe-se, nesse trabalho, a síntese de derivados do ANB apresentando maior atividade tripanocida. A atividade leishmanicida desses derivados também será avaliada já que as diferentes espécies de *Leishmania* também são dependentes da TR e sensíveis a espécies reativas de oxigênio.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

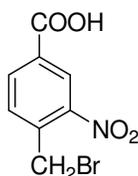
Objetivou-se com esse trabalho desenvolver novas substâncias com atividade tripanocida, leishmanicida e antitumoral, com base na estrutura do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico (ANB).

2.2 Objetivos específicos

- a) sintetizar amidas e ácidos baseados na estrutura do ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico, bem como análogos não nitrados para fins de comparação;
- b) avaliar a atividade *in vitro* das substâncias sintetizadas contra as formas tripomastigotas e amastigotas de *T. cruzi* e promastigotas de *Leishmania amazonensis*;
- c) avaliar a capacidade das substâncias sintetizadas em inibir a proliferação celular de linhagens de células neoplásicas *in vitro*;
- d) avaliar a citotoxicidade das substâncias sintetizadas para células normais para determinação da seletividade.

3 PLANO DE SÍNTESE

Considerando a capacidade de os nitroaromáticos atuarem como agentes biorredutíveis e a atividade apresentada pelo ácido 4-bromometil-3-nitrobenzóico (**2**), é de interesse a preparação de derivados do ácido (**2**) para estudos de relação estrutura-atividade, objetivando o desenvolvimento de análogos mais potentes, menos tóxicos e apresentando melhores propriedades físico-químicas.

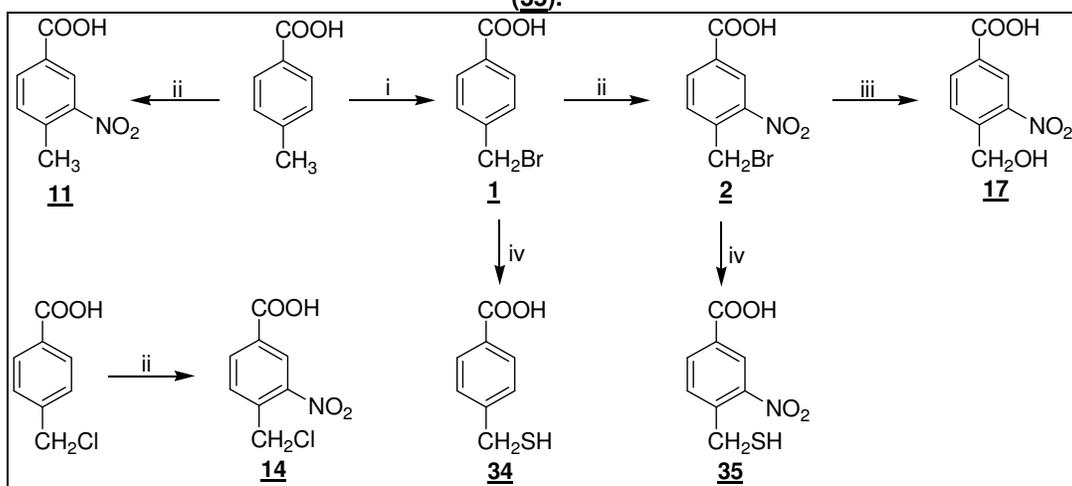


(**2**)

Com base nessas observações a síntese de uma série de ácidos e amidas relacionados ao ANB foi proposta nesse trabalho.

A síntese de ácidos apresentando diferentes substituintes na posição benzílica (-H, -Br, -Cl, -OH e -SH) foi planejada para a investigação da relevância do mecanismo de alquilação para a atividade (**Figura 3.1**). Se esse mecanismo for relevante, as substâncias apresentando melhores grupos abandonadores na posição benzílica serão, provavelmente, mais ativas.

Figura 3.1 – Plano de síntese para obtenção dos ácidos (1), (2), (11), (14), (17), (34) e (35).



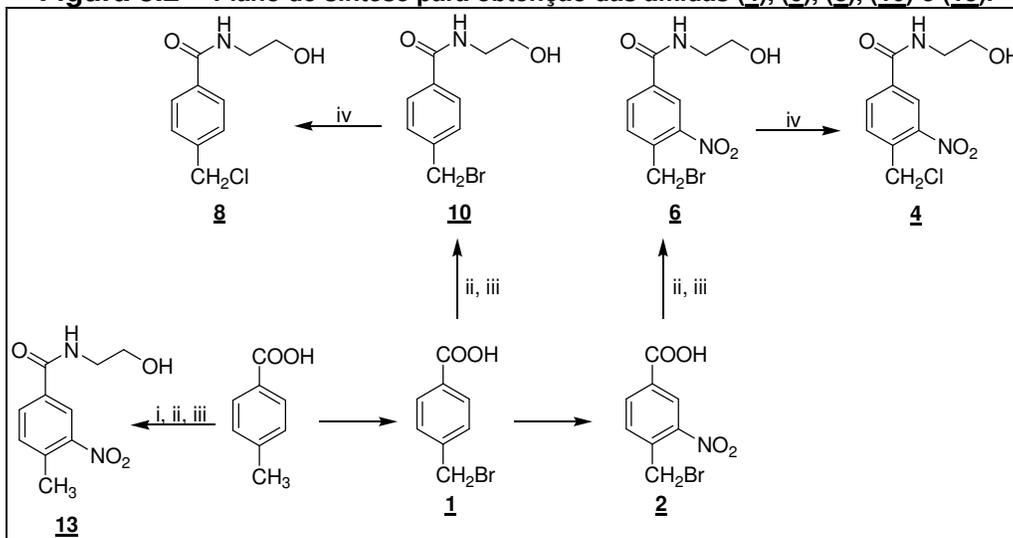
i = peróxido de benzoíla, NBS, benzeno, refluxo; ii = ácido nítrico fumegante, 0 °C; iii = sol. aquosa de NaHCO₃, 80 °C; iv = tiouréia, água, NaHCO₃, HCl.

Bromação da posição benzílica do ácido *p*-tolúico, utilizando NBS e na presença de peróxido de benzoíla como iniciador radicalar, permitirá a obtenção do derivado bromado (1). Os produtos nitrados serão obtidos por reação de substituição eletrofílica do anel aromático utilizando-se ácido nítrico fumegante. Para obtenção do derivado hidroxilado (17), o ácido (2) será submetido à reação de substituição nucleofílica com solução de bicarbonato de sódio. Os derivados (34) e (35) serão obtidos por reação com a tiouréia.

Visando à melhoria das propriedades físico-químicas e tendo em vista a importância da hidrossolubilidade para a biodisponibilidade, foi planejada a síntese de amidas derivadas do ANB apresentando maior caráter hidrossolúvel. Para isso a etanolamina foi a amina escolhida para o acoplamento com o ácido carboxílico por apresentar um grupo hidroxila hidrofílico na cadeia lateral. A síntese de análogos não nitrados será importante para comprovação da importância do grupo nitro para a atividade.

Conforme ilustrado na **Figura 3.2**, as amidas serão obtidas por ativação do ácido carboxílico correspondente com NHS, seguida do acoplamento com a etanolamina. Os análogos clorados serão obtidos por reação de substituição nucleofílica utilizando-se NaCl em DMF.

Figura 3.2 – Plano de síntese para obtenção das amidas (4), (6), (8), (10) e (13).

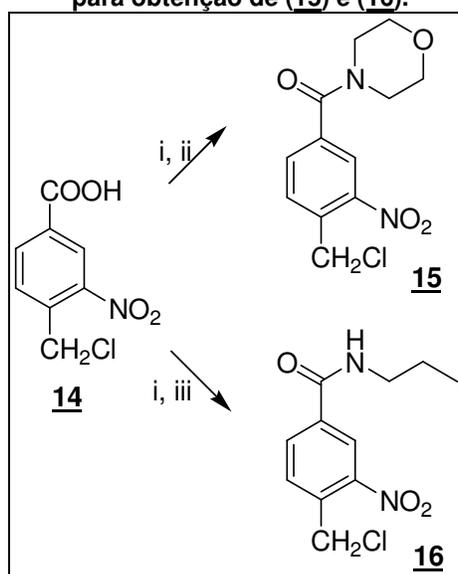


i = HNO₃ fumegante, 0 °C; ii = EDC, NHS, diclorometano, t.a.; iii = etanolamina, diclorometano; iv = NaCl, DMF.

Para avaliar a importância da hidrossolubilidade para a atividade, bem como de uma possível interação do grupo hidroxila da cadeia lateral da etanolamina com o alvo biológico (ADN), foi proposta a síntese da amida da propilamina (**16**). A amida (**15**) foi planejada como uma restrição conformacional de (**4**) a fim de se otimizar uma possível interação da cadeia lateral da amida com o biorreceptor (ADN).

A obtenção de (**15**) consistirá na ativação do ácido carboxílico (**14**) com NHS, seguida do acoplamento com a morfolina. O acoplamento do ácido ativado com a propilamina fornecerá a amida (**16**) (**Figura 3.3**).

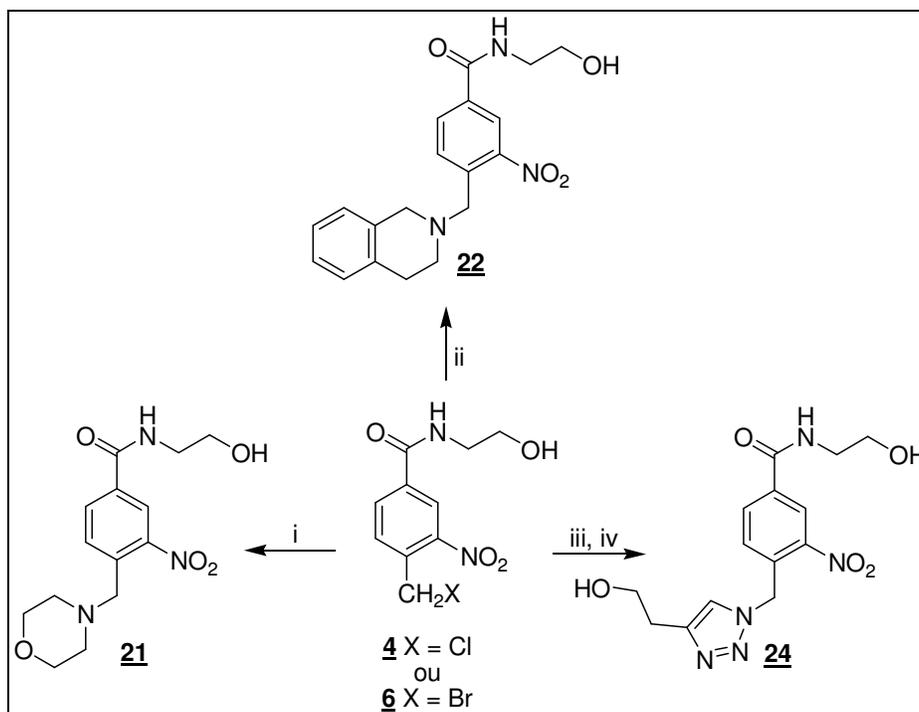
Figura 3.3 – Plano de síntese para obtenção de (15) e (16).



i = EDC, NHS, diclorometano; ii = morfolina, diclorometano, iii = propilamina, diclorometano.

Outra estratégia para melhoria das propriedades físico-químicas envolve a síntese de amidas-amina (**21**) e (**22**), bem como da amida-triazol (**24**) (**Figura 3.4**). Além de proporcionar maior hidrossolubilidade, a síntese das amidas (**21**), (**22**) e (**24**) será importante para avaliar a influência na atividade de grupos contendo nitrogênio na posição benzílica, pois, a princípio, não representam bons grupos abandonadores. Vale ressaltar que compostos contendo grupo amino na posição benzílica foram sintetizados por nosso grupo de pesquisa e apresentaram boa atividade tripanocida (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

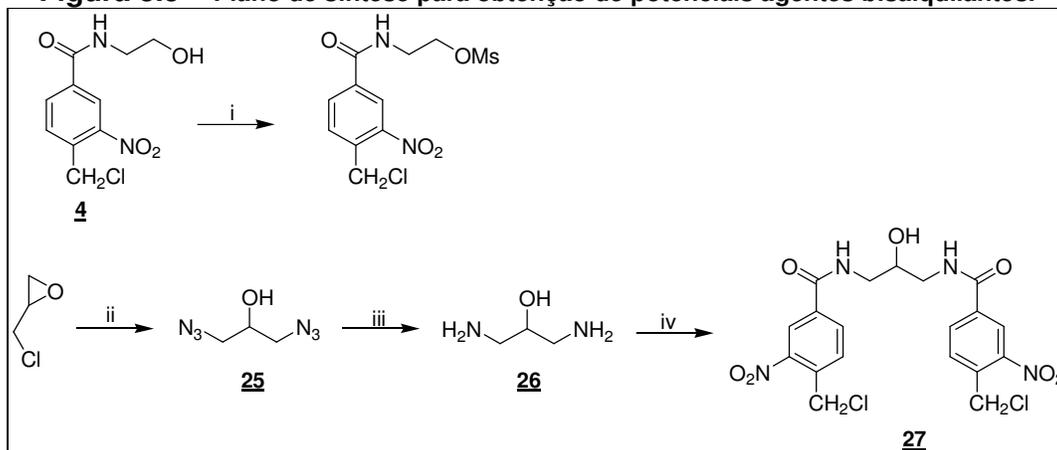
Figura 3.4 – Plano de síntese para obtenção de (21), (22), (24).



i = morfolina, acetona; ii = tetrahidroisoquinolina, acetona; iii = NaN_3 , água, acetona; iv = 3-butin-1-ol, ascorbato de sódio, CuSO_4 , *t*-butanol.

Na tentativa de aumentar a potência, foram planejados análogos como potenciais agentes bisalquilantes (**Figura 3.5**). A síntese do derivado mesilado foi proposta a partir da substituição da hidroxila de (**4**) por um bom grupo abandonador, utilizando-se cloreto de mesila. Uma série de reações a partir da epiclorodrina levaria à obtenção do derivado (**27**): substituição nucleofílica utilizando-se azida de sódio, hidrogenação catalítica e acoplamento com o ácido ativado (**3**).

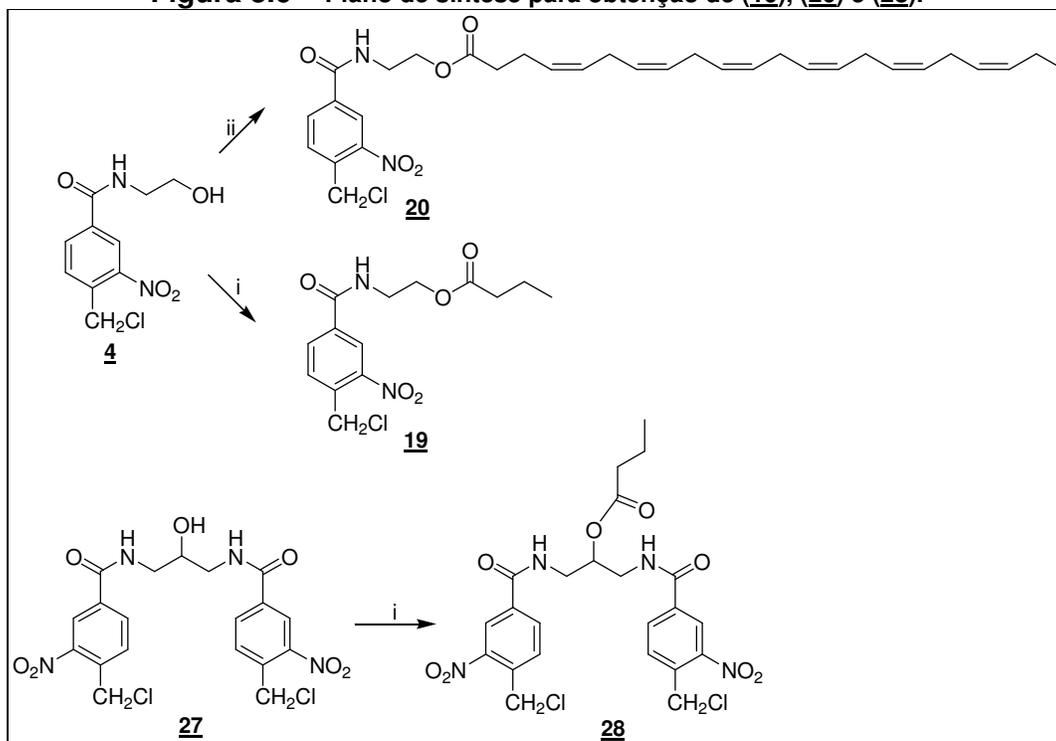
Figura 3.5 – Plano de síntese para obtenção de potenciais agentes bisalquilantes.



i = cloreto de mesila, diclorometano; ii = NaN_3 , água, acetonitrila; iii = H_2 , Pd/C; iv = **(3)**, diclorometano.

Conhecendo a atividade antitumoral de alguns ácidos graxos, foi proposta a conjugação do ácido butírico e/ou do DHA com os derivados **(4)** e **(27)** na presença de EDC e DMAP (**Figura 3.6**).

Figura 3.6 – Plano de síntese para obtenção de (19), (20) e (28).

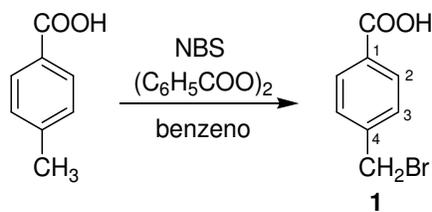


i = ácido butírico, EDC, DMAP, diclorometano; ii = DHA, EDC, DMAP, diclorometano.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese

4.1.1 Obtenção do ácido 4-bromometilbenzóico (1)

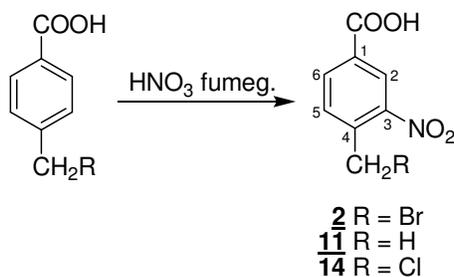


O ácido (**1**) foi obtido por reação de bromação benzílica do ácido *p*-tolúico utilizando-se NBS e peróxido de benzoíla em benzeno sob refluxo (BARANY e ALBERICIO, 1985). Após recristalização em metanol o produto foi obtido com 64% de rendimento.

No espectro de RMN de ^1H de (**1**) (**Figura B.1, p. 147**) observa-se, além dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos, um sinal em δ 4,71 referente aos hidrogênios benzílicos.

No espectro de RMN de ^{13}C de (**1**) (**Figura B.2, p. 148**) observa-se o sinal referente ao carbono ligado ao bromo em δ 33,11.

4.1.2 Obtenção dos ácidos (2), (11) e (14)



Os derivados nitrados (**2**), (**11**) e (**14**) foram obtidos por reação de substituição eletrofílica do anel aromático, a partir de (**1**), ácido *p*-tolúico e ácido 4-clorometilbenzóico, respectivamente, utilizando ácido nítrico fumegante (BARANY e ALBERICIO, 1985). Os produtos foram obtidos com 54%, 87% e 51% de rendimento, respectivamente.

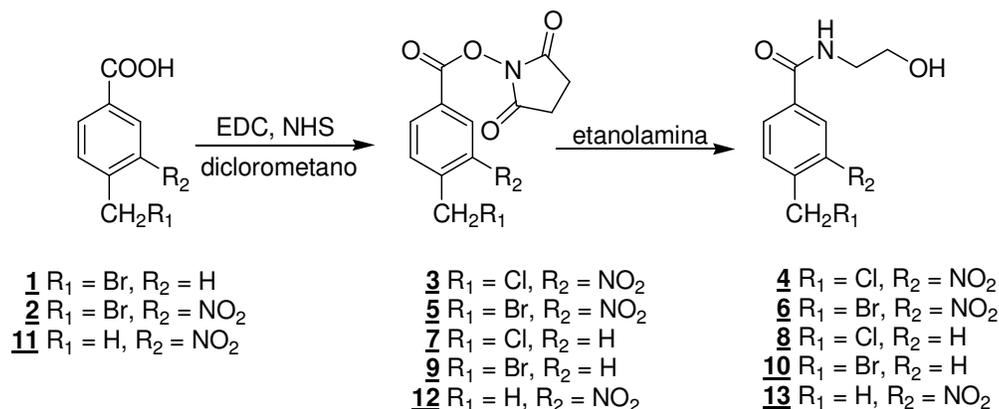
Nos espectros no infravermelho de (**2**), (**11**) e (**14**) (**Figuras A.2, p. 130, A.11, p. 135 e A.14, p. 136**) são observadas as bandas referentes às deformações axiais assimétricas e simétricas de Ar-NO₂ (~ 1530 e 1350 cm⁻¹).

Nos espectros de RMN de ¹H de (**2**) e (**14**) (**Figuras B.3, p. 149 e B.15, p. 161**) a substituição do anel aromático pode ser confirmada pelo aparecimento de 3 sinais referentes aos três hidrogênios aromáticos com multiplicidade característica de anel tri-substituído. Além disso, os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos de (**2**) aparecem em deslocamento químico maior em relação aos do material de partida. Isso se deve a um efeito de desblindagem evidenciando a introdução de um grupo retirador de elétrons ao anel.

Nos espectros de RMN de ¹³C de (**2**) e (**14**) (**Figuras B.4, p. 150 e B.16, p. 162**) observa-se, além de outros sinais, o sinal referente ao carbono ligado ao grupo nitro (δ 149,05 e 149,17 respectivamente).

A obtenção do derivado nitrado (**11**) foi confirmada pela determinação de sua faixa de fusão (184,1 – 185,2 °C) e comparação com a descrita na literatura (187 – 188 °C, WEINSTEIN *et al.*, 1962).

4.1.3 Obtenção das amidas (4), (6), (8), (10) e (13)



A primeira etapa de síntese para obtenção das amidas (**4**), (**6**), (**8**), (**10**) e (**13**) consistiu na reação de ativação dos ácidos carboxílicos correspondentes com cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) e *N*-hidroxisuccinimida (NHS) em diclorometano. Os intermediários (**3**), (**5**), (**7**), (**9**) e (**12**) foram obtidos com 92%, 73%, 86%, 74% e 88% de rendimento, respectivamente.

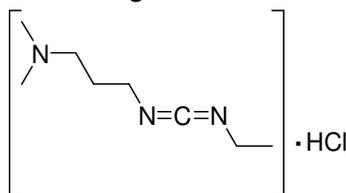
Os ésteres ativados (**3**), (**5**), (**7**), (**9**) e (**12**) foram isolados e caracterizados somente pela análise de seus espectros no infravermelho. Nos espectros no infravermelho desses intermediários (**Figuras A.3, A.5, A.7, A.9 e A.12, p. 131-135**) não se observa a banda referente à deformação axial de O-H de ácido carboxílico. Observa-se a banda relativa à deformação axial de C=O de éster e de imida nos espectros dos cinco derivados ($\sim 1730 \text{ cm}^{-1}$ e $\sim 1760 \text{ cm}^{-1}$).

A segunda etapa de síntese consistiu no acoplamento dos derivados (**3**), (**5**), (**7**), (**9**) e (**12**) com a etanolamina para obtenção das respectivas amidas.

Inicialmente, na síntese da amida (**4**), esperava-se obter a amida contendo um átomo de bromo na posição benzílica de acordo com a estrutura do respectivo material de partida (**2**). Entretanto, após análise de seu espectro de RMN de ^{13}C , observou-se a presença de um sinal em δ 42 ppm, compatível com carbono ligado a cloro. Esse sinal corresponde a um carbono metilênico no subespectro DEPT135 da amida (**4**). Geralmente, o sinal correspondente a

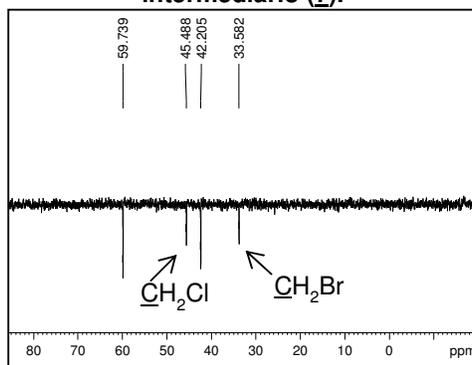
carbono benzílico ligado a bromo apresenta deslocamento químico próximo a δ 30 ppm. No espectro de RMN¹³C da amida (**4**) não se observou nenhum sinal próximo a esse deslocamento químico. Concluiu-se, portanto, que durante a reação de obtenção de (**3**) ocorreu a substituição do bromo benzílico por cloro. Isso foi possível pela presença de íons cloreto do reagente EDC no meio reacional (**Figura 4.1**).

Figura 4.1 – Estrutura do reagente EDC.



Como a reação para obtenção do éster ativado (**3**) foi mantida por 4 horas, repetiu-se o mesmo procedimento na formação de (**7**), análogo não nitrado de (**3**), objetivando-se, nesse caso, a obtenção do derivado clorado correspondente. Entretanto, após análise do espectro de RMN de ¹³C, e sub-espectro DEPT135 da amida formada, observou-se a presença de dois sinais referentes a carbonos benzílicos em δ 45,5 ppm e δ 33,6 ppm (**Figura 4.2**), evidenciando a formação de uma mistura de produtos clorado e bromado.

Figura 4.2 – Subespectro de DEPT 135 de (8**) após 4 horas de reação do intermediário (**7**).**



O maior tempo necessário para substituição completa do brometo por cloreto pode ser explicado pelo fato de o carbono benzílico do reagente não nitrado (**1**)

ser menos reativo frente à substituição nucleofílica pela ausência do efeito retirador de elétrons do grupo nitro. A fim de obter somente o produto clorado, a mistura reacional foi mantida por um tempo maior (24 horas). Observou-se assim a total substituição e formação de **(7)**.

Como os produtos bromados eram inicialmente os desejados, foi importante evitar a substituição do bromo benzílico. Para isso as reações de formação dos respectivos ésteres ativados foram realizadas sob banho de gelo e por 20 minutos. Nessas condições foram obtidos somente os produtos bromados.

Vale ressaltar que, por CCD, não há diferença de R_f entre as manchas correspondentes aos derivados clorados ou bromados. Por isso, a confirmação da formação dos produtos bromados ou clorados só é possível após a análise dos espectros de RMN de ¹³C das amidas, já que os intermediários ésteres ativados **(3)**, **(5)**, **(7)** e **(9)** foram caracterizados apenas por IV e, em seguida, foram imediatamente submetidos à próxima etapa de reação.

Os principais dados referentes à caracterização de **(4)**, **(6)**, **(8)**, **(10)** e **(13)** por espectroscopia no infravermelho, RMN de ¹H e RMN de ¹³C estão mostrados na **Tabela 4.1**.

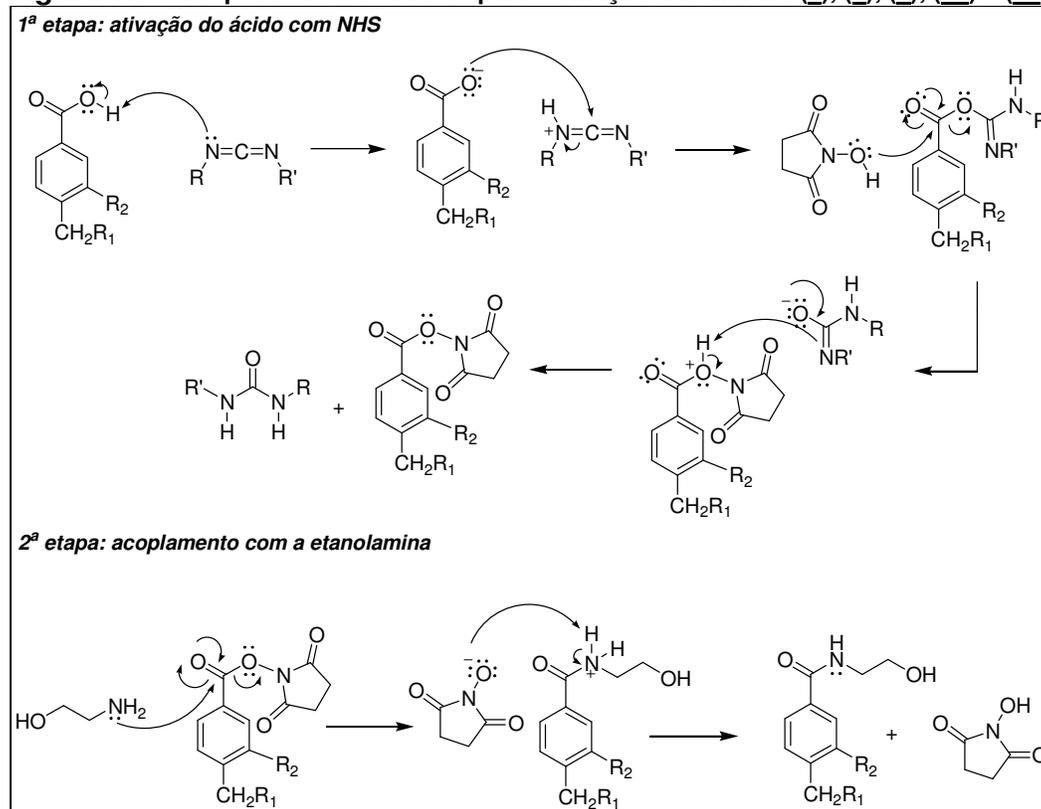
Tabela 4.1 – Dados de caracterização das amidas (4), (6), (8), (10) e (13).

	Infravermelho ($\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$)		RMN de ¹ H (δ/ppm)			RMN de ¹³ C (δ/ppm)		
	O-H e N-H	C=O	Ar-CH ₂	HN-CH ₂	CH ₂ -OH	Ar-CH ₂	HN-CH ₂	CH ₂ -OH
(4)	3473-3154	1650	5,08	3,36	3,54	~42,00	~42,00	59,52
(6)	3498-3144	1642	4,95	3,36	3,53	29,11	42,41	59,49
(8)	3508-3103	1635	4,80	3,31	3,51	45,50	42,22	59,75
(10)	3468-3007	1635	4,73	3,34	3,51	33,55	42,19	59,72
(13)	3534-3154	1647	2,54	3,35	3,52	19,54	42,35	59,58

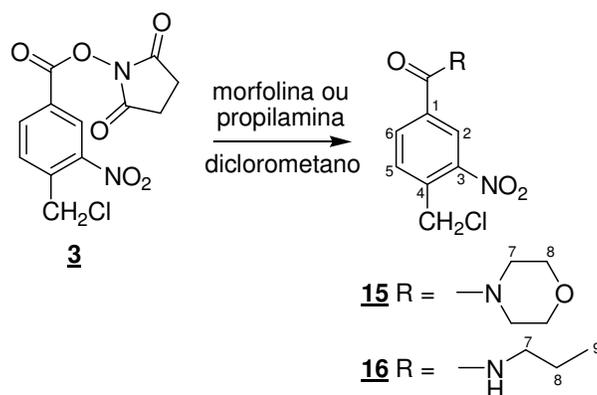
Nos espectros no infravermelho das amidas **(4)**, **(6)**, **(8)**, **(10)** e **(13)** (**Figuras A.4, A.6, A.8, A.10 e A.13, p. 131-136**) observam-se bandas referentes à deformação axial de O-H e N-H bem como bandas referentes à deformação axial de C=O característica de amida (**Tabela 4.1**).

Nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C das amidas é possível observar que o deslocamento químico referente aos hidrogênios e carbono benzílicos é maior nas amidas cloradas quando comparado aos das amidas análogas bromadas (**Tabela 4.1**). O efeito retirador de elétrons de um substituinte eletronegativo diminui a densidade eletrônica ao redor dos prótons ligados ao carbono. Quanto mais eletronegativo o substituinte maior o efeito de “desblindagem” e maior o deslocamento químico do carbono e dos hidrogênios ligados a ele (PAVIA, 2001). Como o cloro é mais eletronegativo que o bromo, o carbono e hidrogênios benzílicos dos derivados clorados estão mais desblindados que o dos derivados bromados. O carbono e hidrogênios metílicos de (**13**) são mais blindados e aparecem em deslocamento químico menor, pois não apresentam um substituinte retirador de elétrons ligado.

O mecanismo proposto para a formação das amidas (**Figura 4.3**) (CLAYDEN, 2001) está dividido em duas etapas. Na primeira etapa ocorre o ataque nucleofílico do oxigênio desprotonado do ácido carboxílico ao carbono da diimida gerando um bom grupo abandonador. Em seguida o par de elétrons do oxigênio do NHS ataca a carbonila formando a estrutura do ácido ativado e da uréia. Na segunda etapa ocorre a substituição nucleofílica à carbonila pela etanolamina regenerando a *N*-hidroxisuccinimida.

Figura 4.3 – Proposta de mecanismo para formação das amidas (4), (6), (8), (10) e (13).

4.1.4 Obtenção das amidas (15) e (16)



A amida (**15**) foi sintetizada por acoplamento de (**3**) com a morfolina em diclorometano com 77% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **(15)** (**Figura A.15, p. 137**) são observadas bandas referentes à deformação axial de C-H alifático (2966, 2923, 2857 cm^{-1}), C=O de amida (1630 cm^{-1}) e C-O de éter (1100 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **(15)** (**Figura B.17, p. 163**) observa-se, além de outros sinais, um simpleto largo referente aos hidrogênios da cadeia da morfolina (δ 3,67, integral para 8H).

No espectro de RMN de ^{13}C de **(15)** (**Figura B.18, p. 164**) observam-se os sinais referentes a C=O de amida (δ 167,42), C-7 (δ 42,96) e C-8 (δ 67,10).

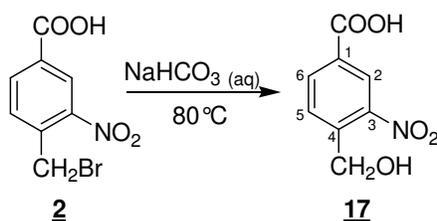
A amida **(16)** foi sintetizada pelo acoplamento de **(3)** com a propilamina em diclorometano com 80% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **(16)** (**Figura A.16, p. 137**) são observadas bandas referentes à deformação axial de N-H (3291 cm^{-1}), C-H alifático (2964, 2932, 2874 cm^{-1}) e C=O de amida (1634 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **(16)** (**Figura B.19, p. 165**) são observados os sinais referentes aos hidrogênios NH (δ 8,17), H-7 (δ 3,43), H-8 (δ 1,63) e H-9 (δ 0,94).

No espectro de RMN de ^{13}C de **(16)** (**Figura B.20, p. 166**) são observados, dentre outros, sinais referentes à carbonila de amida (δ 164,67) e aos carbonos da cadeia lateral C-7, C-8 e C-9 (δ ~ 42, 23,33 e 11,69, respectivamente).

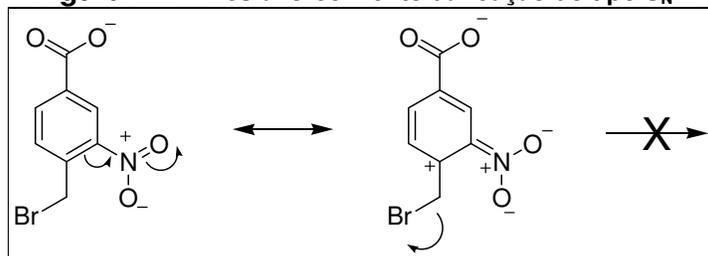
4.1.5 Obtenção do ácido 4-(hidroximetil)-3-nitrobenzóico (17)



O ácido (**17**) foi sintetizado a partir de (**2**) em presença de solução aquosa de carbonato de sódio, a 80 °C, por 1 hora (NICOLÁS *et al.*, 1997). O produto foi obtido com 86% de rendimento.

Essa reação trata-se de uma substituição nucleofílica provavelmente do tipo S_N2. Mesmo sendo possível a formação de um carbocátion benzílico, que é mais estável pela deslocalização da carga positiva, o anel aromático apresenta um grupo retirador de elétrons forte (NO₂) que pode desestabilizar o carbocátion em um mecanismo S_N1 (**Figura 4.4**) (CLAYDEN, 2001).

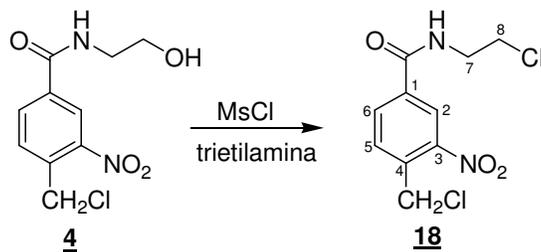
Figura 4.4 – Desfavorecimento da reação do tipo S_N1.



No espectro no infravermelho de (**17**) (**Figura A.17, p. 138**) é observada banda característica de deformação axial C-O de álcool primário (1031 cm⁻¹). A banda de estiramento O-H de álcool encontra-se encoberta pela banda de O-H do ácido carboxílico.

No espectro de RMN de ¹³C de (**17**) (**Figura B.22, p. 168**) não é observado sinal referente a carbono ligado ao bromo e observa-se um sinal com deslocamento químico compatível com carbono ligado a OH (δ 61,53).

4.1.6 Obtenção de 4-(clorometil)-3-nitro-N-(2-cloroetil)benzamida (**18**)

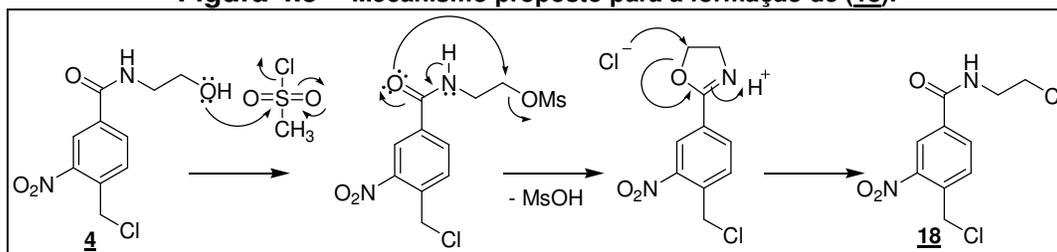


O derivado (**18**) foi sintetizado por reação de (**4**) com cloreto de mesila e trietilamina em diclorometano por 18 horas. O produto foi obtido com 84% de rendimento.

Durante a reação ocorre, inicialmente, a mesilação da hidroxila gerando um bom grupo abandonador frente a uma substituição nucleofílica. O produto mesilado era o produto esperado para essa reação. Porém, os íons cloreto presentes no meio de reação, atuaram como nucleófilo e deslocaram o grupo mesilato, formando o derivado diclorado (**18**).

Para explicar a formação do produto diclorado (**18**), foi proposto um mecanismo que envolve, em uma primeira etapa, o deslocamento do mesilato assistido pelo grupo amido. Ocorre a formação de um intermediário cíclico de 5 membros que sofre ataque nucleofílico do íon cloreto originando o produto (**18**) (**Figura 4.5**). A reação de formação do intermediário cíclico é favorecida pela proximidade dos grupos (reação intramolecular) e pela estabilidade do anel de 5 membros que possui baixa tensão angular.

Figura 4.5 – Mecanismo proposto para a formação de (18**).**

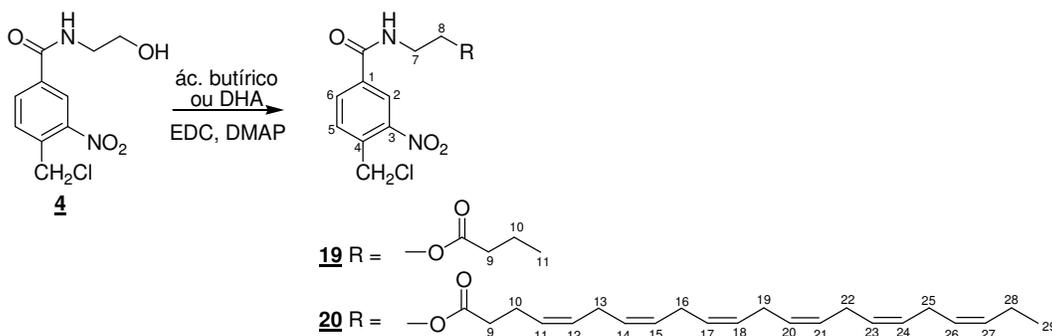


No espectro no infravermelho de (**18**) (**Figura A.18, p. 138**) não se observam as bandas características de grupo mesila, o que é um indício que não foi formado o produto esperado.

No espectro de RMN de ^1H de (**18**) (**Figura B.23, p. 169**) observam-se os sinais referentes ao NH (δ 8,45), hidrogênios aromáticos (δ 8,55, 8,26 e 7,92), CH_2Cl (δ 5,11), H-7 e H-8 (δ 3,78, integral para 4H).

No espectro de RMN de ^{13}C de **(18)** (**Figura B.24, p. 170**) observam-se os sinais referentes aos carbonos C-7, C-8 e CH_2Cl (δ 43,48, 42,97 e 42,74, intercambiáveis) e carbonila de amida (δ 165,08). O deslocamento químico de C-8 é característico de carbono ligado a cloro e, portanto, uma evidência da formação do produto diclorado.

4.1.7 Obtenção de (19) e (20)



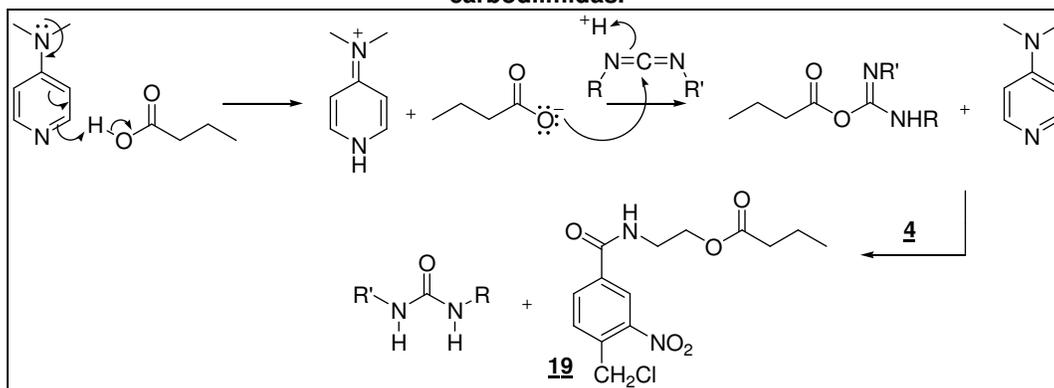
Os produtos **(19)** e **(20)** foram sintetizados por reação de **(4)** com o ácido carboxílico correspondente em presença de EDC e *N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP).

Inicialmente uma tentativa de síntese de **(19)** foi realizada por reação do ácido butírico com EDC e NHS para formação do éster ativado, seguida do acoplamento desse intermediário com **(4)**. Entretanto, na etapa de acoplamento, observou-se por CCD que não houve consumo dos materiais de partida. Após elaboração, a análise do espectro no infravermelho do resíduo obtido confirmou tratar-se do material de partida. Deste modo foi proposta a reação em uma única etapa utilizando-se EDC e DMAP.

Para obtenção de **(19)** utilizou-se o ácido butírico e o rendimento foi de 87%. Para síntese de **(20)** o ácido carboxílico utilizado foi o ácido (4*Z*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenóico (DHA) e o rendimento da reação foi de 75%.

Nessa reação o DMAP foi utilizado como catalisador e funciona como uma base produzindo pequena quantidade do ânion carboxilato, mais reativo (**Figura 4.6**).

Figura 4.6 – Papel do DMAP como catalisador em reações de acoplamento utilizando carbodiimidas.



No espectro no infravermelho de (**19**) (**Figura A.19, p. 139**) não se observa a banda referente à deformação axial de O-H. Observam-se as bandas características de deformação axial de N-H (3318 cm^{-1}), C=O de éster (1731 cm^{-1}) e C=O de amida (1645 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de (**19**) (**Figura B.25, p. 171**) são observados os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos (δ 8,42, 8,06 e 7,77) e hidrogênios da cadeia do ácido butírico H-9 (δ 2,31), H-10 (δ 1,63) e H-11 (δ 0,91).

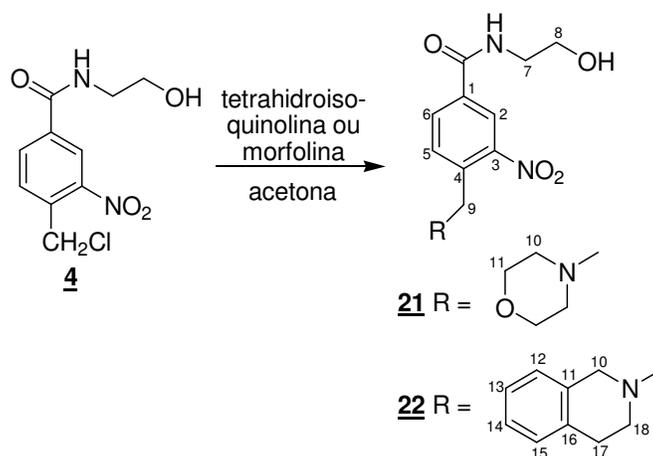
No espectro de RMN de ^{13}C de (**19**) (**Figura B.26, p. 172**) são observados os sinais referentes à carbonila de éster (δ 174,34), carbonila de amida (δ 164,67), carbonos aromáticos (δ 147,73 - 123,74), carbonos metilênicos C-9 (δ 35,93) e C-10 (δ 18,27) e carbono metílico C-11 (δ 13,54).

No espectro no infravermelho de (**20**) (**Figura A.20, p. 139**) não se observa a banda referente à deformação axial de O-H. Observam-se as bandas características de deformação axial de N-H (3313 cm^{-1}), C=O de éster (1734 cm^{-1}) e C=O de amida (1648 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **(20)** (**Figura B.27, p. 173**) são observados os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos (δ 8,53, 8,27 e 7,89), hidrogênios de alquenos (δ 5,36, integral para 12H) e demais hidrogênios do DHA.

No espectro de RMN de ^{13}C de **(20)** (**Figura B.28, p. 174**) são observados os sinais referentes à carbonila de éster (δ 173,17), carbonila de amida (δ 165,00), C=C (δ 129,68-127,86, 12 sinais) e demais carbonos do DHA.

4.1.8 Obtenção de (21) e (22)



A síntese das aminas **(21)** e **(22)** ocorreu por reação de substituição nucleofílica do haleto benzílico pela amina correspondente. O composto **(21)** foi obtido da reação de **(4)** com a morfolina em acetona (64% de rendimento).

No espectro no infravermelho de **(21)** (**Figura A.21, p. 140**) observa-se a presença da banda referente à deformação axial de C-O de éter (1113 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **(21)** (**Figura B.30, p. 176**) são observados, além de outros sinais, os sinais referentes aos hidrogênios H-9 (δ 3,74), H-10 (δ 2,36-2,32) e H-11 (δ 3,57-3,53).

No espectro de RMN de ^{13}C de (**21**) (Figura B.31, p. 177) são observados, dentre outros, os sinais correspondentes a C-9 ($\delta \sim 60,00$), C-10 ($\delta 54,63$) e C-11 ($\delta 67,92$).

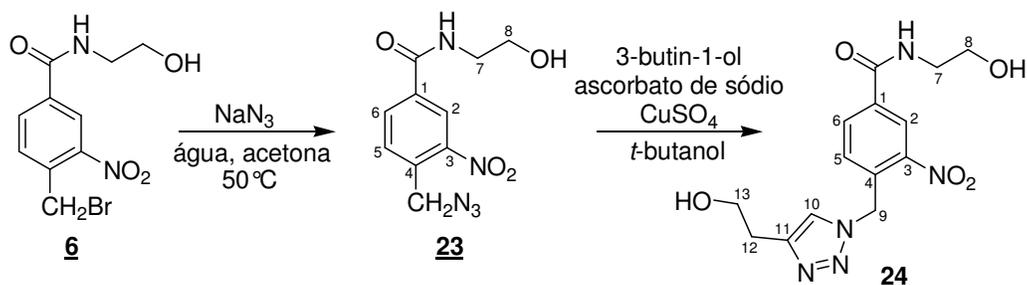
Os deslocamentos químicos de H-9 e C-9 são compatíveis com o esperado para hidrogênios e carbonos benzílicos, respectivamente, vizinhos a nitrogênio de amina.

O composto (**22**) foi obtido a partir da reação de (**6**) com a tetrahydroisoquinolina (THIQ) em acetona (56% de rendimento).

No espectro de RMN de ^1H de (**22**) (Figura B.32, p. 178) são observados os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos H-12 a H-15 (multiplete, $\delta 7,10$ - $7,00$, integral para 4H) e alifáticos H-8 e H-10 (multiplete, $\delta 3,56$ - $3,52$, integral para 4H), H-17 ($\delta 2,64$ - $2,61$) e H-18 ($\delta 2,74$ - $2,71$) além dos sinais referentes aos hidrogênios da porção nitroaromático.

No espectro de RMN de ^{13}C de (**22**) (Figura B.33, p. 179) são observados os sinais correspondentes a C-9 ($\delta 55,47$) e aos carbonos aromáticos. Os deslocamentos químicos de H-9 e C-9 são compatíveis com o esperado para hidrogênios e carbonos benzílicos, respectivamente, vizinhos a nitrogênio de amina.

4.1.9 Obtenção de 4-[4-(2-hidroxietil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]metil-3-nitro-N-(2-hidroxietil)benzamida (**24**)



O triazol (**24**) foi obtido em 2 etapas a partir do derivado (**6**). A primeira etapa consistiu na substituição do brometo benzílico por azida de sódio em água e acetona na temperatura de 50 °C. O derivado azido foi obtido com 73% de rendimento.

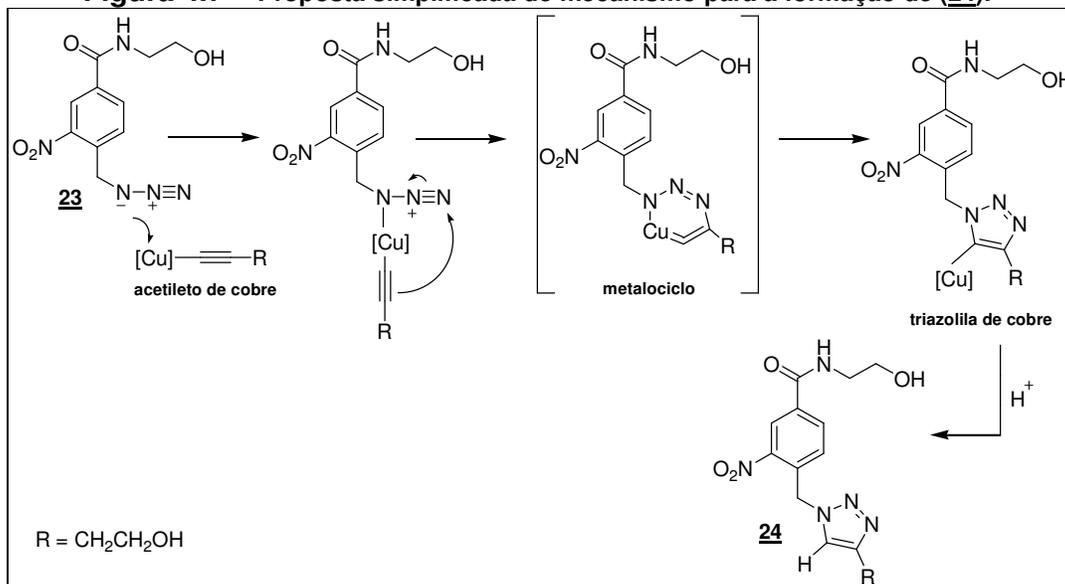
No espectro no infravermelho de (**23**) (**Figura A.23, p. 141**) observa-se a banda característica de deformação axial de azida (2110 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^{13}C de (**23**) (**Figura B.35, p. 181**) observa-se o sinal referente ao CCH_2N_3 (δ 50,75).

A segunda etapa consistiu na reação do tipo “click” entre a azida orgânica (**23**) e um alcino terminal (3-butin-1-ol) catalisada por Cu(I) (**Figura 4.7**) (JEONG e RYU, 2010). Após 24 horas de reação, o heterociclo foi obtido com 97% de rendimento.

Conforme descrito na literatura (FREITAS *et al.*, 2011; ROSTOVTSEV *et al.*, 2002; FREITAS *et al.*, 2008), essa reação resulta na formação regioespecífica do 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído. O mecanismo de formação do triazol está representado na **Figura 4.7**. Inicialmente, ocorre a formação do acetileno de cobre (I) que se complexa ao nitrogênio da azida. Em seguida, ocorre o ataque do carbono do acetileno ao nitrogênio eletrofílico terminal da azida orgânica resultando na formação do metalociclo instável. A contração do anel leva à formação do triazolila de cobre que sofre protonólise originando o 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído.

Figura 4.7 – Proposta simplificada de mecanismo para a formação de (24).



No espectro de RMN de ¹H de **(24)** (Figura B.36, p. 182) observam-se os sinais referentes a H-10 (δ 7,95), H-12 (δ 2,79) e H-13 (δ 3,64-3,34).

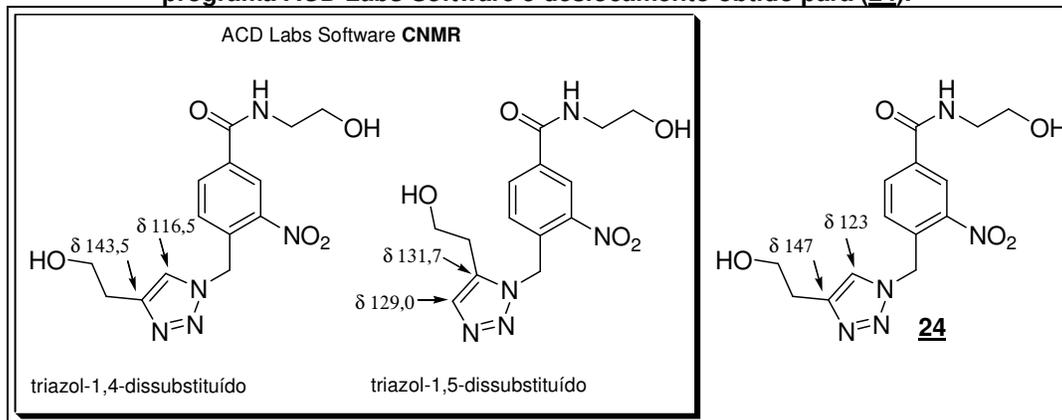
No espectro de RMN de ¹³C de **(24)** (Figura B.37, p. 183) observam-se os sinais referentes aos carbonos C-10 (δ 123,79) e C-11 (δ 147,35) e não é observado nenhum sinal na região esperada para alcinos (δ 75 a 95) (PAVIA, 2001).

Nos espectros de RMN não há sinais duplicados, o que indica que não há mistura de produtos, confirmando a regioespecificidade da reação. Porém, para caracterização inequívoca de qual regioisômero foi obtido seria necessária a realização de outros experimentos, como, por exemplo, análise do mapa de contornos HMBC.

Na tentativa de confirmar a estrutura de **(24)**, os espectros de RMN de ¹H e ¹³C dos correspondentes triazóis 1,4- e 1,5-dissubstituídos foram simulados utilizando-se o programa *ACD Labs Software* e comparados com os valores de deslocamento químico no espectro real de **(24)**. Não se observou diferença significativa entre o deslocamento químico do sinal referente ao hidrogênio do anel heterocíclico 1,4- e 1,5-dissubstituído. Entretanto, a diferença nos

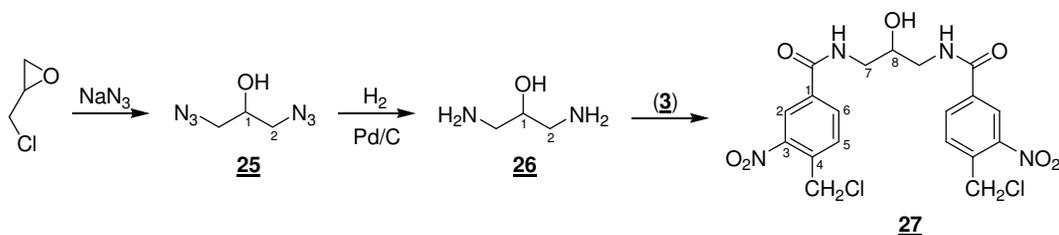
deslocamentos químicos dos sinais dos carbonos do anel é significativa, conforme ilustrado na **Figura 4.8**.

Figura 4.8 – Deslocamento químico dos carbonos do heterociclo simulados pelo programa *ACD Labs Software* e deslocamento obtido para (**24**).



Com base nos dados apresentados na **Figura 4.8** os deslocamentos químicos dos carbonos do triazol na estrutura de (**24**) é compatível com a formação de um anel 1,4-dissubstituído.

4.1.10 Obtenção de *N,N*-bis-(4-clorometil-3-nitrobenzoil)-1,3-diaminopropan-2-ol (**27**)



A síntese da diamida (**27**) foi realizada pelo acoplamento de (**3**) com o derivado diamino (**26**) via ligações amida. O derivado (**26**) foi sintetizado em duas etapas a partir da epicloroidrina.

A primeira etapa consistiu na reação da epicloroidrina com azida de sódio em água e acetonitrila, sob refluxo, por 18 horas. O derivado diazido (**25**) foi obtido com 99% de rendimento.

No espectro no infravermelho de **(25)** (**Figura A.25, p. 142**) observam-se as bandas referentes à deformação axial O-H (3355 cm^{-1}) e N_3 (2089 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **(25)** (**Figura B.38, p. 184**) observa-se um quinteto correspondente a H-1 ($\delta 3,91$) e um duplete, com integral para 4H, correspondente a H-2 ($\delta 3,37$).

No espectro de RMN de ^{13}C de **(25)** (**Figura B.39, p.185**) o deslocamento químico de C-1 ($\delta 69,47$) é compatível com o deslocamento esperado para carbono ligado a OH e o de C-2 ($\delta 53,81$) também é esperado para carbono ligado a azida.

Na segunda etapa os grupos azido foram reduzidos a amino via hidrogenação catalítica utilizando-se Pd/C como catalisador. O derivado diamino **(26)** foi obtido com 92% de rendimento e foi utilizado sem purificação prévia.

No espectro no infravermelho de **(26)** (**Figura A.26, p. 142**) observam-se as bandas correspondentes à deformação axial O-H e N-H (3356 e 3294 cm^{-1}).

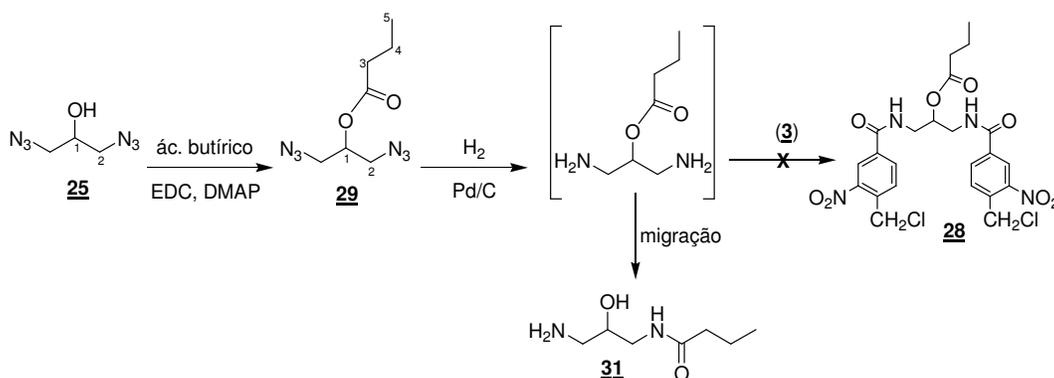
A última etapa para obtenção de **(27)** consistiu no acoplamento de **(3)** e **(26)** em uma mistura de THF e água. Após purificação por CCD em escala preparativa, o produto foi obtido com 14% de rendimento. O baixo rendimento pode ser atribuído à formação de subprodutos como consequência do ataque nucleofílico da amina ao carbono benzílico e produto de formação de apenas uma ligação amida (amida-amina). Esses subprodutos não foram isolados, pois podem ter permanecido na fase aquosa após extração com solução de HCl (etapa de elaboração).

No espectro no infravermelho de **(27)** (**Figura A.27, p. 143**) são observadas as bandas referentes às deformações axiais de O-H e N-H (3670 - 3134 cm^{-1}) e C=O de amida (1640 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **(27)** (**Figura B.42, p. 188**) observam-se, dentre outros, os sinais correspondentes aos hidrogênios NH (δ 8,49, integral para 2H), H-7 (δ 3,59) e H-8 (δ 4,07).

No espectro de RMN de ^{13}C de **(27)** (**Figura B.43, p. 189**) observam-se os sinais correspondentes a C=O de amida (δ 165,61), C-7 (δ 44,35) e C-8 (δ 69,97).

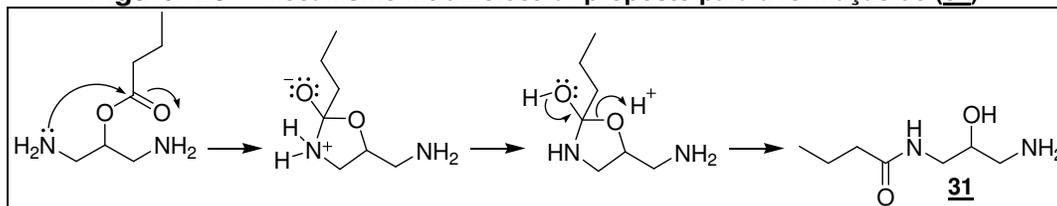
4.1.11 Obtenção de *N,N*-bis-(4-clorometil-3-nitrobenzoi)-2-butanoiloxi-1,3-diaminopropano (28)



A síntese de **(28)** foi inicialmente planejada a partir da hidrogenação catalítica do intermediário diazido-éster **(29)**. Entretanto, durante a reação ocorreu migração do éster com conseqüente formação da monoamida correspondente.

Essa migração pode ser inter ou intramolecular. Como as reações intramoleculares são favorecidas, devido à proximidade dos grupos, foi proposto um mecanismo intramolecular para a formação de **(31)** (**Figura 4.9**).

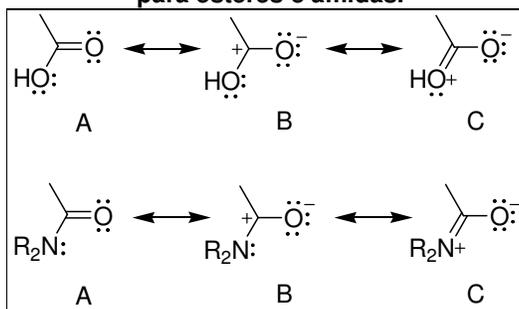
Figura 4.9 – Mecanismo intramolecular proposto para a formação de (31).



A migração do éster é favorecida em razão do maior caráter nucleofílico da amina em relação ao álcool e maior caráter eletrofílico da carbonila do éster em relação à carbonila da amida.

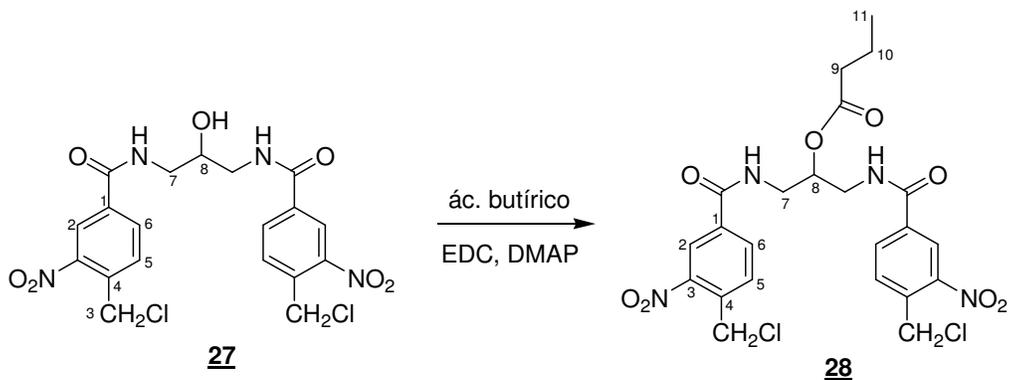
A menor reatividade e menor eletrofilia da amida em relação ao éster pode ser explicada ao se analisar as estruturas de ressonância para os dois grupos (**Figura 4.10**) (COSTA, 2003).

Figura 4.10 – Estruturas de ressonância para ésteres e amidas.



Cada grupo pode ser representado como o somatório das estruturas canônicas (A, B e C) multiplicado pelo fator de contribuição de cada uma para o híbrido de ressonância. A forma canônica C contribui mais para o híbrido de ressonância das amidas do que dos ésteres pela menor eletronegatividade e melhor habilidade de aceitar a carga positiva do nitrogênio em relação ao oxigênio. Dessa forma, a maior contribuição de C, onde a carga positiva não está no carbono, faz com que a carbonila das amidas sejam menos reativas.

Em razão da migração, essa rota foi redirecionada para a síntese do derivado **(33)** (**subitem 4.1.12, p. 73**). Assim, uma nova rota de síntese foi proposta para **(28)**, conforme mostrado a seguir.



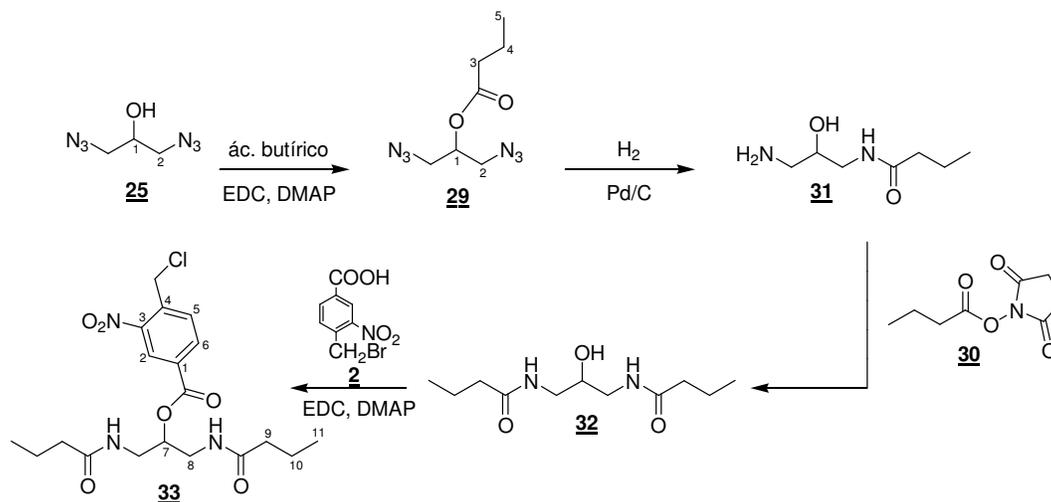
O diamido-éster (**28**) foi obtido a partir da reação de (**27**) com ácido butírico em presença de EDC e DMAP. O rendimento da reação foi de 72%.

No espectro no infravermelho de (**28**) (**Figura A.28, p. 143**) observam-se as bandas referentes às deformações axiais de N-H (3310 cm^{-1}), C=O de éster (1731 cm^{-1}) e C=O de amida (1645 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de (**28**) (**Figura B.44, p. 190**) observam-se, dentre outros, os sinais referentes aos hidrogênios metilênicos H-9 (δ 2,28) e H-10 (δ 1,57) e aos hidrogênios metílicos H-11 (δ 0,86).

No espectro de RMN de ^{13}C de (**28**) (**Figura B.45, p. 191**) observam-se os sinais referentes à C=O de éster (δ 173,31), C=O de amida (δ 165,49), C-9 (δ 36,48), C-10 (δ 18,79) e C-11 (δ 13,81).

4.1.12 Obtenção de *N,N'*-dibutanoil-2-[4-(clorometil)-3-nitrobenzoiloxi]-1,3-diaminopropano (**33**)



A síntese de (**33**) foi realizada pelo acoplamento do ácido (**2**) com o derivado (**32**). O derivado (**32**) foi sintetizado em três etapas a partir de (**25**).

A primeira etapa de síntese do derivado (**32**) consistiu na reação do ácido butírico com o diazido (**25**) em presença de EDC e DMAP, resultando na formação do diazido-éster (**29**) com 43% de rendimento.

No espectro no infravermelho de (**29**) (Figura A.29, p. 144) observam-se as bandas correspondentes às deformações axiais de azida (2093 cm^{-1}) e C=O de éster (1738 cm^{-1}). Não se observa banda referente à deformação axial de O-H.

No espectro de RMN de ^1H de (**29**) (Figura B.47, p. 193) são observados os sinais correspondentes a H-3 (δ 2,36), H-4 (δ 1,68) e H-5 (δ 0,96).

No espectro de RMN de ^{13}C de (**29**) (Figura B.48, p. 194) observam-se os sinais correspondentes a carbonila de éster (δ 172,58), C-3 (δ 35,90), C-4 (δ 18,14) e C-5 (δ 13,47).

A segunda etapa consistiu na hidrogenação catalítica de (**29**) utilizando-se Pd/C como catalisador e THF como solvente (85% de rendimento).

No espectro no infravermelho de **(31)** (**Figura A.31, p. 145**) observam-se as bandas referentes às deformações axiais de O-H e N-H ($3640-3124\text{ cm}^{-1}$) e C=O de amida (1640 cm^{-1}). Não se observa banda correspondente à deformação axial C=O de éster. O intermediário **(31)** foi utilizado na próxima etapa de síntese sem purificação prévia.

A etapa seguinte consistiu no acoplamento de **(31)** com **(30)**. O derivado **(30)** foi sintetizado previamente pela ativação do ácido butírico em presença de EDC e NHS (88% de rendimento).

O acoplamento de **(31)** com **(30)** em THF resultou na obtenção da diamida **(32)** com 20% de rendimento. O baixo rendimento pode ser atribuído, à perda de parte do produto durante a etapa de extração. Em razão de sua polaridade, parte do produto pode ter permanecido na fase aquosa.

No espectro no infravermelho de **(32)** (**Figura A.32, p. 145**) observam-se as bandas referentes às deformações axiais de N-H e O-H ($3600-3149\text{ cm}^{-1}$) e C=O de amida (1625 cm^{-1}).

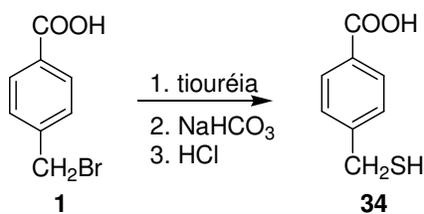
A última etapa consistiu no acoplamento do ácido **(2)** com o derivado **(32)** em presença de EDC e DMAP. O produto **(33)** foi obtido com 62% de rendimento. Como o reagente de acoplamento utilizado foi o EDC, novamente houve a substituição do bromo benzílico pelo cloro resultando no produto desejado **(33)**.

No espectro no infravermelho de **(33)** (**Figura A.33, p. 146**) são observadas as bandas correspondentes à deformação axial de N-H (3297 cm^{-1}), C=O de éster (1726 cm^{-1}) e C=O de amida (1647 cm^{-1}).

No espectro de RMN de ^1H de **(33)** (**Figura B.49, p. 195**) observam-se os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos (δ 8,56 - 7,95), H-7 (δ 5,19), H-8 (δ 3,67-3,43), H-9 (δ 2,14), H-10 (δ 1,58) e H-11 (δ 0,87).

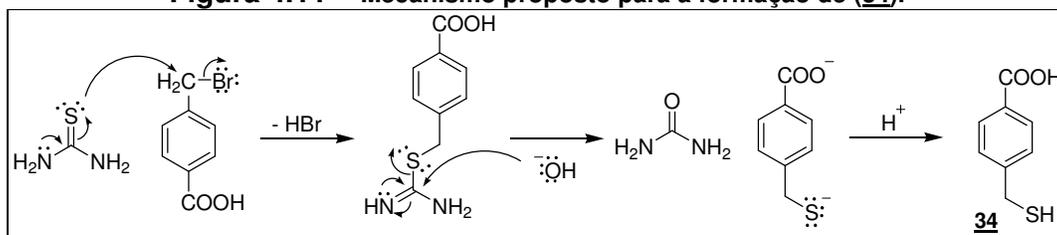
No espectro de RMN de ^{13}C de **(33)** (Figura B.50, p. 196) são observados os sinais referentes a C=O de éster (δ 173,78), C=O de amida (δ 164,19) e CH_2Cl (δ 42,84).

4.1.13 Obtenção do ácido 4-(mercaptometil)benzóico (34)



O ácido **(34)** foi obtido a partir da reação de **(1)** com tiouréia em água sob refluxo, seguida da adição de NaHCO_3 e posterior acidificação com HCl 1 M, com 55% de rendimento (Figura 4.11) (BROWN, *et al.*, 1982).

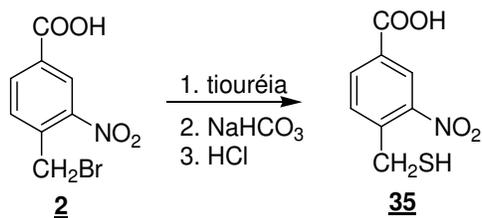
Figura 4.11 – Mecanismo proposto para a formação de (34).



No espectro de RMN de ^1H de **(34)** (Figura B.52, p. 198) observam-se, dentre outros, os sinais referentes aos hidrogênios benzílicos CH_2SH em δ 3,78 e ao hidrogênio SH em δ 2,96.

No espectro de RMN de ^{13}C de **(34)** (Figura B.53, p.199) observa-se o sinal referente ao CH_2SH em δ 27,44.

4.1.14 Obtenção do ácido 4-(mercaptometil)-3-nitrobenzóico (35)



Para obtenção do derivado nitrado (**35**) foi realizado o mesmo procedimento de obtenção do ácido (**34**). Entretanto, ao final da reação, CCD evidenciou a formação de vários produtos. Para obtenção de (**35**) uma nova rota de síntese foi planejada e será executada futuramente.

4.2 Ensaio biológicos

4.2.1 Avaliação da atividade citotóxica

Para avaliação da citotoxicidade dos compostos sintetizados foram utilizadas três linhagens de células tumorais humanas: HL60 (leucemia), Jurkat (linfoma) e MCF-7 (tumor de mama). As substâncias foram testadas, inicialmente, na concentração de 50 μM . A concentração que inibe 50% do crescimento celular (CI_{50}) foi determinada para as substâncias ativas na triagem inicial (% proliferação celular $\leq 50\%$). Etoposídeo foi utilizado como controle positivo na concentração de 14 μM .

A toxicidade das substâncias para as células normais também foi avaliada utilizando-se células mononucleares do sangue periférico (PBMC). Os resultados obtidos estão ilustrados na **Tabela 4.2**.

Jurkat (19,36 μM). A substituição da hidroxila por cloro (**18**) foi desfavorável para a atividade. Entretanto, a esterificação da hidroxila com o ácido butírico (**19**) aumentou a atividade contra a linhagem MCF-7, o que indica uma seletividade para determinados tipos de câncer. O amido-éster (**19**) foi ativo *per se*, mas, provavelmente, a ligação éster será clivada pelas esterases *in vivo*, liberando a amida (**4**) ativa e o ácido butírico, que já é conhecido apresentar atividade citotóxica e efeito significativo na diferenciação celular.

O amido-éster (**20**) apresentou baixa atividade citotóxica ($\text{CI}_{50} \geq 100 \mu\text{M}$) contra as linhagens de células avaliadas. O amido-éster (**20**) pode, então, ser considerado um “pró-fármaco”, com liberação *in vivo* da amida (**4**) ativa. A presença do DHA na estrutura de (**20**) pode ser importante para o seu acúmulo no tumor, em razão do consumo acelerado de ácidos graxos pelas células tumorais.

A ausência do grupo nitro nas amidas (**8**) e (**10**) foi desfavorável para a citotoxicidade nas três linhagens testadas quando comparadas com as análogas nitradas (**4**) e (**6**), demonstrando, assim, que o grupo nitro é importante para a atividade.

A maior atividade da amida (**6**) em relação ao ácido carboxílico correspondente (**2**) pode estar relacionada a melhores características físico-químicas. As amidas derivadas da etanolamina apresentam solubilidade no meio do ensaio consideravelmente maior do que a dos derivados ácidos.

O derivado dinitrado (**27**) foi o mais ativo contra a linhagem MCF-7 ($\text{CI}_{50} = 22,92 \mu\text{M}$). Nesse caso, a presença de duas unidades nitroaromáticas na mesma molécula pode ter favorecido a atividade por representar um potencial agente bis-alquilante.

Ao contrário do esperado, o derivado (**6**) contendo o grupo bromometila (melhor grupo abandonador) foi menos ativo quando comparado ao análogo clorado (**4**), exceto contra a linhagem MCF-7. Resultado oposto foi observado

contra PBMC, indicando maior toxicidade do derivado bromado para as células normais.

A maior toxicidade dos compostos bromados (**1**) e (**6**) pode estar associada à propriedade alquilante intrínseca do grupo bromometila. O grupo clorometila é menos reativo *per se* e conseqüentemente menos tóxico. A menor reatividade do cloreto benzílico é, provavelmente, consequência da maior força da ligação C-Cl (81 KJ.mol^{-1}) comparada à ligação C-Br (67 KJ.mol^{-1}). É mais fácil ocorrer a quebra da ligação C-Br do que C-Cl.

Vale ressaltar que esses compostos podem ser ainda mais ativos quando avaliados *in vivo*, já que nos testes *in vitro* não é possível simular o processo de biorredução, necessário para a formação de espécies ainda mais reativas, conforme proposta original desse trabalho.

4.2.2 Avaliação da atividade tripanocida e leishmanicida

Para avaliação *in vitro* da atividade tripanocida, os compostos foram testados contra formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi* e para a atividade leishmanicida foram utilizadas formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Os compostos foram testados, inicialmente, na concentração de $100 \mu\text{M}$ e CI_{50} foi determinada para os compostos ativos. Os dados obtidos estão ilustrados na **Tabela 4.3**.

Dos compostos testados apenas os derivados (**19**) e (**22**) apresentaram atividade considerável contra formas amastigotas de *T. cruzi*. (13,9 e 83 μ M respectivamente).

Com relação à atividade leishmanicida, 4 derivados foram ativos com valores de CI_{50} na faixa de 23 a 89 μ M. A presença do grupo nitro, bem como de um bom grupo abandonador na posição benzílica, parece ser importante para a atividade. Os derivados apresentando o bromo na posição benzílica foram mais ativos que seus análogos clorados.

As células de mamíferos possuem vários mecanismos de defesa contra espécies reativas de oxigênio, o que pode explicar a baixa citotoxicidade dos nitrocompostos (**4**) e (**18**) para PBMC (**Tabela 4.2**) comparada a *Leishmania*. Nas células de mamíferos a baixa concentração de espécies reativas de oxigênio é mantida pela ação da superóxido dismutase, glutathione peroxidase e glutathione reductase. Os tripanossomatídeos apresentam superóxido dismutase, que impede o acúmulo do ânion radical superóxido. Entretanto, as enzimas antioxidantes catalase e glutathione peroxidase estão ausentes no parasito, resultando em uma limitada capacidade de remover H_2O_2 e conseqüentemente, maior suscetibilidade ao estresse oxidativo.

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, Perkin-Elmer com sistema ATR (Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFMG). Todas as deformações apresentadas na descrição dos espectros no infravermelho correspondem a deformações axiais 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 nenhuma correlação com a nomenclatura IUPAC.

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 ou solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v.

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

As purificações por cromatografia em camada delgada em escala preparativa foram realizadas em placas de vidro com 1,0 mm de espessura de sílica (sílica gel 60G Merck com indicador de fluorescência 254 nm). Como revelador foi utilizada lâmpada UV 254 nm.

A avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* foi realizada em colaboração com a Profa. Dra. Ana Paula Salles M. Fernandes (Faculdade de Farmácia, UFMG). Foi utilizado ensaio colorimétrico que envolve a conversão de um sal de tetrazolium, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium (MTT), em um produto colorido (formazam), cuja quantidade produzida é proporcional ao número de células viáveis. Formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* foram semeadas em placas de 96 poços (1×10^7 parasitas por poço). Os compostos foram adicionados à suspensão de *Leishmania amazonensis* em diferentes concentrações. Após 48 horas de incubação adicionou-se 10 µL de MTT (10 mg/mL) em cada poço e as placas foram incubadas por mais 4 horas. A reação de conversão do MTT foi parada pela adição de 100 µL de solução 10% dodecil sulfato de sódio / 50% isopropanol. Utilizou-se anfotericina B como controle positivo. A densidade óptica foi medida a 570 nm usando um leitor de ELISA (BioSource, Inc., EUA). Foram realizados três experimentos independentes, em duplicata. Os resultados foram processados utilizando-se MiniTab[®].

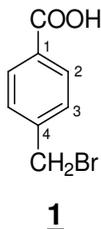
A avaliação da atividade tripanocida *in vitro* foi realizada em colaboração com o Dr. Álvaro José Romanha (Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ). No ensaio foi utilizada uma cepa de *T. cruzi* (Tulahuen) transformada para expressar β-galactosidase, enzima que é capaz de catalisar uma reação colorimétrica quando o vermelho de clorofenil-β-D-galactopiranosídeo (CPRG) é utilizado como substrato (BUCKNER *et al.*, 1996). Células de fibroblastos L929 foram semeadas em placas de 96 poços, 4.000 células por poço, seguido de incubação “overnight” em estufa a 37 °C para a adesão da célula à superfície. Após incubação, a infecção foi feita com 10 parasitas/célula durante 2 h. Após esse período, o meio contendo os parasitas extracelulares foi substituído por meio novo e a placa novamente incubada a 37 °C durante 48 h. O meio de cultura foi substituído por 160 µL de meio novo, além dos compostos

diluídos numa concentração de 20 µg/mL em 40 µL de DMSO 5% em meio, e a placa incubada a 37 °C por 96 h. Após esse período, foi adicionado o substrato CPRG aos poços, a placa incubada a 37 °C, e a leitura realizada após 16-20 h em espectrofotômetro utilizando um filtro de 570 nm. Em paralelo, foram utilizados os seguintes controles: células não infectadas, células infectadas não tratadas, benznidazol (1 µg/mL) (controle positivo) e DMSO diluído em meio a uma concentração final de 1% (controle negativo). Os resultados foram expressos como a porcentagem de redução da absorbância dos poços experimentais em comparação com a absorbância dos poços com células infectadas não tratadas.

A avaliação da atividade citotóxica *in vitro* foi realizada em colaboração com a Profa. Dra. Elaine Maria de Souza-Fagundes (Instituto de Ciências Biológicas, UFMG). Para a linhagem de células Jurkat, foi utilizada concentração de 100.000 células/poço (placas de 96 poços), para a linhagem HL60 utilizou-se a concentração de 50.000 células/poço e por último, utilizou-se a concentração de 40.000 células/poço para a linhagem MCF-7. Todas foram incubadas por 24 horas a 37 °C, 5% CO₂ para estabilização. Após estabilização, todas as células foram incubadas com as substâncias por 48 horas em atmosfera de 5% CO₂ e 100% de umidade, 37 °C. Os ensaios foram realizados em triplicata utilizando-se como controle positivo o etoposídeo, composto já utilizado na terapia anti-câncer. Foi realizado um controle do solvente (DMSO) na mesma concentração das amostras testes. A proliferação e viabilidade celular foram avaliadas pelo ensaio de MTT (MONKS *et al.*, 1991). Pouco antes do término do período de incubação das culturas, foram adicionados a cada poço 20 µL de uma solução de MTT (2,5 mg/mL). Após a formação dos cristais de formazan (4 horas), o sobrenadante foi cuidadosamente retirado à vácuo. A cada poço foram adicionados 200 µL de uma solução de HCl 0,04 M em isopropanol. Após solubilização dos cristais de formazan formados pela metabolização do MTT pelas células viáveis, as placas foram lidas em leitor de ELISA a um comprimento de onda de 595 nm.

5.2 Procedimentos

5.2.1 Síntese do ácido 4-(bromometil)benzóico (1)



A um balão de fundo redondo contendo ácido *p*-tolúico (20,0 g; 0,147 mol) e peróxido de benzoíla (0,712 g; 2,94 mmol) em benzeno (200 mL), sob refluxo, foi adicionado *N*-bromosuccinimida (26,17 g; 0,147 mol). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 5 horas. Após resfriamento até temperatura ambiente filtrou-se o precipitado formado. Em seguida adicionou-se água (140 mL) ao precipitado coletado e aqueceu-se a mistura em banho de óleo a 75 °C. Após 1 hora o ácido desejado foi obtido por filtração a quente e lavado com água em ebulição. O produto foi recristalizado em metanol obtendo-se 20,1 g (64% de rendimento).

F.M.: C₈H₇O₂Br

M.M.: 215 g/mol

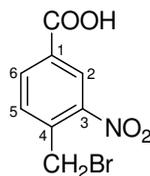
F.F.: 218,1 – 219,6 °C; lit.: 220 – 222 °C (BARANY e ALBERICIO, 1985).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3286-2324 (O-H); 1674 (C=O); 1609, 1575, 1508 (C=C).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,03 (d; 2H; H-2; *J*_{2,3} = 8,4); 7,60 (d; 2H; H-3; *J*_{2,3} = 8,4); 4,71 (s; 2H; CH₂Br).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-*d*₆; 50 MHz): 167,05 (C=O); 144,16 (C-4); 131,16 (C-1); 130,82 (C-2); 130,11 (C-3); 33,11 (CH₂Br).

5.2.2 Síntese do ácido 4-(bromometil)-3-nitrobenzóico (**2**)



2

A um balão de fundo redondo contendo ácido nítrico fumegante (60 mL), a 0 °C, adicionou-se o ácido (**1**) (8,0 g, 0,037 mol) lentamente. A mistura permaneceu sob agitação magnética por 1 hora. Em seguida adicionou-se gelo pilado à solução reagente e filtrou-se o precipitado formado lavando com água destilada gelada. O produto foi recristalizado em diclorometano/hexano, obtendo-se (**2**) como um sólido amarelo claro (4,33 g, 54% de rendimento).

F.M.: C₈H₆O₄NBr

M.M.: 260 g/mol

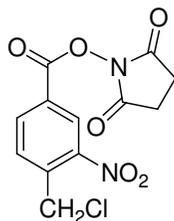
F.F.: 128,9 – 130,8 °C; lit.: 128 – 130 °C (BARANY e ALBERICIO, 1985).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3265-2359 (O-H); 1697 (C=O); 1619, 1567 (C=C); 1532 (ArNO₂, N=O assim.); 1348 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-d₆; 200 MHz): 8,59 (d; 1H; H-2; J_{2,6} = 1,6); 8,30 (dd; 1H; H-6; J_{2,6} = 1,6; J_{5,6} = 8,0); 7,91 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 5,00 (s, 2H, CH₂Br).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-d₆; 50 MHz): 165,28 (C=O); 149,05 (C-3); 137,97 (C-4); 135,02 (C-6); 134,00 (C-5); 133,00 (C-1); 126,96 (C-2); 28,94 (CH₂Br).

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



3

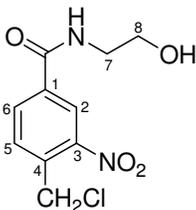
A um balão de fundo redondo foram adicionados o ácido (**2**) (0,3 g, 1,15 mmol), NHS (0,212 g, 1,85 mmol), EDC (0,354 g, 1,85 mmol) e diclorometano (6 mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 4 horas. Em seguida adicionaram-se ao balão 50 mL de diclorometano e a solução foi vertida em funil 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). Quantidades adicionais foram obtidas pelo mesmo procedimento.

F.M.: C₁₂H₉O₆N₂Cl

M.M.: 312,5 g/mol

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

5.2.4 Síntese de 4-(clorometil)-3-nitro-*N*-(2-hidroxietil)benzamida (**4**)



4

A um balão de fundo redondo contendo (**3**) (0,330 g, 1,06 mmol) foi adicionado diclorometano (3 mL). Após solubilização adicionou-se ao balão, gota a gota, solução de etanolamina (0,129 g, 2,11 mmol) em diclorometano (3 mL). A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, revelador: iodo). Após o término da reação (4 horas) adicionaram-se ao balão 50 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 30 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (1 x 15 mL) e água destilada (2 x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi recristalizado em acetato de etila. Obteve-se 0,110 g de um sólido branco (41% de rendimento). Quantidades adicionais foram obtidas pelo mesmo procedimento.

F.M.: C₁₀H₁₁O₄N₂Cl

M.M.: 258,5 g/mol

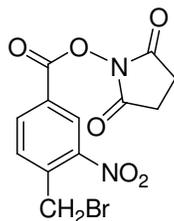
F.F.: 133,4 – 135,0 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3473-3154 (N-H e O-H); 2973 (C-H); 1650 (C=O); 1538 (ArNO₂, N=O assim.); 1332 (ArNO₂, N=O sim.); 1056,1045 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; DMSO-*d*₆; 200 MHz): 8,82 (t; 1H; NH; J_{NH,7} = 5,6); 8,52 (d; 1H; H-2; J_{2,6} = 1,6); 8,21 (dd; 1H; H-6; J_{2,6} = 1,6; J_{5,6} = 8,0); 7,88 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 5,08 (s; 2H; CH₂Cl); 3,54 (t; 2H; H-8; J_{7,8} = 5,6); 3,36 (q; 2H; H-7; J_{NH,7} = J_{7,8} = 5,6).

RMN de ¹³C (δ/ppm; DMSO-*d*₆; 50 MHz): 163,78 (C=O); 147,73 (C-3); 135,95 (C-4); 134,44 (C-1); 132,40 (C-6); 132,26 (C-5); 123,85 (C-2); 59,52 (C-8); 42,43; 42,31 (CH₂Cl; C-7).

5.2.5 Síntese de *N*-[4-(bromometil)-3-nitrobenzoiloxi]succinimida (**5**)



5

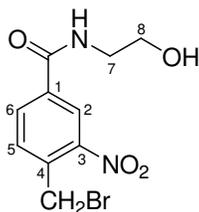
A um balão de fundo redondo foram adicionados o ácido (**2**) (0,3 g, 1,15 mmol), NHS (0,212 g, 1,85 mmol), EDC (0,354 g, 1,85 mmol) e diclorometano (6 mL) sob agitação magnética e banho de gelo. Após 20 minutos adicionaram-se ao balão 50 mL de diclorometano e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com água destilada (3 x 50 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Obteve-se 0,300 g de um sólido amarelado (73% de rendimento).

F.M.: C₁₂H₉O₆N₂Br

M.M.: 357 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2995, 2945 (C-H); 1761 (C=O succinimida); 1731 (C=O de éster); 1618 (C=C); 1536 (ArNO₂, N=O assim.); 1357 (ArNO₂, N=O sim.); 1194 (C-O).

5.2.6 Síntese de 4-(bromometil)-3-nitro-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida (**6**)



6

A um balão de fundo redondo contendo **(5)** (0,300 g, 0,84 mmol) foi adicionado diclorometano (3 mL). Após solubilização adicionou-se ao balão, gota a gota e sob banho de gelo, solução de etanolamina (0,103 g, 1,68 mmol) em diclorometano (3 mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética e banho de gelo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, revelador: iodo). Após o término da reação (4 horas) adicionaram-se ao balão 50 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 30 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (1 x 15 mL) e água destilada (2 x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Obteve-se 0,165 g de um sólido branco (65% de rendimento). Quantidades adicionais foram obtidas pelo mesmo procedimento.

F.M.: $C_{10}H_{11}O_4N_2Br$

M.M.: 303 g/mol

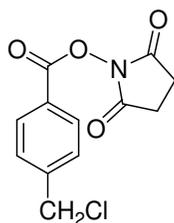
F.F.: 141,8 – 142,6 °C

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3498-3144 (N-H e O-H); 2932, 2883 (C-H); 1642 (C=O); 1527 (ArNO₂, N=O assim.); 1327 (ArNO₂, N=O sim.); 1060 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; DMSO-*d*₆; 200 MHz): 8,81 (sl; 1H; NH); 8,51 (d; 1H; H-2; $J_{2,6} = 1,6$); 8,18 (dd; 1H; H-6; $J_{2,6} = 1,6$; $J_{5,6} = 8,0$); 7,85 (d; 1H; H-5; $J_{5,6} = 8,0$); 4,95 (s; 2H; CH₂Br); 3,53 (t; 2H; H-8; $J_{7,8} = 5,5$); 3,36 (m; 2H; H-7).

RMN de ¹³C (δ/ppm; DMSO-*d*₆; 50 MHz): 163,76 (C=O); 147,62 (C-3); 135,92 (C-4); 134,96 (C-1); 132,87 (C-6); 132,38 (C-5); 123,98 (C-2); 59,49 (C-8); 42,41 (C-7); 29,11 (CH₂Br).

5.2.7 Síntese de *N*-[4-(clorometil)benzoiloxi]succinimida (7)



7

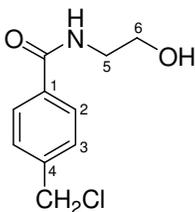
A um balão de fundo redondo foram adicionados o ácido (**1**) (0,1 g, 0,46 mmol), NHS (0,086 g, 0,74 mmol), EDC (0,142 g, 0,74 mmol) e diclorometano (5mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 24 horas. Em seguida adicionaram-se ao balão 50 mL de diclorometano e a solução foi vertida em funil 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 0,107 g (86% de rendimento). Quantidades adicionais foram obtidas pelo mesmo procedimento.

F.M.: C₁₂H₁₀O₄NCl

M.M.: 267,5 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2949 (C-H); 1766 (C=O succinimida); 1726 (C=O de éster); 1609 (C=C); 1202 (C-O).

5.2.8 Síntese de 4-(clorometil)-*N*-(2-hidroxietil)benzamida (8)



8

A um balão de fundo redondo contendo (**7**) (0,300 g, 1,12 mmol) foi adicionado diclorometano (3 mL). Após solubilização adicionou-se ao balão, gota a gota, solução de etanolamina (0,137 g, 2,24 mmol) em diclorometano (3 mL). A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, revelador: iodo). Após o término da reação (4 horas) adicionaram-se ao balão 50 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 30 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (1 x 15 mL) e água destilada (2 x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi recristalizado em acetato de etila. Obteve-se 0,091 g de um sólido branco (38% de rendimento).

F.M.: $C_{10}H_{12}O_2NCl$

M.M.: 213,5 g/mol

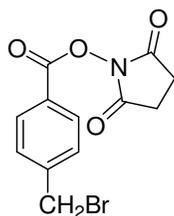
F.F.: 115,8 – 117,8 °C

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3508-3103 (N-H e O-H); 2942, 2884 (C-H); 1635 (C=O); 1613, 1571 (C=C); 1061,1037 (C-O).

RMN de 1H (δ /ppm; J /Hz; DMSO- d_6 ; 200 MHz): 8,47 (sl; 1H; NH); 7,85 (d; 2H; H-2; $J_{2,3} = 8,0$); 7,51 (d; 2H; H-3; $J_{2,3} = 8,0$); 4,80 (s; 2H; CH_2Cl); 3,51 (t; 2H; H-6; $J_{5,6} = 5,8$); 3,31 (m; 2H; H-5).

RMN de ^{13}C (δ /ppm; DMSO- d_6 ; 50 MHz): 165,94 (C=O); 140,54 (C-4); 134,44 (C-1); 128,69 (C-3); 127,60 (C-2); 59,75 (C-6); 45,50 (CH_2Cl); 42,22 (C-5).

5.2.9 Síntese de *N*-[4-(bromometil)benzoiloxi]succinimida (**9**)



9

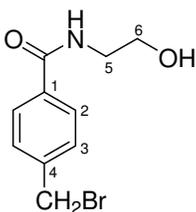
A um balão de fundo redondo foram adicionados o ácido (**1**) (1,0 g, 4,65 mmol), NHS (0,855 g, 7,44 mmol), EDC (1,425 g, 7,44 mmol) e diclorometano (10 mL) sob agitação magnética e banho de gelo. Após 20 minutos adicionaram-se ao balão 50 mL de diclorometano e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com água destilada (3 x 50 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Obteve-se 1,068 g de um sólido amarelado (74% de rendimento).

F.M.: C₁₂H₁₀O₄NBr

M.M.: 312 g/mol

IV (ν /cm⁻¹): 2942 (C-H); 1765 (C=O succinimida); 1729 (C=O de éster); 1609 (C=C); 1200 (C-O).

5.2.10 Síntese de 4-(bromometil)-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida (**10**)



10

A um balão de fundo redondo contendo (**9**) (1,068 g, 3,43 mmol) foi adicionado diclorometano (5 mL). Após solubilização adicionou-se ao balão, gota a gota e

sob banho de gelo, solução de etanolamina (0,420 g, 6,86 mmol) em diclorometano (5 mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética e banho de gelo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, revelador: iodo). Após o término da reação (4 horas) adicionaram-se ao balão 50 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 30 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (1 x 15 mL) e água destilada (2 x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi recristalizado em acetato de etila. Obteve-se 0,264 g de um sólido branco (30% de rendimento).

F.M.: $C_{10}H_{12}O_2NBr$

M.M.: 258 g/mol

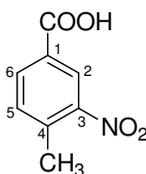
F.F.: 131,3 – 132,9 °C

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3468-3007 (N-H e O-H); 2942, 2884 (C-H); 1635 (C=O); 1061,1039 (C-O).

RMN de 1H (δ /ppm; J /Hz; DMSO- d_6 ; 200 MHz): 8,45 (sl; 1H; NH); 7,83 (d; 2H; H-2; $J_{2,3} = 8,0$); 7,52 (d; 2H; H-3; $J_{2,3} = 8,0$); 4,73 (s; 2H; CH_2Br); 3,51 (t; 2H; H-6; $J_{5,6} = 5,8$); 3,34 (m; 2H; H-5).

RMN de ^{13}C (δ /ppm; DMSO- d_6 ; 50 MHz): 165,84 (C=O); 140,94 (C-4); 134,37 (C-1); 129,11 (C-3); 127,58 (C-2); 59,72 (C-6); 42,19 (C-5); 33,55 (CH_2Br).

5.2.11 Síntese do ácido 4-metil-3-nitrobenzóico (11)



11

A um balão de fundo redondo contendo ácido nítrico fumegante (12 mL), a 0 °C, adicionou-se o ácido *p*-tolúico (0,920 g, 6,76 mmol) lentamente. A mistura permaneceu sob agitação magnética por 1 hora. Em seguida adicionou-se gelo pilado à solução reagente e filtrou-se o precipitado formado lavando com água gelada. Obteve-se 1,070 g (87% de rendimento).

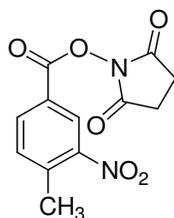
F.M.: C₈H₇O₄N

M.M.: 181 g/mol

F.F.: 184,1 – 185,2 °C; lit.: 187 – 188 °C (WEINSTEIN *et al.*, 1962).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3260-2329 (O-H); 1685 (C=O); 1621, 1567 (C=C); 1531 (ArNO₂, N=O assim.); 1351 (ArNO₂, N=O sim.).

5.2.12 Síntese de *N*-(4-metil-3-nitrobenzoiloxi)succinimida (**12**)



12

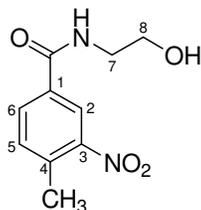
A um balão de fundo redondo foram adicionados o ácido (**11**) (0,3 g, 1,66 mmol), NHS (0,305 g, 2,65 mmol), EDC (0,508 g, 2,65 mmol) e diclorometano (15 mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 4 horas. Em seguida adicionaram-se ao balão 50 mL de diclorometano e a solução foi vertida em 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, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Obteve-se 0,405 g de um sólido amarelado (88% de rendimento).

F.M.: C₁₂H₁₀O₆N₂

M.M.: 278 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2947 (C-H); 1774 (C=O succinimida); 1727 (C=O de éster); 1618 (C=C); 1529 (ArNO₂, N=O assim.); 1359 (ArNO₂, N=O sim.); 1204 (C-O).

5.2.13 Síntese de 4-metil-3-nitro-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida (**13**)



13

A um balão de fundo redondo contendo (**12**) (0,405 g, 1,46 mmol) foi adicionado diclorometano (5 mL). Em seguida adicionou-se ao balão, gota a gota, solução de etanolamina (0,178 g, 2,92 mmol) em diclorometano (5 mL). A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, revelador: iodo). Após o término da reação (4 horas) adicionaram-se ao balão 50 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 30 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (1 x 15 mL) e água destilada (2 x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi recristalizado em acetato de etila. Foi obtido 0,156 g de um sólido branco (47% de rendimento).

F.M.: C₁₀H₁₂O₄N₂

M.M.: 224 g/mol

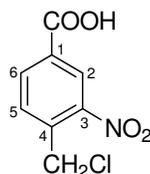
F.F.: 148,6 – 149,1 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3534-3154 (N-H e O-H); 2952, 2892 (C-H); 1647 (C=O); 1622, 1562 (C=C); 1530 (ArNO₂, N=O assim.); 1357 (ArNO₂, N=O sim.); 1060,1048 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; DMSO-d₆; 200 MHz): 8,71 (sl; 1H; NH); 8,45 (s; 1H; H-2); 8,08 (d; 1H; H-6; J_{5,6} = 8,0); 7,58 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 3,52 (t; 2H; H-8; J_{7,8} = 5,7); 3,35 (m; 2H; H-7); 2,54 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (δ/ppm; DMSO-d₆; 50 MHz): 164,11 (C=O); 148,69 (C-3); 135,77 (C-4); 133,54 (C-1); 132,96 (C-6); 131,69 (C-5); 123,14 (C-2); 59,58 (C-8); 42,35 (C-7); 19,54 (CH₃).

5.2.14 Síntese do ácido 4-(clorometil)-3-nitrobenzóico (**14**)



14

A um balão de fundo redondo contendo ácido nítrico fumegante (10 mL), a 0 °C, adicionou-se ácido 4-clorometilbenzóico (1,0 g, 4,64 mmol) lentamente. A mistura permaneceu sob agitação magnética por 1 hora. Em seguida adicionou-se gelo pilado à solução reagente e filtrou-se o precipitado formado lavando com água destilada gelada. O produto foi recristalizado em diclorometano/hexano, obtendo-se (**14**) como um sólido amarelo claro (0,649 g, 51% de rendimento).

F.M.: C₈H₆O₄NCI

M.M.: 215,5 g/mol

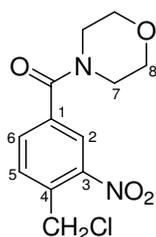
F.F.: 141,2 – 143,3 °C; lit.: 138 – 140 °C (HAMED *et al.*, 1995).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3362-2324 (O-H); 1696 (C=O); 1622, 1570 (C=C); 1532 (ArNO₂, N=O assim.); 1356 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-d₆; 200 MHz): 8,60 (s; 1H; H-2); 8,35 (d; 1H; H-6; J_{5,6} = 8,0); 7,96 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 5,13 (s, 2H, CH₂Cl).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-d₆; 50 MHz): 165,31 (C=O); 149,17 (C-3); 137,49 (C-4); 135,04 (C-6); 133,27 (C-5); 133,03 (C-1); 126,78 (C-2); 42,94 (CH₂Cl).

5.2.15 Síntese de *N*-[4-(clorometil)-3-nitrobenzoil]morfolina (**15**)



15

A um balão de fundo redondo contendo (**3**) (0,116 g, 0,37 mmol) foi adicionado diclorometano (2 mL). Após solubilização adicionou-se ao balão, gota a gota, solução de morfolina (0,065 g, 0,75 mmol) em diclorometano (2 mL). A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, revelador: iodo). Após o término da reação (4 horas) adicionaram-se ao balão 40 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 20 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (1 x 15 mL) e água destilada (2 x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,082 g de um sólido branco (77% de rendimento).

F.M.: C₁₂H₁₃O₄N₂Cl

M.M.: 284,5 g/mol

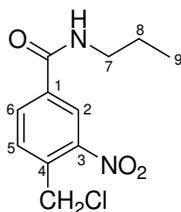
F.F.: 84,2 – 85,2 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2966, 2923, 2857 (C-H); 1630 (C=O); 1531 (ArNO₂, N=O assim.); 1347 (ArNO₂, N=O sim.); 1100 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-d₆; 200 MHz): 8,12 (s; 1H; H-2); 7,90-7,80 (m; 2H; H-5 e H-6); 5,09 (s; 2H; CH₂Cl); 3,67 (sl; 8H; H-7 e H-8).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-d₆; 50 MHz): 167,42 (C=O); 149,03 (C-3); 138,60 (C-4); 134,11 (C-1); 133,03 (C-5 e C-6); 67,10 (C-8); 42,96 (C-7 e CH₂Cl).

5.2.16 Síntese de 4-(clorometil)-3-nitro-*N*-propilbenzamida (**16**)



16

A um balão de fundo redondo contendo (**3**) (0,320 g, 1,02 mmol) foi adicionado diclorometano (3 mL). Após solubilização adicionou-se ao balão, gota a gota, solução de propilamina (0,121 g, 2,05 mmol) em diclorometano (3 mL). A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/ acetato de etila 7:3, revelador: iodo). Após o término da reação (1 hora) adicionaram-se ao balão 50 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 30 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (1 x 15 mL) e água destilada (2 x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de magnésio, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,249 g (94% de rendimento). Purificou-se o produto obtido por CCD em escala preparativa (eluente: acetato de etila). Obteve-se um sólido amarelo claro com 80% de rendimento.

F.M.: C₁₁H₁₃O₃N₂Cl

M.M.: 256,5 g/mol

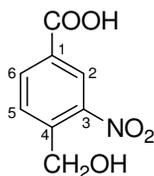
F.F.: 59,6 – 61,1 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3291 (N-H); 2964, 2932, 2874 (C-H); 1634 (C=O); 1527 (ArNO₂, N=O assim.); 1344 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-d₆; 200 MHz): 8,52 (d; 1H; H-2; J_{2,6} = 1,8); 8,24 (dd; 1H; H-6; J_{2,6} = 1,8; J_{5,6} = 8,0); 8,17 (sl; 1H; NH); 7,88 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 5,10 (s; 2H; CH₂Cl); 3,43-3,33 (m; 2H; H-7); 1,63 (sx; 2H; H-8; J_{7,8} = J_{8,9} = 7,4); 0,94 (t; 3H; H-9; J_{8,9} = 7,4).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-d₆; 50 MHz): 164,67 (C=O); 149,05 (C-3); 137,51 (C-4); 135,56 (C-1); 133,00 (C-6); 132,89 (C-5); 124,62 (C-2); 42,98, 42,40 (C-7 e CH₂Cl); 23,33 (C-8); 11,69 (C-9).

5.2.17 Síntese do ácido 4-(hidroximetil)-3-nitrobenzóico (17)



17

A um balão de fundo redondo contendo **(2)** (0,5 g, 1,92 mmol) adicionou-se solução aquosa saturada de carbonato de sódio (12,5 mL). A mistura permaneceu a 80 °C e sob agitação magnética por 1 hora. Em seguida resfriou-se a solução até temperatura ambiente e acidificou-se com solução aquosa de HCl 2 M. O precipitado formado foi filtrado obtendo-se o produto como um sólido amarelo claro. (0,324 g, 86% de rendimento).

F.M.: C₈H₇O₅N

M.M.: 197 g/mol

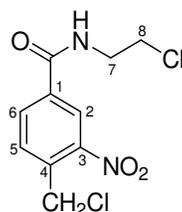
F.F.: 163,9 – 164,7 °C; lit.: 166 – 168 °C (NICOLÁS *et al.*, 1997).

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3554-2293 (O-H); 1694 (C=O); 1621 (C=C); 1529 (ArNO₂, N=O assim.); 1344 (ArNO₂, N=O sim.); 1031 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,61 (d; 1H; H-2; *J*_{2,6} = 1,6); 8,34 (dd; 1H; H-6; *J*_{2,6} = 1,6; *J*_{5,6} = 8,0); 8,10 (d; 1H; H-5; *J*_{5,6} = 8,0); 5,07 (s; 2H; CH₂OH).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-*d*₆; 50 MHz): 165,81 (C=O); 147,89 (C-3); 144,15 (C-4); 134,86 (C-6); 131,17 (C-1); 129,60 (C-5); 126,16 (C-2); 61,53 (CH₂OH).

5.2.18 Síntese de 4-(clorometil)-3-nitro-*N*-(2-cloroetil)benzamida (18)



18

A um balão de fundo redondo contendo (**4**) (0,050 g, 0,19 mmol), trietilamina (0,049 g, 0,48 mmol) e diclorometano (2 mL), sob agitação magnética e banho de gelo, adicionou-se cloreto de mesila (0,055 g, 0,48mmol) lentamente. A mistura permaneceu sob agitação magnética por 18 horas. Em seguida adicionaram-se ao balão gelo pilado e solução saturada de bicarbonato de sódio (2 mL). A mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 15 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (1 x 30 mL) e água destilada até pH próximo a neutralidade. Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,045 g de um sólido branco. (rendimento de 84%).

F.M.: C₁₀H₁₀O₃N₂Cl₂

M.M.: 277 g/mol

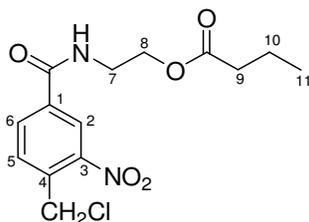
F.F.: 98,3 – 99,2 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3303 (NH); 2934 (C-H); 1638 (C=O); 1538 (ArNO₂, N=O assim.); 1344 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,55 (s; 1H; H-2); 8,45 (sl; 1H; NH); 8,26 (d; 1H; H-6; *J*_{5,6} = 8,0); 7,92 (d; 1H; H-5; *J*_{5,6} = 8,0); 5,11 (s; 2H; CH₂Cl); 3,78 (sl; 4H; H-7 e H-8).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-*d*₆; 50 MHz): 165,08 (C=O); 149,06 (C-3); 136,82 (C-4); 135,98 (C-1); 133,12 (C-6); 132,99 (C-5); 124,72 (C-2); 43,48, 42,97, 42,74 (CH₂Cl, C-7 e C-8).

5.2.19 Síntese de *N*-(2-butanoiloxietil)-4-(clorometil)-3-nitrobenzamida (**19**)



19

A um balão de fundo redondo contendo (**4**) (0,100 g, 0,39 mmol) e acetona (4 mL) adicionaram-se solução de ácido butírico (0,058 g, 0,66 mmol) em acetona (2 mL), EDC (0,126 g, 0,66 mmol) e DMAP (0,005 g, 0,04mmol). A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila). Após o término da reação (5 horas) adicionaram-se ao balão 40 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 30 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 20 mL) e água destilada (2 x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com

sulfato de sódio anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,110 g de um óleo amarelado. (87% de rendimento).

F.M.: $C_{14}H_{17}O_5N_2Cl$

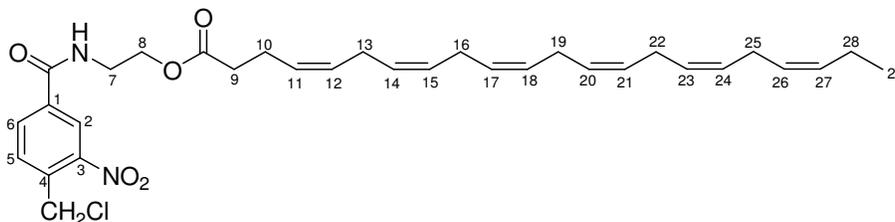
M.M.: 328,5 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3318 (N-H); 2965, 2876 (C-H); 1731 (C=O de éster); 1645 (C=O de amida); 1623 (C=C); 1529 (ArNO₂, N=O assim.); 1347 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ /ppm; J /Hz; CDCl₃; 200 MHz): 8,42 (d; 1H; H-2; $J_{2,6} = 1,6$); 8,06 (dd; 1H; H-6; $J_{2,6} = 1,6$; $J_{5,6} = 8,0$); 7,77 (d; 1H; H-5; $J_{5,6} = 8,0$); 7,19 (sl; 1H; NH); 4,97 (s; 2H; CH₂Cl); 4,31 (t; 2H; H-8; $J_{7,8} = 5,2$); 3,77-3,69 (m; 2H; H-7); 2,31 (t; 2H; H-9; $J_{9,10} = 7,4$); 1,63 (sx; 2H; H-10; $J_{9,10} = J_{10,11} = 7,4$); 0,91 (t; 3H; H-11; $J_{10,11} = 7,4$).

RMN de ¹³C (δ /ppm; CDCl₃; 50 MHz): 174,34 (C=O de éster); 164,67 (C=O de amida); 147,73 (C-3); 135,47 (C-4); 135,31 (C-1); 131,98 (C-5 e C-6); 123,74 (C-2); 62,61 (C-8); 42,29 (CH₂Cl); 39,96 (C-7); 35,93 (C-9); 18,27 (C-10); 13,54 (C-11).

5.2.20 Síntese de N-(cis-4,7,10,13,16,19-docosahexenoiloxietil)-4-(clorometil)-3-nitrobenzamida (20)



20

A um balão de fundo redondo contendo (**4**) (0,100 g, 0,39 mmol) e acetona (4 mL) adicionaram-se solução de DHA (0,127 g, 0,39 mmol) em acetona (4 mL), EDC (0,119 g, 0,62 mmol) e DMAP (0,005 g, 0,04 mmol). A evolução da reação

foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, revelador: iodo). Após o término da reação (5 horas) adicionaram-se ao balão 30 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (2 x 15 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 10 mL) e água destilada (2 x 10 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,164 g de um óleo amarelo (75% de rendimento).

F.M.: $C_{32}H_{41}O_5N_2Cl$

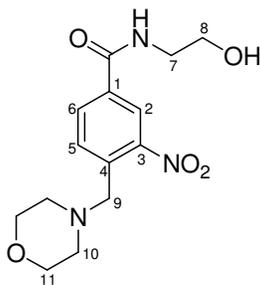
M.M.: 568,5 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3313 (N-H); 3012 (C-H alqueno/aromático); 2964, 2932 (C-H); 1734 (C=O de éster); 1648 (C=O de amida); 1532 (ArNO₂, N=O assim.); 1348 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,53 (d; 1H; H-2; $J_{2,6} = 1,6$); 8,41 (sl; 1H; NH); 8,27 (dd; 1H; H-6; $J_{2,6} = 1,6$; $J_{5,6} = 8,0$); 7,89 (d; 1H; H-5; $J_{5,6} = 8,0$); 5,36 (m; 12H; H-11, H-12, H-14, H-15, H-17, H-18, H-20, H-21, H-23, H-24, H-26 e H-27); 5,10 (s; 2H; CH₂Cl); 4,27 (t; 2H; H-8; $J_{7,8} = 5,7$); 3,74-3,65 (m; 2H; H-7); 2,87 (sl; 10H; H-13, H-16, H-19, H-22 e H-25); 2,37 (sl; 4H; H-9 e H-10); 2,15-2,01 (m; 2H; H-28); 0,95 (t; 3H; H-29; $J_{28,29} = 7,5$).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-*d*₆; 50 MHz): 173,17 (C=O de éster); 165,00 (C=O de amida); 149,00 (C-3); 137,04 (C-4); 135,74 (C-1); 133,00 (C-6); 132,41 (C-5); 129,68-127,86 (C-11, C-12, C-14, C-15, C-17, C-18, C-20, C-21, C-23, C-24, C-26 e C-27); 124,75 (C-2); 63,22 (C-8); 42,98 (CH₂Cl); 39,80 (C-7); 34,45 (C-9); 26,14 (C-13, C-16, C-19, C-22 e C-25); 23,28 (C-10); 21,03 (C-28); 14,52 (C-29).

5.2.21 Síntese de 4-(morfolinometil)-3-nitro-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida (**21**)



21

A um balão de fundo redondo contendo morfolina (0,067 g, 0,77 mmol) em acetona (4 mL), sob agitação magnética, adicionou-se (**4**) (0,100 g, 0,39 mmol). A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 39:1, revelador: solução de ninidrina). Após o término da reação (8 horas) adicionaram-se ao balão 10 mL de solução aquosa de HCl 0,1M e a solução foi vertida em funil de separação. A fase aquosa foi lavada com acetato de etila (15 mL) e em seguida alcalinizada com solução aquosa de NaOH 1 M até pH 11. Extraiu-se a fase aquosa com acetato de etila (3 x 15 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com água destilada (2 x 10 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,076 g de um sólido amarelado. (64% de rendimento).

F.M.: C₁₄H₁₉O₅N₃

M.M.: 277 g/mol

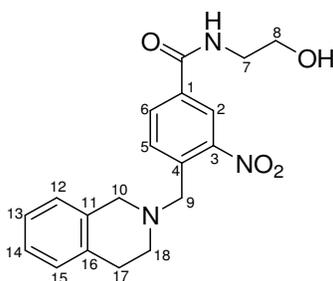
F.F.: 109,7 – 111,4 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3344, 3281 (N-H e O-H); 2958, 2935, 2892, 2819, 2795 (C-H); 1644 (C=O); 1543 (ArNO₂, N=O assim.); 1367 (ArNO₂, N=O sim.); 1113 (C-O).

RMN de ^1H (δ /ppm; J /Hz; CD_3OD ; 200 MHz): 8,23 (s; 1H; H-2); 7,98 (d; 1H; H-6; $J_{5,6} = 8,0$); 7,65 (d; 1H; H-5; $J_{5,6} = 8,0$); 3,74 (s; 2H; H-9); 3,68-3,62 (m; 2H; H-8); 3,57-3,53 (m; 4H; H-11); 3,47-3,42 (m; 2H; H-7); 2,36-2,32 (m; 4H; H-10).

RMN de ^{13}C (δ /ppm; CD_3OD ; 50 MHz): 167,71 (C=O); 151,33 (C-3); 137,43 (C-4); 136,07 (C-1); 132,73 (C-6); 131,87 (C-5); 124,39 (C-2); 67,92 (C-11); 61,43, 60,13 (C-8 e C-9); 54,63 (C-10); 43,70 (C-7).

5.2.22 Síntese de 4-(tetra-hidroisoquinolinilmetil)-3-nitro-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida (22)



22

A um balão de fundo redondo contendo tetrahydroisoquinolina (0,044 g, 0,33 mmol) em acetona (2 mL), sob agitação magnética, adicionou-se (**6**) (0,050 g, 0,16 mmol). A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 7:3, revelador: solução de H_2SO_4). Após o término da reação (3 horas) secou-se a acetona em evaporador rotatório e adicionaram-se ao balão 10 mL de água destilada. A solução foi vertida em funil de separação e extraída com éter etílico (3 x 10 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (10 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi recristalizado em acetato de etila. Foi obtido 0,033 g de um sólido amarelo. (56% de rendimento).

F.M.: $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_3$

M.M.: 355 g/mol

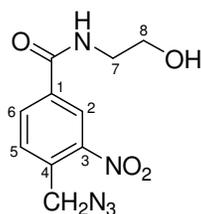
F.F.: 146,5 – 147,2 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3483-3124 (N-H e O-H); 2929 (C-H); 1639 (C=O); 1621 (C=C); 1522 (ArNO₂, N=O assim.); 1328 (ArNO₂, N=O sim.); 1035 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; DMSO-*d*₆; 200 MHz): 8,74 (t; 1H; NH; *J*_{NH,7} = 5,1); 8,36 (d; 1H; H-2; *J*_{2,6} = 1,2); 8,15 (dl; 1H; H-6; *J*_{5,6} = 8,0); 7,80 (d; 1H; H-5; *J*_{5,6} = 8,0); 7,10-7,00 (m; 4H; H-12, H-13, H-14 e H-15); 4,77 (sl; 1H; OH); 3,94 (s; 2H; H-9); 3,56-3,52 (m; 4H; H-8 e H-10); 3,36 (sl; 2H; H-7); 2,74-2,71 (m; 2H; H-18); 2,64-2,61 (m; 2H; H-17).

RMN de ¹³C (δ/ppm; DMSO-*d*₆; 50 MHz): 164,09 (C=O); 149,19 (C-3); 135,97 (C-4); 134,68, 134,40, 133,87, 131,23 (C-1, C-5, C-6, C-11 e C-16); 128, 43, 126,33, 126,03, 125,5, (C-12, C-13, C-14 e C-15); 123,05 (C-2); 59,56 (C-8); 57,81 (C-10); 55,47 (C-9); 50,16 (C-18); 42,34 (C-7); 28,58 (C-17).

5.2.23 Síntese de 4-(azidometil)-3-nitro-*N*-(2-hidroxietil)benzamida (**23**)



23

A um balão de fundo redondo contendo (**6**) (0,050 g, 0,16 mmol) e azida de sódio (0,021 g, 0,33 mmol) adicionaram-se acetona (3 mL) e água destilada (1 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética e banho de óleo a 50 °C. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, revelador: solução de H₂SO₄). Ao final da reação (2 horas) adicionaram-se ao balão 10 mL de água destilada. A solução foi vertida em funil de separação e extraída com éter etílico (2 x 20 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com água destilada (10 mL), solução saturada de cloreto de sódio (10 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador

rotatório. Obteve-se 0,032 g de um sólido amarelado (73% de rendimento).
Quantidades adicionais foram obtidas pelo mesmo procedimento.

F.M.: C₁₀H₁₁O₄N₅

M.M.: 265 g/mol

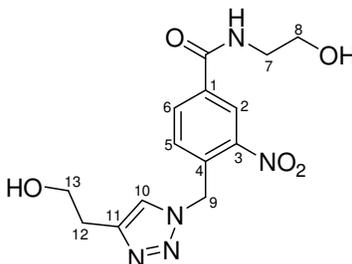
F.F.: 75,1 – 76,0 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3518-3149 (N-H e O-H); 2950 (C-H); 2110 (N₃); 1630 (C=O); 1532 (ArNO₂, N=O assim.); 1357 (ArNO₂, N=O sim.); 1059,1047 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,83 (t; 1H; NH; J_{NH,7} = 5,2); 8,56 (d; 1H; H-2; J_{2,6} = 1,6); 8,24 (dd; 1H; H-6; J_{2,6} = 1,6; J_{5,6} = 8,0); 7,82 (d; 1H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 4,92 (s; 2H; CH₂N₃); 4,77 (t; 1H; OH; J_{OH,8} = 5,6); 3,53 (q; 2H; H-8; J_{OH,8} = J_{7,8} = 5,6); 3,40-3,31 (m; 2H; H-7).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-*d*₆; 50 MHz): 163,88 (C=O); 147,60 (C-3); 135,37 (C-4); 133,75 (C-1); 132,48 (C-6); 130,81 (C-5); 123,73 (C-2); 59,52 (C-8); 50,75 (CH₂N₃); 42,42 (C-7).

5.2.24 Síntese de 4-[4-(2-hidroxietil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]metil-3-nitro-*N*-(2-hidroxietil)benzamida (24)



24

A um balão de fundo redondo contendo 3-butin-1-ol (0,013 g, 0,19 mmol), **(23)** (0,050 g, 0,19 mmol) e *t*-butanol (2 mL) adicionaram-se CuSO₄·5H₂O (0,009 g,

0,04 mmol) e solução de ácido ascórbico (0,020 g, 0,11 mmol) e bicarbonato de sódio (0,009 g, 0,11 mmol) em 2 mL de água destilada. A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética e a evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila). Após o término da reação (24 horas) removeu-se o solvente em evaporador rotatório. Adicionou-se etanol ao resíduo obtido no balão e filtrou-se. Secou-se o filtrado em evaporador rotatório obtendo-se 0,061 g de um óleo amarelado (97% de rendimento).

F.M.: C₁₄H₁₇O₅N₅

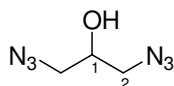
M.M.: 335 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3665-3012 (N-H e O-H); 2935, 2881 (C-H); 1644 (C=O); 1529 (ArNO₂, N=O assim.); 1345 (ArNO₂, N=O sim.); 1049 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; DMSO-*d*₆; 200 MHz): 8,82 (sl; 1H; NH); 8,58 (s; 1H; H-2); 8,15 (d; 1H; H-6; *J*_{5,6} = 7,8); 7,95 (s; 1H; H-10); 7,05 (d; 1H; H-5; *J*_{5,6} = 7,8); 5,97 (s; 2H; H-9); 4,75 (sl; 2H; 2 x OH); 3,64-3,34 (m; 6H; H-7, H-8 e H-13); 2,79 (sl; 2H; H-12).

RMN de ¹³C (δ/ppm; DMSO-*d*₆; 50 MHz): 163,93 (C=O); 147,35 (C-3 e C-11); 135,48 (C-4); 133,96 (C-1); 132,69 (C-6); 130,07 (C-5); 123,79 (C-2 e C-10); 60,34, 59,58 (C-8 e C-13); 49,78 (C-9); 42,47 (C-7); 29,17 (C-12).

5.2.25 Síntese de 1,3-diazido-2-propanol (25)



25

A um balão de fundo redondo contendo azida de sódio (12,65 g, 0,19 mol), água destilada (55 mL) e acetonitrila (105 mL) adicionou-se epícloroidrina (5,1 mL, 65 mmol). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética e

refluxo por 18 horas. Em seguida reduziu-se o volume do solvente em secador e a mistura foi vertida em um funil de separação. Extraíu-se com diclorometano (4 x 25 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e removeu-se o solvente em evaporador rotatório. Foi obtido 9,13 g de um óleo amarelado (99% de rendimento).

F.M.: C₃H₆ON₆

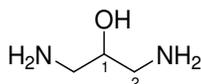
M.M.: 142 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3299 (O-H); 2931 (C-H); 2089 (N₃).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 3,91 (qt; 1H; H-1; J_{1,2} = 5,4); 3,37 (d; 4H; H-2; J_{1,2} = 5,4).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CDCl₃; 50 MHz): 69,47 (C-1); 53,81 (C-2).

5.2.26 Obtenção de 1,3-diamino-2-propanol (26)



26

A um balão de fundo redondo foram adicionados (**25**) (0,300 g, 2,12 mmol), metanol (5 mL) e catalisador Pd/C (0,090 g). O balão foi selado com septo de borracha e submetido a fluxo de nitrogênio por 10 minutos. Após esse período, um balão de borracha contendo hidrogênio foi acoplado ao sistema e forçou-se a passagem desse gás para dentro do balão reacional. Em seguida, um novo balão de borracha com hidrogênio foi novamente adaptado e a mistura foi mantida sob atmosfera de hidrogênio e agitação magnética por 24 horas. CCD (eluente: hexano/acetato de etila 1:2, revelador: solução de H₂SO₄) evidenciou o consumo do material de partida. O catalisador foi removido por filtração e o solvente eliminado em evaporador rotatório. Foi obtido 0,175 g de um óleo amarelado (92% de rendimento).

F.M.: C₃H₁₀ON₂

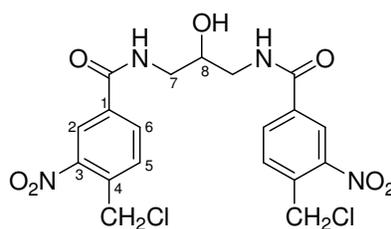
M.M.: 90 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3356, 3294 (N-H e O-H); 2923, 2866 (C-H); 1598 (deformação angular N-H).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CD₃OD; 200 MHz): 3,55-3,47 (m; 1H; H-1); 2,72-2,49 (m; 4H; H-2).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CD₃OD; 50 MHz): 74,34 (C-1); 46,08 (C-2).

5.2.27 Síntese de *N,N'*-bis-4-clorometil-3-nitrobenzoil-1,3-diaminopropan-2-ol (27)



27

A um balão de fundo redondo contendo **(26)** (0,035 g, 0,39 mmol), água destilada (0,5 mL) e THF (1,5 mL), adicionou-se, gota a gota, solução de **(3)** (0,240 g, 0,77 mmol) em THF (3 mL) sob banho de gelo e agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 1:2, revelador: solução de H₂SO₄). Após 5 horas removeu-se o THF em evaporador rotatório e adicionaram-se ao balão 40 mL de acetato de etila. A mistura foi vertida em funil de separação e lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (2 x 20 mL), solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e água destilada (2 x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e eliminou-se o solvente em evaporador rotatório. O produto foi purificado por CCD em escala preparativa (eluente: acetato de etila). Foi obtido 0,051 g de um sólido amarelado (14% de rendimento).

F.M.: C₁₉H₁₈O₇N₄Cl₂

M.M.: 485 g/mol

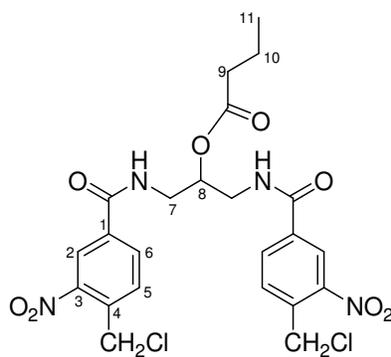
F.F.: 82,4 – 83,5 °C

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3670-3134 (N-H e O-H); 2934 (C-H); 1640 (C=O); 1524 (ArNO₂, N=O assim.); 1345 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-d₆; 200 MHz): 8,58 (s; 2H; H-2); 8,49 (sl; 2H; 2 x NH); 8,31 (d; 2H; H-6; J_{5,6} = 8,0); 7,90 (d; 2H; H-5; J_{5,6} = 8,0); 5,10 (s; 4H; CH₂Cl); 4,07 (qt; 1H; H-8; J_{7,8} = 5,4); 3,59 (t; 4H; H-7; J_{7,8} = 5,4).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-d₆; 50 MHz): 165,61 (C=O); 149,07 (C-3); 136,99 (C-4); 135,82 (C-1); 133,06 (C-6); 132,97 (C-5); 124,91 (C-2); 69,97 (C-8); 44,35 (C-7); 42,97 (CH₂Cl).

5.2.28 Síntese de N,N'-bis-(4-clorometil-3-nitrobenzoil)-2-butanoiloxi-1,3-diaminopropano (28)



28

A um balão de fundo redondo contendo (**27**) (0,040 g, 0,08 mmol) e acetona (3 mL) adicionaram-se solução de ácido butírico (0,012 g, 0,13 mmol) em acetona (1 mL), EDC (0,025 g, 0,13 mmol) e DMAP (0,001 g, 0,008 mmol). A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, revelador: iodo). Ao final da reação (4 horas) removeu-se a acetona em evaporador

rotatório e adicionaram-se ao balão 30 mL de acetato de etila. A solução foi vertida em funil de separação e lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (2 x 15 mL), solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (2 x 15 mL) e água destilada (2 x 15 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e removeu-se o solvente em evaporador rotatório. Foi obtido 0,033 g de um sólido branco (72% de rendimento).

F.M.: $C_{23}H_{24}O_8N_4Cl_2$

M.M.: 555 g/mol

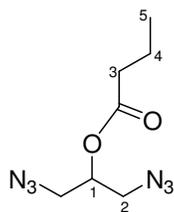
F.F.: 161,7 – 163,4 °C

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3310 (N-H); 2965, 2935, 2875 (C-H); 1731 (C=O de éster); 1645 (C=O de amida); 1525 (ArNO₂, N=O assim.); 1345 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,54 (d; 2H; H-2; $J_{2,6} = 1,6$); 8,48 (sl; 2H; NH); 8,26 (dd; 2H; H-6; $J_{2,6} = 1,6$; $J_{5,6} = 8,0$); 7,91 (d; 2H; H-5; $J_{5,6} = 8,0$); 5,27-5,21 (m; 1H; H-8); 5,10 (s; 4H; CH₂Cl); 3,87-3,62 (m; 4H; H-7); 2,28 (t; 2H; H-9; $J_{9,10} = 7,4$); 1,57 (sx; 2H; H-10; $J_{9,10} = J_{10,11} = 7,4$); 0,86 (t; 3H; H-11; $J_{10,11} = 7,4$).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-*d*₆; 50 MHz): 173,31 (C=O de éster); 165,49 (C=O de amida); 149,05 (C-3); 136,88 (C-4); 135,95 (C-1); 133,12 (C-6); 132,93 (C-5); 124,81 (C-2); 71,68 (C-8); 42,96 (CH₂Cl); 41,13 (C-7); 36,48 (C-9); 18,79 (C-10); 13,81 (C-11).

5.2.29 Síntese de 2-butanoiloxi-1,3-diazidopropano (**29**)



29

A um balão de fundo redondo contendo ácido butírico (0,300 g, 3,41 mmol) em diclorometano (5 mL) adicionaram-se solução de (**25**) (0,581 g, 4,09 mmol) em diclorometano (5 mL), EDC (0,784 g, 4,09 mmol) e DMAP (0,042 g, 0,34 mmol) sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato 7:3, revelador: iodo). Após o final da reação (4 horas) adicionaram-se ao balão 40 mL de diclorometano e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (4 x 30 mL), solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (2 x 20 mL) e água destilada (20 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e removeu-se o solvente em evaporador rotatório. O produto obtido foi purificado por CCS (eluente: hexano/acetato 95:5). Obteve-se 0,312 g de um óleo amarelado (43% de rendimento).

F.M.: C₇H₁₂O₂N₆

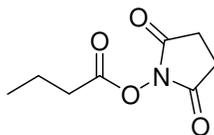
M.M.: 212 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2968, 2937, 2878 (C-H); 2093 (N₃); 1738 (C=O); 1163 (C-O).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; CDCl₃; 200 MHz): 5,06 (qt; 1H; H-1; J_{1,2} = 5,2); 3,47 (d; 4H; H-2; J_{1,2} = 5,2); 2,36 (t; 2H; H-3; J_{3,4} = 7,4); 1,68 (sx; 2H; H-4; J_{3,4} = J_{4,5} = 7,4); 0,96 (t; 3H; H-5; J_{4,5} = 7,4).

RMN de ¹³C (δ/ppm; CDCl₃; 50 MHz): 172,58 (C=O); 70,66 (C-1); 50,92 (C-2); 35,90 (C-3); 18,14 (C-4); 13,47 (C-5).

5.2.30 Síntese de *N*-butanoiloxisuccinimida (**30**)



30

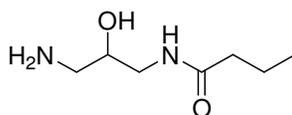
A um balão de fundo redondo contendo ácido butírico (0,200 g, 2,27 mmol) em diclorometano (5 mL) foram adicionados NHS (0,418 g, 3,64 mmol) e EDC (0,697 g, 3,64 mmol) sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato 7:3, revelador: iodo). Após o término da reação (5 horas) adicionaram-se ao balão 40 mL de diclorometano e a solução foi vertida em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com água destilada (3 x 30 mL), secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,370 g de um óleo amarelado (88% de rendimento).

F.M.: C₈H₁₁O₄N

M.M.: 185 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2970, 2880 (C-H); 1728 (C=O); 1200 (C-O).

5.2.31 Síntese de *N*-butanoil-1,3-diaminopropan-2-ol (**31**)



31

A um balão de fundo redondo foram adicionados (**29**) (0,219 g, 1,03 mmol), THF (4 mL) e catalisador Pd/C (0,065 g). O balão foi selado com septo de borracha e submetido à circulação de nitrogênio por 10 minutos. Após esse período, um balão de borracha contendo hidrogênio foi acoplado ao sistema e

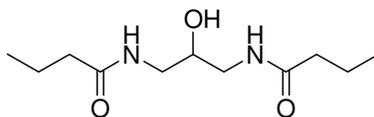
forçou-se a passagem desse gás para dentro do balão reacional. Em seguida, um novo balão de borracha com hidrogênio foi novamente adaptado e a mistura foi mantida sob atmosfera de hidrogênio e agitação magnética por 24 horas. CCD (eluente: hexano/acetato de etila 7:3, revelador: solução de H₂SO₄) evidenciou o consumo do material de partida. O catalisador foi removido por filtração e o solvente eliminado em evaporador rotatório. Foi obtido 0,140 g de um óleo amarelado (85% de rendimento).

F.M.: C₇H₁₆O₂N₂

M.M.: 160 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3640-3124 (N-H e O-H); 2962, 2933, 2873 (C-H); 1640 (C=O); 1547 (deformação angular N-H); 1070 (C-O).

5.2.32 Síntese de *N,N'*-dibutanoil-1,3-diaminopropan-2-ol (**32**)



32

A um balão de fundo redondo contendo (**31**) (0,140 g, 0,88 mmol) em 3 mL de THF adicionou-se solução de (**30**) (0,162 g, 0,88 mmol) em THF (3 mL) sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato/metanol 7:3, revelador: solução de ninhidrina). Após o final da reação (5 horas) adicionaram-se ao balão 40 mL de acetato de etila e a solução foi vertida em funil de separação. Extraíu-se com solução aquosa de HCl 0,1 M (20 mL). A fase aquosa foi neutralizada com solução aquosa de NaOH 1 M e secada em evaporador rotatório. Em seguida adicionaram-se 20 mL de etanol e filtrou-se a suspensão resultante. O filtrado foi evaporado em evaporador rotatório. Ao resíduo obtido foram adicionados 2 mL de água destilada e extraíu-se em funil de separação com acetato de etila (4 x 10 mL). A fase orgânica reunida foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente

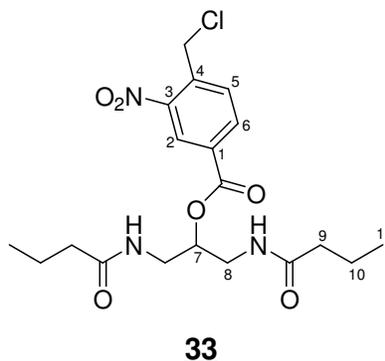
removido em evaporador rotatório. Foi obtido 0,040 g de um óleo amarelado (20% de rendimento).

F.M.: C₁₁H₂₂O₃N₂

M.M.: 230 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3600-3149 (N-H e O-H); 2961, 2932, 2873 (C-H); 1625 (C=O); 1550 (deformação angular N-H).

5.2.33 Síntese de *N,N'*-dibutanoil-2-[4-(clorometil)-3-nitrobenzoiloxi]-1,3-diaminopropano (33)



A um balão de fundo redondo contendo (**32**) (0,040 g, 0,17 mmol) em THF (2 mL) adicionaram-se (**2**) (0,045 g, 0,17 mmol), EDC (0,053 g, 0,28 mmol) e DMAP (0,002 g, 0,02 mmol). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 5 horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila/ ácido acético 8:1:1, revelador: iodo). Em seguida adicionaram-se ao balão 30 mL de acetato de etila. A solução foi vertida em funil de separação e lavada com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 10 mL), solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e água destilada (10 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e removeu-se o solvente em evaporador rotatório. Foi obtido 0,046 g de um óleo amarelo (62% de rendimento).

F.M.: C₁₉H₂₆O₆N₃Cl

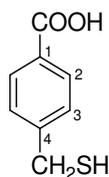
M.M.: 427,5 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3297 (N-H); 2963, 2933, 2874 (C-H); 1726 (C=O de éster); 1647 (C=O de amida); 1534 (ArNO₂, N=O assim.); 1349 (ArNO₂, N=O sim.).

RMN de ¹H (δ/ppm; J/Hz; acetona-*d*₆; 200 MHz): 8,56 (s; 1H; H-2); 8,33 (d; 1H; H-6; *J*_{5,6} = 8,0); 7,95 (d; 1H; H-5; *J*_{5,6} = 8,0); 7,51 (sl; 2H; 2 x NH); 5,19 (sl; 1H; H-7); 5,12 (s; 2H; CH₂Cl); 3,67-3,43 (m; 4H; H-8); 2,14 (t; 4H; H-9; *J*_{9,10} = 7,2); 1,58 (sx; 4H; H-10; *J*_{9,10} = *J*_{10,11} = 7,2); 0,87 (t; 6H; H-11; *J*_{10,11} = 7,2).

RMN de ¹³C (δ/ppm; acetona-*d*₆; 50 MHz): 173,78 (C=O de éster); 164,19 (C=O de amida); 149,15 (C-3); 137,44 (C-4); 135,05 (C-6); 133,12 (C-5); 132,96 (C-1); 126,70 (C-2); 74,55 (C-7); 42,84 (CH₂Cl); 39,87 (C-8); 38,59 (C-9); 19,66 (C-10); 13,96 (C-11).

5.2.34 Síntese do ácido 4-(mercaptometil)benzóico (**34**)



34

A um balão de fundo redondo adicionaram-se (**1**) (0,200 g, 0,93 mmol), tiouréia (0,071 g, 0,93 mmol) e água destilada (5 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 1 hora. Em seguida resfriou-se o balão até temperatura ambiente e adicionou-se bicarbonato de sódio (0,200 g, 2,38 mmol). A suspensão foi submetida à agitação magnética e refluxo até a solubilização de todo o precipitado. Após resfriamento acidificou-se a solução com solução aquosa de HCl 1 M até pH 1 e filtrou-se o precipitado formado lavando com água destilada. O produto foi purificado por CCD em escala preparativa (eluyente: hexano/acetato de etila/ ácido acético 8:1:1). Foi obtido

0,086 g de um sólido branco (55% de rendimento). Quantidades adicionais foram obtidas pelo mesmo procedimento.

F.M.: $C_8H_8O_2S$

M.M.: 168 g/mol

F.F.: 168,5 – 170,5 °C; lit.: 176 °C (BARKENBUS *et al.*, 1927).

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3356-2212 (O-H); 1673 (C=O) 1608, 1575 (C=C).

RMN de 1H (δ /ppm; J /Hz; DMSO- d_6 ; 200 MHz): 7,88 (d; 2H; H-2; $J_{2,3} = 8,0$); 7,45 (d; 2H; H-3; $J_{2,3} = 8,0$); 3,78 (d; 2H; \underline{CH}_2 ; $J_{CH_2,SH} = 7,8$); 2,96 (t; 1H; \underline{SH} ; $J_{CH_2,SH} = 7,8$).

RMN de ^{13}C (δ /ppm; DMSO- d_6 ; 50 MHz): 167,13 (C=O); 146,80 (C-4); 129,52 (C-2); 129,12 (C-1); 128,36 (C-3); 27,44 (\underline{CH}_2).

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram sintetizadas 34 substâncias, das quais 21 são inéditas, utilizando materiais de partida de fácil disponibilidade e etapas de síntese simples e eficientes, de um modo geral.

A atividade das substâncias sintetizadas foi avaliada em linhagens de células tumorais humanas, formas promastigotas de *L. amazonensis* e formas amastigotas de *T. cruzi*.

Em relação à atividade citotóxica, 7 substâncias (ácidos **1** e **2** e amidas **4**, **6**, **18**, **19** e **27**) apresentaram valores de $CI_{50} < 50 \mu M$ contra, no mínimo, uma linhagem de célula tumoral. Dentre as substâncias ativas, a amida (**4**) foi a mais ativa contra as linhagens de células de leucemia (HL60) e linfoma (Jurkat), enquanto a diamida (**27**) foi a mais ativa contra linhagens de células de tumor de mama (MCF-7).

As amidas (**4**), (**6**) e (**18**) apresentaram atividade significativa contra formas promastigotas de *L. amazonensis*, com valores de CI_{50} entre 23 e 59 μM . As amidas (**19**) e (**22**) apresentaram notável atividade contra formas amastigotas de *T. cruzi*.

A toxicidade das substâncias para as células normais também foi avaliada utilizando-se células mononucleares do sangue periférico (PBMC) e as substâncias contendo um átomo de bromo na posição benzílica (ácido **1** e amida **6**) apresentaram considerável citotoxicidade. Ao contrário, as substâncias contendo cloro ou hidroxila na posição benzílica foram muito pouco ativas contra PBMC, indicando uma baixa toxicidade.

A presença do grupo nitro parece essencial para as atividades, entretanto, avaliação da atividade de um maior número de moléculas é necessária para confirmação dessa tendência.

As amidas **(4)**, **(19)** e **(27)** representam compostos promissores para estudos adicionais na busca de novos fármacos antitumorais, leishmanicidas e tripanocidas.

É importante acrescentar, também, que estudos da atividade antitumoral *in vivo* com as amidas **(4)** e **(19)** estão em andamento, com resultados preliminares promissores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G. E. Chemical radiosensitization of hypoxic cells. **Br. Med. Bull.**, 29, 1, 48-53, 1973.

ANLEZARK, G. M.; MELTON, R. G.; SHERWOOD, R. F.; COLES, B.; FIEDLOS, F.; KNOX, R. J. The bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954): purification and properties of a nitroreductase enzyme from *Escherichia coli*. A potential enzyme for antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT). **Biochem. Pharmacol.**, 44, 12, 2289-2295, 1992.

ANLEZARK, G. M.; MELTON, R. G.; SHERWOOD, R. F.; WILSON, W. R.; DENNY, W. A.; PALMER, B. D.; KNOX, R. J.; FRIEDLOS, F.; WILLIAMS, A. Bioactivation of dinitrobenzamide mustards by an *E. coli* B nitroreductase. **Biochem. Pharmacol.**, 50, 5, 609-618, 1995.

ATWELL, G. J.; YANG, S.; PRUIJIN, F. B.; PULLEN, S. M.; HOGG, A.; PATTERSON, A. V.; WILSON, W. R.; DENNY, W. A. Synthesis and structure-activity relationships for 2,4-dinitrobenzamide-5-mustards as prodrugs for the *Escherichia coli nfsB* nitroreductase in gene therapy. **J. Med. Chem.**, 50, 6, 1197-1212, 2007.

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, 1st edition., Elsevier, 139-174, 2008(c).

AVENDAÑO, C.; MENENDEZ, J. C. **Medicinal chemistry of anticancer drugs.**, Cap. 6. Alkylating and non-alkylating compounds interacting with the DNA minor groove, 1st edition., Elsevier, 177-196, 2008(d).

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

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.

BARKENBUS, C.; FRIEDMAN, E. B.; FLEGE, R. K. The reaction of para-substituted benzyl chlorides with sodium hydrogen sulfide. **J. Am. Chem. Soc.**, *49*, 2549-2553, 1927.

BRADLEY, M. O.; WEBB, N. L.; ANTHONY, F. H.; DEVANESAN, P.; WITMAN, P. A.; HEMAMALINI, S.; CHANDER, M. C.; BAKER, S. D.; HE, L.; HORWITZ, S. B.; SWINDELL, C. S. Tumor targeting by covalent conjugation of a natural fatty acid to paclitaxel. **Clin. Cancer Res.**, *7*, 3229-3238, 2001.

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

BROWN, T. M.; CARRUTHERS, W.; PELLATT, M. G. Approaches to bridged thia[17]annulenes. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1**, 483-487, 1982.

BUCKNER, F.; VERLINDE, C. L. M. J.; La FLAMME, A. C.; Van VOORHIS, W. C. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. **Antim. Agents. and Chemother.**, *40*, 2592-2597, 1996.

CHEN, Z.; BREITMAN, T. Tributyrin: a prodrug of butyric acid for potential clinical application in differentiation therapy. **Cancer Res.**, *54*, 3494-3499, 1994.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic chemistry**. 1st edition, Oxford University Press, Oxford, 2001.

CLINICAL TRIALS. Disponível em:

<<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00003328?term=pofiromycin&rank=1>>.

Acesso em: 23 jan. 2012. (a)

CLINICAL TRIALS. Disponível em:

<<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00394628?term=AQ4N&rank=1>>. Acesso

em: 23 jan. 2012. (b)

CLINICAL TRIALS. Disponível em:

<[http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00024375?term=DHA-](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00024375?term=DHA-paclitaxel&rank=5)

[paclitaxel&rank=5](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00024375?term=DHA-paclitaxel&rank=5)>. Acesso em: 23 jan. 2012. (c)

COSTA, P.; PILI, R. **Substâncias carboniladas e derivados**. 1. ed., Bookman, 2003.

CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends Parasitol.**, 19, 11, 502-508, 2003.

DECKER, D. A.; KISH, J.; AL-SARRAF, M.; GOLDFARB, S. Phase II clinical evaluation of AZQ in renal cell carcinoma. **Am. J. Clin. Oncol.**, 9, 2, 126-128, 1986.

DECKER, D. A.; SAMSON, M. K.; HAAS, C. D.; BAKER, L. H. Phase II clinical evaluation of AZQ in adenocarcinoma of the lung. **Am. J. Clin. Oncol.**, 7, 4, 353-355, 1984.

DENNY, W. A.; ATWELL, G. J.; ANDERSON, R. F.; WILSON, W. R. Hypoxia-selective antitumor agents. 4. Relationships between structure, physicochemical properties, and hypoxia-selective cytotoxicity for nitracrine analogs with varying side chains: the "iminoacridan hypothesis". **J. Med. Chem.**, 33, 5, 1288-1295, 1990.

DENNY, W. A.; WILSON, W. R. Considerations for the design of nitrophenyl mustards as agents with selective toxicity for hypoxic tumor cells. **J. Med. Chem.**, 29, 6, 879-887, 1986.

DIRIX, L. Y.; TONNENSEN, F.; CASSIDY, J.; EPELBAUM, R.; BOKKEL-HUININK, W. W.; PAVLIDS, N.; SORIO, R.; GAMUCCI, T.; WOLFF, I.; VELDE, A.; LAN, J.; VERWEIJ, J. EO9 phase II study in advanced breast, gastric, pancreatic and colorectal carcinoma by the EORTC early clinical studies group. **Eur. J. Cancer**, 32A, 11, 2019-2022, 1996.

FELS, D. R.; KOUMENIS, C. The PERK/eIF2 α /ATF4 module of the UPR in hypoxia resistance and tumor growth. **Cancer Biol. Ther.**, 5, 7, 723-728, 2006.

FREITAS, L. B. O.; RUELA, F. A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B.; FREITAS, R. P. A reação "click" na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Quim. Nova**, XY, 00, 1-14, 2011.

FREITAS, R. P.; IEHL, J.; DELAVAUX-NICOT, B.; NIERENGARTEN, J. Synthesis of fullerene building blocks bearing alkyne or azide groups and their subsequent functionalization by the copper mediated Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition. **Tetrahedron**, 64, 11409-11419, 2008.

GU, Y.; GUISE, C. P.; PATEL, K.; ABBATTISTA, M. R.; LIE, J.; SUN, X.; ATWELL, G. J.; BOYD, M.; PATTERSON, A. V.; WILSON, W. R. Reductive metabolism of the dinitrobenzamide mustard anticancer prodrug PR-104 in mice. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, 67, 543-555, 2011.

HAMED, E. A.; EL-BARDAN, A. A.; EL-MALLAH, N. N. Kinetics of the reaction of sodium arylthiolates with nitro-carboxybenzyl halide derivatives. **Int. J. Chem. Kin.**, *28*, 283-289, 1995.

HAY, M. P.; LEE, H. H.; WILSON, W. R.; ROBERTS, P. B.; DENNY, W. A. Hypoxia-selective antitumor agents. 10. Bis(nitroimidazoles) and related bis (nitroheterocycles): development of derivatives with higher rates of metabolic activation under hypoxia and improved aqueous solubility. **J. Med. Chem.**, *38*, 11, 1928-1941, 1995.

HOST, H.; JOSS, R.; PINEDO, H.; BRUNTSCH, U.; CAVALLI, F.; RENARD, G.; VAN GLABBEKE, M.; ROZENCWEIG, M. Phase II trial of diaziquone (AZQ) in advanced malignant melanoma. **Eur. J. Cancer Clin. Oncol.**, *19*, 2, 295-298, 1983.

INCA. Situação do câncer no Brasil. Disponível em:
<<http://www.inca.gov.br/situacao>>. Acesso em: 23 jan. 2012.

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.

JEONG, Y.; RYU, J. Synthesis of 1,3-dialkyl-1,2,3-triazolium ionic liquids and their applications to the Baylis-Hillman reaction. **J. Org. Chem.**, *75*, 12, 4183-4191, 2010.

KENNEDY, K. A. Hypoxic cells as specific drug targets for chemotherapy. **Anti-cancer Drug Des.**, *2*, 181-194, 1987.

KIZAKA-KONDOH, S.; INOUE, M.; HARADA, H.; HIRAOKA, M. Tumor hypoxia: a target selective cancer therapy. **Cancer Sci.**, *94*, 12, 1021-1028, 2003.

KNOX, R. J.; FIEDLOS, F.; MARCHBANK, T.; ROBERTS, J. J. Bioactivation of CB 1954: Reaction of the active 4-hydroxylamino derivative with thioesters to form the ultimate DNA-DNA interstrand crosslinking species. **Biochem. Pharmacol.**, *42*, 9, 1691-1697, 1991.

KNOX, R. J.; FRIEDLOS, F.; JARMAN, M.; ROBERTS, J. J. A new cytotoxic, DNA interstrand crosslinking agent, 5-(aziridin-1-yl)-4-hydroxylamino-2-nitrobenzamide, is formed from 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954) by a nitroreductase enzyme in Walker carcinoma cells. **Biochem. Pharmacol.**, *37*, 24, 4661-4669, 1988.

KOVACS, M. S.; HOCKING, D. J.; EVANS, J. W.; SIIM, B. G.; WOUTERS, B. G.; BROWN, J. M. Cisplatin anti-tumour potentiation by tirapazamine results from a hypoxia-dependent cellular sensitization to cisplatin. **Br. J. Cancer.**, *80*, 8, 1245-1251, 1999.

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

MAHÉO, K.; VIBET, S.; STEGHENS, J. P.; DARTIGEAS, C.; LEHMAN, M.; BOUGNOUX, P.; GORÉ, J. Differential sensitization of cancer cells doxorubicin by DHA: a role for lipoperoxidation. **Free Radic. Biol. Med.**, *39*, 742-751, 2005.

MARTINO, S.; RATANATHARATHORN, V.; SAMAL, B. A.; SINGHAKOWINTA, A.; HAAS, C. Treatment of metastatic breast cancer with AZQ: a phase II trial. **Cancer Invest.**, *6*, 3, 289-291, 1988.

MCKEAGE, M. J.; GU, Y.; WILSON, W. R.; HILL, A.; AMIES, K.; MELINK, T. J.; JAMESON, M. B. A phase I trial of PR-104, a pre-prodrug of the bio-reductive prodrug PR-104A, given weekly to solid tumour patients. **BMC Cancer**, *11*, 432-444, 2011.

MONKS, A.; SCUDIERO, D.; SKEHAN, P.; SHOEMAKER, R.; PAULL, K.; VISTICA, D.; HOSE, C.; LANGLEY, J.; CRONISE, P.; VAIGRO-WOLFF, A.; GRAY-GOODRICH, M.; CAMPBELL, H.; MAYO, J.; BOYD, M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 83, p. 757-766, 1991.

NIITSU, N.; KASUKABE, T.; YOKOYAMA, A.; OKABE-KADO, J.; YAMAMOTO-YAMAGUCHI Y.; UMEDA, M.; HONMA, Y. Anticancer derivative of butyric acid (pivalyloxymethylbutyrate) specifically potentiates the cytotoxicity of doxorubicin and daunorubicin through the suppression of microsomal glycosidic activity. **Mol. Pharmacol.** *58*, 27-36, 2000.

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.; ALVES, R. J.; MARQUES, M. B. F.; SOARES, C. D. V.; OLIVEIRA, M. C.; FELÍCIO, L. R.; LEITE, E. A.; LOPES, M. S.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; de ANDRADE, C. F. Antineoplasic pharmaceutical compositions containing substituted nitroaromatic compounds. WO 2012/003563 A1, 12 jan. 2012.

OLIVEIRA, R. B.; PASSOS, A. P. F.; ALVES, R. O.; ROMANHA, A. J.; PRADO, M. A. F.; SOUZA-FILHO, J. D.; ALVES, R. J. In vitro evaluation of the activity of aromatic nitrocompounds against *Trypanosoma cruzi*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 98, 141-144, 2003.

OMS – Organização Mundial de Saúde. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Acesso em: 3 fev. 2012.

PALMER, B. D.; WILSON, W. R.; ANDERSON, R. F.; BOYD, M.; DENNY, W. A. Hypoxia-selective antitumor agents. 14. Synthesis and hypoxic cell cytotoxicity of regioisomers of the hypoxia-selective cytotoxin 5-[N,N-bis(2-chloroethyl)amino]-2,4-dinitrobenzamide. **J. Med. Chem.**, 39, 2518-2528, 1996.

PALMER, B. D.; WILSON, W. R.; CLIFFE, S.; DENNY, W. A. Hypoxia-selective antitumor agents. 5. Synthesis of water-soluble nitroaniline mustards with selective cytotoxicity for hypoxic mammalian cells. **J. Med. Chem.**, 35, 17, 3214-3222, 1992.

PALMER, B. D.; ZIJL, P.; DENNY, W. A.; WILSON, W. R. Reductive chemistry of the novel hypoxia-selective cytotoxin 5-[N,N-bis(2-chloroethyl)amino]-2,4-dinitrobenzamide. **J. med. Chem.**, 38, 7, 1229-1241, 1995.

PAPADOPOULOS, K. P.; GOEL, S.; BEERAM, M.; WONG, A.; DESAI, K.; HAIGENTZ, M.; MILIÁN, M. L.; MANI, S.; TOLCHER, A.; LALANI, A. S.; SARANTOPOULOS, J. A phase 1 open-label, accelerated dose-escalation study of the hypoxia-activated prodrug AQ4N in patients with advanced malignancies. **Clin. Cancer Res.**, 14, 21, 7110-7115, 2008.

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

PRASAD, K. N. Butyric acid: a small fatty acid with diverse biological functions. **Life Sci.**, 27, 15, 1351-1358, 1980.

RISCHIN, D.; PETERS, L. J.; O'SULLIVAN, B.; GIRALT, J.; FISHER, R.; YUEN, K.; TROTTI, A.; BERNIER, J.; BOURHIS, J.; RINGASH, J.; HENKE, M.; KENNY, L. Tirapazamine, cisplatin and radiation versus cisplatin and radiation for advanced squamous cell carcinoma of the head and neck (TROC: 02.02, HeadSTART): a phase III trial of the trans-tasman radiation oncology group. **J. Clin. Oncol.**, 28, 18, 2989-2995, 2010.

ROSTOVTSEV, V. V.; GREEN, L. G.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective

"ligation" of azides and terminal alkynes. **Angew. Chem. Int. Ed.**, *41*, 14, 2596-2599, 2002.

SAUER, L. A.; DAUCHY, R. T. The effect of -6 and -3 fatty acids on 3H-thymidine incorporation in hepatoma 7288CTC perfused *in situ*. **Brit. J. Cancer**, *66*, 297-303, 1992.

SAUER, L. A.; DAUCHY, R. T. Tumour-host metabolic interrelationships. **Biochem. Soc. Trans.**, *18*, 80-82, 1990.

SAUER, L. A.; NAGEL, W. O.; DAUCHY, R. T.; MICELI, L. A.; AUSTIN, J. E. Stimulation of tumor growth in adult rats *in vivo* during an acute fast. **Cancer Res.**, *46*, 3469-3475, 1986.

SAUER, L. A.; STAYMAN, J. W.; DAUCHY, R. T. Amimo acid, glucose, and lactic acid utilization by rat tumors. **Cancer Res.**, *42*, 4090-4097, 1982.

SHUKLA, A. K.; SINGH, B. K.; PATRA, S.; DUBEY, V. K. Rational approaches for drug designing against leishmaniasis. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, *160*, 8, 2208-2218, 2010.

SOARES, G. A.; OLIVEIRA, R. B.; ANDRADE, S. F.; ALVES, R. J.; ZANI, C. L.; SOUZA-FAGUNDES, E. M. Synthesis and *in vitro* cytotoxic activity of compounds with pro-apoptotic potential. **Molecules**, *15*, 12-26, 2010.

SRI BIOSCIENCES. Disponível em:

<http://www.sri.com/biosciences/licensing/documents/TPZ_Non-Confi_brief.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2012.

TAYLOR, Y. C.; RAUTH, A. M. Differences in the toxicity and metabolism of the 2-nitroimidazole misonidazole (Ro-07-0582) in HeLa and chinese hamster ovary cells. **Cancer Res.**, *38*, 9, 2745-2752, 1978.

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

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.

URBINA, J. A.; DOCAMPO, R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. **Trends Parasitol.**, *19*, 11, 495-501, 2003.

WALKSEMAN, M.; CERUTTI, I.; CHANY, C. Nitrobenzyl esters as potential conjugated alkylating and differentiation promoting agents: antitumor effect *in vivo*. **Eur. J. Med. Chem.**, *25*, 519-526, 1990.

WANG, Y.; LI, L.; JIANG, W.; LARRICK, J. W. Synthesis and evaluation of a DHA and 10-hydroxycamptothecin conjugate. **Bioorg. Med. Chem.**, *13*, 5592-5599, 2005.

WANG, Y.; LI, L.; TIAN, Z.; JIANG, W.; LARRICK, J. W. Synthesis and antitumor activity of CBI-bearing ester and carbamate prodrugs of CC-1065 analogue. **Bioorg. Med. Chem.**, *14*, 7854-7861, 2006.

WEISTEIN, B.; CREWS, O. P.; LEAFFER, M. A.; BAKER, B. R.; GOODMAN, L. Potential anticancer agents. LXX. Some simple derivatives of the actinomycins. **J. Org. Chem.**, *27*, 4, 1389-1395, 1962.

WILLIAMS, K. J.; ALBERTELLA, M. R.; FITZPATRICK, B.; LOADMAN, P. M.; SHNYDER, S. D.; CHINJE, E. C.; TELFER, B. A.; DUNK, C. R.; HARRIS, P. A.; STRATFORD, I. J. *In vivo* activation of the hypoxia-targeted cytotoxin AQ4N in human tumor xenografts. **Mol. Cancer Ther.**, *8*, 12, 3266-3275, 2009.

APÊNDICE A – Espectros na região do infravermelho

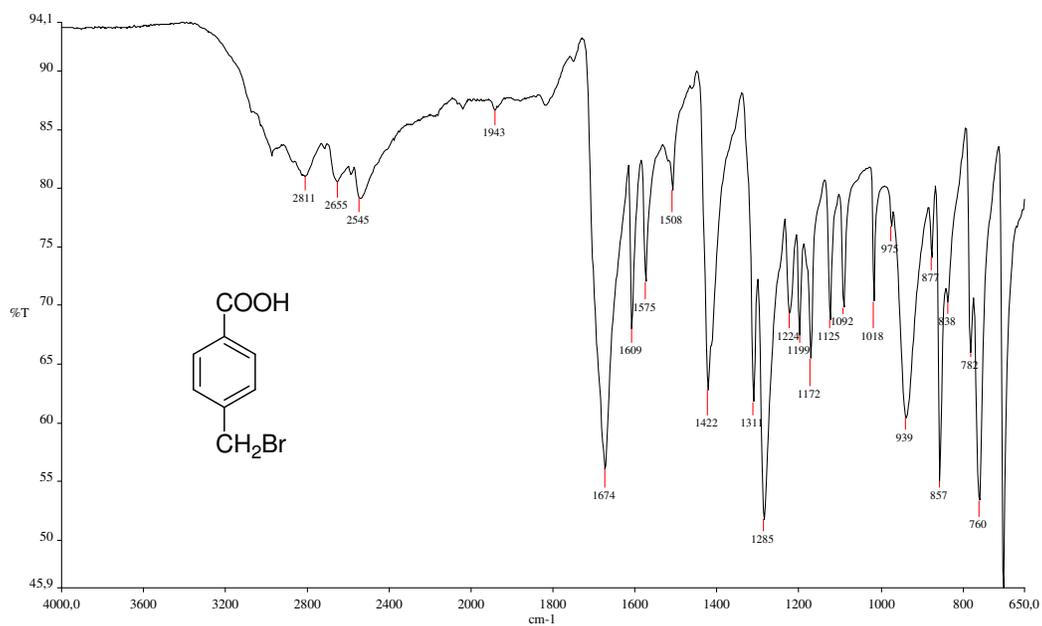
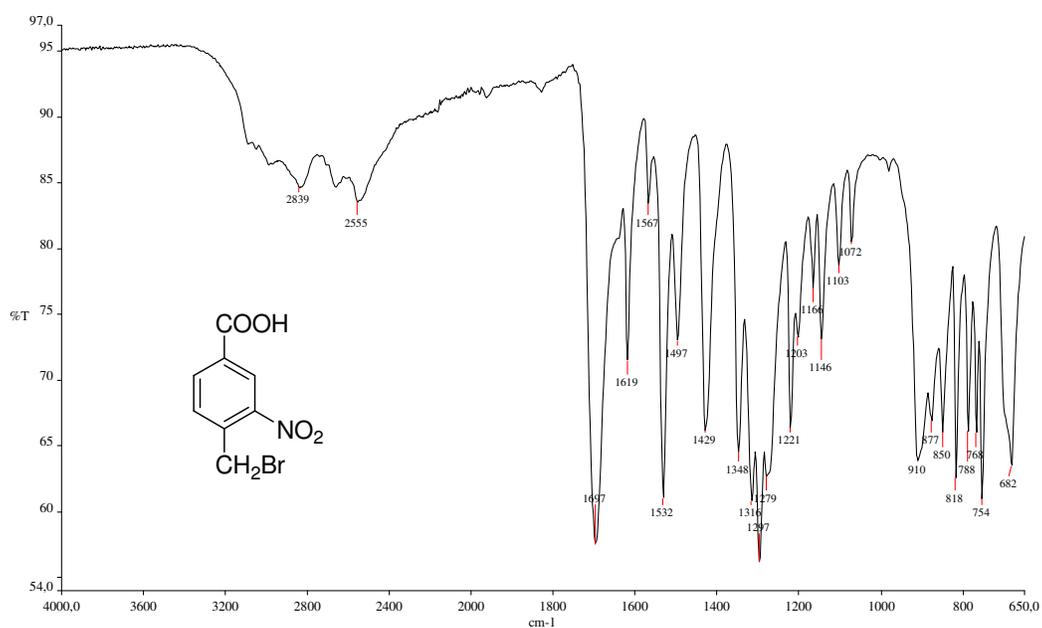
Figura A.1 – Espectro no infravermelho de 1.Figura A.2 – Espectro no infravermelho de 2.

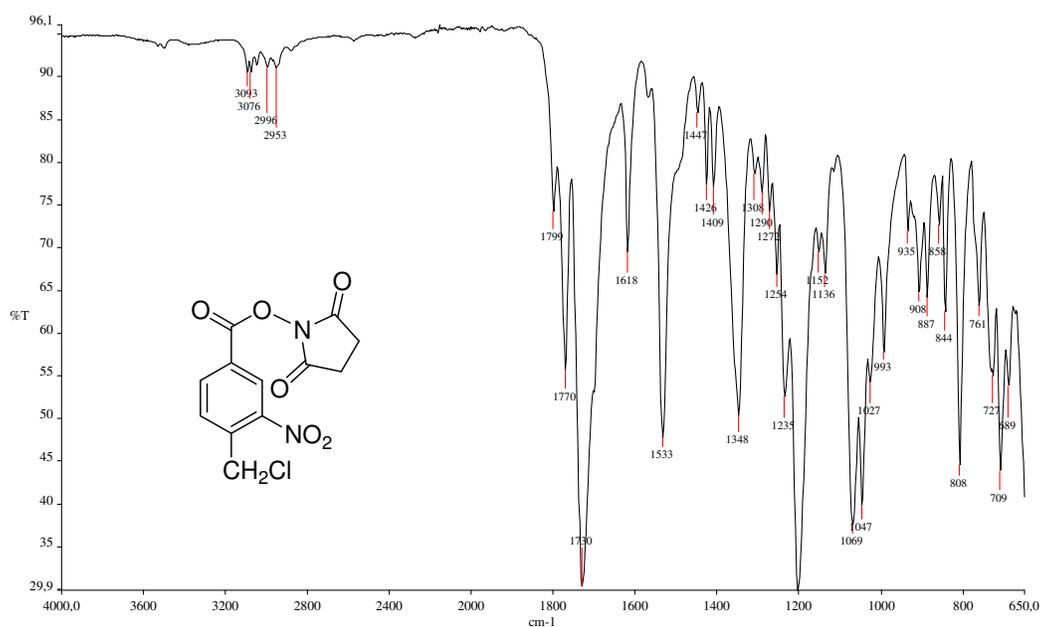
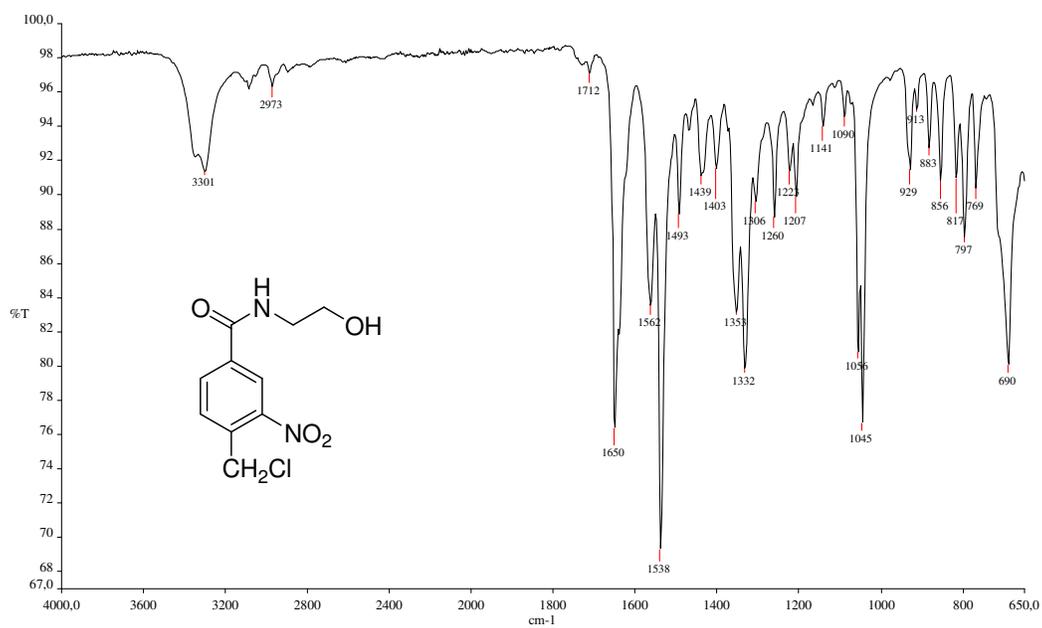
Figura A.3 – Espectro no infravermelho de 3.Figura A.4 – Espectro no infravermelho de 4.

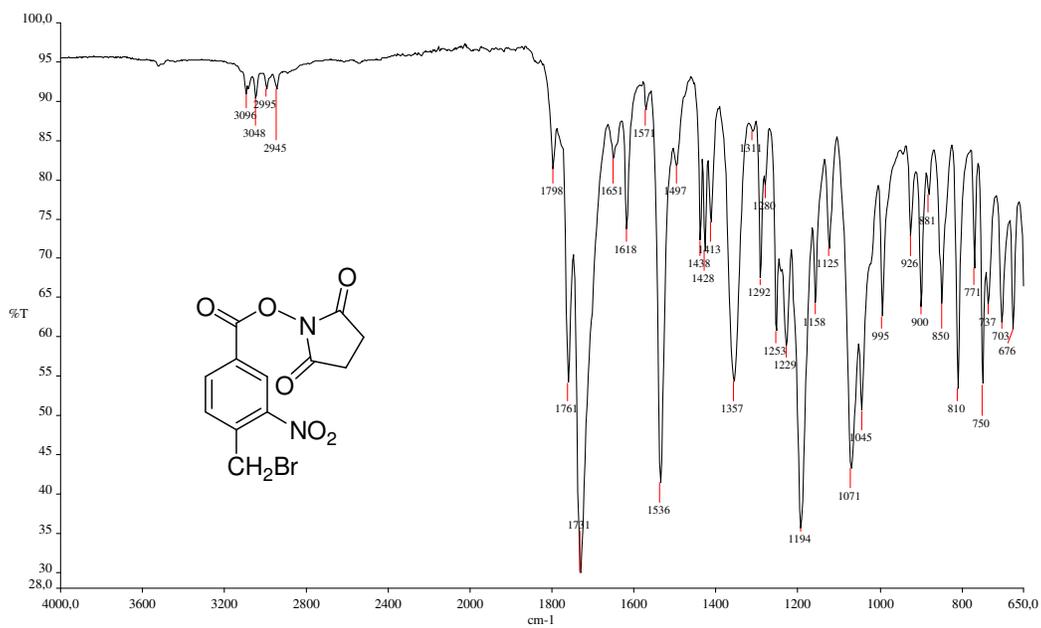
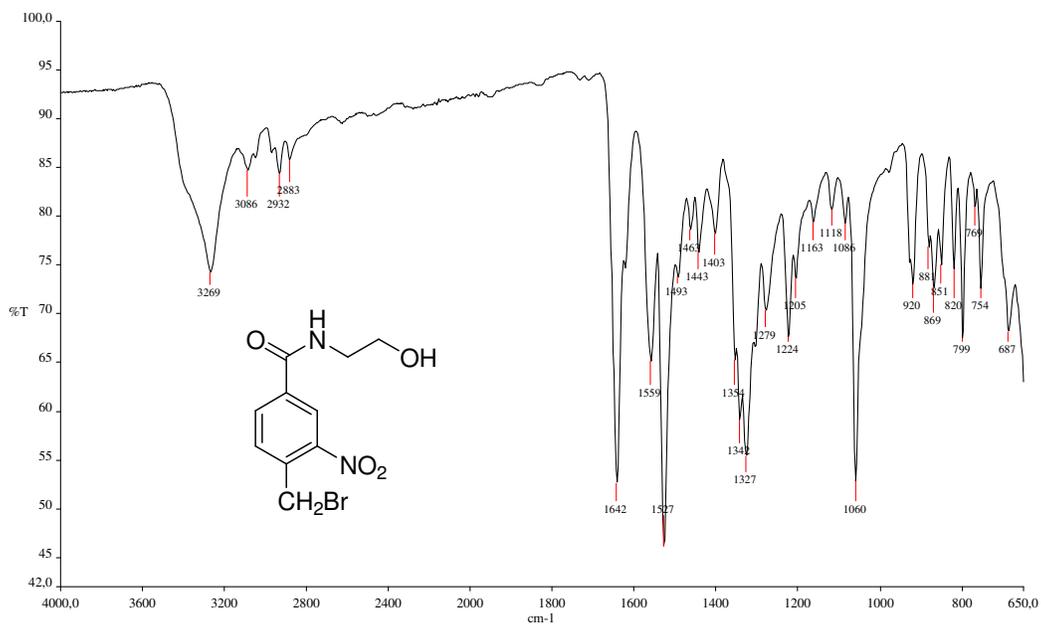
Figura A.5 – Espectro no infravermelho de 5.Figura A.6 – Espectro no infravermelho de 6.

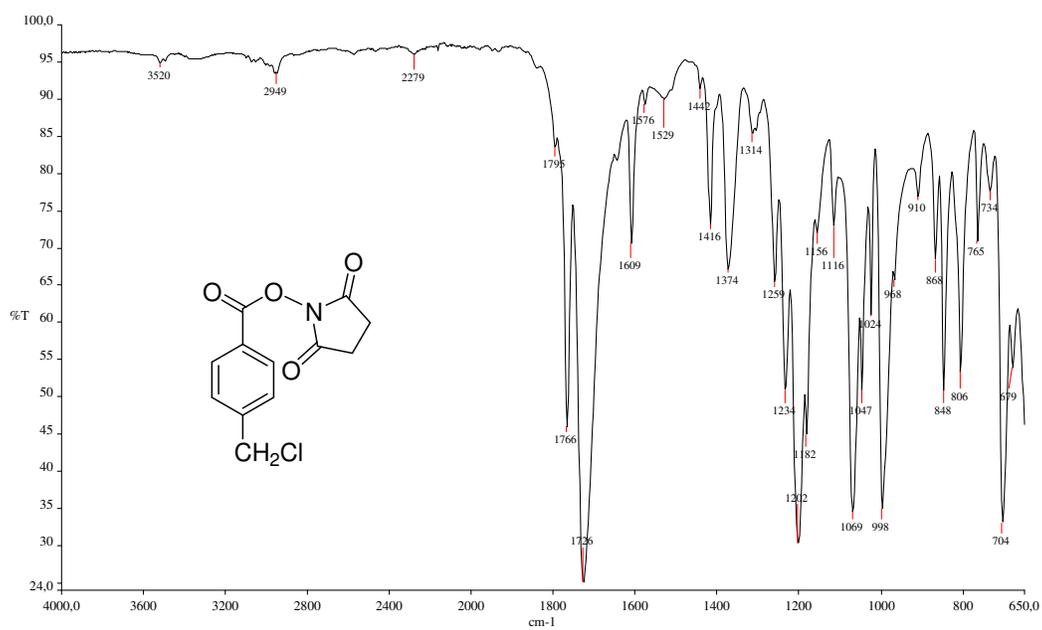
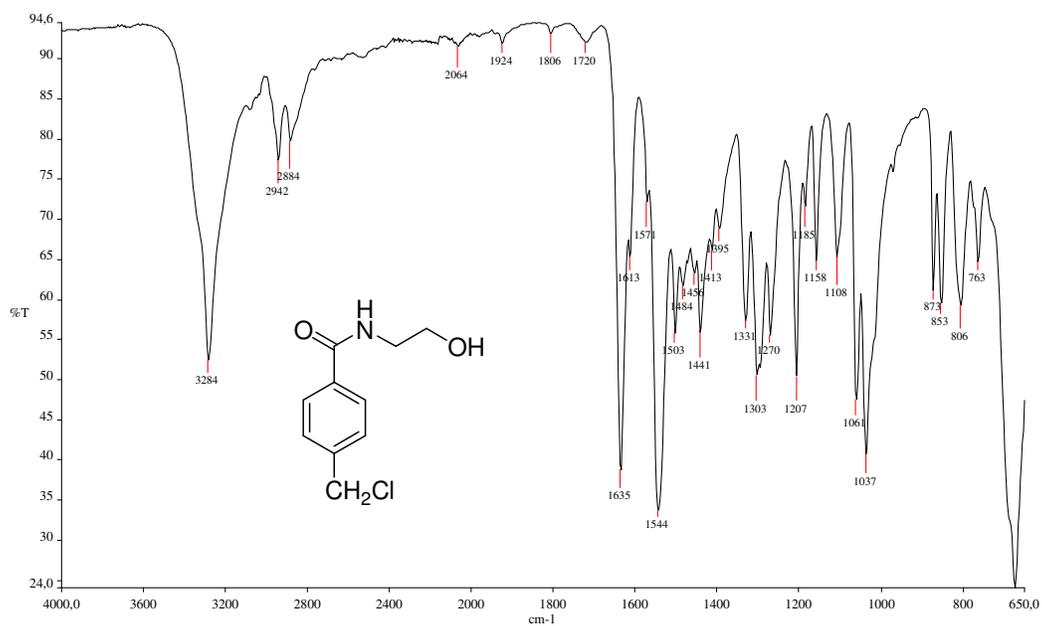
Figura A.7 – Espectro no infravermelho de 7.Figura A.8 – Espectro no infravermelho de 8.

Figura A.9 – Espectro no infravermelho de 9.

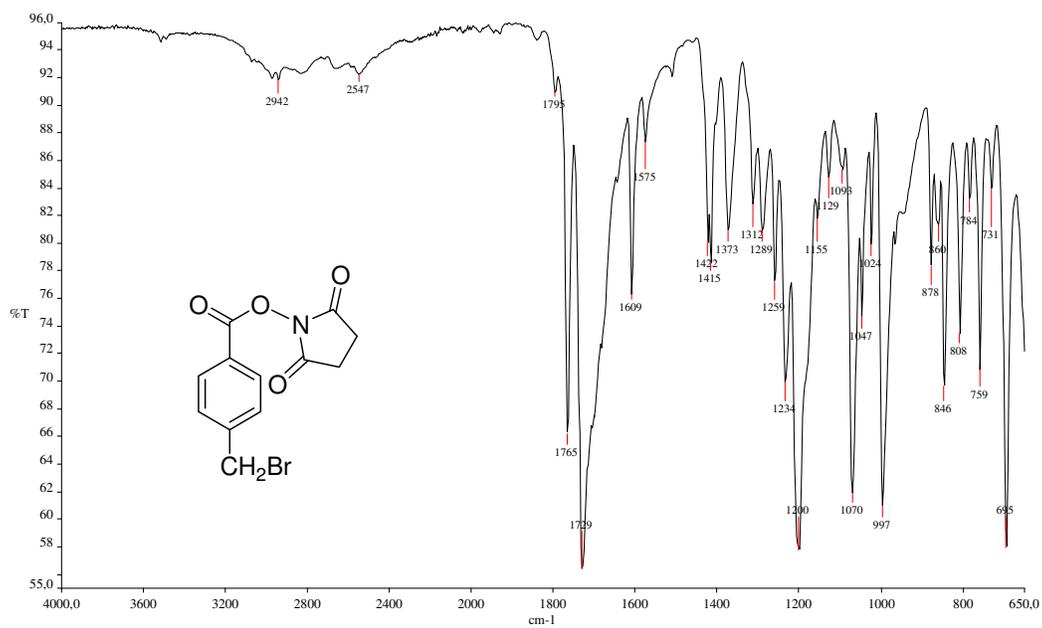


Figura A.10 – Espectro no infravermelho de 10.

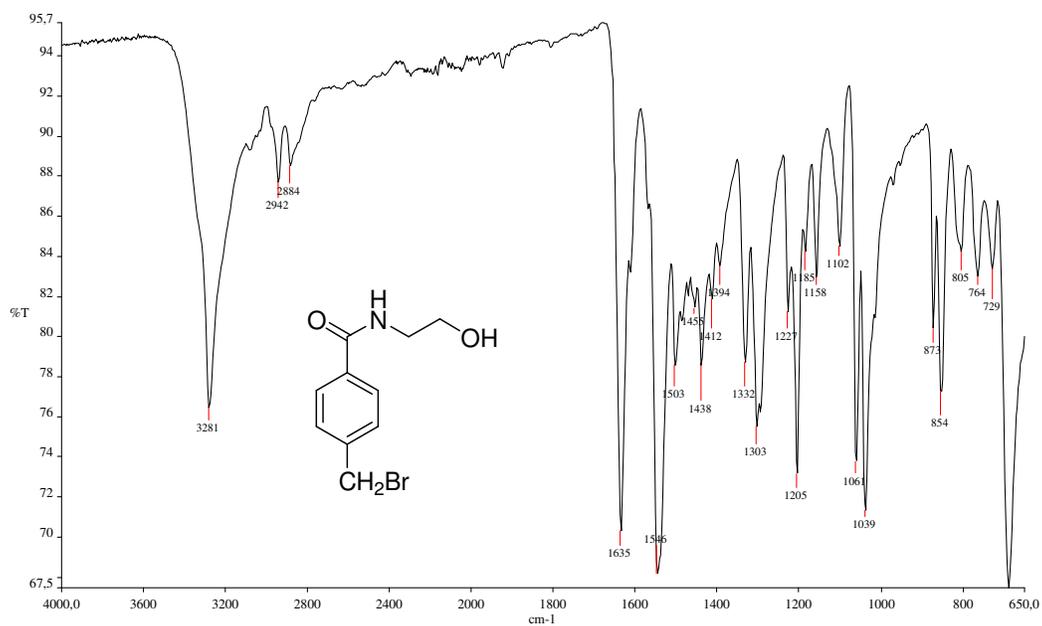


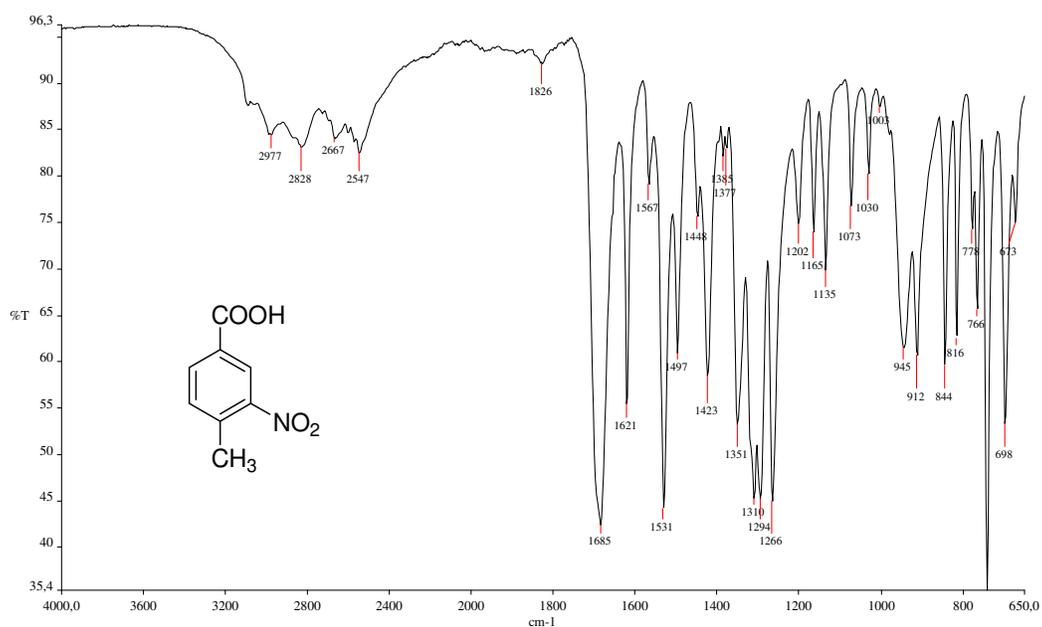
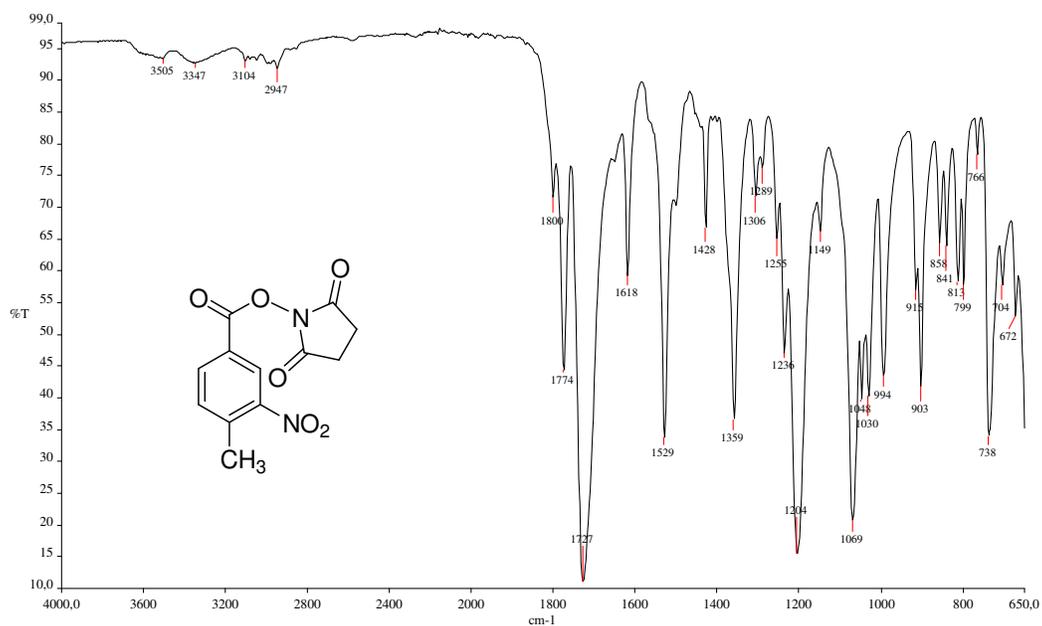
Figura A.11 – Espectro no infravermelho de 11.Figura A.12 – Espectro no infravermelho de 12.

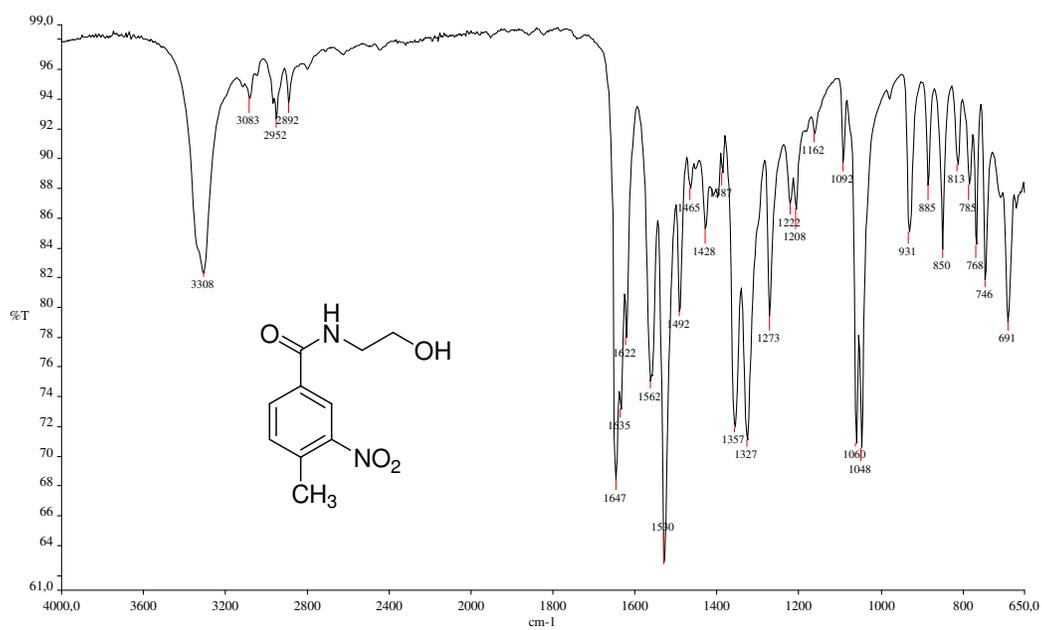
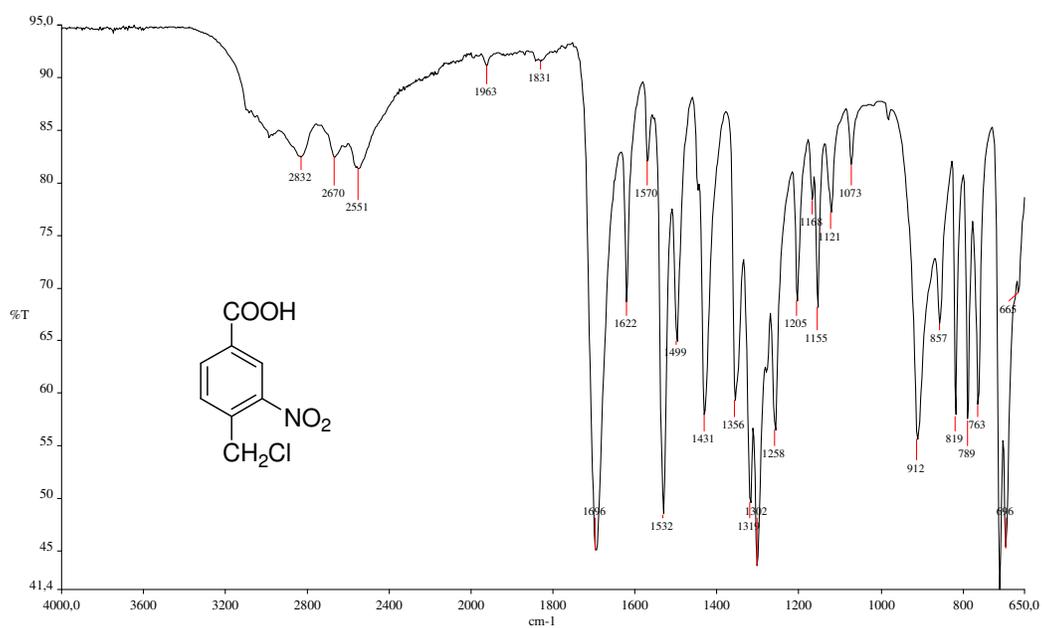
Figura A.13 – Espectro no infravermelho de 13.Figura A.14 – Espectro no infravermelho de 14.

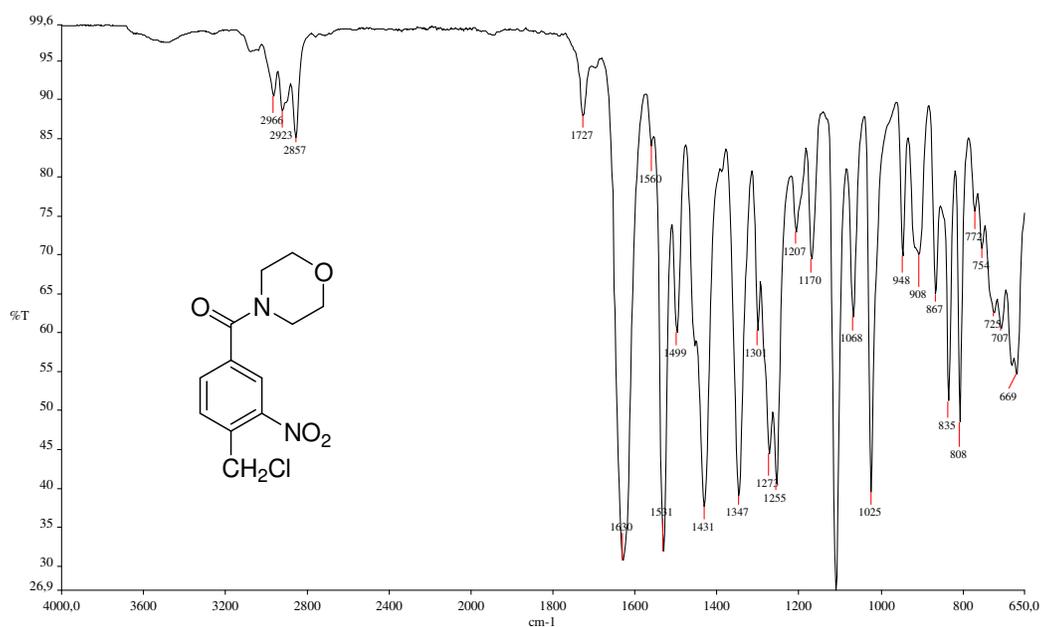
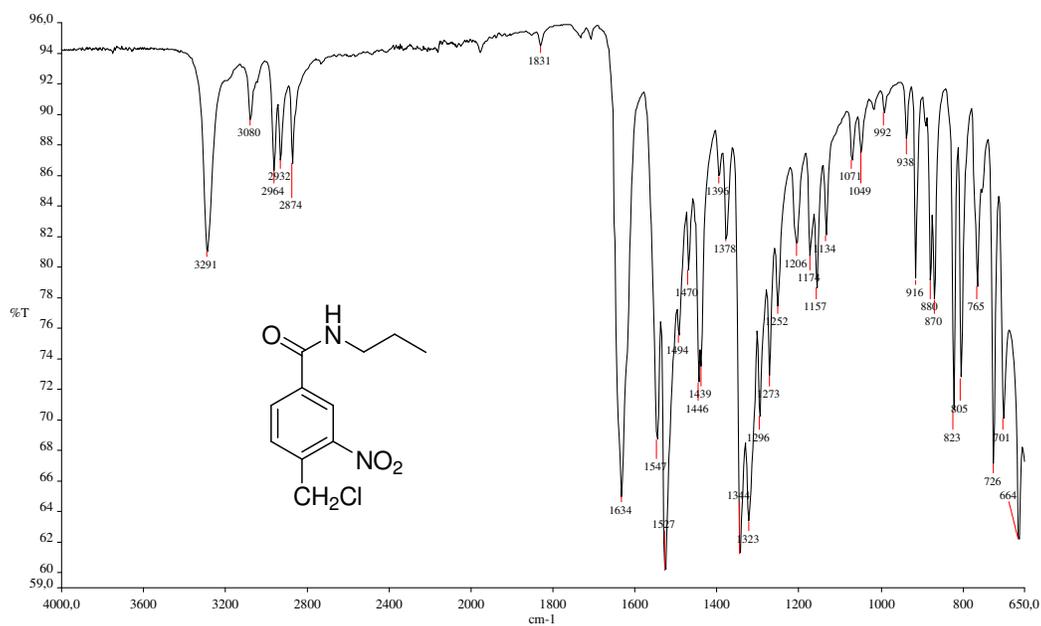
Figura A.15 – Espectro no infravermelho de 15.Figura A.16 – Espectro no infravermelho de 16.

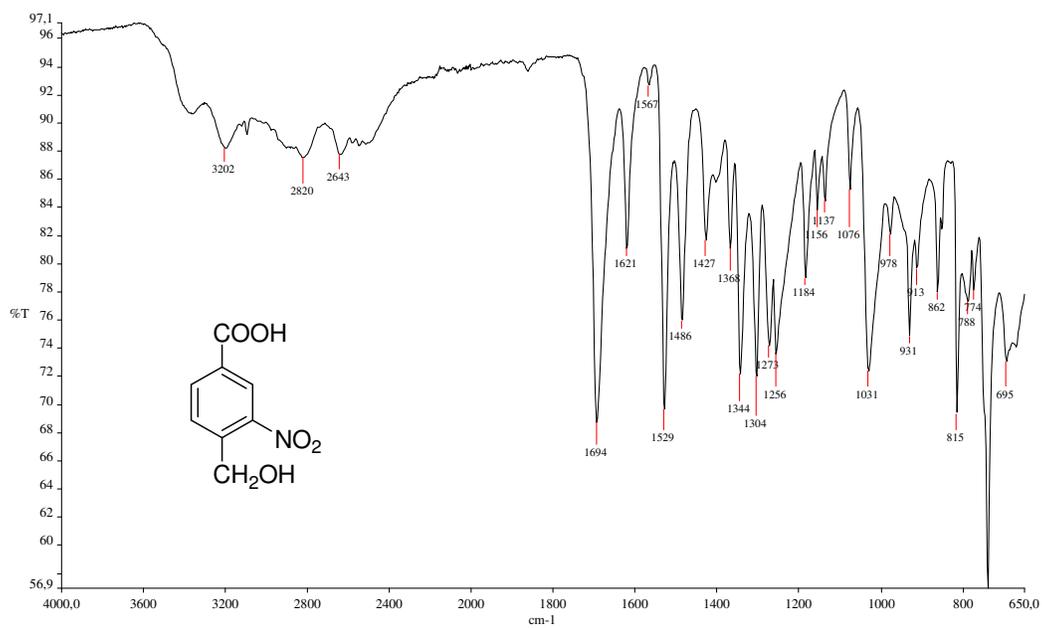
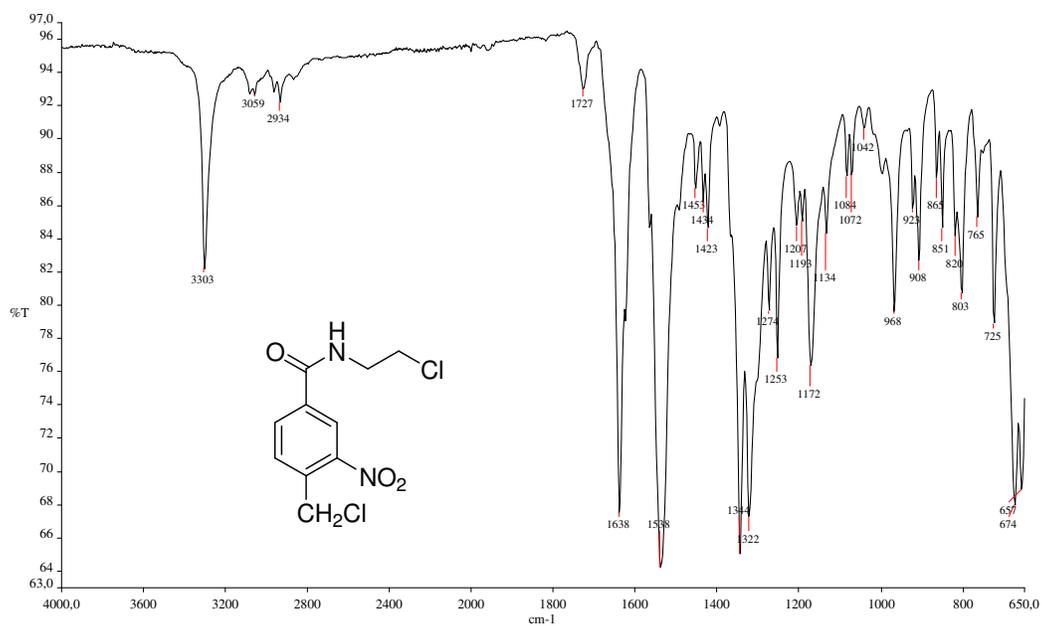
Figura A.17 – Espectro no infravermelho de 17.Figura A.18 – Espectro no infravermelho de 18.

Figura A.21 – Espectro no infravermelho de 21.

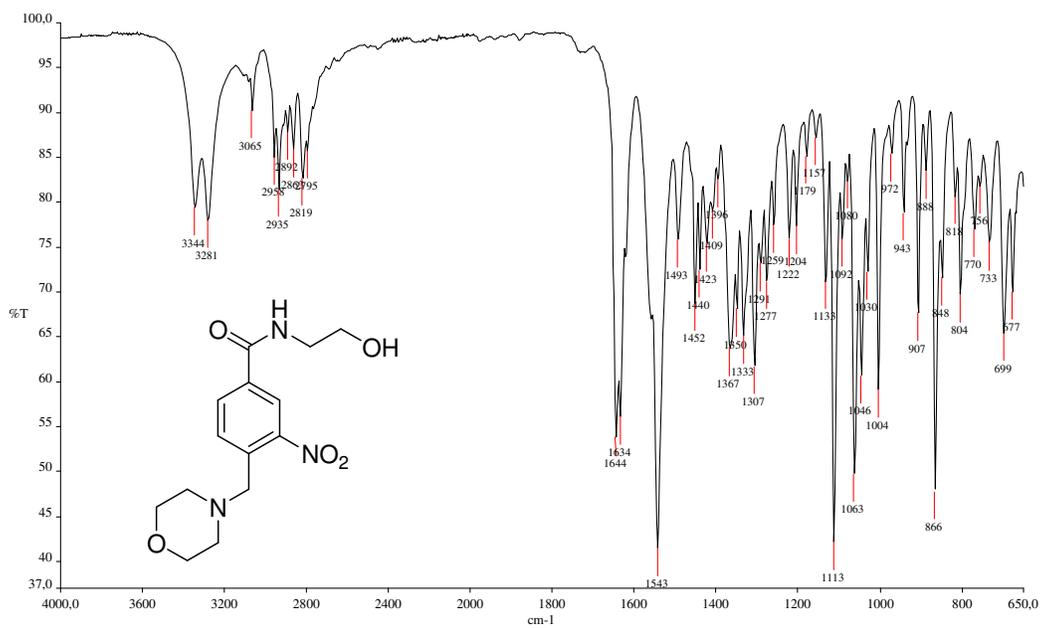


Figura A.22 – Espectro no infravermelho de 22.

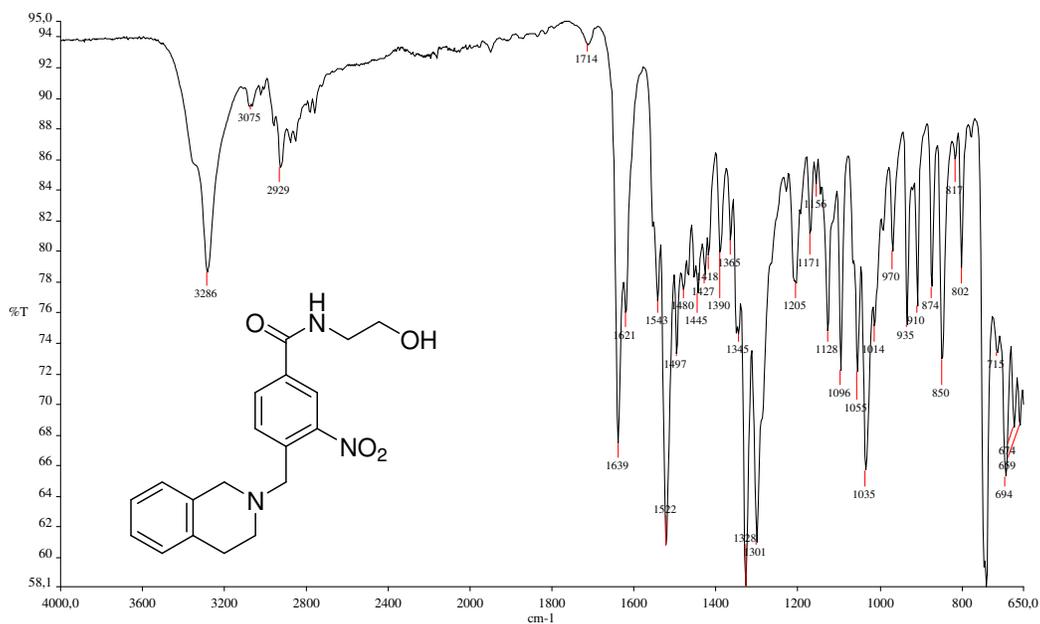


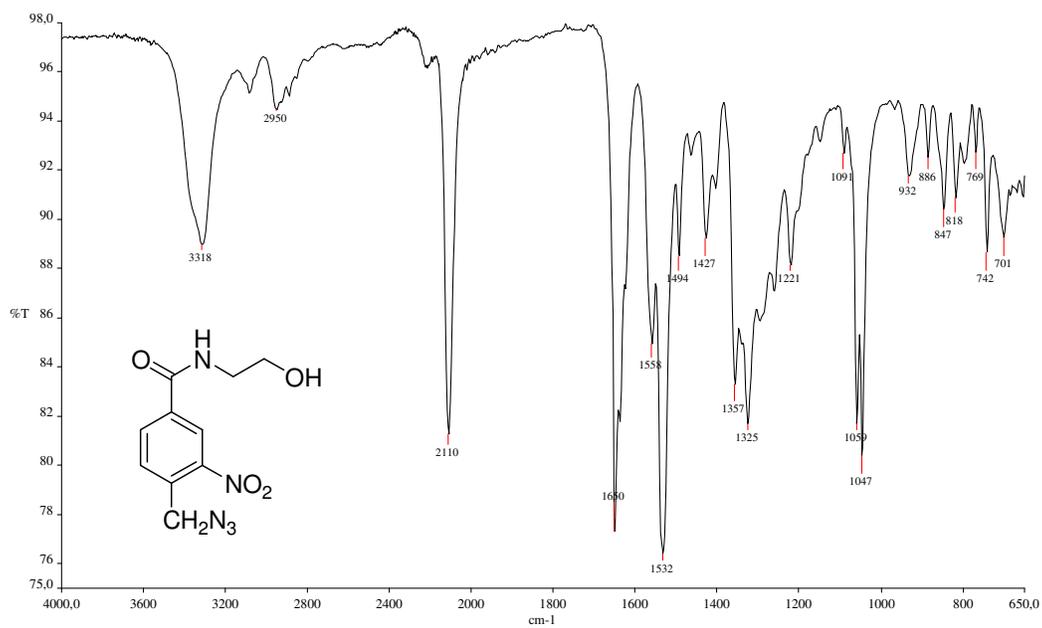
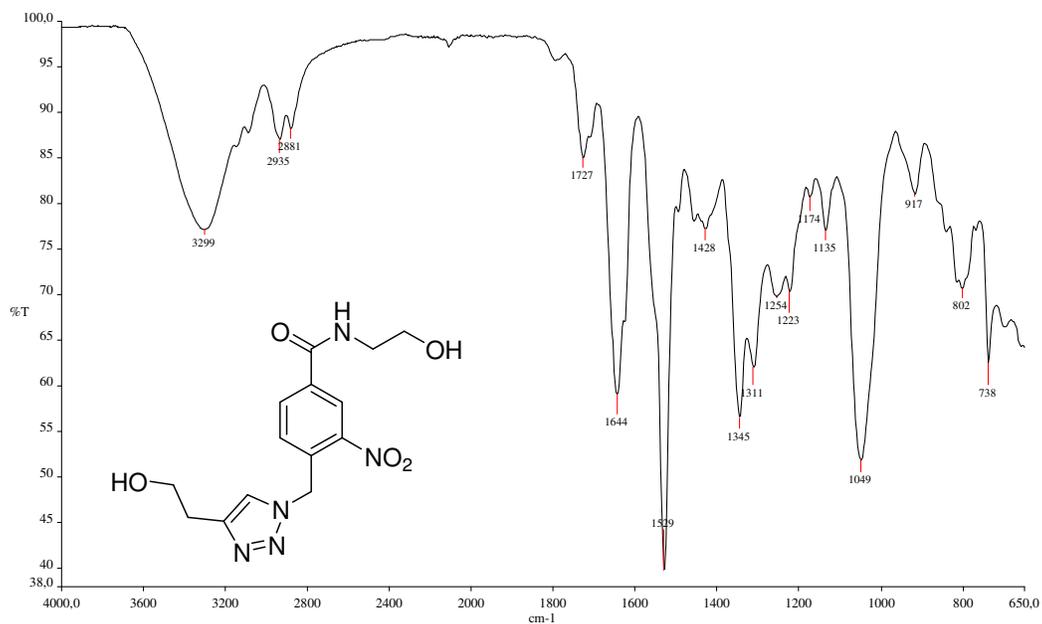
Figura A.23 – Espectro no infravermelho de 23.Figura A.24 – Espectro no infravermelho de 24.

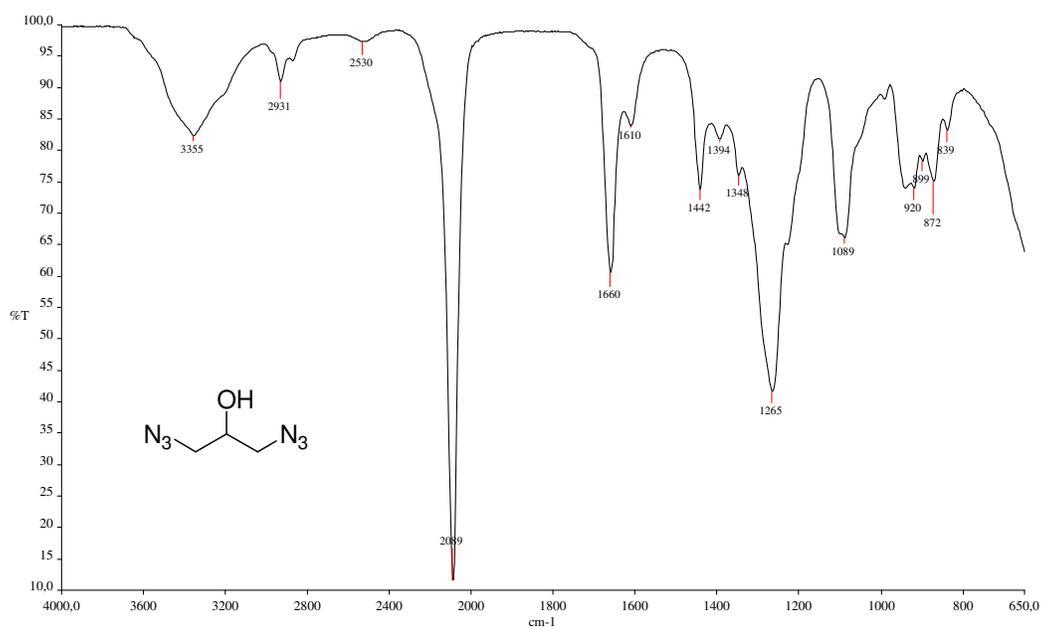
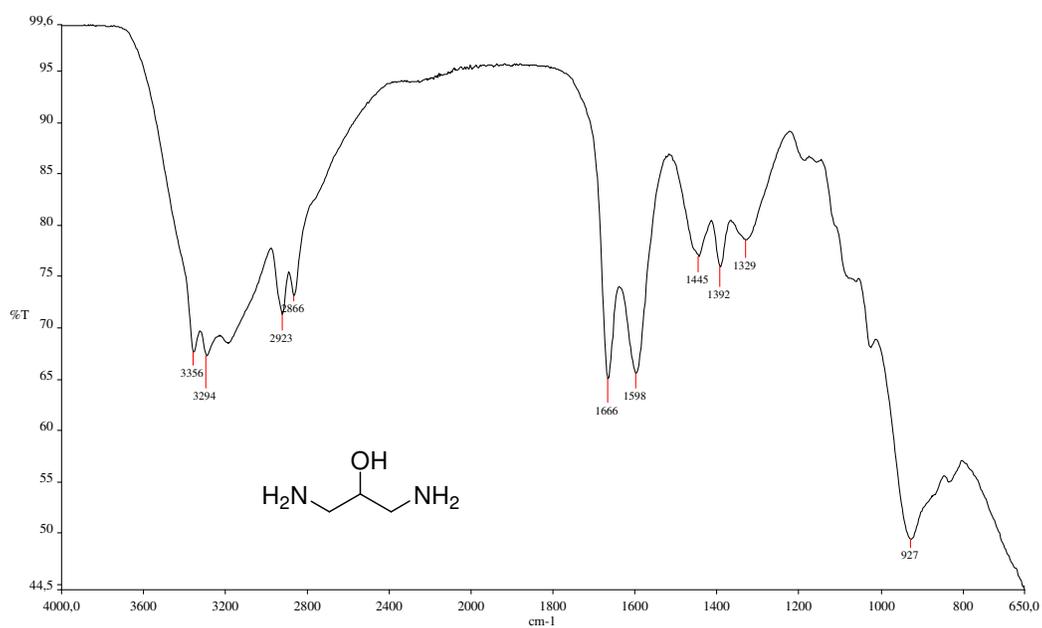
Figura A.25 – Espectro no infravermelho de 25.Figura A.26 – Espectro no infravermelho de 26.

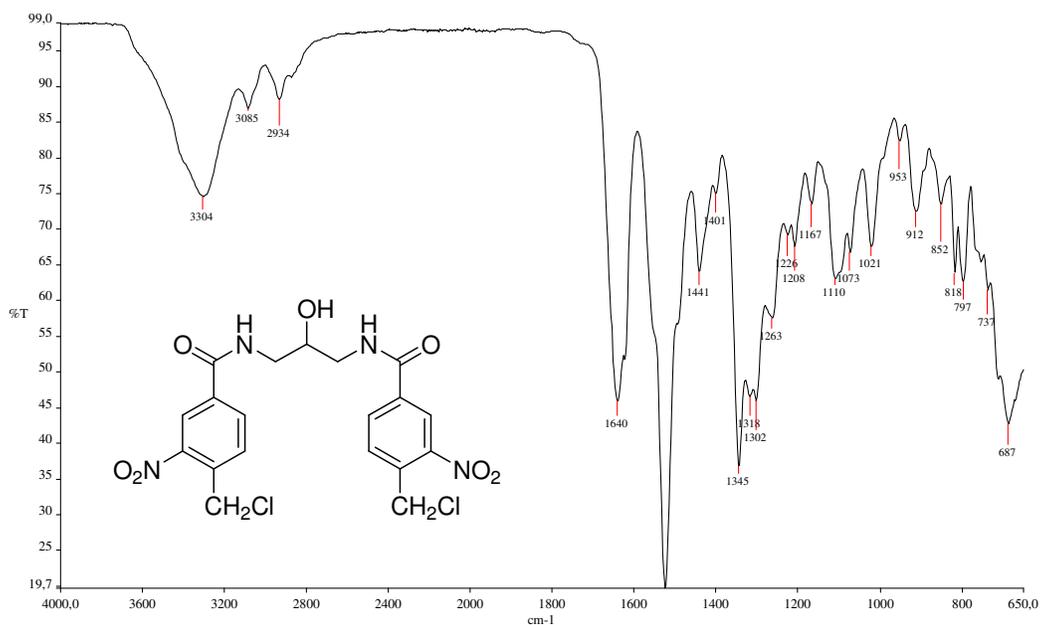
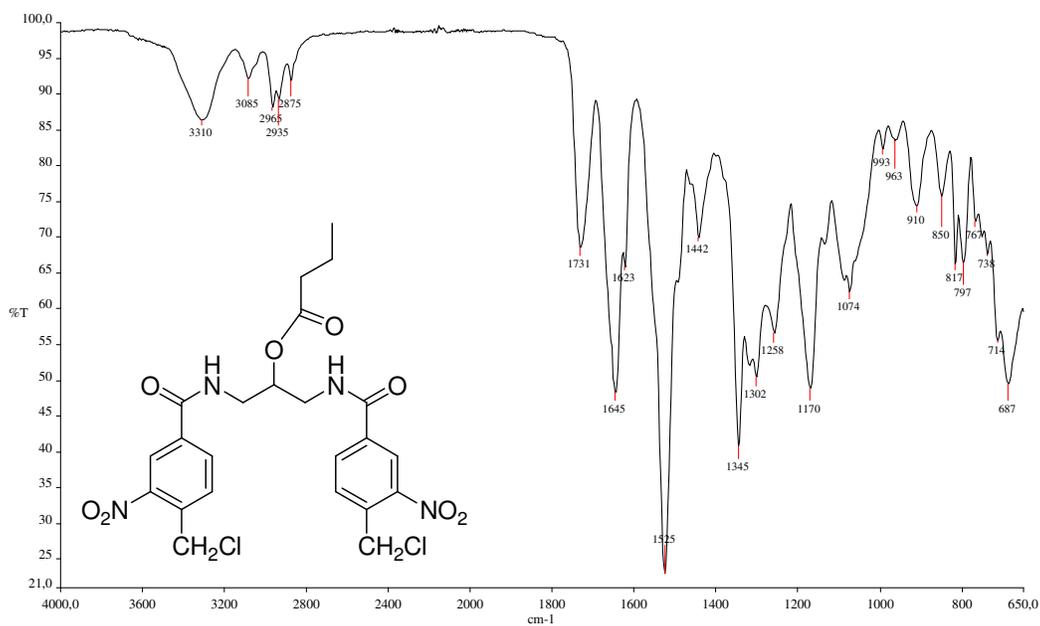
Figura A.27 – Espectro no infravermelho de 27.Figura A.28 – Espectro no infravermelho de 28.

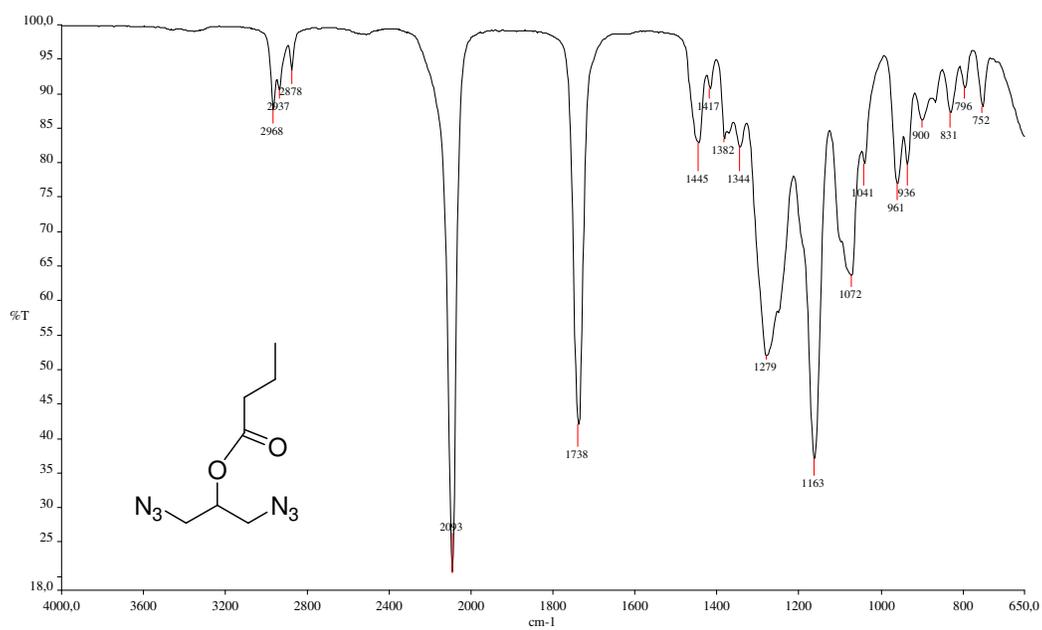
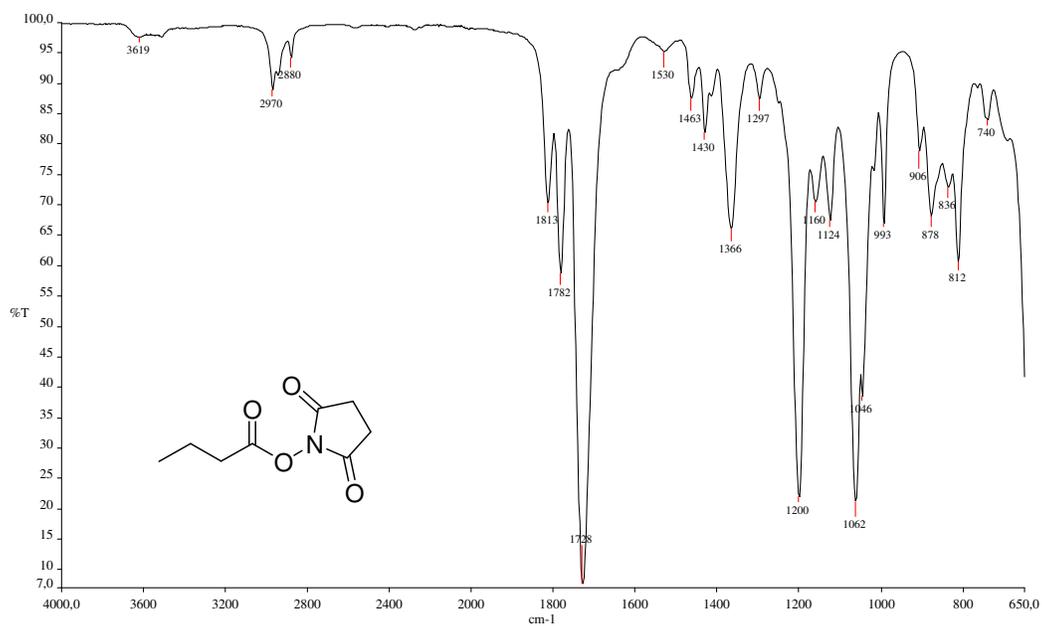
Figura A.29 – Espectro no infravermelho de 29.Figura A.30 – Espectro no infravermelho de 30.

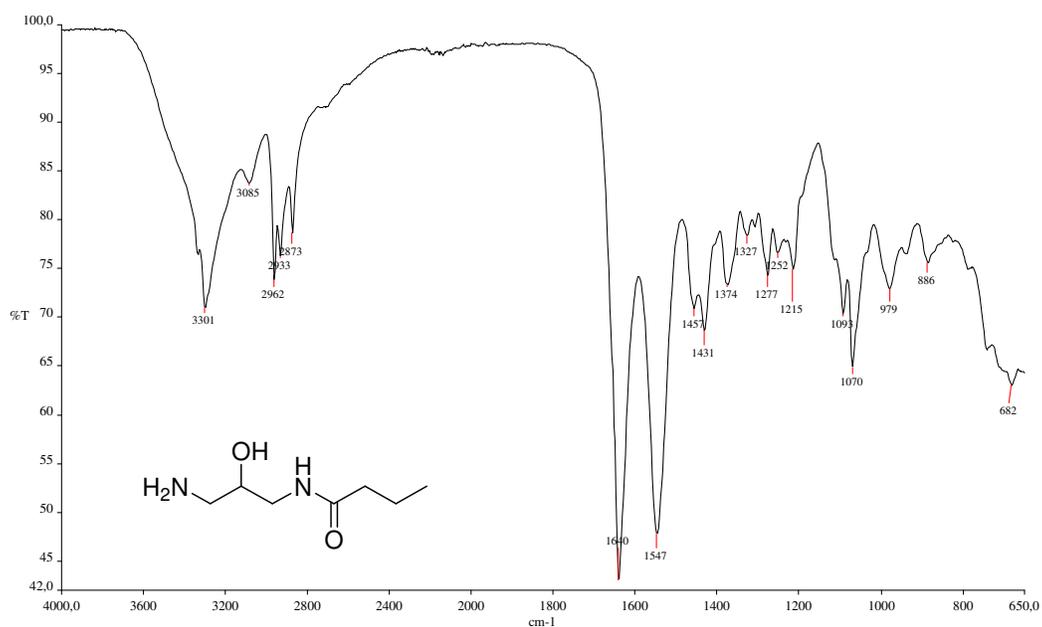
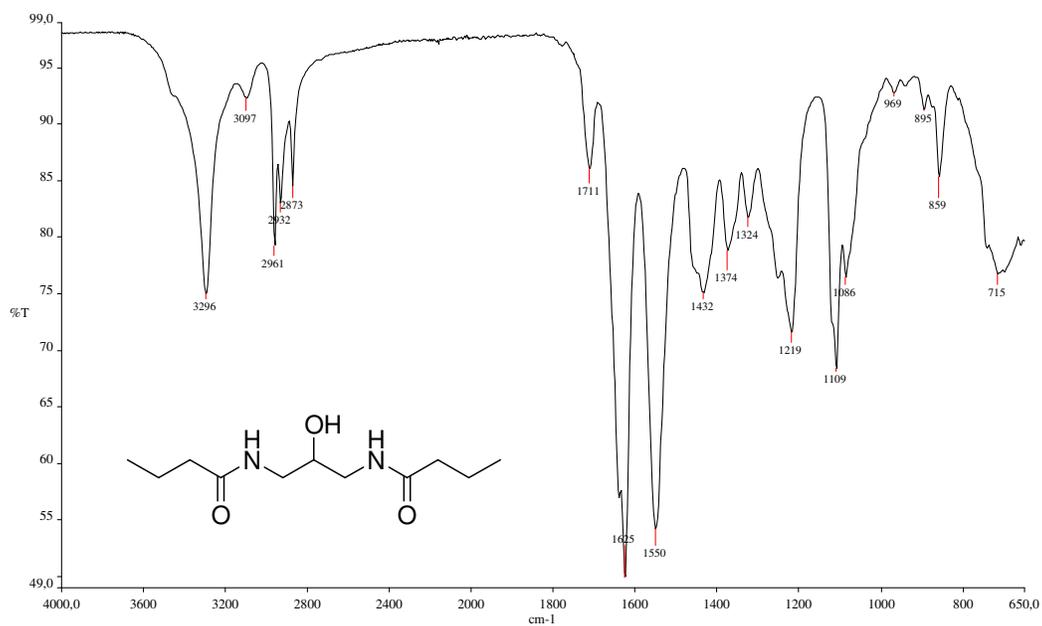
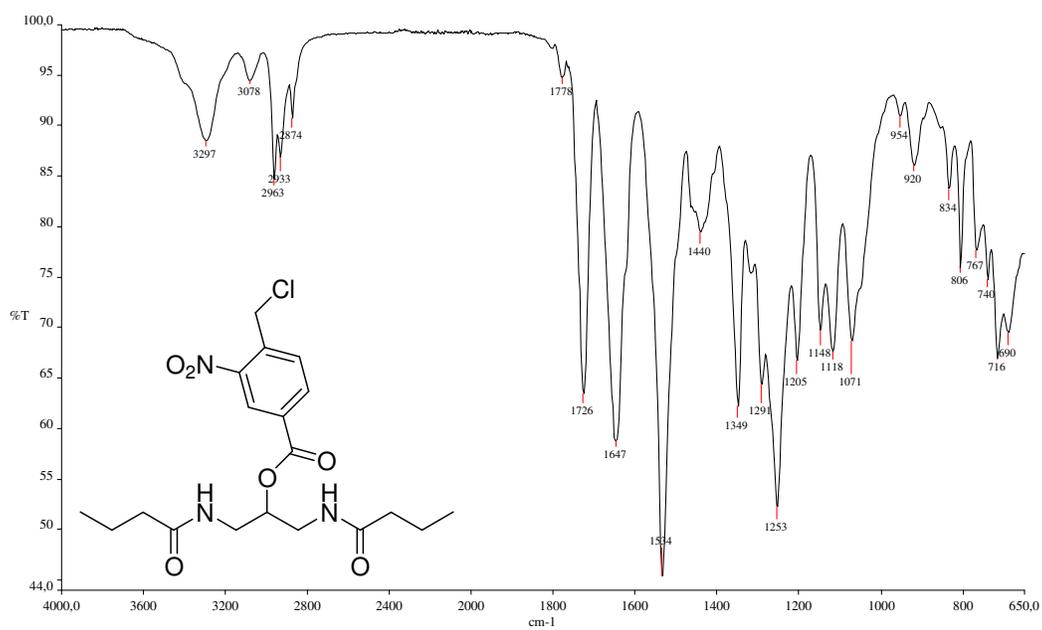
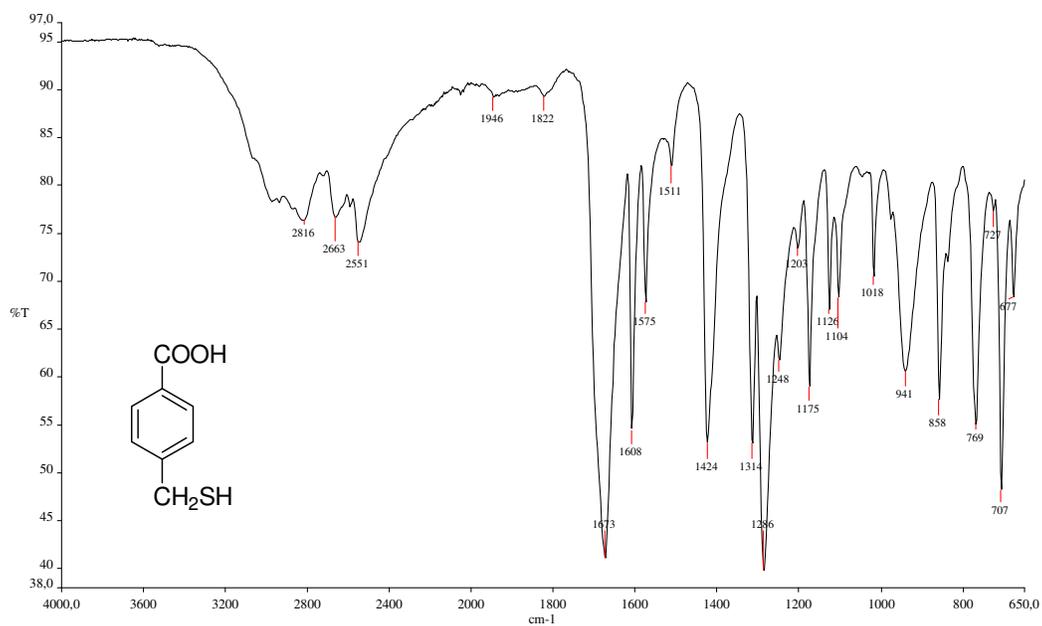
Figura A.31 – Espectro no infravermelho de 31.Figura A.32 – Espectro no infravermelho de 32.

Figura A.33 – Espectro no infravermelho de **33**.Figura A.34 – Espectro no infravermelho de **34**.

APÊNDICE B – Espectros de Ressonância Magnética Nuclear

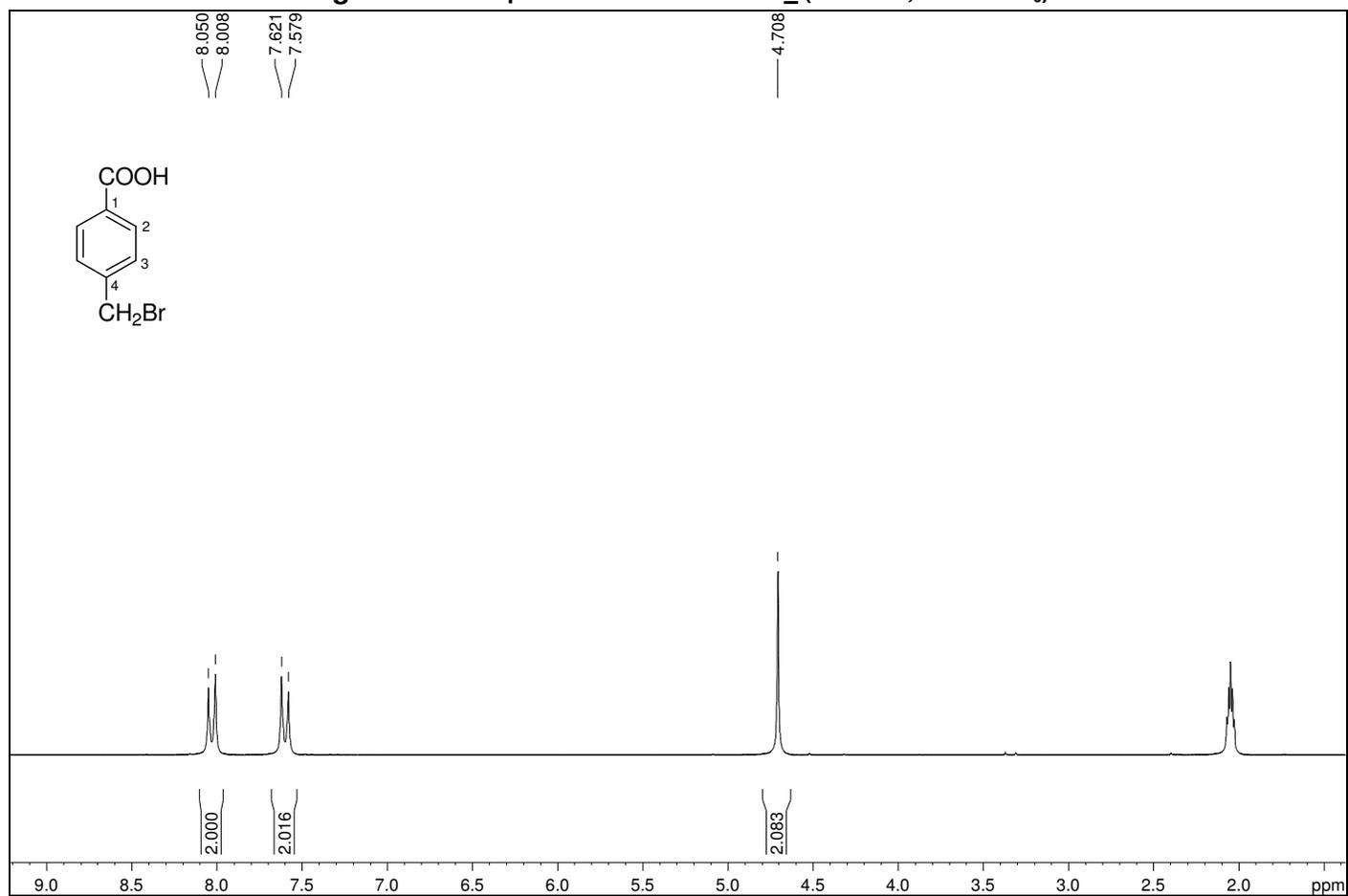
Figura B.1 – Espectro de RMN de ^1H de **1** (200 MHz, acetona- d_6)

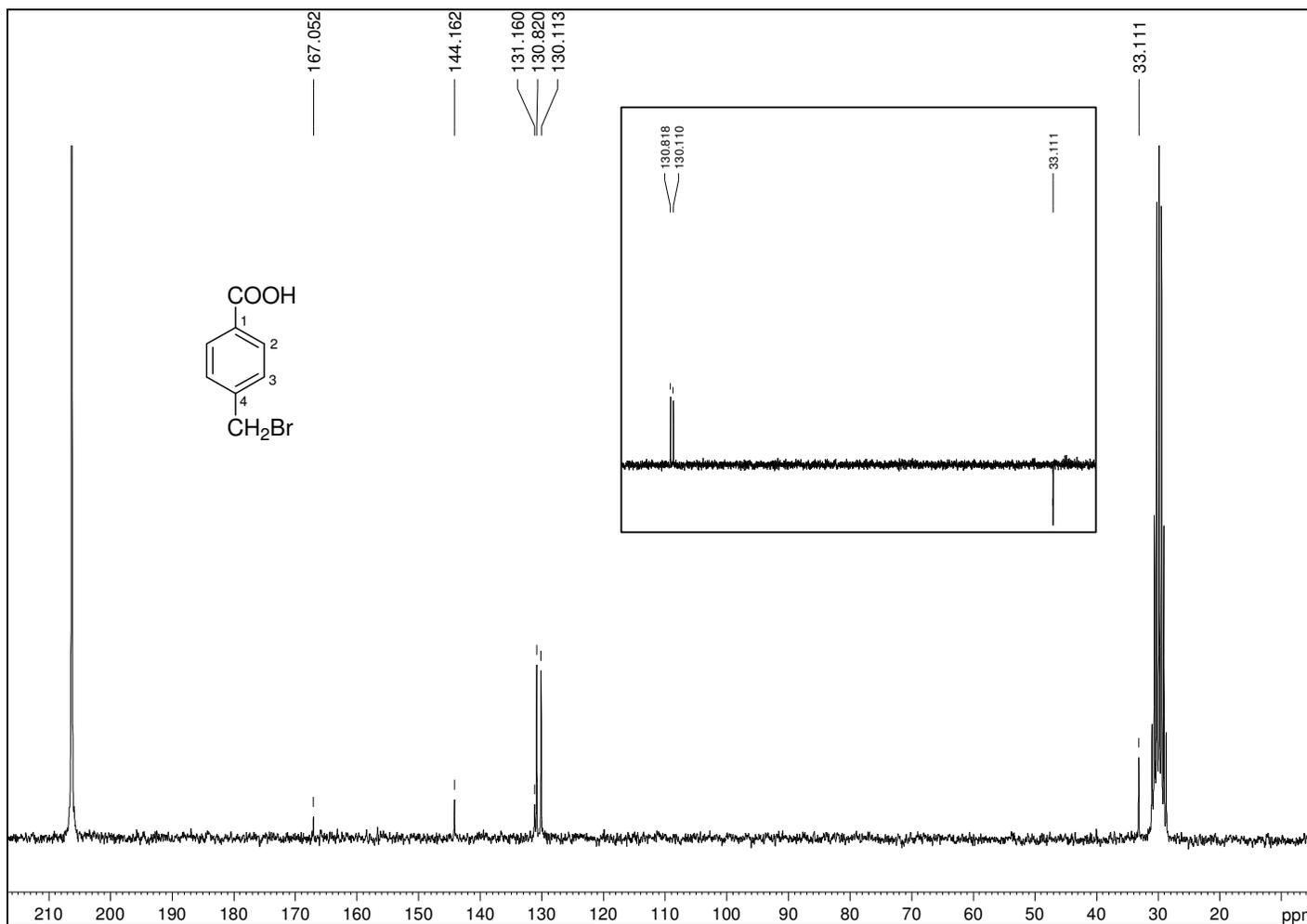
Figura B.2 – Espectro de RMN de ^{13}C de 1 (50 MHz, acetona- d_6).

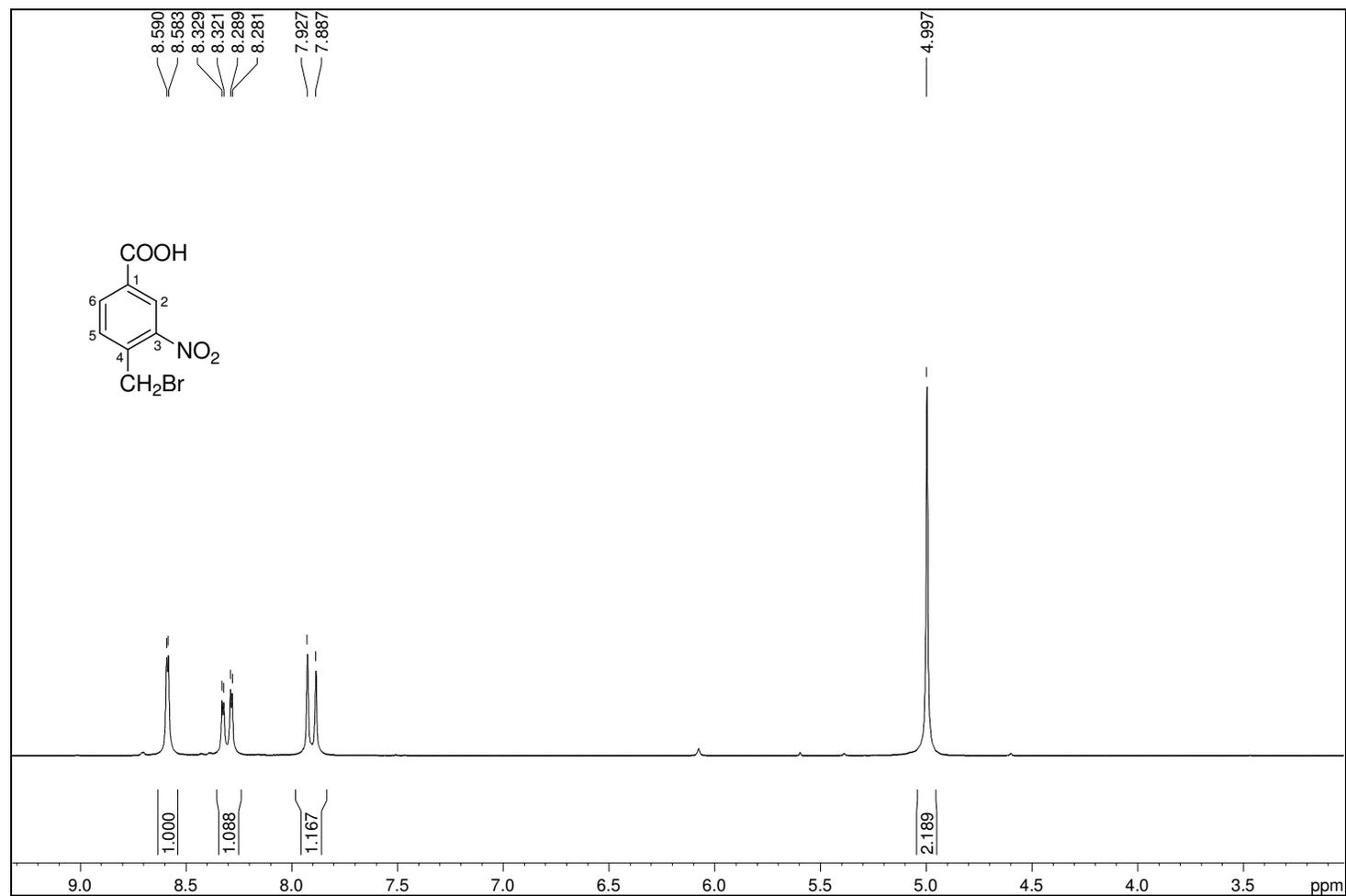
Figura B.3 – Espectro de RMN de ^1H de 2 (200 MHz, acetona- d_6).

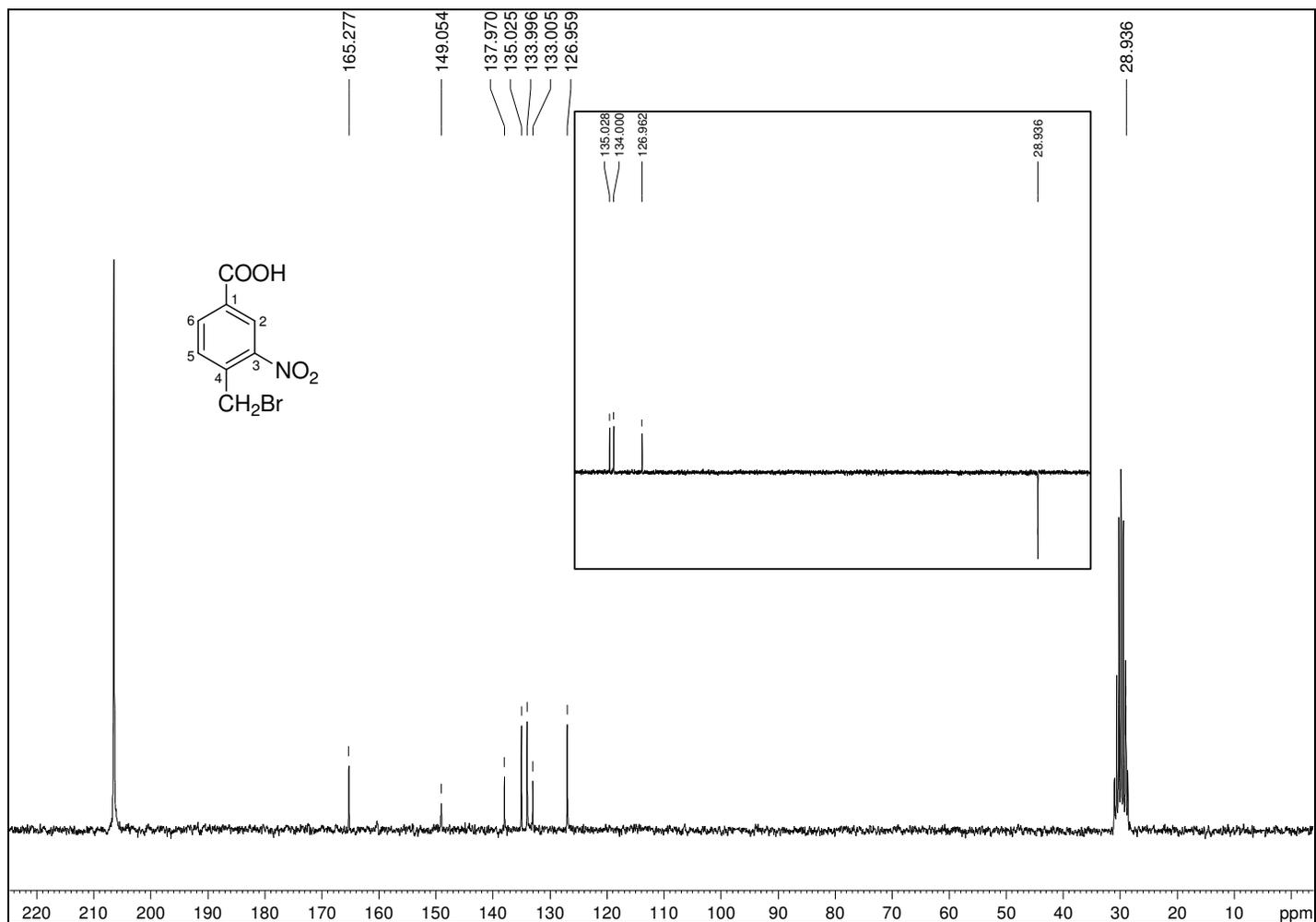
Figura B.4 – Espectro de RMN de ^{13}C de 2 (50 MHz, acetona- d_6).

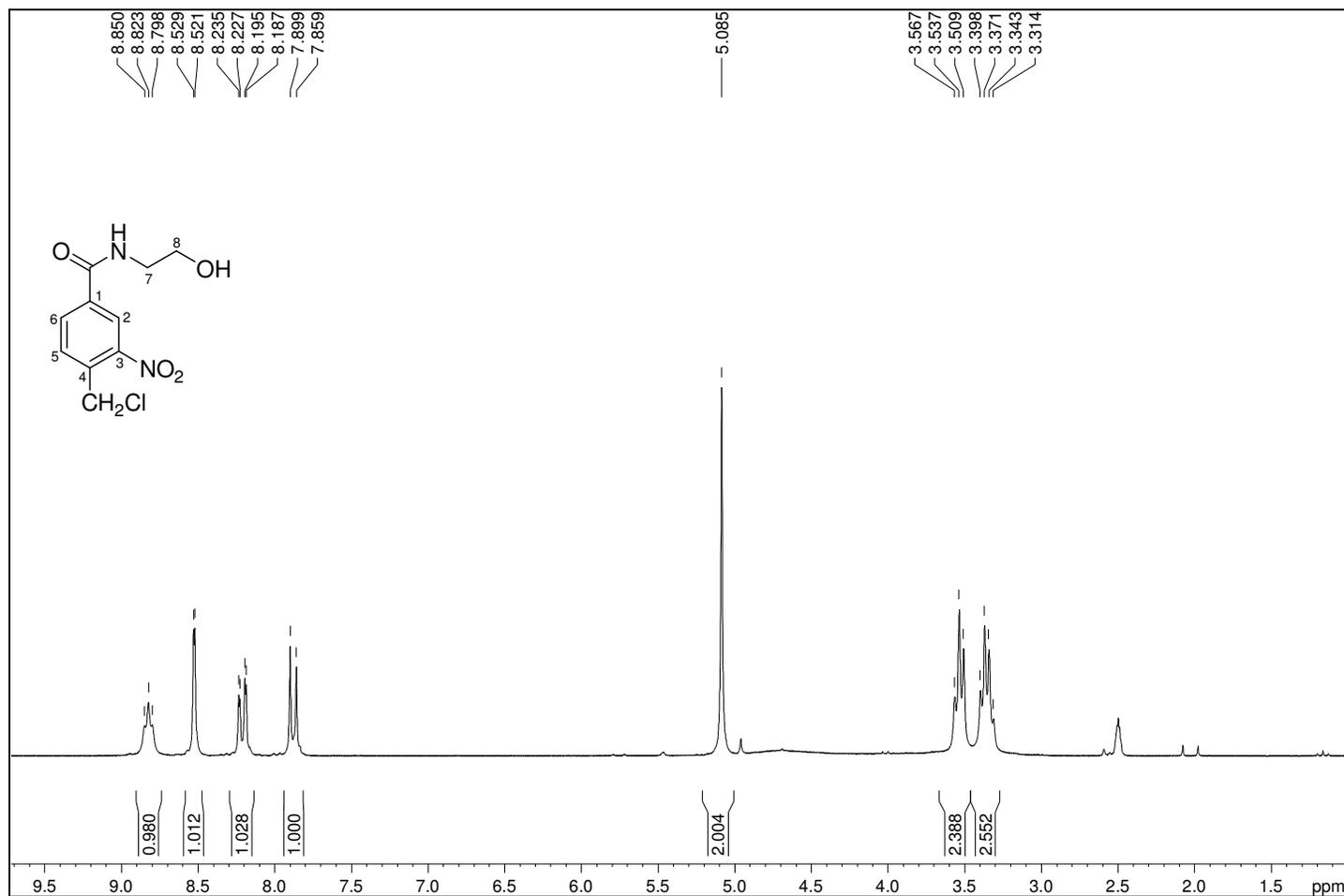
Figura B.5 – Espectro de RMN de ^1H de **4** (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

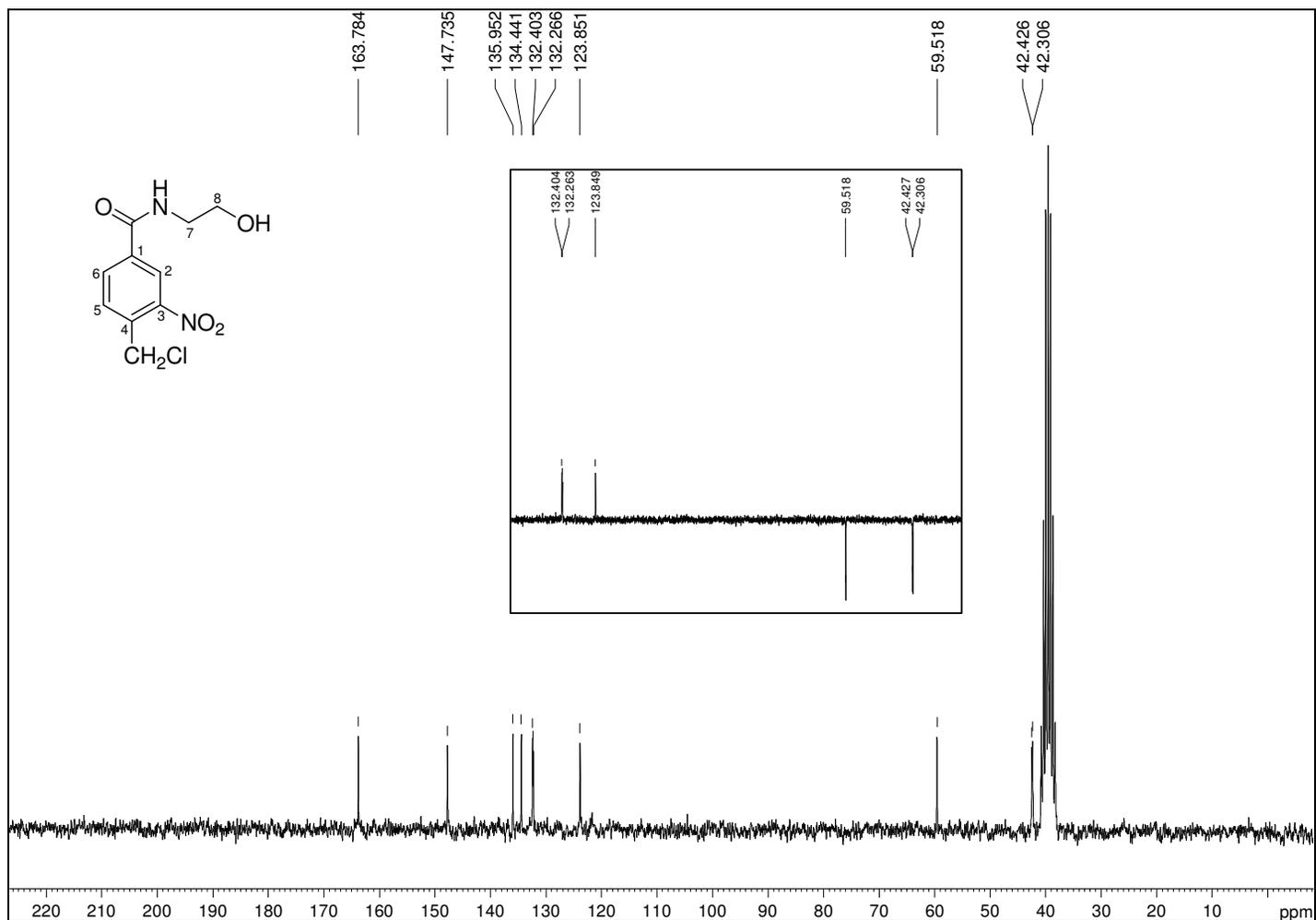
Figura B.6 – Espectro de RMN de ^{13}C de 4 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

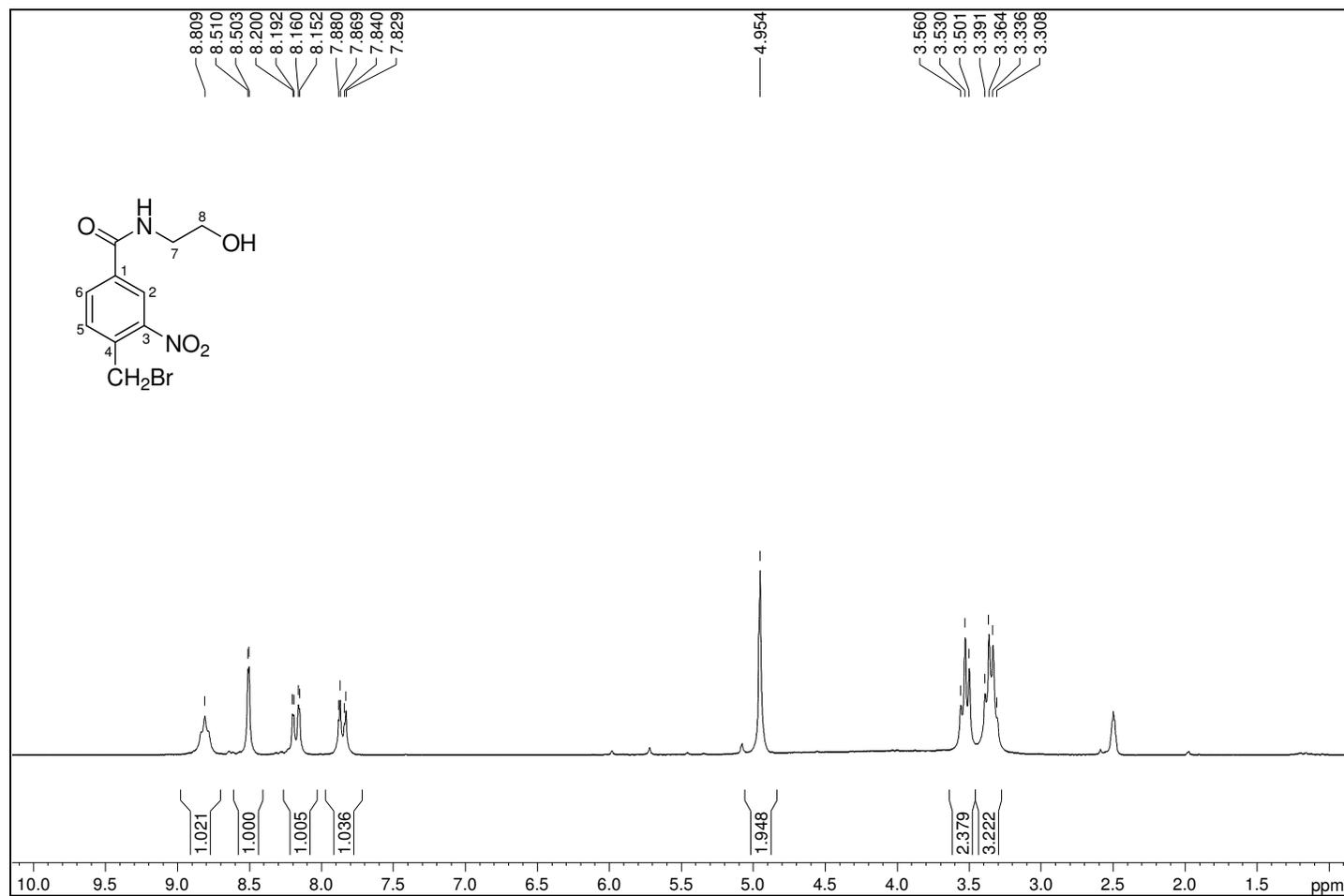
Figura B.7 – Espectro de RMN de ^1H de **6** (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

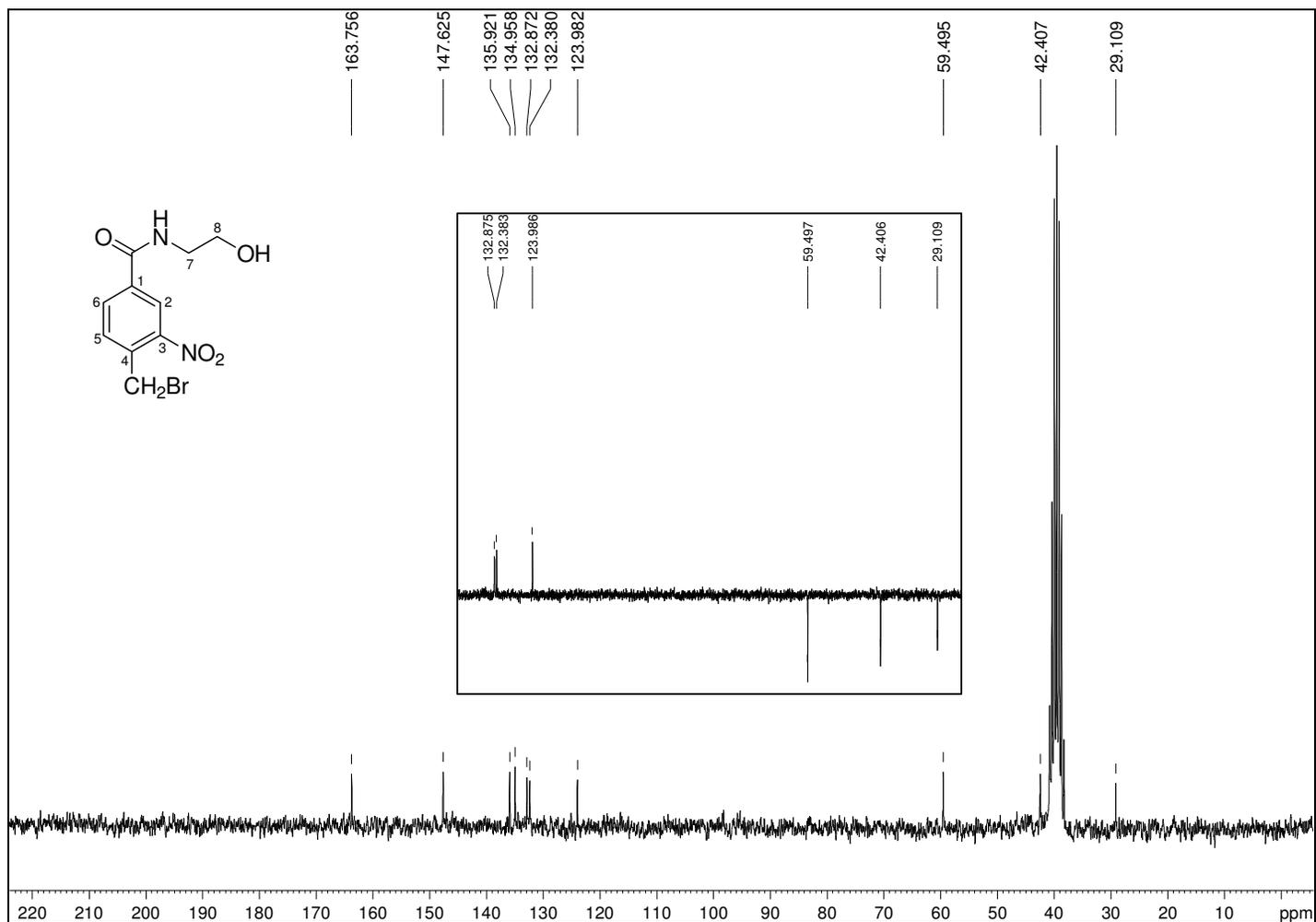
Figura B.8 – Espectro de RMN de ^{13}C de 6 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

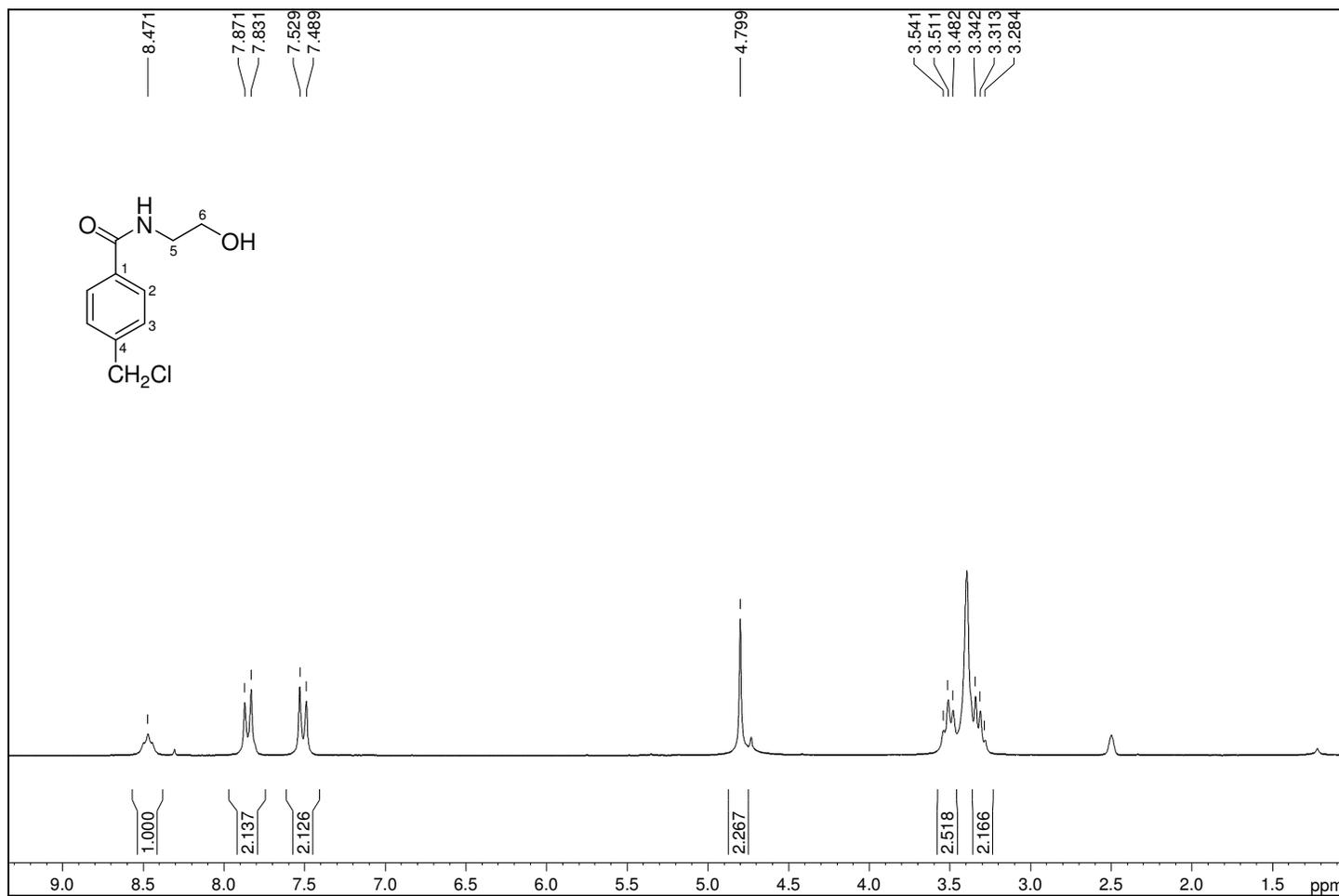
Figura B.9 – Espectro de RMN de ^1H de **8** (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

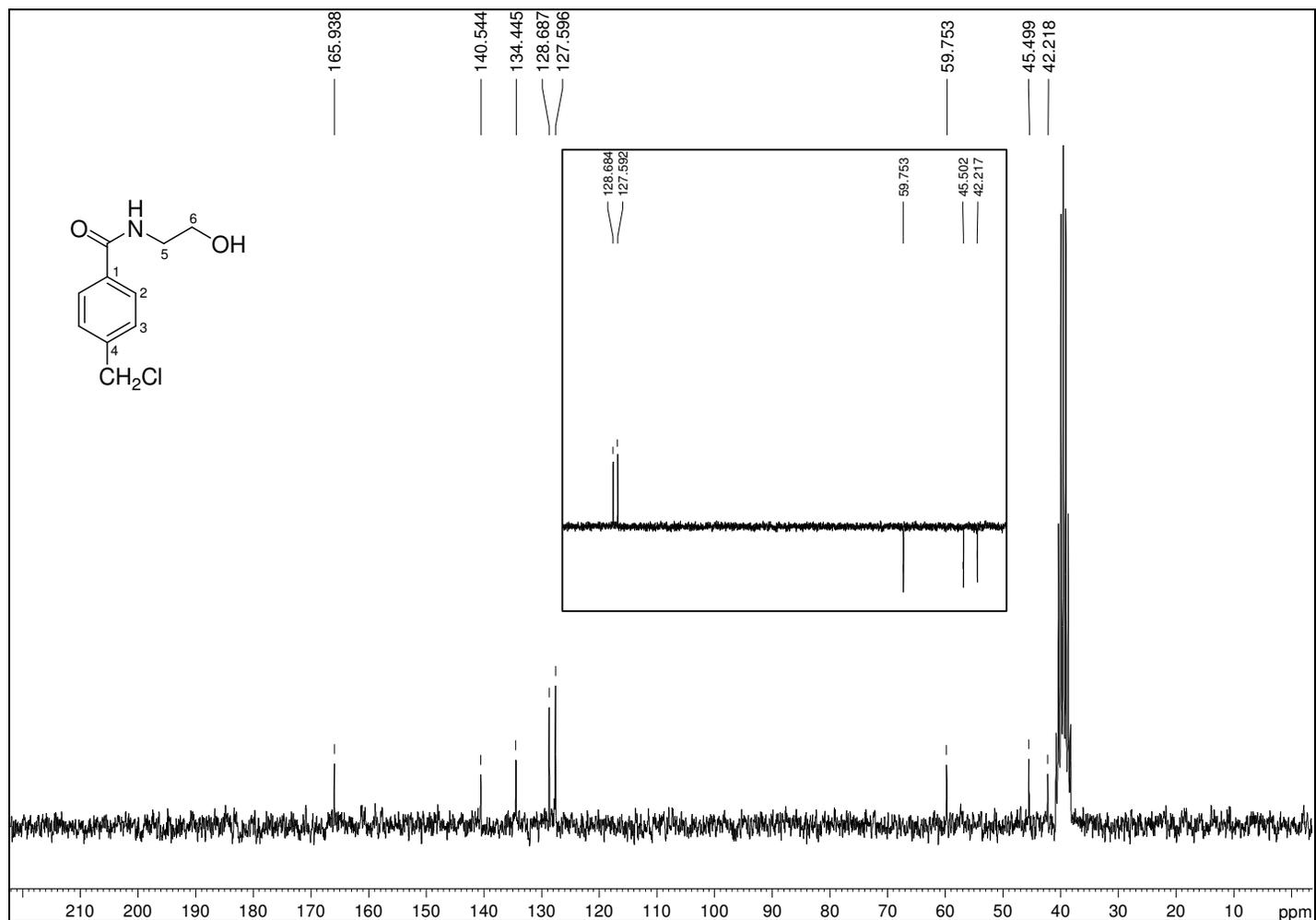
Figura B.10 – Espectro de RMN de ^{13}C de **8** (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

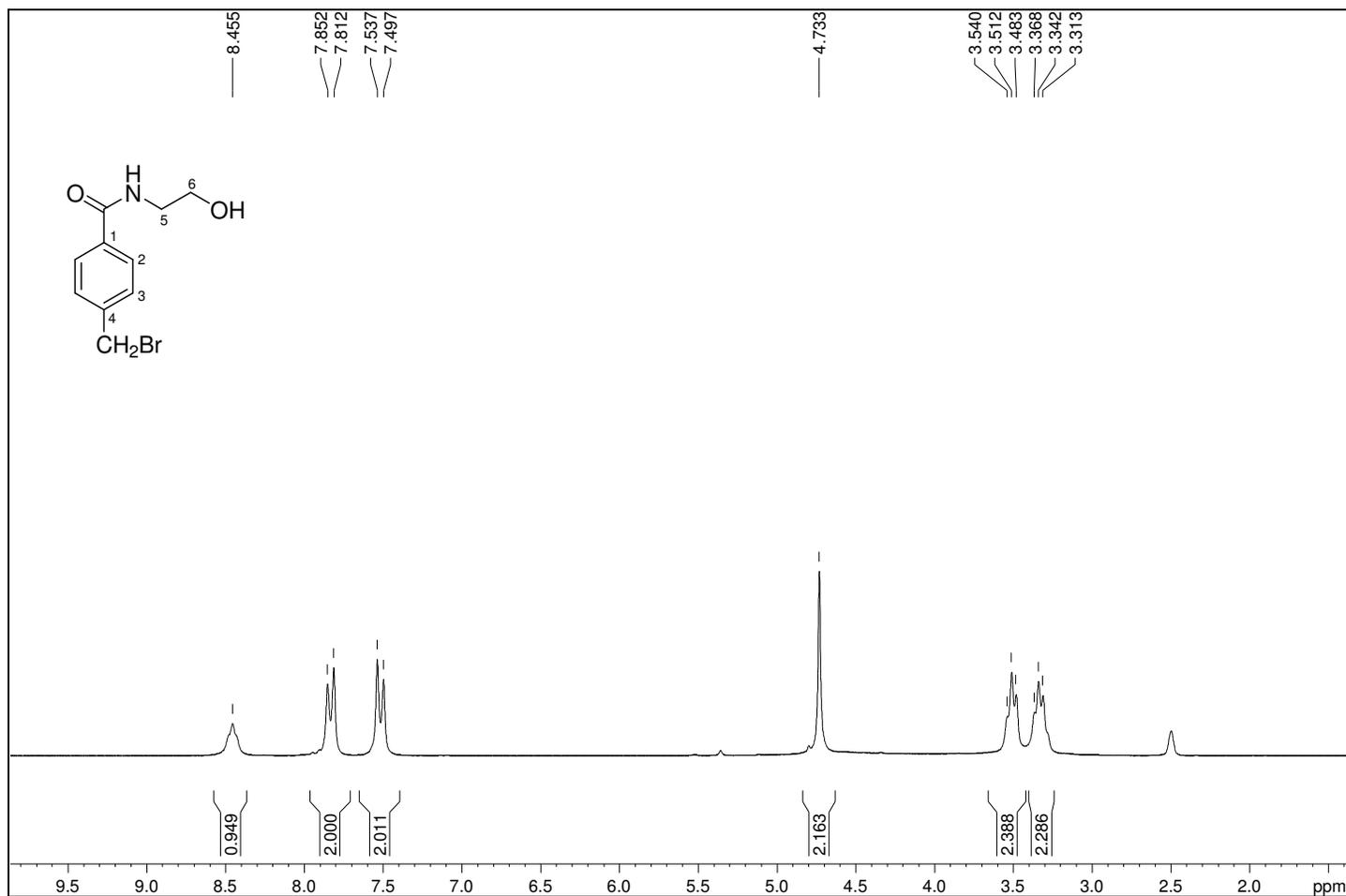
Figura B.11 – Espectro de RMN de ^1H de 10 (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

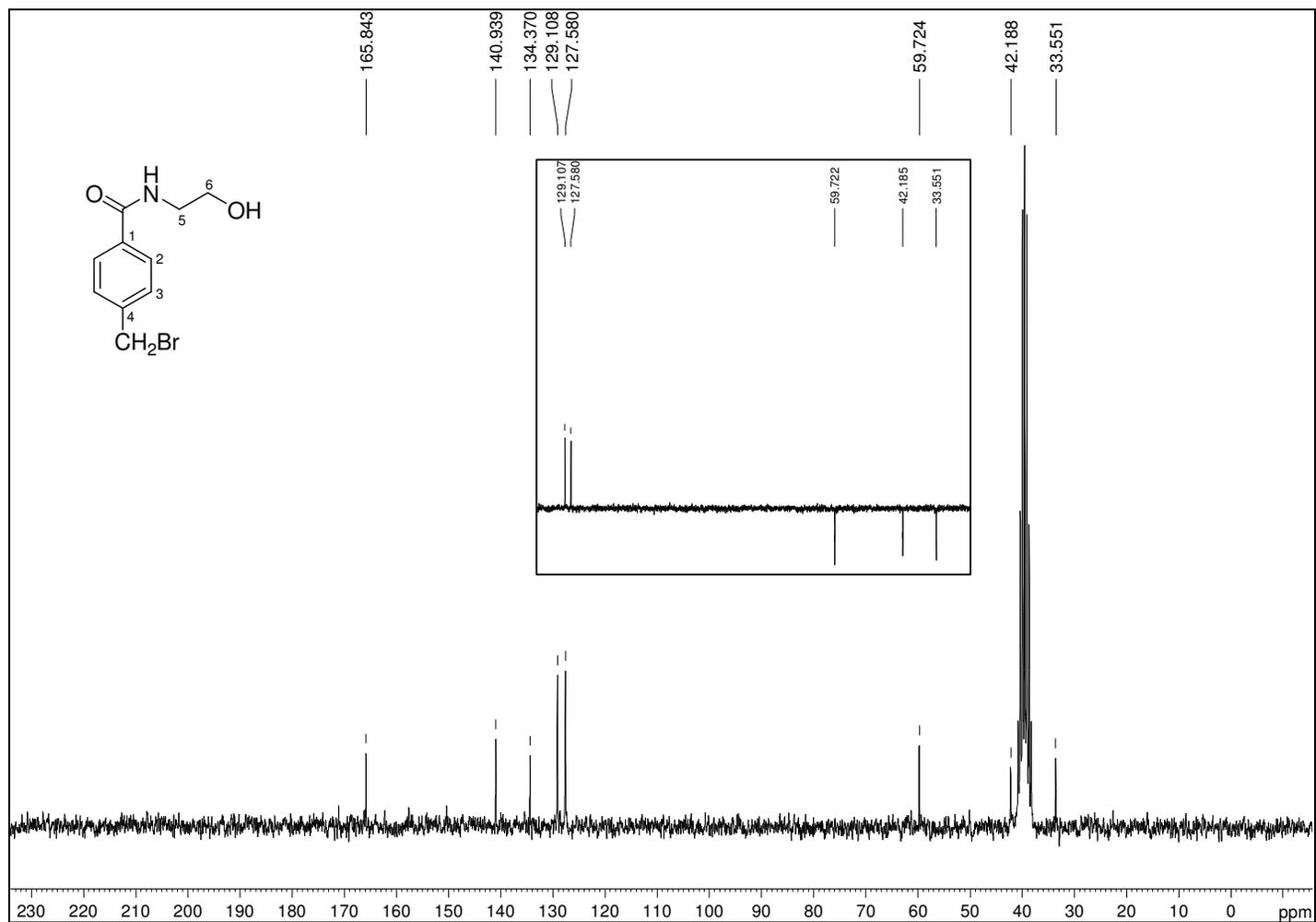
Figura B.12 – Espectro de RMN de ^{13}C de 10 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

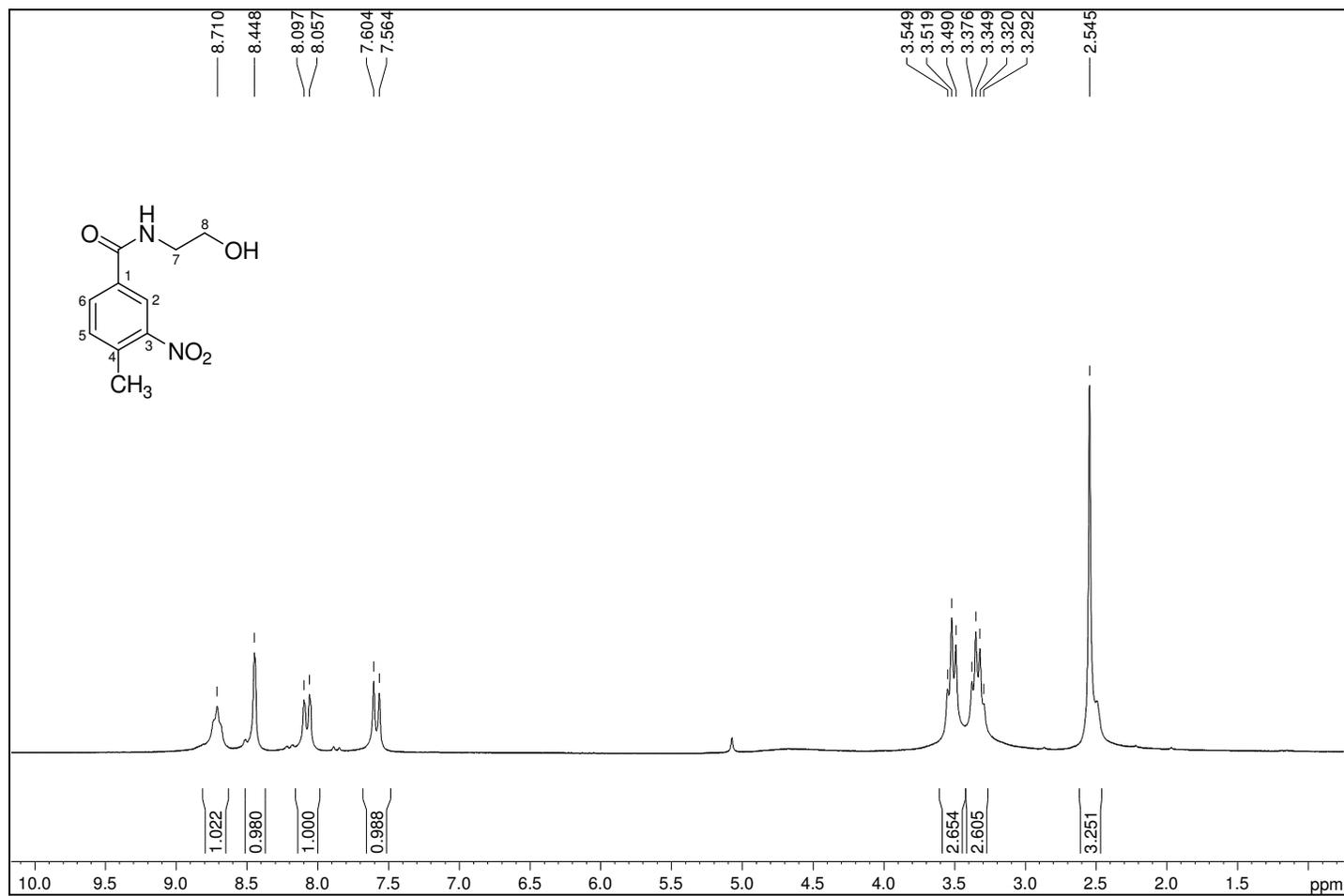
Figura B.13 – Espectro de RMN de ^1H de 13 (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

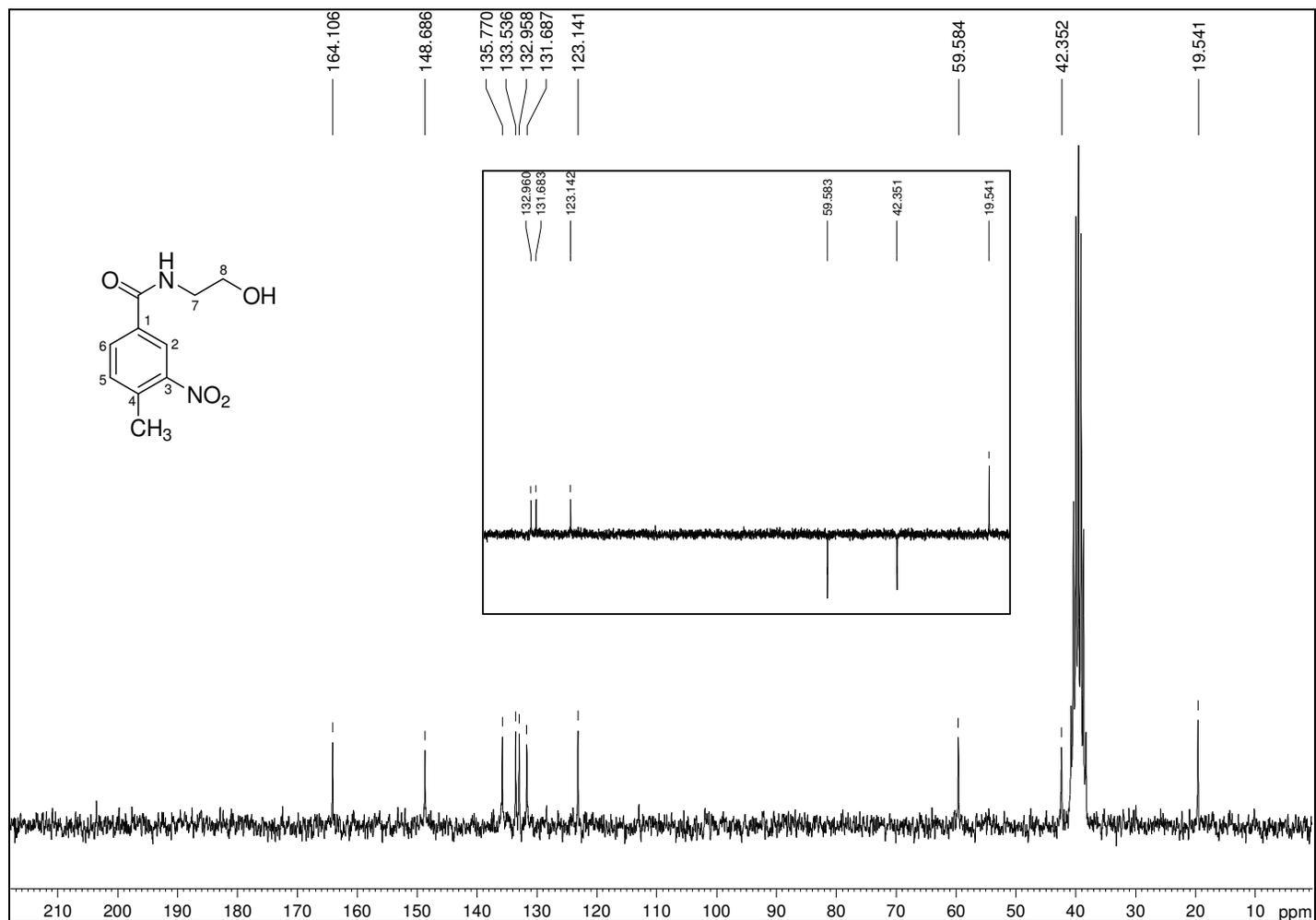
Figura B.14 – Espectro de RMN de ^{13}C de 13 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

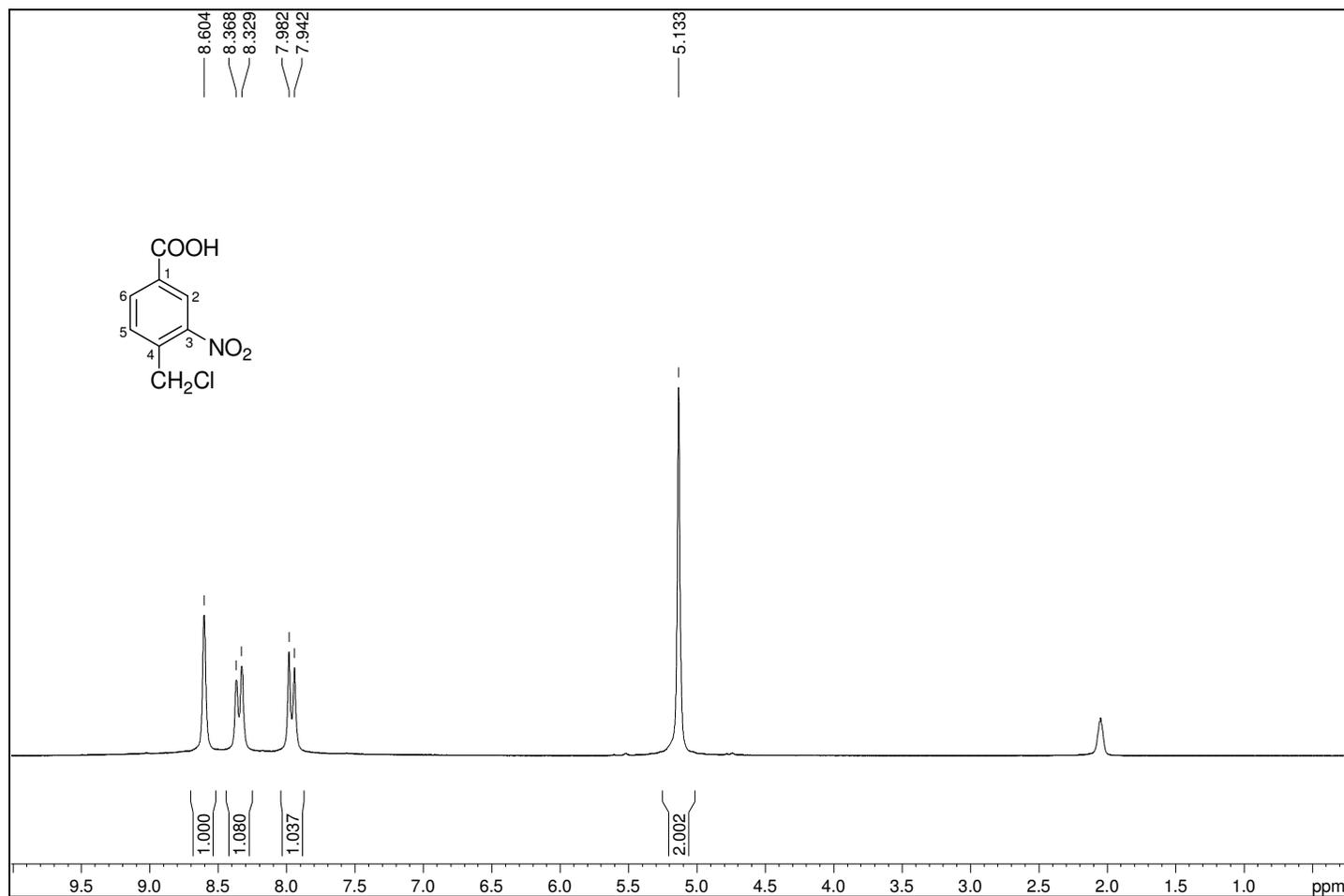
Figura B.15 – Espectro de RMN de ^1H de 14 (200 MHz, acetona- d_6).

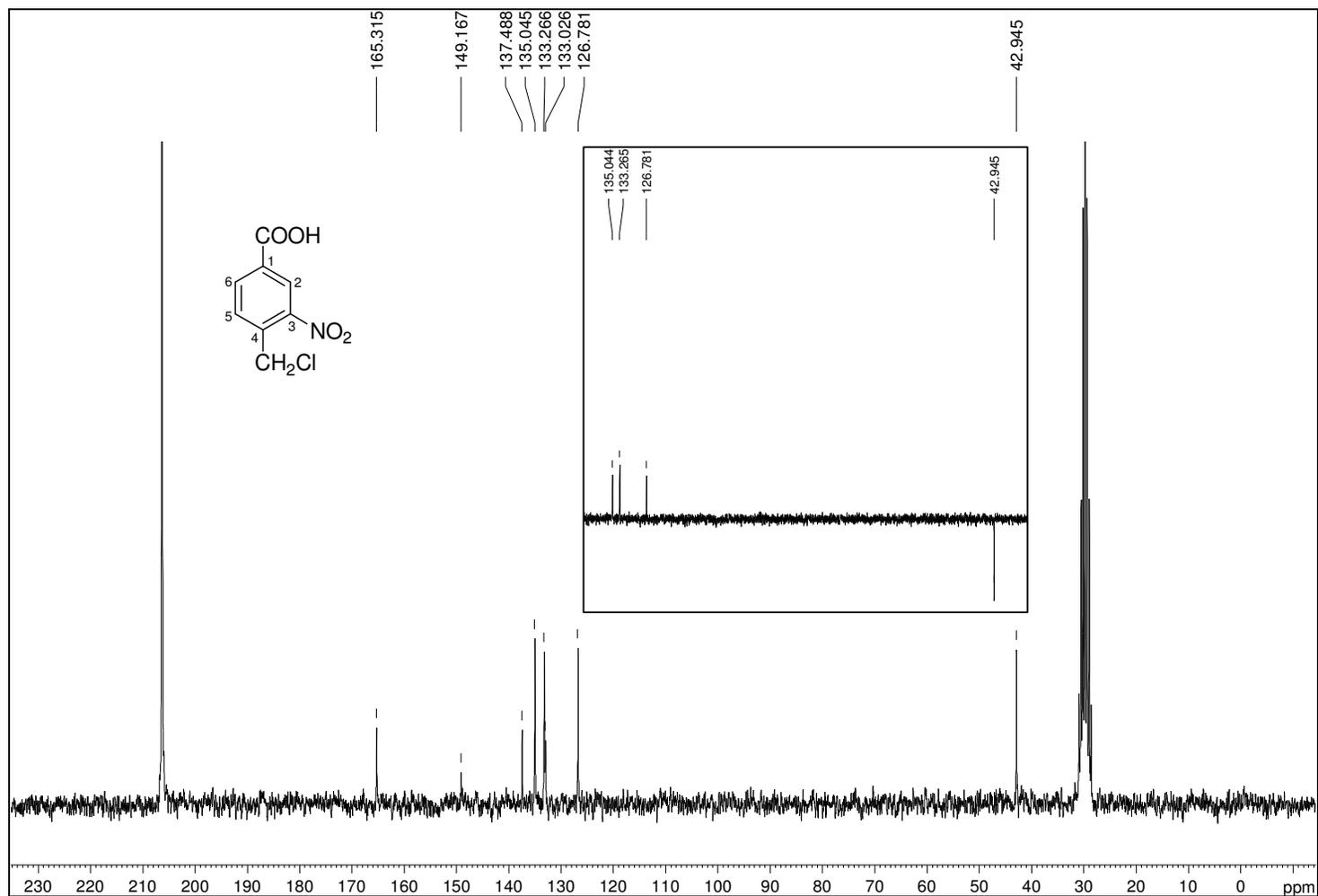
Figura B.16 – Espectro de RMN de ^{13}C de 14 (50 MHz, acetona- d_6).

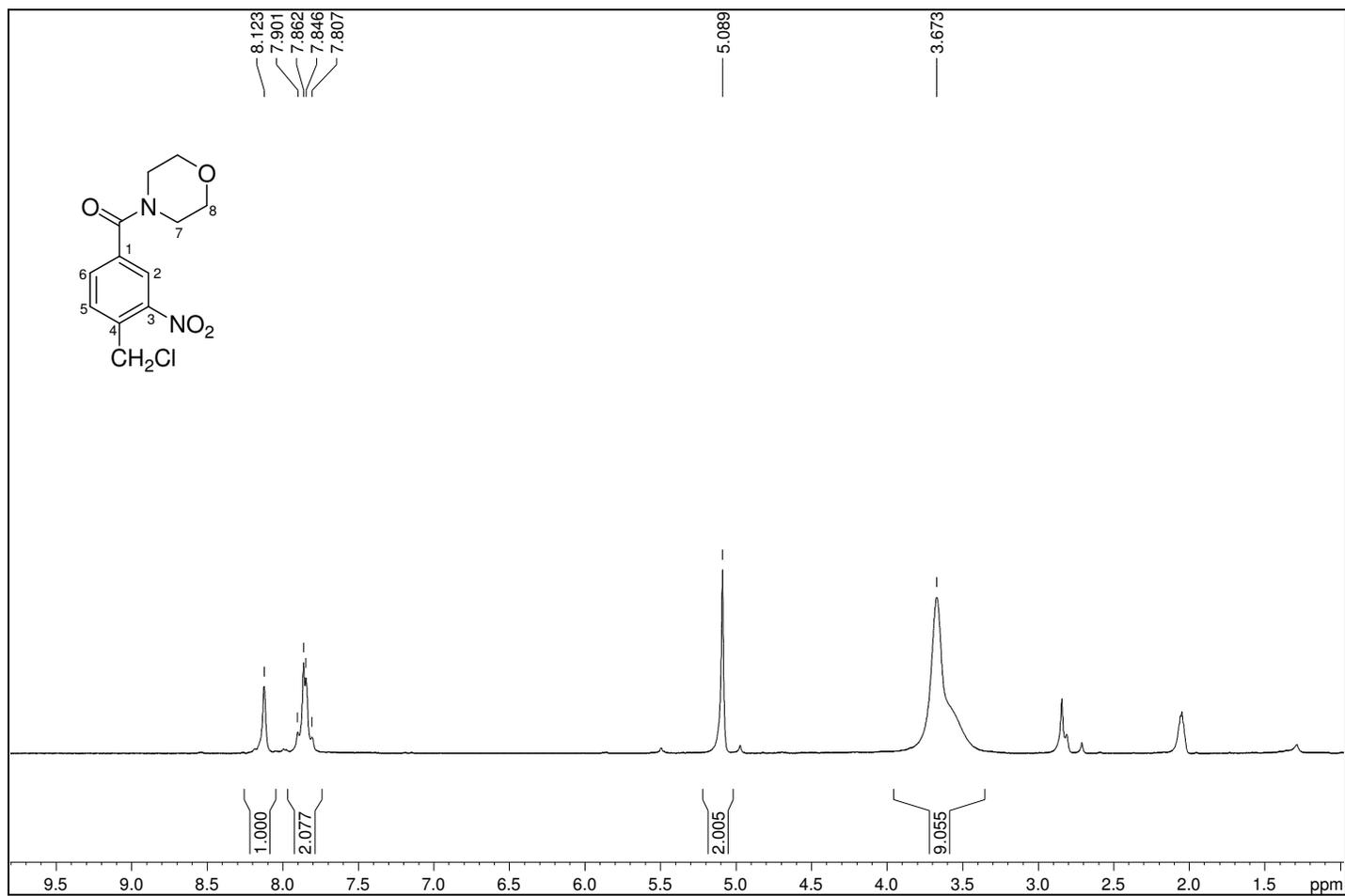
Figura B.17 – Espectro de RMN de ^1H de 15 (200 MHz, acetona- d_6).

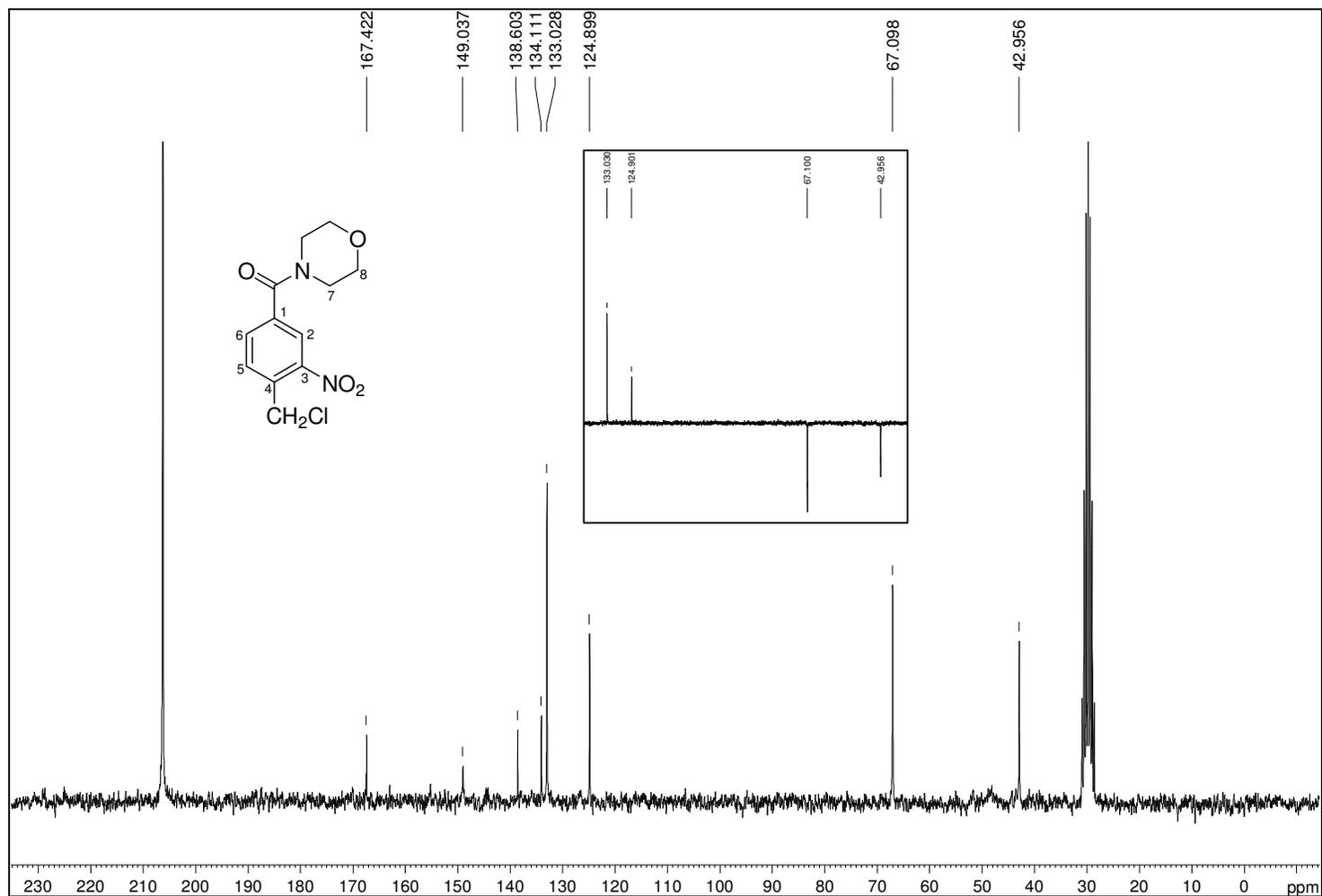
Figura B.18 – Espectro de RMN de ^{13}C de 15 (50 MHz, acetona- d_6).

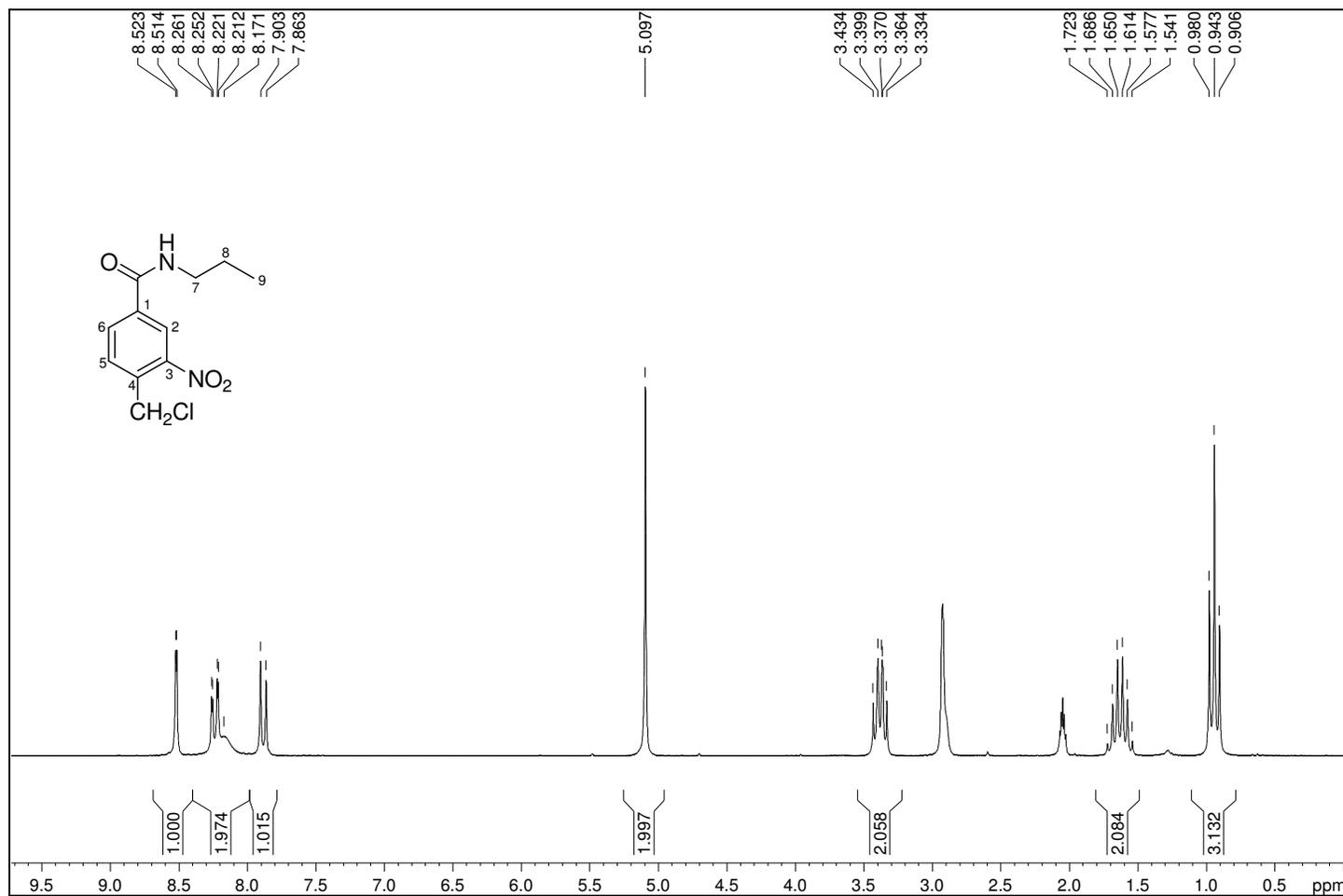
Figura B.19 – Espectro de RMN de ^1H de 16 (200 MHz, acetona- d_6).

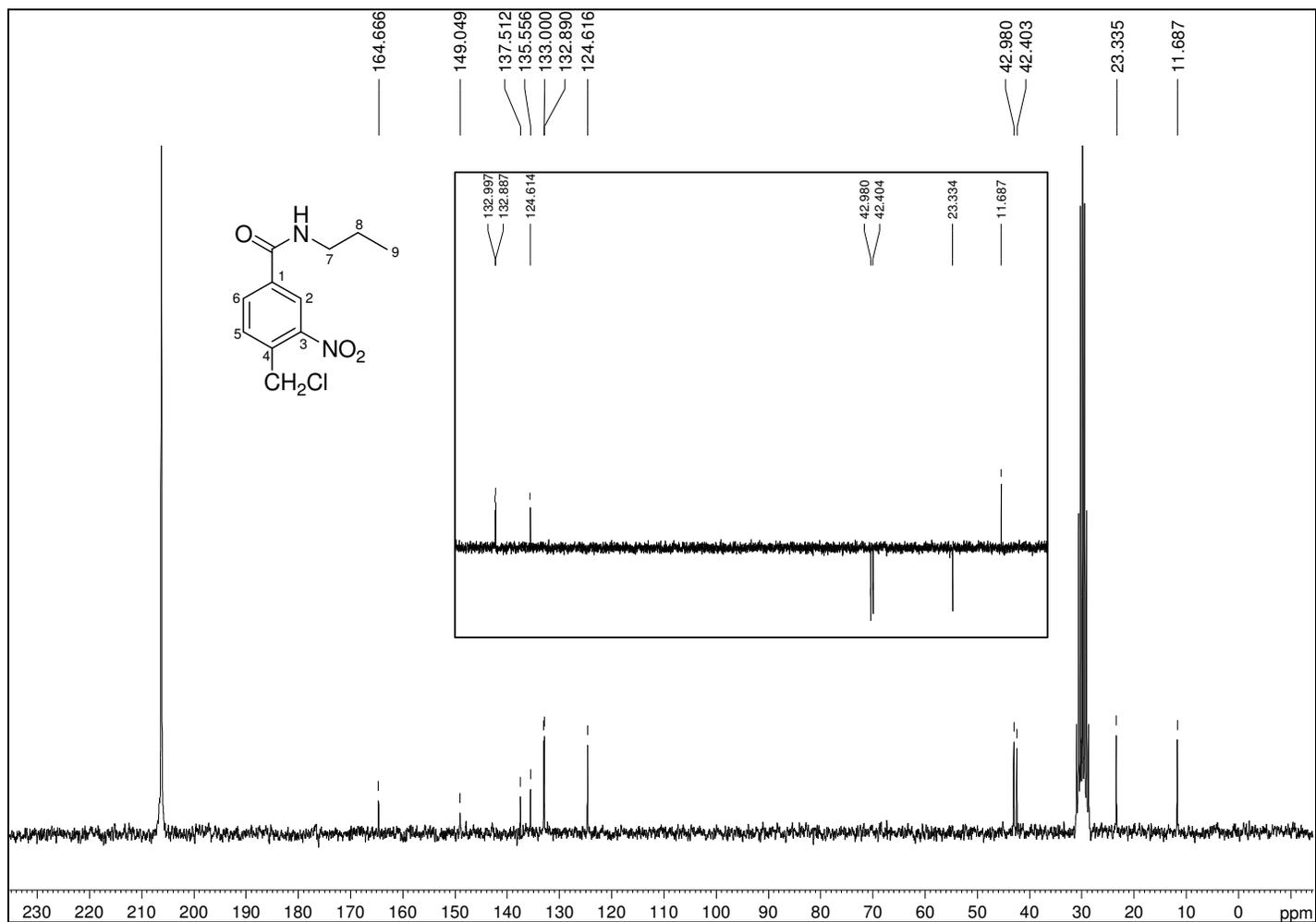
Figura B.20 – Espectro de RMN de ^{13}C de **16** (50 MHz, acetona- d_6).

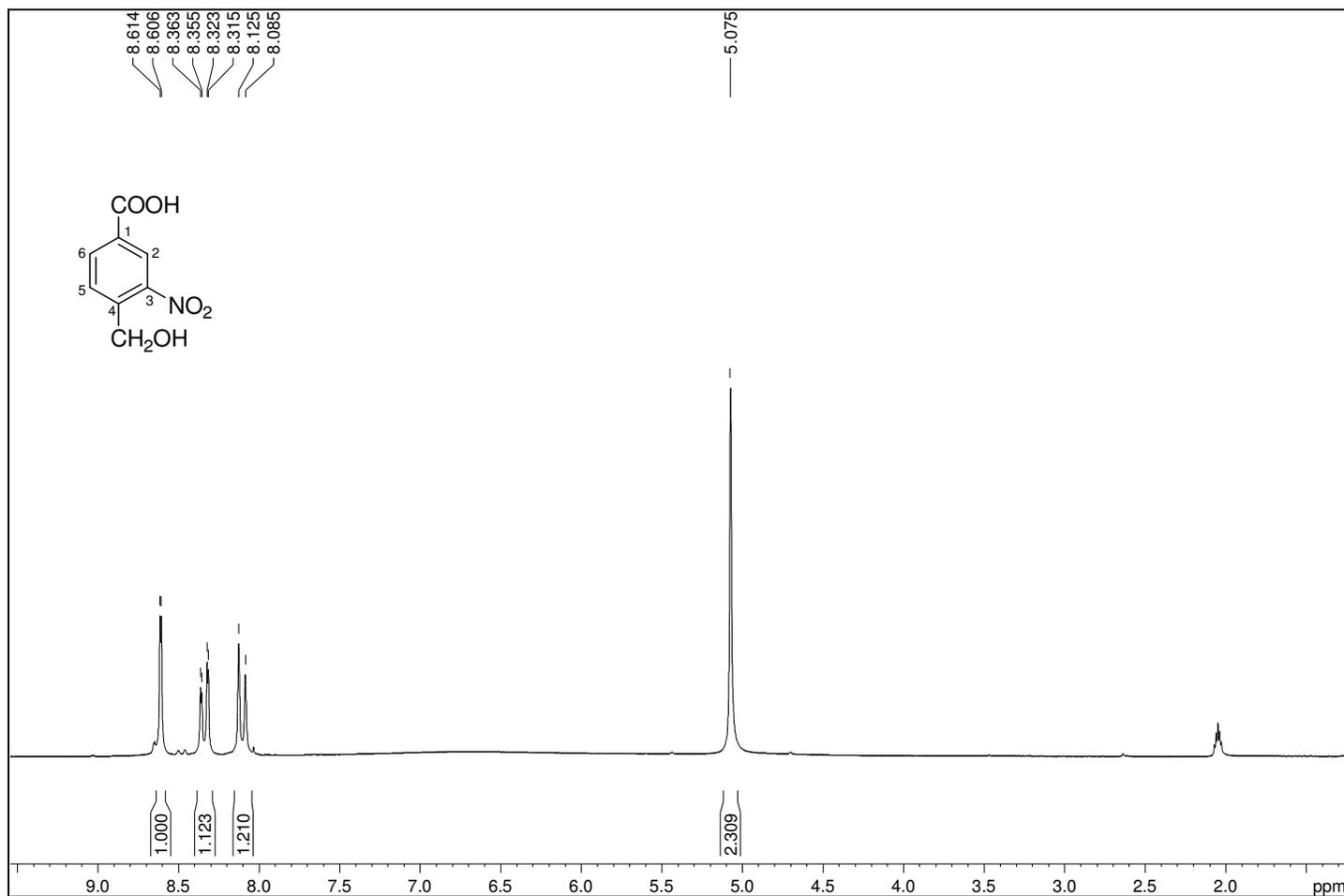
Figura B.21 – Espectro de RMN de ^1H de 17 (200 MHz, acetona- d_6).

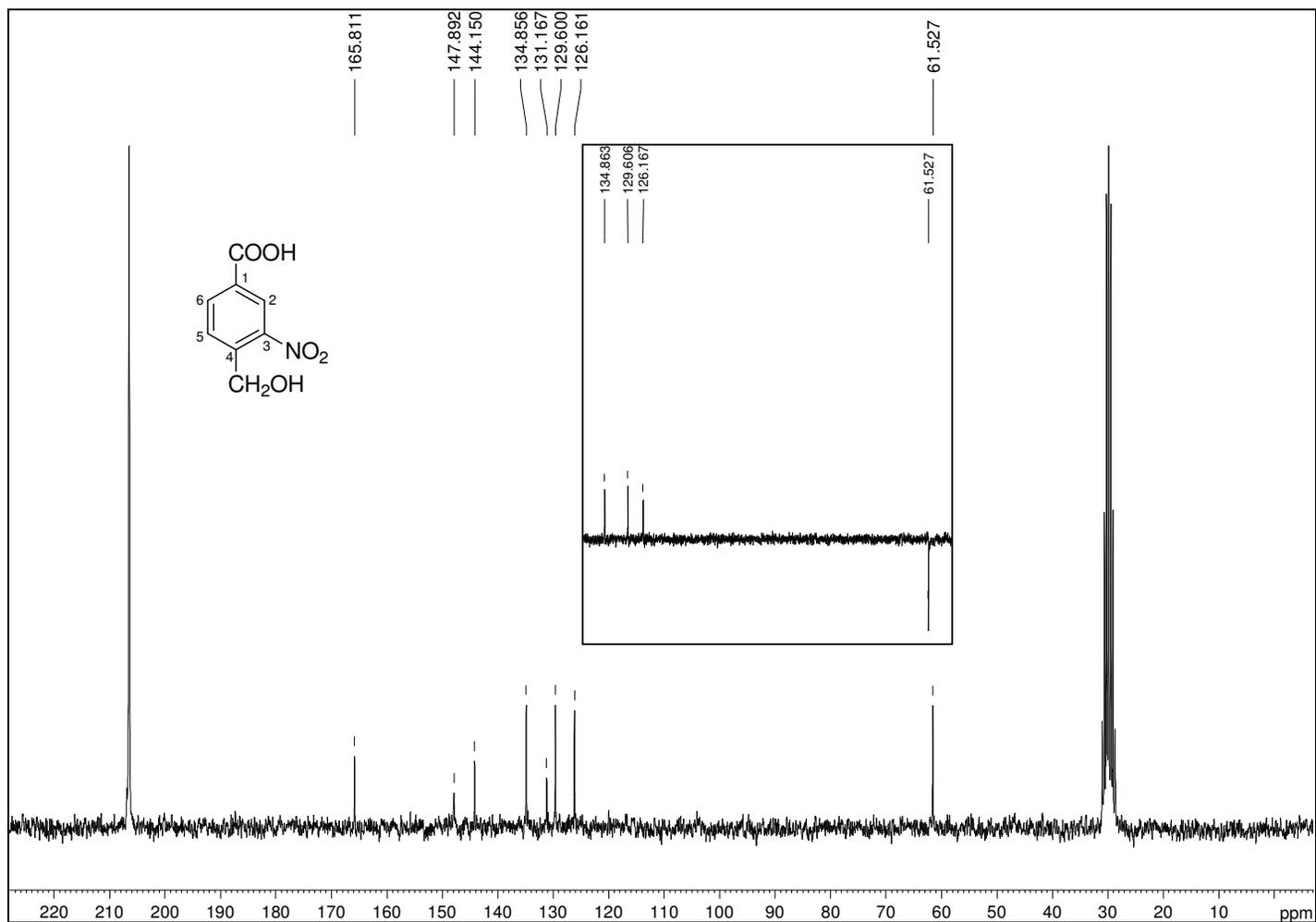
Figura B.22 – Espectro de RMN de ^{13}C de 17 (50 MHz, acetona- d_6).

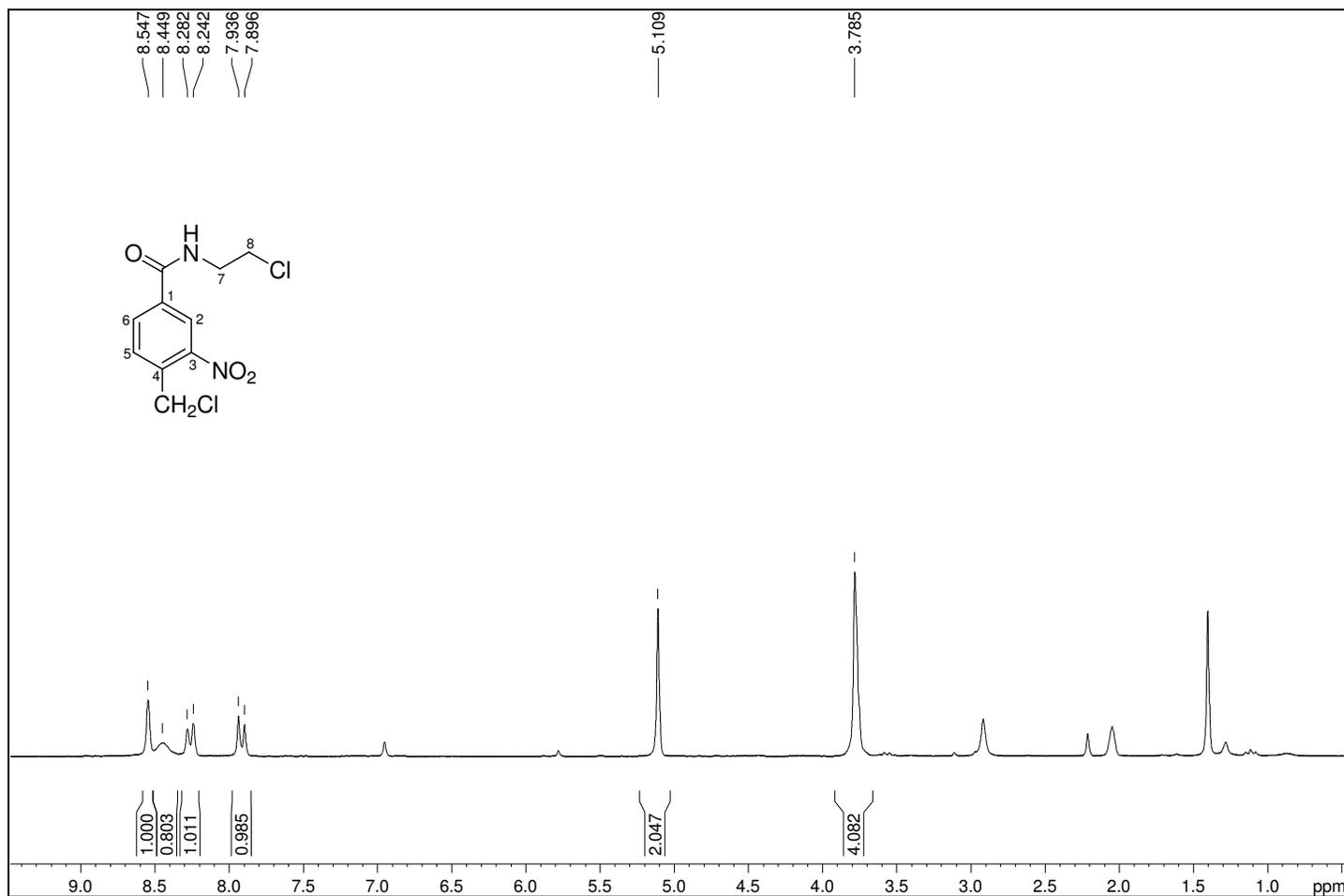
Figura B.23 – Espectro de RMN de ^1H de 18 (200 MHz, acetona- d_6).

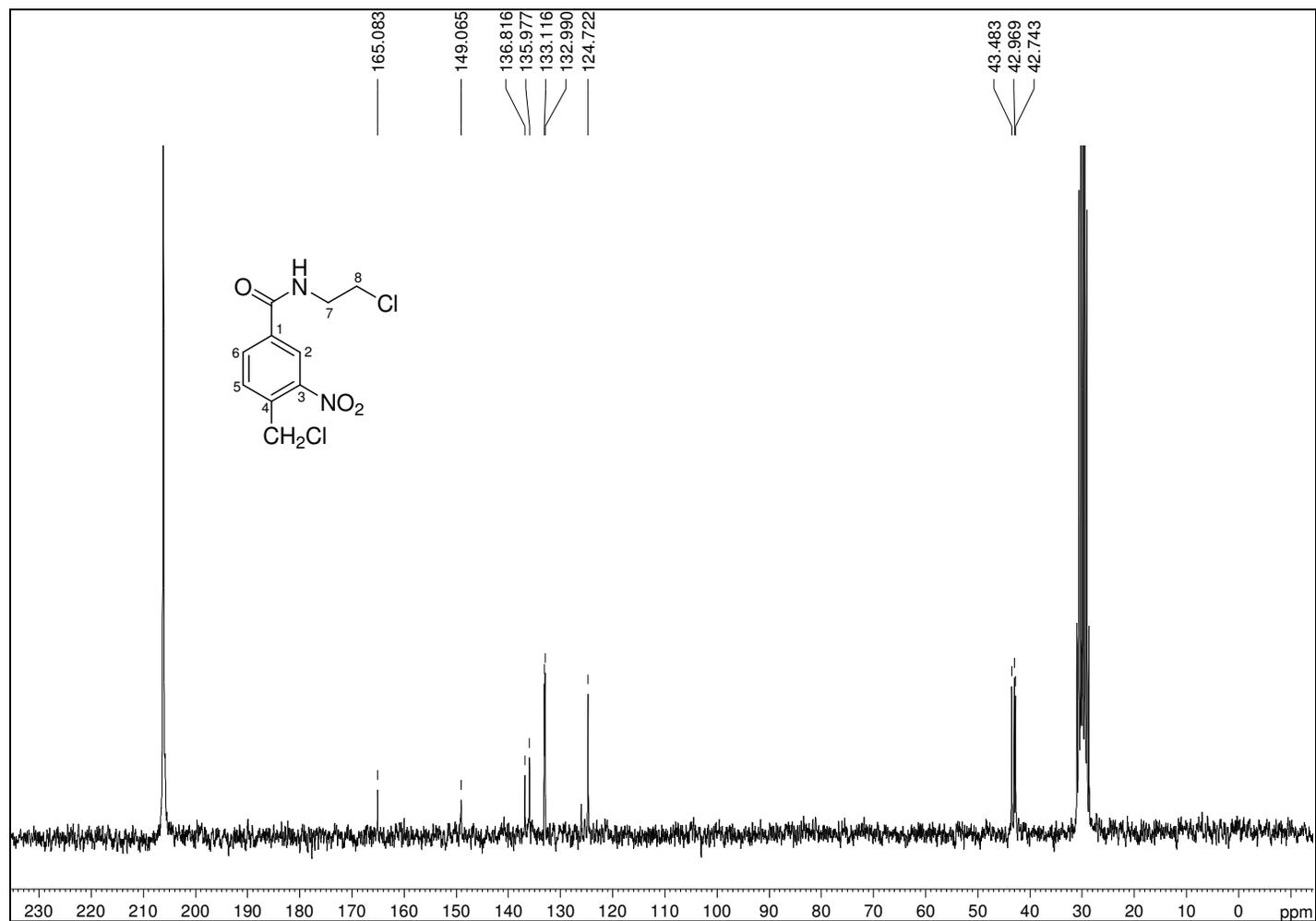
Figura B.24 – Espectro de RMN de ^{13}C de **18** (50 MHz, acetona- d_6).

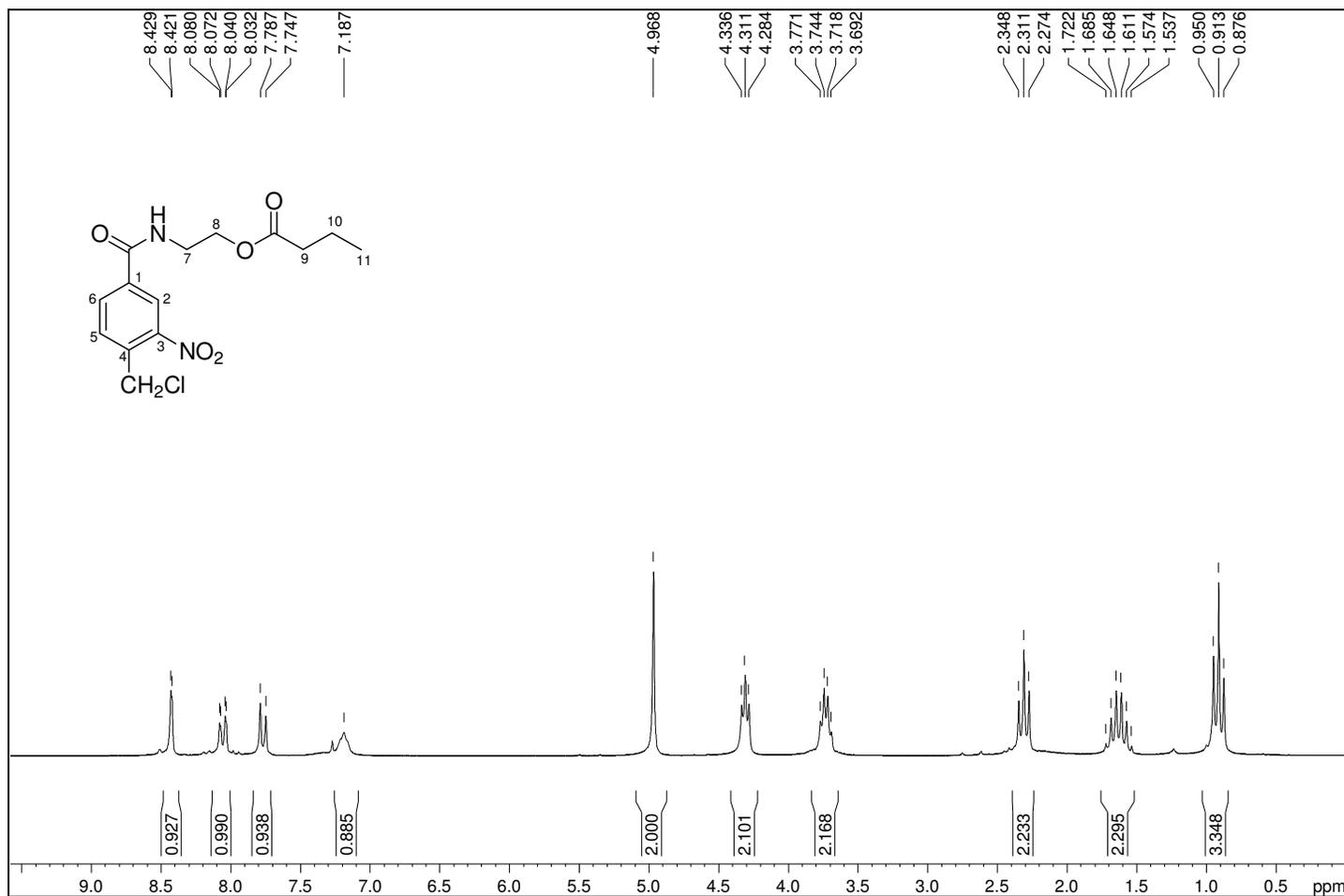
Figura B.25 – Espectro de RMN de ^1H de 19 (200 MHz, CDCl_3).

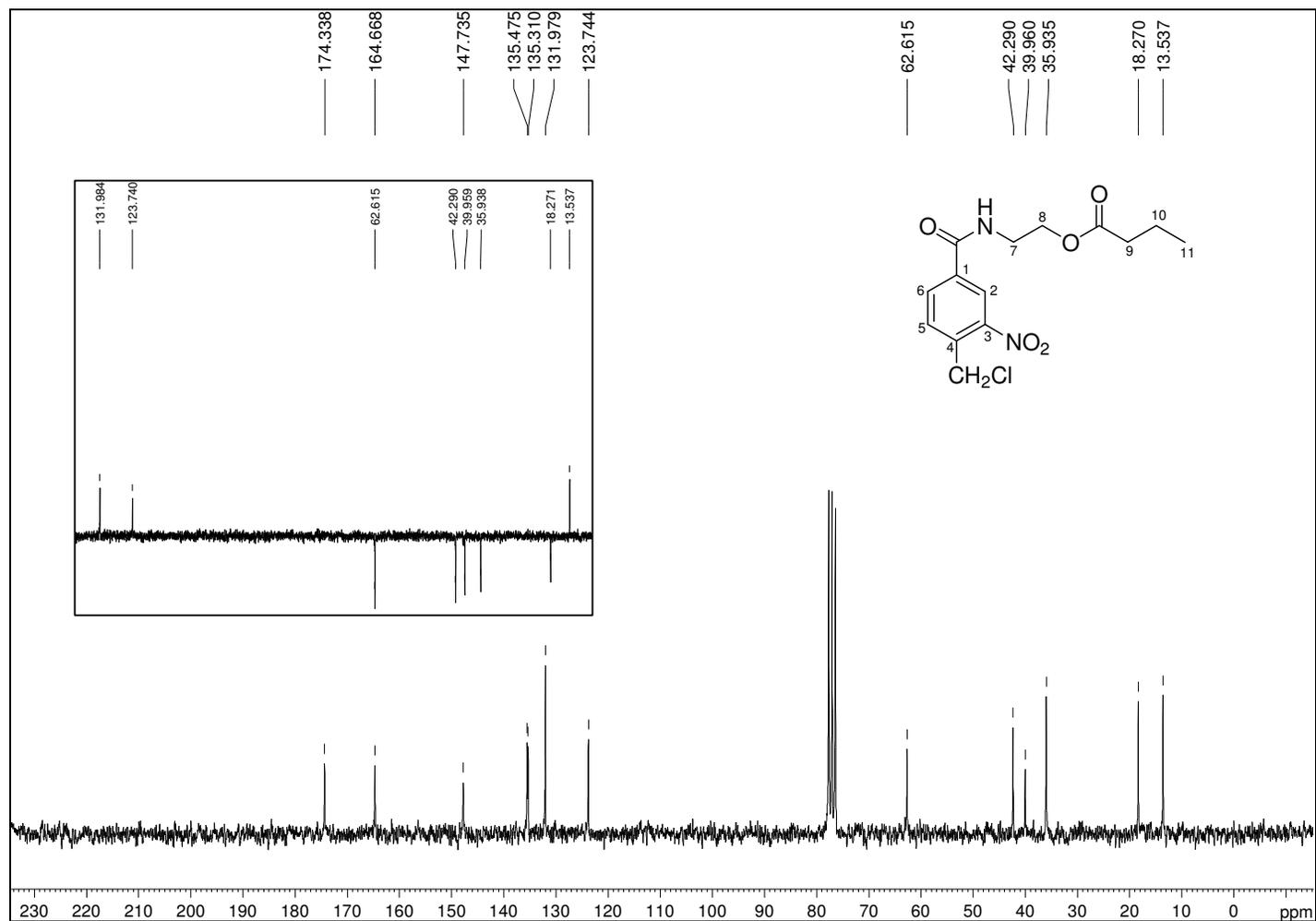
Figura B.26 – Espectro de RMN de ^{13}C de 19 (50 MHz, CDCl_3).

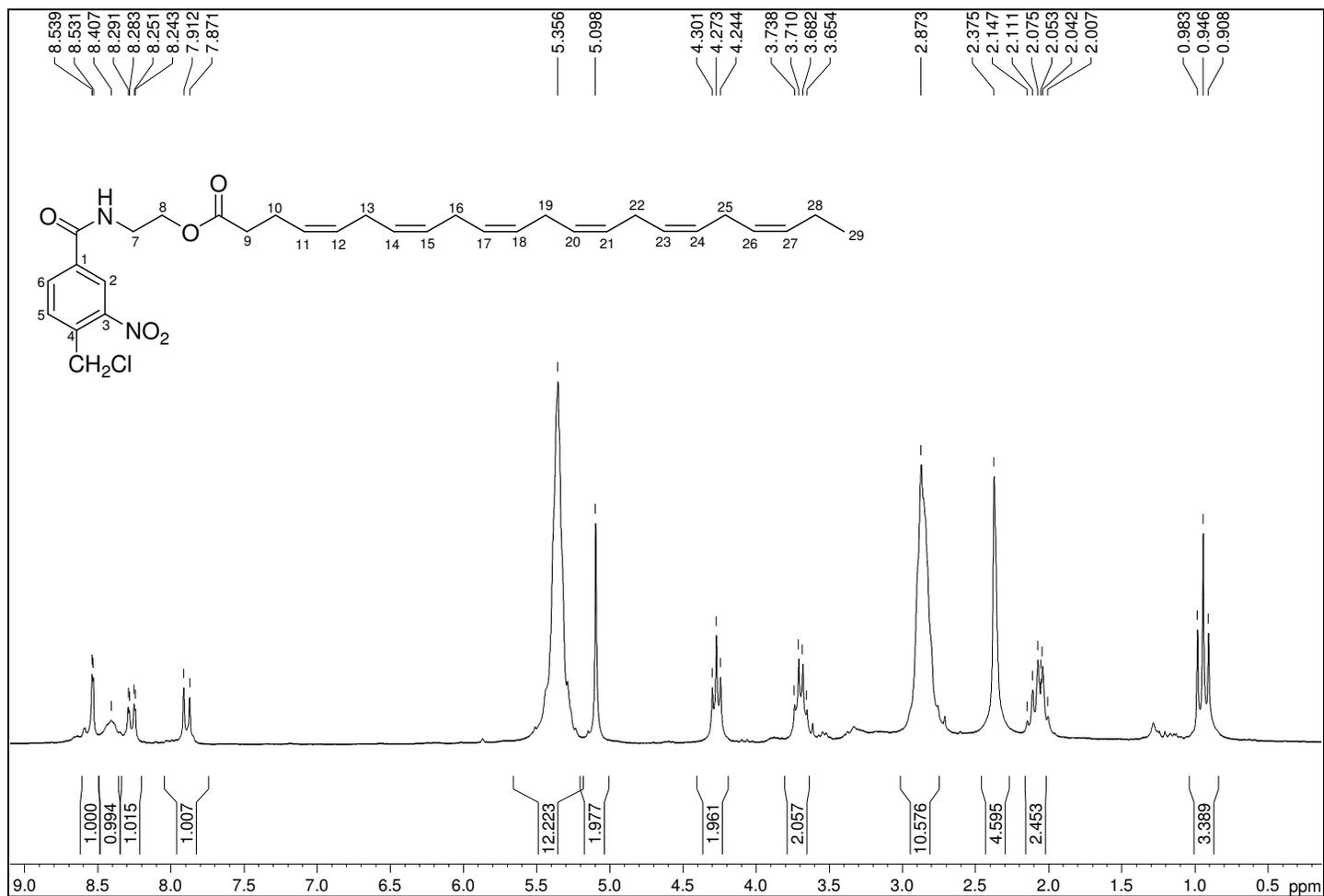
Figura B.27 – Espectro de RMN de ^1H de 20 (200 MHz, acetona- d_6).

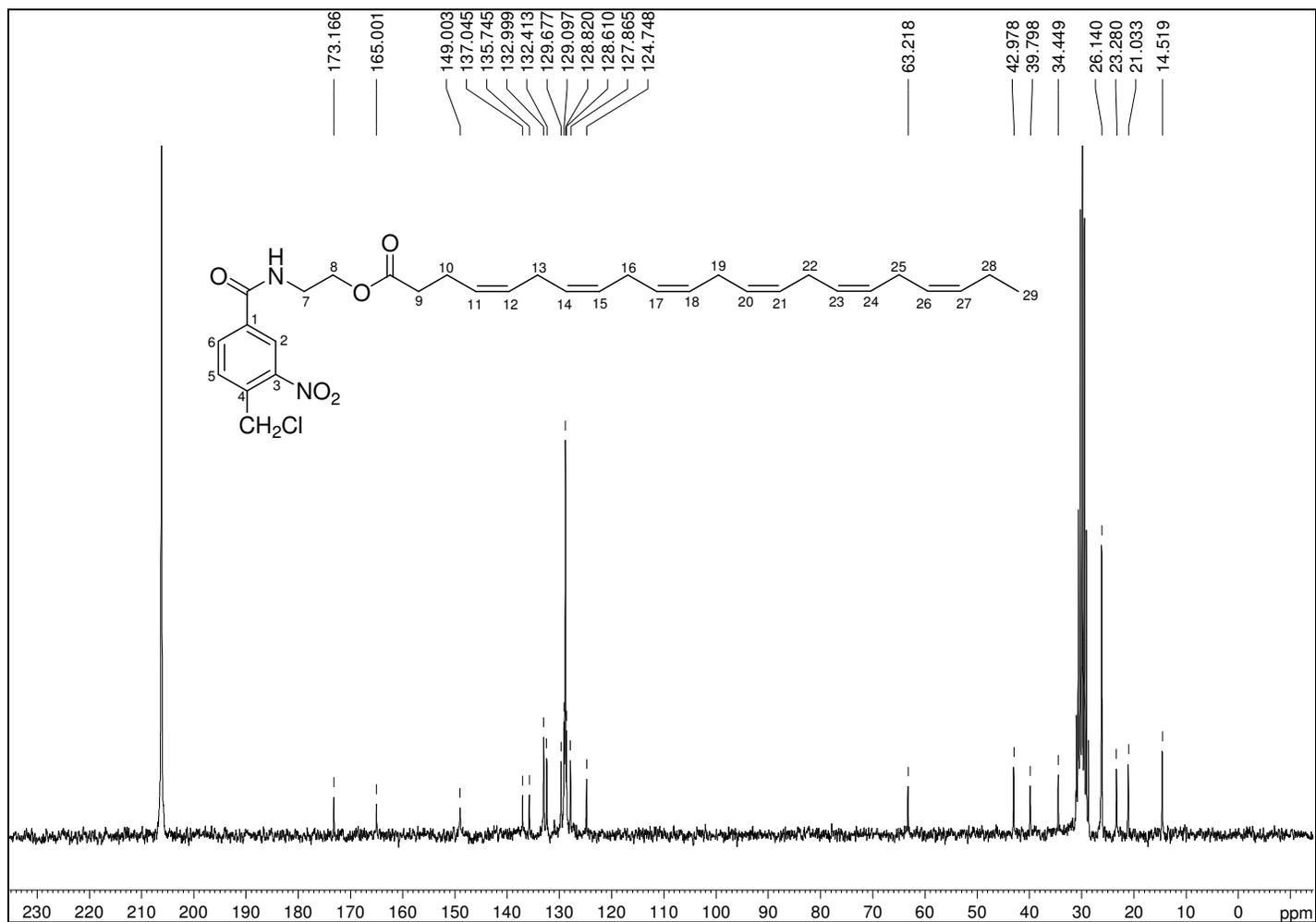
Figura B.28 – Espectro de RMN de ^{13}C de 20 (50 MHz, acetona- d_6).

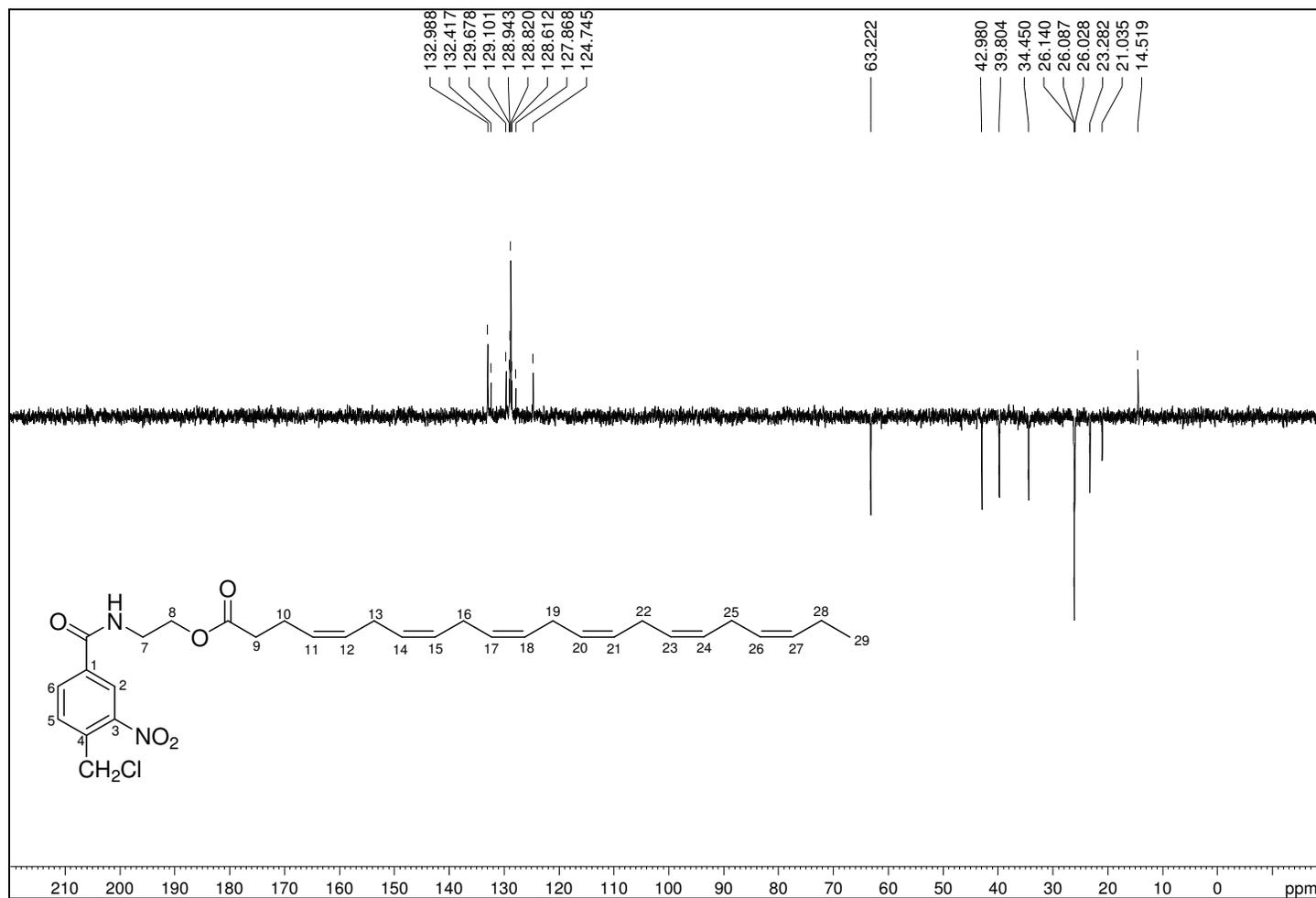
Figura B.29 – Subespectro de DEPT 135 de 20 (50 MHz, acetona- d_6).

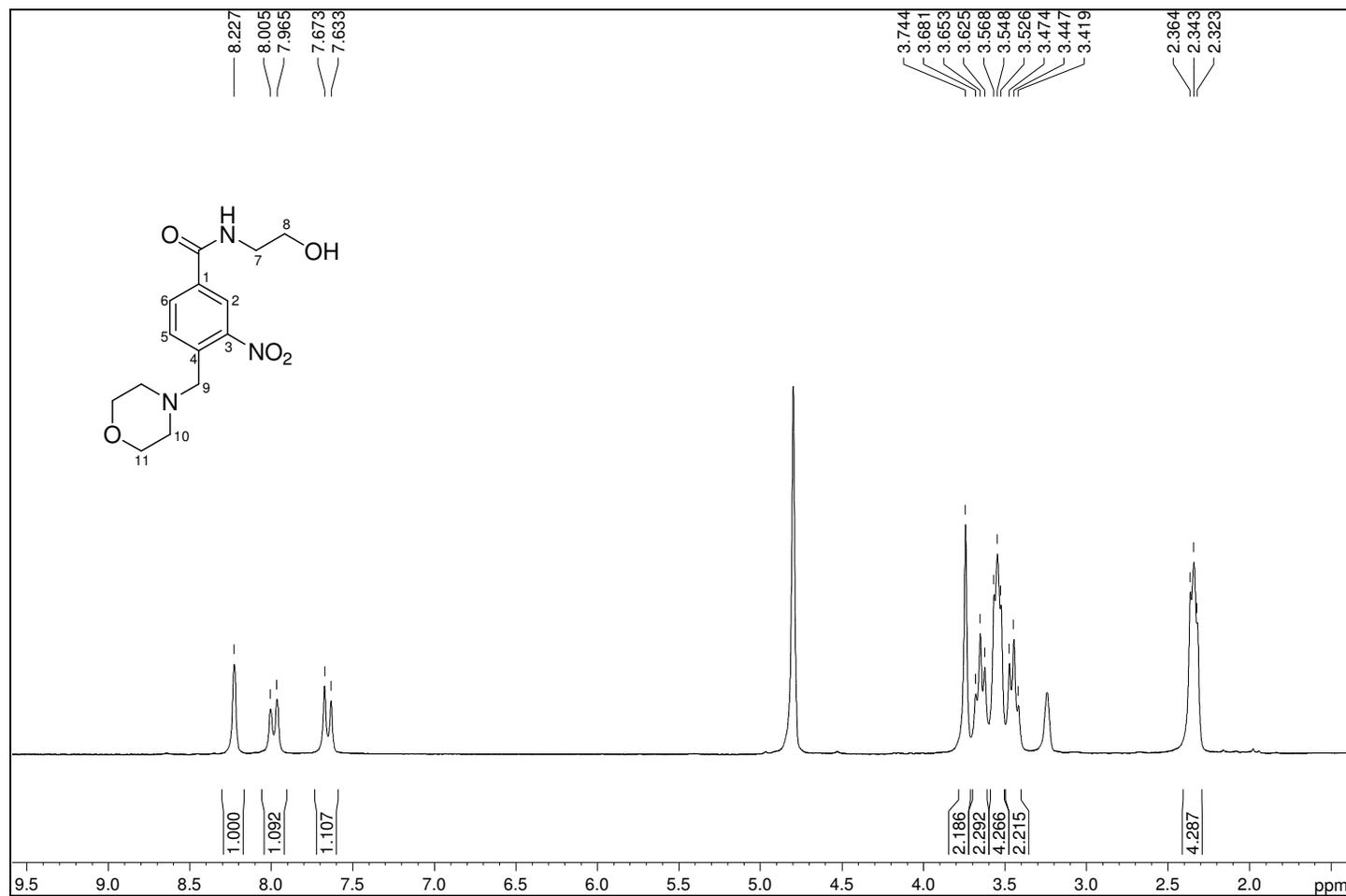
Figura B.30 – Espectro de RMN de ^1H de 21 (200 MHz, CD_3OD).

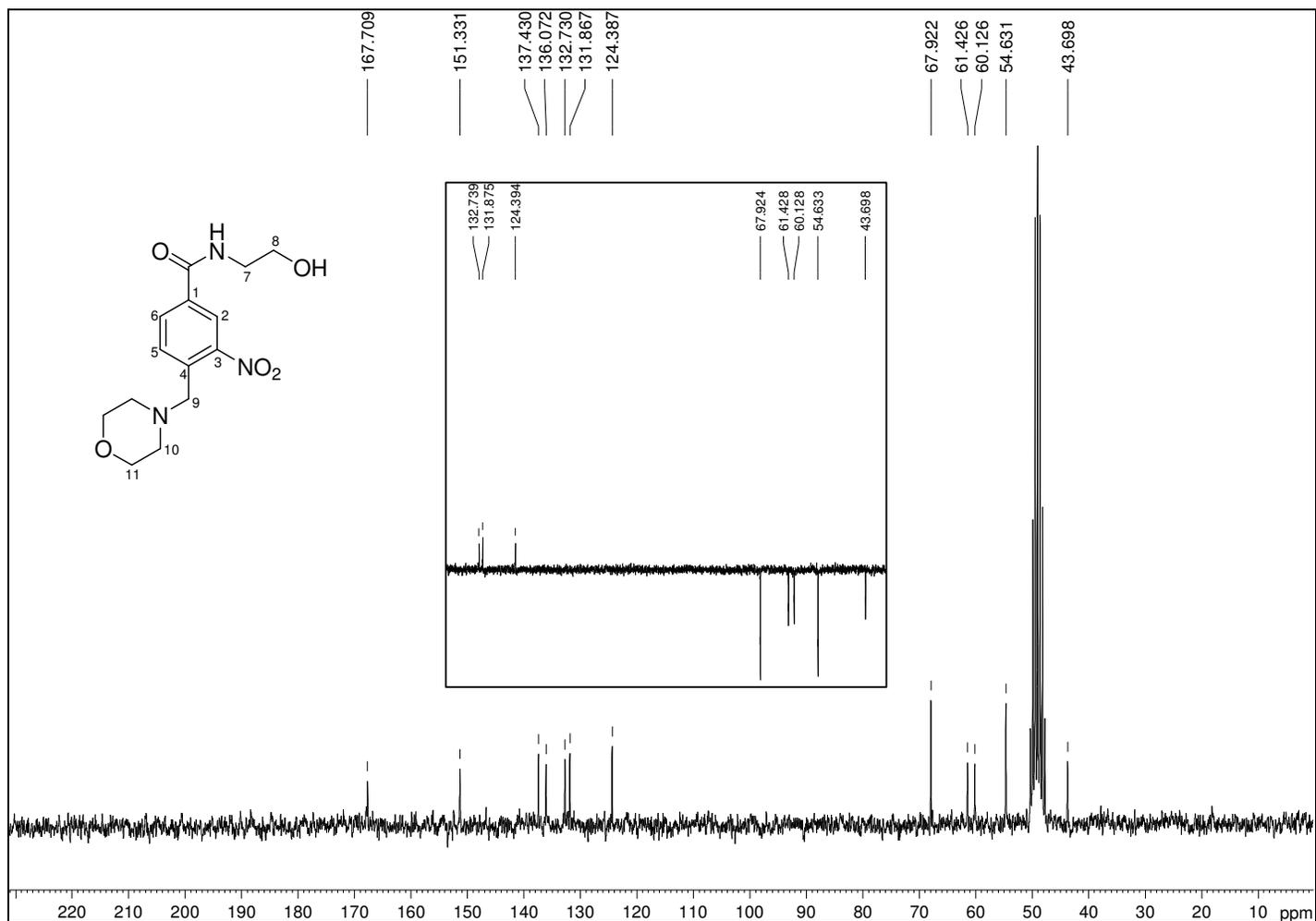
Figura B.31 – Espectro de RMN de ^{13}C de 21 (50 MHz, CD_3OD).

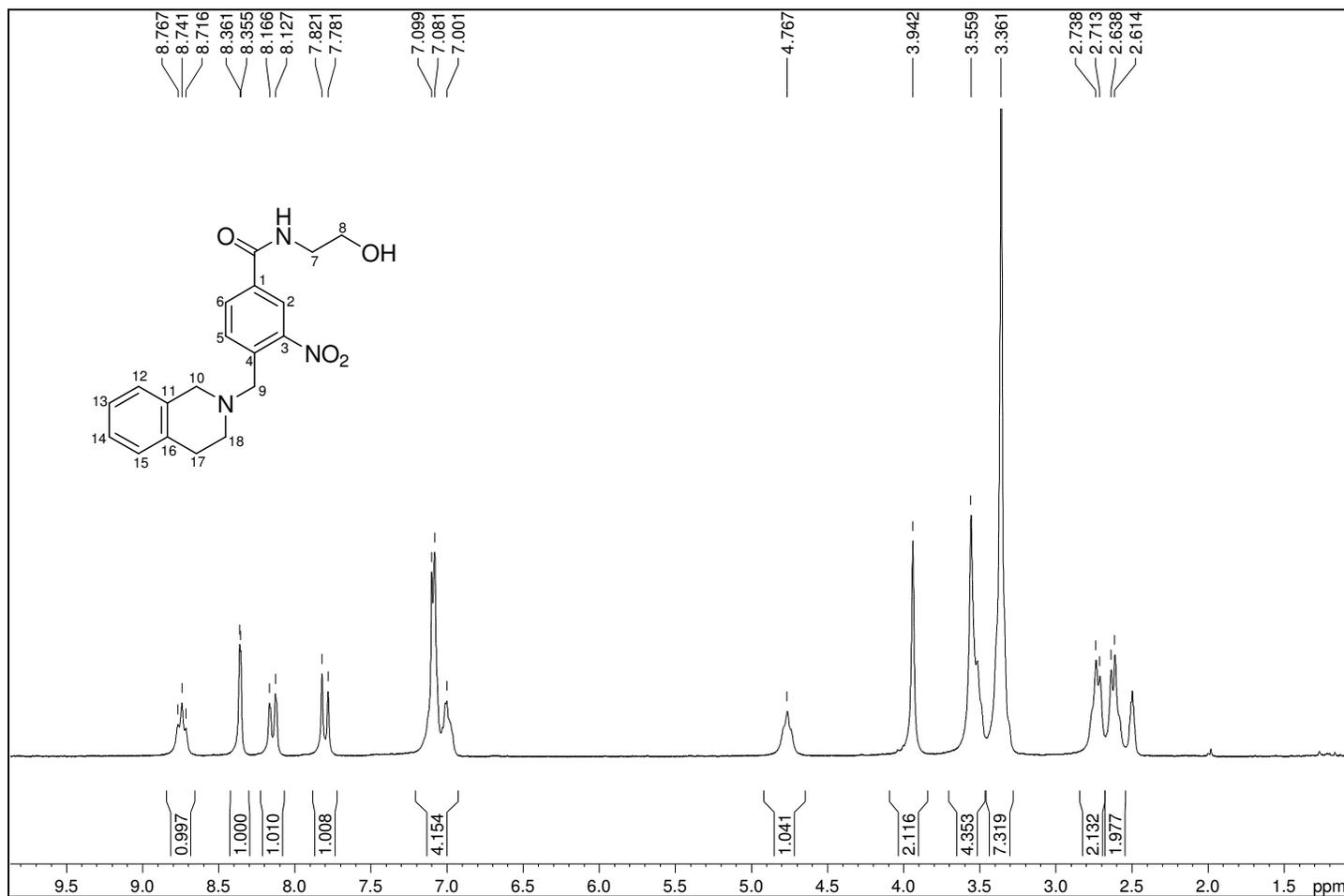
Figura B.32 – Espectro de RMN de ^1H de 22 (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

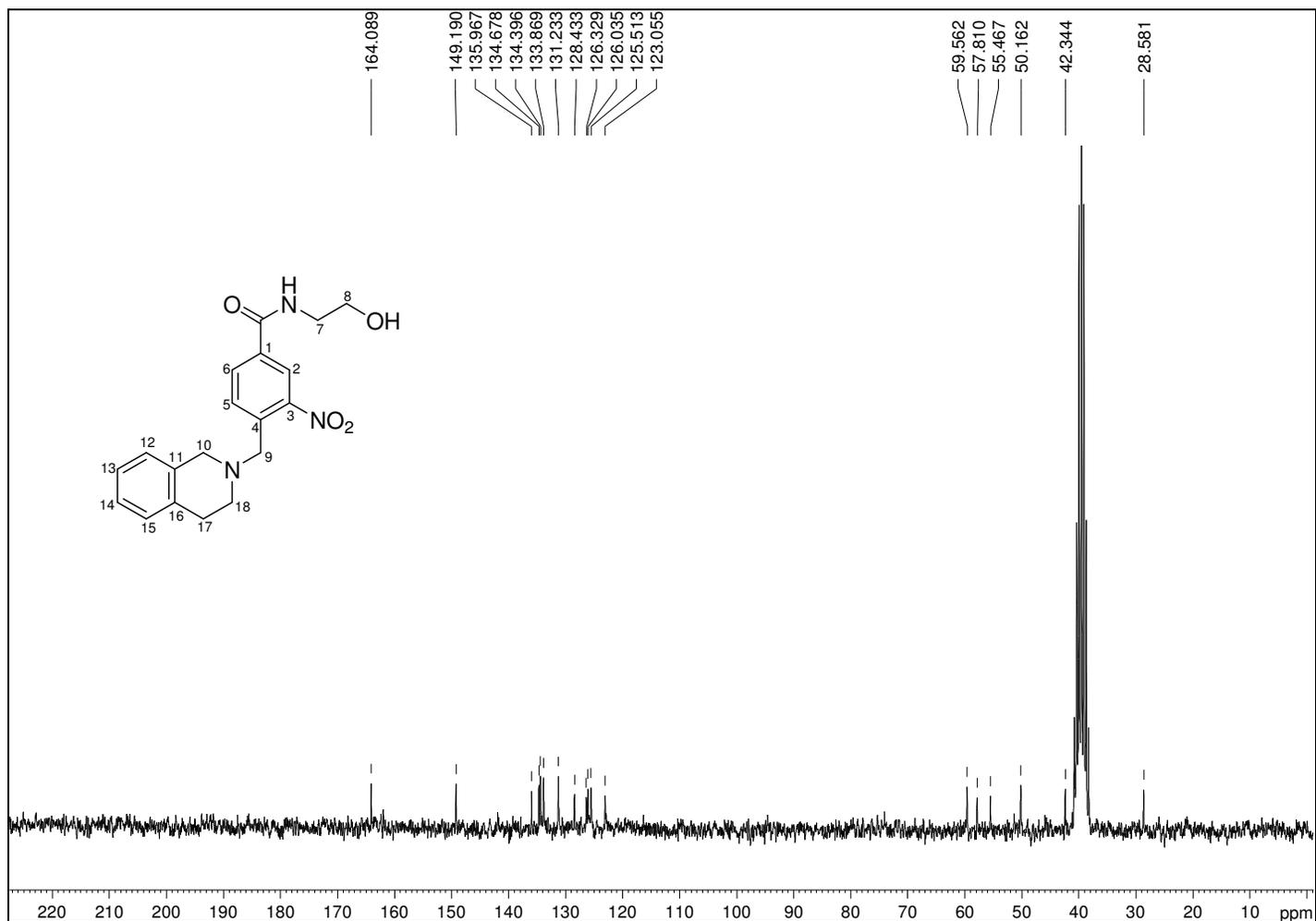
Figura B.33 – Espectro de RMN de ^{13}C de 22 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

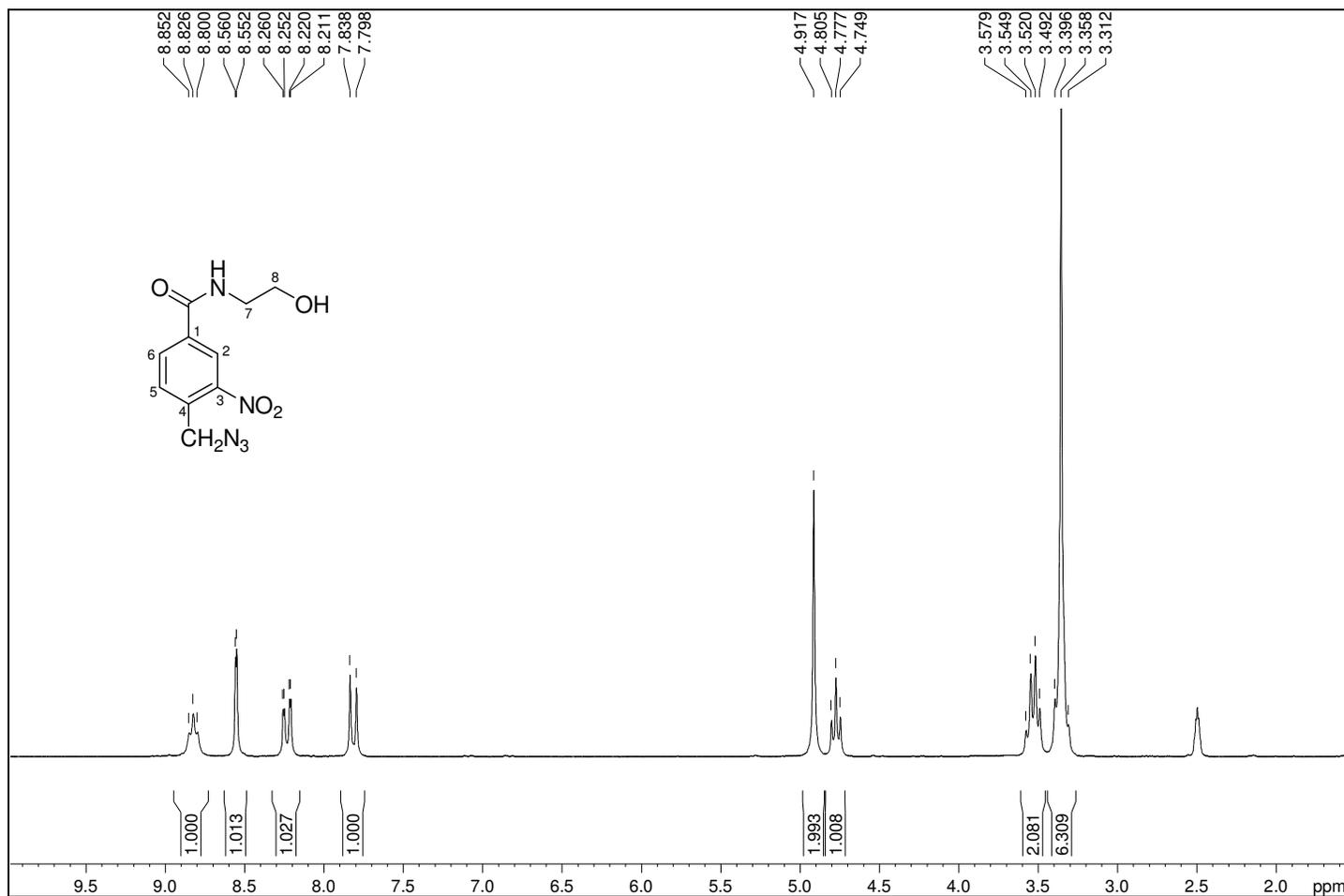
Figura B.34 – Espectro de RMN de ^1H de **23** (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

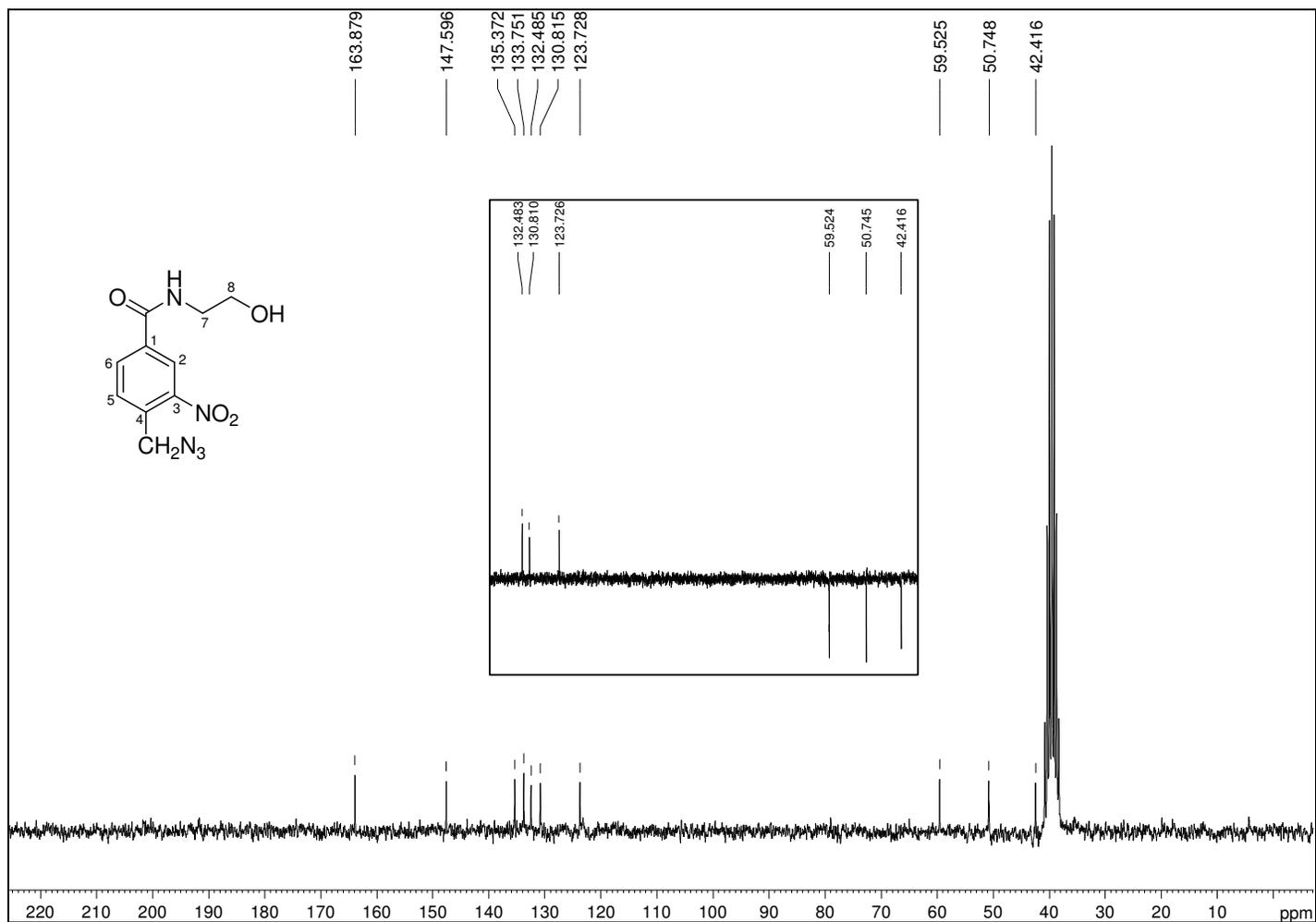
Figura B.35 – Espectro de RMN de ^{13}C de 23 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

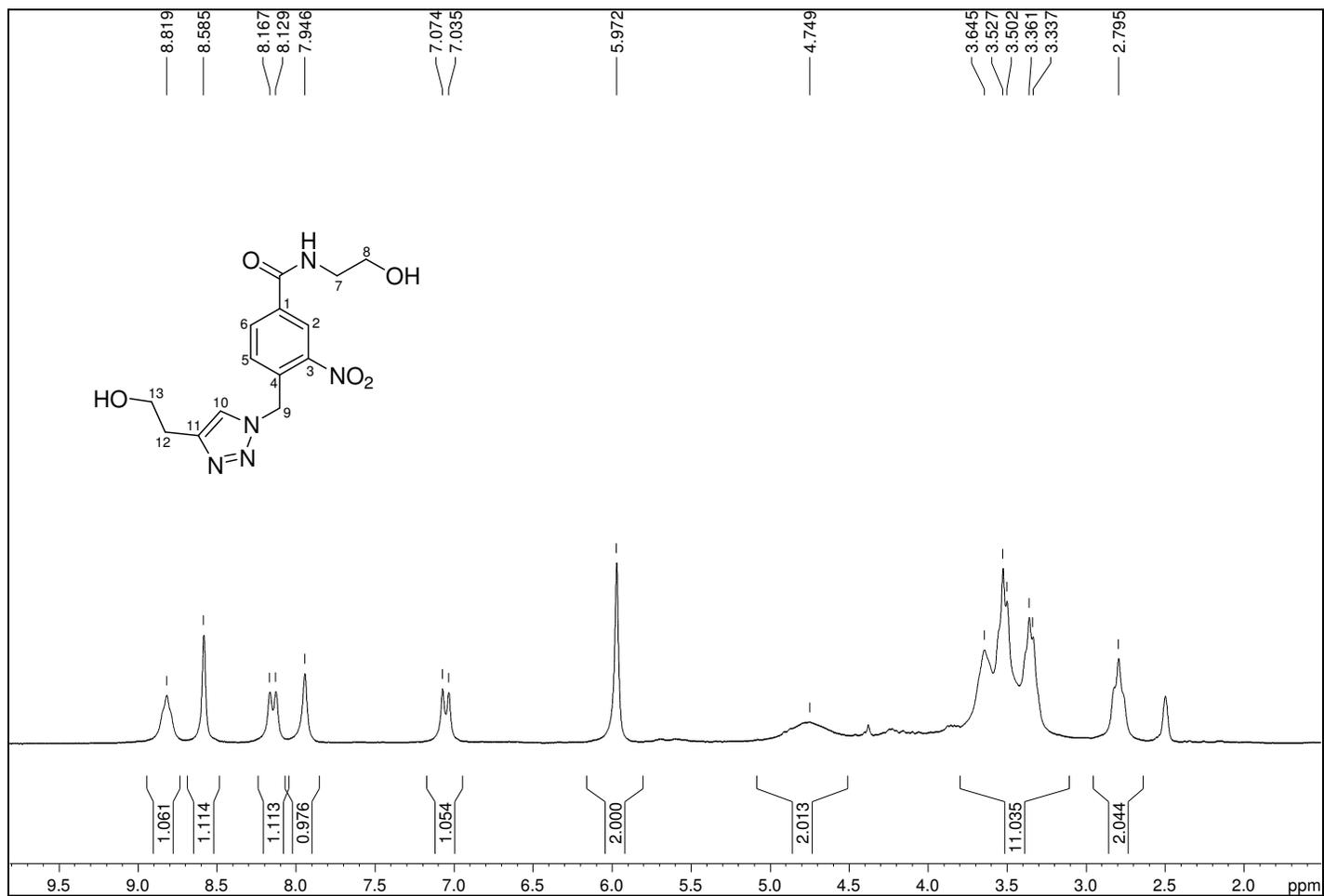
Figura B.36 – Espectro de RMN de ^1H de 24 (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

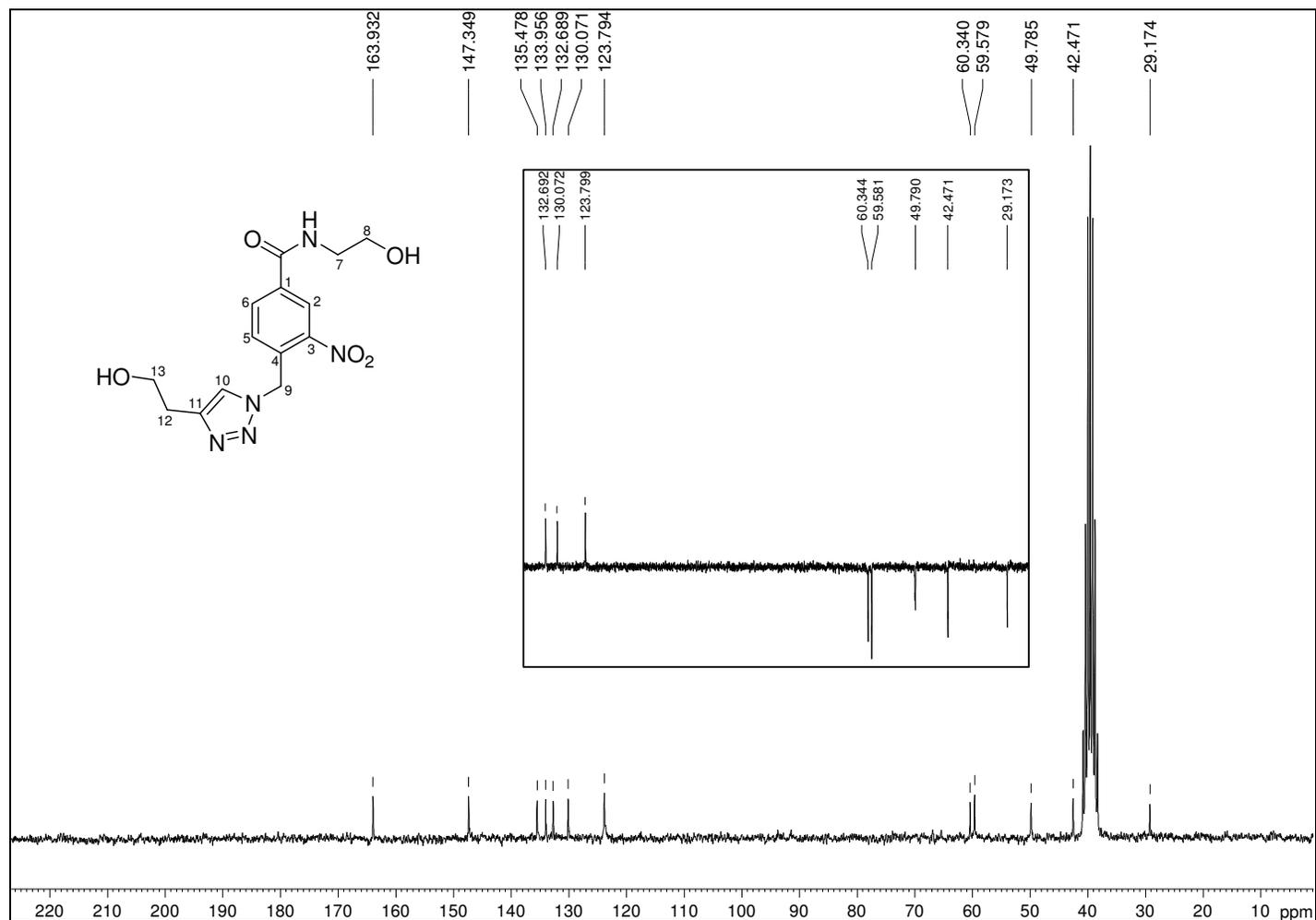
Figura B.37 – Espectro de RMN de ^{13}C de 24 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

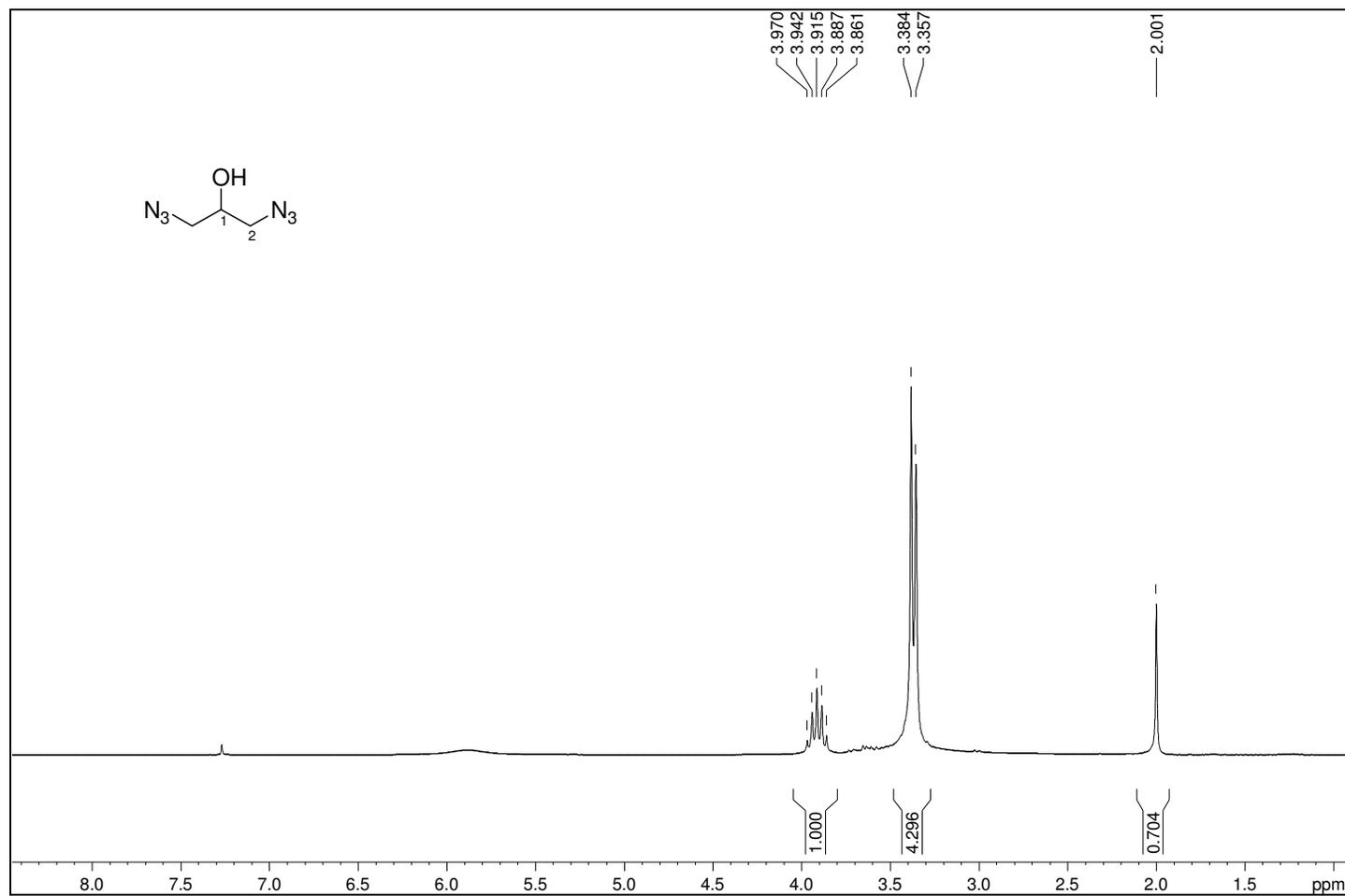
Figura B.38 – Espectro de RMN de ^1H de 25 (200 MHz, CDCl_3).

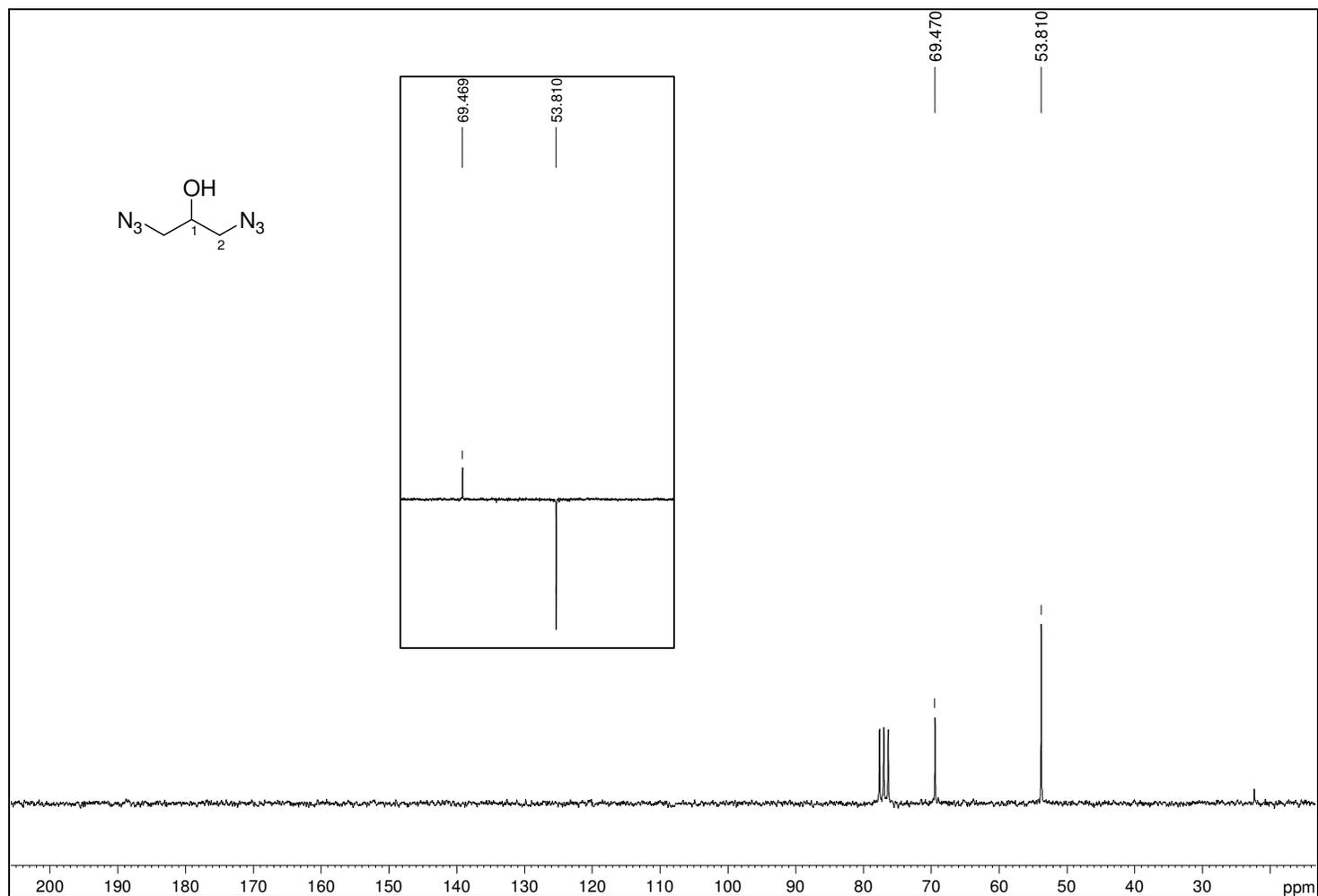
Figura B.39 – Espectro de RMN de ^{13}C de 25 (50 MHz, CDCl_3).

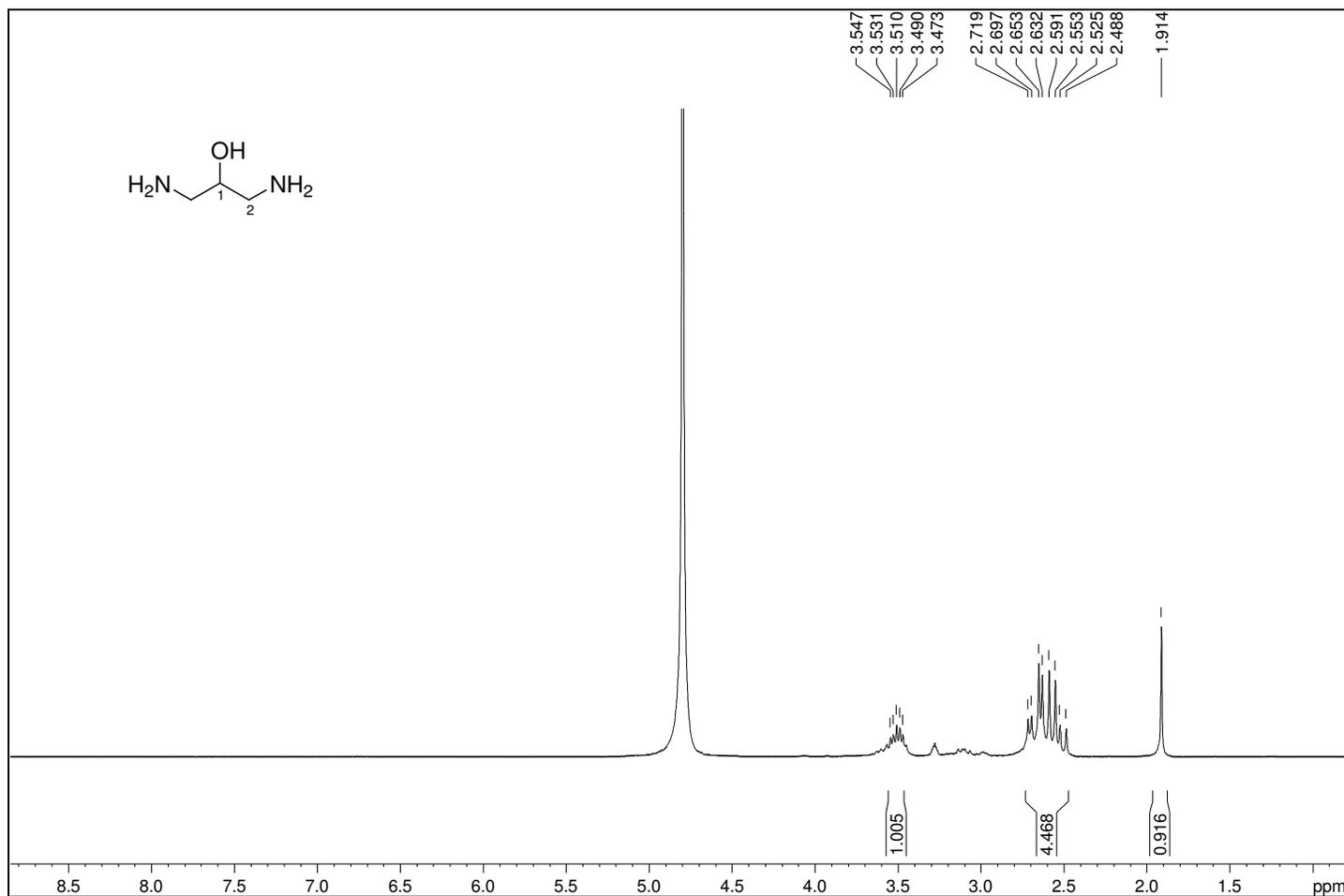
Figura B.40 – Espectro de RMN de ^1H de 26 (200 MHz, CD_3OD).

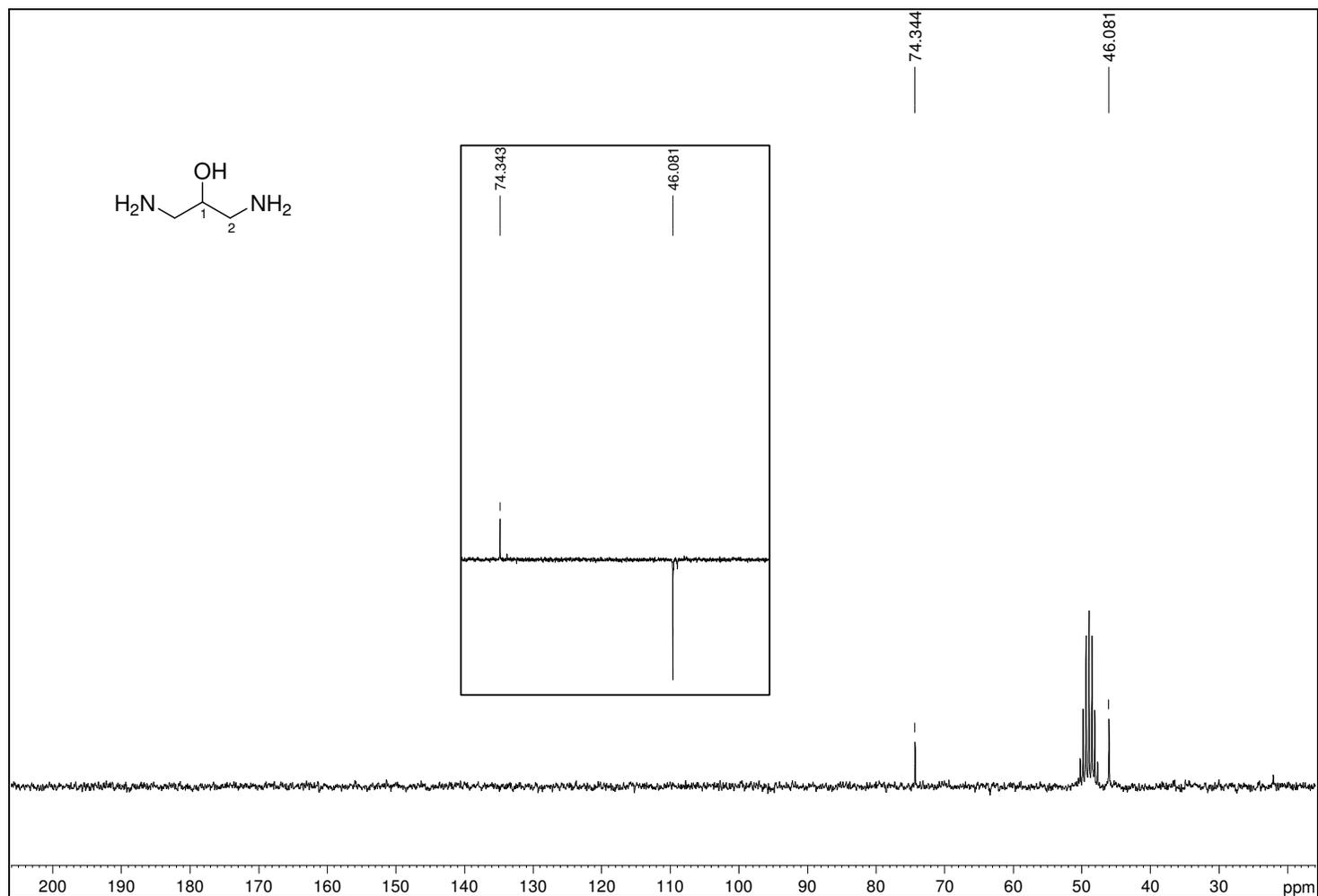
Figura B.41 – Espectro de RMN de ^{13}C de 26 (50 MHz, CD_3OD).

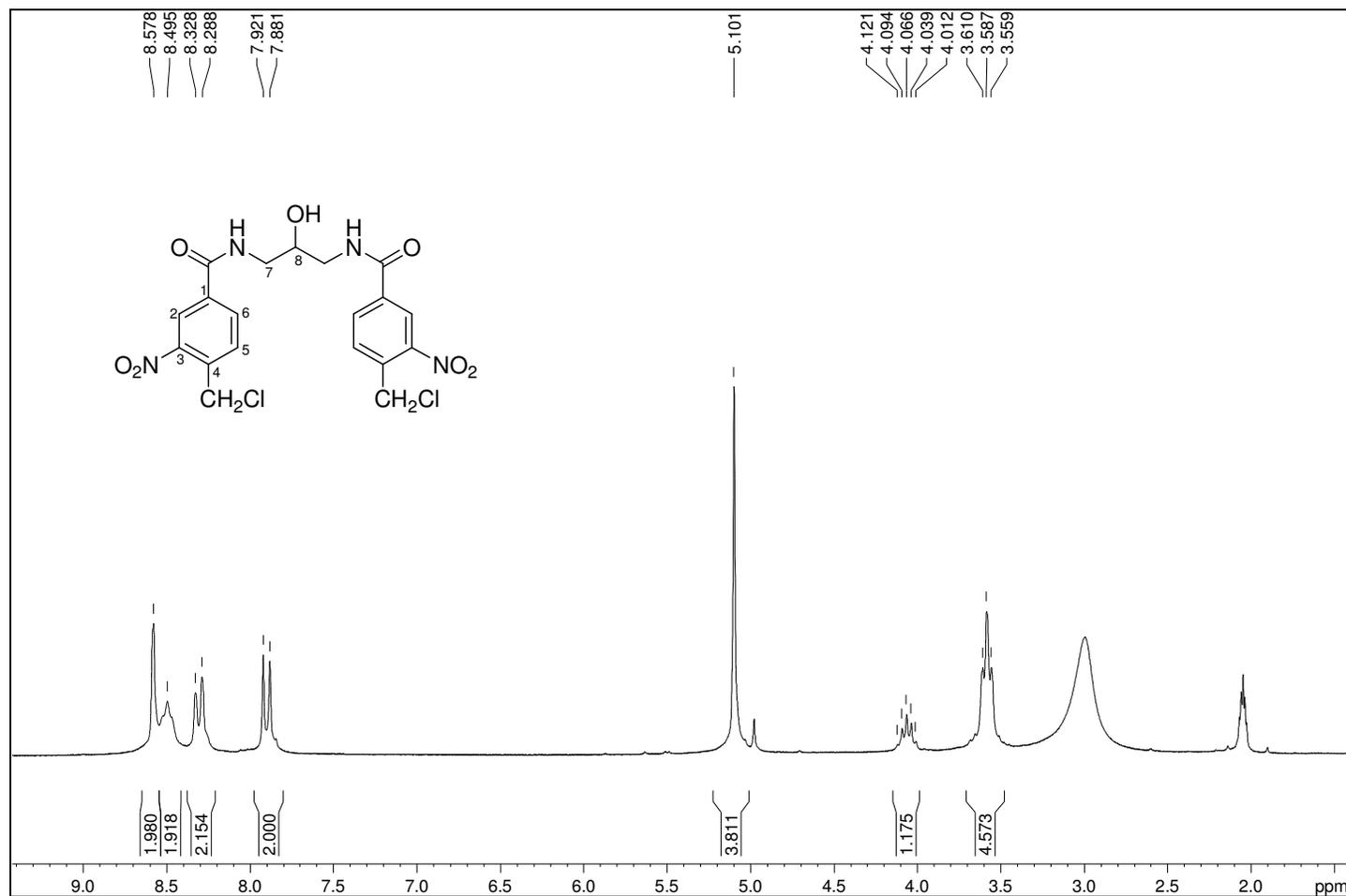
Figura B.42 – Espectro de RMN de ^1H de 27 (200 MHz, acetona- d_6).

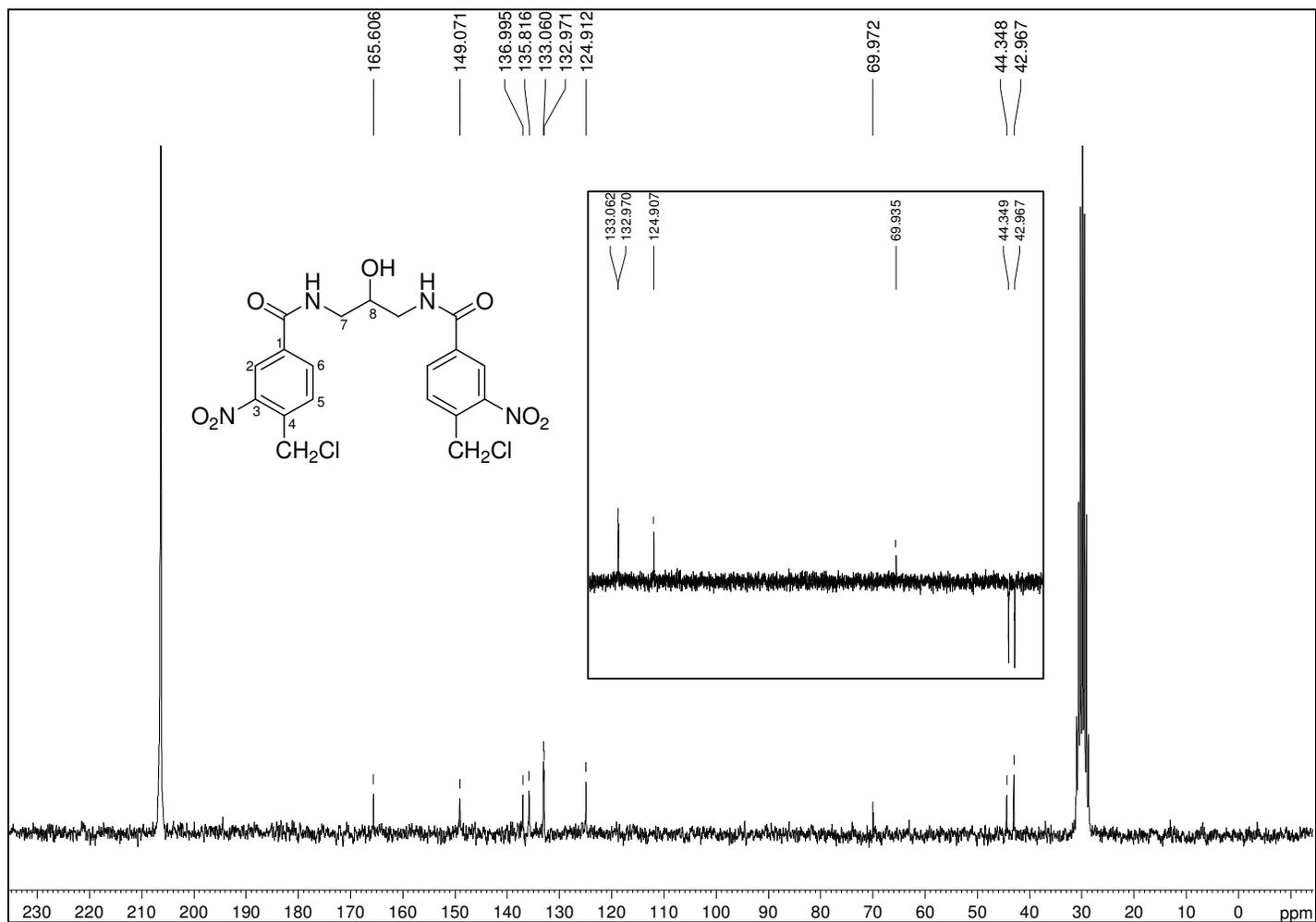
Figura B.43 – Espectro de RMN de ^{13}C de 27 (50 MHz, acetona- d_6).

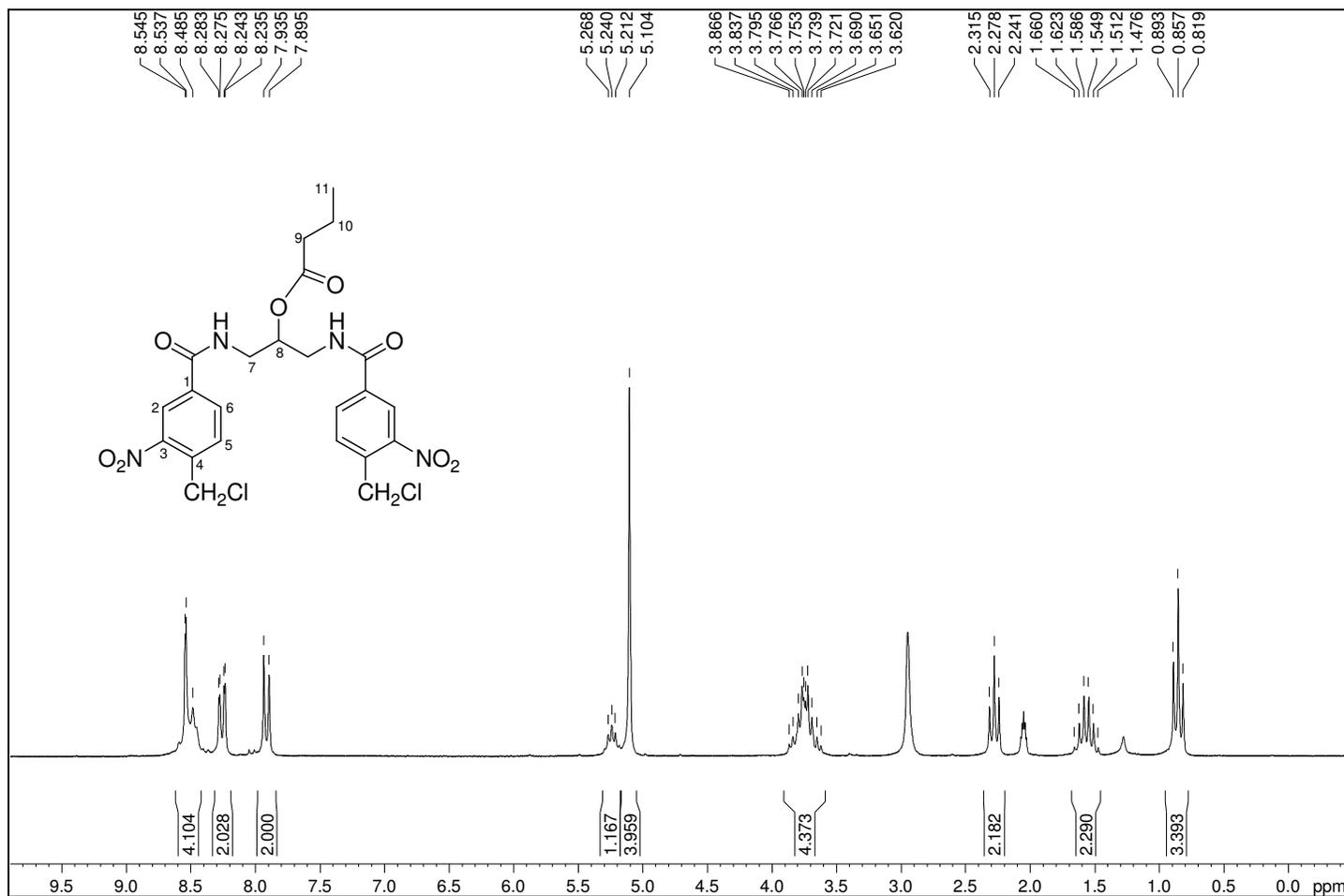
Figura B.44 – Espectro de RMN de ^1H de 28 (200 MHz, acetona- d_6).

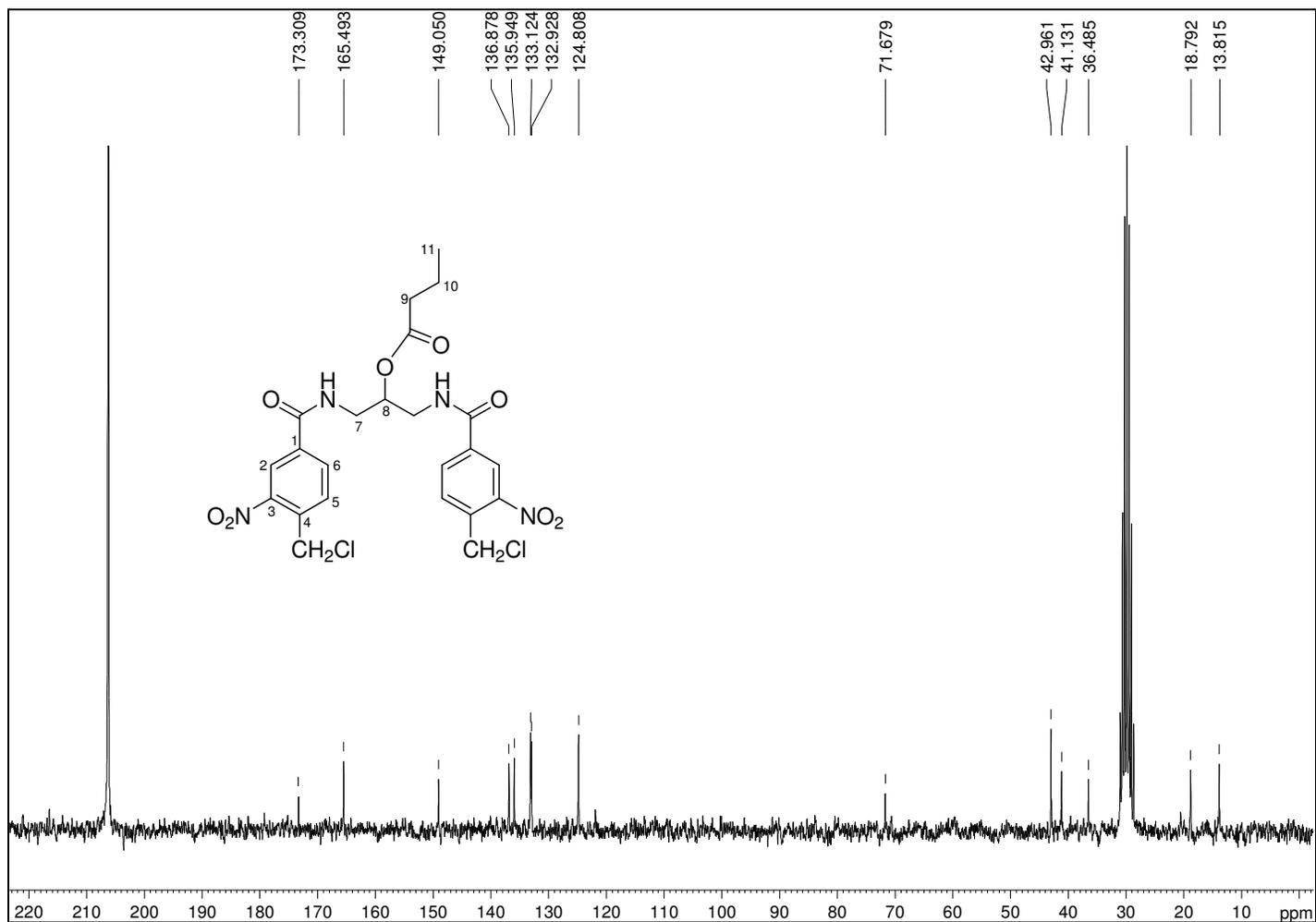
Figura B.45 – Espectro de RMN de ^{13}C de 28 (50 MHz, acetona- d_6).

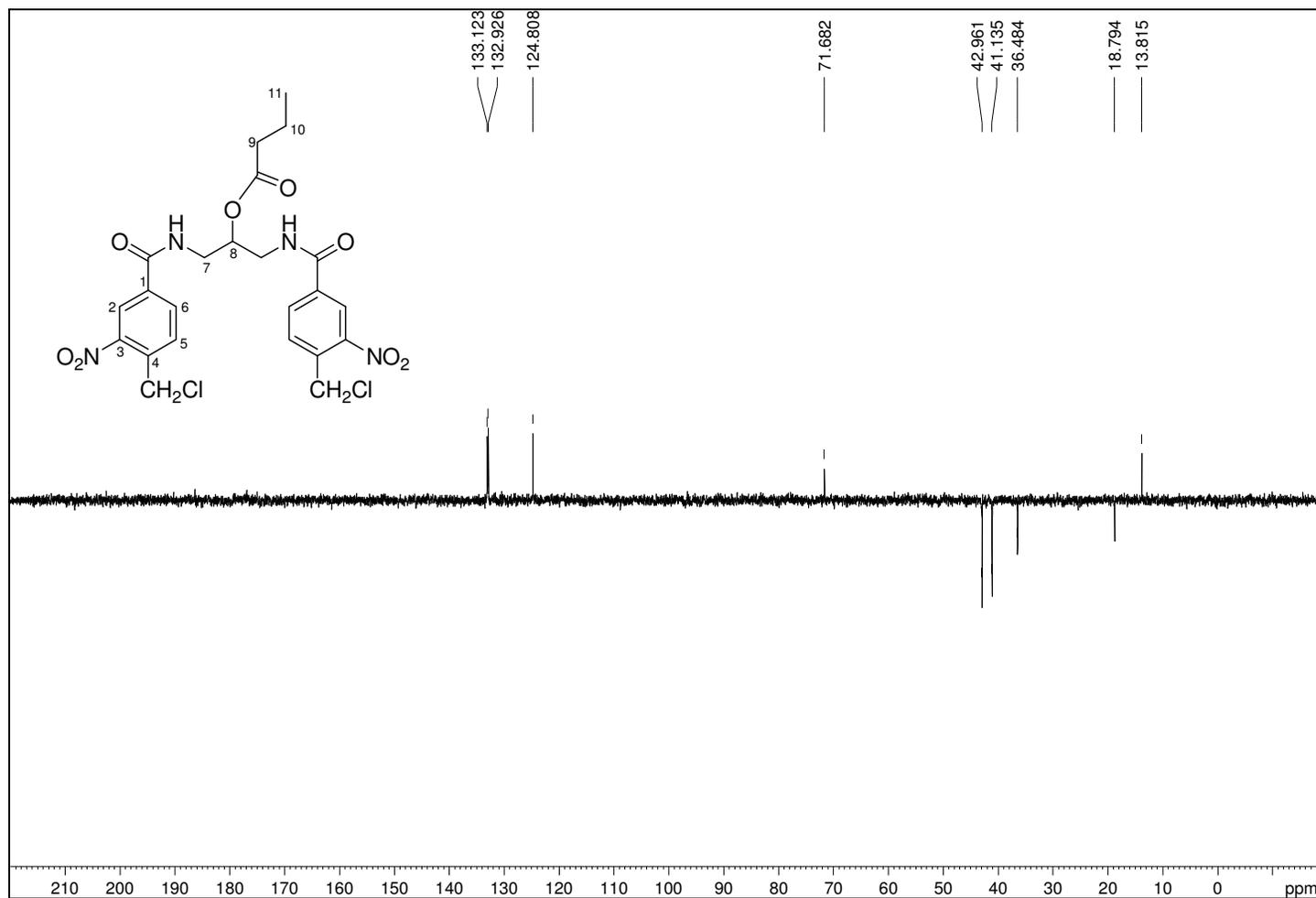
Figura B.46 – Subespectro de DEPT 135 de 28 (50 MHz, acetona- d_6).

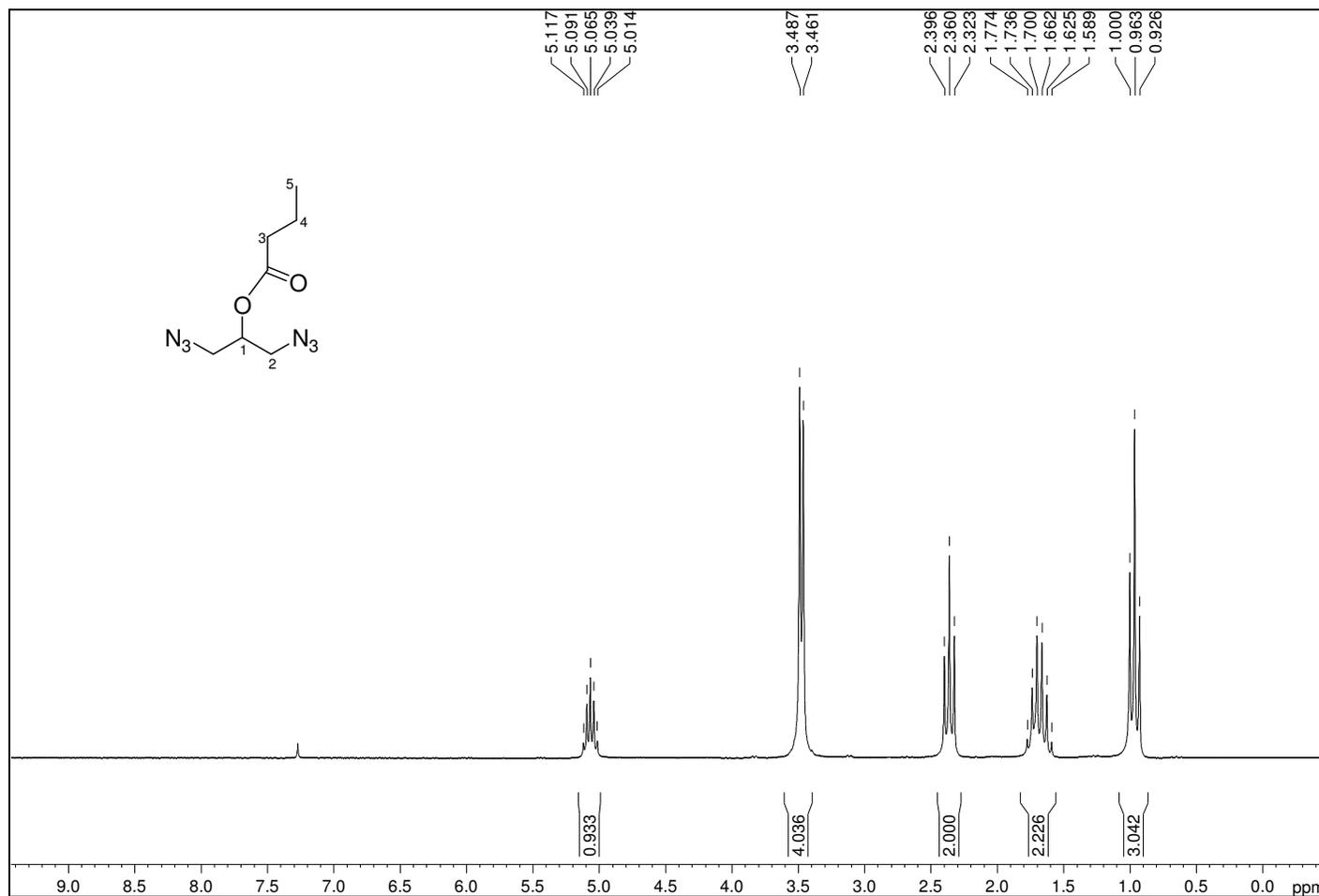
Figura B.47 – Espectro de RMN de ^1H de 29 (200 MHz, CDCl_3).

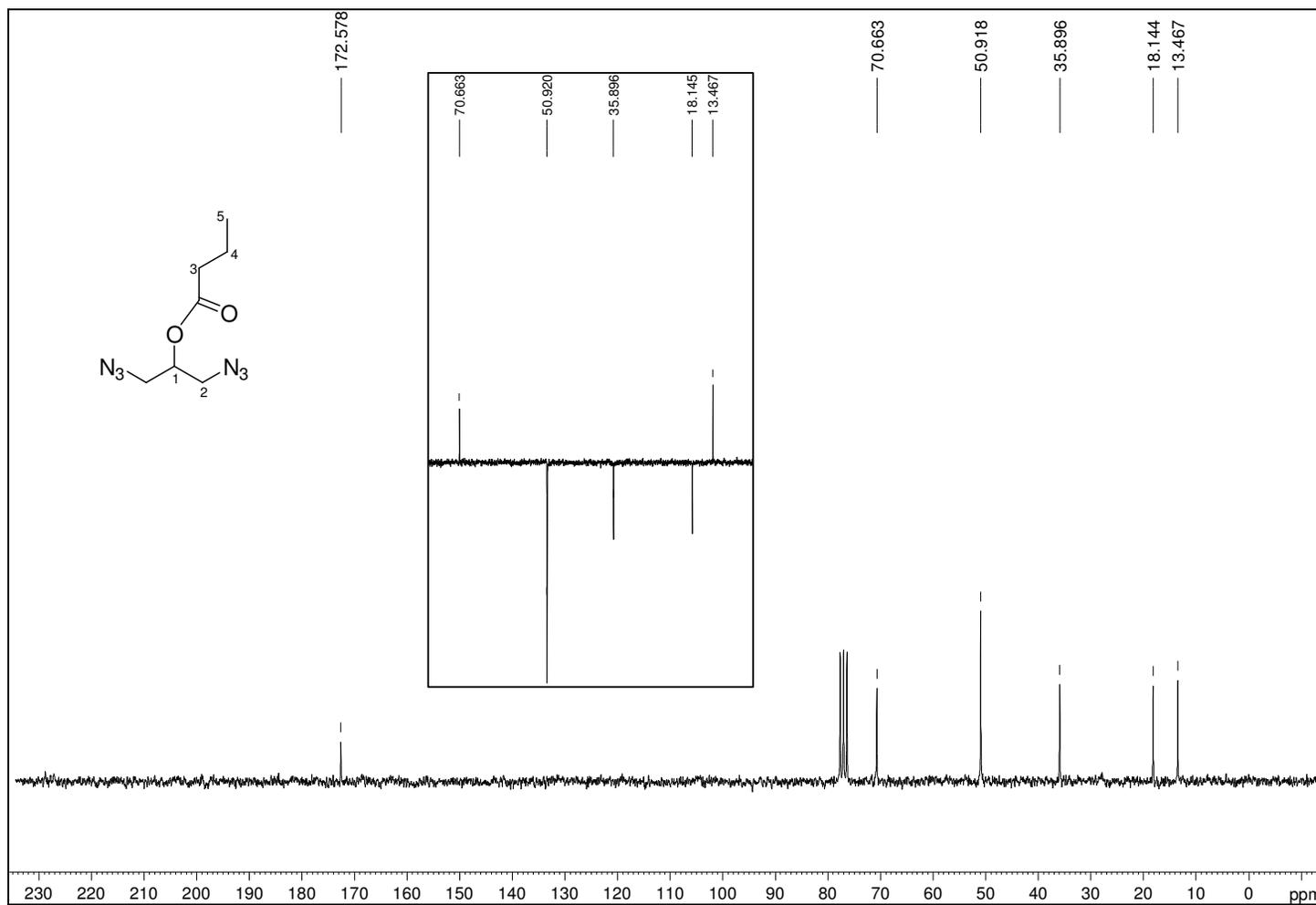
Figura B.48 – Espectro de RMN de ^{13}C de 29 (50 MHz, CDCl_3).

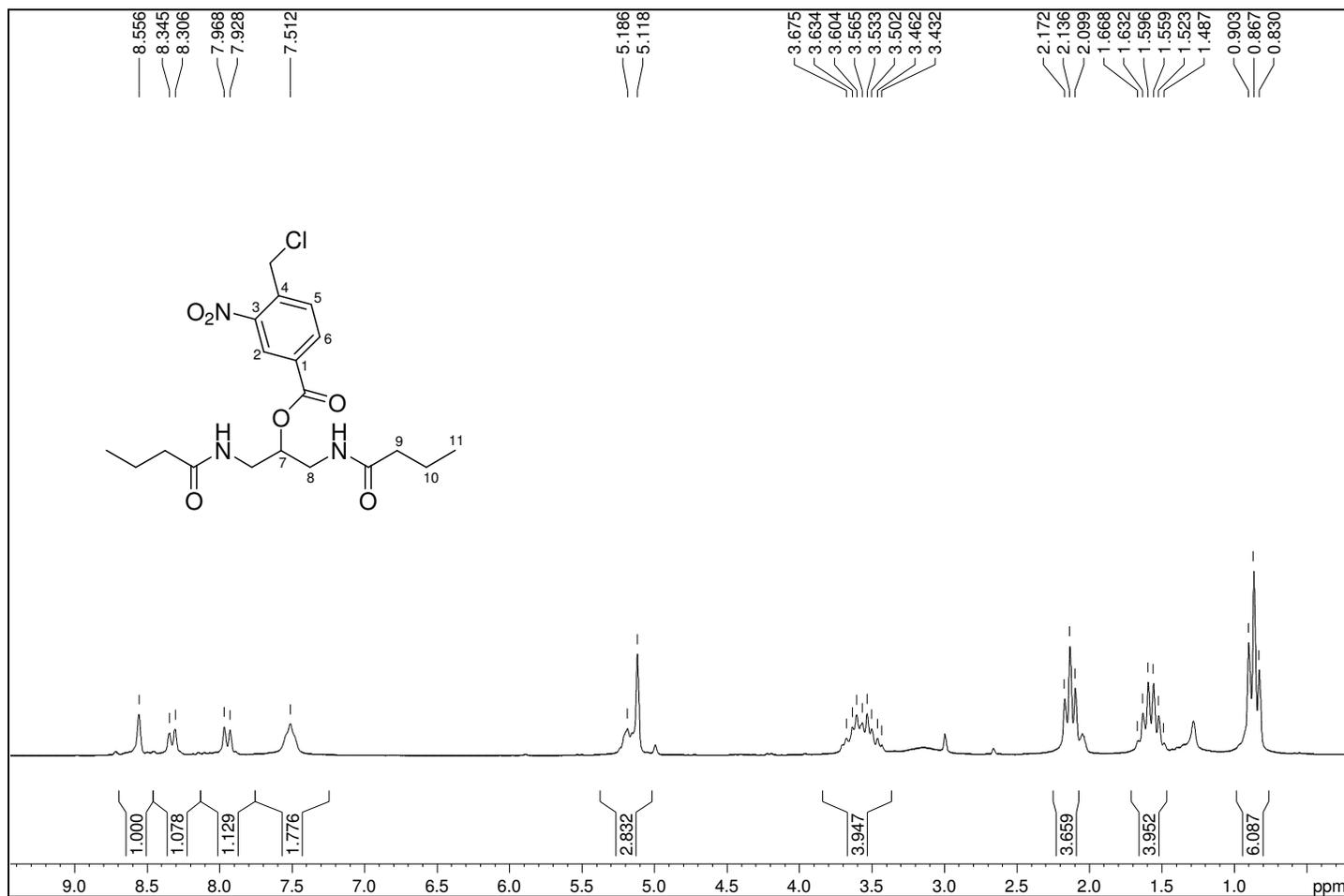
Figura B.49 – Espectro de RMN de ^1H de **33** (200 MHz, acetona- d_6).

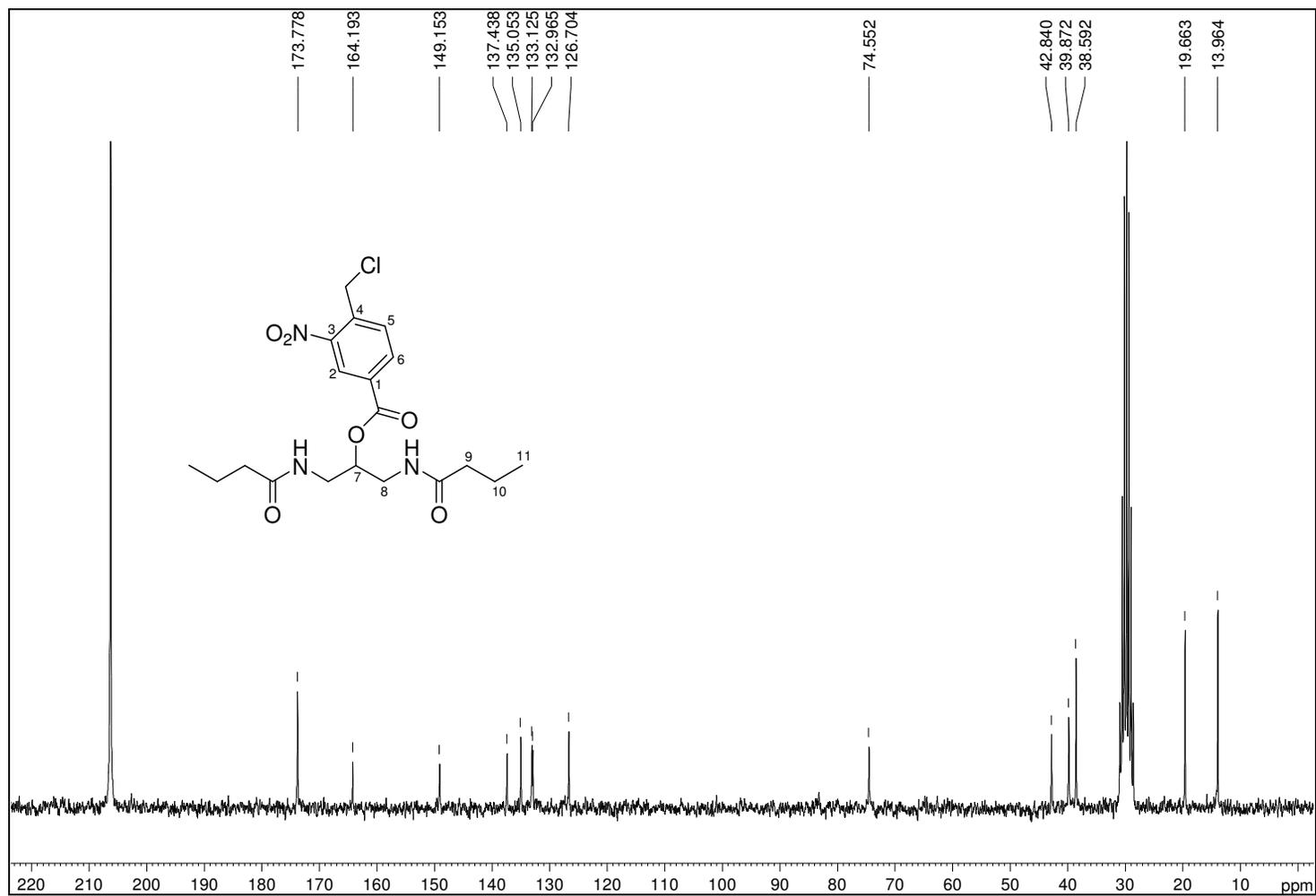
Figura B.50 – Espectro de RMN de ^{13}C de **33** (50 MHz, acetona- d_6).

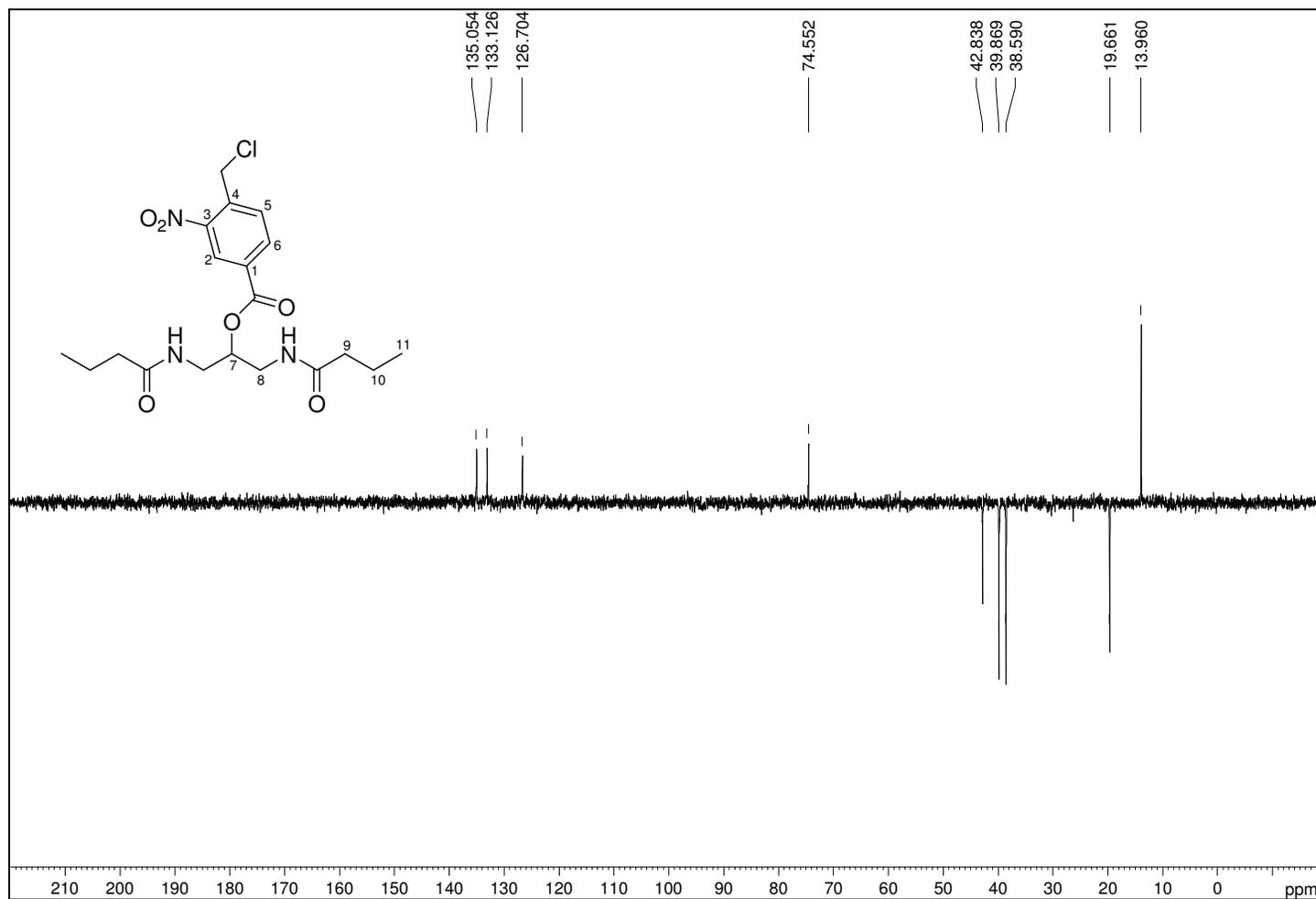
Figura B.51 – Subespectro de DEPT 135 de **33** (50 MHz, acetona-*d*₆).

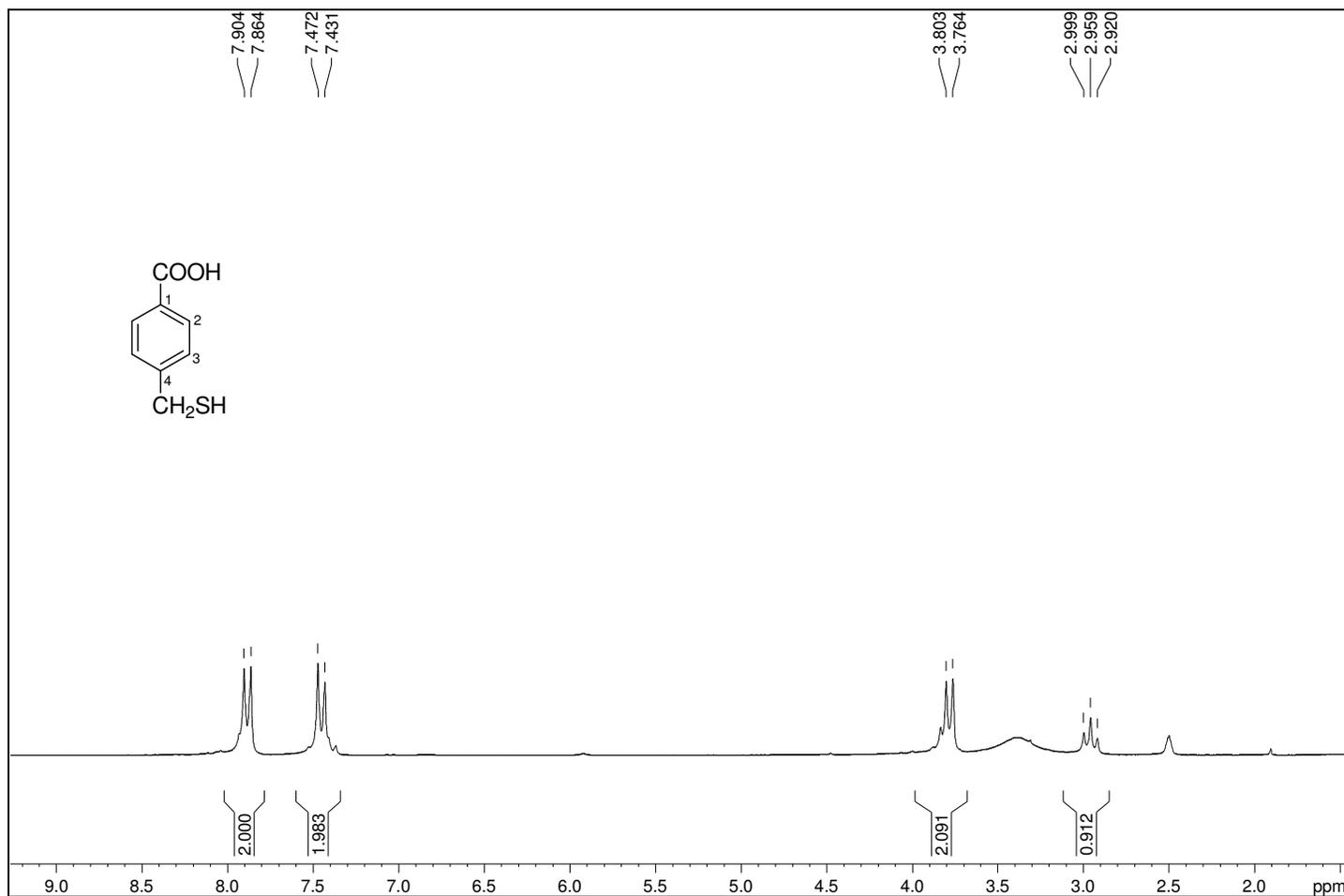
Figura B.52 – Espectro de RMN de ^1H de 34 (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

Figura B.53 – Espectro de RMN de ^{13}C de 34 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).