

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Síntese de enaminonaftoquinonas com atividade
antiproliferativa e sua aplicação no estudo
da reação de Povarov**

**Synthesis of enamine naphthoquinone with antiproliferative activity and its
application in the study of the Povarov reaction**

Bárbara Costa Lemos

Tese de doutorado em Química

**Vitória
2022**

Bárbara Costa Lemos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do Título de Doutora em Química

Área de Concentração: Química

Linha de Pesquisa: Síntese Orgânica e Medicinal.

Orientador: Prof. Dr. Sandro José Greco

**Vitória
2022**

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

L555s Lemos, Bárbara Costa, 1989-
Síntese de enaminonaftoquinonas com atividade
antiproliferativa e sua aplicação no estudo da reação de Povarov /
Bárbara Costa Lemos. - 2022.
258 f. : il.

Orientador: Sandro José Greco.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do
Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Enaminonaftoquinona. 2. Antiproliferativa. 3. Reação de
Povarov. I. Greco, Sandro José. II. Universidade Federal do
Espírito Santo. Centro de Ciências Exatas. III. Título.

CDU: 54

Síntese de enaminonaftoquinonas com atividade antiproliferativa e sua aplicação no estudo da reação de Povarov

Bárbara Costa Lemos

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor(a) em Química.

Aprovada em 26/08/2022 por:

Prof.(a) Dr.(a) Sandro José Greco
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador (a)

Prof. Dr. Álvaro Cunha Neto
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Maicon Delarmelina
Cardiff University

Prof. Dr. Sérgio Pinheiro
Universidade Federal Fluminense

Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória/ES





Documento de defesa Bárbara Costa Lemos

Data e Hora de Criação: 14/12/2022 às 13:31:10

Documentos que originaram esse envelope:

- Anexo C - Defesa da Tese Bárbara.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)
- Ata da defesa da Tese - Aprovado Barbara.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)
- Registro de Julgamento da Tese Bárbara.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)



Hashs únicas referente à esse envelope de documentos

[SHA256]: 51020a2a8d9552d2d7f48f763433eeb6b76f9578d8efdda5de2610aeff00c381

[SHA512]: ed6b598aa28bb7192abbfa0df2f0383a4a1ecd74968737d8f5a5a186437b4dc3a969226cb48c4b310a5526b8bcb5990efb55ae85b3a15621dde26ec1842b19d

Lista de assinaturas solicitadas e associadas à esse envelope



ASSINADO - Alvaro Cunha Neto (alvaro.cunha@ufes.br)

Data/Hora: 15/12/2022 - 17:09:42, IP: 200.137.65.107

[SHA256]: 839b123e761402dad1f378dae8df29dc980510866b7cd8afce78d1f83d4c78b7



ASSINADO - Maicon Delarmelina (mdelarmelina@hotmail.com)

Data/Hora: 15/12/2022 - 07:37:41, IP: 131.251.8.146

[SHA256]: f01880a9ac595d2b4b6ac8e465aba1f220f83e3f7e6a634aed5a289699969a45



ASSINADO - Ricardo Machado Kuster (ricardo.m.kuster@ufes.br)

Data/Hora: 19/12/2022 - 07:55:52, IP: 177.157.119.30, Geolocalização: [-20.336605, -40.278213]

[SHA256]: 4178c45135becb7f2503307bc9cb00fa50cca913b28090709145f745b2f6ad1a



ASSINADO - Sandro Jose Greco (sandro.greco@ufes.br)

Data/Hora: 30/01/2023 - 15:24:28, IP: 191.57.9.200, Geolocalização: [-20.312522, -40.288094]

[SHA256]: e38d67774612336c6aba504ad71ffe0e0f3e2b927929d8c17c84892c30fdeaa5



ASSINADO - Sérgio Pinheiro (spinuff@gmail.com)

Data/Hora: 14/12/2022 - 16:14:28, IP: 179.241.238.0, Geolocalização: [-22.846896, -43.238083]

[SHA256]: 0687584c380496628f121c3eb7011ab7b8a63dd872ceba1d62e595b55c6efe8b

Histórico de eventos registrados neste envelope

30/01/2023 15:24:28 - Envelope finalizado por sandro.greco@ufes.br, IP 191.57.9.200

30/01/2023 15:24:28 - Assinatura realizada por sandro.greco@ufes.br, IP 191.57.9.200

19/12/2022 07:55:52 - Assinatura realizada por ricardo.m.kuster@ufes.br, IP 177.157.119.30

19/12/2022 07:55:41 - Envelope visualizado por ricardo.m.kuster@ufes.br, IP 177.157.119.30

15/12/2022 17:09:42 - Assinatura realizada por alvaro.cunha@ufes.br, IP 200.137.65.107

15/12/2022 07:37:41 - Assinatura realizada por mdelarmelina@hotmail.com, IP 131.251.8.146

15/12/2022 07:37:13 - Envelope visualizado por mdelarmelina@hotmail.com, IP 131.251.8.146

14/12/2022 16:14:28 - Assinatura realizada por spinuff@gmail.com, IP 179.241.238.0

14/12/2022 16:14:19 - Envelope visualizado por spinuff@gmail.com, IP 179.241.238.0

14/12/2022 13:36:34 - Envelope registrado na Blockchain por kieza.pereira@ufes.br, IP 200.137.65.106

14/12/2022 13:36:32 - Envelope encaminhado para assinaturas por kieza.pereira@ufes.br, IP 200.137.65.106

14/12/2022 13:31:12 - Envelope criado por kieza.pereira@ufes.br, IP 200.137.65.106

Para a minha mãe, com TODO meu amor.

AGRADECIMENTOS

Esperei muito por esse momento, que foi idealizado no terceiro período da faculdade (2010/1), quando decidi abraçar a carreira acadêmica e hoje aqui estou.

Meu muito obrigada a todos! Eu não teria chegado até aqui sozinha.

Meus maiores agradecimentos a minha mãe e irmã que estiveram sempre presentes, me apoiaram e não mediram esforços para a realização desse sonho.

Ao meu orientador, professor Sandro, que me ensinou tanto nesses mais de 8 anos. Fez de mim não só uma pesquisadora como também uma pessoa melhor e sem dúvidas é o melhor professor que já tive. Obrigada por tanta confiança e dedicação.

E mais que especial agradeço imensamente a Eclair, meu fiel escudeiro. O mais otimista e bem-humorado, aquele que consegue ver a luz no fim do túnel. Como foi maravilhoso ter te conhecido. Eu certamente não teria chegado sozinha. Serei eternamente grata!

Aos amigos do LSOA, a TODOS que passaram por lá durante a minha jornada (e foi bastante gente), vocês foram fundamentais para eu não desistir, afinal tem que ser um pelo outro nesse laboratório rsrs. Obrigada por estarem presentes, pelo ombro amigo, pelas risadas, pelos memes, pela dúvida do dia e por tantas coisas boas. Muita gratidão: Lírio (Alan), Brenno, Dandan cria, G1, G2 e ViniBoy. Em especial a Regina que me acolheu diversas vezes, mas acima de tudo por entender o que estou sentindo nesse momento. Eu torço MUITO por vocês.

Meu muito obrigada a Rodolfo Fiorot, que esteve perto mesmo quando longe, que me ensinou muito do que sei no laboratório. Você nasceu para ensinar! Grata também a Laiza pelas análises de RMN, mas principalmente pelo apoio e por ter tornado tantos dias bons naquele laboratório.

Nostalgicamente eu agradeço aos professores que cruzaram o meu caminho, vocês muito me ensinaram. Muita gratidão também aos amigos químicos que conheci durante esse longo percurso, foi imensamente maravilhoso compartilhar não só conhecimento.

Aos amigos fora da UFES, por terem entendido tantas ausências, principalmente a Brisa que só consigo ver a cada 4 meses. Obrigada pela compreensão, mesmo sem entender as decisões tomadas nesse trajeto.

Aos Doutores Sergio Pinheiro, Maicon Delarmelina, Ricardo Kuster e Álvaro Cunha pela participação na banca avaliadora.

Aos Laboratórios de Instrumentação, Cromatografia, RMN LabPetro e de Petroleômica e Forense, pelas análises realizadas.

Aos Professores Doutores Anne Caroline Cândido Gomes, Rodolfo Goetze Fiorot e José Walkimar de Mesquita Carneiro, pela parceria nos estudos computacionais aqui expostos. A Professora Doutora Cláudia do Ó Pessoa, pelos ensaios biológicos.

Ao LabPetro pelo espaço, e à Capes, a Fapes e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Obrigada Deus por permitir que eu conhecesse todas essas pessoas maravilhosas.

Esse sonho foi sonhado junto!

O mundo não é assim tão amigável.
(Autor desconhecido)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes tipos de β -enaminonas.....	24
Figura 2. Reatividade das enaminonas.	25
Figura 3. a) Formas tautoméricas e; b) conformações das enaminonas.....	25
Figura 4. Reação de condensação entre amina e 3-ceto éster.....	26
Figura 5. Alternativas para síntese de enaminonas exemplificadas nos trabalhos de (a) Dixon e Greenhill e (b) Apraku e Okoro.	27
Figura 6. A aminação de β -enol-fluorocetonas.....	27
Figura 7. Formação de β -enamino- α' -trifluorocetonas.	28
Figura 8. Síntese de Eschenmoser no preparo das enaminonas.....	28
Figura 9. Preparo de enaminonas cíclicas por reações estereosseletivas.	28
Figura 10. Exemplos de potenciais enaminonas com atividade biológica.	29
Figura 11. a) Estrutura da enaminona 40 e da enaminonaftoquinona 41 ; b) Estruturas de ressonância da enaminonaftoquinona.....	30
Figura 12. Estrutura da rifampicina.	30
Figura 13. Metodologias empregadas para obtenção de enaminonaftoquinonas. (a) adição oxidativa; (b) substituição nucleofílica; (c) adição do ácido hidrazóico.	31
Figura 14. Mecanismo proposto para adição oxidativa em 1,4-naftoquinona sem catalisador.	31
Figura 15. Mecanismo proposto para adição oxidativa em 1,4-naftoquinona catalisada por metais.....	32
Figura 16. Mecanismo S_N2 desacoplado proposto para formação das enaminonaftoquinonas.	32
Figura 17. Síntese de novas 2-aril-3-amino-1,4-naftoquinonas.....	33
Figura 18. Síntese das enaminonaftoquinonas para estudos de relação estrutura-atividade e propriedades anticancerígenas.....	34
Figura 19. Síntese dos oito primeiros compostos da série homóloga da 2-(n-alquilamino)-1,4-naftoquinona.	35
Figura 20. Síntese das 2-amino-1,4-naftoquinonas contendo a fração oxifenil.	35
Figura 21. Acoplamento de dois fármacos na Síntese das enaminonaftoquinonas. .	36
Figura 22. Síntese de novos polifluorados N-substituídos de 2-amino-1,4-naftoquinona.....	37

Figura 23. Síntese de novas 2-aminonaftoquinonas.	37
Figura 24. Síntese de 2-aminonaftoquinonas sem uso de catalisador.	38
Figura 25. Síntese de derivados da 2-amino-3-cloro-1,4-naftoquinona.....	38
Figura 26. Enaminonaftoquinonas obtidas a partir da 2,3-dicloro-1,4-naftoquinona.	39
Figura 27. Síntese de novas 2-arilpiperidinil-1,4-naftoquinona.....	39
Figura 28. Síntese das enaminonaftoquinonas com sulfonamida.	40
Figura 29. Estruturas derivadas das enaminonaftoquinonas: a) produtos sintéticos; b) produtos naturais.....	41
Figura 30. Estruturas das enaminonaftoquinonas 108-117 sintetizadas.	42
Figura 31. Síntese da 2-metoxinaftalen-1,4-diona.....	61
Figura 32. Esquema da síntese das enaminonaftoquinonas 108-113	62
Figura 33. Espectro de infravermelho do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona 109	63
Figura 34. Espectro de RMN do composto ^1H da 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona 109	64
Figura 35. Espectro de RMN do composto ^{13}C da 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona 109	64
Figura 36. Espectro de Massas do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona 109	65
Figura 37. Esquema da síntese das enaminonaftoquinonas 114 e 115	66
Figura 38. Espectro de infravermelho do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato 114	67
Figura 39. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato 114	67
Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato 114	68
Figura 41. Espectro de Massas do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato 114	68
Figura 42. Esquema da síntese da enaminonaftoquinona 116	69
Figura 43. Mecanismo da reação de substituição nucleofílica aromática no cloreto cianúrico.	70
Figura 44. Decréscimo da velocidade da reação à medida que se substitui o átomo de cloro por nucleófilos com par de elétrons n.	70
Figura 45. Síntese do eletrófilo 119	71

Figura 46. Espectro de infravermelho do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina 119 .	71
Figura 47. Espectro de RMN de ^1H do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina 119 .	72
Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina 119 .	72
Figura 49. Espectro de Massas do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina 119 .	73
Figura 50. Síntese da enaminonaftoquinona 116 .	73
Figura 51. Espectro de infravermelho do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona 116 .	74
Figura 52. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona 116 .	75
Figura 53. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona 116 .	76
Figura 54. Espectro de Massas do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona 116 .	76
Figura 55. Cromatograma de CLAE do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona 116 .	77
Figura 56. Síntese do intermediário 121 .	77
Figura 57. Espectro de infravermelho do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona 121 .	78
Figura 58. Espectro de RMN de ^1H do composto N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina 121 .	79
Figura 59. Espectro de RMN de ^{13}C do composto N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina 121 .	80
Figura 60. Espectro de Massas do composto N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina 121 .	80
Figura 61. Síntese da enaminonaftoquinona 117 .	81
Figura 62. Espectro de infravermelho do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona 117 .	82
Figura 63. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona 117 .	83

Figura 64. Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona 117	84
Figura 65. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona 117	84
Figura 66. Espectro de Massas do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona 117	85
Figura 67. Cromatograma de CLAE do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona 117	86
Figura 68. Média de concentração inibitória (IC_{50}) do composto sintetizado 108-117 e contra as linhas de células tumorais HCT116, PC3, HL60 e SNB19.	87
Figura 69. Análise do ciclo celular das células HCT116 tratadas com 112 e 117 (5, 10 e 20 μM) após 24 h de incubação por citometria de fluxo.	88
Figura 70. Dados de conteúdo de DNA em fase S apresentados como média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes realizados em triplicata, calculado por Prism 6.0 (GraphPad/Intuitive Software for Science, San Diego, CA). Foram realizadas análises estatísticas para comparações múltiplas utilizando a ANOVA One-way seguida do Teste Bonferroni. * $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.	90
Figura 71. Representação esquemática das estruturas canônicas de 109 e comprimento de ligação N–C2 (esquerda); e a interação intramolecular atrativa nas enaminonaftoquinonas 108 e 110-117 (direita).	91
Figura 72. Sobreposição do ligante cristalográfico etoposídeo (em amarelo) e seu ligante reencaixado no sítio de clivagem do DNA da enzima topoisomerase II (em cinza) – figura esquerda – e 2'-desoxiuridina-5'-monofosfato (FdUMP, em amarelo) e seu ligante reencaixado (em cinza) no sítio de ligação da timidilato sintase – figura direita.	94
Figura 73. Resultado de ancoragem molecular do etoposídeo (2D e 3D) no sítio ativo da enzima topoisomerase-II.	95
Figura 74. Resultado de ancoragem molecular da doxorubicina (2D e 3D) no sítio ativo da enzima topoisomerase-II.....	96
Figura 75. Resultado de ancoragem molecular das enaminonaftoquinonas 108-117 (2D) no sítio ativo da enzima topoisomerase-II.	97
Figura 76. Resultado de ancoragem molecular do FdUMP (2D e 3D) no sítio ativo da enzima timidilato sintase.	98

Figura 77. Resultado de ancoragem molecular do 5-FU (2D e 3D) no sítio ativo da enzima timidilato sintase.	99
Figura 78. Resultado de ancoragem molecular das enaminonaftoquinonas 108-117 (2D) no sítio ativo da enzima timidilato sintase.	100
Figura 79. a) Produtos naturais com THQ; b) Produtos sintéticos com THQ.	166
Figura 80. Esquema da reação de Povarov.	167
Figura 81. Exemplo da reação de Povarov <i>one-pot</i> multicomponente.	168
Figura 82. Tipos de Reação de Povarov multicomponente.	169
Figura 83. Reação multicomponente de Povarov do tipo ABC.	169
Figura 84. Reação multicomponente de Povarov do tipo ACC'.	170
Figura 85. Reação multicomponente de Povarov do tipo AA'BB'.	170
Figura 86. Reação multicomponente de Povarov do tipo AA'BC.	171
Figura 87. Propostas mecanísticas da reação de Povarov.	172
Figura 88. Esquema da reação de Povarov intramolecular.	173
Figura 89. Valores de Δd para o E.T. com e sem o uso de catalisador.	173
Figura 90. Esquema da reação de Povarov interrompida.	174
Figura 91. Esquema reacional proposto para o estudo da reação de Povarov.	181
Figura 92. Análise retrossintética para preparação das tetraidroquinolinas a partir da naftoquinona como olefina ativada.	191
Figura 93. Esquema da reação de Sridharan e colaboradores.	191
Figura 94. Espectro de infravermelho do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidroquinolina 143	192
Figura 95. Espectro de RMN de ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidroquinolina 143	193
Figura 96. Tentativa de síntese do aduto de Mannich com as enaminonaftoquinonas 108 e 109	195
Figura 97. Estruturas de ressonância da enaminonaftoquinona 109	196
Figura 98. Estruturas de ressonância da enaminonaftoquinona 109 com as carbonilas protegidas.	196
Figura 99. Reação de substituição da 2-metoxinaftalen-1,4-diona 107	199
Figura 100. Estruturas de ressonância da 2-metoxinaftalen-1,4-diona 107 complexada ao metal.	200
Figura 101. Espectro de infravermelho do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona 277	200

Figura 102. Espectro de RMN do composto ^1H da 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona 277	202
Figura 103. Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona 277	203
Figura 104. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona 277	203
Figura 105. Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona 277	204
Figura 106. Análise retrossintética para preparação da tetraidroquinolina a partir da naftoquinona como amina.	206
Figura 107. Reação de nitração da 1,4-naftoquinona 47	206
Figura 108. Espectro de infravermelho do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona 278	207
Figura 109. Espectro de RMN ^1H do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona 278	208
Figura 110. Espectro de Massas do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona 278	208
Figura 111. Resultado da análise do CG-EM do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona 279	210
Figura 112. Espectro de infravermelho do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona 279	211
Figura 113. Espectro de RMN de ^1H do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona 279	211
Figura 114. Espectro de Massas do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona 279	212
Figura 115. Diastereoisômeros do aduto de Povarov 280	213
Figura 116. Espectro de RMN de ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona 280	214
Figura 117. Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona 280	215
Figura 118. Expansão do espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona 280	215
Figura 119. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona 280	216
Figura 120. Espectro de Massas do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona 280	217

Figura 121. Estabilidade relativa dos confôrmeros da enaminonaftoquinona e da lausona. Energia livre de Gibbs relativa a entalpia. Valores de energia em kcal mol ⁻¹	218
Figura 122. Mudança energética para os pontos estacionários relevantes dos caminhos reacionais analisados. Comparação entre reação com sistema com lausona e enaminonaftoquinona. Valores de energia em kcal mol ⁻¹	218
Figura 123. Mudança energética associada à reação do imínio com lausonato. Valores de energia em kcal mol ⁻¹	219
Figura 124 - Mudança energética associada à reação da enaminonaftoquinona com a imina formada a partir da 3-hidroxianilina. Valores de energia em kcal mol ⁻¹	220

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividades antiproliferativas dos híbridos contra as linhagens celulares HCT116, PC3, HL60 e SNB19.	87
Tabela 2. Efeito das amostras na distribuição do ciclo celular de HCT-116. Os dados são apresentados como a média $\pm$ desvio padrão (DP) de três experimentos independentes realizadas em triplicata. O controle negativo (CTL) foi tratado com o veículo (0,1% DMSO) usado para diluir o composto testado. 5-FU foi usada como controles positivos.	89
Tabela 3. Valores de repulsão internuclear C2–C3, comprimentos de ligação N–C2 e momento de dipolo molecular total para todas as enaminonaftoquinonas computadas com o método semiempírico AM1.	92
Tabela 4. Energias de ligação das enaminonaftoquinonas (108-117), Etoposídeo, FdUMP, 5-FU e Doxorrubicina contra os respectivos alvos moleculares (3QX3 e 6QXG).	94
Tabela 5. Diferentes olefinas e aminas utilizadas na formação do aduto de Povarov.	175
Tabela 6. Dados experimentais das tentativas de reação de Povarov com a 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona 109	194
Tabela 7. Dados experimentais das tentativas de proteção das carbonilas.	197
Tabela 8. Dados experimentais das tentativas de reação de Povarov com 2-metoxinaftalen-1,4-diona 107	199
Tabela 9. Dados experimentais das tentativas de reação de Povarov com 2-hidroxinaftalen-1,4-diona 85	205
Tabela 10. Dados experimentais da reação de redução do grupo nitro.	209
Tabela 11. Dados experimentais da reação de Povarov a partir da 5-aminonaftaleno-1,4-diona 279	212

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IC₅₀ - Concentração inibitória média (do inglês, *Half maximal (50%) inhibitory concentration*);

ROS - Espécies Reativas de Oxigênio (do inglês, *Reactive Oxygen Species*);

DFT - Teoria do funcional da densidade (do inglês, *density functional theory*);

RMN - Ressonância Magnética Nuclear;

ESI-MS - Espectrometria de Massas acoplada a ionização por eletronebulização;

DNA - Ácido desoxirribonucleico;

DMSO-d₆ - Dimetilsulfóxido deuterado;

CDCl₃ - Clorofórmio deuterado;

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior;

FAPES - Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo;

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico;

MMFF - Campo de Força Molecular Merck (do inglês Merck Molecular Force Field);

RMSD - Desvio quadrático médio;

exp - Experimental;

calc - Calculado;

ATR - Refletância Total Atenuada (do inglês, *Attenuated total reflectance*);

CCF - Cromatografia em Camada Fina;

IV - Infravermelho;

ESI-FT-ICR-MS - Espectrometria de massas com ionização por eletronebulização e ressonância ciclônica de íons por transformada de Fourier;

LUMO - Orbital de Menor Energia Desocupado (do inglês, *lowest unoccupied molecular orbital*);

RMN de ¹³C - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono;

RMN de ¹H - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio;

COSY - Correlated Spectroscopy;

HSQC - Heteronuclear Single Quantum Coherence;

EDG - Grupo doador de elétrons (do inglês, *electron donating group*);

h - Horas;

min - Minutos;

AcOH - Ácido acético;

LISTA DE SÍMBOLOS

m/z - Razão massa/carga;

d - dubleto;

t - tripleto;

td - triplo dubleto

s - singleto;

dd - duplo dubleto;

ddd - duplo duplo dubleto

m - multiplete;

δ - deslocamento químico.

RESUMO

As 2-amino-1,4-naftoquinonas, também chamadas de enaminonaftoquinonas, podem ser formadas por uma reação de substituição nucleofílica das 1,4-naftoquinonas substituídas por haletos ou qualquer outro grupo factível de saída, e por adição oxidativa à 1,4-naftoquinona **43**. Elas constituem compostos de um amplo interesse biológico devido, entre outros motivos, a sua versatilidade sintética. Diante disso, no presente trabalho foram sintetizadas dez enaminonaftoquinonas com rendimentos variando de 43 a 76%, por uma reação de substituição nucleofílica. Os compostos foram avaliados quanto a sua atividade antiproliferativa *in vitro* pelo ensaio MTT contra quatro tipos de linhagens celulares de câncer humano: HCT116, PC3, HL60 e SNB19. As enaminonaftoquinonas **108** e **113**, constituídas pela picolilamina e quinolina, respectivamente, foram as mais ativas ($IC_{50} < 24 \mu M$ para todas as linhagens celulares), sendo semelhantes aos valores obtidos para os fármacos controle (doxorubicina e 5-fluorouracil). Também foram realizadas avaliações *in silico*, o que permitiu desenvolver uma relação estrutura-atividade qualitativa onde as características eletrostáticas, particularmente a repulsão internuclear C2–C3 e o momento de dipolo molecular total, se relacionam com a resposta biológica. As simulações de ancoragem molecular indicam que os compostos sintéticos têm potencial para atuar como inibidores das enzimas topoisomerase II e timidilato sintase. Além disso, a enaminonaftoquinona **105** foi empregada como nucleófilo para obter tetraidroquinolinas a partir do estudo da reação de Povarov em sistemas naftoquinônicos, utilizando sua versão clássica, ou seja, uma amina aromática, um aldeído alifático ou aromático e uma olefina ativada. Nesse contexto, muitos esforços têm sido feitos para sintetizar derivados da tetraidroquinolina substituídos e entre as diferentes reações para formação do anel tetraidroquinolínico, a reação de Povarov mostra-se atrativa. No entanto, notou-se uma baixa nucleofilicidade frente a primeira etapa do mecanismo (reação de Mannich), como mostrado em estudo computacional. Alternativamente a reação foi racionalizada utilizando a 5-amino-1,4-naftoquinona **280** como a amina da reação, levando a formação da tetraidroquinolina **295**, que foi caracterizada por espectroscopia de RMN. Nesse sentido, foi obtido o aduto de Povarov em sistema naftoquinônico de maneira inédita.

Palavras-chave:

Enaminonaftoquinona. Antiproliferativa. Reação de Povarov.

ABSTRACT

2-Amino-1,4-naphthoquinones, also called enamine naphthoquinone, can be formed by a nucleophilic substitution reaction of 1,4-naphthoquinones substituted by halides or any other feasible leaving group, and by oxidative conjugate addition to the 1, 4-naphthoquinone **43**. They are compounds of wide biological interest due, among other reasons, to their synthetic versatility. Therefore, in the present work, ten enamine naphthoquinones were synthesized with yields ranging from 43 to 76%, by a nucleophilic substitution reaction. The compounds were evaluated for their antiproliferative activity in vitro by the MTT assay against four types of human cancer cell lines: HCT116, PC3, HL60 and SNB19. Enamine naphthoquinone **108** and **113**, consisting of picolylamine and quinoline, respectively, were the most active ($IC_{50} < 24 \mu M$ for all cell lines), like the values obtained for the control drugs (doxorubicin e 5-fluorouracil). In silico evaluations were also carried out, which allowed the development of a qualitative structure-activity relationship where the electrostatic characteristics, particularly the C2–C3 internuclear repulsion and the total molecular dipole moment, are related to the biological response. Molecular anchorage simulations indicate that synthetic compounds have the potential to act as inhibitors of topoisomerase II and thymidylate synthase enzymes. In addition, enamine naphthoquinone **105** was used as a nucleophile to obtain tetrahydroquinolines from the study of the Povarov reaction in naphthoquinone systems, using its classical version, that is, an aromatic amine, an aliphatic or aromatic aldehyde and an activated olefin. In this context, many efforts have been made to synthesize substituted tetrahydroquinoline derivatives and among the different reactions for the formation of the tetrahydroquinoline ring, the Povarov reaction proves to be attractive. However, a low nucleophilicity was observed against the first step of the mechanism (Mannich reaction), as shown in a computational study. Alternatively, the reaction was rationalized using 5-amino-1,4-naphthoquinone **280** as the reaction amine, leading to the formation of tetrahydroquinoline **295**, characterized by NMR spectroscopy. In this sense, the Povarov adduct was obtained in a naphthoquinone system in an unprecedented way.

Keywords: Enamine naphthoquinone. Antiproliferative. Povarov reaction.

SUMÁRIO

Capítulo 1 - Síntese e avaliação citotóxica <i>in vitro</i> e <i>in silico</i> de enaminonaftoquinonas	24
1. Introdução	24
1.1 Enaminonas	24
1.2. Enaminonaftoquinonas	30
1.2.1. Exemplos de preparação de enaminonaftoquinonas por adição oxidativa	33
1.2.2. Exemplos de preparação de enaminonaftoquinonas por substituição nucleofílica.....	36
2 OBJETIVOS	42
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	43
3.1. Materiais	43
3.2. Métodos	43
3.2.1. Pontos de fusão	43
3.2.2. Cromatografia em camada fina (CCF)	43
3.2.3. Espectroscopia de Infravermelho.....	43
3.2.4. Ressonância Magnética Nuclear ¹ H e ¹³ C	44
3.2.5. Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução	44
3.2.6. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	44
3.2.7. Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i>	45
3.2.8. Citometria de fluxo	45
3.2.9. Métodos computacionais	46
3.2.10. Relação Quantitativa Estrutura-Atividade (QSAR, do inglês <i>Quantitative Structure–Activity Relationship</i>)	47
3.2.11. Ancoragem molecular	47
3.3. Procedimentos Experimentais.....	48
3.3.1. Preparação do composto 2-metoxinaftalen-1,4-diona	48
3.3.2. Preparação do composto 2-(metilamino)naftalen-1,4-diona	49
3.3.3. Preparação do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona	50
3.3.4. Preparação do composto 2-((2-hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona	51
3.3.5. Preparação do composto 2-((3-aminopropil)amino)naftaleno-1,4-diona...52	
3.3.6. Preparação do composto 2-((piridin-2-ilmetil)amino)naftaleno-1,4-diona .53	

3.3.7. Preparação do composto 2-(benzilamino)naftaleno-1,4-diona	54
3.3.8. Preparação do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato	55
3.3.9. Preparação do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil 4-metilbenzenossulfonato	56
3.3.10. Preparação do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina	57
3.3.11. Preparação do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naftaleno-1,4-diona	58
3.3.12. Preparação do composto N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina	59
3.3.13. Preparação do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona	60
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1. Síntese orgânica	61
4.2. Ensaios Biológicos	86
4.3. Estudos Computacionais	90
4.3.1. Relação Quantitativa Estrutura-Atividade (QSAR)	90
4.3.2. Ancoragem molecular	93
5. CONCLUSÕES	101
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102
7. ANEXOS – Caracterização	111
Capítulo 2. Estudo da reação de Povarov em sistemas naftoquinônicos	166
1. Introdução	166
1.2 Reação de Povarov	167
1.2.2 Estudo do mecanismo	171
1.2.3 Escopo da Reação de Povarov	174
2. OBJETIVOS	181
3. PARTE EXPERIMENTAL	182
3.1. Materiais	182
3.2. Métodos	183
3.2.1. Pontos de fusão	183
3.2.2 Cromatografia em camada fina (CCF)	183
3.2.2. Cromatografia em coluna	183
3.2.3. Cromatografia em placa preparativa	183
3.2.4. Espectroscopia de Infravermelho	183

3.2.5. Ressonância Magnética Nuclear ^1H e ^{13}C	184
3.2.6. Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução	184
3.2.4 Cromatografia Gasosa acoplado ao espectrômetro de massas (CG - EM)	184
3.2.7. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	185
3.2.11. Estudo computacional.....	185
3.3. Procedimentos Experimentais.....	186
3.3.1. Preparação do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidroquinolina.....	186
3.3.2. Preparação do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona	187
3.3.3. Preparação do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona.....	188
3.3.4. Preparação do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona	189
3.3.5. Preparação do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenczo[h]quinolina- 7,10-diona.....	190
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	191
4.1. Síntese orgânica	191
4.2. Estudo computacional.....	217
5. CONCLUSÕES	221
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	222
7. ANEXOS – Caracterização	232
8. ANEXOS – Produção científica	250

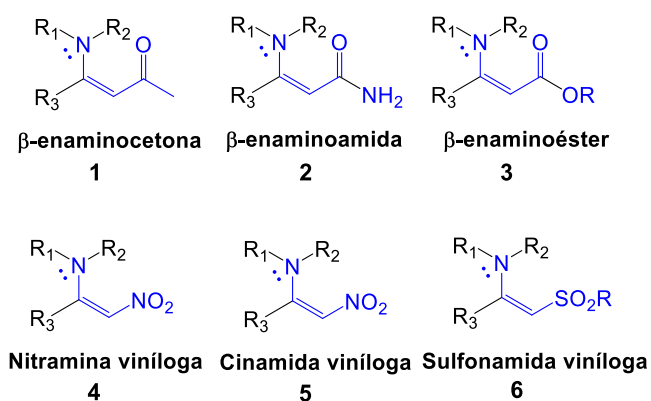
Capítulo 1 - Síntese e avaliação citotóxica *in vitro* e *in silico* de enaminonaftoquinonas

1. Introdução

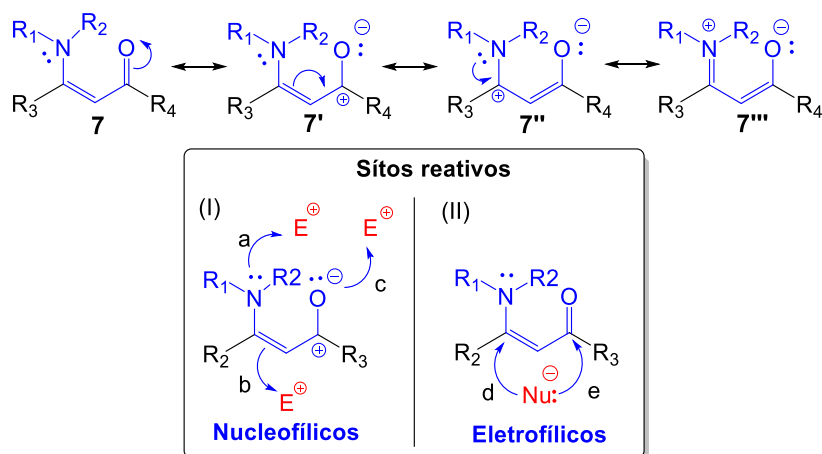
1.1 Enaminonas

Os compostos orgânicos que possuem o sistema conjugado $N-C=C-C=O$ em suas estruturas químicas são chamados de enaminonas e podem ser definidas como compostos β -enaminocarbonílicos, que compreendem as β -dicetonas, β -ceto ésteres e análogos de compostos β -dicarbonílicos. A Figura 1 mostra os esqueletos estruturais mais encontrados desta classe, as β -enaminocetonas **1**, os β -enaminoésteres **3** e outras estruturas semelhantes.¹

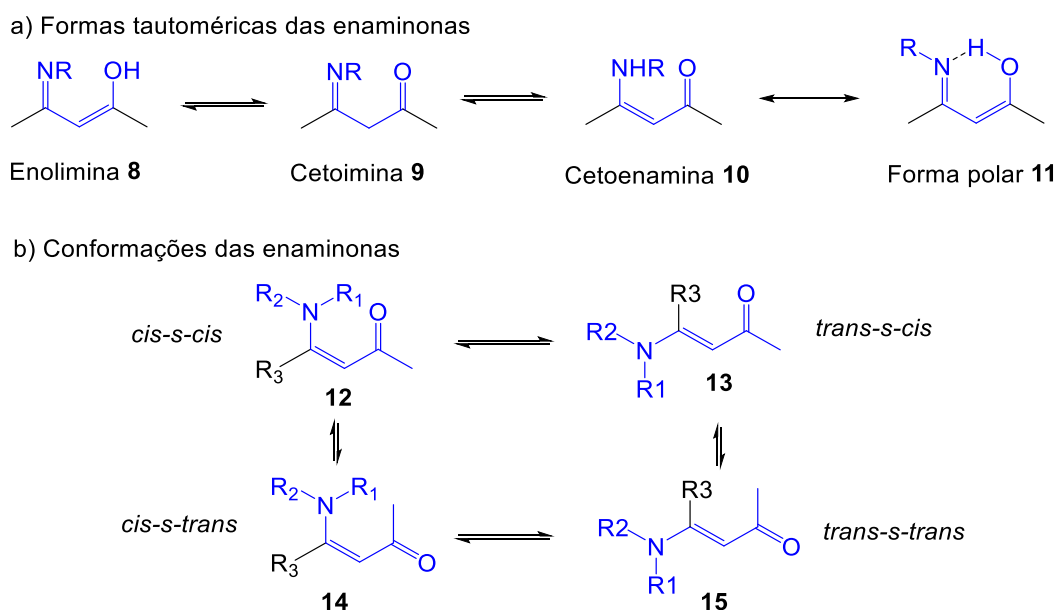
Figura 1. Diferentes tipos de β -enaminonas.



Interessante notar que, em termos de reatividade as enaminonas provêm de cinco sítios ativos (três nucleofílicos e dois eletrofílicos) gerados a partir da deslocalização dos elétrons π pelos orbitais p do sistema conjugado presente na estrutura das mesmas, como mostrado na estrutura **7** (Figura 2). Dessa forma, esses compostos tornam-se atrativos intermediários sintéticos, devido a maior versatilidade na inserção de diferentes substituintes no substrato.¹

Figura 2. Reatividade das enaminonas.

As β -enaminonas possuem três formas tautoméricas, as quais a cetoenamina é a mais recorrente, que estabiliza-se pela contribuição da forma **11** (Figura 3a).² Além disso, as enaminonas podem adotar quatro possíveis conformações **12-15**, devido ao equilíbrio imina-enamina que favorece as estruturas conformacionais. Nota-se ainda que, provavelmente, o confômero majoritário no equilíbrio conformacional será quando $R_1 = H$ (confômero *cis-s-cis* **12**), que pode ser estabilizado por ligação de hidrogênio intramolecular (Figura 3b).³

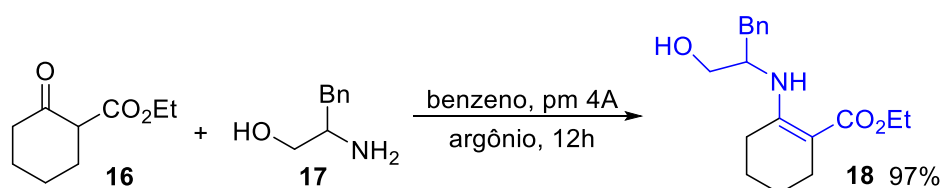
Figura 3. a) Formas tautoméricas e; b) conformações das enaminonas.

Em geral, as enaminonas são derivadas de origem sintética.⁴ Elas têm sido empregadas extensivamente em síntese orgânica como precursores e por esta razão,

existem vários procedimentos diferentes para sua síntese, alguns dos quais incluem a condensação de compostos 1,3-dicarbonílicos com aminas,⁵ aminação de 5-trifluorometil dicetona,⁶ e aminação de álcoois propargílicos catalisada por prata,⁵ entre outras metodologias que vêm sendo estudadas nos últimos anos. Embora esses novos métodos forneçam várias maneiras de sintetizar enaminonas, existem limitações, como reagentes caros, baixos rendimentos, condições extremas de reação e longos tempos reacionais. Isso encorajou a busca por novas alternativas para contornar tais dificuldades.

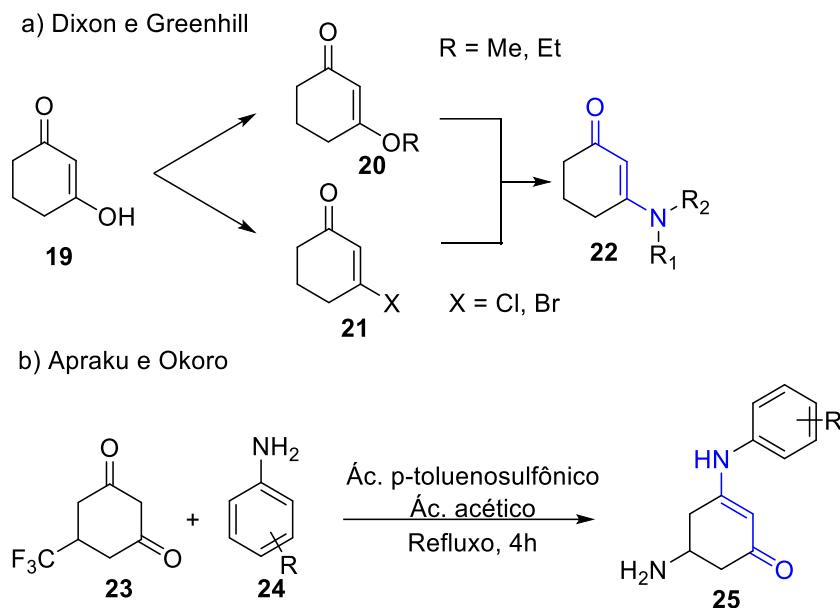
A metodologia sintética mais empregada para formação de enaminonas envolve a reação de condensação com aminas primárias ou secundárias e compostos 1,3-dicarbonílicos. Utilizado solventes aromáticos em condição de refluxo e remoção azeotrópica da água, porém algumas mudanças têm sido realizadas, como o uso de peneira molecular como agente secante conforme exemplificado para o composto **18** (Figura 4).⁷

Figura 4. Reação de condensação entre amina e 3-ceto éster.



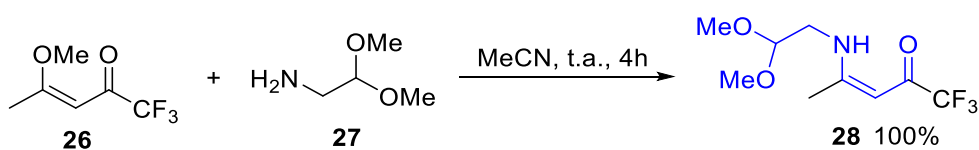
Outra alternativa, foi relada por Dixon e Greenhill que mostrou a conversão da dicetona **19** em um éster vinílico **20** ou um haleto ácido vinílico **21** acelerou a hidrólise, como mostrado na Figura 5a, estabelecendo assim um modelo para a síntese de enaminonas cíclicas.⁸ Com isso em mente, se pode notar que no trabalho de Apraku e Okoro (Figura 5b), aplicou-se tal metodologia, na qual a 5-trifluorometil dicetona **23** foi reagida com um derivado de anilina **24** correspondente para produzir enaminonas.⁶

Figura 5. Alternativas para síntese de enaminonas exemplificadas nos trabalhos de (a) Dixon e Greenhill e (b) Apraku e Okoro.

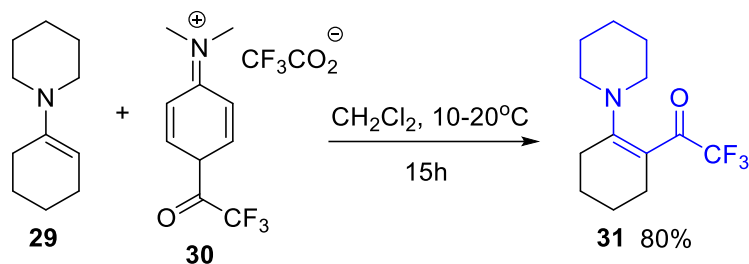


Além dessa metodologia, destaca-se as reações de adição entre aminas e compostos carbonílicos α,β -insaturados, como acetileno-, aleno- ou etileno-carbonílicos. Tanto a adição à ligação tripla como ao aleno fornecem diretamente a enaminona, como por exemplo a aminação das β -enol-fluorocetonas **26** que ocorre quantitativamente (Figura 6).⁹

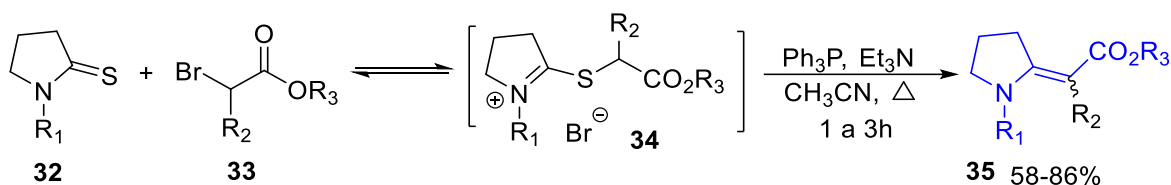
Figura 6. A aminação de β -enol-fluorocetonas.



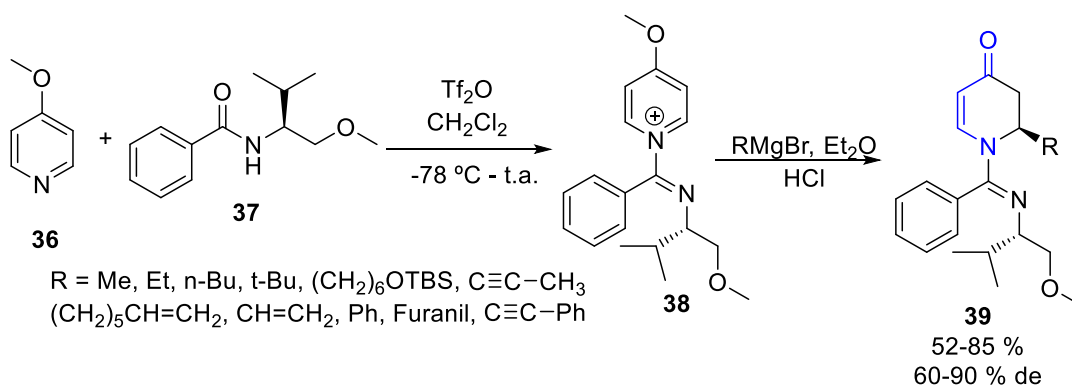
Alternativamente, a construção das enaminonas pode ser efetuada pela condensação entre sistemas carbonílicos e compostos aza-insaturados (nitrilas, iminas, imidas ou seus derivados). Como por exemplo a acetilação de enaminas terciárias que atuam como nucleófilos levando a formação de enamino cetonas. Conforme foi relatado por Simchen e Schmidt, que sintetizaram β -enamino- α' -trifluorocetonas **31** com uso de um trifluoracetato de piridínio **30** (Figura 7).¹⁰

Figura 7. Formação de β -enamino- α' -trifluorocetonas.

Outra possibilidade é a síntese de Eschenmoser para a preparação de enamionas, onde o intermediário chave é um sal de tioimínio cíclico **34**, que por tratamento com trifenilfosfina sofre extrusão de enxofre, dando origem à enamionona **35** (Figura 8).^{7,11}

Figura 8. Síntese de Eschenmoser no preparo das enamionas.

Uma estratégia empregada no desenvolvimento de enamionas cíclicas são reações estereosseletiva. Charette *et al* desenvolveram uma síntese estereosseletiva de enamionas cíclicas enantioenriquecidas como mostrado na Figura 9. A reação ocorreu através da adição nucleofílica de reagentes de Grignard a um sal quiral **38**, obtido da 4-metoxipiridina **36** com a amida **37** ativada pelo anidrido trifílico. As enamionas cíclicas **39** foram formadas com bons rendimentos e diastereosseletividade (52-85% de rendimento, 60-90% *de*).¹²

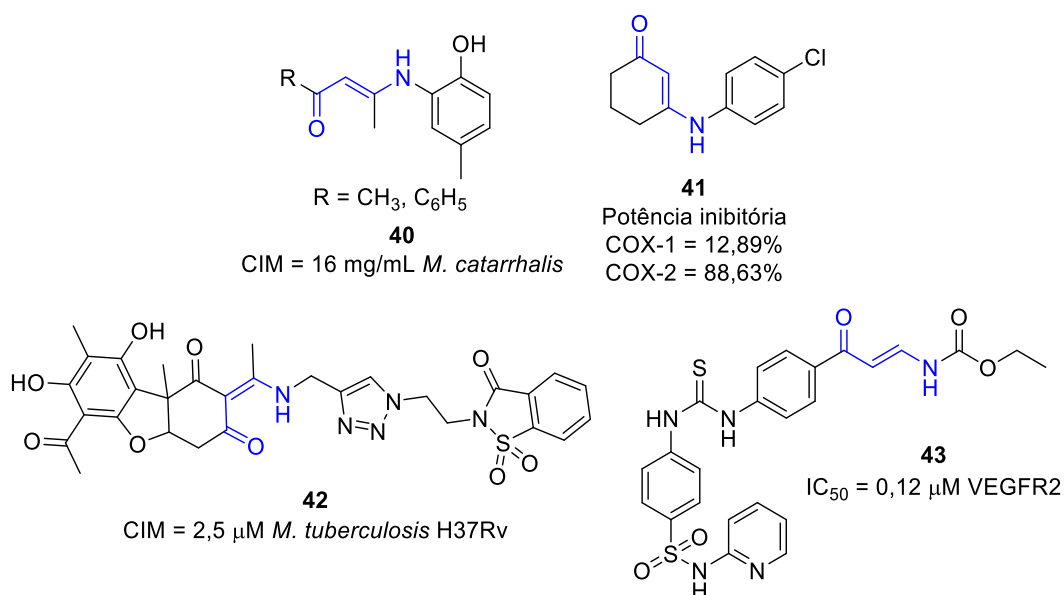
Figura 9. Preparo de enamionas cíclicas por reações estereosseletivas.

Além das metodologias citadas, estudos recentes têm explorado a síntese orgânica eletroquímica,¹³ o uso de irradiação de micro-ondas e o emprego de protocolos baseados em química verde.¹⁴

Os compostos β -enaminocarbonilados podem ser convertidos regio- e estereosseletivamente em uma variedade de substâncias biologicamente ativas como: aminoácidos, alcaloides e peptídeos. Ademais, diversos heterociclos e compostos farmacêuticos também podem ser obtidos.^{15–17}

Como exemplo, as enaminonas e seus análogos foram investigados quanto à atividade antibacteriana e citotóxica por Cindric *et al.*, que exploraram enaminonas acíclicas ligadas a aminofenóis metil substituídos **40** (Figura 10).¹⁸ Em outro trabalho, Knaus *et al.*, usaram uma estratégia de design de fármacos baseada em receptores biológicos para investigar as atividades inibitórias da ciclo-oxigenases (COX-1 e COX-2) de novos análogos de enaminonas cíclicas **41** (Figura 10).^{19,20} Por outro lado, Bangalore *et al.*, descreveram enaminonas de ácido úsnico conjugadas a 1,2,3-triazóis contendo heterociclos **42**. A pesquisa foi focada em otimizar as propriedades antituberculares do ácido úsnico que é um metabólito secundário dos líquens, um produto natural (Figura 10).²¹ As enaminonas também são usadas como espaçadores em hibridização molecular no design de fármacos. Ghorab e colaboradores utilizaram esta metodologia para desenvolver uma nova classe de potenciais agentes anticancerígenos **43** que atuam no receptor 2 do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR2) (Figura 10).²²

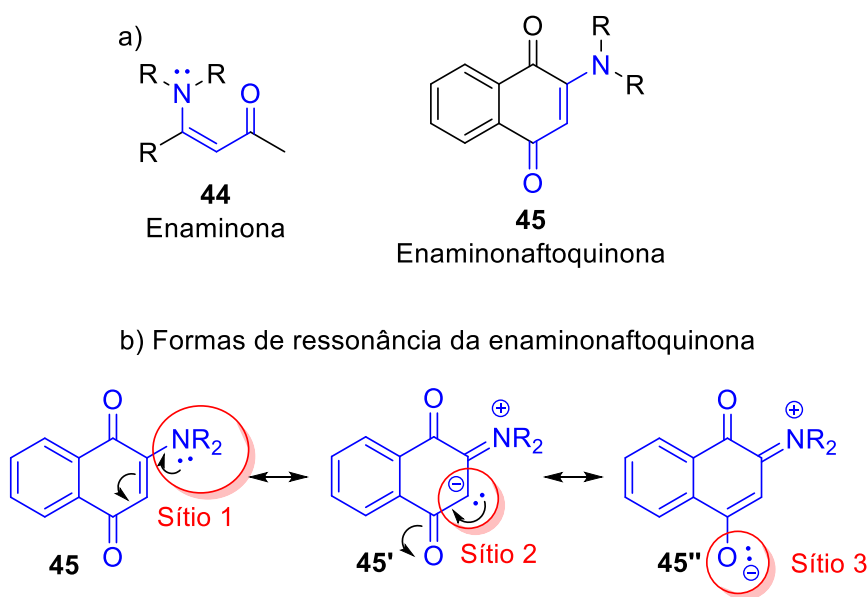
Figura 10. Exemplos de potenciais enaminonas com atividade biológica.



1.2. Enaminonaftoquinonas

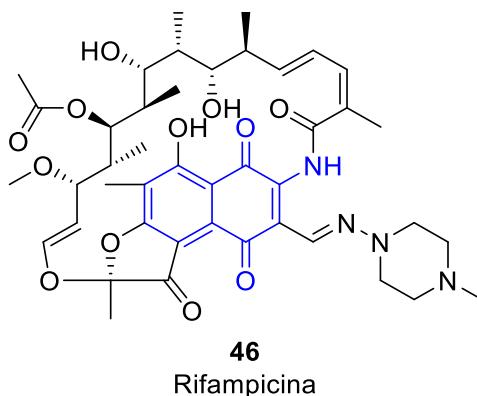
As 2-amino-1,4-naftoquinona ou enaminonaftoquinona **45** se assemelha estruturalmente às enaminonas **44** por possuírem também o sistema conjugado N-C=C-C=O (Figura 11a). Sendo que em relação a reatividade podemos observar que esse derivado naftoquinônico possui três sítios nucleofílicos (Figura 11b).

Figura 11. a) Estrutura da enaminona **40** e da enaminonaftoquinona **41**; b) Estruturas de ressonância da enaminonaftoquinona.



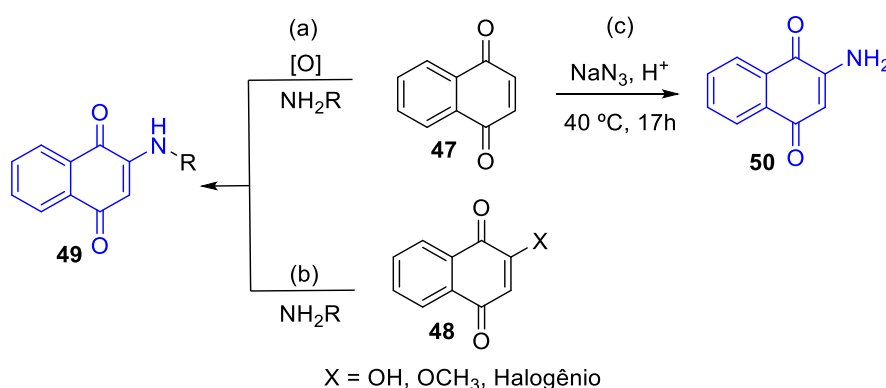
Elas constituem compostos de um amplo interesse biológico devido, entre outros motivos, a sua versatilidade sintética.²³ Ainda nesse aspecto, fazem parte da estrutura de vários compostos naturais, como por exemplo, a rifampicina **46** que possui ação antibiótica (Figura 12).

Figura 12. Estrutura da rifampicina.



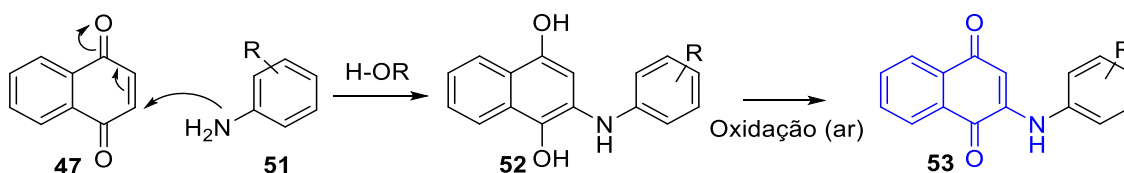
De modo geral, as metodologias empregadas para o preparo desses compostos são: (a) adição oxidativa de uma amina à 1,4-naftoquinona **47**; (b) substituição nucleofílica das 1,4-naftoquinona substituídas **48**, em sua maioria por halogênios, utilizando alquil e arilaminas ou ainda; (c) através da adição do ácido hidrazóico, gerado *in situ* a partir da azida de sódio em meio ácido na 1,4- naftoquinona **47** (Figura 13). Cabe destacar que esse último método é menos utilizado que os demais anteriormente descritos.²⁴⁻²⁷

Figura 13. Metodologias empregadas para obtenção de enamino-naftoquinonas. (a) adição oxidativa; (b) substituição nucleofílica; (c) adição do ácido hidrazóico.



Em geral, o mecanismo proposto para a adição oxidativa pode ocorrer na ausência ou presença de catalisadores metálicos (ácidos de Lewis). No primeiro caso, o mecanismo é iniciado pela adição 1,4 do nucleófilo **51** a 1,4-naftoquinona **47**, resultando no intermediário de diidroquinona **52** (Figura 14). A oxidação de **52** com oxigênio ou com 1,4-naftoquinona restante **47** resulta no produto **53**. Em geral, utiliza-se o meio reacional ácido para facilitar o processo oxidativo.²⁸

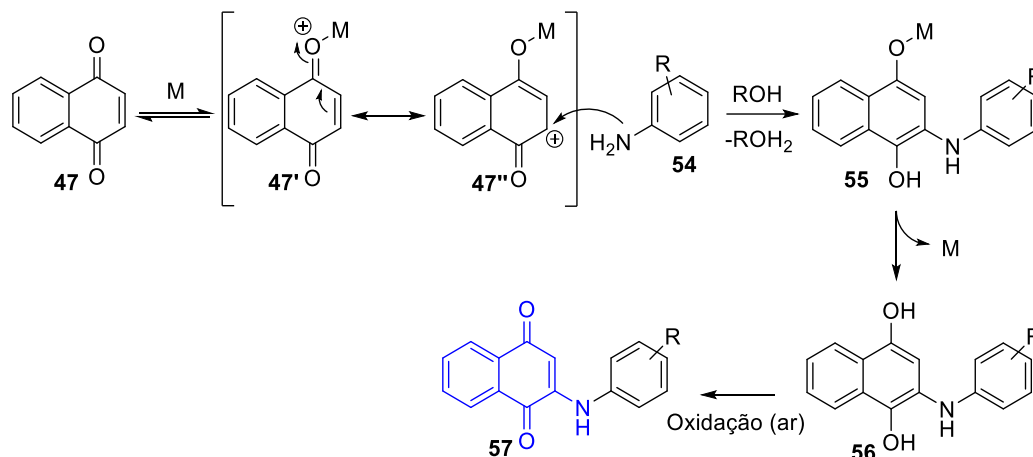
Figura 14. Mecanismo proposto para adição oxidativa em 1,4-naftoquinona sem catalisador.



Enquanto na presença de metais o mecanismo geral inicia-se com o catalisador gerando um complexo **47'** que se reorganiza no isômero **47''** e reage com o nucleófilo **54**. A etapa final é favorecida pela presença de uma pequena quantidade de oxidante

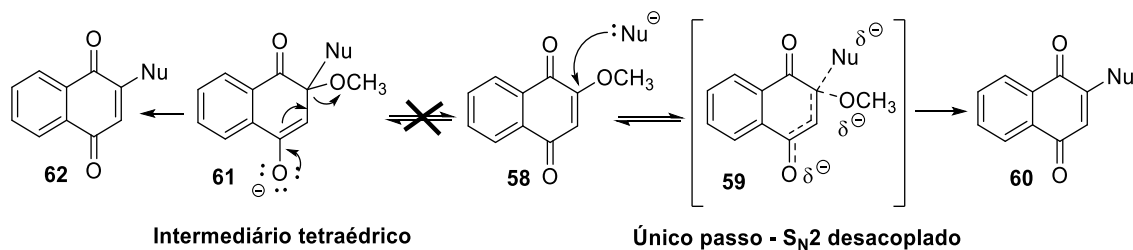
que cria um ambiente favorável em solução, resultando no produto final **57** (Figura 15).²⁸

Figura 15. Mecanismo proposto para adição oxidativa em 1,4-naftoquinona catalisada por metais.



Nas reações de substituição o mecanismo de formação das enaminonaftoquinonas ocorre em um único passo, de forma assíncrona, como descrito pelo nosso grupo de pesquisa.²⁹ Sendo um processo de adição-eliminação ou via um intermediário instável que pode decompor em baixas energias, formando assim o produto substituído **60**. Esse perfil de energia se assemelha a um mecanismo de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) desacoplada, tendo um passo e dois estágios, onde o segundo (quebra da ligação do grupo de saída) ocorre com uma baixa, ou mesmo nenhuma, barreira energética. Dessa forma, os intermediários tetraédricos **61** sugeridos para o mecanismo de adição-eliminação nas reações de substituição, não são estáveis ou se decompõem rapidamente (Figura 16).

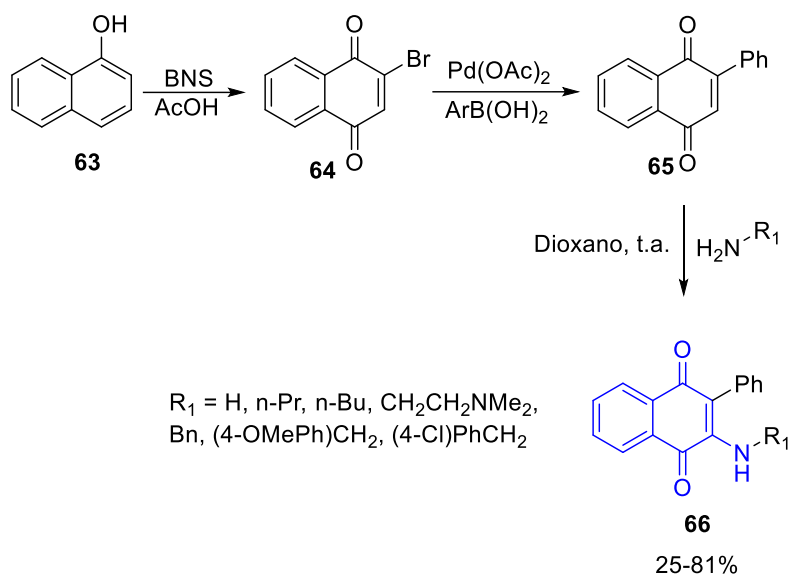
Figura 16. Mecanismo S_N2 desacoplado proposto para formação das enaminonaftoquinonas.



1.2.1. Exemplos de preparação de enaminonaftoquinonas por adição oxidativa

Khodade e colaboradores³⁰ empregaram a adição oxidativa em naftoquinonas para síntese de novas 2-aryl-3-amino-1,4-naftoquinonas **66**. Os compostos foram obtidos em duas etapas a partir da 2-bromo-1,4-naftoquinona **64**, que por sua vez foi preparada a partir do 1-naftol **63** e N-bromosuccinimida (NBS) em ácido acético (Figura 17). Após isso, utilizou-se o acoplamento de Suzuki catalisado por Pd(II) com ácido fenilborônico para obtenção de **65**. Em seguida, a adição das respectivas aminas resultou nos compostos alvo **66** com rendimentos de 25-81%.

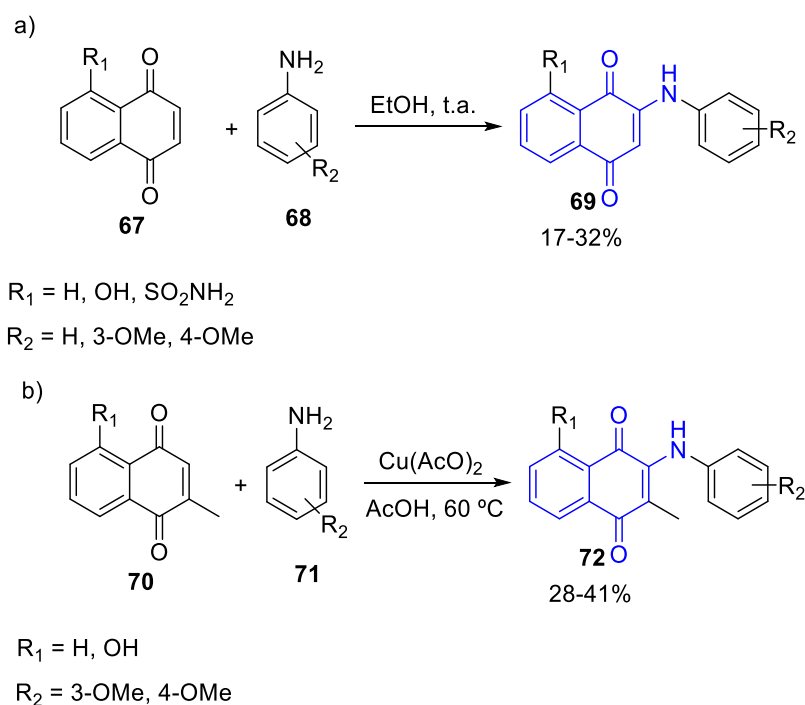
Figura 17. Síntese de novas 2-aryl-3-amino-1,4-naftoquinonas.



Em seguida, comprovaram ainda que a série de derivados das amino-1,4-naftoquinonas **66**, após incubação em pH 7,4 sob condições aeróbicas ambientais, levaram a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) como superóxido e peróxido de hidrogênio. Verificou-se ainda que vários destes compostos induzem danos no DNA na presença de Cu(II) sem qualquer agente redutor adicionado. Vale destacar que os dados sugerem que a capacidade das 2-aryl-3-amino-1,4-naftoquinonas **66** de produzir ROS se correlacionou bem com sua capacidade de induzir danos ao DNA. Por fim, pelos estudos de mecanismo de ação, notou-se dano ao DNA de até 1 μM , sugerindo que esses compostos podem ter relevância terapêutica no combate as linhagens de células cancerígenas que expressam em demasia Cu (II).³⁰

Similarmente, Bhasin e coautores³¹ relataram estudos de relação estrutura-atividade e propriedades anticancerígenas de amino-1,4-naftoquinonas substituídas. Os autores utilizaram duas metodologias diferentes para obtenção das amino-1,4-naftoquinonas. Para síntese de **69** foi realizada a reação de 1,4-naftoquinona ou juglona **67** com anilina ou anisidinas **68** em etanol à temperatura ambiente na ausência de CeCl_3 (Figura 18a). Já a síntese de **72** foi realizada pela reação da naftoquinona **70** e anilina apropriada **71** em ácido acético usando acetato de cobre a 10% como catalisador (Figura 18b). Os autores demonstraram que a adição de acetato de cobre em ácido acético promove prontamente o acoplamento oxidativo de anilinas a naftoquinonas.³¹

Figura 18. Síntese das enamina-naftoquinonas para estudos de relação estrutura-atividade e propriedades anticancerígenas.

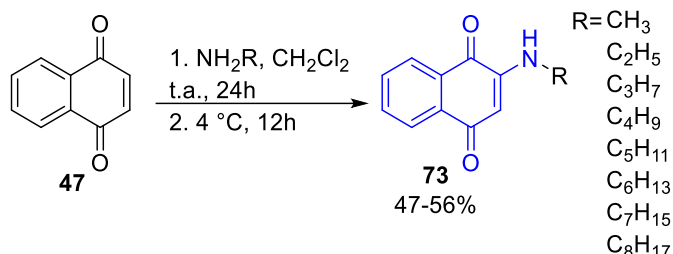


A maioria dos compostos mostraram atividade antiproliferativa melhorada em comparação com as naftoquinonas precursoras nas linhagens celulares de câncer de próstata (DU-145), mama (MDA-MB-231) e cólon (HT-29), com valores de IC_{50} de até $2,22 \mu\text{M}$ em todas as linhagens de células cancerosas.³¹

A adição oxidativa foi utilizada para obter oito compostos da série homóloga da 2-(n-alquilamino)-1,4-naftoquinona **73**, a partir da 1,4-naftoquinona **47** e alquil aminas,

utilizando diclorometano como solvente a temperatura ambiente e em seguida a 4 °C (Figura 19).³²

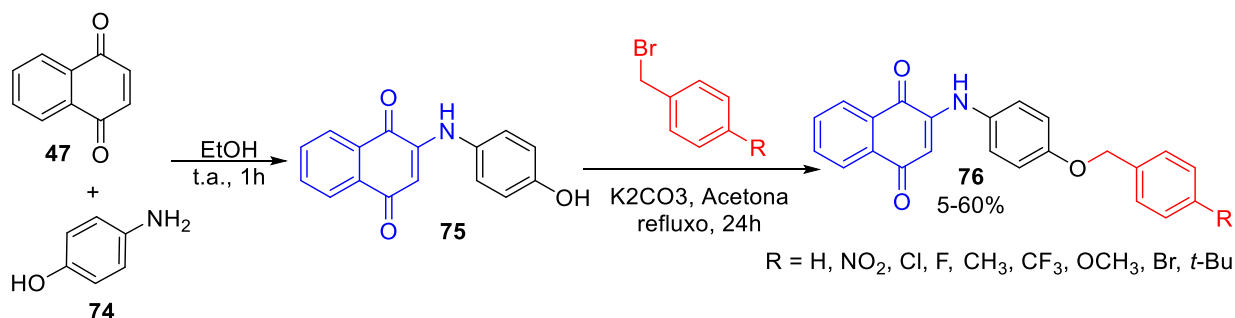
Figura 19. Síntese dos oito primeiros compostos da série homóloga da 2-(n-alquilamino)-1,4-naftoquinona.



A atividade antiproliferativa das 2-(n-alquilamino)-1,4-naftoquinonas **73** foi avaliada contra duas linhagens de células cancerosas: THP1 (leucemia monocítica aguda) e K562 (linha celular de leucemia mielóide humana). Na primeira linhagem (THP1), os compostos contendo etil e propil foram os mais ativos, já na K562, todos os compostos apresentaram resultados moderados.³²

A adição oxidativa mostrou-se útil também no trabalho de Gholampour e colaboradores, que planejaram uma estratégia de hibridização levando a síntese das novas 2-amino-1,4-naftoquinonas contendo a fração oxifenil **76** em duas etapas (Figura 20).³³

Figura 20. Síntese das 2-amino-1,4-naftoquinonas contendo a fração oxifenil.

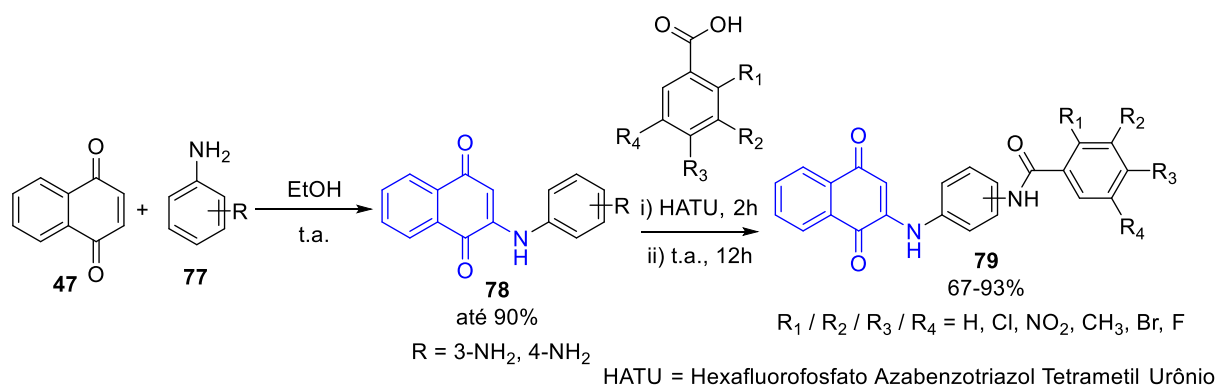


As estruturas **76** foram avaliadas quanto a atividade citotóxica *in vitro* contra três linhagens de células cancerígenas, MCF-7 (adenocarcinoma de mama), HL-60 (leucemia promielocítica aguda) e U937 (linfoma histiocítico). As 2-amino-1,4-naftoquinonas substituídas com NO_2 e Br, apresentaram o melhor resultado contra as

células MCF-7. Com base nos resultados obtidos, os autores ainda investigaram o mecanismo de ação através de estudos de ciclo celular e apoptose. A análise de citometria de fluxo revelou que os compostos com nitro e bromo interromperam o ciclo celular na fase S e potencialmente induziram apoptose em células MCF-7.³³

Recentemente, Qin e coautores realizaram o acoplamento de dois farmacóforos distintos, 1,4-naftoquinona **47** e ácido benzoico, dotados de diferentes propriedades biológicas, obtendo-se vinte e dois híbridos enaminonaftoquinônicos **79** (Figura 21). Os compostos foram obtidos com rendimentos variando de 67 a 93%, após duas etapas.³⁴

Figura 21. Acoplamento de dois fármacos na Síntese das enaminonaftoquinonas.

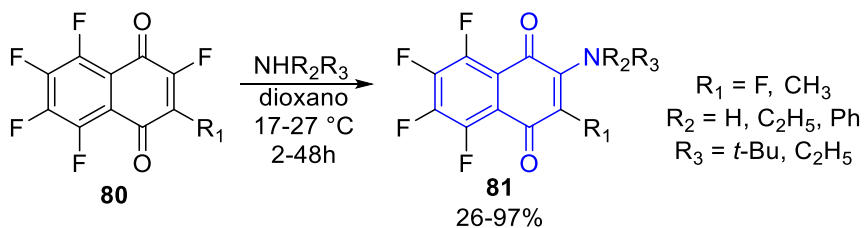


Os compostos **79** demonstraram potentes atividades inibitórias contra células Bel-7402 (câncer de fígado humano), com IC₅₀ de até 8,6 µM. Os estudos de SAR revelaram que os substituintes nos ácidos benzoicos desempenharam um papel crucial na determinação da citotoxicidade dos híbridos. Ademais, estudos de ancoragem molecular mostraram que o híbrido pode interagir com a quinase Topoisomerase-II e Bcr-Abl.³⁴

1.2.2. Exemplos de preparação de enaminonaftoquinonas por substituição nucleofílica

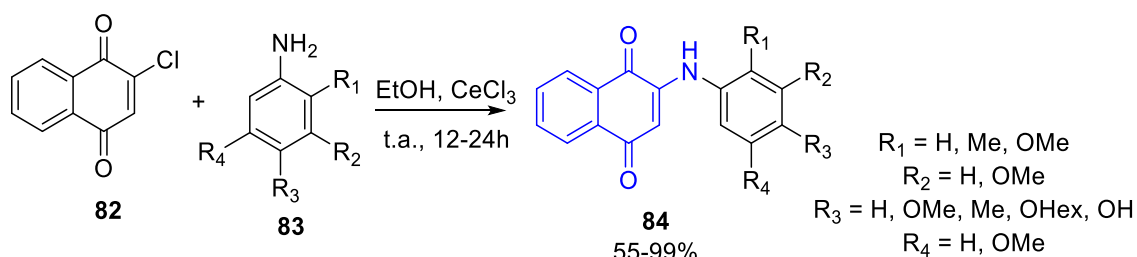
Os derivados fluorados da 1,4-naftoquinona foram estudados por Zakharova e seu grupo de pesquisa. Foram sintetizados cinco novos polifluorados N-substituídos de 2-amino-1,4-naftoquinona **81** por uma reação de substituição nucleofílica no átomo de flúor do carbono 2 (Figura 22).³⁵

Figura 22. Síntese de novos polifluorados N-substituídos de 2-amino-1,4-naftoquinona.



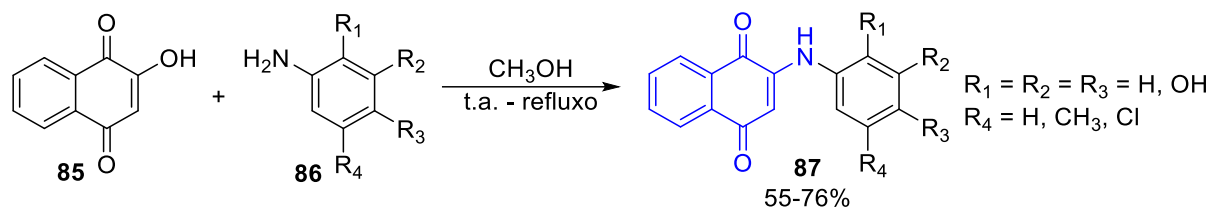
Após a síntese as estruturas **81** foram analisadas quanto a citotoxicidade em duas linhagens de células de câncer: RPMI 8226 (mieloma humano) e MCF-7 (adenocarcinoma mamário humano). Os resultados mostraram que 2-etilamino-3,5,6,7,8-pentafluoro-1,4-naftoquinona ($\text{R}_2 = \text{H}$ e $\text{R}_3 = \text{C}_2\text{H}_5$) e 2-fenilamino-3,5,6,7,8-pentafluoro-1,4-naftoquinona ($\text{R}_2 = \text{H}$ e $\text{R}_3 = \text{Ph}$) apresentaram os melhores potenciais, exercendo um efeito citotóxico mais forte contra as células cancerosas.³⁵ Sieveking e colaboradores também lançaram mão da substituição nucleofílica para sintetizar uma série de novas 2-aminonaftoquinonas, onde o aceitador quinônico **82** foi substituído por vários derivados de anilina **83**, empregando como catalisador o cloreto de cério III (CeCl_3), como ácido de Lewis. Os produtos **84** foram obtidos com rendimentos que variaram de 55 a 99% (Figura 23).³⁶

Figura 23. Síntese de novas 2-aminonaftoquinonas.



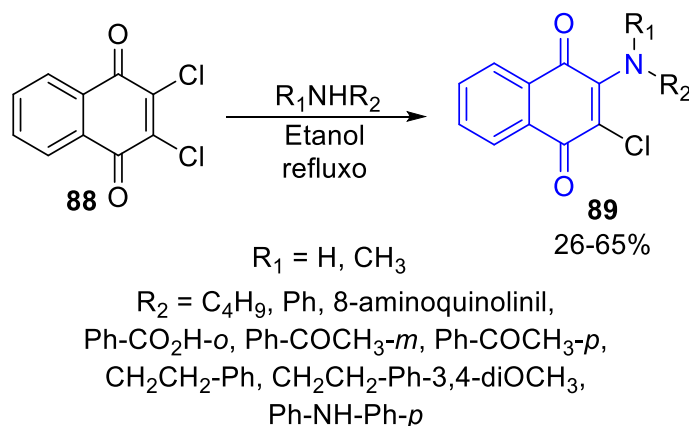
Os autores avaliaram a atividade citotóxica *in vitro* contra duas linhagens de câncer: câncer de mama independente de hormônio e responsiva a hormônio (MDA-MB231 e MCF-7) e câncer de próstata (PC-3), mostrando um excelente índice de seletividade da citotoxicidade.³⁶

Em 2014, foi relatada uma reação entre dois agentes biorredutores a 2-hidroxi-1,4-naftoquinona **85** e derivados do 2-aminofenol **86** sem uso de catalisador, utilizando metanol como solvente. Os rendimentos dos cinco produtos formados variaram de 55 a 76% (Figura 24).³⁷

Figura 24. Síntese de 2-aminonaftoquinonas sem uso de catalisador.

As propriedades antiproliferativas das estruturas formadas foram avaliadas contra dois tipos de linhagens de câncer: THP1 (células de leucemia monocítica humana) e COLO205 (adenocarcinoma colorretal). Os valores de concentração inibitória para inibir 50% do crescimento (IC_{50}) obtidos apontaram melhores resultados na linhagem COLO205.³⁷

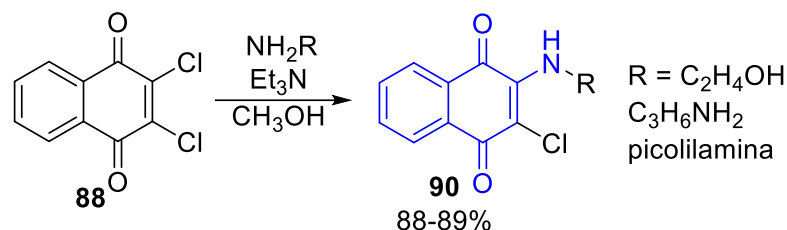
Prachayasittikul e colaboradores, também relataram a síntese de enaminonaftoquinonas sem necessidade do uso de catalisador. Foi formado uma série de derivados da 2-amino-3-cloro-1,4-naftoquinona **89** com rendimentos de 26 a 65% (Figura 25).³⁸

Figura 25. Síntese de derivados da 2-amino-3-cloro-1,4-naftoquinona.

As estruturas sintetizadas **89** foram testadas contra quatro linhagens de células cancerígenas, incluindo: HepG2 (Carcinoma hepatocelular), HuCCA-1 (colangiocarcinoma), A549 (carcinoma de pulmão) e MOLT-3 (leucemia linfoblástica). A atividade citotóxica mais potente contra as três primeiras linhagens foi observada na *m*-acetilfenilamino-1,4-naftoquinona ($\text{R}_1 = \text{H}$ e $\text{R}_2 = \text{Ph-COCH}_3\text{-}m$) e para MOLT-3 se destaca a *p*-acetilfenilamino-1,4-naftoquinona ($\text{R}_1 = \text{H}$ e $\text{R}_2 = \text{Ph-COCH}_3\text{-}p$).³⁸

Delarmelina e coautores, sintetizaram três enaminonaftoquinonas a partir da 2,3-dicloro-1,4-naftoquinona **88** com aminas comerciais, utilizando metanol como solvente. Os produtos **90** foram obtidos com bons rendimentos (Figura 26).³⁹

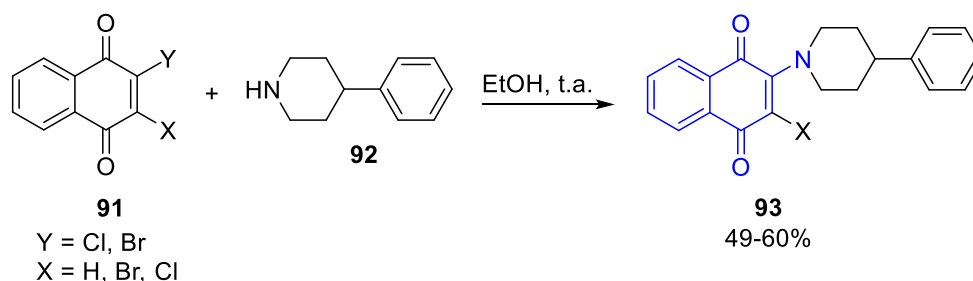
Figura 26. Enaminonaftoquinonas obtidas a partir da 2,3-dicloro-1,4-naftoquinona.



Esses derivados 2,3-(substituídos)-1,4-naftoquinonas **90** foram avaliados quanto aos seus efeitos citotóxicos em três linhagens de células de câncer: H460 (pulmão humano), MDA-MB-231 (triplo negativo de mama) e A2780 (ovário). Dentre as três estruturas o melhor resultado para todas as linhagens foi a enaminonaftoquinona obtida a partir do aminoetanol.³⁹

Em 2020, Espinosa-Bustos e *et al* reportaram três derivados de 2-arilpiperidinil-1,4-naftoquinona **93** sintetizados e avaliados *in vitro* para determinar sua citotoxicidade em linhagens de células cancerígenas. A síntese dos novos compostos 2-arilpiperidinil-1,4-naftoquinona **93** foi realizada em uma única etapa mostrada na Figura 27. Os autores reagiram diferentes haloquinonas **91** e fenilpiperidina **92** à temperatura ambiente usando etanol como solvente, para formar **93** com rendimentos de 49-60% (Figura 27).⁴⁰

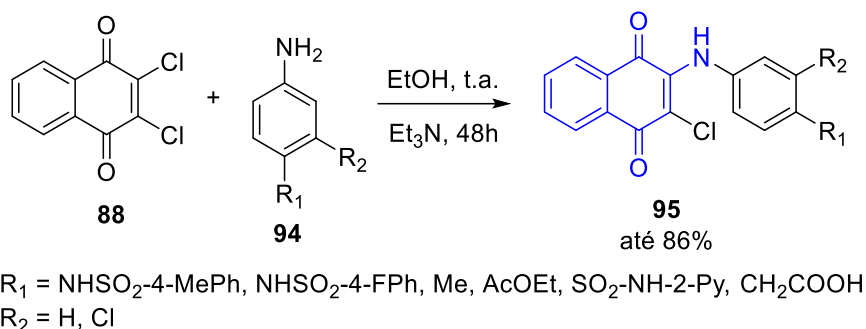
Figura 27. Síntese de novas 2-arilpiperidinil-1,4-naftoquinona.



Recentemente, Morris e colaboradores estudaram a importância da sulfonamida na atividade inibitória da sinalização da via Wnt/ β -catenina. Dessa maneira, foram sintetizadas as enaminonaftoquinonas **95**, por meio da reação entre a 2,3-dicloro-1,4-

naftoquinona **88** com as respectivas arilaminas substituídas **94** na presença de trietilamina (Et_3N) em etanol por 48 h, resultando em rendimentos de até 86% (Figura 28).⁴¹

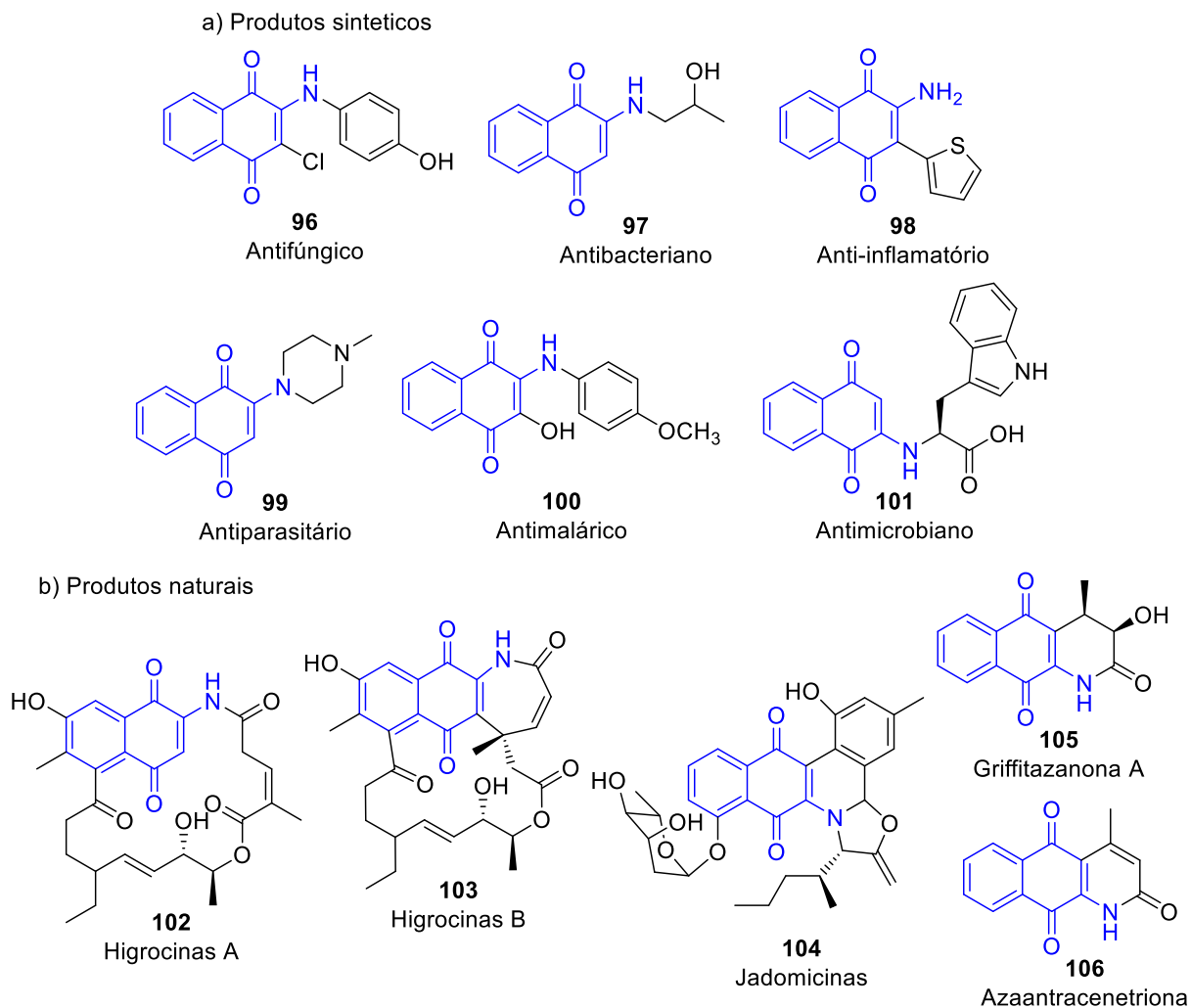
Figura 28. Síntese das enaminonaftoquinonas com sulfonamida.



Os dados do trabalho sugeriram que os compostos **95** podem inibir potentemente a via de sinalização Wnt/ β -catenina através da inibição da interação TCF4/DNA. Os autores destacaram que os compostos inibiram a sinalização Wnt (dependendo da dose aplicada) em todas as três linhagens celulares com vias Wnt/ β -catenina ativadas de forma anômala, testadas com valores de IC_{50} μM baixos. Curiosamente, os mais ativos dos análogos foram os compostos derivados de sulfonamida, indicando que esse grupo pode desempenhar um papel importante na atividade observada.⁴¹

Como mostrado, no cenário de busca por novos fármacos anticâncer, a construção das enaminonaftoquinonas se faz pertinente, pois a introdução de um grupo vicinal oxidável, como aminas substituídas, ao núcleo quinônico pode influenciar as propriedades redox do núcleo 2-amino-1,4-naftoquinona. Dessa forma, o átomo de nitrogênio permite a modulação dos efeitos dos substituintes sobre as propriedades eletrônicas da quinona. Essas modificações químicas na porção 1,4-naftoquinona aumentam o efeito citotóxico do possível fármaco, induzindo estresse oxidativo nas células e alquilação do DNA.^{36,42–45} Além da atividade anticâncer as enaminonaftoquinonas também podem ser aplicadas como: antifúngico **96**,⁴⁶ antibacteriano **97**,⁴⁷ anti-inflamatório **98**,⁴⁸ antiparasitário **99**,⁴⁹ antimalárico **100**,⁵⁰ e antimicrobiano **101**⁵¹ (Figura 29a) e antibióticos de produtos naturais **102-106** (Figura 29b).²⁷

Figura 29. Estruturas derivadas das enamino-naftoquinonas: a) produtos sintéticos; b) produtos naturais.

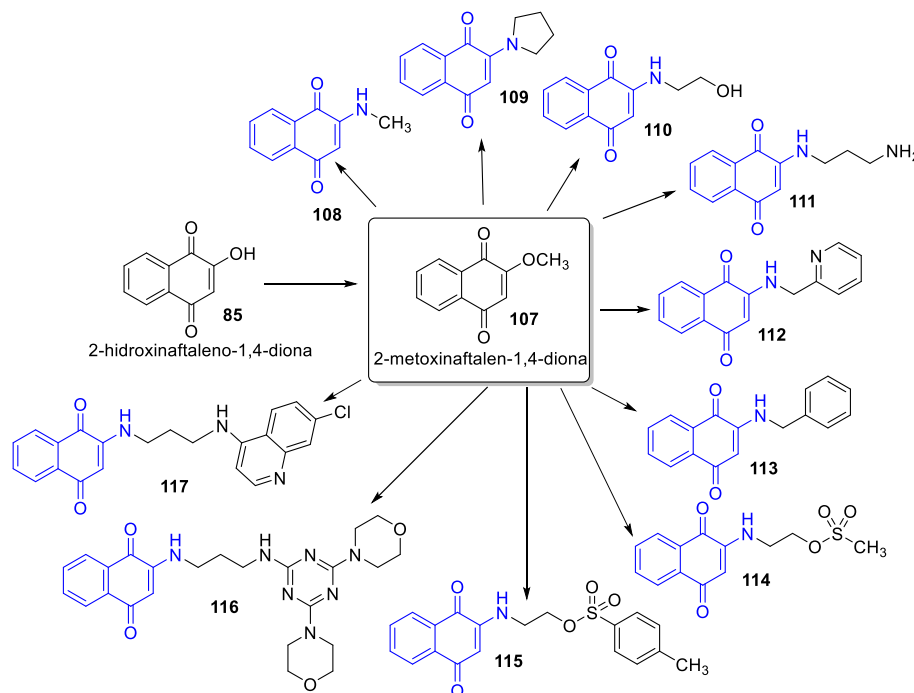


Diante desses fatos, nota-se que a modelagem estrutural de compostos provenientes da 1,4-naftoquinona torna-se atrativa e de suma importância, no sentido de buscar novos fármacos, além da melhor eficácia e menor toxicidade para tratamento do câncer.

2 OBJETIVOS

- Sintetizar as enaminonaftoquinonas **108-117** a partir da 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**, que por sua vez foi obtida da 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85** (Figura 30).

Figura 30. Estruturas das enaminonaftoquinonas **108-117** sintetizadas.



- Avaliar a atividade antiproliferativa contra quatro tipos de linhagens celulares de câncer humano HCT116 (Carcinoma de cólon humano), PC3 (Carcinoma de próstata), HL60 (Leucemia promielocítica) e SNB19 (Astrocitoma) por MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo) em parceria com o Laboratório Oncologia Experimental – Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará junto a Professora Dra. Cláudia do Ó Pessoa.
- Analisar a Relação Quantitativa Estrutura-Atividade (QSAR) a fim de identificar descritores moleculares que possam indicar características importantes para sua atividade anticancerígena em parceria com o Laboratório Multiusuário de Química Computacional e Laboratório de Modelagem Molecular e Espectroscopia Computacional junto aos Profs. Drs. Rodolfo Goetze Fiorot e José Walkimar de Mesquita Carneiro.
- Investigar por ancoragem molecular os possíveis modos de ação anticancerígena das enaminonaftoquinonas **108-117** com as enzimas topoisomerase-II e timidilato sintase em parceria com a Prof. Dra. Anne Caroline Cândido Gomes da Faculdade de Farmácia do Instituto Federal do Rio de Janeiro.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais

Os reagentes utilizados neste trabalho foram: 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona (Sigma-Aldrich, 97%), ácido clorídrico (Alphatec, 37%), cloridrato de metilamina (Aldrich), trietilamina (Vetec, 99%), pirrolidina (Aldrich, 99%), 2-aminoetan-1-ol (Vetec, 99%), 1,3-diaminopropano (Aldrich, 99%), picolilamina (Sigma-Aldrich, 99%), cloreto de metanossulfonila (Aldrich, 99%), hidróxido de sódio (Reagen, 97%), cloreto de 4-metilbenzenossulfonila (TCL, 99%), 4,7-dicloroquinolina (Aldrich, 97%). Os reagentes foram utilizados sem purificação prévia, exceto trietilamina, 2-aminoetan-1-ol e 1,3-diaminopropano, que foram destilados e após tratamento guardados em frasco âmbar selados com filme de parafina e conservados com resfriamento.

Os solventes utilizados foram: metanol p.a. (Vetec, 99,9%), etanol p.a. (Vetec, 99,8%), acetato de etila p.a. (Vetec, 99,5%) e água destilada.

3.2. Métodos

3.2.1. Pontos de fusão

As determinações de ponto de fusão dos materiais de partida, intermediários e produtos foram realizadas no equipamento digital Fisatom 430D.

3.2.2. Cromatografia em camada fina (CCF)

As análises de cromatografia em camada fina foram realizadas utilizando cromatofolhas de alumínio recobertas com sílica gel UV 254 (250 µm, 20x20 cm). As amostras foram diluídas em um solvente adequado e aplicadas sobre a placa com auxílio de um capilar de vidro. Sua revelação foi efetuada com exposição à luz ultravioleta e/ou com uso de solução ácida de 2,4-dinitrofenil-hidrazina ou solução ácida de vanilina sob aquecimento.

3.2.3. Espectroscopia de Infravermelho

Os espectros de infravermelho foram obtidos em diferentes equipamentos o espectroscópio Perkin Elmer Spectrum 400 e o Agilent Cary 630 FTIR Spectrometer. Ambos utilizando como parâmetros 16 scans (varreduras) e resolução de comprimento de 4 cm⁻¹, em modo de Refletância Total Atenuada (ATR) com cristal

horizontal de seleneto de zinco (ZnSe). Todas as análises foram executadas em um intervalo de comprimento de onda de 4000 a 600 cm^{-1} .

3.2.4. Ressonância Magnética Nuclear ^1H e ^{13}C

Os espectros de RMN de hidrogênio e carbono dos materiais de partida, intermediários e produtos foram obtidos no espectrômetro Varian de 400 MHz com sonda Broadband $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ de 5 mm. Os deslocamentos químicos (δ) foram reportados em partes por milhão (ppm) referentes ao sinal do próprio solvente.

3.2.5. Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução

Os compostos foram preparados em solução apropriada contendo 0,1 % m/v de hidróxido de amônio (NH_4OH) por ionização por eletronebulização (ESI) no modo negativo, ESI(-), e 0,1 % m/v de ácido fórmico por ESI no modo positivo, ESI(+). Foi utilizado taxa de fluxo de 5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ para a fonte de ESI. O espectrômetro de massa (modelo 9.4T Solarix, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) foi configurado para faixa de m/z 200-2000. As condições da fonte de ESI utilizadas foram: pressão do gás nebulizador de 3 bar, voltagem capilar de 3-4,1 kV, temperatura de transferência capilar de 250 °C. Os espectros de massas por Ionização por eletronebulização com Transformada de Fourier por Ressonância Ciclotrônica de Íons (ESI-FT-ICR-MS) foram adquiridos pela acumulação de 64 varreduras de sinais no NCQP-UFES. Todos os espectros de massas foram calibrados externamente utilizando trifluoroacetato de sódio (NaTFA) (m/z de 200 a 2000). Os espectros de massa foram adquiridos e processados usando o software Data Analysis (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

3.2.6. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os cromatogramas foram obtidos em um equipamento Agilent 1260 Infinity com bomba quaternária G1311C, acoplada a um detector de arranjo de diodos UV-Vis (DAD), modelo G4212B. Com sistema analítico de fase reversa: Fase reversa – Phenomenex Gemini C18 (4,6 x 250 mm 5 μm). Para a análise, aproximadamente 1,0 mg da amostra foi solubilizado em 1,0 mL de solvente orgânico, com injeção de 10 μL . A fase móvel foi composta por H_2O (A) e solvente orgânico adequado (B), com vazão de 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, com gradiente inicial de eluição de 10% B a 100%, por 60 min. Para o composto **116** o solvente orgânico utilizado foi acetonitrila e para **117** metanol.

3.2.7. Ensaio de citotoxicidade *in vitro*

Os ensaios biológicos foram realizados em parceria com o Laboratório Oncologia Experimental – Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará junto a Professora Dra. Cláudia do Ó Pessoa. Para o ensaio de citotoxicidade *in vitro* foram usadas as linhagens tumorais SNB-19 (astrocitoma), HCT-116 (carcinoma de cólon humano), PC3 (carcinoma de próstata) e HL60 (leucemia promielocítica), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), sendo cultivadas em meio RPMI 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidos em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂. As amostras de híbridos moleculares foram pesadas e diluídas em DMSO até concentrações de estoque finais de 40 mM. A análise de citotoxicidade foi realizada pelo método MTT, as células foram plaqueadas nas concentrações de $0,7 \times 10^5$ células/mL (HCT-116), $0,1 \times 10^6$ células/mL (SNB19 e PC3) e $0,3 \times 10^6$ células/mL (HL60). As amostras foram testadas após diluição seriada em concentrações de 0,20 a 200 µM, em duplicata em três experimentos diferentes, a partir dessas soluções, diluições seriadas foram realizadas até obter uma concentração mínima de 0,20 µM para avaliação da média da concentração inibitória (IC₅₀%). As placas foram incubadas por 72h em estufa a 5% CO₂ a 37 °C. Ao final disso, as placas foram centrifugadas e o sobrenadante foi removido. Em seguida, foram adicionados 100 µL da solução de MTT (sal de tetrazólio) e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após a dissolução do precipitado com 100 µL de DMSO puro em um espectrofotômetro de placas, no comprimento de onda de 595 nm. Os experimentos foram analisados por regressão linear utilizando o programa GraphPad Prism, versão 6.01.

3.2.8. Citometria de fluxo

Para os ensaios de citometria de fluxo a linhagem tumoral utilizada foi a HCT-116 (carcinoma de cólon humano), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivada em meio RPMI 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidos em forno a 37 °C e uma atmosfera contendo 5% de CO₂. Os compostos **112** e **117** foram pesados e diluídos em DMSO para concentrações de estoque finais de 40 mM. As células foram semeadas na concentração de 4×10^4 células por poço em placas de 24 poços, mantidas em incubadora a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂ por 24h. No dia seguinte, o crescimento das células foi

sincronizado mudando o meio para RPMI 1640 sem soro fetal bovino, e elas foram incubadas por 24h. Em seguida, as células foram tratadas com os compostos **112** e **117** nas concentrações de 5, 10 e 20 μM por 24 horas, diluídos em meio RPMI adicionado de 10% de soro fetal bovino. 5-fluorouracil (5-FU) foi usado como controle positivo na concentração de 5 μM . O controle positivo é uma substância anticancerígena, classificada como antimetabólito, utilizada clinicamente em diversos protocolos de tratamento quimioterápico, incluindo mama, estômago, colo do útero, câncer colorretal, entre outros.⁵²

Após o tratamento, as células foram colhidas por tripsinização suave e centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos. O tratamento foi realizado com solução de lise contendo surfactante não iônico a 1% (Triton® x100 – Bio-Rad), 10% iodeto de propídio 50 $\mu\text{g/mL}$ e 0,25% de RNase. As células foram analisadas por citometria de fluxo no equipamento Easycyte System (Guava Technologies Inc.). Dez mil eventos foram coletados por amostra, com detritos sendo excluídos da análise. O software ModFit LT (Verity Software House, Inc., Topsham, ME) foi usado para determinar as porcentagens de células nas respectivas fases do ciclo celular.

Os experimentos foram analisados com o programa GraphPad Prism, versão 6.01, com a obtenção das médias e desvios padrão. A comparação com o controle negativo foi realizada por ANOVA ($P < 0,05$) seguida do teste de Bonferroni.

3.2.9. Métodos computacionais

Os métodos computacionais foram realizados em parceria com o Laboratório Multiusuário de Química Computacional e Laboratório de Modelagem Molecular e Espectroscopia Computacional junto aos Professores Drs. Rodolfo Goetze Fiorot e José Walkimar de Mesquita Carneiro. Antes de prosseguir para as avaliações de QSAR e ancoragem molecular, foi realizada uma busca conformacional randomizada para cada estrutura das enaminonaftoquinonas (**108-117**), bem como para as drogas de controle (doxorrubicina e 5-fluorouracil) usando o Método Monte Carlo (algoritmo de Metropolis) com o Campo de Força Molecular Merck (MMFF, do inglês *Merck Molecular Force Field*) no software Spartan'10.⁵³ O confômero de menor energia obtido para cada composto foi totalmente otimizado com o método semiempírico AM1⁵⁴ no software MOPAC⁵⁵ usando as palavras-chave GNORM=0,01 VECTORS BONDS PI POLAR PRECISE ENPART EF. Para caracterizar essas estruturas como pontos de energia mínima na superfície de energia potencial, realizamos o cálculo de

frequências vibracionais com as palavras-chave FORCE PRECISE THERMO ROT=1, em que todos os modos normais calculados são positivos.

3.2.10. Relação Quantitativa Estrutura-Atividade (QSAR, do inglês *Quantitative Structure–Activity Relationship*)

O desenvolvimento dos modelos QSAR foram realizados no software CODESSA (*COMprehensive DESCriptors for Structures and Statistical Analysis*).⁵⁶ As palavras-chave utilizadas na otimização e cálculo das frequências vibracionais são importantes para gerar os descritores topológicos, estruturais, eletrônicos e termodinâmicos utilizados pela CODESSA na análise estatística. Os valores de resposta biológica usados para estabelecer a correlação entre a atividade anticâncer calculada e experimental, originalmente dada em IC₅₀ (em µM), foram convertidos em pIC₅₀, ou seja, $-\log_{10}(\text{IC}_{50})$. Isso permite o tratamento adequado dos dados, pois a natureza dos valores de potência é logarítmica. Para a análise estatística, empregamos os seguintes parâmetros pelo método Heurístico: número máximo de descritores por modelo, 1; critério de significância do parâmetro, 0,01; nível de alta correlação, 0,99; nível de significância de intercorrelação, 0,8.

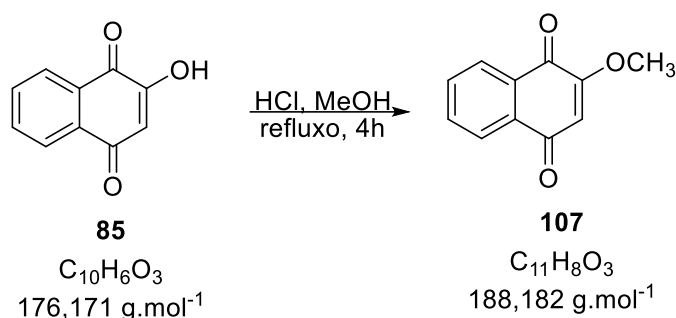
3.2.11. Ancoragem molecular

Os cálculos de ancoragem molecular foram realizados em parceria com a Prof. Dra. Anne Caroline Cândido Gomes da Faculdade de Farmácia do Instituto Federal do Rio de Janeiro, usando o software AutoDock Vina⁵⁷ para avaliar a interação do sítio de clivagem de DNA da topoisomerase-II (PDB ID: 3QX3⁵⁸) e timidilato sintase (PDB ID: 6QXG⁵⁹) com enaminonaftoquinonas **108-117**. As estruturas da naftoquinona tiveram seus estados de protonação ajustados ao pH plasmático (7,4) no MarvinSketch.⁶⁰ Apenas os átomos de hidrogênio polar do receptor e das estruturas foram considerados para as simulações de ancoragem molecular. O espaço de varredura (*Grid Box*) para as simulações de ancoragem foi estabelecido com base nas coordenadas do ligante cristalográfico para cada receptor: etoposídeo para topoisomerase-II (coordenadas cartesianas x; y; z de 32,884, 95,413, 51,224 e dimensões de 15 Å; 11 Å; e 10 Å, respectivamente) e 5-fluoro-2'-desoxiuridina-5'-monofosfato para timidilato sintase (coordenadas cartesianas x; y; z de 40,352, -33,337, 19,767 e dimensões de 13 Å; 10 Å; e 10 Å, respectivamente). Validamos o protocolo de encaixe sobrepondo a pose encaixada e a estrutura de ligação

cocristalizada de etoposídeo e 5-fluoro-2'-desoxiuridina-5'-monofosfato no local de ligação de cada enzima alvo.⁵⁷ O software Discovery Studio Visualizer 2019⁶¹ foi usado em a fim de avaliar as interações estabelecidas entre os ligantes e os resíduos de aminoácidos a partir dos cálculos de ancoragem.

3.3. Procedimentos Experimentais

3.3.1. Preparação do composto 2-metoxinaftalen-1,4-diona



A 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85** (1.000 mg, 5,7 mmol) foi dissolvida em metanol absoluto (50 mL) contendo ácido clorídrico concentrado (0,8 mL). A mistura reacional foi mantida sob refluxo por 4h. Em seguida, deixou-se atingir a temperatura ambiente e o sólido obtido **107** foi filtrado, recristalizado em etanol a quente para obter o produto como um sólido amarelo claro (rendimento 90%) com intervalo de fusão 179-180 °C.

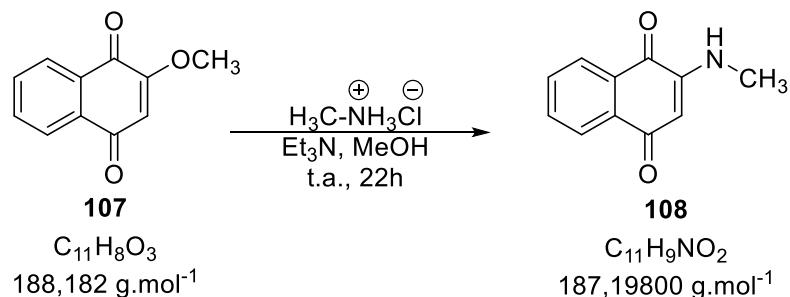
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3055, 2997, 2850, 1679, 1640, 1605, 1241.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 8,12 (ddd, $J = 18,3$; 7,1 e 1,6 Hz, 2H, H3 e H6); 7,74 (2 td, $J = 7,1$ e 1,6 Hz, 2H, H1 e H2); 6,19 (s, 1H, H8); 3,92 (s, 3H, H14).

RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ ppm: 184,8; 180,1; 160,4; 134,3; 133,3; 132,0; 131,0; 126,7; 126,2; 109,9; 56,4.

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{O}_6 + \text{Na}]^+$ exp = 399,08382 m/z , cal = 399,08391 m/z (erro = 0,23 ppm).

3.3.2. Preparação do composto 2-(metilamino)naftalen-1,4-diona



O cloridrato de metilamina (0,0675 g, 1 mmol) foi agitado por 1h com trietilamina (278 μL , 2,0 mmol) em metanol (10 mL). Posteriormente, foram adicionadas a trietilamina (84 μL , 0,6 mmol) e 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** (0,0941 g, 0,5 mmol), e a reação mantida sob agitação a temperatura ambiente por 22h. O sólido formado foi filtrado e lavado com água e 5 mL de metanol gelados para obter o produto **108** como um sólido vermelho (rendimento 43%) com intervalo de fusão 240-241 °C.

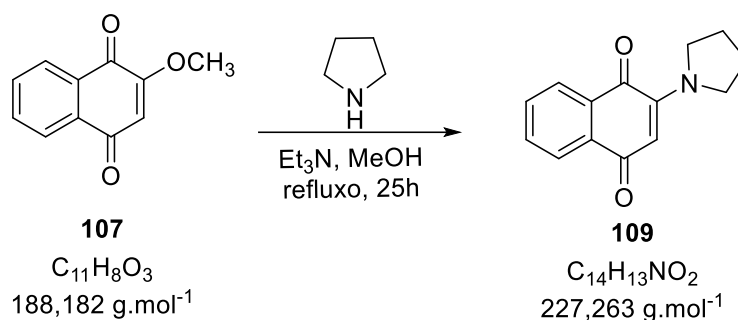
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹, ATR): 3337, 3063, 2948, 1677, 1601, 1495.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8,11 (ddd, $J = 7,6$; 1,3 e 0,4 Hz, 1H, H3 ou H6); 8,04 (ddd, $J = 7,6$; 1,3 e 0,4 Hz, 1H, H6 ou H3); 7,72 (td, $J = 7,6$ e 1,5 Hz, 1H, H1 ou H2); 7,61 (td, $J = 7,6$; 1,5 Hz, 1H, H2 ou H1); 5,94 (s alargado, 1H, H13); 5,72 (s, 1H, H8); 2,93 (d, $J = 5,5$ Hz, 3H, H14).

RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ ppm: 182,8; 181,8; 148,9; 134,7; 133,7; 131,9; 130,4; 126,2; 100,6; 29,1.

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{N}_2 + \text{Na}]^+$ exp = 397,11588 m/z , cal = 397,11588 m/z (erro = 0,00 ppm).

3.3.3. Preparação do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona



Uma suspensão da 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** (0,0941 g, 0,5 mmol) em metanol (10 mL) foi agitada com pirrolidina (82 μL , 1,0 mmol) e trietilamina (84 μL , 0,6 mmol) sob refluxo por 25h. Ao final da reação, a solução foi resfriada e o sólido formado foi filtrado e lavado com água e metanol gelados para obter o produto **109** como um sólido vermelho (rendimento 61%) com intervalo de fusão 160-161 °C.

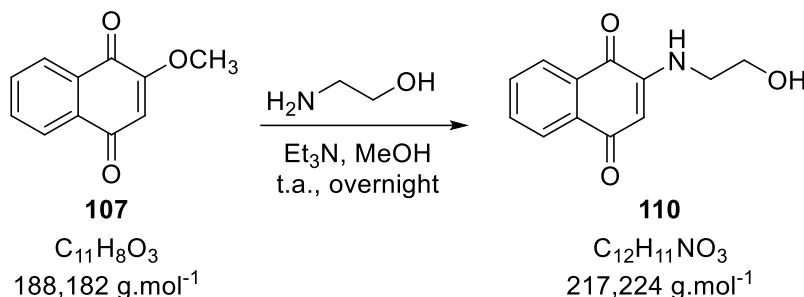
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 2959, 2869, 1672, 1614, 1261.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 8,06 (dd, $J = 7,6$ e $1,0$ Hz, 1H, H3 ou H6); 8,01 (dd, $J = 7,6$ e $1,0$ Hz, 1H, H6 ou H3); 7,69 (td, $J = 7,5$ e $1,3$ Hz, 1H, H1 ou H2); 7,60 (td, $J = 7,5$ e $1,3$ Hz, 1H, H2 ou H1); 5,83 (s, 1H, H8); 4,08 – 3,25 (m, 4H, H14 e H17); 2,07 – 1,82 (m, 4H, H15 e H16).

RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ ppm: 183,1; 182,0; 149,2; 134,0; 133,0; 131,7; 126,4; 125,4; 104,5; 54,0; 25,7.

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4 + \text{Na}]^+$ exp = 477,17845 m/z , cal = 477,17848 m/z (erro = 0.07 ppm).

3.3.4. Preparação do composto 2-((2-hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona



Uma suspensão da 2-metóxi-1,4-naftoquinona **107** (0,1881 g, 1,0 mmol) em metanol (10 mL) com 2-aminoetan-1-ol (121 μL , 2,0 mmol) e trietilamina (154 μL , 1,1 mmol) foi agitada por uma noite à temperatura ambiente. A solução foi resfriada, o sólido obtido foi filtrado e lavado com metanol gelado para obter o produto **110** como um sólido de coloração vermelho (rendimento 76%) com intervalo de fusão 156-157 °C.

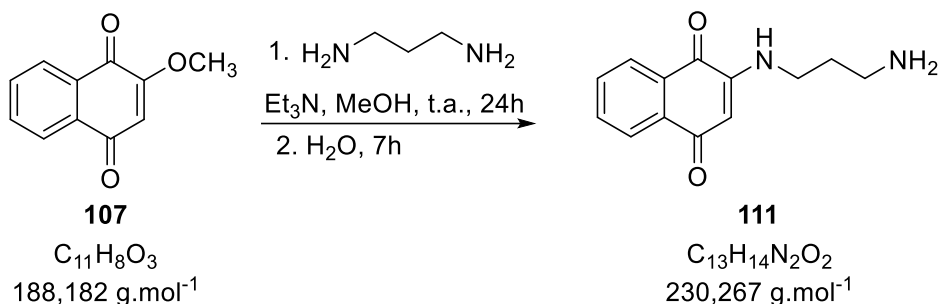
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3338, 3058, 2934, 2913, 1673, 1590, 1551, 1218, 1070.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 8,10 (dd, $J = 7,7$ e $0,9$ Hz, 1H, H3 ou H6); 8,05 (dd, $J = 7,7$ e $0,9$ Hz, 1H, H6 ou H3); 7,73 (td, $J = 7,6$ e $1,3$ Hz, 1H, H1 ou H2); 7,62 (td, $J = 7,6$ e $1,3$ Hz, 1H, H2 ou H1); 6,22 (s alargado, 1H, H13); 5,77 (s, 1H, H8); 3,93 (dd, $J = 10,6$ e $5,1$ Hz, 2H, H15); 3,37 (dd, $J = 10,6$ e $5,5$ Hz, 2H, H14); 1,79 (t, $J = 5,1$ Hz, 1H, H16).

RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ ppm: 183,1; 181,7; 148,0; 134,7; 133,5; 132,0; 130,5; 126,3; 126,1; 101,1; 60,0; 44.39.

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6 + \text{Na}]^+$ exp = 457,13689 m/z , cal = 457,13701 m/z (erro = 0.26 ppm).

3.3.5. Preparação do composto 2-((3-aminopropil)amino)naftaleno-1,4-diona



Uma suspensão de 2-metoxinaftaleno-1,4-diona **107** (0,0941 g, 0,5 mmol) em metanol (10 mL) com 1,3-diaminopropano (83 μL , 1 mmol) e trietilamina (84 μL , 0,6 mmol) foi agitada por 24h em temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se água lentamente (20 mL) e agitou-se a mistura por 7h. O sólido formado foi filtrado, lavado com metanol gelado para obter o produto **111** como um sólido laranja (rendimento 71%) com intervalo de fusão 130-131 °C.

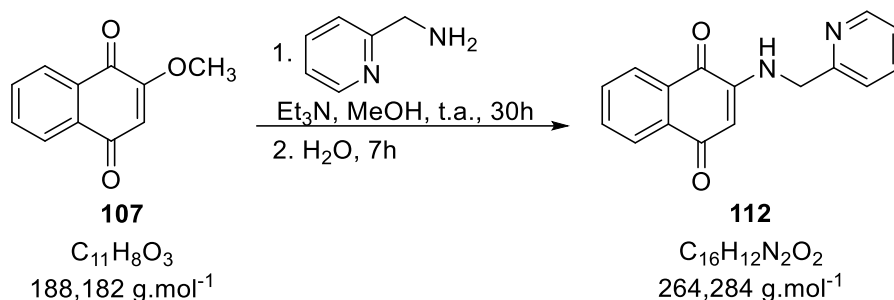
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3355, 2932, 1670, 1642, 1603, 1278.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 8,09 (dd, $J = 7,7$ e $1,2$ Hz, 1H, H3 ou H6); 8,03 (dd, $J = 7,7$ e $1,2$ Hz, 1H, H6 ou H3); 7,71 (td, $J = 7,6$ e $1,4$ Hz, 1H, H1 ou H2); 7,60 (td, $J = 7,6$ e $1,4$ Hz, 1H, H2 ou H1); 6,82 (s alargado, 1H, H13); 5,72 (s, 1H, H8); 3,29 (dd, $J = 12,3$ e $6,4$ Hz, 2H, H16); 2,90 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, H14); 1,88 – 1,78 (m, 3H, H15).

RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ ppm: 182,9; 182,0; 148,2; 134,6; 133,7; 131,8; 130,5; 126,2; 126,1; 100,4; 41,4; 40,2; 30,7.

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2]^+$ exp = 231,11278 m/z , cal = 231.11280 m/z (erro = 0.12 ppm).

3.3.6. Preparação do composto 2-((piridin-2-ilmetil)amino)naftaleno-1,4-diona



Uma suspensão de 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** (0,0941 g, 0,5 mmol) em metanol (10 mL) com picolilamina (180 μL , 2,0 mmol) e trietilamina (84 μL , 0,6 mmol) foi agitada durante 24h a temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se água lentamente (20 mL) e agitou-se durante 24h. O produto obtido foi filtrado, lavado com metanol gelado para obter o produto **112** como um sólido laranja (rendimento 52%) com intervalo de fusão 142-144 °C.

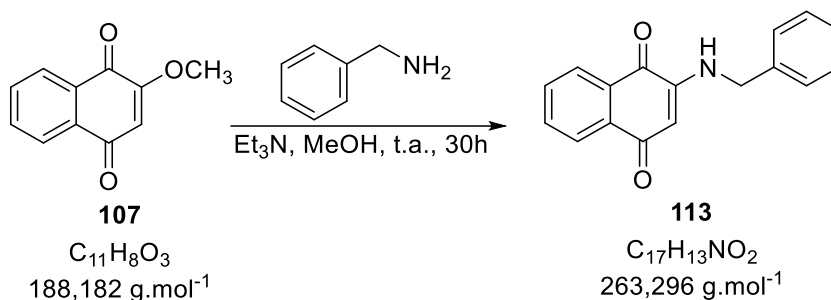
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹, ATR): 3355, 1565, 1676, 1606, 1594, 1291.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8,61 (ddd, $J = 4,9$; 1,7 e 0,9 Hz, 1H, H19); 8,08 (2 dd, $J = 6,1$ e 1,4 Hz, 2H, H3 e H6); 7,73 – 7,66 (m, 2H, H1 e H2); 7,62 (td, $J = 7,4$ e 1,7 Hz, 1H, H18); 7,25 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H, H17); 7,24 – 7,22 (m, 1H, H16); 7,13 (s alargado, 1H, H13); 5,76 (s, 1H, H8); 4,47 (d, $J = 5,3$ Hz, 2H, H14).

RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ ppm: 183,0; 181,6; 154,5; 149,4; 147,7; 136,9; 134,6; 133,5; 132,0; 130,5; 126,2; 126,1; 122,7; 121,6; 101,7; 47,0.

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{32}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4 + \text{Na}]^+$ exp = 551,16892 m/z , cal = 551,16898 m/z (erro = 0,10 ppm).

3.3.7. Preparação do composto 2-(benzilamino)naftaleno-1,4-diona



Uma suspensão de 2-metoxinaftaleno-1,4-diona **107** (0,3764 g, 2 mmol) em metanol (40 mL) com benzilamina (874 μL , 8 mmol) e trietilamina (336 μL , 2,4 mmol) foi agitada durante 30h a temperatura ambiente. Ao final da reação, o sólido obtido foi filtrado e lavado com água gelada para obter o produto **113** como um sólido laranja (rendimento 70%) com intervalo de fusão 152-154 °C.

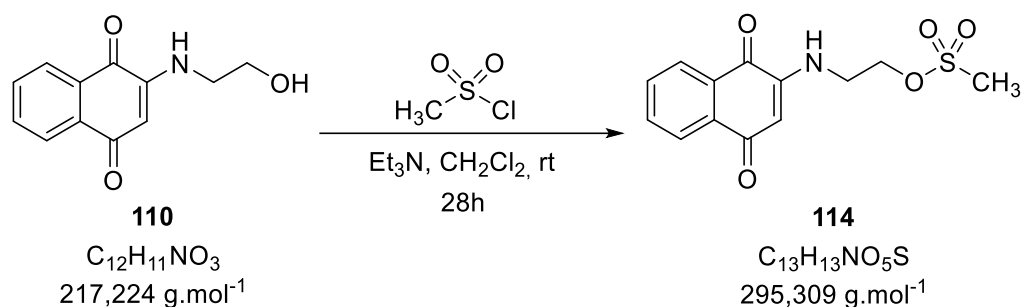
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹, ATR): 3328, 1679, 1591, 1256, 726.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8,09 (dd, $J = 7,6$ e $1,4$ Hz, 1H, H3 ou H6); 8,06 (dd, $J = 7,6$ e $1,4$ Hz, 1H, H6 ou H3); 7,73 (td, $J = 7,6$ e $1,2$ Hz, 1H, H1 ou H2); 7,63 (td, $J = 7,6$ e $1,2$ Hz, 1H, H2 ou H1); 7,42 – 7,29 (m, 4H, H16-H20); 6,21 (s alargado, 2H, H11); 5,79 (s, 2H, H8); 4,38 (d, $J = 5,8$ Hz, 2H, H14).

RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ ppm: 183,0; 181,8; 147,7; 135,8; 134,7; 133,5; 132,0; 130,4; 128,9; 128,1; 127,6; 126,2; 126,1; 101,7; 46,7.

ESI (+) FT-ICR MS: [C₃₄H₂₆N₂O₄ + Na]⁺ exp = 549,17834 m/z , cal = 549,17848 m/z (erro = 0,26 ppm).

3.3.8. Preparação do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato



Uma solução de 2-((2-hidroxietil)amino)naftaleno-1,4-diona **110** (0,8906 g, 4,1 mmol) em CH₂Cl₂ (11,0 mL) foi preparada e foi adicionada trietilamina (1,14 mL, 8,2 mmol) e cloreto de metanossulfonila (382 µL, 4,925 mmol). A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 28h. Em seguida, o sólido obtido foi filtrado e lavado com água gelada, para obter o produto **114** como um sólido laranja (rendimento 85%) com intervalo de fusão 159-160 °C.

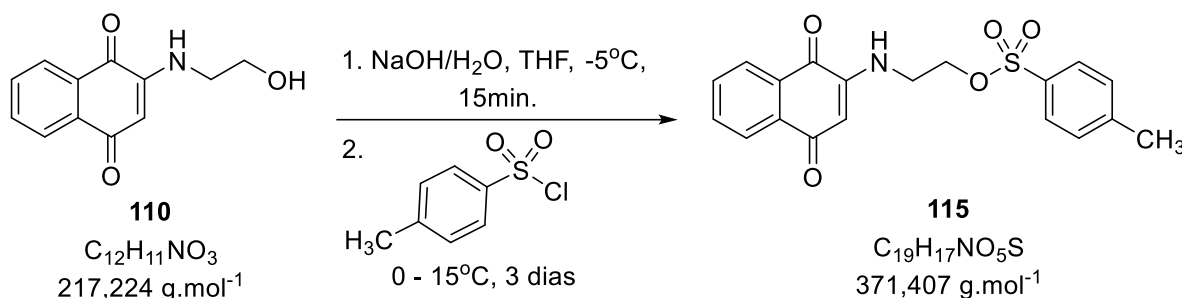
IV v_{máx} (cm⁻¹, ATR): 3316, 3074, 1682, 1592, 1561.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7,99 (dd, *J* = 7,6 e 0,8 Hz, 1H, H3 ou H6); 7,94 (dd, *J* = 7,7 e 0,9 Hz, 1H, H6 ou H3); 7,83 (td, *J* = 7,5 e 1,3 Hz, 1H, H1 ou H2); 7,73 (td, *J* = 7,5 e 1,3 Hz, 1H, H2 ou H1); 7,58 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H, H13); 5,83 (s, 1H, H8); 4,38 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H, H15); 3,56 (dd, *J* = 11,3 e 5,5 Hz, 1H, H14); 3,18 (s, 1H, H18).

RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 182,1; 181,8; 148,9; 135,3; 133,4; 132,7; 130,8; 126,3; 125,7; 100,7; 67,8; 41,5; 37,2.

ESI (+) FT-ICR MS: [C₂₆H₂₆O₁₀N₂S₂ + Na]⁺ exp = 613,09212 *m/z*, cal = 613,09211 *m/z* (erro = - 0,02 ppm).

3.3.9. Preparação do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil 4-metilbenzenossulfonato



Em uma solução de 2-((2-hidroxietil)amino)naftaleno-1,4-diona **110** (1,0861 g, 5,0 mmol) em THF (10 mL) foi adicionada uma solução aquosa de hidróxido de sódio (0,6 g de NaOH em 3,26 mL) com um banho gelado (0-5°C). Após agitação durante 15min, a mistura de reação foi resfriada a -5,0 °C e cloreto de 4-metilbenzenossulfonil (1,05 g, 5,5 mmol) foi adicionado gradualmente, com a temperatura de reação mantida abaixo de 0°C. Em seguida, a mistura reacional foi mantida a 15-20 °C e agitada durante 3 dias. Ao final da reação, filtrou-se o sólido obtido e lavou-se excessivamente com água gelada, obtendo-se o produto **115** na forma de um sólido laranja (rendimento 51%) com intervalo de fusão 186-187 °C.

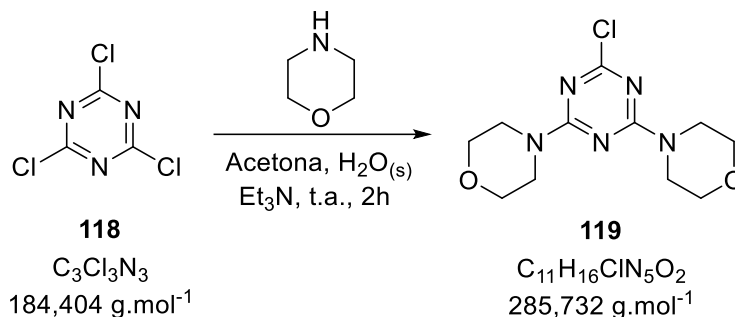
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹, ATR): 3381, 1676, 1631, 1599, 1572, 1339, 1175.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7,97 (d, J = 7,3 Hz, 1H, H3 ou H6); 7,92 (d, J = 7,5 Hz, 1H, H6 ou H3); 7,83 (t, J = 7,3 Hz, 1H, H2 ou H2); 7,74 (t, J = 7,3 Hz, 1H, H2 ou H1); 7,66 (d, J = 7,9 Hz, 2H, H21 e H25); 7,44 (t, J = 5,0 Hz, 1H, H13); 7,21 (d, J = 7,8 Hz, 2H, H22 e H24); 5,61 (s, 1H, H8); 4,18 (t, J = 5,0 Hz, 2H, H15); 3,46 (dd, J = 5,0 Hz, 2H, H14); 2,04 (s, 3H, H25).

RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 181,8; 181,5; 148,2; 145,2; 135,2; 133,2; 132,7; 132,2; 130,7; 130,3; 128,1; 126,2; 125,7; 100,4; 67,6; 40,7; 21,1.

ESI (+) FT-ICR MS: $[C_{38}H_{34}O_{10}N_2S_2 + Na]^+$ exp = 765,15458 m/z , cal = 765,15471 m/z (erro = 0,17 ppm).

3.3.10. Preparação do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina



O cloreto cianúrico **118** (9,22 g, 50 mmol), acetona (50 mL), gelo picado (250 g), trietilamina (15 g, 20 mL) e morfolina (8,70 g, 100 mmol) foram colocados para agitar à temperatura ambiente. Após 2h, adicionaram-se água (100 mL) e o sólido formado foi filtrado sob vácuo e lavado com água gelada. O produto **119** foi obtido como um sólido branco (rendimento 55%) com intervalo de fusão 171-172 °C.

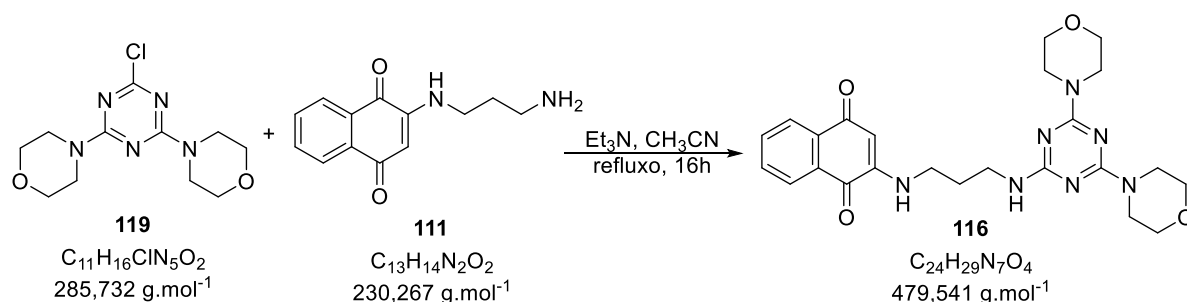
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 2851, 1541, 1480, 1444, 1248, 1109, 978.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 3,64 (m, 8H, H11, H13, H16 e H18); 3,57 (m, 8H, H10, H14, H15 e H19).

RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ ppm: 169,6; 164,4; 66,7; 43,8.

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}_5\text{Cl}]^+$ exp = 286,10652 m/z , cal = 286,10653 m/z (erro = 0,02 ppm).

3.3.11. Preparação do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona



Uma solução da enaminonaftoquinona **111** (0,1150 g, 0,5 mmol) em acetonitrila (20 mL) com o intermediário **119** (0,1430 g, 0,5 mmol) e trietilamina (70 μ L, 0,5 mmol) foram mantidos sob refluxo por 16h, ao final à reação foi filtrada sob vácuo. O sólido bruto foi recristalizado em etanol a quente para fornecer o produto **116** como um sólido amarelo (rendimento 47%) com intervalo de fusão 210-212 °C.

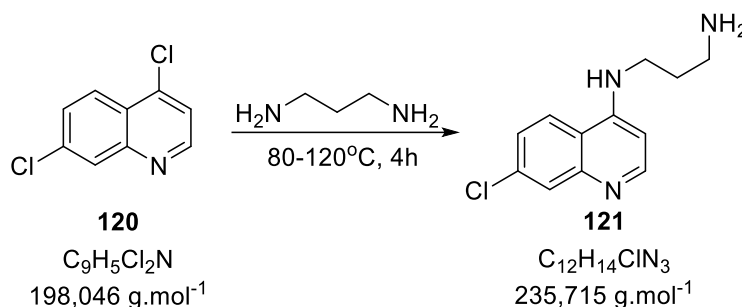
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3337, 2984, 2853, 1681, 1606, 1548, 1446, 1251, 1105, 1006, 803.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 7,98 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, H30 ou H33); 7,93 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, H33 ou H30); 7,82 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, H31 ou H32); 7,72 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, H32 ou H31); 7,55 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H, NH); 6,86 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H, NH); 5,66 (s, 1H, H25); 3,86 – 3,36 (m, 16H, H morfolina); 3,31 – 3,17 (m, 4H, H20 e H22); 1,83 – 1,73 (m, 2H, H21).

RMN de ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 181,9; 181,5; 166,1; 165,1; 148,8; 135,2; 133,6; 132,5; 130,7; 126,2; 125,7; 99,7; 66,4; 43,6; 38,0; 27,8.

ESI (+) FT-ICR MS: $[C_{24}H_{30}O_4N_7]^+$ exp = 480,23549 m/z , cal = 480,23538 m/z (erro = 0,23 ppm).

3.3.12. Preparação do composto *N*¹-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina



Uma suspensão de 4,7-dicloroquinolina **120** (2,0 g, 10,1 mmol) em 1,3-diaminopropano (4,2 mL) foi preparada sob aquecimento a 80 °C com agitação por 1h. Em seguida, a solução foi agitada por 4h a 120 °C. Ao final da reação, a mistura foi transferida para um béquer e foram adicionados água gelada (20 mL) com gelo picado. O precipitado formado foi filtrado e lavado com água gelada (20 mL). Na etapa seguinte, o sólido foi agitado com acetato de etila (15 mL) e filtrado sob vácuo, obtendo o produto **121** como um sólido branco (rendimento 87%) com intervalo de fusão 146-148 °C.

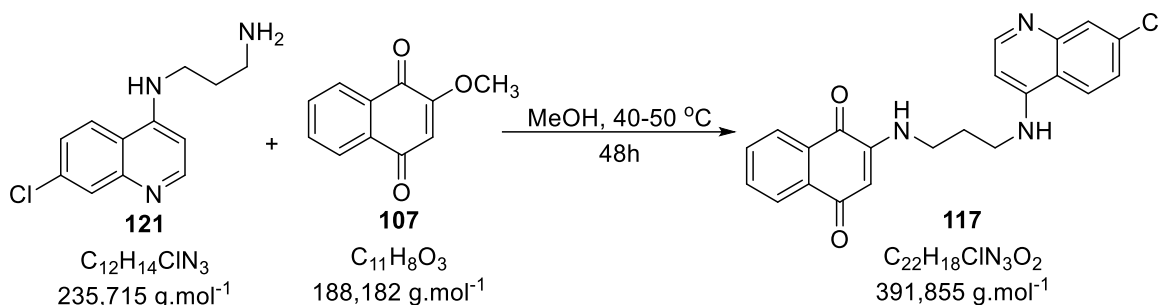
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3258, 2936, 2865, 1579, 1540, 1477, 1316, 1221, 1080, 800.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 8,38 (d, $J = 5,5 \text{ Hz}$, 1H, H8); 8,24 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 1H, H6); 7,77 (d, $J = 2,2 \text{ Hz}$, 1H, H3); 7,43 (dd, $J = 9,0$ e $2,2 \text{ Hz}$, 1H, H1); 6,47 (d, $J = 5,4 \text{ Hz}$, 1H, H9); 3,34 – 3,27 (m, 3H, H13); 2,71 (t, $J = 6,6 \text{ Hz}$, 1H, H15); 1,76 (p, $J = 6,7 \text{ Hz}$, 2H, H14).

RMN de ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 152,3; 150,5; 149,4; 133,7; 127,9; 124,4; 117,9; 99,0; 40,5; 39,3; 30,9.

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{Cl}]^+$ exp = 236,09484 m/z , cal = 236,09490 m/z (erro = 0,26 ppm).

3.3.13. Preparação do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona



O intermediário **121** (0,2360 g, 1 mmol) foi solubilizado em metanol (20 mL) a 70 °C com agitação. A temperatura foi reduzida para 40 °C e a 2-metoxinaftaleno-1,4-diona **107** (0,1840 g, 1 mmol) foi adicionada junto com a trietilamina (140 ml). Após 48h, o sólido obtido foi filtrado e lavado sob vácuo com metanol gelado. O produto **117** foi obtido como um sólido laranja (rendimento 84%) com intervalo de fusão 210-212 °C.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3360, 1681, 1619, 1584, 1267.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 8,38 (d, $J = 5,4 \text{ Hz}$, 1H, H8); 8,24 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 1H, H6); 7,97 (dd, $J = 7,6$ e $0,9 \text{ Hz}$, 1H, H21 ou H26); 7,93 (dd, $J = 7,7$ e $0,9 \text{ Hz}$, 1H, H26 ou H21); 7,82 (td, $J = 7,5$ e $1,4 \text{ Hz}$, 1H, H23 ou H22); 7,77 (d, $J = 2,2 \text{ Hz}$, 1H, H3); 7,72 (td, $J = 7,5$ e $1,4 \text{ Hz}$, 1H, H22 ou H23); 7,64 (t, $J = 6,1 \text{ Hz}$, 1H, NH); 7,44 (dd, $J = 9,0$ e $2,3 \text{ Hz}$, 1H, H1); 7,32 (t, $J = 5,4 \text{ Hz}$, 1H, NH); 6,50 (d, $J = 5,5 \text{ Hz}$, 1H, H9); 5,74 (s, 1H, H17); 1,98 (quint, $J = 6,8 \text{ Hz}$, 2H, H13).

RMN de ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 181,5; 181,2; 151,8; 149,9; 149,0; 148,5; 134,8; 133,3; 133,1; 132,1; 130,4; 127,4; 125,3; 124,0; 117,4; 99,4; 98,7; 25,9.

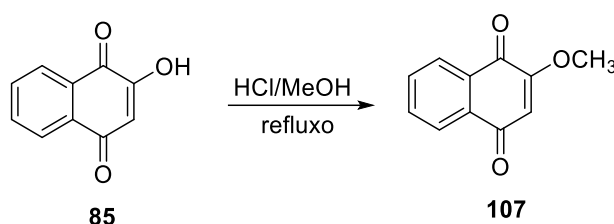
ESI (+) FT-ICR MS: $[C_{22}H_{17}O_2N_3Cl]^-$ exp = 390,10147 m/z , cal = 390,10148 m/z (erro = 0,03 ppm).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Síntese orgânica

Para a primeira etapa da síntese das enaminonaftoquinonas **108-117** a 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85** foi reagida com metanol e ácido clorídrico sob refluxo (Figura 31), para obter a 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** como um sólido amarelo claro com rendimento de 90% e ponto de fusão 179-180 °C, após 4h de reação e recristalização em etanol a quente.

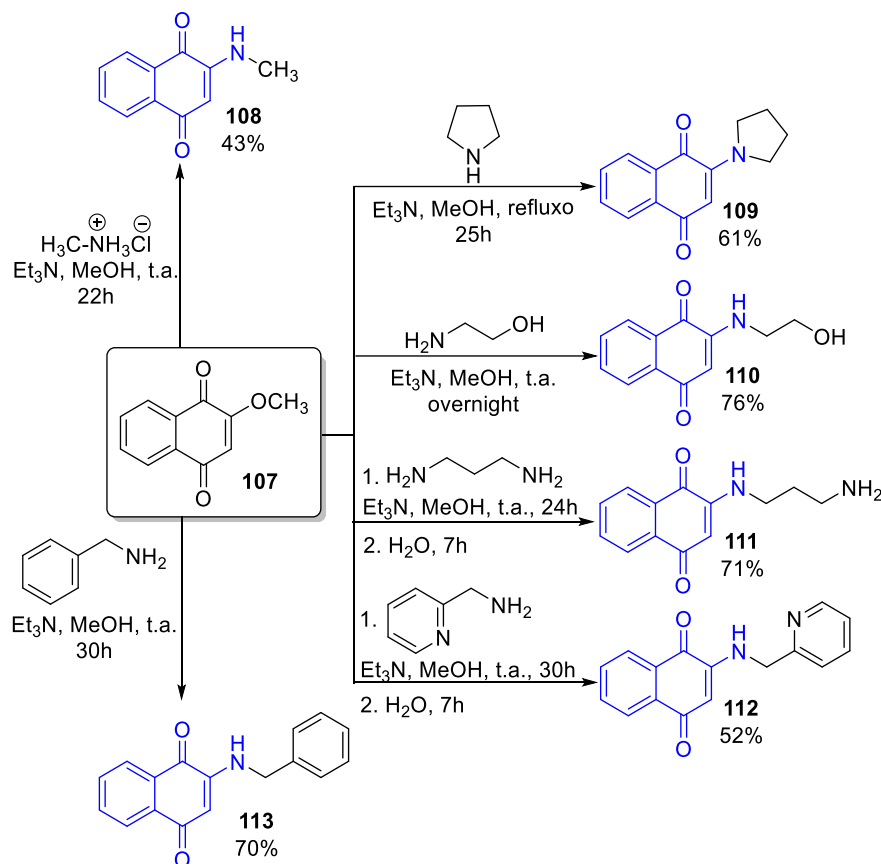
Figura 31. Síntese da 2-metoxinaftalen-1,4-diona.



O composto **107** foi caracterizado por espectroscopia no infravermelho e no RMN de ^1H e ^{13}C , e espectrometria de massas. Os resultados obtidos corroboram com o descrito na literatura.⁶²

Para as enaminonaftoquinonas **108-113** foi realizada uma reação de substituição nucleofílica bimolecular entre a 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** com nucleófilos nitrogenados comerciais (cloridrato de metilamina, pirrolidina, 2-aminoetan-1-ol, 1,3-diaminopropano, picolilamina e benzilamina), em metanol como solvente e trietilamina,⁶³ para controlar o pH do meio. O esquema reacional para a síntese das enaminonaftoquinonas **108-113** está reportado na Figura 32.

Figura 32. Esquema da síntese das enamina-naftoquinonas **108-113**.



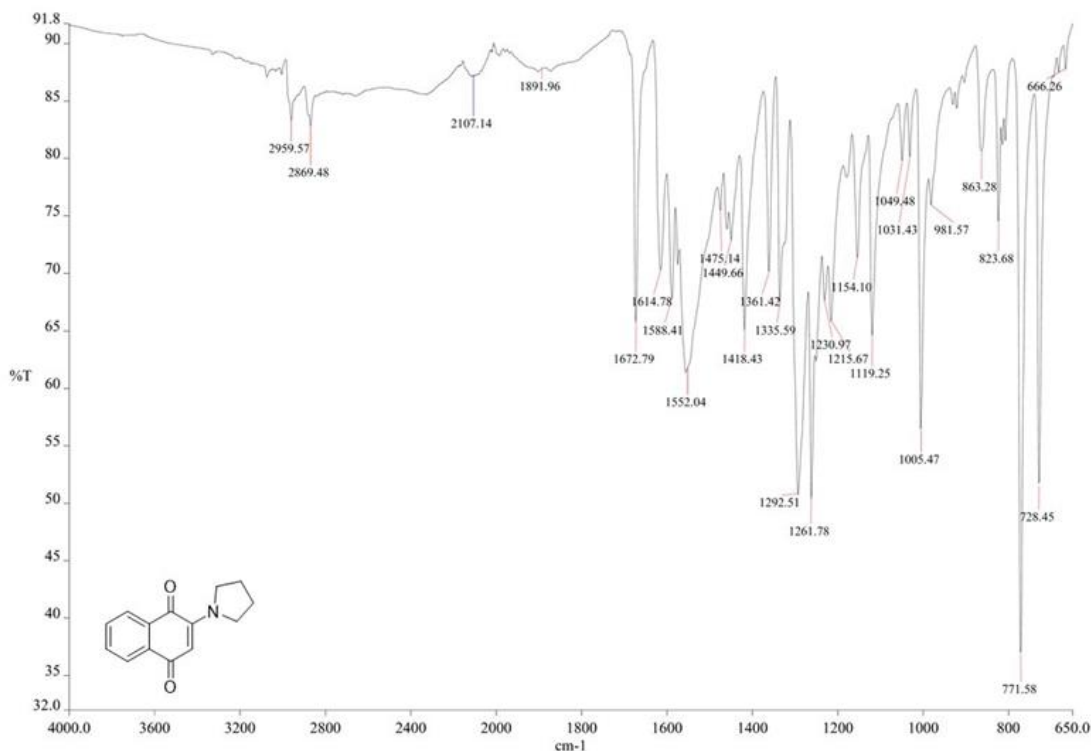
Devido à similaridade estrutural das 2-amino-1,4-naftoquinonas **108-113**, tomou-se apenas o composto **109** como exemplo para caracterização. As atribuições das demais podem ser consultadas na seção Procedimentos Experimentais (vide página 45).

No espectro de infravermelho da enamina-naftoquinona **109** (Figura 33) observou-se as bandas características da vibração das ligações C-H em 2959 e 2869 cm^{-1} . Em 1614 cm^{-1} pode-se observar a banda de vibração da ligação C=C do anel naftoquinônico e em 1261 cm^{-1} atribuiu-se o estiramento da vibração da ligação C-N formada.

As carbonilas, por sua vez, aparecem como uma única banda em 1672 cm^{-1} . Frequentemente os espectros de 1,4-quinonas exibem duas bandas de ν_{CO} , na região de 1700 a 1630 cm^{-1} , sendo geralmente a absorção em frequência mais alta a mais intensa. Entretanto, isto varia de acordo com o(s) substituinte(s) no anel quinônico. Geralmente, as ν_{CO} são deslocadas para valores menores nos casos de quinonas substituídas por grupos doadores de elétrons, e para valores maiores, nas quinonas contendo grupos retiradores de elétrons. Como as duas absorções não são

deslocadas na mesma proporção, algumas vezes, podem coalescer em uma mesma absorção.⁶⁴ O fato do composto **109** apresentar apenas uma banda na mesma região indica a coalescência das duas absorções.

Figura 33. Espectro de infravermelho do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**.



A região aromática do espectro de RMN de ^1H (Figura 34) mostra os sinais característicos das naftoquinonas, a saber: dois duplos dubletos em 8,06 ppm e 8,01 ppm, referentes a H3 e H6, dois triplos dubletos em 7,69 ppm e 7,60 ppm, referentes a H1 e H2 e, por fim, o singleto em 5,83 ppm característico do hidrogênio 8.

Os multipletos em 3,85 e 1,98 ppm são referentes aos metilenos do anel pirrolidínico, sendo os hidrogênios 14 e 17 mais desblindados por serem vizinhos ao nitrogênio, átomo retirador de elétrons por efeito indutivo.

O espectro de RMN de ^{13}C de **109** é apresentado na Figura 35. Os sinais em 183,1 e 182,0 ppm foram atribuídos aos dois carbonos das carbonilas da naftoquinona (C7 e C10). O sinal em 149,2 ppm, região com grupos vizinhos retiradores de elétrons, é atribuído ao carbono 9. Já os sinais dos carbonos referentes ao anel naftoquinônico (região aromática): 134,0; 131,7 (C2 e C1), 133,0 (C4 e C5), 126,4; 125,4 (C6 e C3) ppm e em 104,5 ppm tem-se o C8, na região característica de carbono com dupla

ligação. Por fim, em 54,0 e 25,7 ppm, na região alquílica encontram-se os metilenos do anel pirrolidínico.

Figura 34. Espectro de RMN do composto ^1H da 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**.

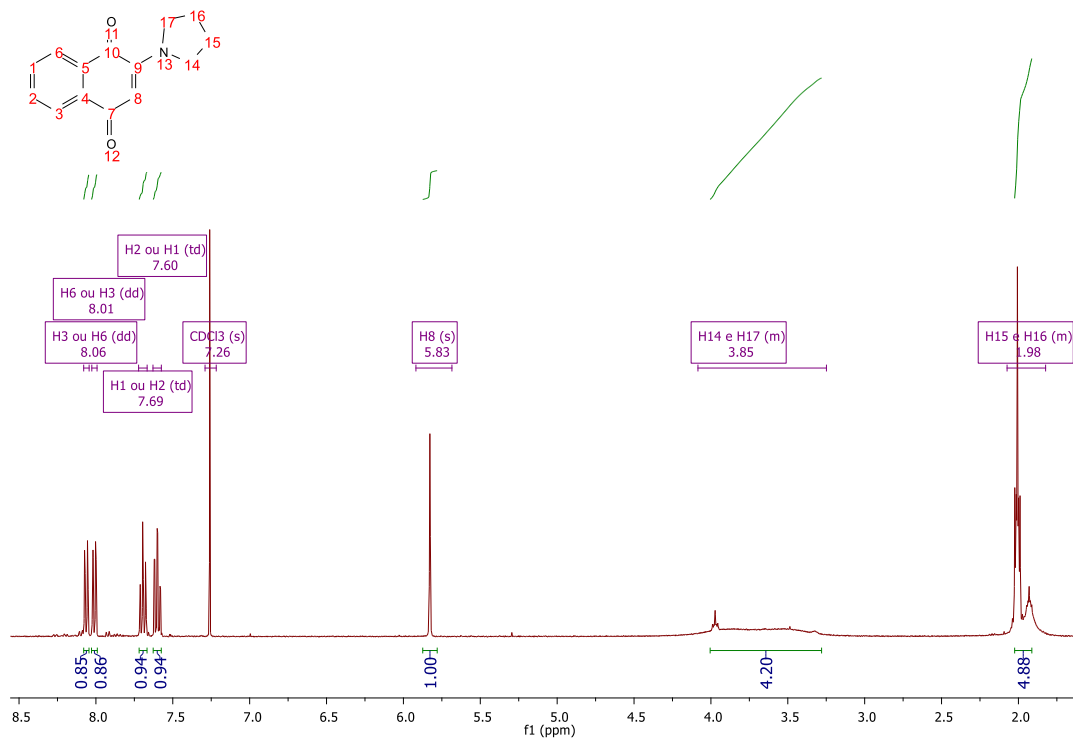
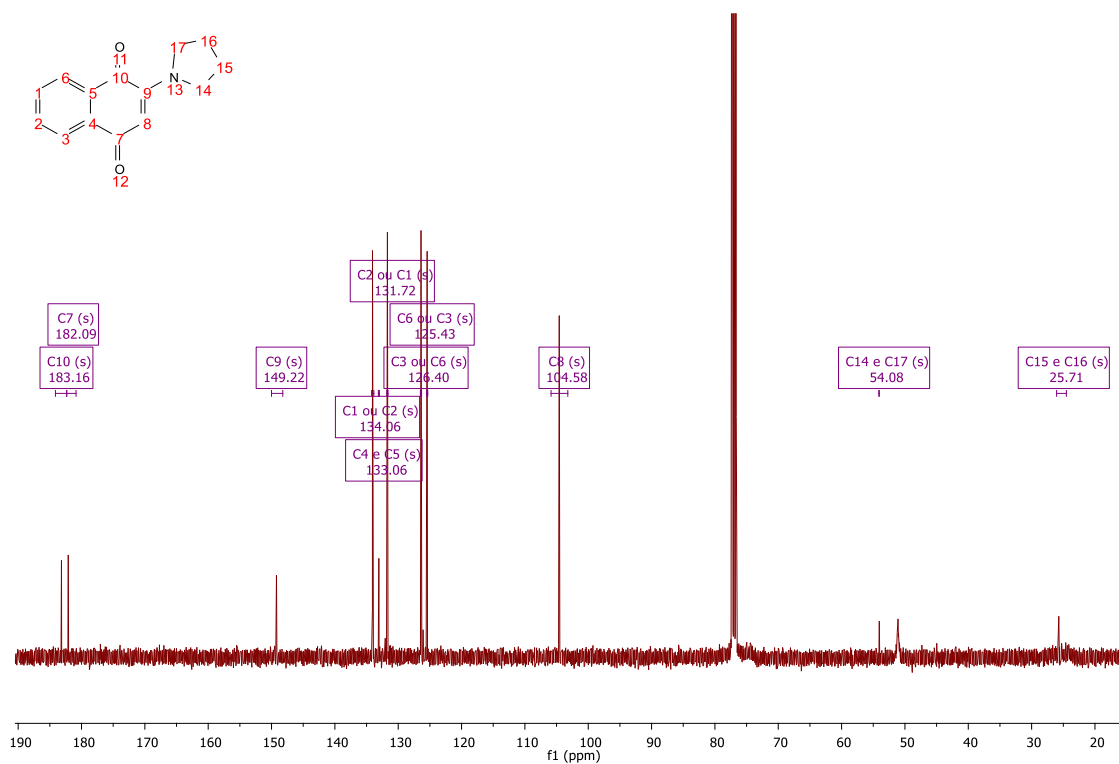
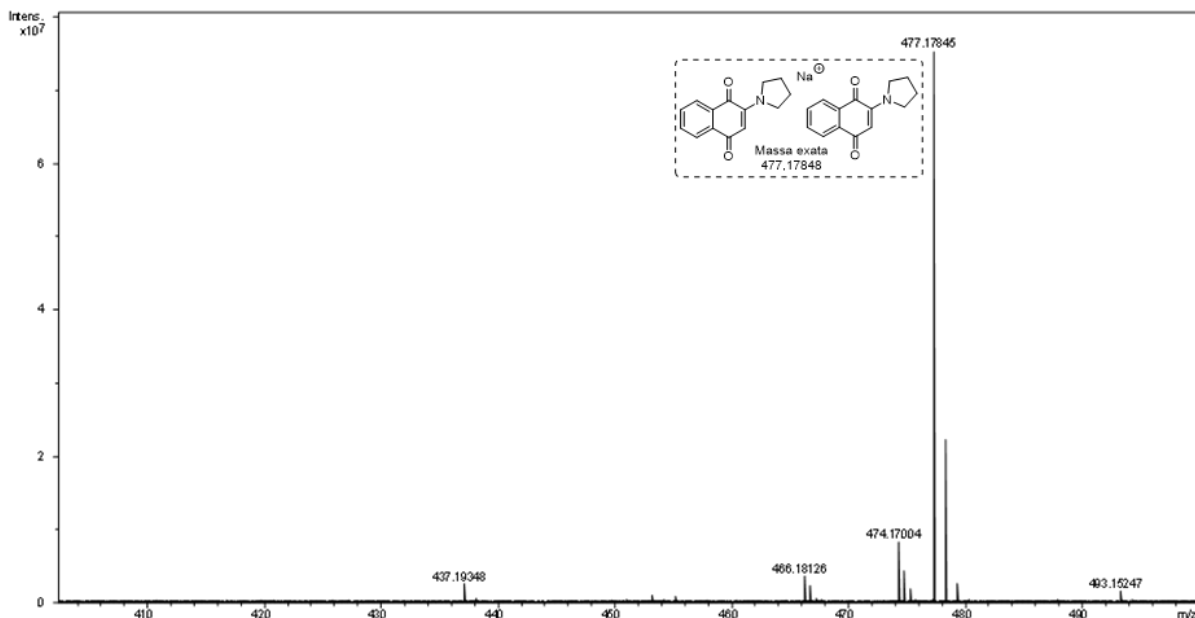


Figura 35. Espectro de RMN do composto ^{13}C da 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**.



No espectro de massas de alta resolução - ESI-(+) do composto **109** (Figura 36) foi observado um pico de relação massa/carga 477,17845 (cal = 477,17848 m/z) do íon molecular associado ao cátion sódio $[C_{28}H_{26}N_2O_4 + Na]^+$, com um erro de 0,07 ppm.

Figura 36. Espectro de Massas do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**.

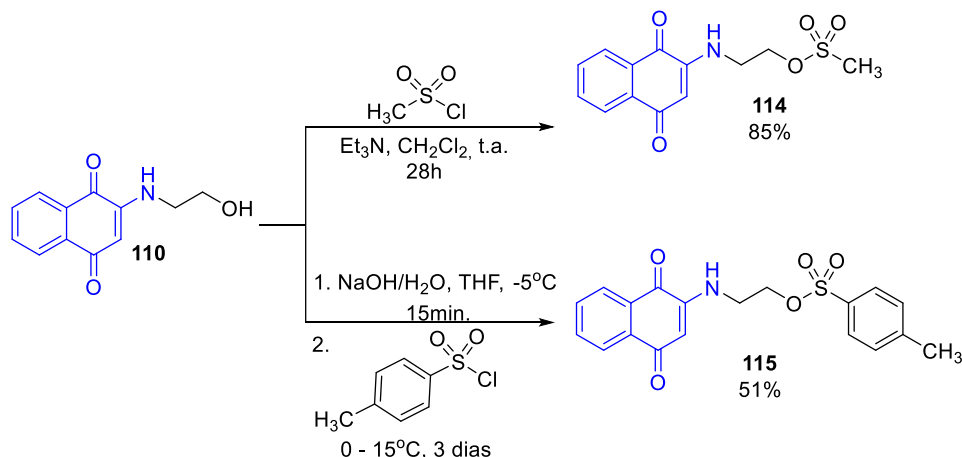


O mecanismo de formação das enaminonaftoquinonas ocorre em um único passo, de forma assíncrona, como descrito pelo nosso grupo de pesquisa (vide Figura 16 – introdução).²⁹

Para as reações de mesilação⁶⁵ e tosilatação⁶⁶ do álcool **110**, foram empregadas metodologias diferentes, uma vez que, o uso da metodologia de Brenneman e colaboradores⁶⁵ para preparação do composto **115** levou a rendimentos inferiores a 10 %. O esquema reacional está reportado na Figura 37.

O produto da mesilação **114** foi obtido como um sólido laranja com rendimento de 85% e intervalo de ponto de fusão 159-160 °C pela reação da enaminonaftoquinona **110** com cloreto de metanossulfonila. Já na reação de tosilatação foi utilizado o cloreto de 4-metilbenzenossulfonila e o produto foi obtido como um sólido laranja com rendimento de 51% e intervalo de fusão 186-187 °C.

Figura 37. Esquema da síntese das enaminonaftoquinonas **114** e **115**.



Pela similaridade estrutural das enaminonaftoquinonas **114** e **115**, tomou-se o composto **114** como exemplo para fins de caracterização. No espectro na região do infravermelho obtido para a enaminonaftoquinona **114** (Figura 38) foi possível observar a banda intensa em 3316 cm^{-1} referente a deformação axial e em 1592 cm^{-1} da deformação angular, ambas da ligação N-H. A banda em 1561 cm^{-1} está relacionada com a deformação axial da ligação C=C e em 1359 cm^{-1} a deformação axial assimétrica do grupo SO_2 . Por fim, as carbonilas aparecem como uma única banda em 1682 cm^{-1} .

A região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **114** (Figura 39) mostrou quatro sinais característicos, como visto em substâncias precedentes, e por isso não será abordado novamente. Em 7,58 ppm foi observado um tripleto referente ao hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio. Por fim, em 5,83 ppm o singlete do H8 da naftoquinona. Na região alifática são observados os sinais dos metilenos, um tripleto em 4,38 ppm referente a H15 (vizinho ao átomo de oxigênio) e em 3,56 ppm H14 como um duplo dubleto que acoplam entre si com uma constante de 5,5 Hz. Em 4,38 e 3,56 ppm as bandas dos metilenos, sendo H15 o mais desblindado por estar vizinho ao átomo de oxigênio. Por fim, em 3,18 ppm foi observado um singlete referente aos hidrogênios da metila.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 40) apresentou sinais em 182,1 e 181,8 ppm referentes as carbonilas da quinona, já os sinais dos carbonos do anel naftoquinônico (região aromática): 148,9 (C9), 135,3; 132,7 (C1 e C2), 133,4; 130,8 (C4 e C5), 126,3; 125,7 (C3 e C6), 100,7 (C8) ppm (semelhante aos compostos anteriores). Na região

alifática foi possível observar os sinais dos metilenos em H15 e H14 em 67,8 e 41,5 ppm, respectivamente, bem como a presença do sinal referente a metila em 37,2 ppm.

Figura 38. Espectro de infravermelho do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato **114**.

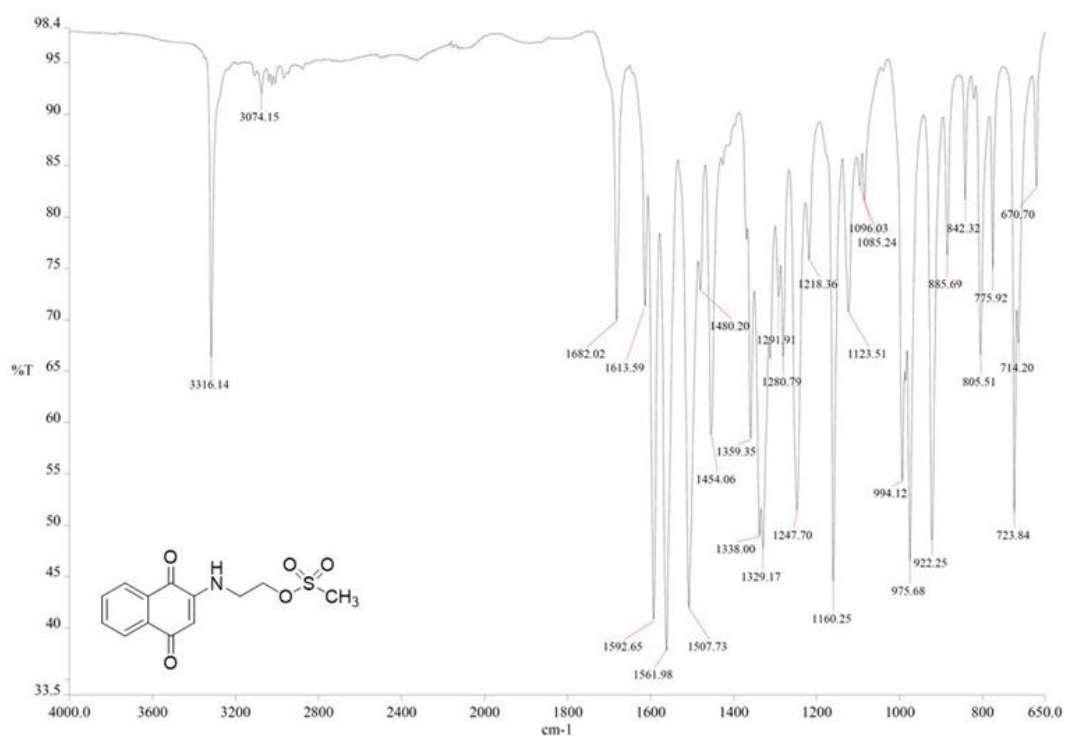


Figura 39. Espectro de RMN de ¹H do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato **114**.

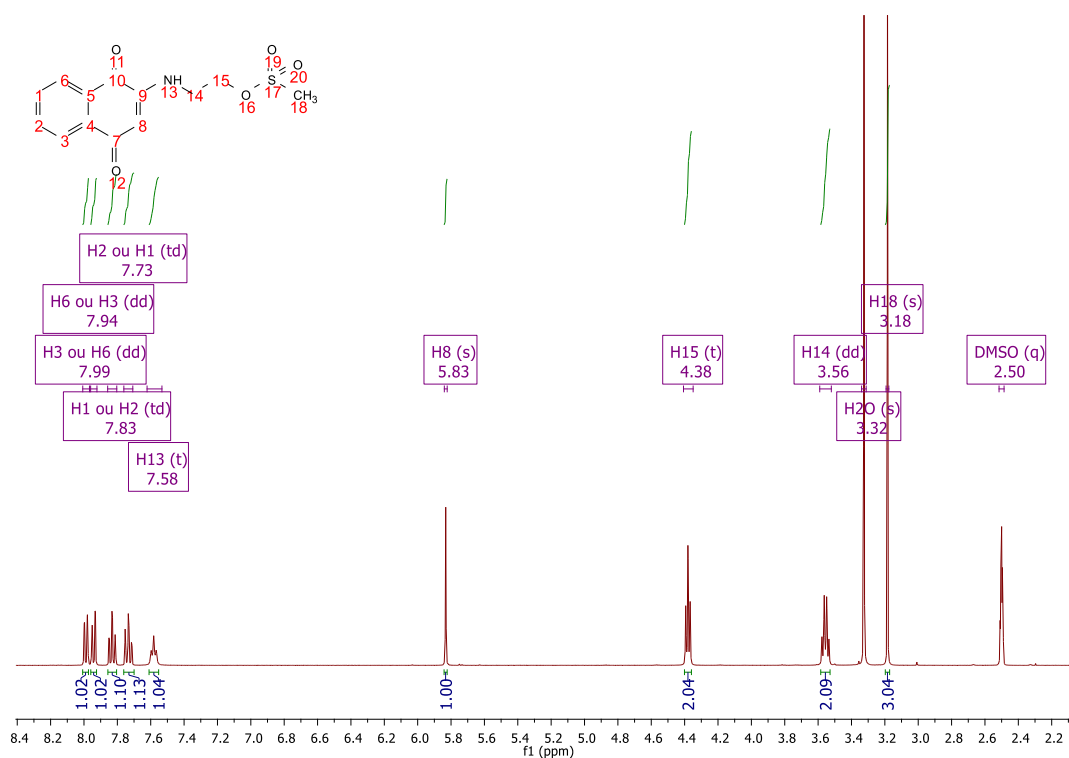
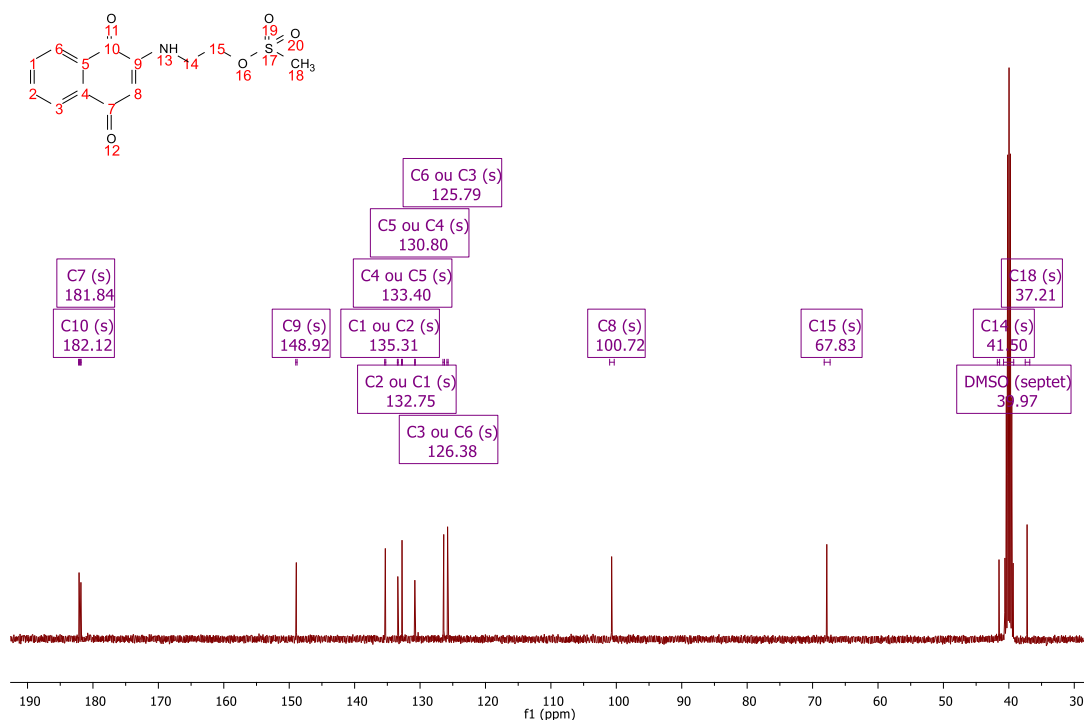
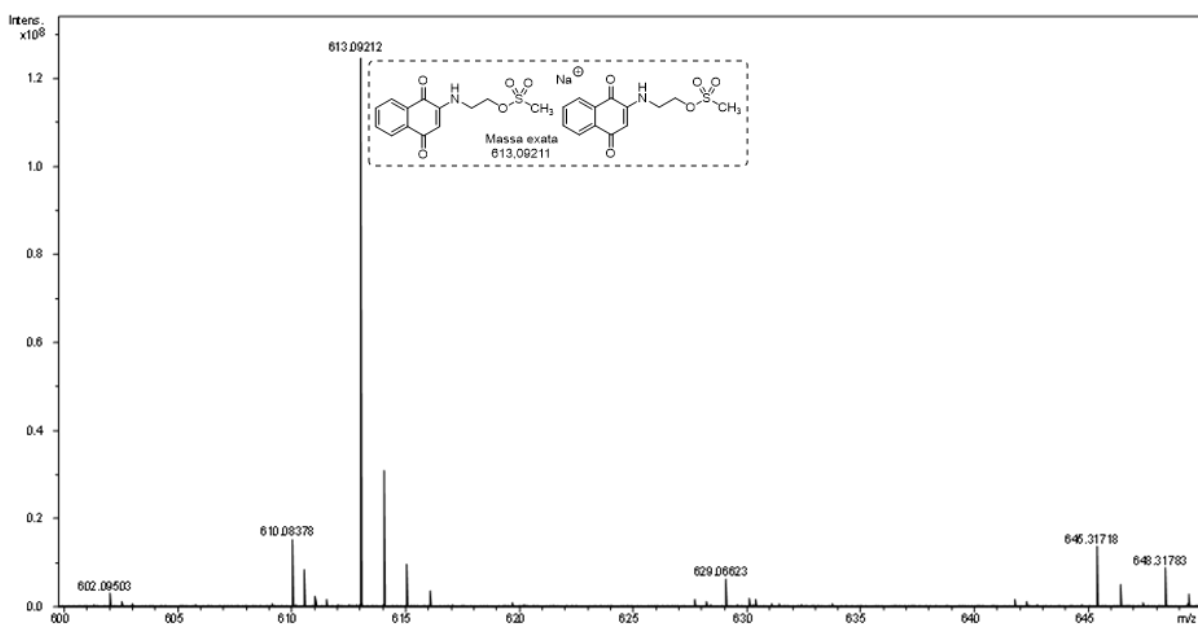


Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato **114**.



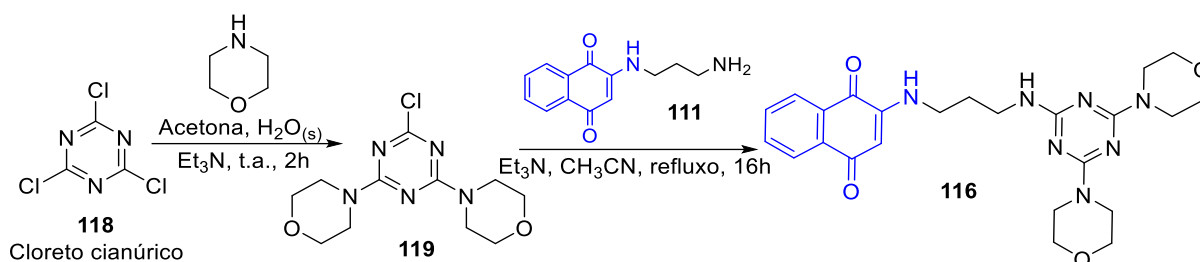
No espectro de massas de alta resolução - ESI-(+) do composto **114** (Figura 41) foi encontrado o pico referente ao cátion $[\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_{10}\text{N}_2\text{S}_2 + \text{Na}]^+$ com razão massa/carga de 613,09212, que quando comparado com o valor teórico (613,09211 m/z) fornece um erro de -0,02 ppm.

Figura 41. Espectro de Massas do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato **114**.



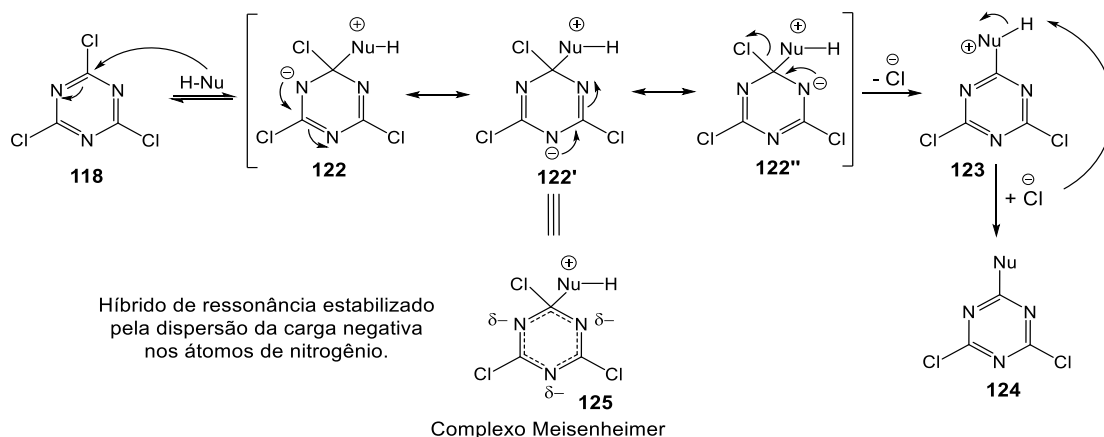
A enaminonaftoquinona **116** contém os núcleos naftoquinona, morfolina e triazina. Sua síntese foi iniciada pela preparação do precursor eletrofílico **119**, por uma reação de substituição nucleofílica aromática, e este por sua vez reage com o intermediário **111**, para formar o composto **116** de interesse (Figura 42).

Figura 42. Esquema da síntese da enaminonaftoquinona **116**.

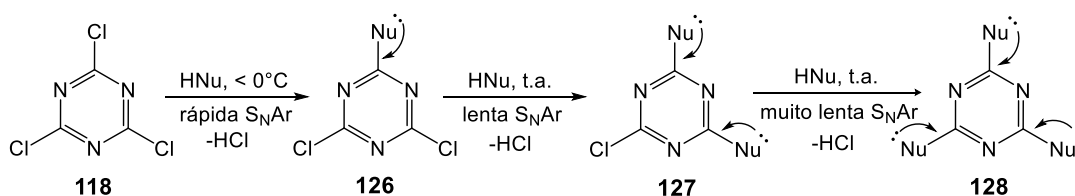


O núcleo morfolínico foi escolhido por possuir reconhecida atividade anticâncer, além de aumentar a solubilidade do intermediário **119**, facilitando assim a homogeneidade das reações subsequentes.^{67,68}

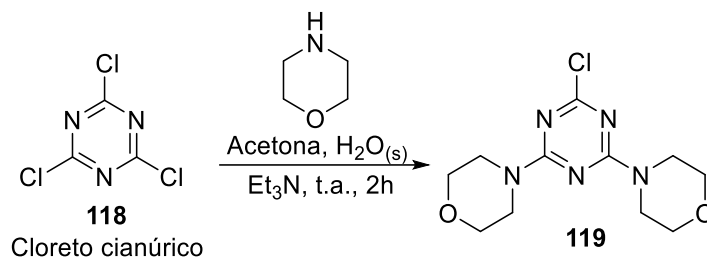
Normalmente as reações de substituição nucleofílica aromática demandam condições extremas para ocorrerem, como uso de bases fortes e altas temperaturas. Contudo na utilização do cloreto cianúrico (2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina) **118**, ao invés do benzeno, são mais brandas, devido a sua maior capacidade eletrofílica, que pode ser explicada pelo efeito indutivo polar atrator de elétrons, exercido pelos átomos de nitrogênio (posições 1, 3 e 5) e pelos átomos de cloro ligados aos sítios eletrofílicos (posições 2, 4 e 6). Esses dois fatores auxiliam fortemente na estabilização do complexo Meisenheimer **125** (Figura 43). A presença desses heteroátomos mais eletronegativos que o carbono, também pode favorecer a redução dos níveis energéticos do orbital de menor energia desocupado – LUMO (do inglês, *lowest unoccupied molecular orbital*), levando a um aumento da eletrofilicidade do cloreto cianúrico **118**.

Figura 43. Mecanismo da reação de substituição nucleofílica aromática no cloreto cianúrico.

Apesar disso, à medida que os átomos de cloro são substituídos por nucleófilos, a próxima substituição demanda condições mais energéticas para ocorrer. Isso porque além da remoção dos átomos de cloro (eletronegativos), ocorre a entrada de átomos que aumentam a densidade eletrônica do núcleo triazínico, geralmente, pela conjugação dos pares de elétrons não ligantes. A diminuição da capacidade do núcleo triazínico de sofrer S_NAr está diretamente relacionada com a diminuição da estabilidade do intermediário (complexo Meisenheimer **125**), levando ao aumento das respectivas energias de ativação (Figura 44). Consequentemente as substituições dos átomos de cloro são altamente seletivas e podem ser controladas pela temperatura: a monossustituição do átomo de cloro ocorre a temperaturas menores que 0°C , a dissustituição a temperatura ambiente e a última (trissustituição) acima de 60°C .⁶⁹

Figura 44. Decréscimo da velocidade da reação à medida que se substitui o átomo de cloro por nucleófilos com par de elétrons n.

Sendo assim, o eletrófilo **119** foi obtido pela substituição de dois átomos de cloro do cloreto cianúrico pela morfolina, por meio de reações de substituição nucleofílica aromática (S_NAr) utilizando acetona com gelo triturado como solvente na presença de trietilamina, por 2h a temperatura ambiente (Figura 45).⁷⁰ O produto **119** foi obtido como um sólido branco com rendimento de 55 % e intervalo de fusão de $171\text{--}172^\circ\text{C}$.

Figura 45. Síntese do eletrófilo **119**.

O espectro de infravermelho desse composto (Figura 46) mostrou uma banda em 2851 cm⁻¹ referente as vibrações C-H dos metilenos das morfolinás, em 1541 e 1248 cm⁻¹ a deformação axial das ligações C=N e C-N, respectivamente. Além da banda em 1109 cm⁻¹ da ligação C-O-C e 856 cm⁻¹ relativa a deformação axial de C-Cl.

No espectro de RMN ¹H do composto **119** (Figura 47) é observado os multipletos integrando para 8H em 3,64 e 3,57 ppm, referentes aos metilenos vizinhos aos átomos de oxigênio e nitrogênio, respectivamente.

O espectro de RMN de ¹³C (Figura 48) apresentou na região aromática dois sinais referentes aos carbonos do núcleo triazínico em 169,6 e 164,4 ppm. Além, dos sinais em 66,7 e 43,8 ppm (região alifática) relativo aos carbonos da morfolina, sendo os próximos ao oxigênio os mais desblindados.

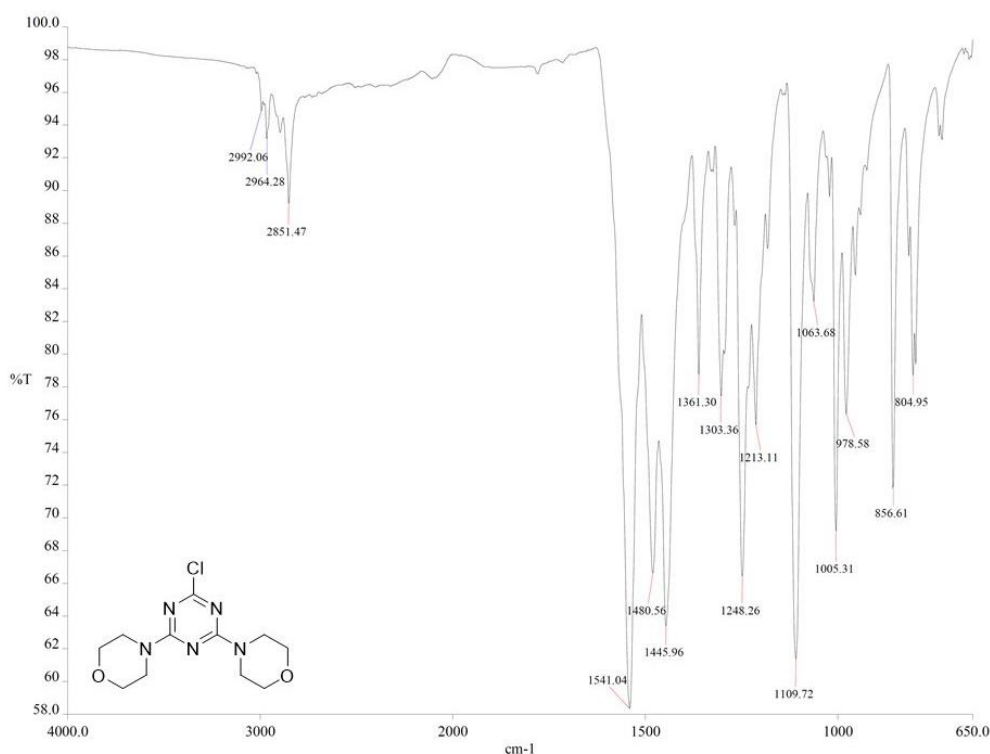
Figura 46. Espectro de infravermelho do composto 4,4'-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina **119**.

Figura 47. Espectro de RMN de ^1H do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina **119**.

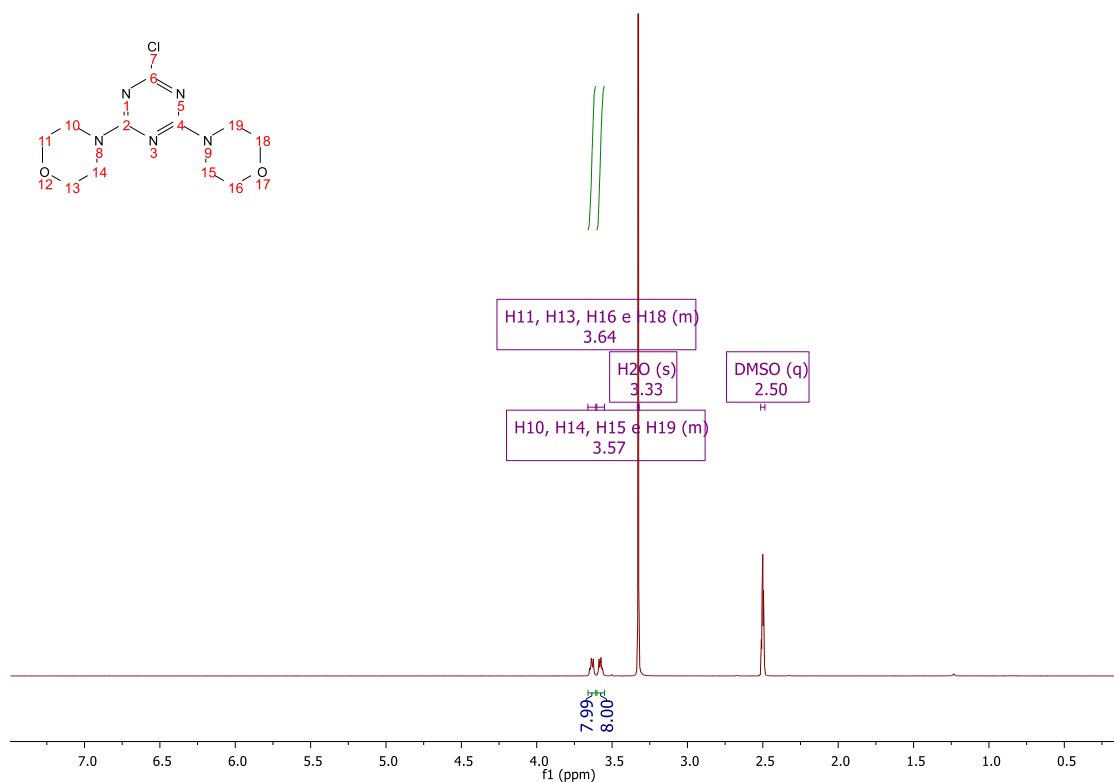
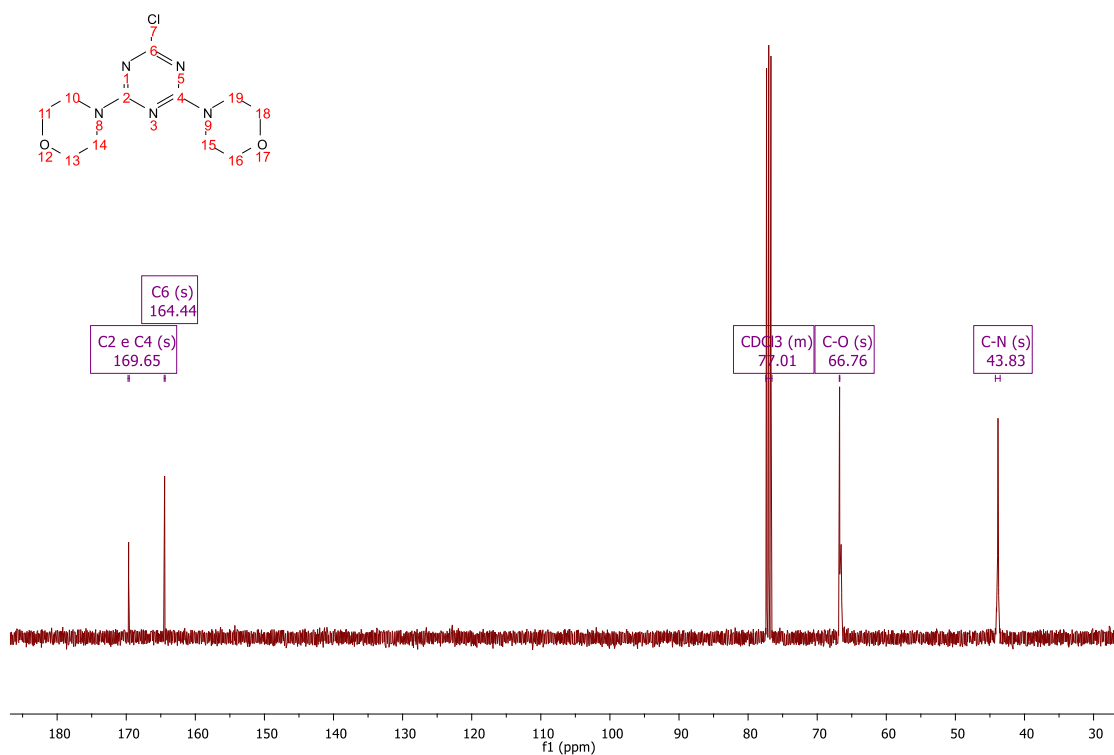
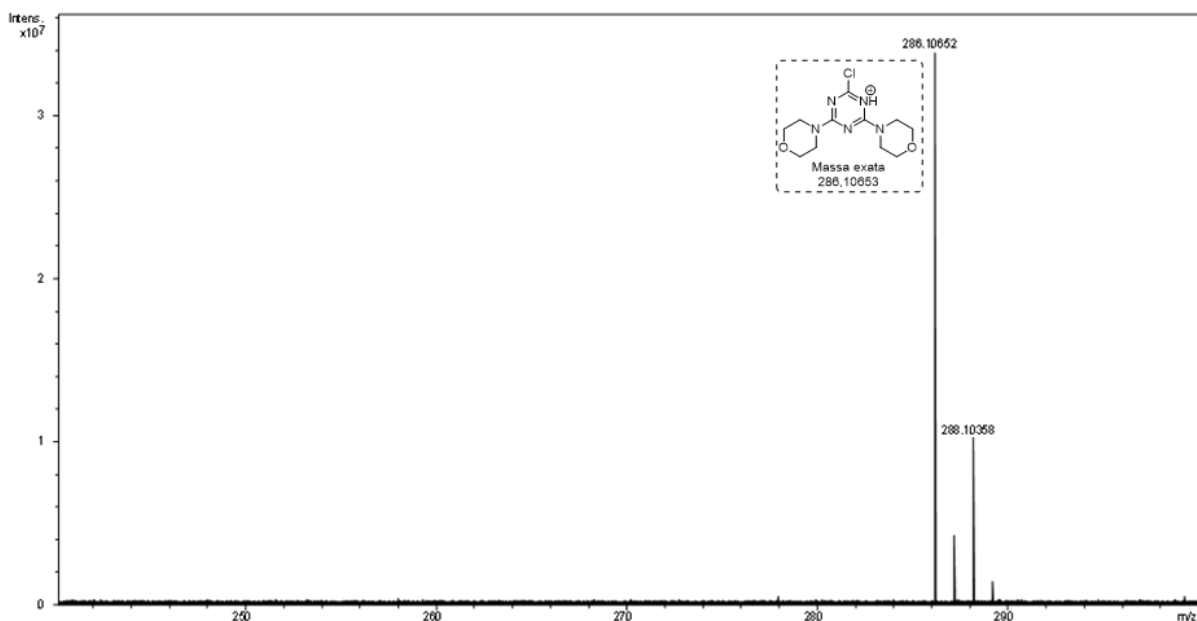


Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina **119**.



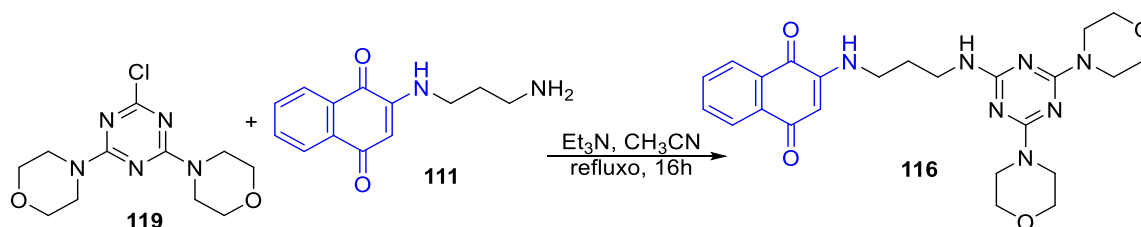
No espectro de massas de alta resolução - ESI-(+) do intermediário **119** (Figura 49) foi encontrado o pico referente ao cátion $[C_{11}H_{16}ClN_5O_2 + H]^+$ com sinal em 286,10652 m/z que quando comparado ao valor teórico (286,10653 m/z) fornece um erro relativo de 0,02 ppm, além de apresentar o padrão isotópico típico do átomo de cloro.

Figura 49. Espectro de Massas do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina **119**.



De posse do intermediário **119** foi preparada a molécula-alvo **116** pela reação de S_NAr com a enaminonaftoquinona **111** usando acetonitrila sob refluxo e na presença de trietilamina, formando um sólido amarelo após recristalização em etanol à quente, com rendimento de 47 % e intervalo de fusão 210-212 °C (Figura 50).

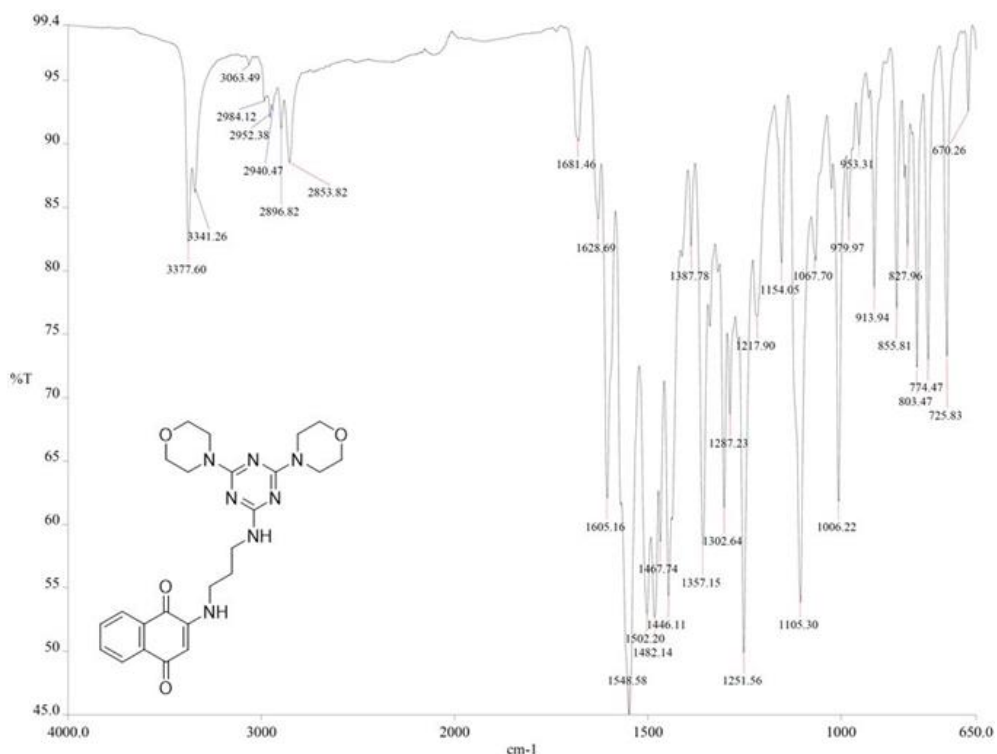
Figura 50. Síntese da enaminonaftoquinona **116**.



O espectro de IV do composto **116** (Figura 51) apresentou as bandas em 3377 cm^{-1} da deformação axial de NH, em 2984 e 2853 cm^{-1} das deformações axial assimétrica e simétrica, respectivamente e em 1681 cm^{-1} da deformação axial da carbonila. Além

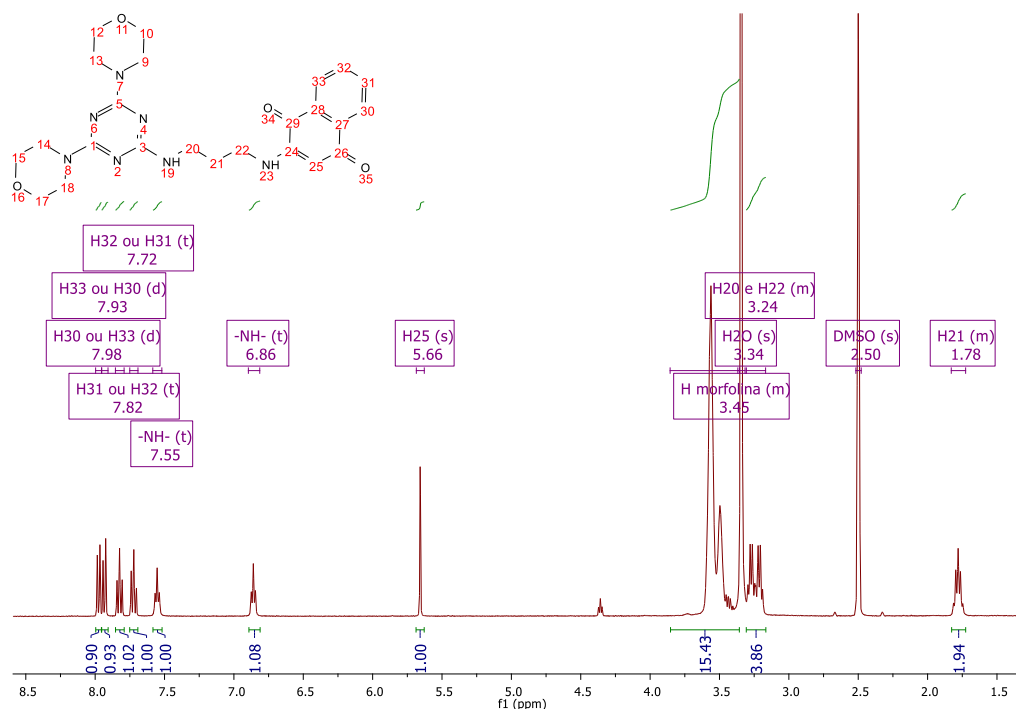
das bandas em 1605 cm^{-1} da ligação C=C conjugada, 1548 cm^{-1} da C=N, 1251 cm^{-1} da C-N e por fim em 1105 cm^{-1} a C-O-C.

Figura 51. Espectro de infravermelho do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naftaleno-1,4-diona **116**.



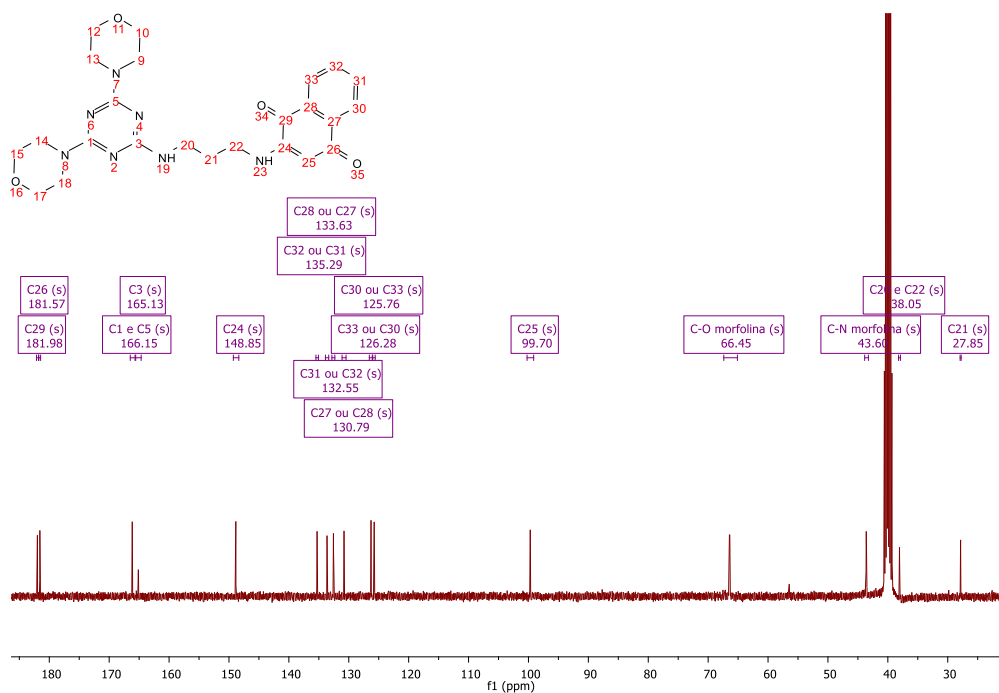
No espectro de RMN de ^1H de **116** (Figura 52) foi observado os sinais característicos do anel naftoquinônico em 7,98 e 7,93 ppm referente aos hidrogênios 30 e 33, e em 7,82 e 7,72 ppm atribuído a H31 e H32, e por fim, o singlete em 5,66 ppm, como foi observado nas outras estruturas já discutidas. Nos tripletos em 7,55 ($J = 6,1\text{ Hz}$) e 8,86 ($J = 5,9\text{ Hz}$) ppm observa-se os hidrogênios lábeis ligados aos átomos de nitrogênio da diamina. Já na região alifática encontra-se o sinal característico dos anéis morfolínicos em 3,45 ppm como um multipeto, além dos sinais dos metilenos da diamino em 3,24 e 1,78 ppm.

Figura 52. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naftaleno-1,4-diona **116**.



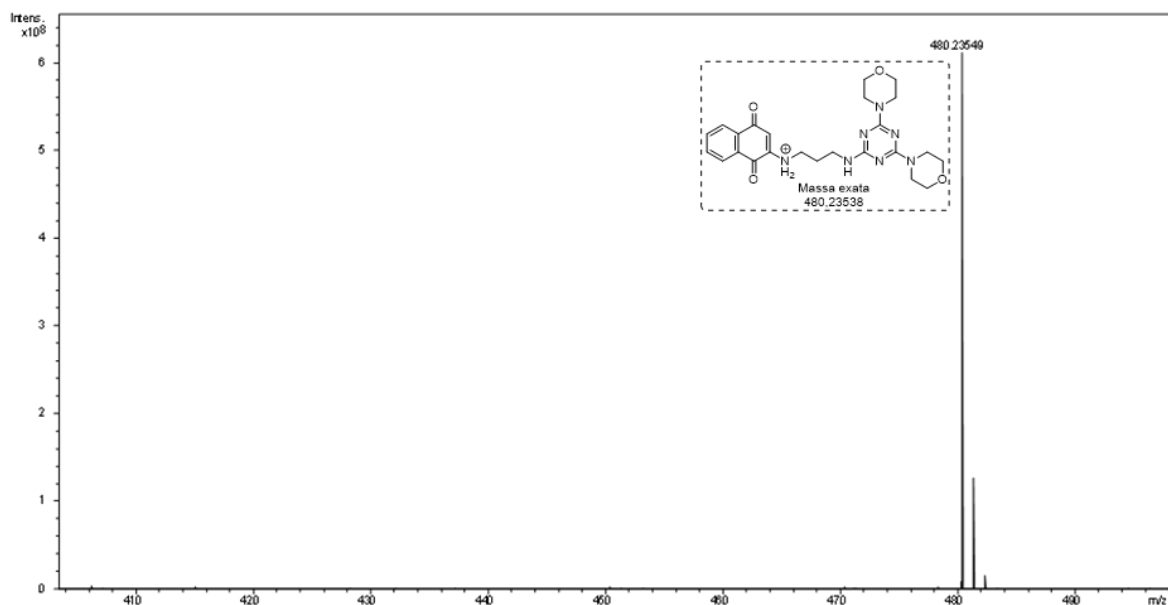
No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 53), conforme o esperado, foi observado na região mais desblindada os sinais referentes a naftoquinona, em 181,9 e 181,5 ppm os sinais das carbonilas e os carbono aromáticos por sua vez são os sinais em: 135,2 e 132,5 ppp (C31 e C32), 133,6 e 130,7 ppm (C27 e C28), 126,2 e 125,7 (C30 e C33). Os carbonos 24 e 25 da quinona aparecem em 148,8 e 99,7 ppm. Além dos carbonos do anel triazínico em 166,1 e 165,1 ppm, atribuídos aos carbonos ligados aos anéis morfolínicos (C1 e C5) e do carbono ligado a enaminonaftoquinonas (C3), respectivamente. Já os metilenos do anel morfolínico em 66,4 ppm, os vizinhos ao oxigênio (C10, C12, C15 e C17), e em 43,6 ppm os mais próximos do nitrogênio (C9, C13, C14 e C18), por fim os metilenos da diamina em 38,0 (C20 e C22) e 27,8 (C21) ppm.

Figura 53. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona **116**.



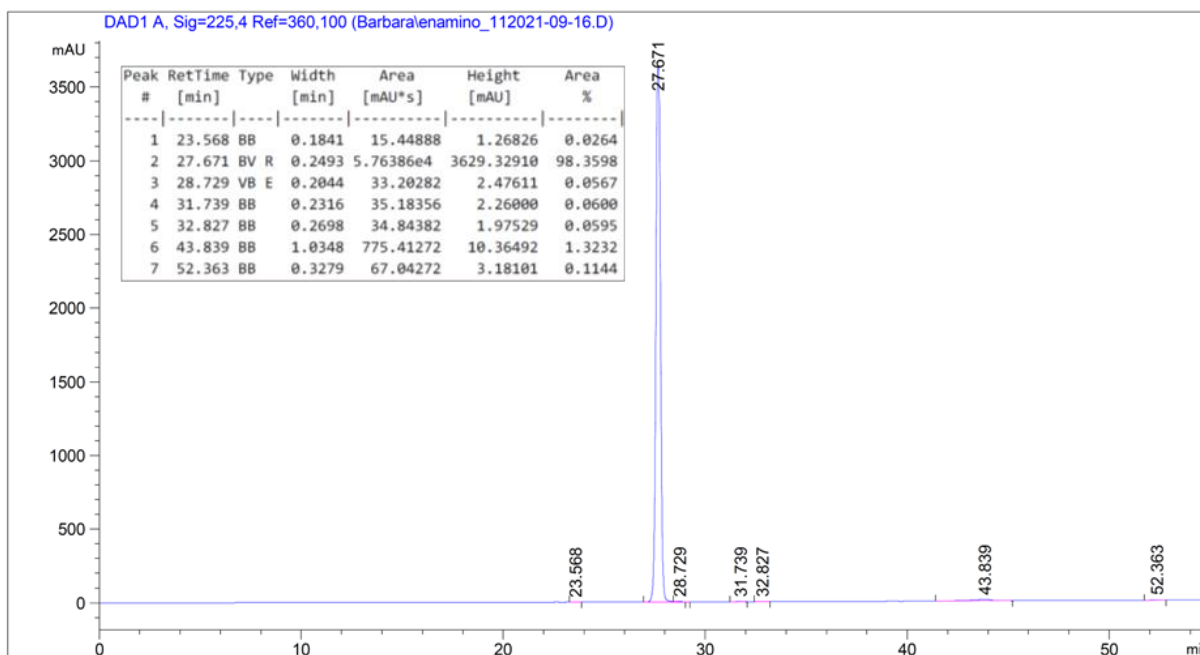
No espectro de massas de alta resolução - ESI-(+) de **116** (Figura 54) encontra-se o pico referente ao cátion $[\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{N}_7]^+$ com sinal em 480,23549 m/z , que ao ser comparado com o valor teórico (480,23538 m/z) apresenta um erro relativo de 0,23 ppm, corroborando assim com a caracterização do composto.

Figura 54. Espectro de Massas do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona **116**.



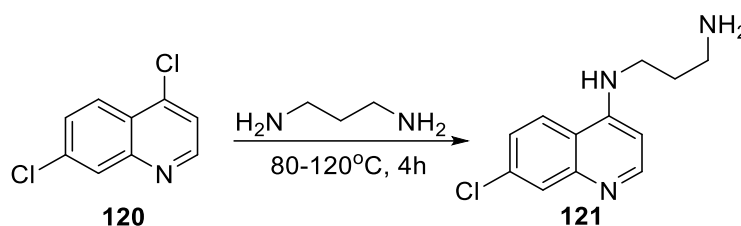
A fim de verificar a pureza do sólido obtido foi realizada a análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Figura 55), em uma coluna de fase reversa C18 e utilizando como fase móvel uma mistura água e acetonitrila com gradiente de eluição de 10% até 100% do solvente orgânico, obtendo um resultado de 98,35%.

Figura 55. Cromatograma de CLAE do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona **116**.



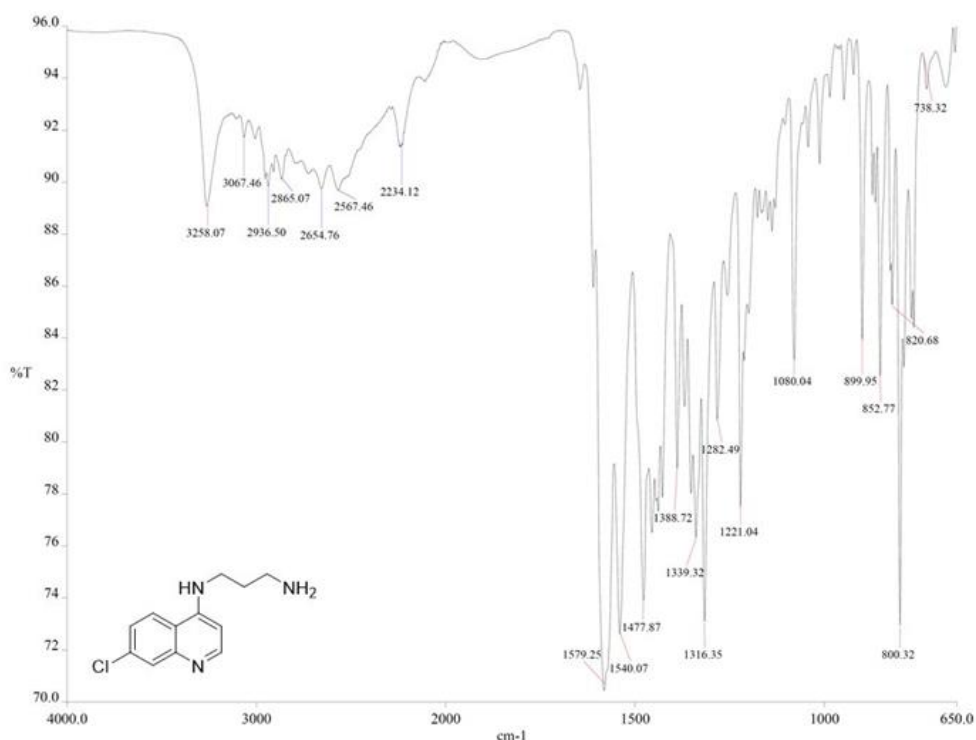
Para a síntese da última enaminonaftoquinona **117**, primeiro preparou-se a aminoquinolina **121** por uma reação de S_NAr entre a 4,7-dicloroquinolina **120** e o 1,3-diaminopropano (Figura 56), seguindo o procedimento experimental descrito por Cormo e colaboradores.⁷¹ A reação foi realizada a altas temperaturas (80 -110 °C) por 4h, formando um sólido branco com rendimento de 87% e intervalo de fusão de 146-148 °C.

Figura 56. Síntese do intermediário **121**.



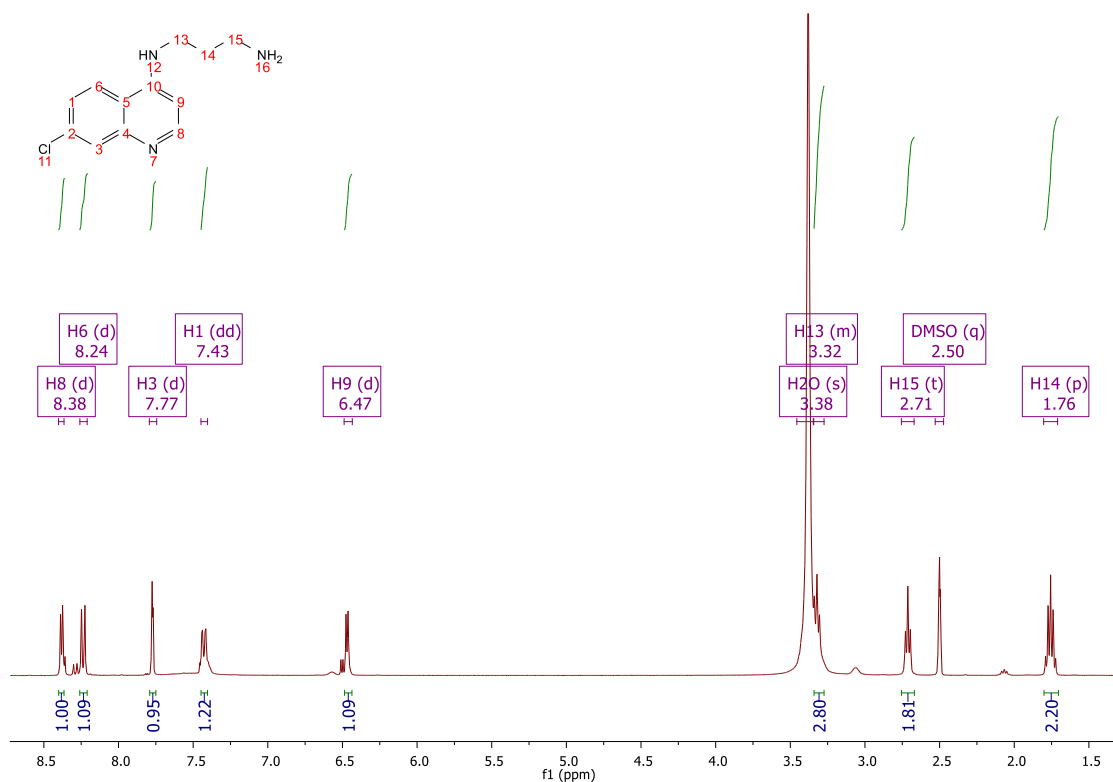
A análise do espectro de infravermelho de **121** (Figura 57) mostraram as bandas em 3258 cm^{-1} da deformação axial e em 1579 cm^{-1} da deformação angular, ambas da ligação N-H. Em 2936 e 2865 cm^{-1} a deformação axial assimétrica e simétrica dos metilenos, respectivamente. O espectro apresentou também a banda em 1540 cm^{-1} da deformação axial de C=C.

Figura 57. Espectro de infravermelho do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **121**.



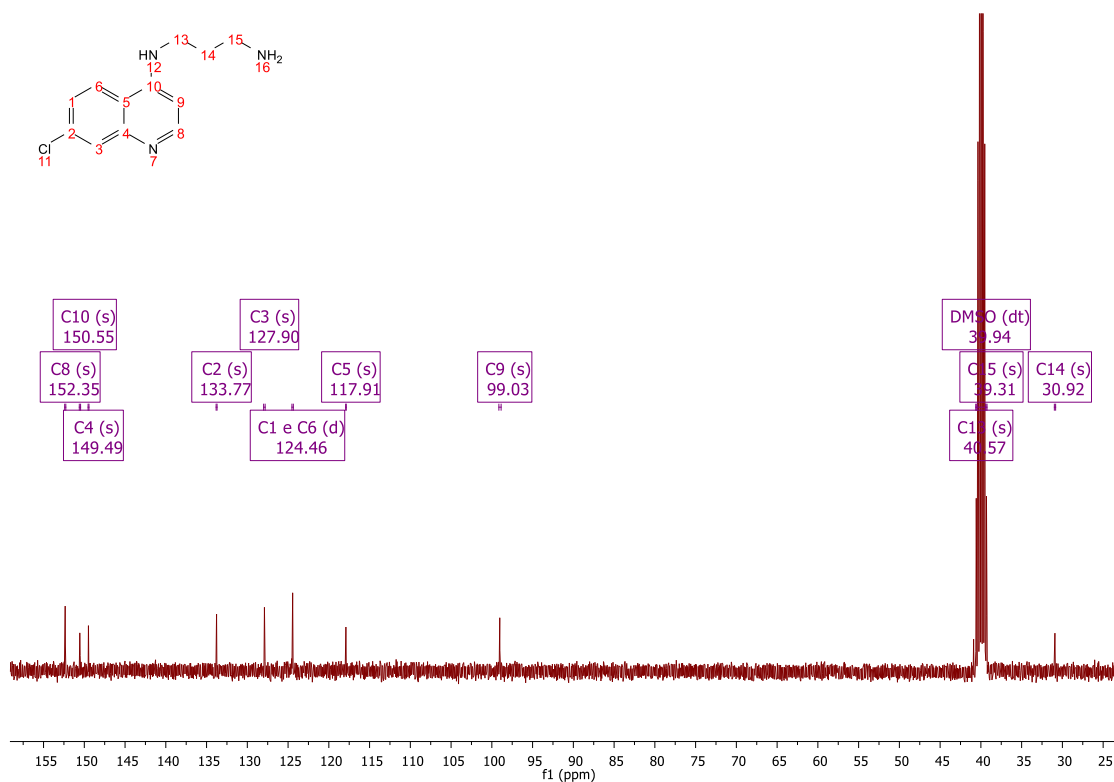
No espectro de RMN de ^1H de **121** (Figura 58) notou-se dois dubletos em 8,38 e 6,47 ppm referentes aos hidrogênios 8 e 9, acoplando com $J = 5,5\text{ Hz}$. Ainda na região aromática, em 8,24 ppm observou-se um dubleto referente a H6 que acopla com H1 em 7,43 ppm com constante de acoplamento de $9,0\text{ Hz}$. O mesmo hidrogênio 1 (duplo dubleto) também acopla com $J = 2,2\text{ Hz}$ com H3 em 7,77 ppm. Na região mais blindada atribuiu-se os três sinais referentes aos metilenos da diamina em 3,32; 2,71 e 1,76 ppm dos hidrogênios 13, 15 e 14, respectivamente.

Figura 58. Espectro de RMN de ^1H do composto N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina **121**.



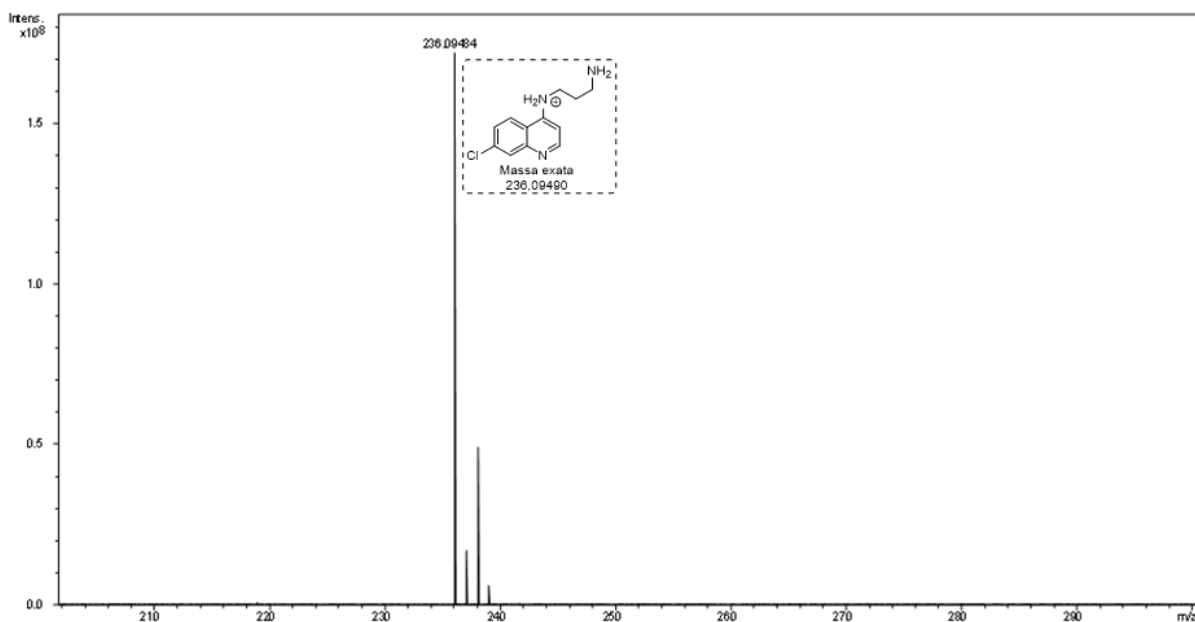
No espectro de RMN de ^{13}C desse composto (Figura 59) foi possível observar os sinais da quinolina na região aromática, em 152,3 (C8); 150,5 (C10); 149,4 (C4); 133,7 (C2); 127,9 (C3); 124,4 (C1 e C6); 117,9 (C5) e 99,0 (C9) ppm. Já a região alifática apresentou os metilenos da amina em 40,5 (C13); 39,3 (C15) e 30,9 (C14) ppm.

Figura 59. Espectro de RMN de ^{13}C do composto N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina **121**.



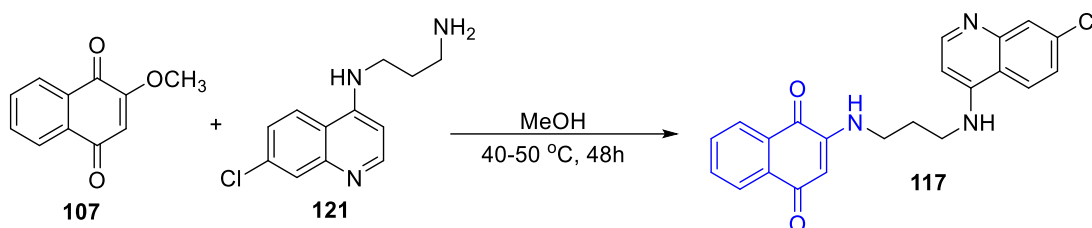
O espectro de massas de alta resolução - ESI-(+) do composto **121** (Figura 60) mostra um sinal de razão massa/carga 236,09484 da estrutura protonada $[\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{Cl}]^+$, com um erro de 0,26 ppm (cal = 236,09490 m/z).

Figura 60. Espectro de Massas do composto N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina **121**.



De posse dos intermediários **107** e **121** partiu-se para a síntese da molécula-alvo **117** contendo os núcleos naftoquinônico e quinolínico, utilizando metanol como solvente, com aquecimento brando por 48h. O produto foi obtido como um sólido laranja com 84% de rendimento e intervalo de fusão 210-212 °C (Figura 61).

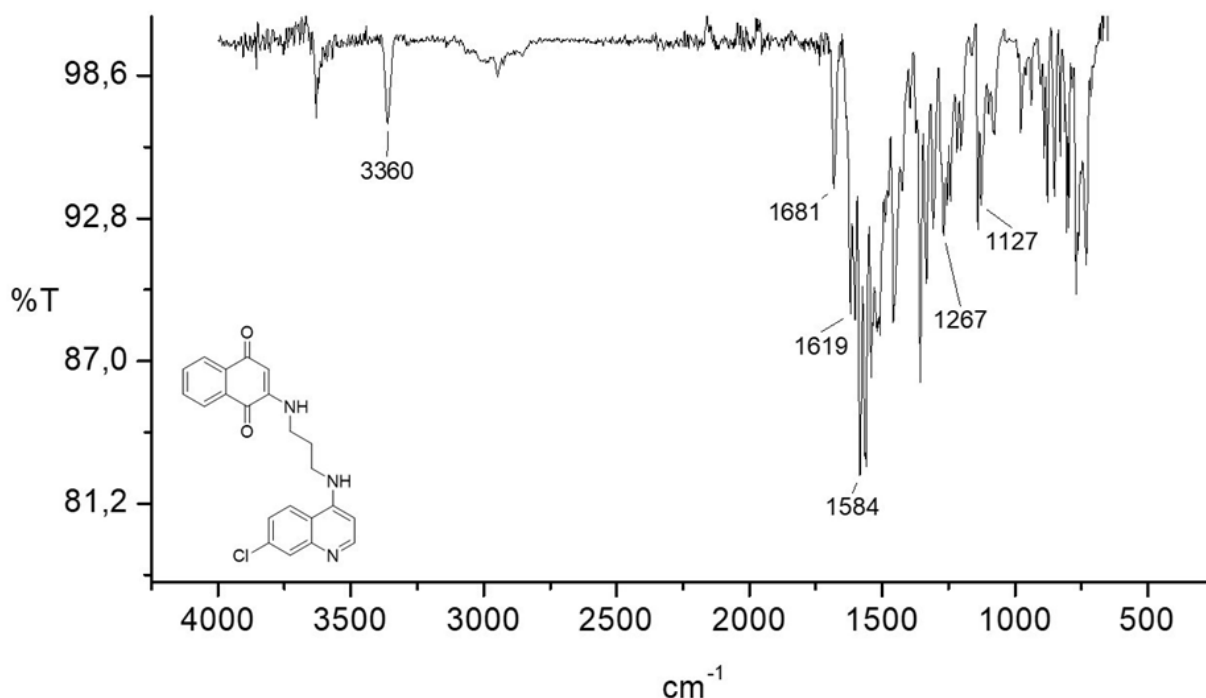
Figura 61. Síntese da enamina-naftoquinona **117**.



Os parâmetros reacionais para formação do composto **117** foram recentemente otimizado pelo nosso grupo de pesquisa.⁶⁸ O maior rendimento (84%) foi obtido utilizando metanol como solvente, porém o tempo reacional foi de 48h. Já quando a água é usada como solvente, o tempo é reduzido para 2h, mas o rendimento cai para 14%. Em um trabalho do nosso grupo de pesquisa,^{72,73} discutiu-se a síntese de derivados naftoquinônicos em água, onde foi mostrado que a frequência de colisões efetivas é provavelmente aumentada, pois a naftoquinona é repelida pelas moléculas de água (efeito hidrofóbico), resultando na diminuição do tempo reacional.

A análise de infravermelho do composto **117** (Figura 62) mostrou a banda em 3360 cm^{-1} referente a deformação axial dos hidrogênios do anel quinolínico, em 1681 cm^{-1} a deformação axial das carbonilas da naftoquinona, em 1619 cm^{-1} a deformação axial da ligação C=C conjugada, em 1584 cm^{-1} a deformação angular N-H e, por fim, em 1267 cm^{-1} a deformação axial C-N.

Figura 62. Espectro de infravermelho do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.

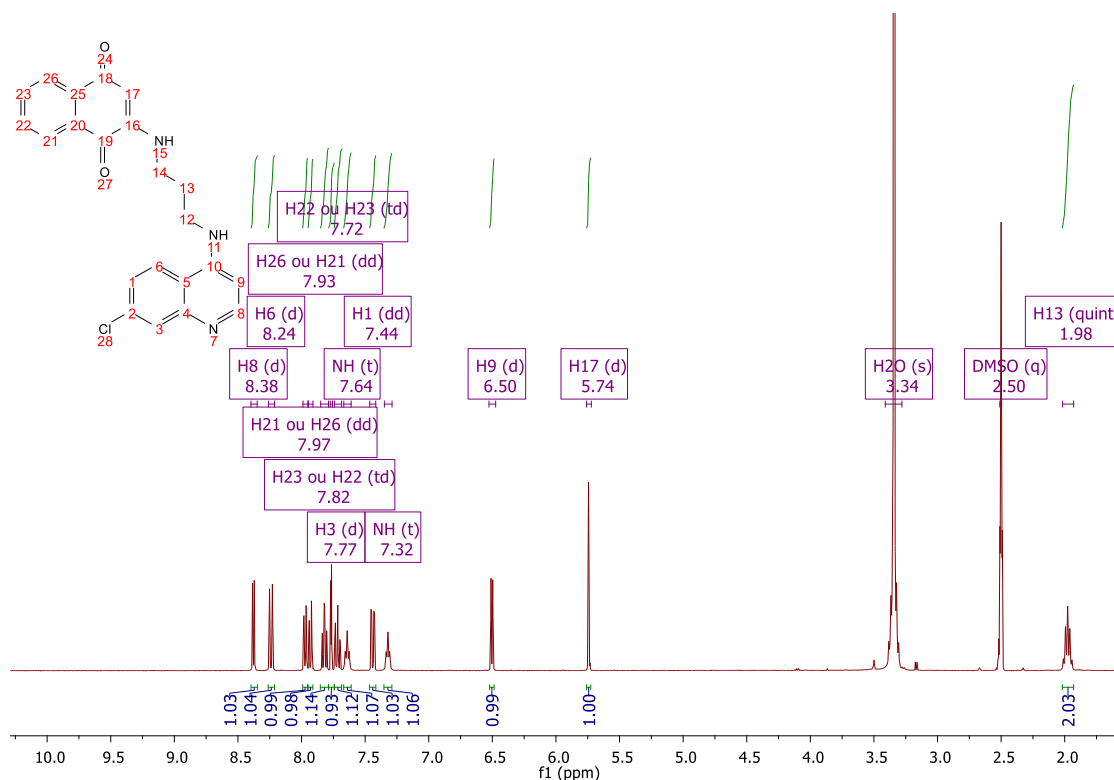


Na região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **117** (Figura 63) foram observados os hidrogênios dos núcleos quinolínico e naftoquinônico. Os sinais da quinolina são: dois dubletos em 8,38 e 6,50 ppm referentes aos hidrogênios 8 e 9, respectivamente, que acoplam entre si com $J = 5,4$ Hz. Além do duplo dubleto em 7,44 ppm referente ao hidrogênio 1 que acopla com o hidrogênio 6 em 8,24 ppm (dubleto) com $J = 9,0$ Hz e com o hidrogênio 3 em 7,77 ppm (dubleto) com $J = 2,2$ Hz. Os sinais do núcleo naftoquinônico foram descritos como: dois triplos dubletos em 7,82 e 7,72 ppm (H22 e H23) e dois duplos dubletos em 7,97 e 7,93 ppm (H21 e H26). Os dois sinais de segunda ordem dos hidrogênios 22 e 23 são originados do acoplamento com os hidrogênios vizinhos com $J = 7,5$ Hz e com o acoplamento em w na ordem de 1,4 Hz. O mesmo pode ser observado em H21 que acopla com H22 em 7,6 Hz e com H23 em 0,9 Hz por meio de um J_4 (a mesma análise pode ser feita com H26). Outro sinal característico do núcleo naftoquinônico é o singlete em 5,74 ppm de H17.

São observados também dois tripletos em 7,64 e 7,32 ppm atribuídos aos hidrogênios lábeis ligados aos átomos de nitrogênio. Na região alifática foi visto apenas um dos três sinais esperados com deslocamento químico de 1,94 ppm como um quintupletos de $J = 6,8$ Hz e pela multiplicidade concluiu-se que se trata de H13. A ausência dos dois outros tripletos ocorre devido ao grande sinal da água em 3,34 ppm. Essa

suposição pode ser comprovada pelo COSY ^1H - ^1H (Figura 64), onde é possível ver a correlação do sinal da água com o metileno em H13 e com os hidrogênios ligados aos nitrogênios.

Figura 63. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.



O espectro de RMN de ^{13}C de **117** é apresentado na Figura 65. Os sinais presentes em 181,5 e 181,2 ppm foram atribuídos as carbonilas da naftoquinona (C18 e C19), O sinal em 148,5 ppm, região com grupos vizinhos retiradores de elétrons, é atribuído ao carbono C16. Na região aromática encontra-se os sinais dos núcleos naftoquinônico: 133,3 (C25); 132,1 (C22 e C23); 130,4 (C20); 127,4 (C21) e 125,3 (C26) ppm, como também do núcleo quinolínico: 151,8 (C8); 149,9 (C10); 149,0 (C4); 134,8 (C3); 133,1 (C2); 124,0 (C1 e C6); 117,4 (C5) e 98,7 (C9) ppm. Por fim, na região alifática o sinal dos metilenos em 25,9 ppm.

Figura 64. Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.

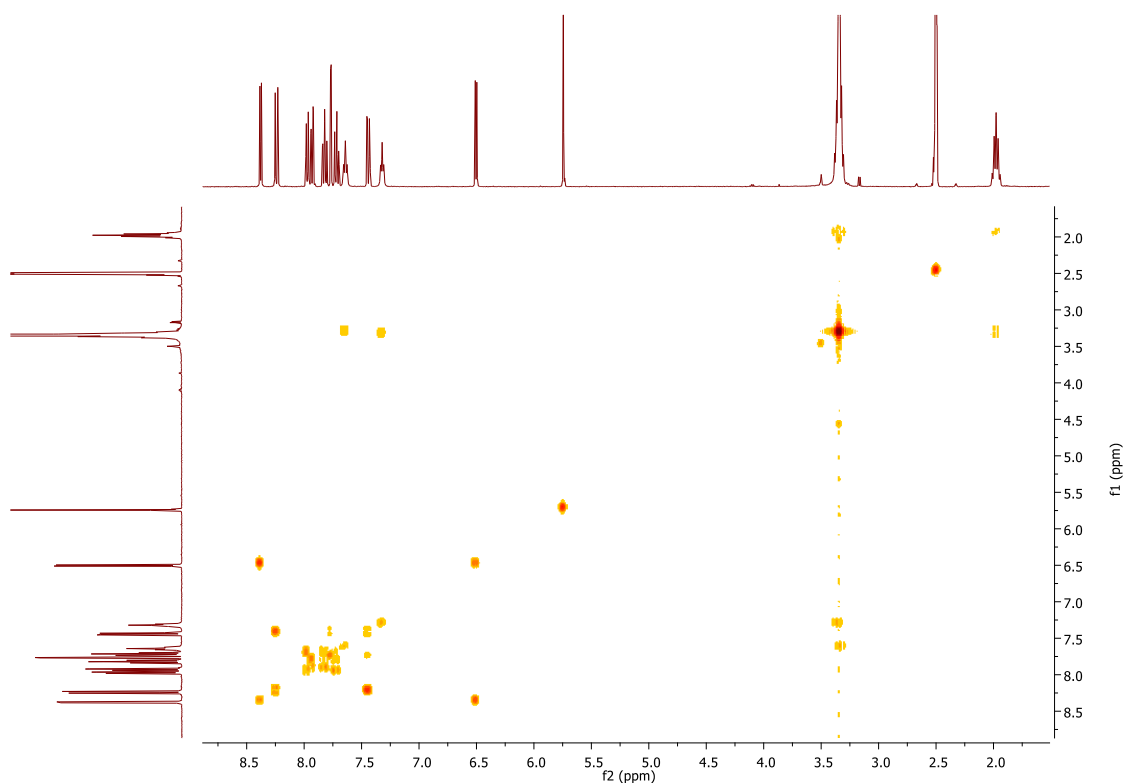
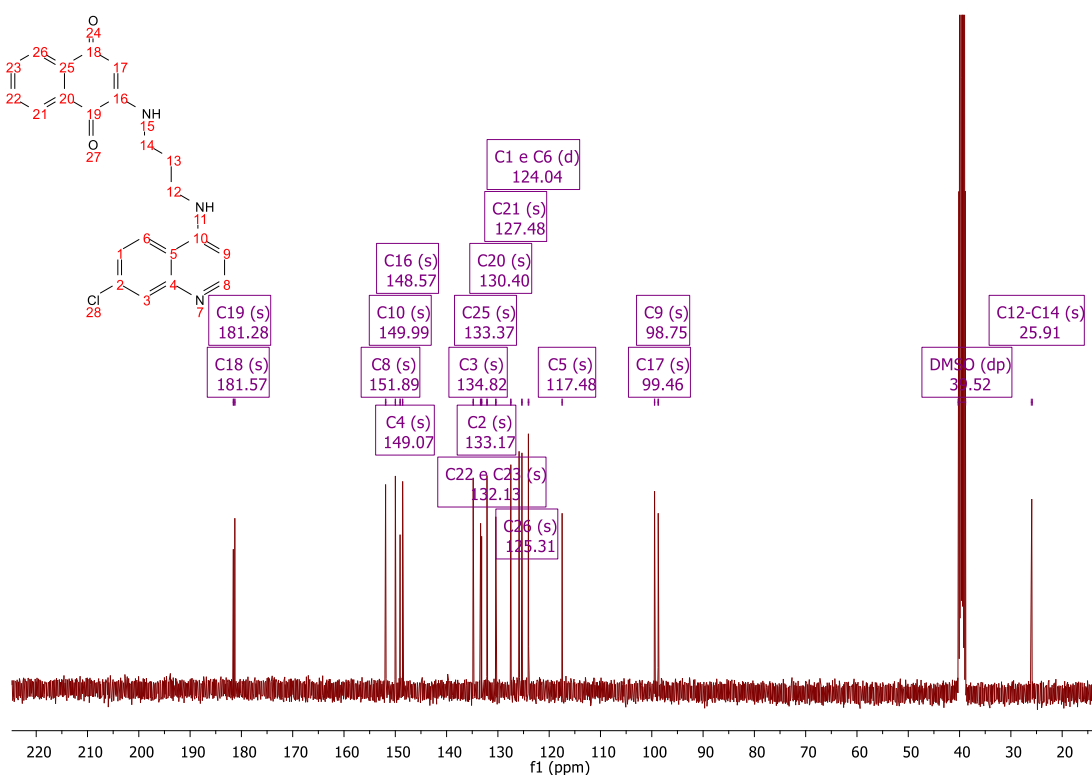
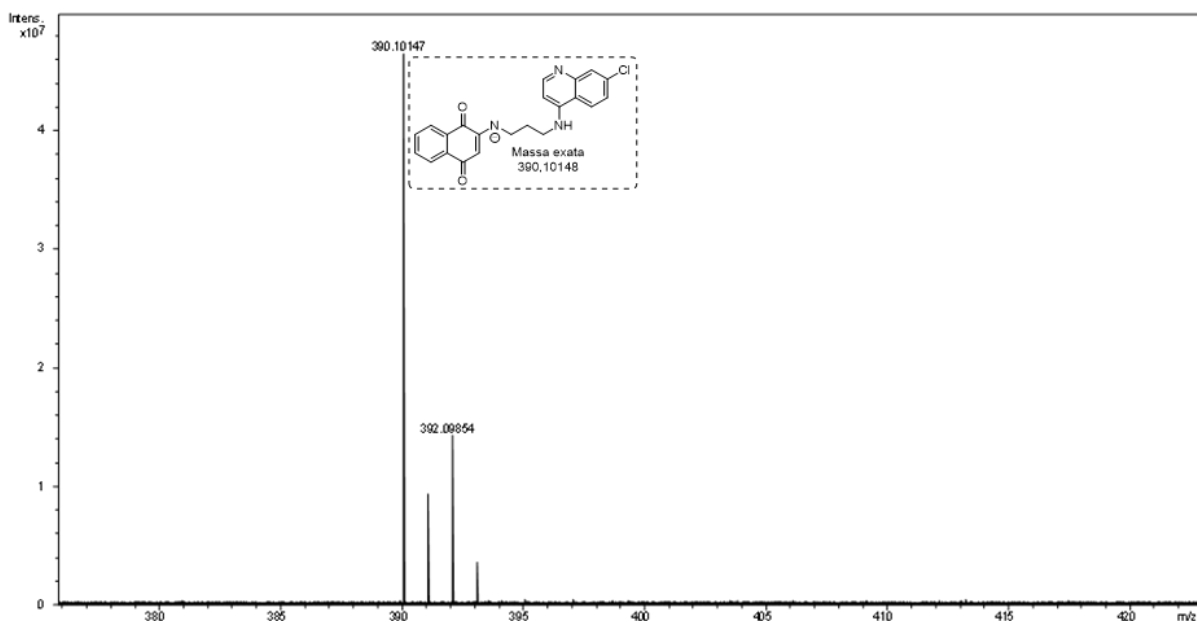


Figura 65. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.



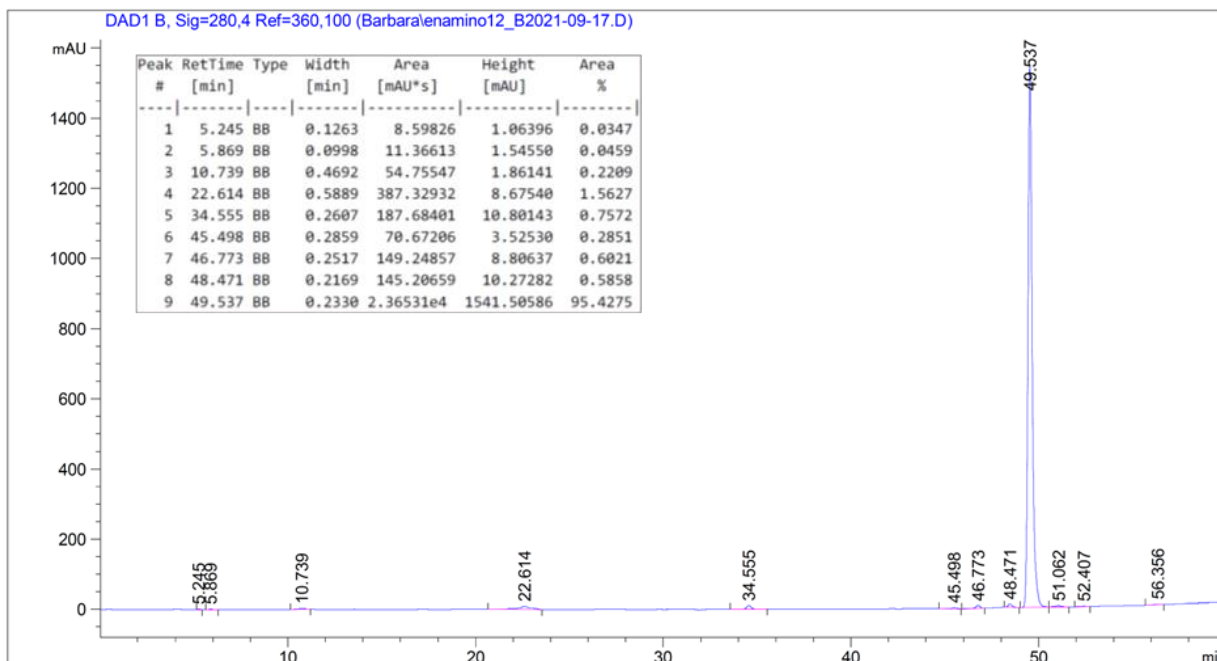
No espectro de massas de alta resolução - ESI(-) do composto **117** (Figura 66) observou-se a presença do pico de razão massa/carga em 390,10147, correspondente a forma protonada $[C_{22}H_{17}O_2N_3Cl]^+$ com erro de 0,03 ppm (cal = 390,10148 m/z). Também foi observado o padrão isotópico do cloro.

Figura 66. Espectro de Massas do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.



Para analisar a pureza do composto **117** foi realizada a análise de CLAE (Figura 67), em uma coluna de fase reversa C18 e utilizando como fase móvel uma mistura água e metanol com gradiente de eluição de 10% até 100% do solvente orgânico, obtendo um resultado de 95,42%.

Figura 67. Cromatograma de CLAE do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.



4.2. Ensaios Biológicos

Os ensaios biológicos foram realizados em parceria com o Laboratório de Oncologia Experimental – Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará junto a Professora Dra. Cláudia do Ó Pessoa.

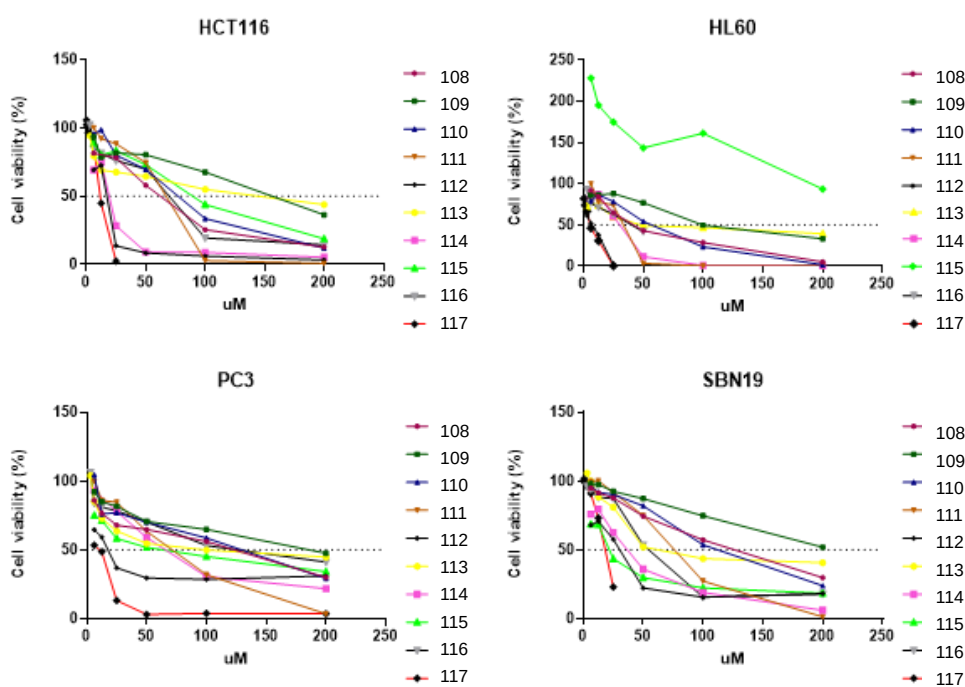
As enaminonaftoquinonas **108-117** sintetizadas, foram testadas para suas atividades antiproliferativas *in vitro* contra quatro linhagens de células de câncer humano, incluindo HCT116 (carcinoma de cólon humano), PC3 (carcinoma de próstata), HL60 (leucemia promielocítica) e SNB19 (astrocitoma) por ensaio baseado em MTT (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio). Também foram avaliados os fármacos controle doxorrubicina e 5-fluorouracil e os resultados estão representados como a metade dos valores da concentração inibitória máxima (IC₅₀-μM) na Tabela 1.

Tabela 1. Atividades antiproliferativas dos híbridos contra as linhagens celulares HCT116, PC3, HL60 e SNB19.

Composto	IC ₅₀ [μM]			
	HCT116	PC3	HL60	SNB19
108	55,72	93,32	41,37	114,00
109	158,90	>200	111,10	>200
110	70,33	107,00	49,81	107,70
111	59,57	63,24	30,00	71,26
112	13,45	16,48	4,59	23,14
113	129,90	70,64	86,45	80,02
114	16,29	62,83	27,48	31,16
115	81,76	59,17	>200	21,12
116	57,51	41,83	53,41	125,60
117	11,47	8,39	4,78	16,95
Doxorrubicina	-	-	2,05	0,76
5-Fluorouracil	19,27	32,87	-	-

A representação gráfica da média da concentração inibitória (IC₅₀) dos compostos **108-117** contra as linhagens testadas está demonstrada na Figura 68.

Figura 68. Média de concentração inibitória (IC₅₀) do composto sintetizado **108-117** e contra as linhas de células tumorais HCT116, PC3, HL60 e SNB19.



Considerando os resultados, é possível destacar os melhores resultados para cada linhagem, onde **112**, **114** e **117** com IC_{50} de 13,45, 16,29 e 11,47 μM , respectivamente, para HCT116, PC3 e HL60; **112** e **117** com valores de 16,48 e 8,39 μM , respectivamente para PC3, e 4,59 e 4,78 μM , respectivamente para HL60. Por fim, o composto **117** apresentou melhor resultado para a linhagem SNB19 com valor de IC_{50} de 16,95 μM . Os resultados obtidos para o composto **117** mostra o sinergismo entre os núcleos naftoquinônico e quinolínicos, uma vez que, apresentou boa atividade nas quatro linhagens.

Após análise dos resultados de atividade antiproliferativa, foi avaliada a atividade no ciclo celular, dos compostos **112** e **117** para a linhagem tumoral HCT116. O ensaio visa averiguar se os compostos testados estão envolvidos na parada do ciclo celular, e para isso, a linhagem é tratada por 24h e a proporção do conteúdo de DNA foi obtida por análise de citometria de fluxo (Figura 69). As amostras foram analisadas contra o controle positivo 5-fluorouracil (5-FU) e os dados sobre o efeito dos compostos na distribuição do ciclo celular de HCT116 foram reportados na Tabela 2.

Figura 69. Análise do ciclo celular das células HCT116 tratadas com **112** e **117** (5, 10 e 20 μM) após 24 h de incubação por citometria de fluxo.

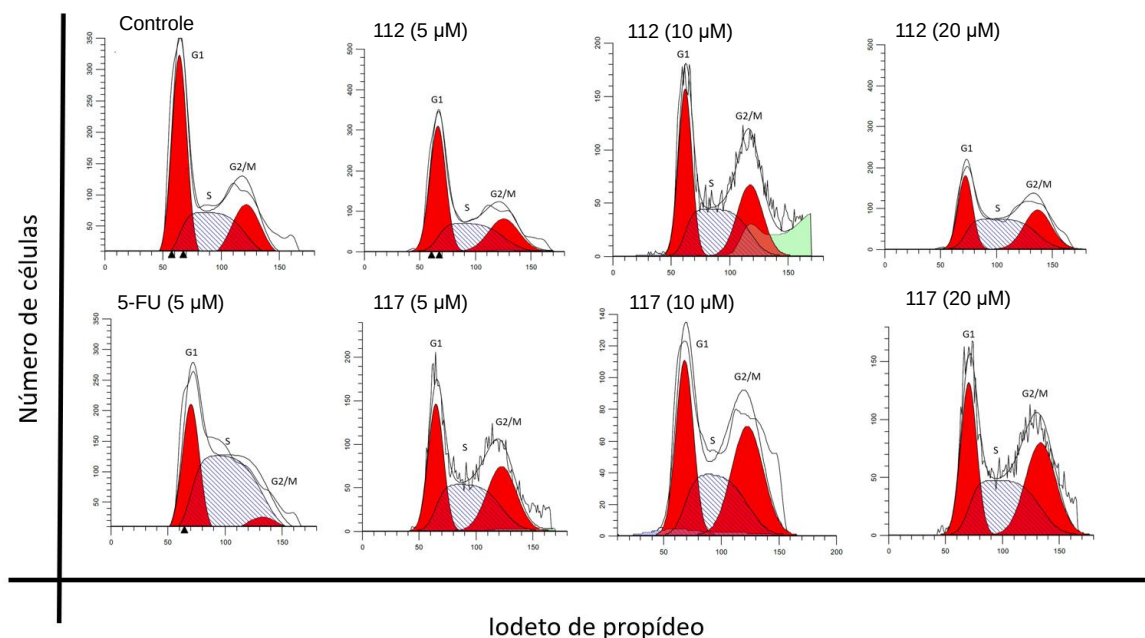
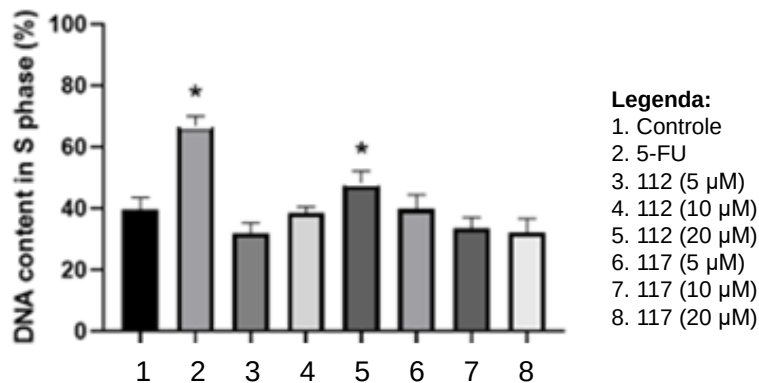


Tabela 2. Efeito das amostras na distribuição do ciclo celular de HCT-116. Os dados são apresentados como a média $\pm$ desvio padrão (DP) de três experimentos independentes realizadas em triplicata. O controle negativo (CTL) foi tratado com o veículo (0,1% DMSO) usado para diluir o composto testado. 5-FU foi usada como controles positivos.

Composto	Concentração (μ M)	Conteúdo de DNA (%)					
		G1		S		G2/M	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP
CTL	-	41,30	4,30	39,70	3,87	28,38	5,16
5-FU	5	30,93	3,56	66,60	3,42	3,55	3,21
112	5	43,77	4,64	31,95	3,44	23,00	4,16
	10	35,01	4,25	38,56	1,97	31,81	5,24
	20	30,41	4,23	47,57	4,61	21,15	4,05
117	5	31,70	2,80	39,86	4,57	22,09	4,04
	10	31,42	2,97	33,50	3,61	35,10	4,94
	20	33,86	5,02	32,17	4,56	28,72	6,63

O efeito do tratamento com 5-FU na distribuição do ciclo celular de HCT116 levou a um aumento significativo no número de células na fase S em relação ao controle negativo (39,70% no controle contra 66,60% no 5-FU, após incubação 24h), conforme descrito na literatura.⁷⁴ O composto **112**, na concentração de 20 μ M, induziu a parada do ciclo celular na fase S de forma estatisticamente considerável quando comparada ao controle negativo (39,70% no controle contra 47,57% para **112**, após incubação 24h). Já a amostra **117** não apresentou parada do ciclo celular em nenhuma das concentrações avaliadas (Figura 70).

Figura 70. Dados de conteúdo de DNA em fase S apresentados como média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes realizados em triplicata, calculado por Prism 6.0 (GraphPad/Intuitive Software for Science, San Diego, CA). Foram realizadas análises estatísticas para comparações múltiplas utilizando a ANOVA One-way seguida do Teste Bonferroni. * $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.



4.3. Estudos Computacionais

4.3.1. Relação Quantitativa Estrutura-Atividade (QSAR)

Os cálculos de Relação Estrutura-Atividade Quantitativa (QSAR) foi realizado em parceria com o Laboratório Multiusuário de Química Computacional e Laboratório de Modelagem Molecular e Espectroscopia Computacional junto aos Profs. Drs. Rodolfo Goetze Fiorot e José Walkimar de Mesquita Carneiro.

Após os resultados de IC_{50} e $-\log_{10}(IC_{50})$ obtidos para todas as linhagens celulares de câncer humano, tentou-se desenvolver uma relação estrutura-atividade quantitativa (QSAR) utilizando o software CODESSA,⁵⁶ para identificar descritores moleculares relevantes que permitam designar as características importantes para sua atividade anticancerígena.

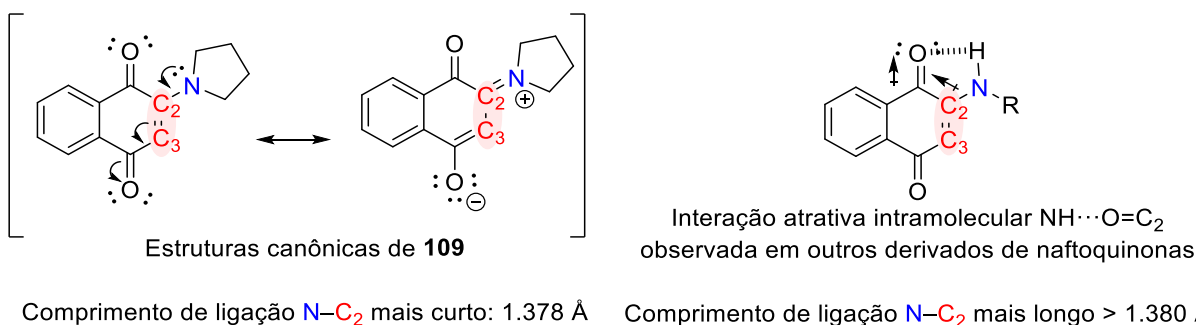
Primeiramente foi realizado uma busca conformacional randomizada para cada estrutura sintetizada **108-117**, bem como para os fármacos controle (doxorubicina e 5-fluorouracil) usando o Método Monte Carlo (algoritmo de Metropolis) com o Campo de Força Molecular Merck (MMFF, do inglês *Merck Molecular Force Field*) no software Spartan'10.⁵³ O confômero de menor energia obtido para cada composto foi totalmente otimizado com o método semiempírico AM1⁵⁴ no software MOPAC⁵⁵ e caracterizou-se essas estruturas como pontos de energia mínima na superfície de energia potencial por cálculo de frequência vibracional, em que todos os modos normais calculados são positivos.

Não foi possível estabelecer nenhuma correlação quantitativa significativa, uma vez que, os valores de atividade antiproliferativa dos compostos tiveram uma baixa variação. Contudo, os resultados sugerem de forma clara que as características eletrostáticas devem ter alguma relevância para a potência do composto, independente da linhagem celular avaliada. Em particular, foi observado que para as linhagens HCT116 e HL60, há uma tendência entre a interação coulombiana de C2-C3 do núcleo naftoquinônico (principalmente da repulsão internuclear) e a potência dos compostos.

Essa descoberta pode ser associada a geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), que é um dos mecanismos mais bem debatidos para a ação anticancerígena das naftoquinonas,^{75,76} induzindo estresse oxidativo e morte celular devido a redução do anel quinônico.⁷⁷ O processo redox só é possível pela capacidade da quinona de aceitar um ou dois elétrons para formar semiquinona ou o diânion, respectivamente, se tornando assim intermediários reativos que podem ser reoxidados pela geração molecular de ROS.⁷⁵ Levando em consideração esse modelo proposto, pode-se esperar que espécies com maior repulsão internuclear entre C2-C3 podem estar associadas a uma maior afinidade eletrônica, ou seja, sua capacidade de aceitar elétrons para diminuir essa interação repulsiva.

Outro ponto a ressaltar, a única enaminonaftoquinona que não é derivada de aminas primárias é a **109**, sendo ela também a menos ativa para todas as linhagens celulares testadas. Nas demais enaminonaftoquinonas **108** e **110-117** foi detectada uma interação atrativa entre o átomo de oxigênio da carbonila 1 e o átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio (Figura 71).

Figura 71. Representação esquemática das estruturas canônicas de **109** e comprimento de ligação N-C2 (esquerda); e a interação intramolecular atrativa nas enaminonaftoquinonas **108** e **110-117** (direita).



A ligação de hidrogênio intramolecular aumenta a polarização no grupo carbonila, levando a redução da densidade eletrônica na ligação C2-C3, e consequentemente aumentando a repulsão internuclear. No entanto, o composto **109**, que não faz essa interação, possui menor repulsão internuclear C2-C3. Também foi calculado um menor comprimento de ligação N-C2 para esta estrutura (1,378 Å, contra um valor acima de 1,380 Å para as restantes), sugerindo um maior caráter de ligação dupla N-C2 e assim uma maior capacidade de doação do par de elétrons não ligante do nitrogênio para a naftoquinona, o que reduz a repulsão internuclear.

Também foi notado que os maiores valores de momento de dipolo molecular total (μ) são das estruturas mais ativas para a linhagem SNB19, ou seja, apresentam menores valores de IC₅₀. O contrário também é observado.

A Tabela 3 mostra todos os valores computados de repulsão internuclear C2-C3, comprimento de ligação N-C2 e momento de dipolo molecular total para todas as enaminonaftoquinonas **108-117**.

Tabela 3. Valores de repulsão internuclear C2-C3, comprimentos de ligação N-C2 e momento de dipolo molecular total para todas as enaminonaftoquinonas computadas com o método semiempírico AM1.

Composto	Repulsão internuclear C2-C3	Comprimentos de ligação N-C2 / Å	Momento de dipolo molecular total, μ / D
108	135,273	1,382	1,780
109	134,876	1,378	2,547
110	135,389	1,386	2,255
111	135,228	1,380	2,799
112	135,037	1,385	3,960
113	135,219	1,380	2,145
114	135,429	1,390	3,873
115	135,364	1,386	3,732
116	135,375	1,387	1,985
117	135,583	1,395	3,610

Além disso, os melhores resultados para as linhagens PC3 e HL60 foram os compostos **112** e **117**, que apresentaram mais interação coulombiana (neste caso, atração elétron-núcleo) entre a ligação N-C. É importante destacar que essas

ligações, para as estruturas citadas, estão associadas às porções piridina e quinolina, respectivamente, que são possivelmente relevantes para a resposta biológica.

4.3.2. Ancoragem molecular

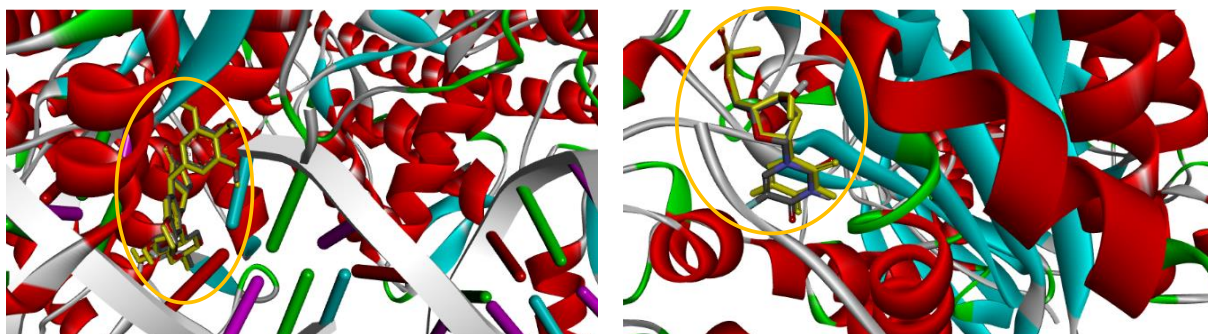
Os cálculos de ancoragem molecular foram realizados em parceria com a Prof. Dra. Anne Caroline Cândido Gomes da Faculdade de Farmácia do Instituto Federal do Rio de Janeiro.

Para investigar possíveis modos de ação anticancerígena das enaminonaftoquinonas **108-117**, foi realizada a simulação de ancoragem molecular com as enzimas topoisomerase-II (PDB 3QX3)⁷⁸ e timidilato sintase (PDB 6QXG)⁷⁹ no AutoDock Vina.⁸⁰ As biomacromoléculas foram escolhidas por serem alvos para o tratamento farmacológico de cânceres, como carcinoma de próstata⁸¹ e leucemia promielocítica,⁸² que têm como alvo a topoisomerase-II; e carcinoma de cólon, cujo tratamento envolve inibidores da timidilato sintase.⁸³ Além disso, compostos contendo o núcleo naftoquinona interagem com esses alvos.^{75,84}

Recentemente Collins e Osheroff,⁸⁵ propuseram que o núcleo naftoquinônico é capaz de aumentar a clivagem a fita dupla do DNA com intermédio da topoisomerase-II. Ademais, esse alvo biológico é frequente em estudos de ancoragem molecular onde o objetivo é investigar os modos de ação anticancerígena das 1,4-naftoquinona.⁸⁶⁻⁸⁸ De forma análoga, a inibição da timidilato sintase também foi investigada em simulações de encaixe experimental e molecular.^{84,89}

Inicialmente o protocolo foi validado reencaixando o etoposídeo e o 5-fluoro-2'-desoxiuridina-5'-monofosfato (ligantes cristalográficos da topoisomerase II e do timidilato sintase, respectivamente) com baixos valores calculados para o desvio quadrático médio (RMSD) (Figura 72).⁸⁰

Figura 72. Sobreposição do ligante cristalográfico etoposídeo (em amarelo) e seu ligante reencaixado no sítio de clivagem do DNA da enzima topoisomerase II (em cinza) – figura esquerda – e 2'-desoxiuridina-5'-monofosfato (FdUMP, em amarelo) e seu ligante reencaixado (em cinza) no sítio de ligação da timidilato sintase – figura direita.



Posteriormente, as enaminonaftoquinonas sintetizadas **108-117**, os ligantes cristalográficos e controles positivos foram submetidos a todos os receptores pela metodologia de ancoragem molecular. As energias de ligação obtidas foram reportadas na Tabela 4.

Tabela 4. Energias de ligação das enaminonaftoquinonas (**108-117**), Etoposídeo, FdUMP, 5-FU e Doxorrubicina contra os respectivos alvos moleculares (3QX3 e 6QXG).

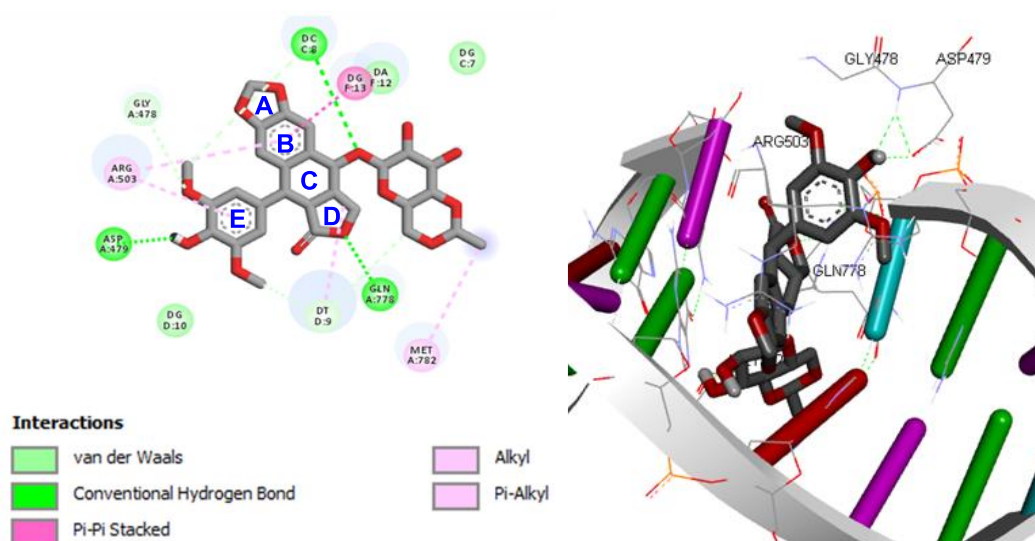
Compostos	Energia de ligação (Kcal mol ⁻¹)	
	Topoisomerase-II	Timidilato sintase
Etoposídeo		
(ligante cristalográfico)	-14,3	-
FdUMP		
(ligante cristalográfico)	-	-9,4
108	-7,8	-5,6
109	-8,8	-6,2
110	-8,1	-6,1
111	-7,9	-5,6
112	-10,1	-7,1
113	-10,0	-6,9
114	-8,5	-6,6
115	-9,6	-6,7
116	-10,7	-7,3
117	-11,0	-7,3
5-FU	-	-5,4
Doxorrubicina	-10,4	-

Os resultados de ancoragem para a topoisomerase-II mostram energias de ligação de -7,8 a -11,0 Kcal.mol⁻¹ para as enaminonaftoquinonas, -10,4 Kcal.mol⁻¹ da doxorubicina (controle) e -14,3 Kcal.mol⁻¹ do ligante cristalográfico (etoposídeo). Para o alvo timidilato sintase as energias de ligação para as enaminonaftoquinonas variaram de -5,6 a -7,3 Kcal.mol⁻¹, controle (5-FU) -5,4 Kcal.mol⁻¹ e ligante cristalográfico (FdUMO) -9,4 Kcal.mol⁻¹.

Os resultados obtidos sugerem que as enaminonaftoquinonas podem atingir os alvos moleculares e é notável o composto **117** que apresentou valores de energia de ligação mais negativo que os controles positivos (doxorubicina e 5-FU).

A ancoragem molecular do etoposídeo na topoisomerase-II apresentou inúmeras interações com a proteína e na porção do DNA. As interações por ligação de hidrogênio são observadas nos anéis E e D, também no oxigênio da ligação glicosilada com os aminoácidos Asp479, Gln778 e na porção do DNA Dc8, respectivamente. Nota-se interações π no anel E com Arg503 e no anel B com Arg503 e Dg13. As interações de Van der Waals estão presentes no metil ligado ao anel dioxano com o Met782 e mediam as interações nos fragmentos de DNA Dt9 e Da12 com o ligante cristalográfico (Figura 73). Essas interações também foram relatadas em estudos anteriores.⁷⁸

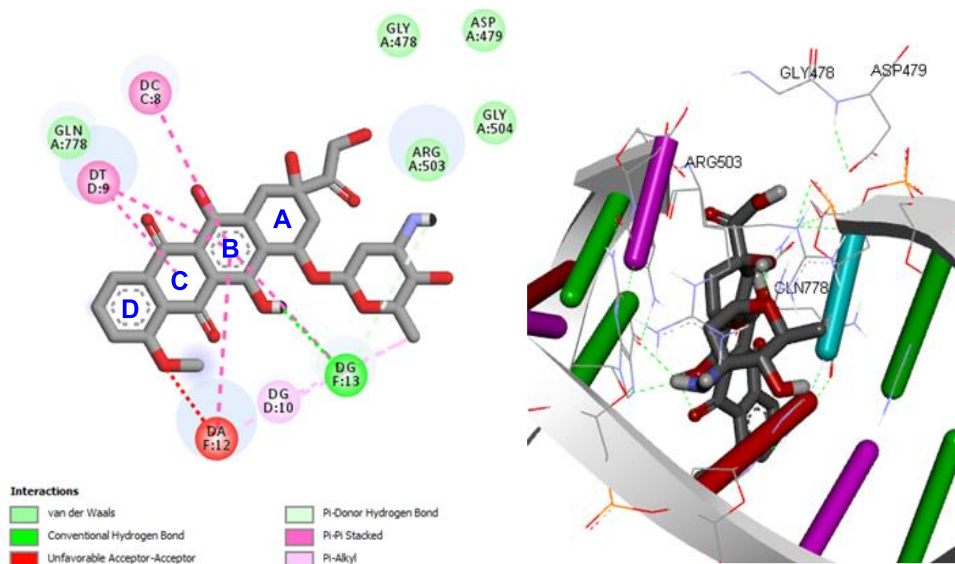
Figura 73. Resultado de ancoragem molecular do etoposídeo (2D e 3D) no sítio ativo da enzima topoisomerase-II.



O controle positivo testado, a doxorubicina, é um fármaco utilizado como tratamento para diferentes tipos de câncer, incluindo leucemia, onde atua por intercalação no

DNA e interrupção do seu reparo mediado pela topoisomerase-II, levando a apoptose.⁹⁰ Os cálculos de ancoragem mostram ligação de hidrogênio com o fragmento Dg13 e interações π com Dc8, Dt9 e Da12 (Figura 74).

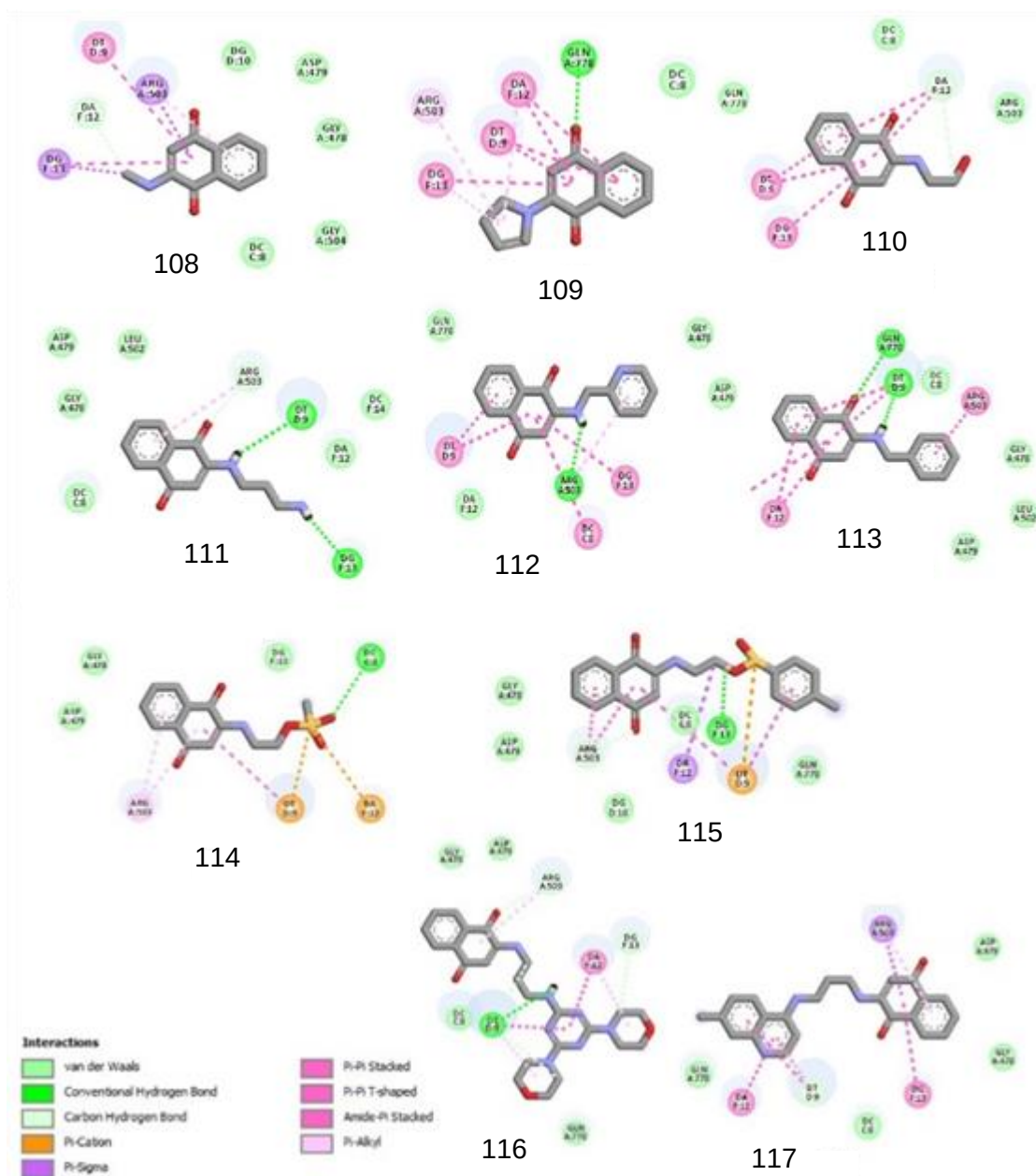
Figura 74. Resultado de ancoragem molecular da doxorubicina (2D e 3D) no sítio ativo da enzima topoisomerase-II.



A análise dos resultados das enaminonaftoquinonas **108-117** ancoradas no sítio ativo da topoisomerase-II (Figura 75) mostram interações π com o resíduo de aminoácido Arg503 e com os fragmentos de DNA Dg13, Dt9 e Da12. Onde as interações π entre as enaminonaftoquinonas com interações mais proeminentes, sobretudo a **117**, e os fragmentos de DNA citados, também estão presentes na doxorubicina e são consideradas interações chave para inibição da enzima.⁹¹

Para mais, os compostos **109** e **113** também formam ligação de hidrogênio com Gln778, que assim como Arg503, é um importante aminoácido para interação fármaco-enzima. A interação π -cátion é observada nos compostos **114** e **115** e os fragmentos Dt9 em ambos e Da12 apenas com **114**.

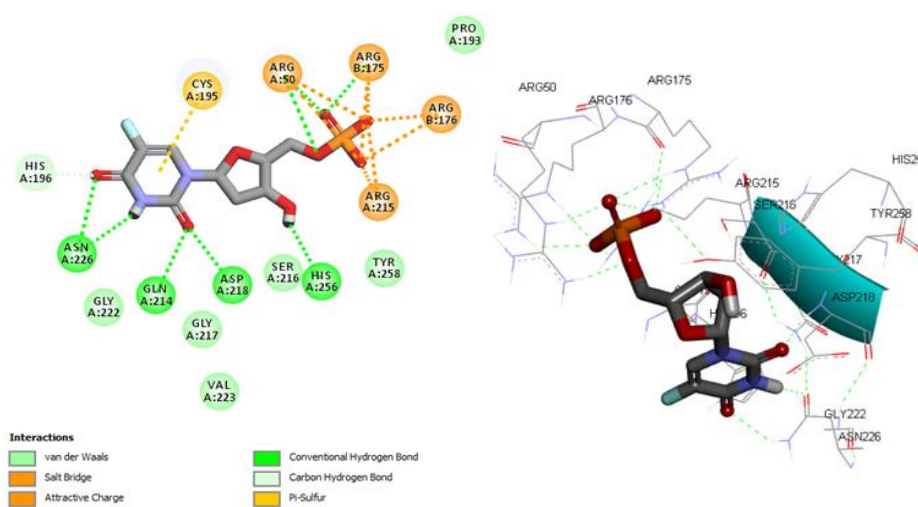
Figura 75. Resultado de ancoragem molecular das enaminonaftoquinonas **108-117** (2D) no sítio ativo da enzima topoisomerase-II.



O 5-FU é largamente utilizado na terapia contra o câncer, principalmente para carcinoma de cólon. Nas células de mamíferos, o 5-FU é convertido em seu metabólito fluorodesoxiuridina monofosfato (FdUMP), que inibe a produção de desoxitimidina monofosfato (dTMP) pela complexação com timidilato sintase (TS). A dTMP é importante para replicação do DNA e sua diminuição de produção induz a citotoxicidade.⁹²

O estudo de ancoragem molecular para o FdUMP (ligante cristalográfico da timidilato sintase), mostra ligações de hidrogênio nas carbonilas com os resíduos de aminoácidos Asn226, Gln214 e Asp218, também entre o nitrogênio da uracila e Asn226, além de estar presente na ribose com os resíduos Tyr258 e Arg50. Ademais, o grupo fosfato forma ponte salina e interações de cargas atrativas com Arg50, Arg175, Arg215 e Arg176 (Figura 76).

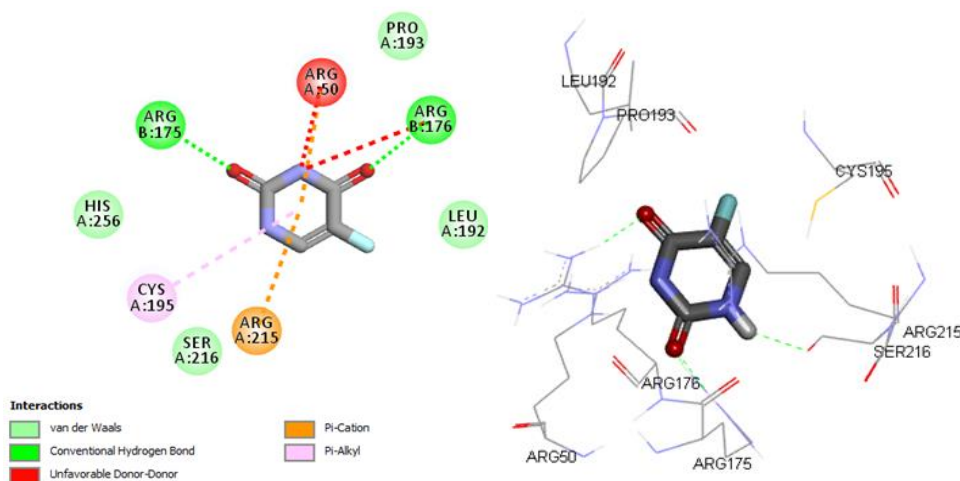
Figura 76. Resultado de ancoragem molecular do FdUMP (2D e 3D) no sítio ativo da enzima timidilato sintase.



Amin e colaboradores⁹³ já haviam relatado essas ligações de hidrogênio, e também entre o grupo fosfato com Arg50 e Arg215. Também já foi descrito na literatura que a interação com resíduos dos aminoácidos Arg50, Ser216, Asn226 e Asp218 são relevantes para a inibição da timidilato sintase.^{94,95}

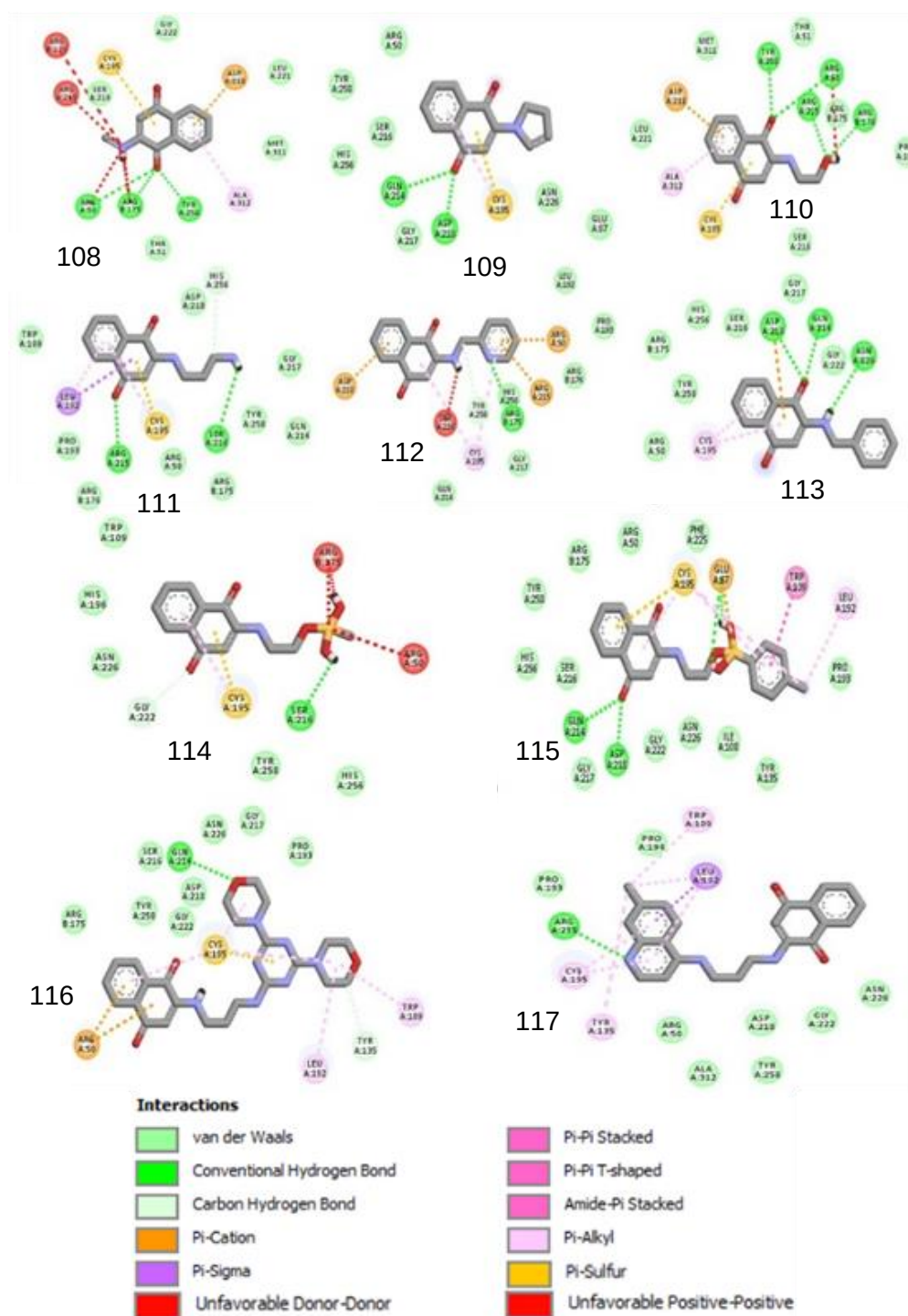
O fármaco controle (5-FU) utilizado no ensaio MTT também foi analisado por ancoragem molecular (Figura 77). As simulações mostraram ligações de hidrogênio entre as carbonilas com Arg175 e Arg176. Já o nitrogênio da uracila estabelece uma interação doador-doador desfavorável com Arg50, o que pode explicar a menor afinidade pelo sítio ativo da timidilato sintase quando comparado a seu metabólito ativo (FdUMP).

Figura 77. Resultado de ancoragem molecular do 5-FU (2D e 3D) no sítio ativo da enzima timidilato sintase.



A ancoragem molecular das enaminonaftoquinonas **108-117**, com o sítio ativo da timidilato sintase, indica que na maioria dos compostos ocorre ligações de hidrogênio e interações π com pelo menos um dos aminoácidos essenciais já mencionados (Figura 78). Assim como para o ligante cristalográfico (FdUMP), há formação de ligação de hidrogênio entre **108-110**, **113**, **115** e **116** com os resíduos de aminoácidos Gln214 e Tyr258. Além disso, os compostos **108** e **110** fazem ligação de hidrogênio com Arg175 e Arg176, respectivamente, o que não é observado em FdUMP. Algumas interações π a mais também foram observadas para algumas enaminonaftoquinonas, como **112** com Arg215, **116** com Arg50, **117** com Tyr135, além de **116** e **117** com Trp109, o que pode justificar suas melhores interações energéticas com a enzima timidilato sintase.

Figura 78. Resultado de ancoragem molecular das enaminonaftoquinonas **108-117** (2D) no sítio ativo da enzima timidato sintase.



5. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram sintetizadas dez enaminonaftoquinonas **108-117**, a partir da 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**, por uma metodologia simples, rápida e eficiente com bons rendimentos. Todas as 2-amino-1,4-naftoquinonas **108-117** foram testadas para suas atividades antiproliferativas *in vitro* contra quatro linhagens de células de câncer humano, incluindo HCT116 (carcinoma de cólon humano), PC3 (carcinoma de próstata), HL60 (leucemia promielocítica) e SNB19 (astrocitoma) por ensaio baseado em MTT (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio). Os compostos **112** e **117** se destacaram apresentando potencial citotóxico predominante em todas as cepas testadas. O resultado obtido para **117** mostra o sinergismo entre os núcleos naftoquinônico e quinolínicos da estrutura.

O estudo de SAR mostrou que a densidade eletrônica e a interação coulômbica entre as ligações C2-C3 do núcleo naftoquinônico, principalmente pela repulsão internuclear, podem estar relacionadas a modulação da atividade biológica e essa descoberta pode ser associada a geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS). A ancoragem molecular das enaminonaftoquinonas **108-117** mostrou um grande potencial para atuação como moléculas anticancerígenas, possivelmente, por meio da interação com as enzimas topoisomerase-II e timidilato sintase. Destacando os compostos **112** e **117** que apresentaram alta afinidade com os sítios ativos das enzimas analisadas, sugerindo que essas estruturas podem atuar como anticâncer por interagirem com diferentes alvos moleculares.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ferraz, H. M. C. & Gonçalo, E. R. S. Preparações e aplicações sintéticas recentes de enaminonas. *Quim. Nova* **30**, 957–964 (2007).
2. Stefani, H. A., Costa, I. M. & Silva, D. de O. An easy synthesis of enaminones in water as solvent. *Synthesis (Stuttg)*. 1526–1528 (2000) doi:10.1055/s-2000-7608.
3. Katritzky, A. R., Ghiviriga, I., Oniciu, D. C., O’Ferrall, R. A. M. & Sinead, M. W. Study of the enol-enaminone tautomerism of α -heterocyclic ketones by deuterium effects on ^{13}C chemical shifts. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **12**, 2605–2608 (1997).
4. Eremina, J. A. *et al.* Synthesis , crystal structures , spectroscopic , and cytotoxicity study of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Pd(II) complexes with 2-anilinomethylidene-5 , 5-dimethylcyclohexene-1,3-dione. *Polyhedron* **178**, (2020).
5. Li, M., Fang, D., Geng, F. & Dai, X. Silver-catalyzed efficient synthesis of enaminones from propargyl alcohols and amines. *Tetrahedron Lett.* **58**, 4747–4749 (2017).
6. Apraku, J. & Okoro, C. O. Design, synthesis and anticonvulsant evaluation of fluorinated benzyl amino enaminones. *Bioorganic Med. Chem.* **27**, 161–166 (2019).
7. FERRAZ, H. M. C. & PEREIRA, F. L. C. Síntese de enaminonas. *Quim. Nova* **27**, 89–95 (2004).
8. DIXON, K. & GREENHILL, J. V. Use of Cyclohexane-1,3-dione derivatives in the preparation of enaminones. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **20**, 2211–2214 (1976).
9. OKADA, E., MASUDA, R., HOJO, M. & YOSHIDA, R. A Facile and Convenient Synthetic Method for 3-Trifluoroacetylpyrroles. *Heterocycles* **34**, 1435–1441 (1992).
10. SIMCHEN, G. & SCHMIDT, A. 4-Dimethylamino-1-trifluoroacetyl-pyridinium-trifluoroacetat: Ein effizientes Reagens zur Synthese von Trifluormethyl-1,3-dicarbonyl-Verbindungen. *Synthesis (Stuttg)*. **1997**, 117–120 (1997).
11. FARGHALY, T., ABO ALNAJA, A. M. & SHAABAN, M. R. *Recent Advances in Synthesis and Reactions of β -Amino- α, β -Enones (Enaminones)*. *Current*

Organic Synthesis vol. 18 (2021).

12. FOCKEN, T. & CHERETTE, A. B. Stereoselective synthesis of pyridinones: Application to the synthesis of (-)-barrenazines. *Org. Lett.* **8**, 2985–2988 (2006).
13. KONG, X., LIU, Y., LIN, L., CHEN, Q. & XU, B. Electrochemical synthesis of enaminones: Via a decarboxylative coupling reaction. *Green Chem.* **21**, 3796–3801 (2019).
14. Amaye, I. J., Haywood, R. D., Mandzo, E. M., Wirick, J. J. & Jackson-Ayotunde, P. L. Enaminones as building blocks in drug development: Recent advances in their chemistry, synthesis, and biological properties. *Tetrahedron* **83**, 131984 (2021).
15. Wang, Z., Zhao, B., Liu, Y. & Wan, J. P. Recent Advances in Reactions Using Enaminone in Water or Aqueous Medium. *Adv. Synth. Catal.* **364**, 1508–1521 (2022).
16. Govindh, B., Diwakar, B. S. & Murthy, Y. L. N. A brief review on synthesis & applications of β -enamino carbonyl compounds. *Org. Commun.* **5**, 105–119 (2012).
17. Elassar, A. Z. A. & El-Khair, A. A. Recent developments in the chemistry of enaminones. *Tetrahedron* **59**, 8463–8480 (2003).
18. CINDRIC, M. *et al.* Novel enaminones as non-cytotoxic compounds with mild antibacterial activity: Synthesis and structure-activity correlations. *J. Mol. Struct.* **1154**, 636–642 (2018).
19. ZARGHI, A. *et al.* Synthesis and biological evaluation of 1,3-diphenylprop-2-en-1-ones possessing a methanesulfonamido or an azido pharmacophore as cyclooxygenase-1/-2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **14**, 7044–7050 (2006).
20. RAO, P. N. P., CHEN, Q. H. & KNAUS, E. E. Synthesis and structure-activity relationship studies of 1,3-diarylprop-2-yn-1-ones: Dual inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenases. *J. Med. Chem.* **49**, 1668–1683 (2006).
21. BANGALORE, P. K. *et al.* Usnic Acid Enaminone-Coupled 1,2,3-Triazoles as Antibacterial and Antitubercular Agents. *J. Nat. Prod.* **83**, 26–35 (2020).
22. GHORAB, M. M., RAGAB, F. A., HEIBA, H. I., EL-GAZZAR, M. G. & EL-GAZZAR, M. G. M. Novel thioureido-benzenesulfonamide derivatives with enaminone linker as potent anticancer, radiosensitizers and VEGFR2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **28**, 1464–1470 (2018).
23. FARIÑA, F., PAREDES, M. C. & STEFANI, V. Polycyclic hydroxyquinones :

- XXIV1 Diels-alder reactions of 5-amino-8-hydroxy-1,4-naphthoquinone. Novel transcycloaddition reactions with derivatives of 1,4-dihydro-1, 4-methanoanthracene-9,10-dione. *Tetrahedron* **42**, 4309–4318 (1986).
24. LISBOA, C. da S. *et al.* C-H functionalization of 1,4-naphthoquinone by oxidative coupling with anilines in the presence of a catalytic quantity of copper(II) acetate. *J. Org. Chem.* **76**, 5264–5273 (2011).
 25. AGARWAL, N. L. & SCHAFER, W. Quinone Chemistry. Reaction of 2, 3-Dichloro-1, 4-Naphthoquinone with Arylamines in Pyridine. *J. Org. Chem.* **45**, 5139–5143 (1980).
 26. FIESER, L. F. & HARTWELL, J. L. The Reaction of Hydrazoic Acid with the Naphthoquinones. *J. Am. Chem. Soc.* **57**, 1482–1484 (1935).
 27. FRANCISCO, A. I. *et al.* General method for the high yield preparation of 2-(4-X-phenylene)amine-1,4-naphthoquinones (X = ferrocenyl, OMe, Me, I, Cl, and NO₂) from 2-methoxy-1,4-naphthoquinone and investigation of H⁺ and Mg²⁺ catalysts with DFT calculations. *J. Mol. Struct.* **891**, 228–232 (2008).
 28. LEYVA, E. *et al.* 2-(Fluoro-) and 2-(methoxyanilino)-1,4-naphthoquinones. Synthesis and mechanism and effect of fluorine substitution on redox reactivity and NMR. *J. Fluor. Chem.* **180**, 152–160 (2015).
 29. Delarmelina, M., Greco, S. J. & Carneiro, J. W. de M. Single step mechanism for nucleophilic substitution of 2, 3-dichloro naphthoquinone using nitrogen, oxygen and sulfur nucleophiles : A DFT approach. *Tetrahedron* **73**, 4363–4370 (2017).
 30. KHODADE, V. S., DHARMARAJA, A. T. & CHAKRAPANI, H. Synthesis, reactive oxygen species generation and copper-mediated nuclease activity profiles of 2-aryl-3-amino-1,4-naphthoquinones. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **22**, 3766–3769 (2012).
 31. BHASIN, D., CHETTIAR, S. N., ETTER, J. P., MOK, M. & LI, P. Anticancer activity and SAR studies of substituted 1,4-naphthoquinones. *Bioorganic Med. Chem.* **21**, 4662–4669 (2013).
 32. PATIL, R. *et al.* Molecular association of 2-(n-alkylamino)-1,4-naphthoquinone derivatives: Electrochemical, DFT studies and antiproliferative activity against leukemia cell lines. *J. Mol. Struct.* **1125**, 272–281 (2016).
 33. GHOLAMPOUR, M., SERADJ, H., PIRHADI, S. & KHOSHNEVISZADEH, M. Novel 2-amino-1,4-naphthoquinone hybrids: Design, synthesis, cytotoxicity evaluation and in silico studies. *Bioorganic Med. Chem.* **28**, 115718 (2020).

34. QIN, T. *et al.* Design, synthesis, cytotoxicity evaluation and molecular docking studies of 1,4-naphthoquinone derivatives. *J. Mol. Struct.* **1263**, 133067 (2022).
35. ZAKHAROVA, O. D. *et al.* Cytotoxicity of new alkylamino- and phenylamino-containing polyfluorinated derivatives of 1,4-naphthoquinone. *Eur. J. Med. Chem.* **45**, 2321–2326 (2010).
36. SIEVEKING, I. *et al.* 2-Phenylaminonaphthoquinones and related compounds: Synthesis, trypanocidal and cytotoxic activities. *Bioorganic Med. Chem.* **22**, 4609–4620 (2014).
37. KATHAWATE, L. *et al.* Reaction between lawsone and aminophenol derivatives: Synthesis, characterization, molecular structures and antiproliferative activity. *J. Mol. Struct.* **1075**, 397–405 (2014).
38. PRACHAYASITTIKUL, V. *et al.* Synthesis, anticancer activity and QSAR study of 1,4-naphthoquinone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **84**, 247–263 (2014).
39. DELARMELENA, M. *et al.* Synthesis, antitumor activity and docking of 2,3-(substituted)-1,4-naphthoquinone derivatives containing nitrogen, oxygen and sulfur. *J. Braz. Chem. Soc.* **26**, 1804–1816 (2015).
40. ESPINOSA-BUSTOS, C., CANELES, C., RAMÍREZ, G., JAQUE, P. & SALAS, C. O. Unveiling interactions between DNA and cytotoxic 2-aryl piperidinyl-1,4-naphthoquinone derivatives: A combined electrochemical and computational study. *Arab. J. Chem.* **13**, 2233–2244 (2020).
41. MORRIS, A. *et al.* Exploration of naphthoquinone analogs in targeting the TCF-DNA interaction to inhibit the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Bioorg. Chem.* **124**, 105812 (2022).
42. YOON, E. Y. *et al.* The regioselectivity in the reaction of 6,7-dihaloquinoline-5,8-diones with amine nucleophiles in various solvents. *Tetrahedron Lett.* **41**, 7475–7480 (2000).
43. LIN, T., XU, S., ZHU, L., COSBY, L. A. & SARTORELLI, A. C. Synthesis of 2,3-Diaziridinyl-1,4-naphthoquinone Sulfonate Derivatives Potential Antineoplastic Agents. *J. Med. Chem.* **32**, 1467–1471 (1989).
44. SILVA, T. M. S. *et al.* Molluscicidal activity of synthetic lapachol amino and.pdf. *Bioorg. Med. Chem.* **13**, 193–196 (2005).
45. LEMOS, B. C. *et al.* Synthetic enamine naphthoquinone derived from lawsone as cytotoxic agents assessed by in vitro and in silico evaluations. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **53**, 128419 (2021).

46. Tandon, V. K., Maurya, H. K., Mishra, N. N. & Shukla, P. K. Design, synthesis and biological evaluation of novel nitrogen and sulfur containing hetero-1,4-naphthoquinones as potent antifungal and antibacterial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **44**, 3130–3137 (2009).
47. da Silva, C. C. *et al.* Antibacterial Activity of 2-Amino-1,4-naphthoquinone Derivatives against Gram-Positive and Gram-Negative Bacterial Strains and Their Interaction with Human Serum Albumin. *J. Braz. Chem. Soc.* **31**, 1838–1851 (2020).
48. de Luna Martins, D. *et al.* P2X7 receptor inhibition by 2-amino-3-aryl-1,4-naphthoquinones. *Bioorg. Chem.* **104**, 104278 (2020).
49. Mathew, N., Karunan, T., Srinivasan, L. & Muthuswamy, K. Synthesis and screening of substituted 1,4-naphthoquinones (NPQs) as antilarial agents. *Drug Dev. Res.* **71**, 188–196 (2010).
50. Rezende, L. C. D. De *et al.* In vivo antimalarial activity of novel 2-hydroxy-3-anilino-1,4-naphthoquinones obtained by epoxide ring-opening reaction. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **23**, 4583–4586 (2013).
51. JANECZKO, M., DEMCHUK, O. M., STRZELECKA, D., KUBIŃSKI, K. & MASŁYK, M. New family of antimicrobial agents derived from 1,4-naphthoquinone. *Eur. J. Med. Chem.* **124**, 1019–1025 (2016).
52. Tawfik, E., Ahamed, M., Almalik, A., Alfaqeeh, M. & Alshamsan, A. Prolonged exposure of colon cancer cells to 5-fluorouracil nanoparticles improves its anticancer activity. *Saudi Pharm. J.* **25**, 206–213 (2017).
53. Wavefunction, I. Spartan'10. (2011).
54. Dewar, M. J. S., Zoebisch, E. G., Healy, E. F. & Stewart, J. J. P. AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model. *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 3902–3909 (1985).
55. Stewart, J.J.P., S. C. C. MOPAC. (2006).
56. Katritzky, A. R., Lobanov, V. S. & Karelson, M. CODESSA (COMprehensive DEscriptors for Structures and Statistical Analysis). (1995).
57. Trott, O. & Olson, A. J. Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *J. Comput. Chem.* **31**, 455–461 (2010).
58. Wu, C. C. *et al.* Structural basis of type II topoisomerase inhibition by the anticancer drug etoposide. *Science (80-.).* **333**, 459–462 (2011).

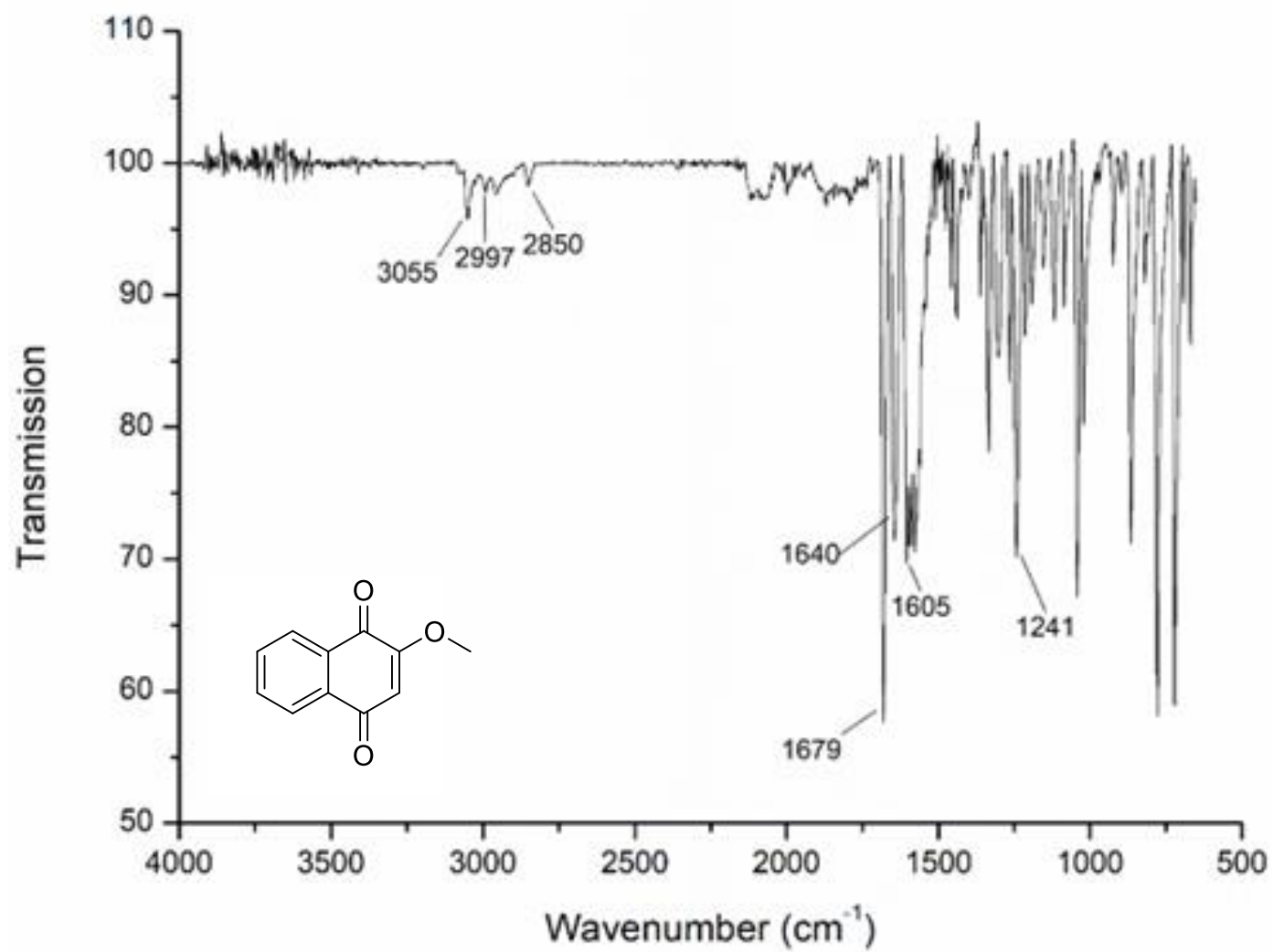
59. Pozzi, C. *et al.* Structural comparison of enterococcus faecalis and human thymidylate synthase complexes with the substrate dUMP and its analogue fdUMP provides hints about enzyme conformational variabilities. *Molecules* **24**, (2019).
60. ChemAxon. MarvinSketch 20.11.0.
61. BIOVIA. Dassault Systèmes, Discovery Studio Visualizer, v20.1.0.19295. (2019).
62. Panichayupakaranant, P. & Reanmongkol, W. Evaluation of Chemical Stability and Skin Irritation of Lawsone Methyl Ether in Oral Base Evaluation of Chemical Stability and Skin Irritation of Lawsone Methyl Ether in Oral Base. *Pharm. Biol.* **40**, 429–432 (2008).
63. Delarmelinaa, M. *et al.* Synthesis, Antitumor Activity and Docking of 2,3-(Substituted)-1,4-Naphthoquinone Derivatives Containing Nitrogen, Oxygen and Sulfur. *J. Braz. Chem. Soc.* **26**, 1804–1816 (2015).
64. Patai, S. *The Chemistry of the Quinonoid Compounds*. (John Wright & Sons Ltda, 1974).
65. Brenneman, J. B. *et al.* Heterocyclic Carboxylic Acids as Activators of Soluble Guanylate Cyclase. 105 (2016).
66. Xu, G. *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of deuterated C-aryl glycoside as a potent and long-acting renal sodium-dependent glucose cotransporter 2 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *J. Med. Chem.* **57**, 1236–1251 (2014).
67. Yrjölä, S. *et al.* Synthesis, in vitro and in vivo evaluation of 1,3,5-triazines as cannabinoid CB2 receptor agonists. *Eur. J. Pharm. Sci.* **67**, 85–96 (2015).
68. Fiorot, R. G. *et al.* Synthesis, Molecular Modelling and Anticancer Activities of New Molecular Hybrids Containing 1,4-Naphthoquinone, 7-Chloroquinoline, 1,3,5-Triazine and Morpholine Cores as PI3K and AMPK Inhibitors in the Metastatic Melanoma Cells. *J. Braz. Chem. Soc.* **30**, 1860–1873 (2019).
69. Blotny, G. Recent applications of 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine and its derivatives in organic synthesis. *Tetrahedron* **62**, 9507–9522 (2006).
70. Venkatesan, A. M. *et al.* Bis(morpholino-1,3,5-triazine) derivatives: Potent adenosine 5'-triphosphate competitive phosphatidylinositol-3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitors: Discovery of compound 26 (PKI-587), a highly efficacious dual inhibitor. *J. Med. Chem.* **53**, 2636–2645

- (2010).
71. Carmo, A. M. L. *et al.* Synthesis of 4-aminoquinoline analogues and their platinum(II) complexes as.pdf. *Biomed. Pharmacother.* **65**, 204–209 (2011).
 72. Allochio Filho, J. F. *et al.* First synthesis of aminonaphthoquinones derived from lawsone in a colloidal dispersion system created by a Brønsted acid-surfactant-combined catalyst in water: An environmentally friendly protocol. *Colloids Interface Sci. Commun.* **4**, 14–18 (2015).
 73. Delarmelina, M. *et al.* Synthesis, antitumor activity and docking of 2,3-(substituted)-1,4-naphthoquinone derivatives containing nitrogen, oxygen and sulfur. *J. Braz. Chem. Soc.* **26**, 1804–1816 (2015).
 74. Silva, V. R. *et al.* A ruthenium-based 5-fluorouracil complex with enhanced cytotoxicity and apoptosis induction action in HCT116 cells. *Sci. Rep.* **8**, 1–13 (2018).
 75. Pereyra, C. E., Dantas, R. F., Ferreira, S. B., Gomes, L. P. & Silva-Jr, F. P. The diverse mechanism and anticancer potential of naphthoquinones. *Cancer Cell Int.* **19**, 207–226 (2019).
 76. Wang, Y. *et al.* Novel 1,4-naphthoquinone derivatives induce reactive oxygen species-mediated apoptosis in liver cancer cells. *Mol. Med. Rep.* **19**, 1654–1664 (2019).
 77. Avendaño, C. & Menéndez, J. C. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*. (Elsevier, 2008).
 78. Wu, C.-C. *et al.* Structural Basis of Type II Topoisomerase Inhibition by the Anticancer Drug Etoposide. *Science (80-.).* **333**, 459–462 (2011).
 79. Pozzi, C. *et al.* Structural Comparison of Enterococcus faecalis and Human Thymidylate Synthase Complexes with the Substrate dUMP and Its Analogue FdUMP Provides Hints about Enzyme Conformational Variabilities. *Molecules* **24**, 1257 (2019).
 80. Trott, O. & Olson, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J. Comput. Chem.* **31**, 455–461 (2010).
 81. Cattrini, C., Capaia, M., Boccardo, F. & Barboro, P. Etoposide and topoisomerase II inhibition for aggressive prostate cancer: Data from a translational study. *Cancer Treat. Res. Commun.* **25**, 100221–100230 (2020).
 82. Mistry, A. R. *et al.* DNA Topoisomerase II in Therapy-Related Acute

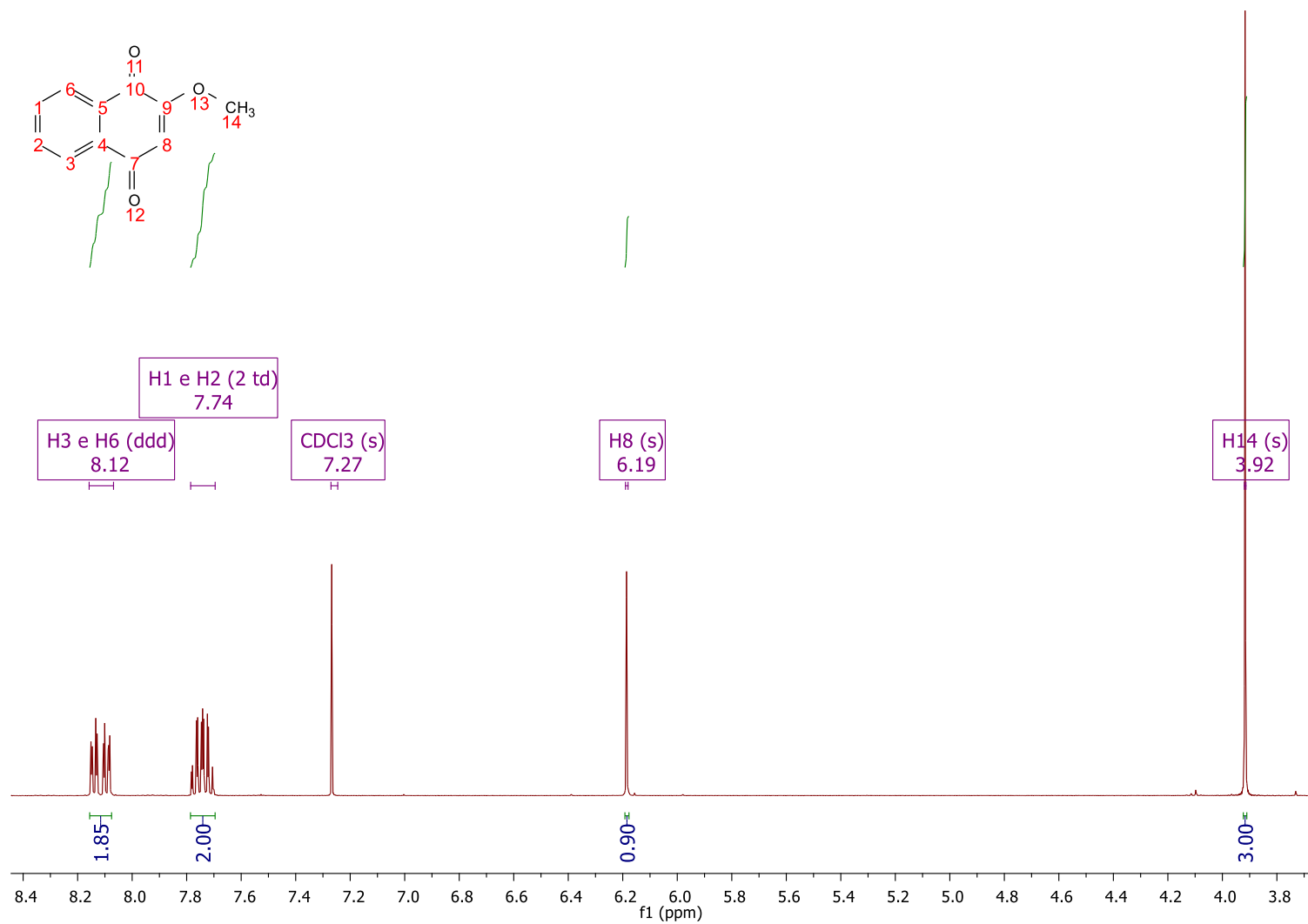
- Promyelocytic Leukemia. *N. Engl. J. Med.* **352**, 1529–1538 (2005).
83. Rose, M. G., Farrell, M. P. & Schmitz, J. C. Thymidylate synthase: A critical target for cancer chemotherapy. *Clin. Colorectal Cancer* **1**, 220–229 (2002).
 84. Myllykallio, H., Becker, H. F. & Aleksandrov, A. Mechanism of Naphthoquinone Selectivity of Thymidylate Synthase ThyX. *Biophys. J.* **119**, 2508–2516 (2020).
 85. Collins, J. A. & Osheroff, N. 1,2-Naphthoquinone as a Poison of Human Type II Topoisomerases. *Chem. Res. Toxicol.* **34**, 1082–1090 (2021).
 86. Mohamady, S., Gibriel, A. A., Ahmed, M. S., Hendy, M. S. & Naguib, B. H. Design and novel synthetic approach supported with molecular docking and biological evidence for naphthoquinone-hydrazinotriazolothiadiazine analogs as potential anticancer inhibiting topoisomerase-II β . *Bioorg. Chem.* **96**, 103641–103648 (2020).
 87. Gholampour, M., Seradj, H., Pirhadi, S. & Khoshneviszadeh, M. Novel 2-amino-1,4-naphthoquinone hybrids: Design, synthesis, cytotoxicity evaluation and in silico studies. *Bioorganic Med. Chem.* **28**, 115718–115732 (2020).
 88. Jiménez-Alonso, S. *et al.* Design and synthesis of a novel series of pyranonaphthoquinones as topoisomerase II catalytic inhibitors. *J. Med. Chem.* **51**, 6761–6772 (2008).
 89. Basta, T. *et al.* Mechanistic and structural basis for inhibition of thymidylate synthase ThyX. *Open Biol.* **2**, (2012).
 90. Thorn, C. F. *et al.* Doxorubicin pathways - pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet Genomics* **21**, 440–446 (2011).
 91. Arthur, D. E. Molecular docking studies of some topoisomerase II inhibitors: Implications in designing of novel anticancer drugs. *Radiol. Infect. Dis.* **6**, 68–79 (2019).
 92. Zhang, N., Yin, Y., Xu, S.-J. & Chen, W.-S. 5-Fluorouracil: Mechanisms of resistance and reversal strategies. *Molecules* **13**, 1551–1569 (2008).
 93. Amin, L. H. T., Shawer, T. Z., El-Naggar, A. M. & El-Sehrawi, H. M. A. Design, synthesis, anticancer evaluation and docking studies of new pyrimidine derivatives as potent thymidylate synthase inhibitors. *Bioorg. Chem.* **91**, 103159 (2019).
 94. Tiwari, S. V. *et al.* Ultrasound Mediated One-Pot, Three Component Synthesis, Docking and ADME Prediction of Novel 5-Amino-2-(4-chlorophenyl)-7-Substituted Phenyl-8,8a-dihydro-7H-(1,3,4)thiadiazolo(3,2- α)pyrimidine-6-

- carbonitrile Derivatives as Anticancer Agents. *Molecules* **21**, 894 (2016).
95. Eweas, A. F., Abdallah, Q. M. A. & Hassan, E. S. I. Design, synthesis, molecular docking of new thiopyrimidine-5- carbonitrile derivatives and their cytotoxic activity against HepG2 cell line. *J. Appl. Pharm. Sci.* **4**, 102–111 (2014).

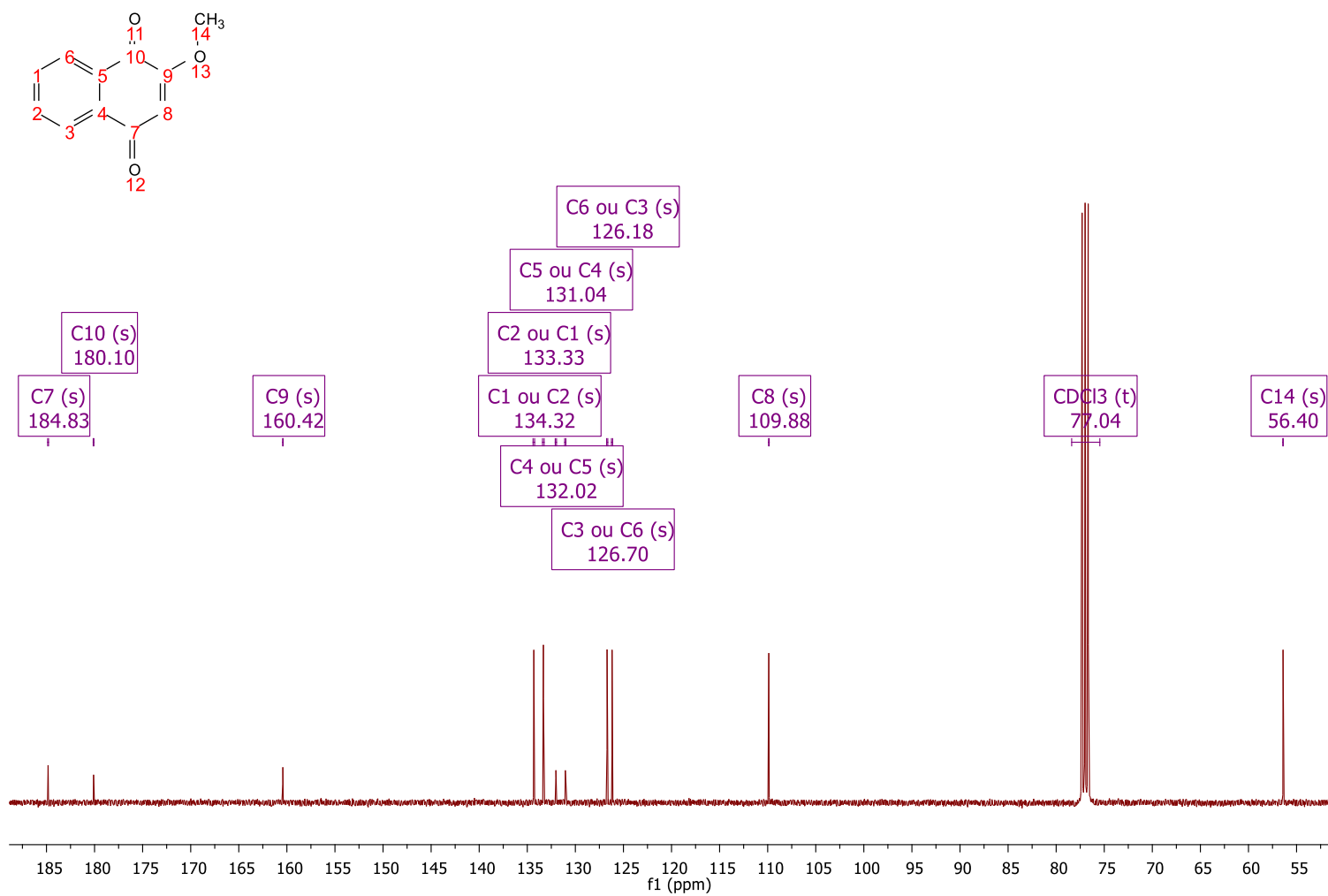
7. ANEXOS – Caracterização



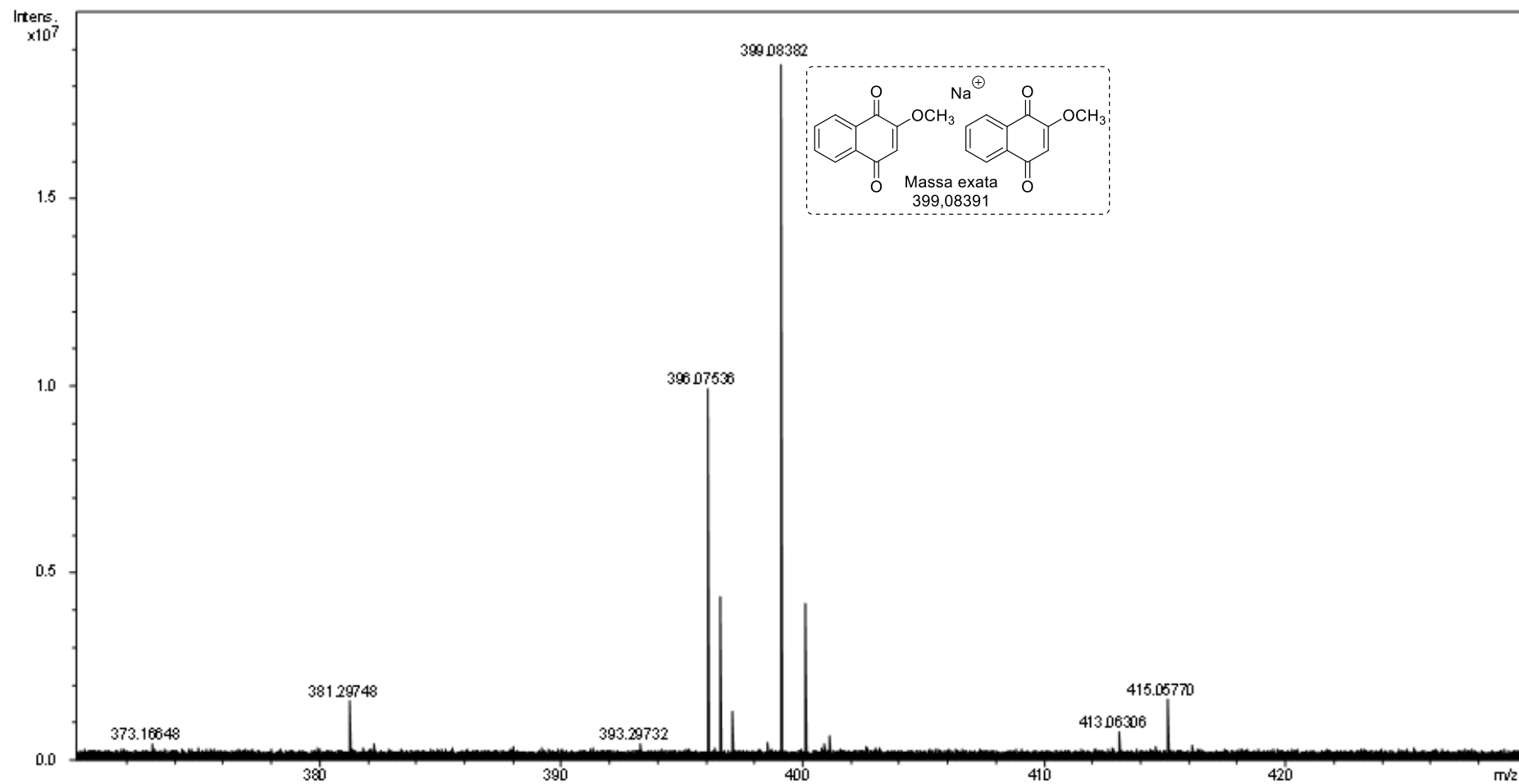
Anexo 1. Espectro de infravermelho do composto 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**.



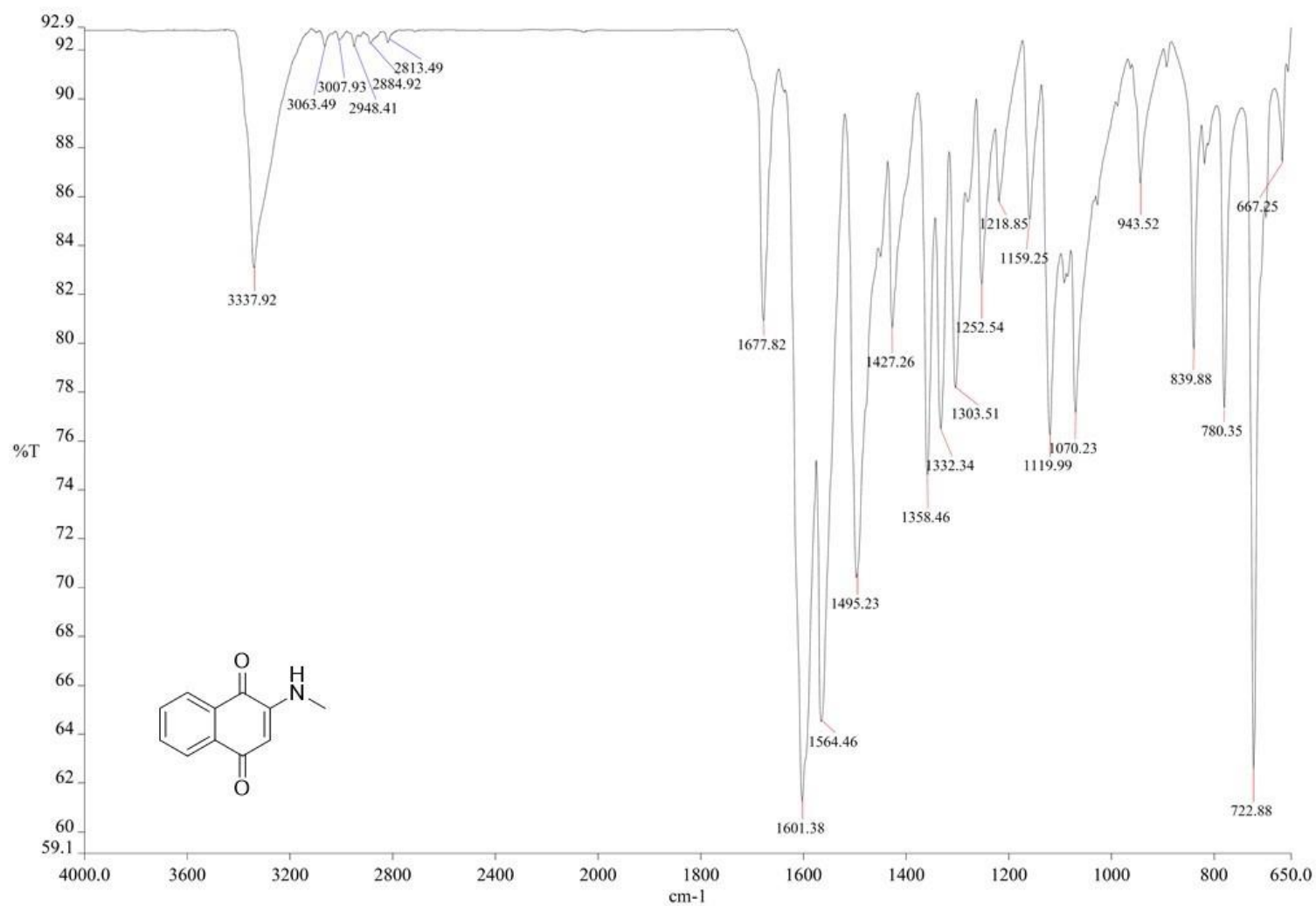
Anexo 2. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**.



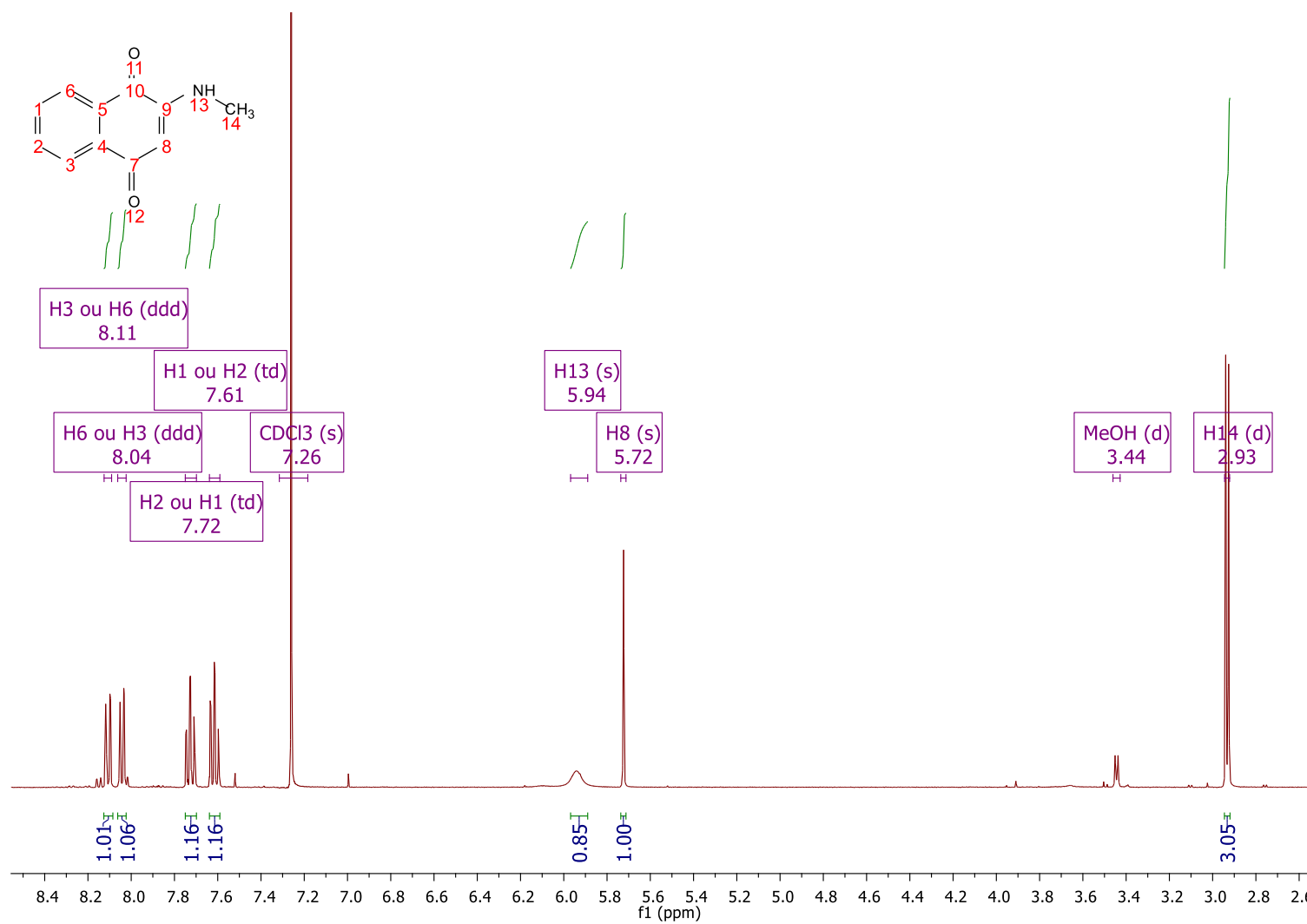
Anexo 3. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**.



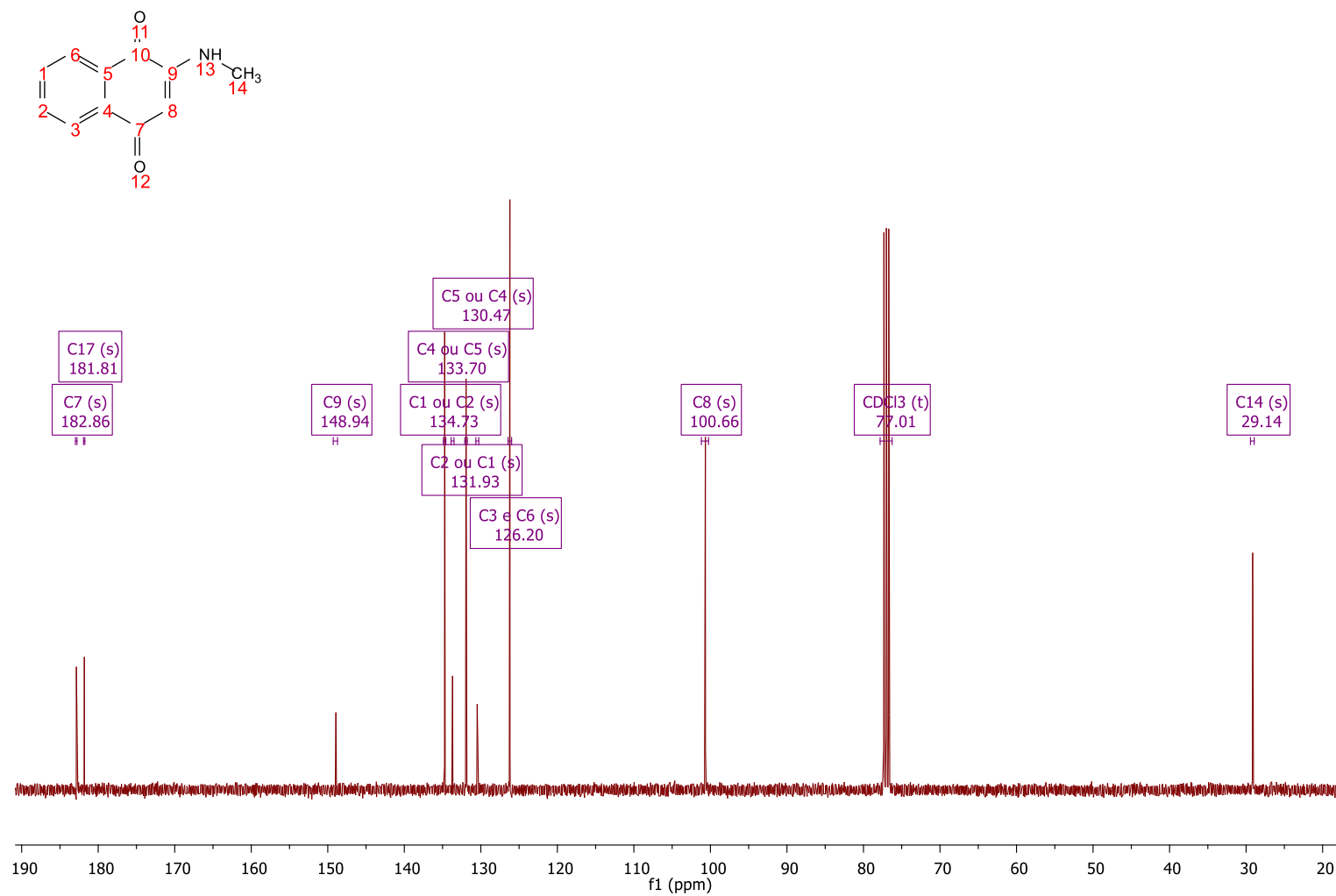
Anexo 4. Espectro de Massas do composto 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**.



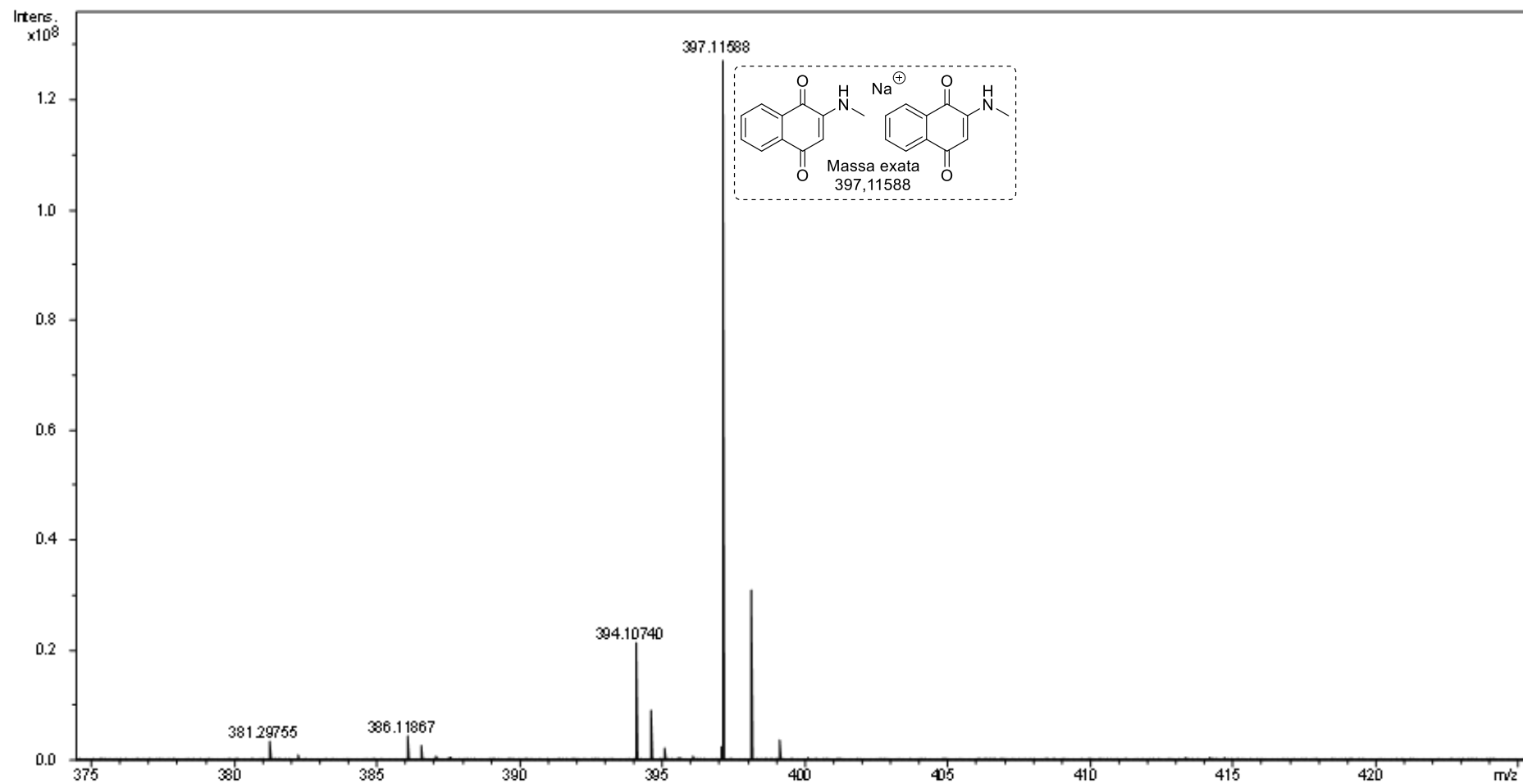
Anexo 5. Espectro de infravermelho do composto 2-(metilamino)naftalen-1,4-diona **108**.



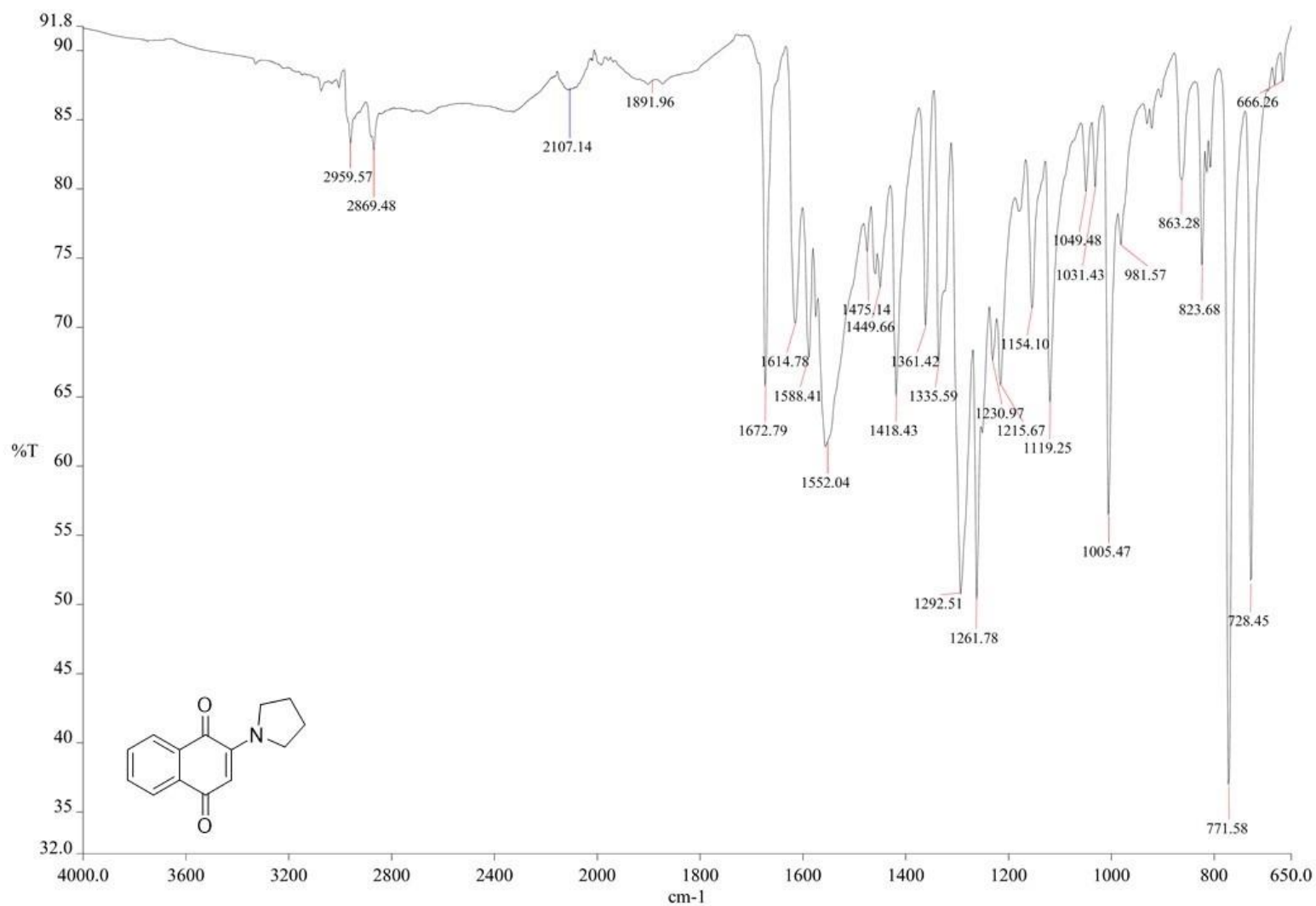
Anexo 6. Espectro de RMN de ¹H do composto 2-(metilamino)naftalen-1,4-diona **108**.



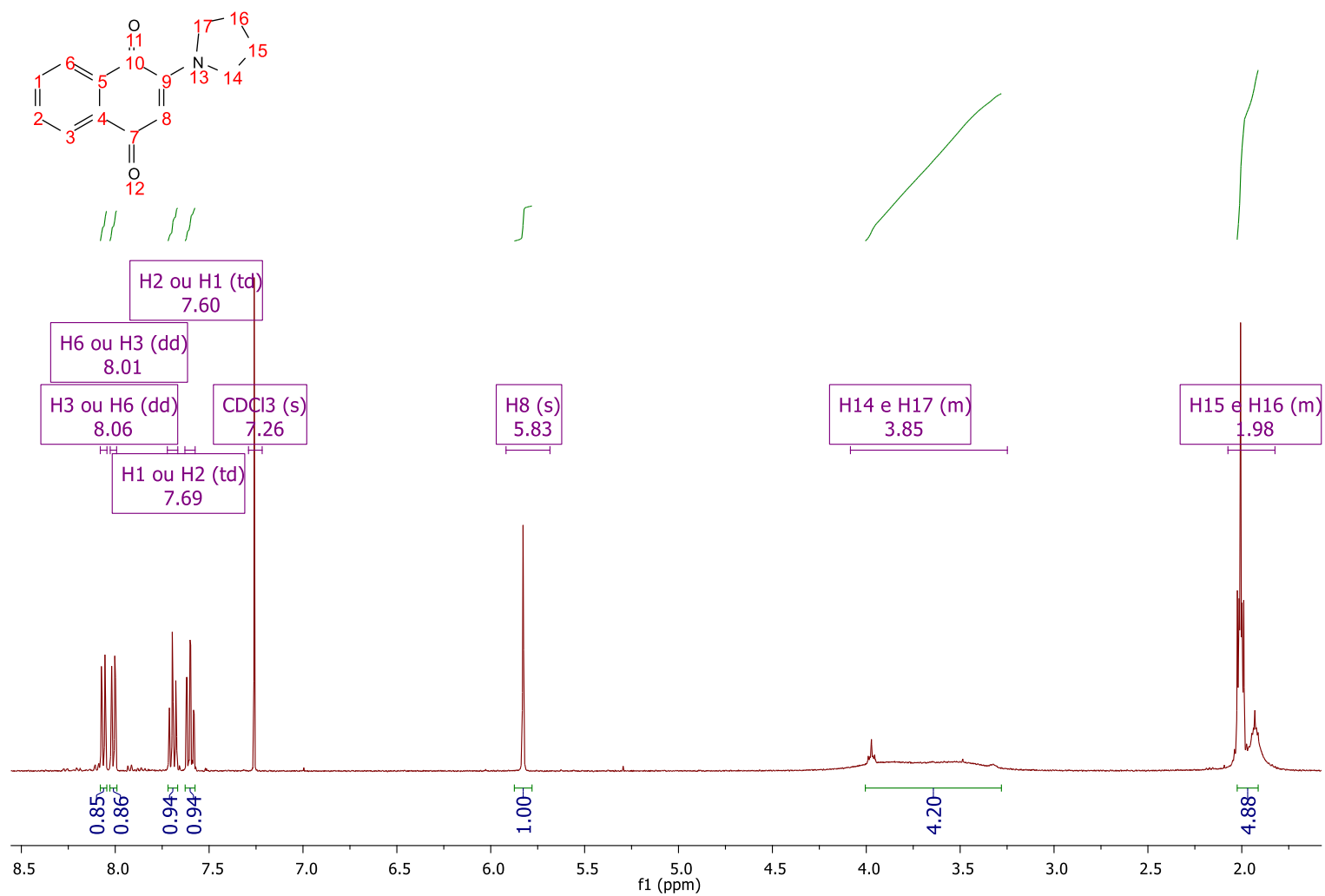
Anexo 7. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-(metilamino)naftalen-1,4-diona **108**.



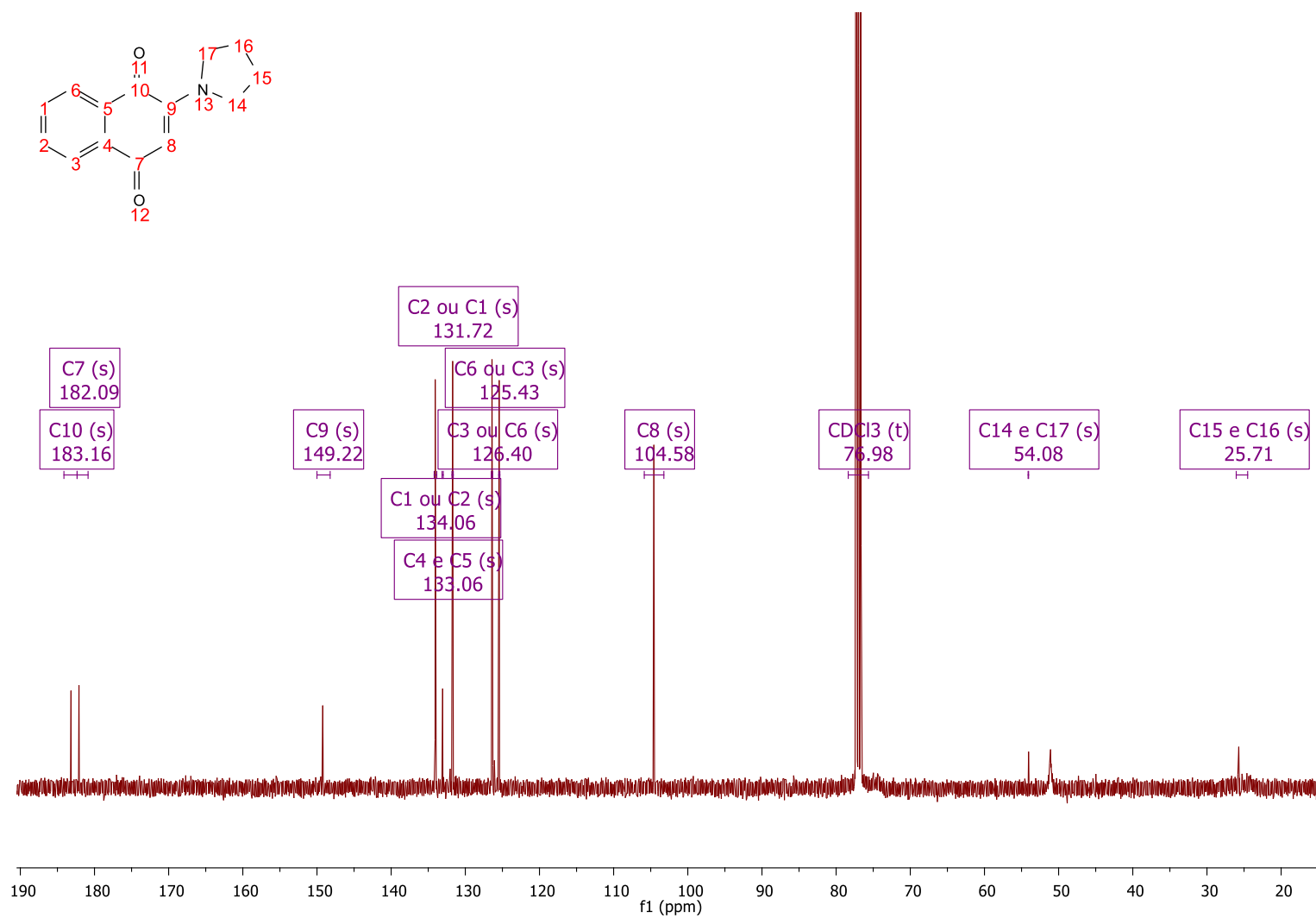
Anexo 8. Espectro de Massas do composto 2-(metilamino)naftalen-1,4-diona **108**.



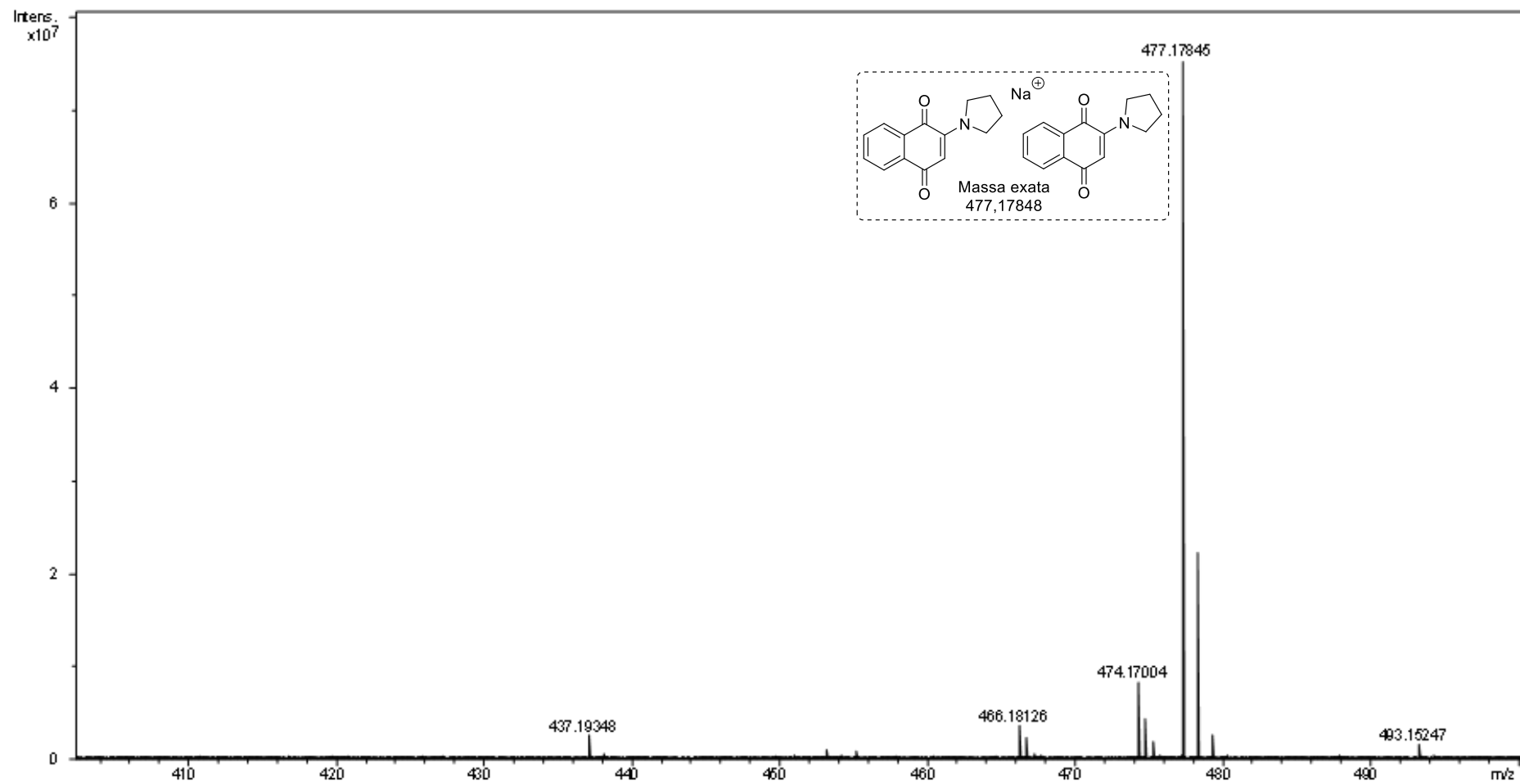
Anexo 9. Espectro de infravermelho do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**.



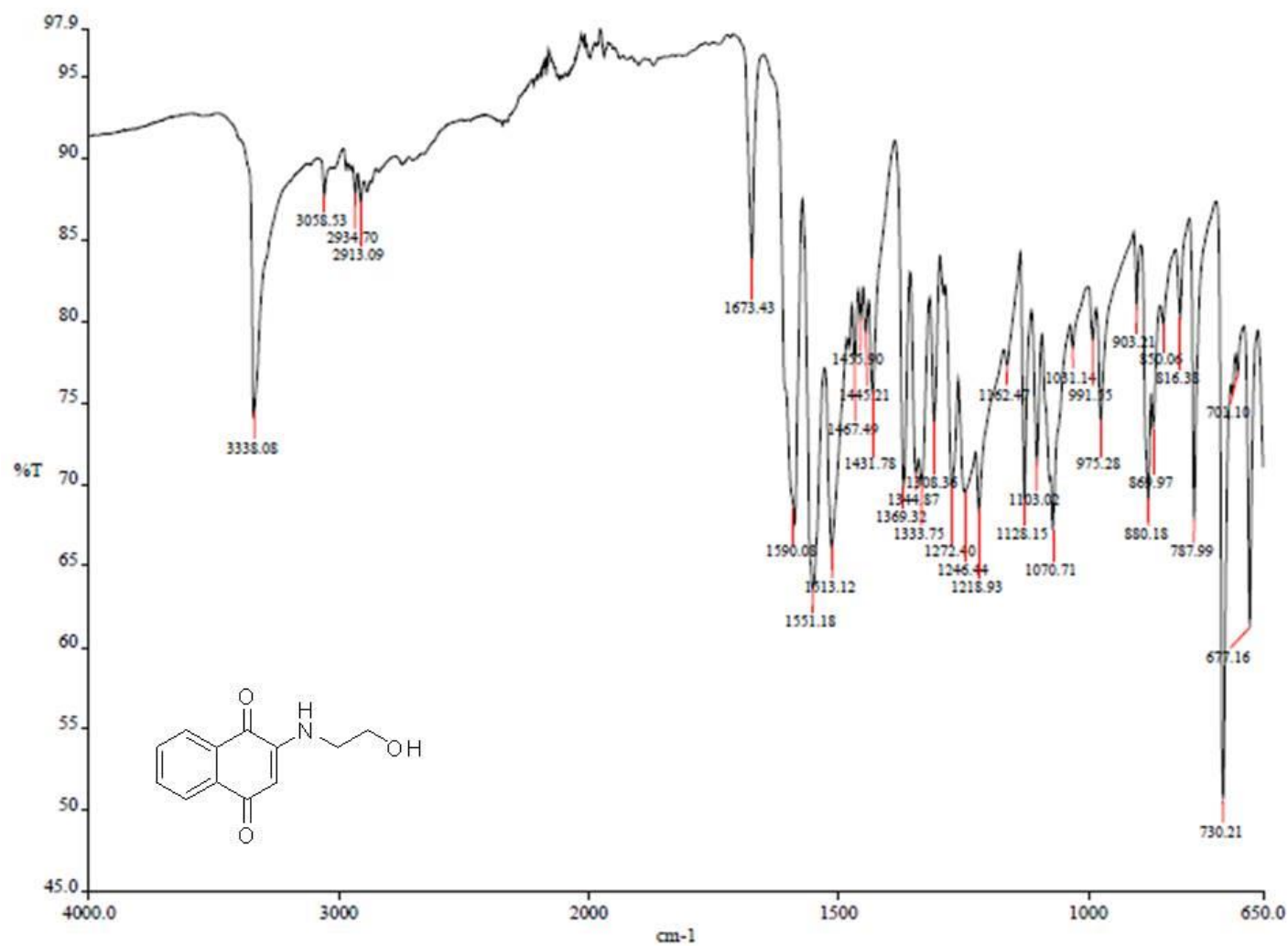
Anexo 10. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**.



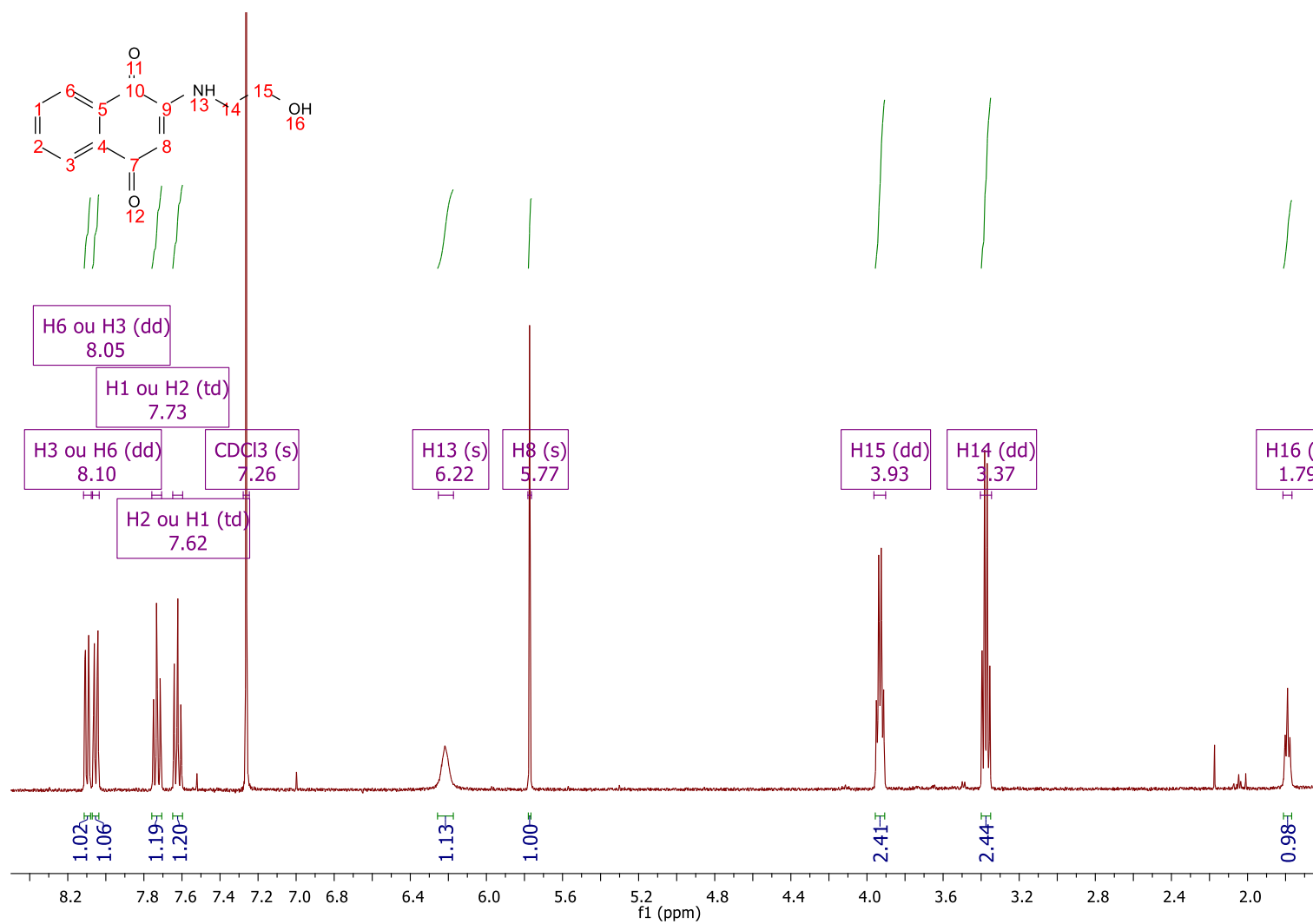
Anexo 11. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**.



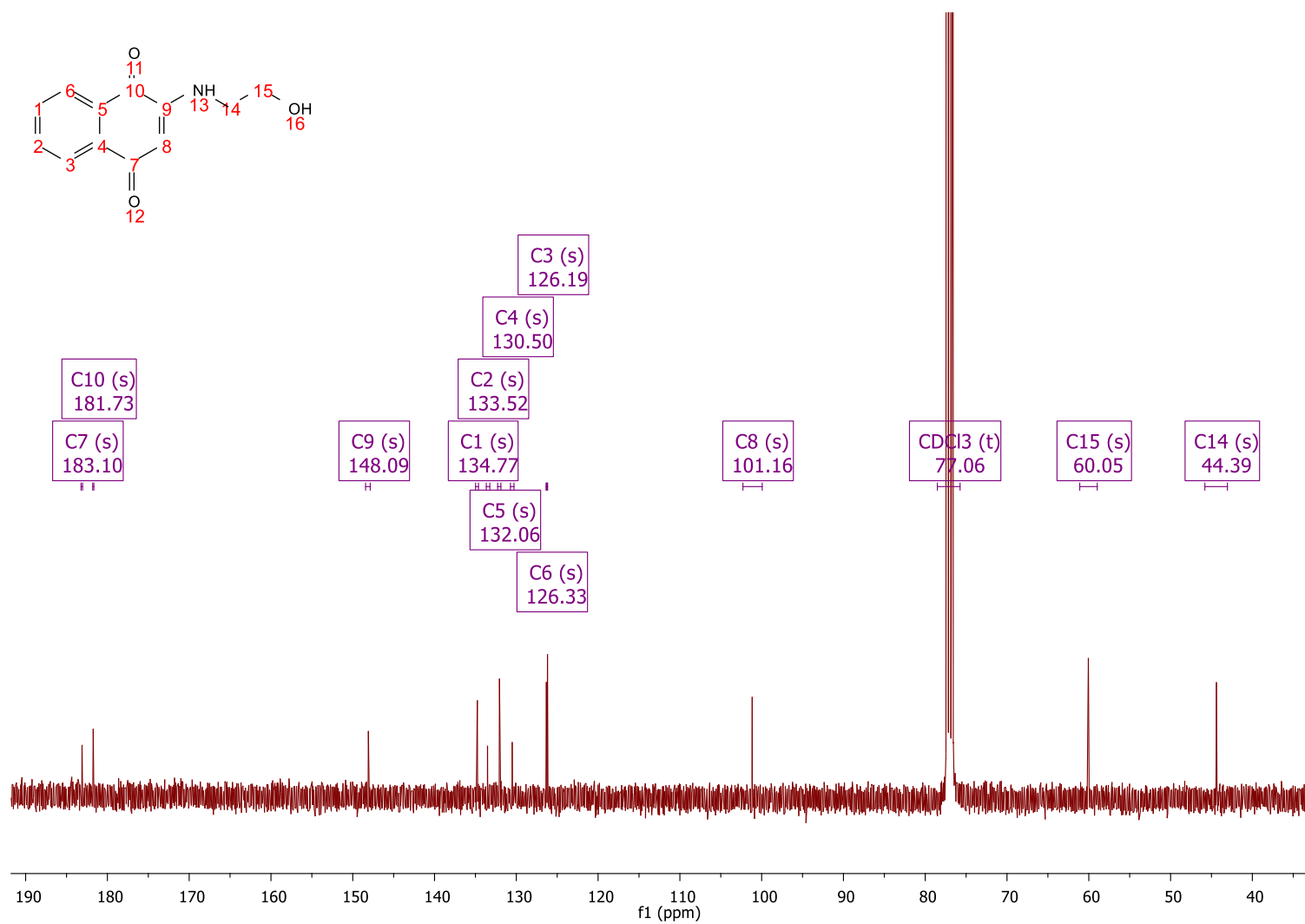
Anexo 12. Espectro de Massas do composto 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**.



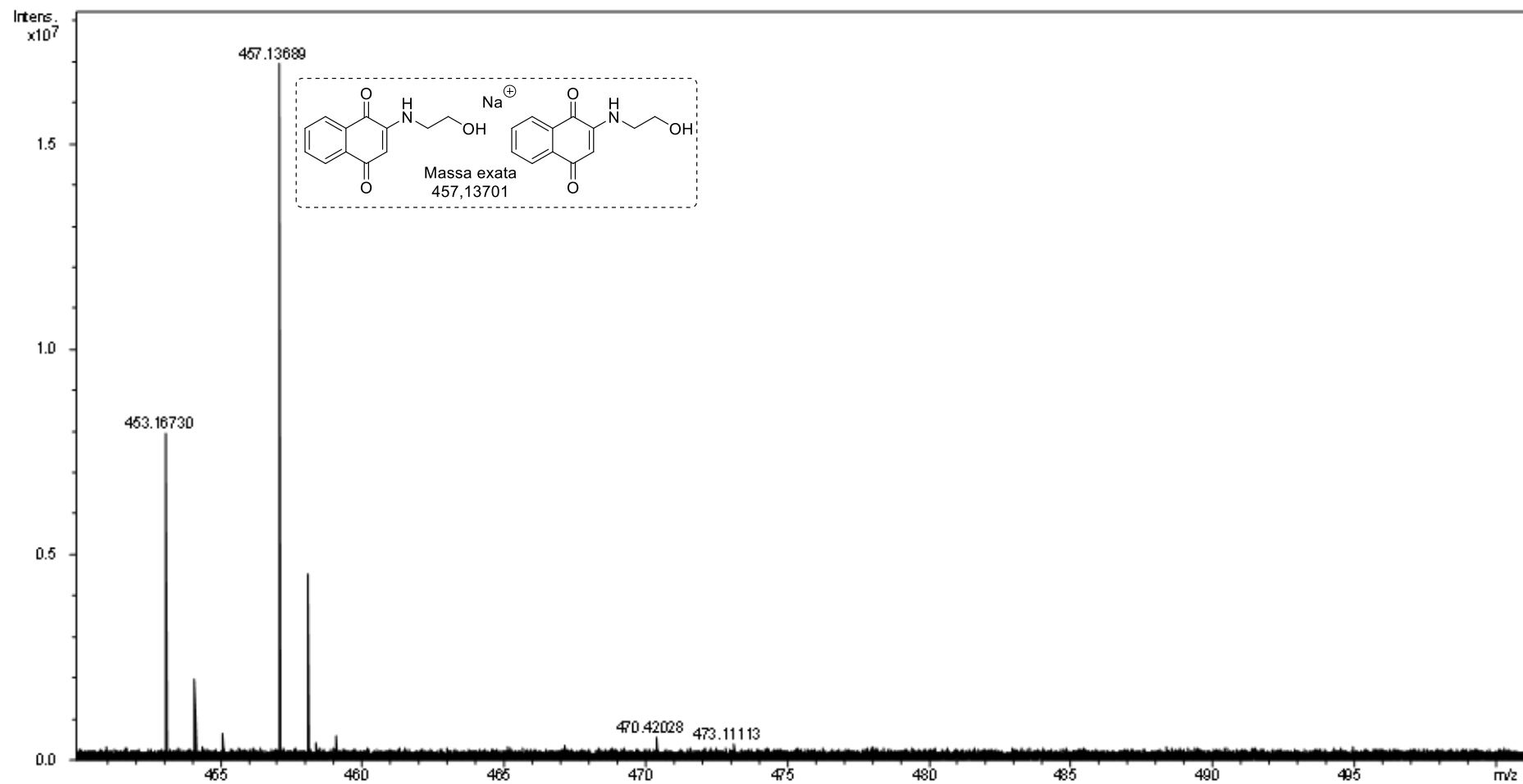
Anexo 13. Espectro de infravermelho do composto 2-((2-hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona **110**.



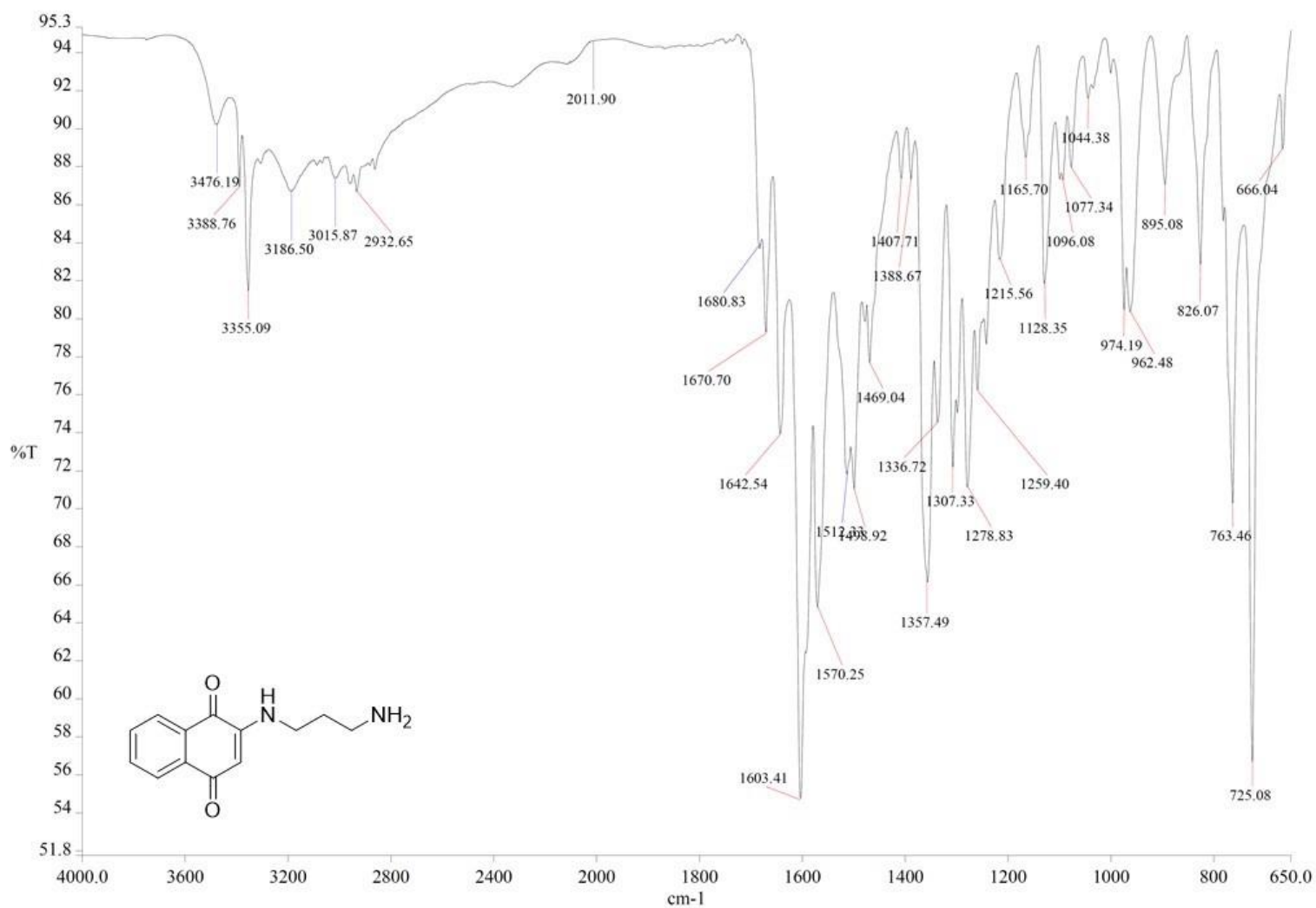
Anexo 14. Espectro de RMN de ¹H do composto 2-((2-hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona **110**.



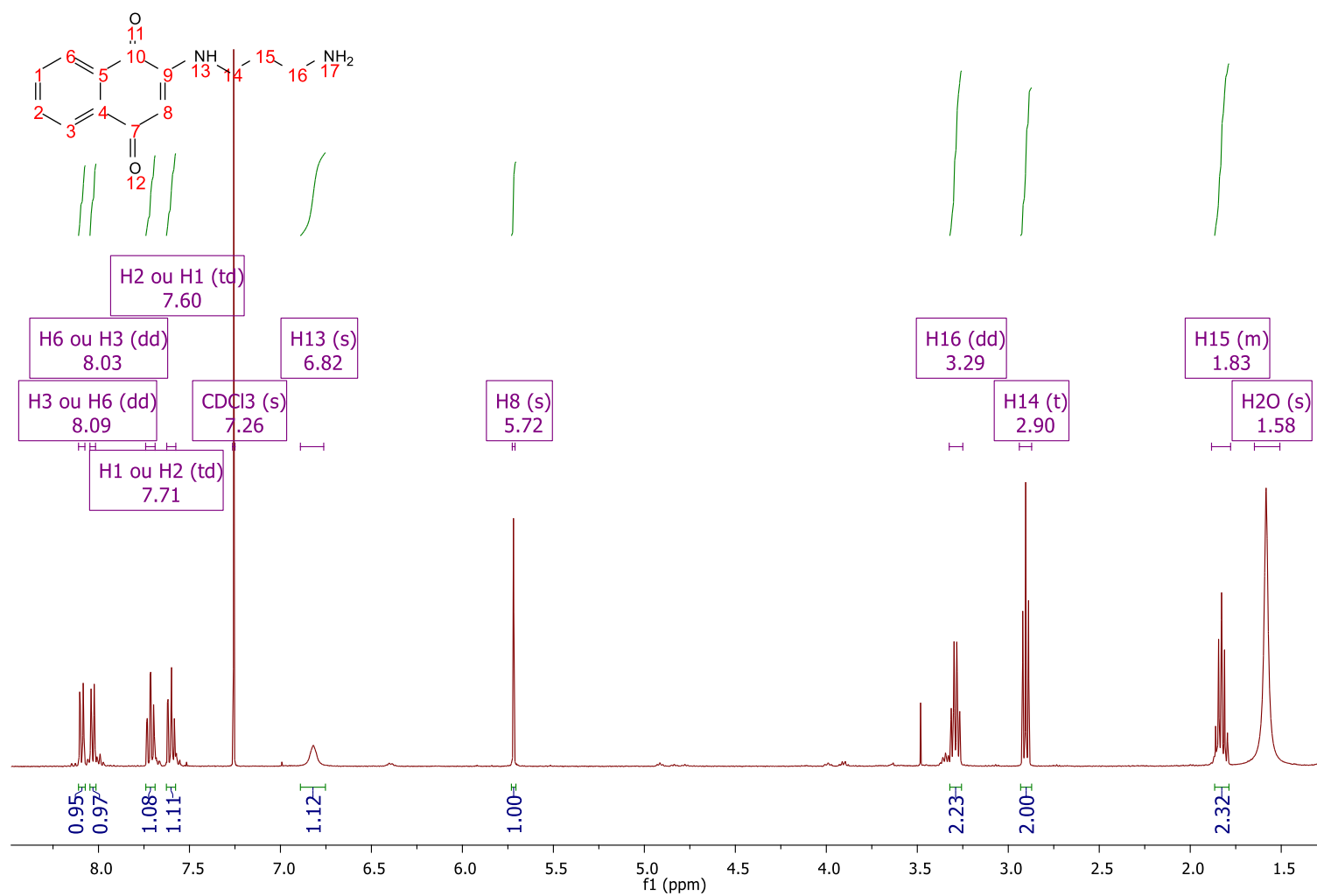
Anexo 15. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((2-hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona **110**.



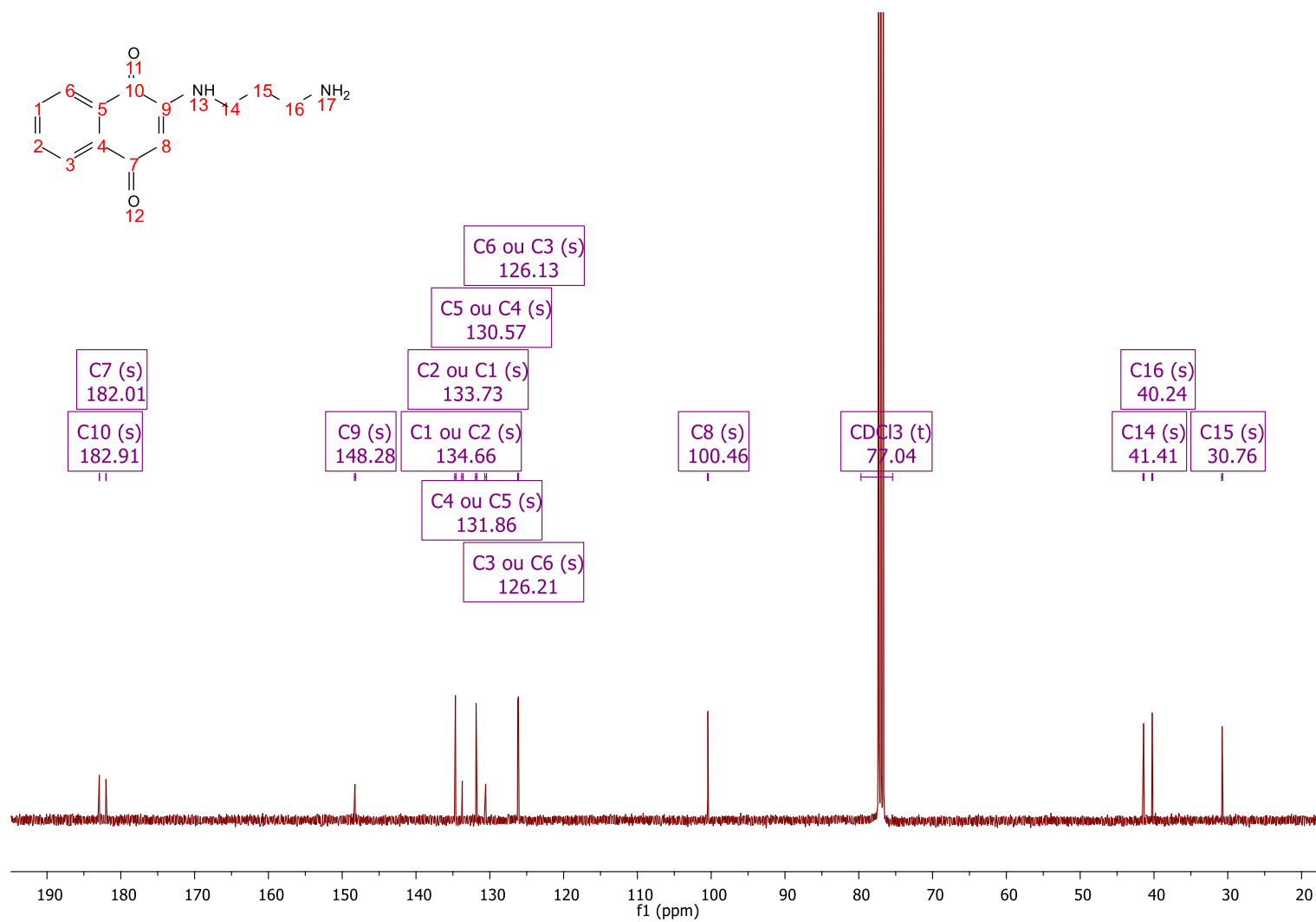
Anexo 16. Espectro de Massas do composto 2-((2-hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona **110**.



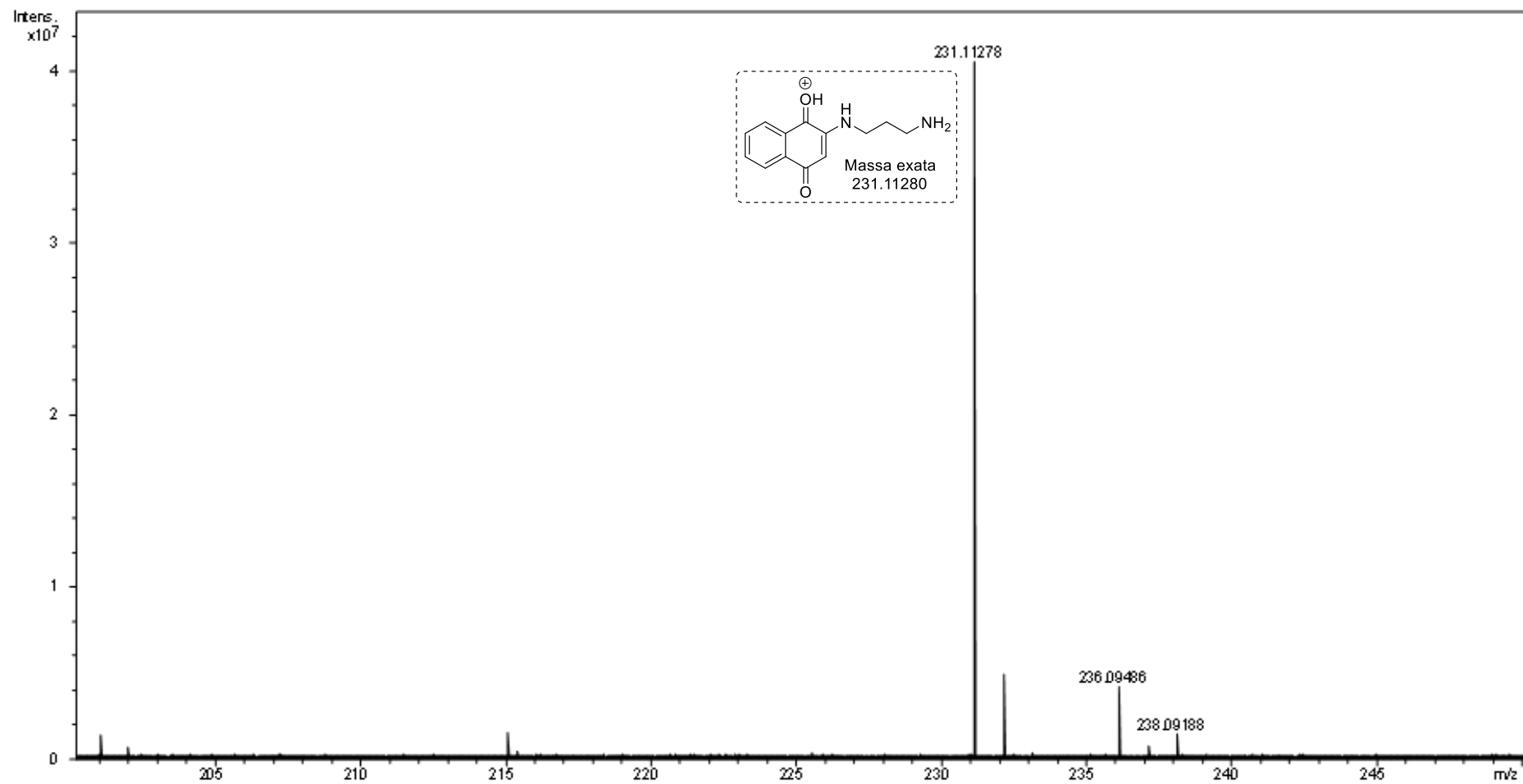
Anexo 17. Espectro de infravermelho do composto 2-((3-aminopropil)amino)naftaleno-1,4-diona **111**.



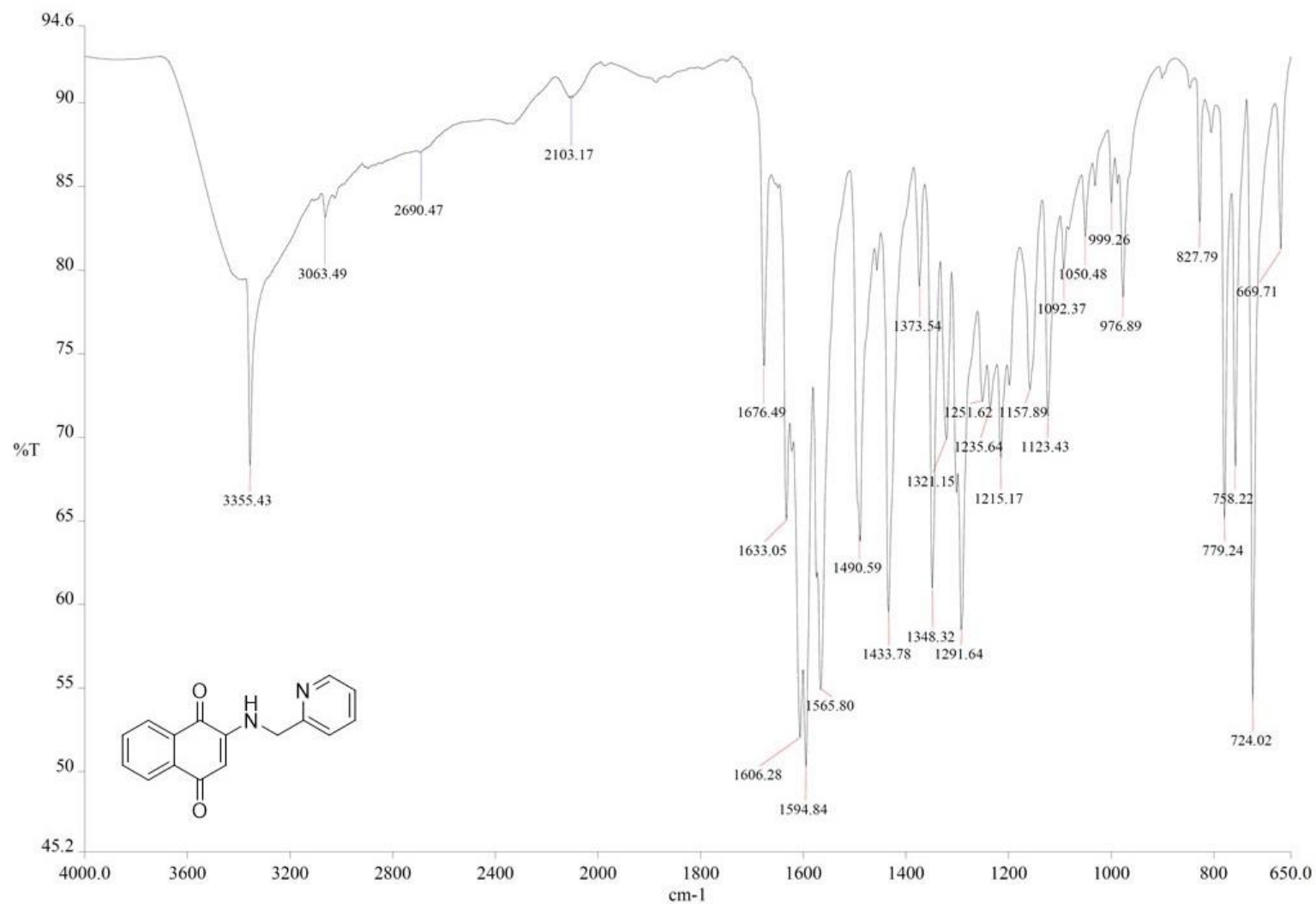
Anexo 18. Espectro de RMN de ¹H do composto 2-((3-aminopropil)amino)naftaleno-1,4-diona **111**.



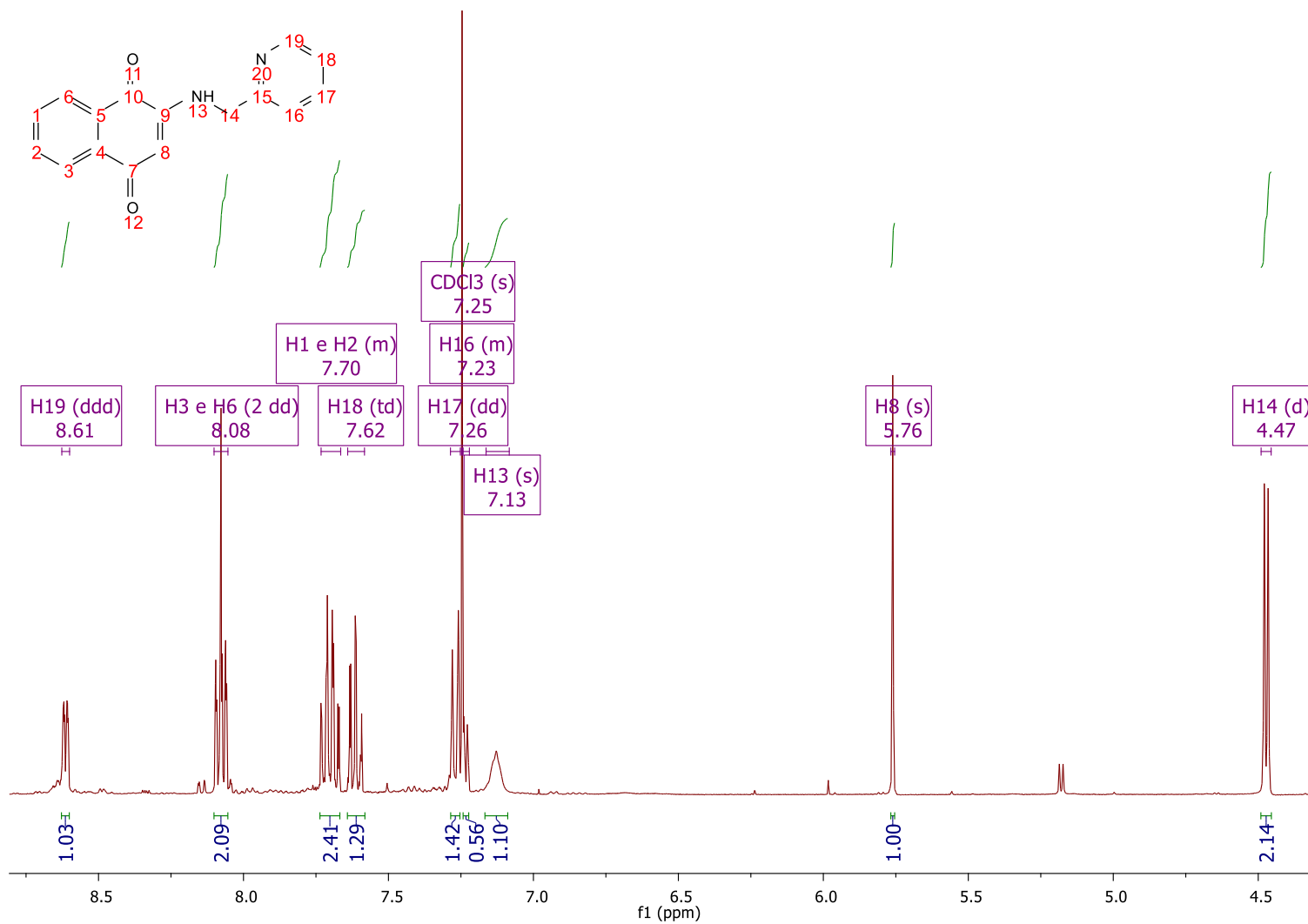
Anexo 19. Espectro de RMN de ¹³C do composto 2-((3-aminopropil)amino)naftaleno-1,4-diona **111**.



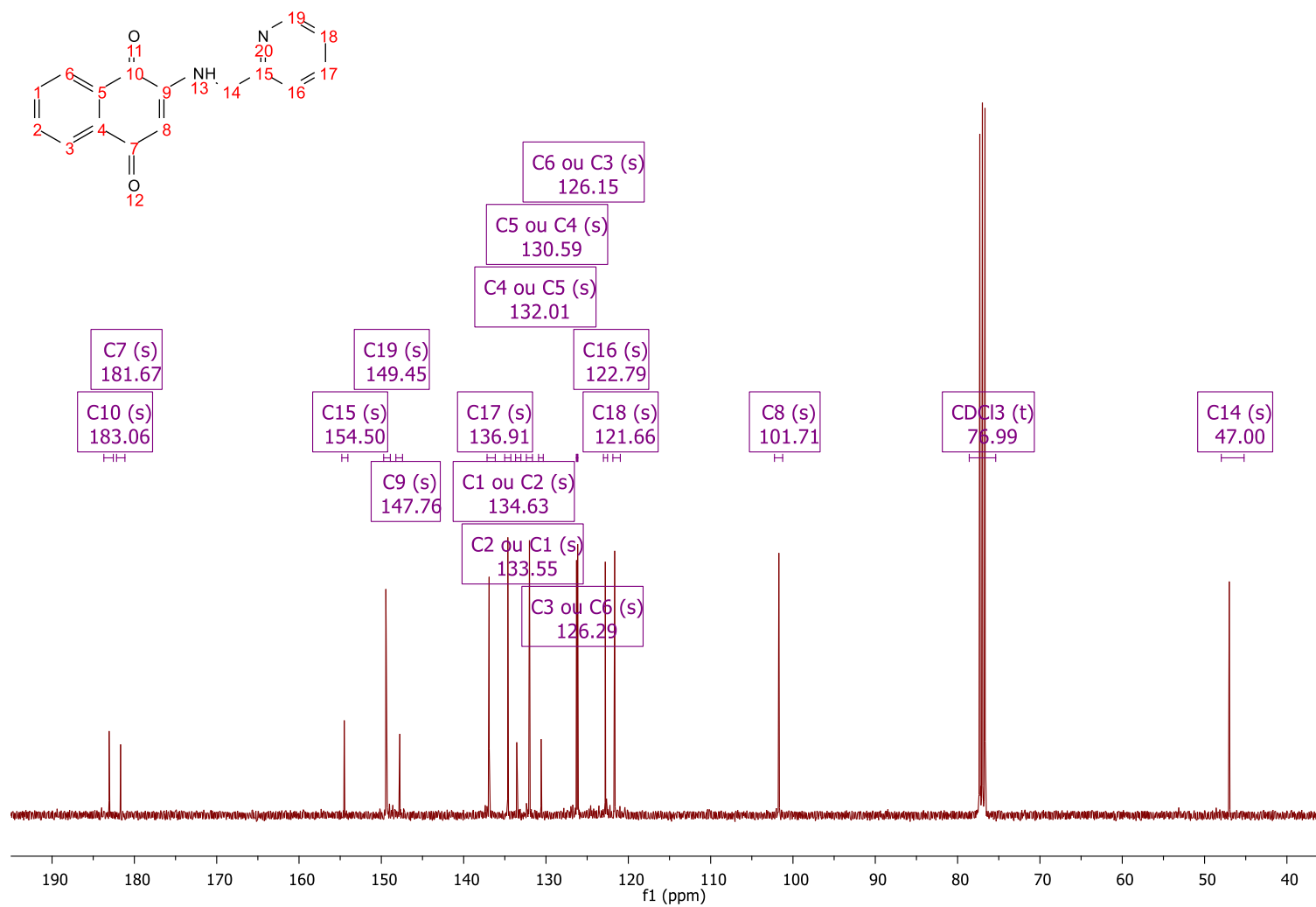
Anexo 20. Espectro de Massas do composto 2-((3-aminopropil)amino)naftaleno-1,4-diona **111**.



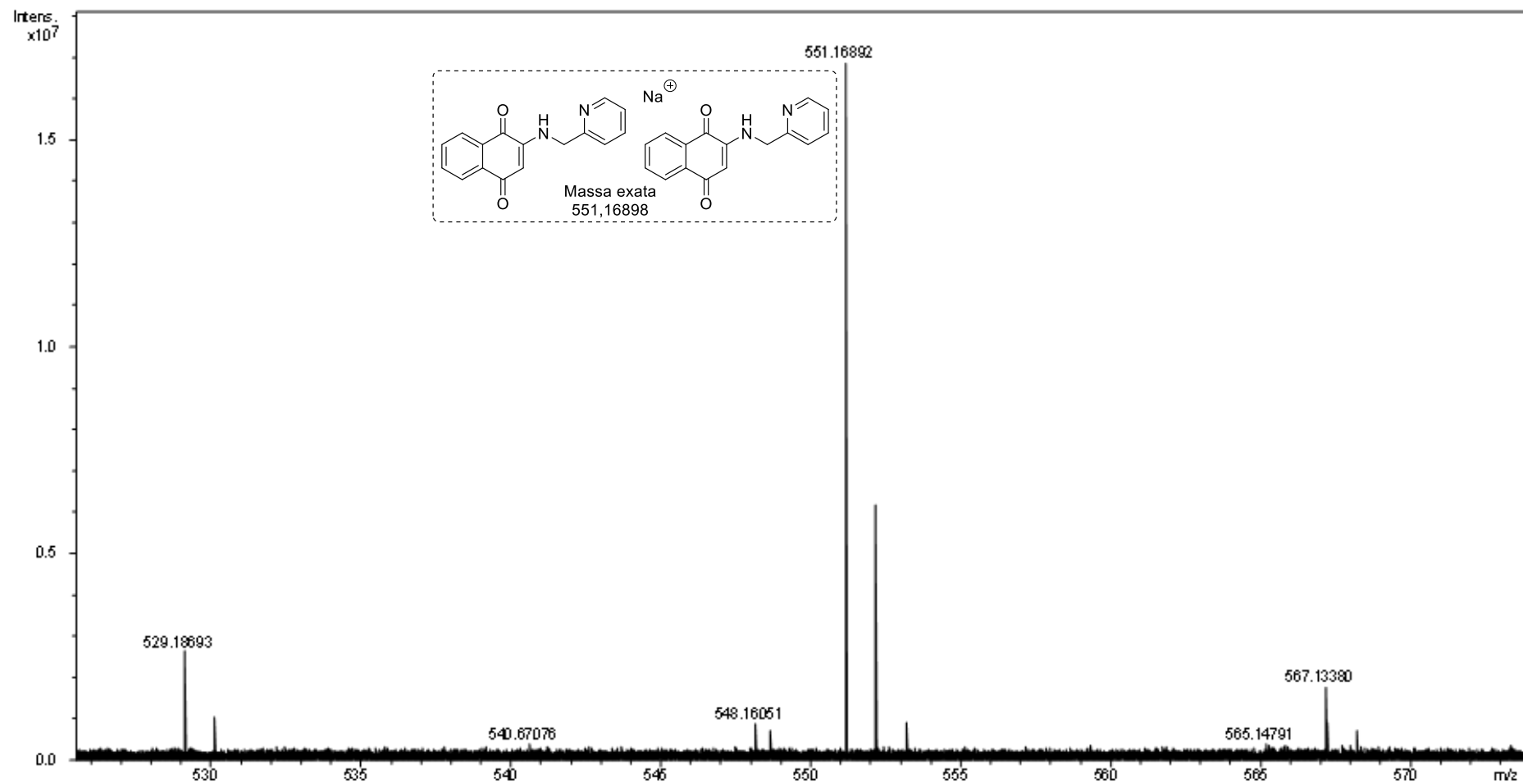
Anexo 21. Espectro de infravermelho do composto 2-((piridin-2-ilmetil)amino)naftaleno-1,4-diona **112**.



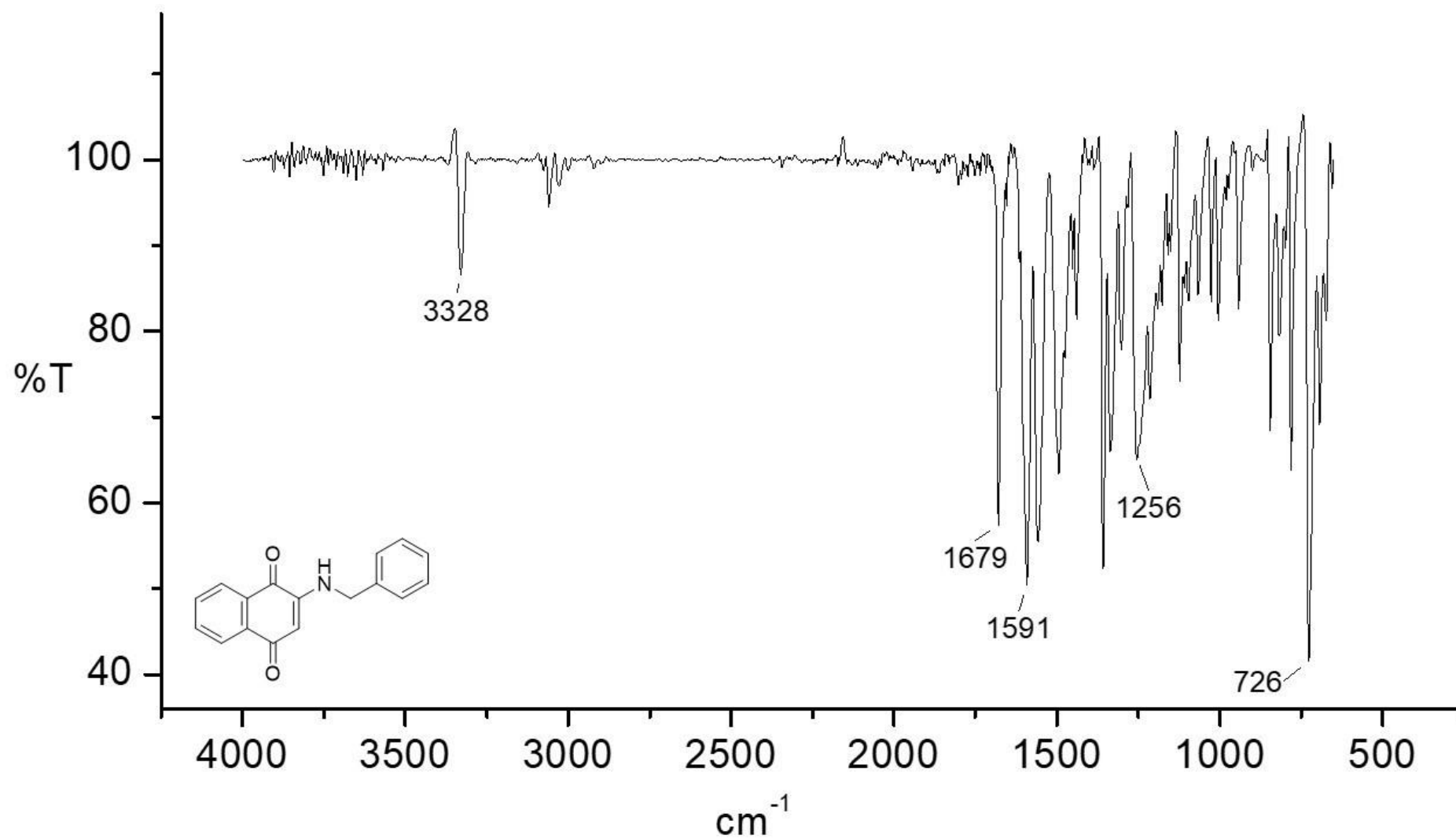
Anexo 22. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-((piridin-2-ilmetil)amino)naftaleno-1,4-diona **112**.



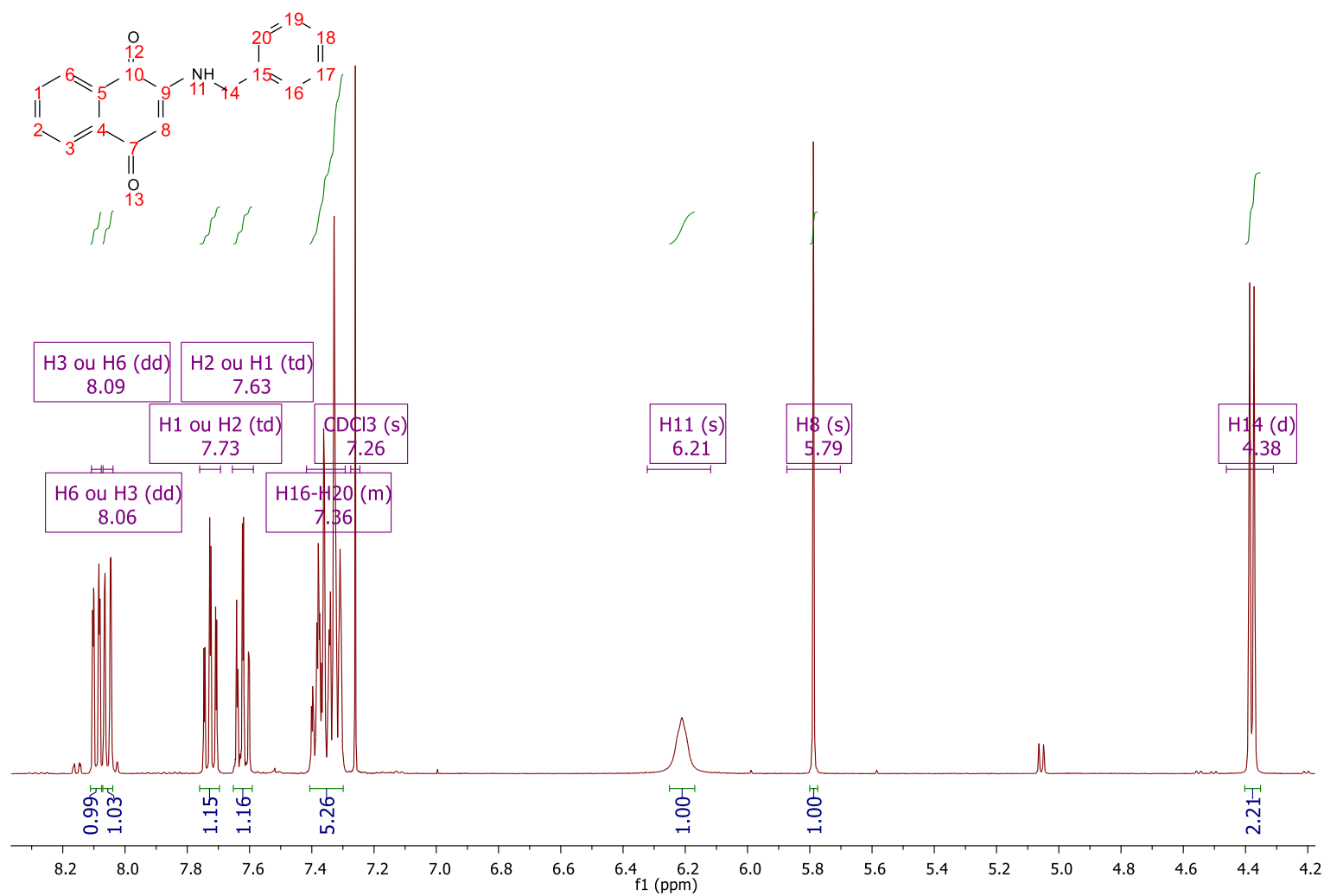
Anexo 23. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((piridin-2-ilmetil)amino)naftaleno-1,4-diona **112**.



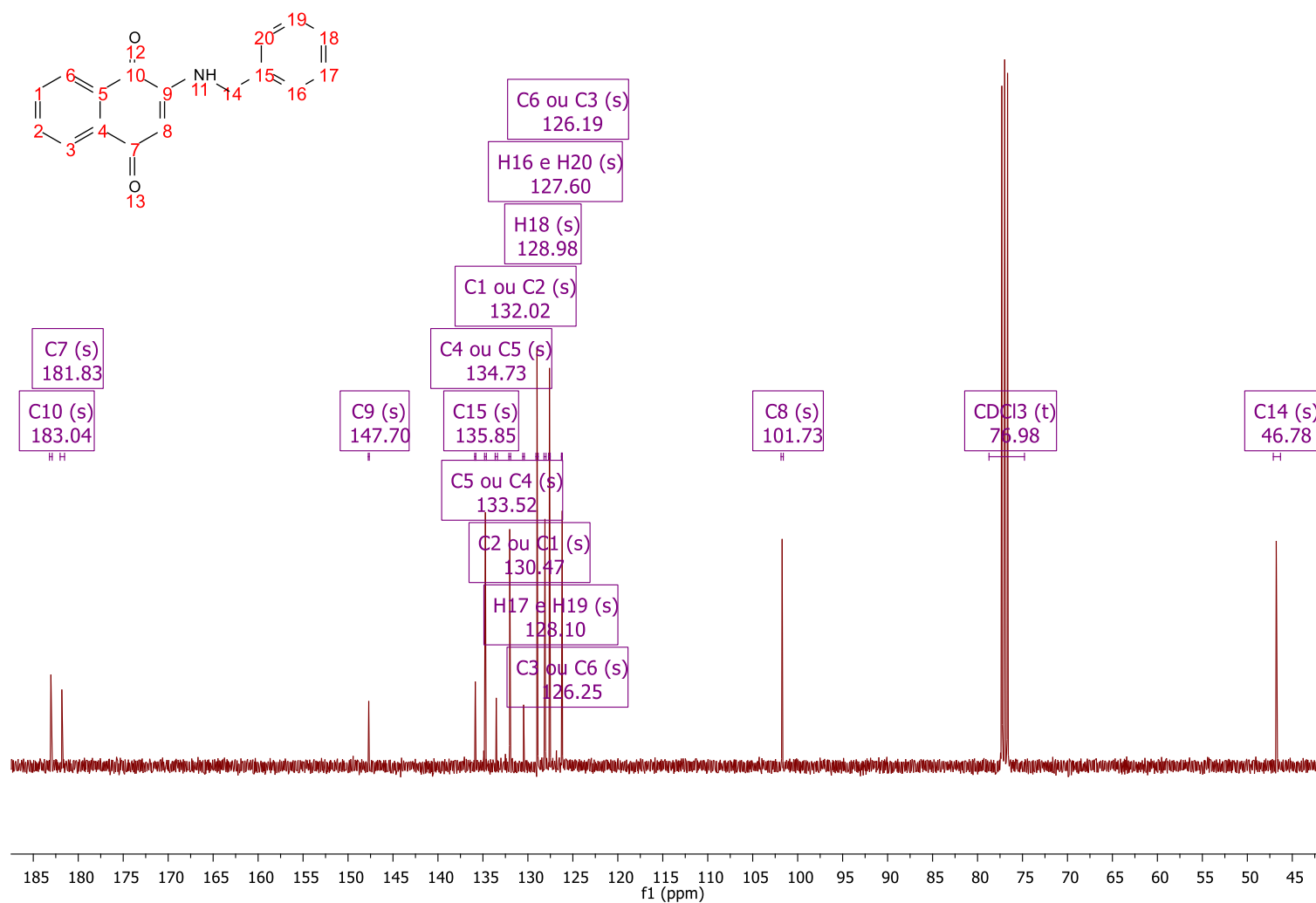
Anexo 24. Espectro de Massas do composto 2-((piridin-2-ilmetil)amino)naftaleno-1,4-diona **112**.



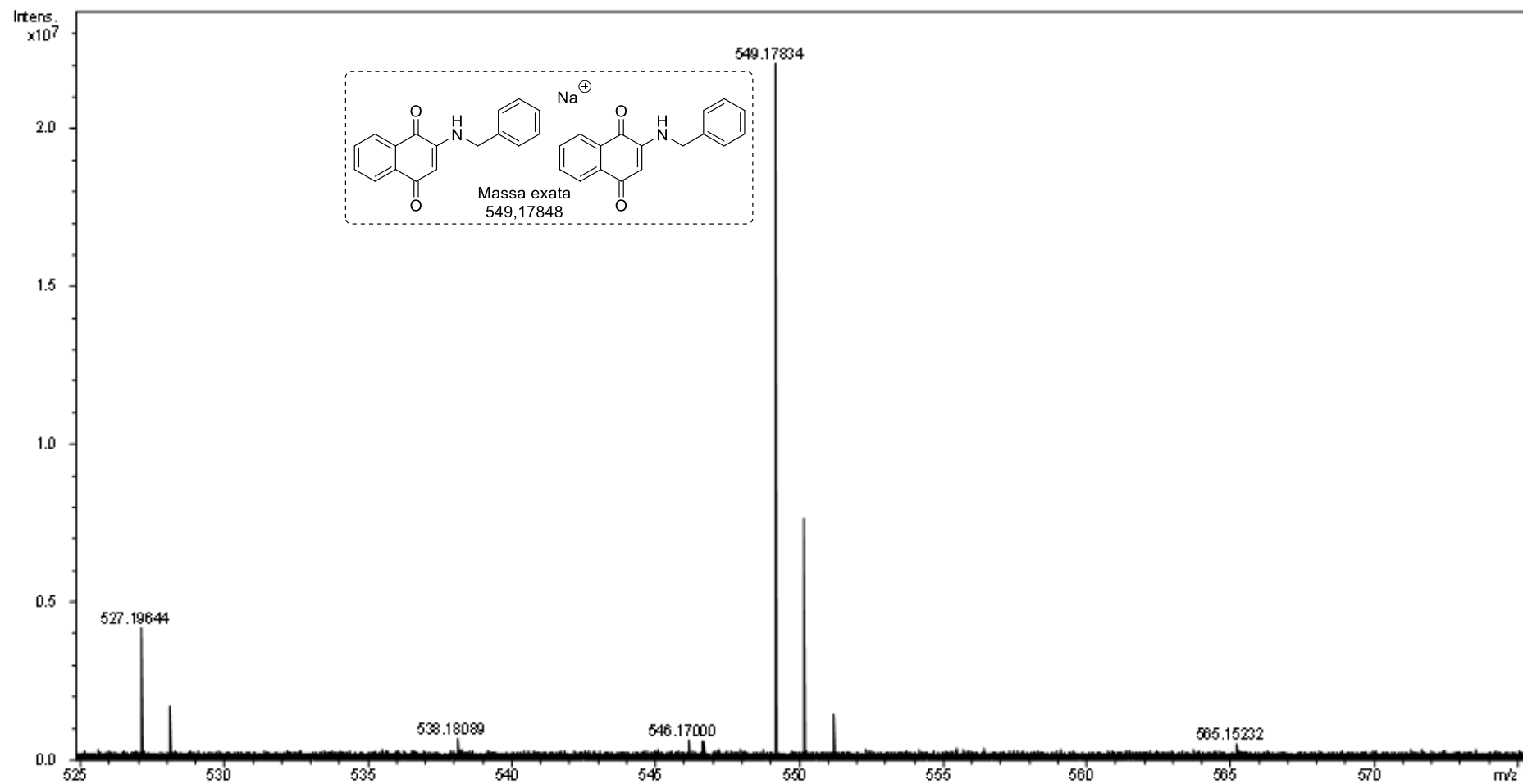
Anexo 25. Espectro de infravermelho do composto 2-(benzilamino)naftaleno-1,4-diona **113**.



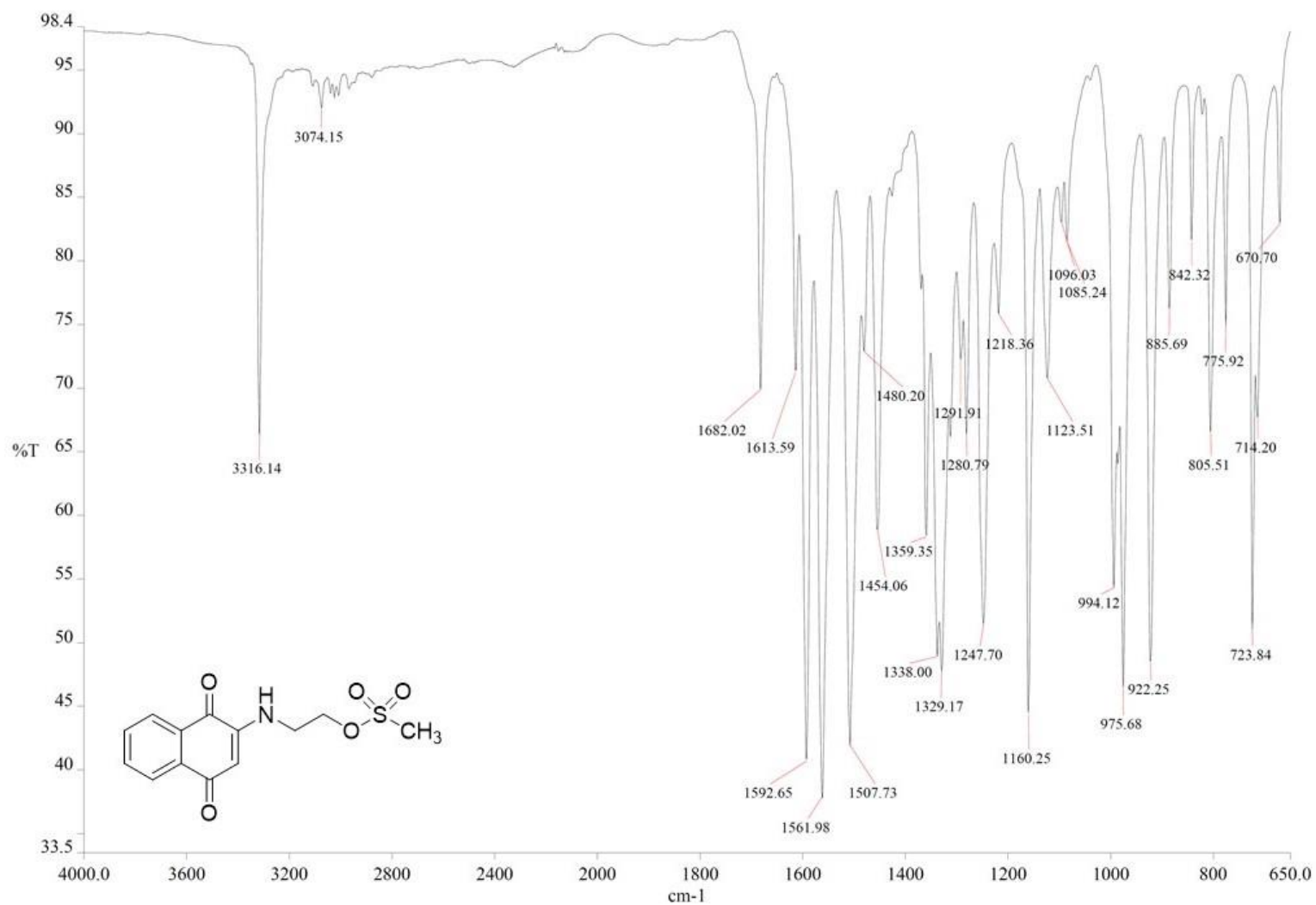
Anexo 26. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-(benzilamino)naftaleno-1,4-diona **113**.



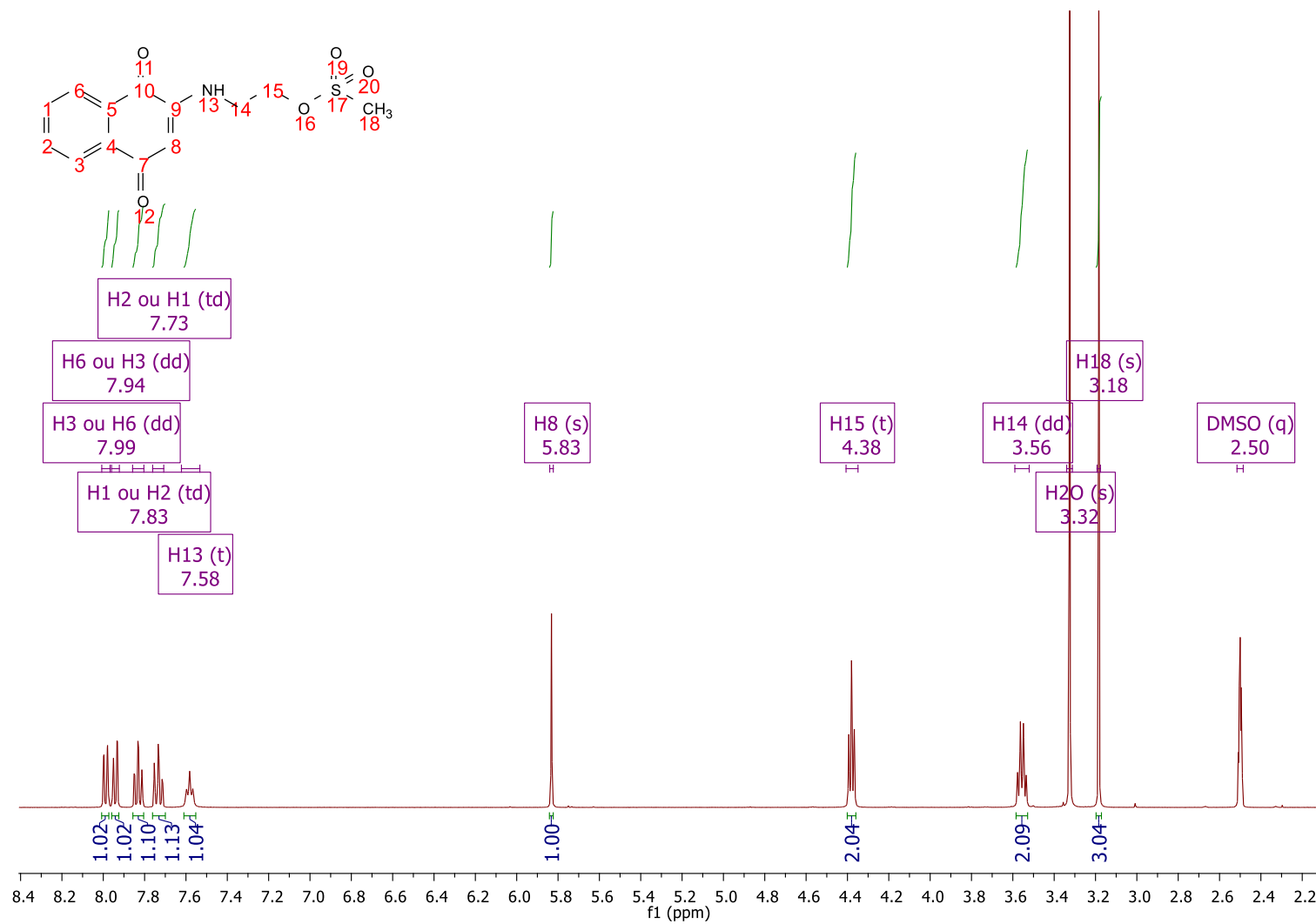
Anexo 27. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-(benzilamino)naftaleno-1,4-diona **113**.



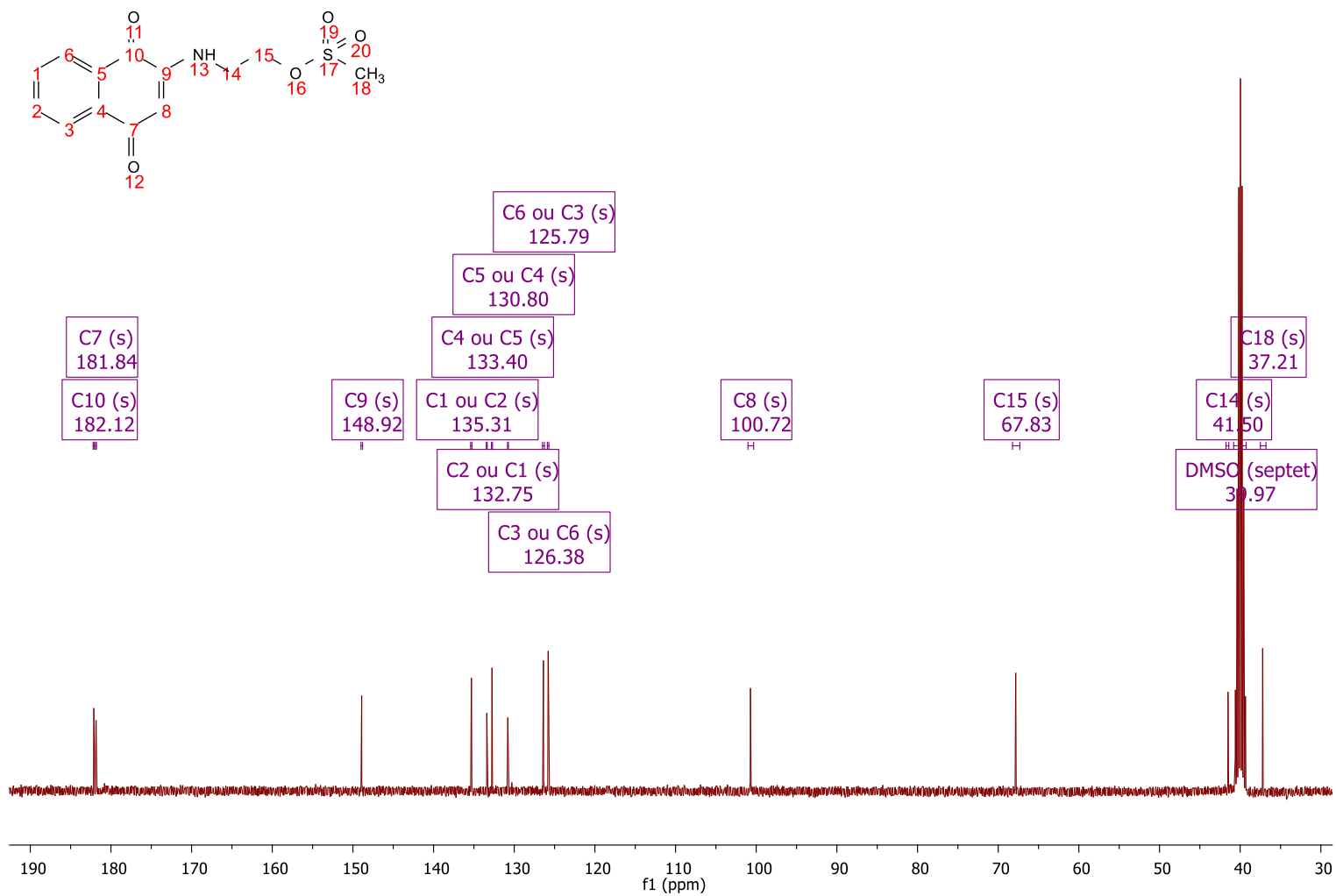
Anexo 28. Espectro de Massas do composto 2-(benzilamino)naftaleno-1,4-diona **113**.



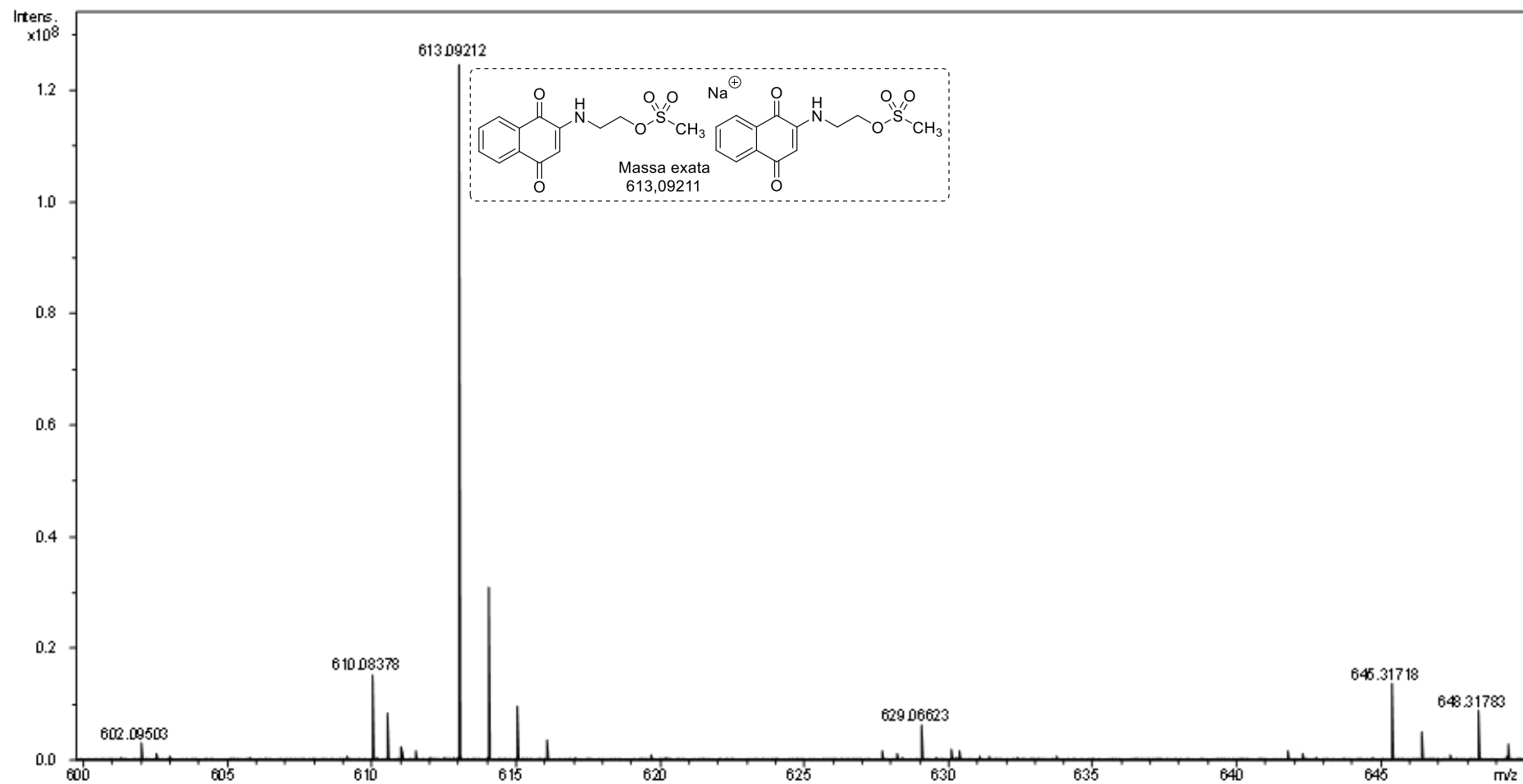
Anexo 29. Espectro de infravermelho do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato **114**.



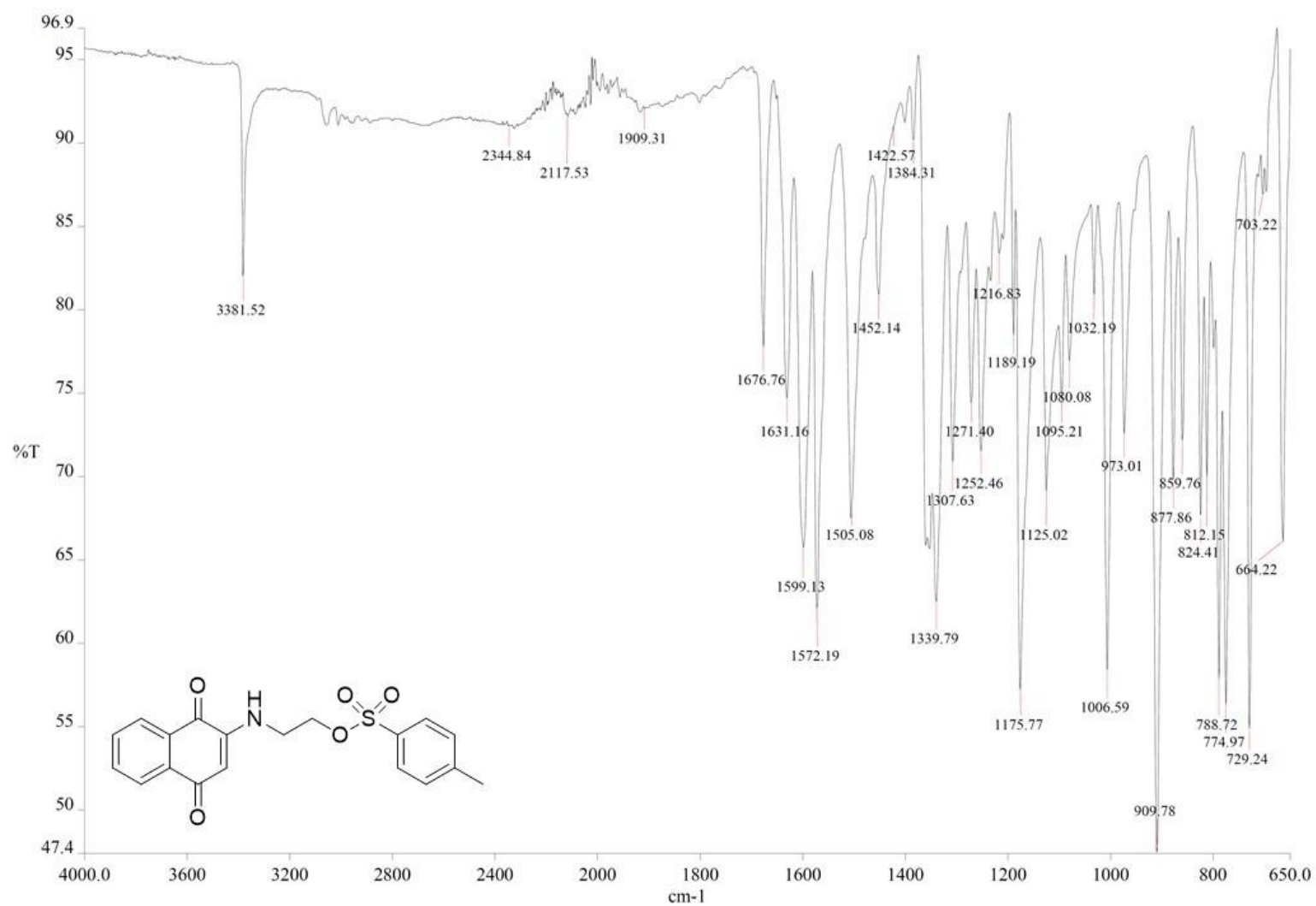
Anexo 30. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato **114**.



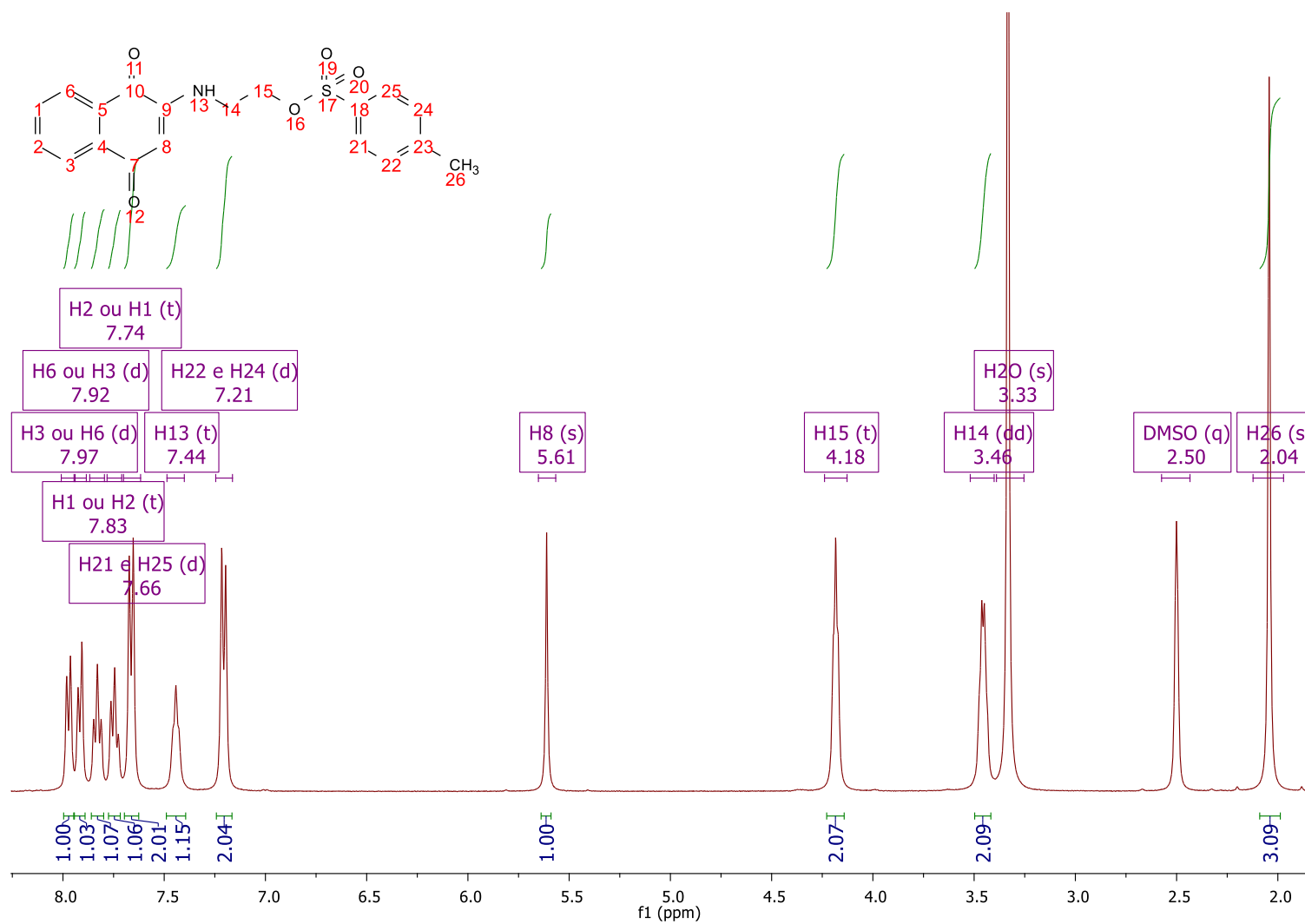
Anexo 31. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato **114**.



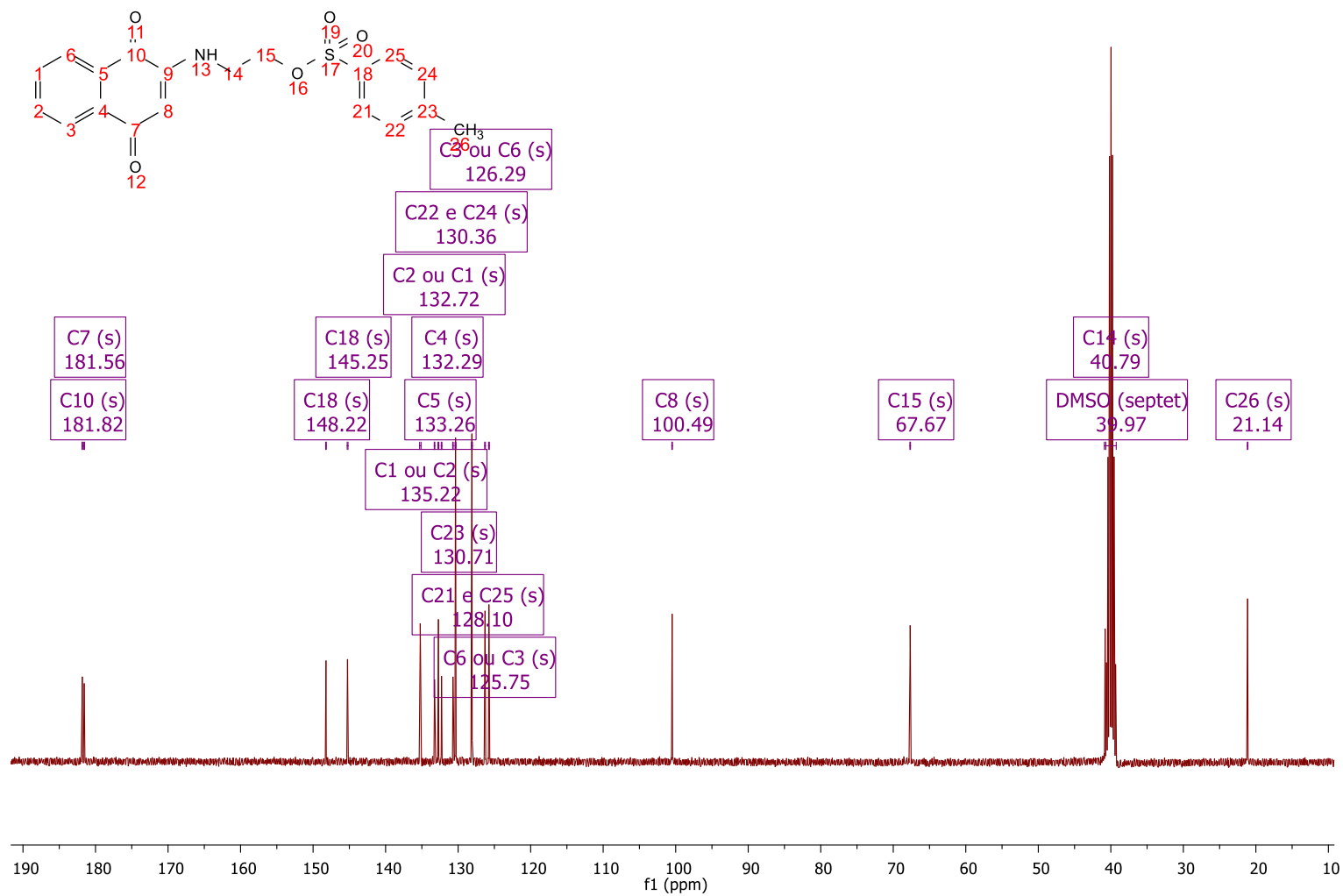
Anexo 32. Espectro de Massas do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil metanossulfonato **114**.



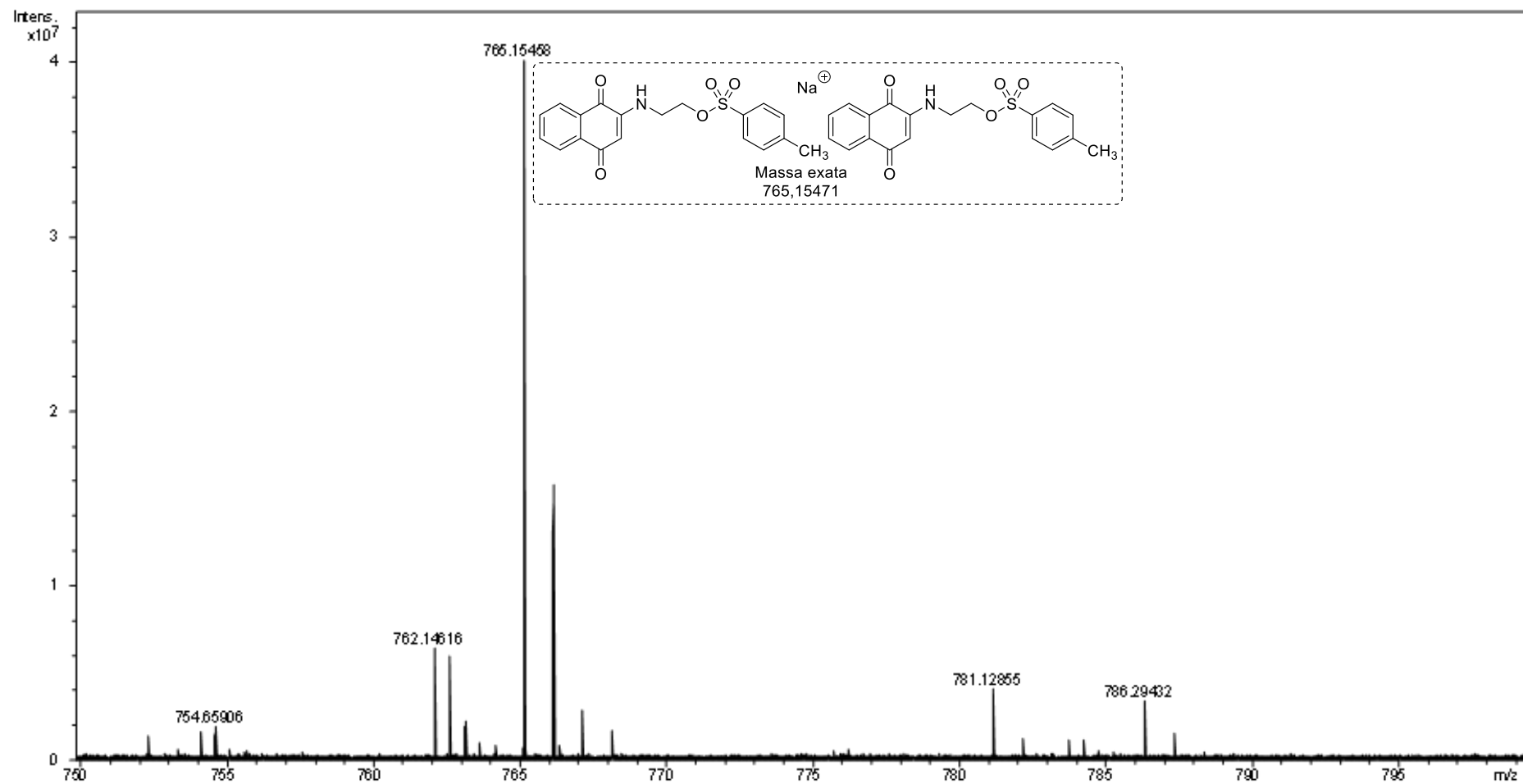
Anexo 33. Espectro de infravermelho do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil 4-metilbenzenossulfonato **115**.



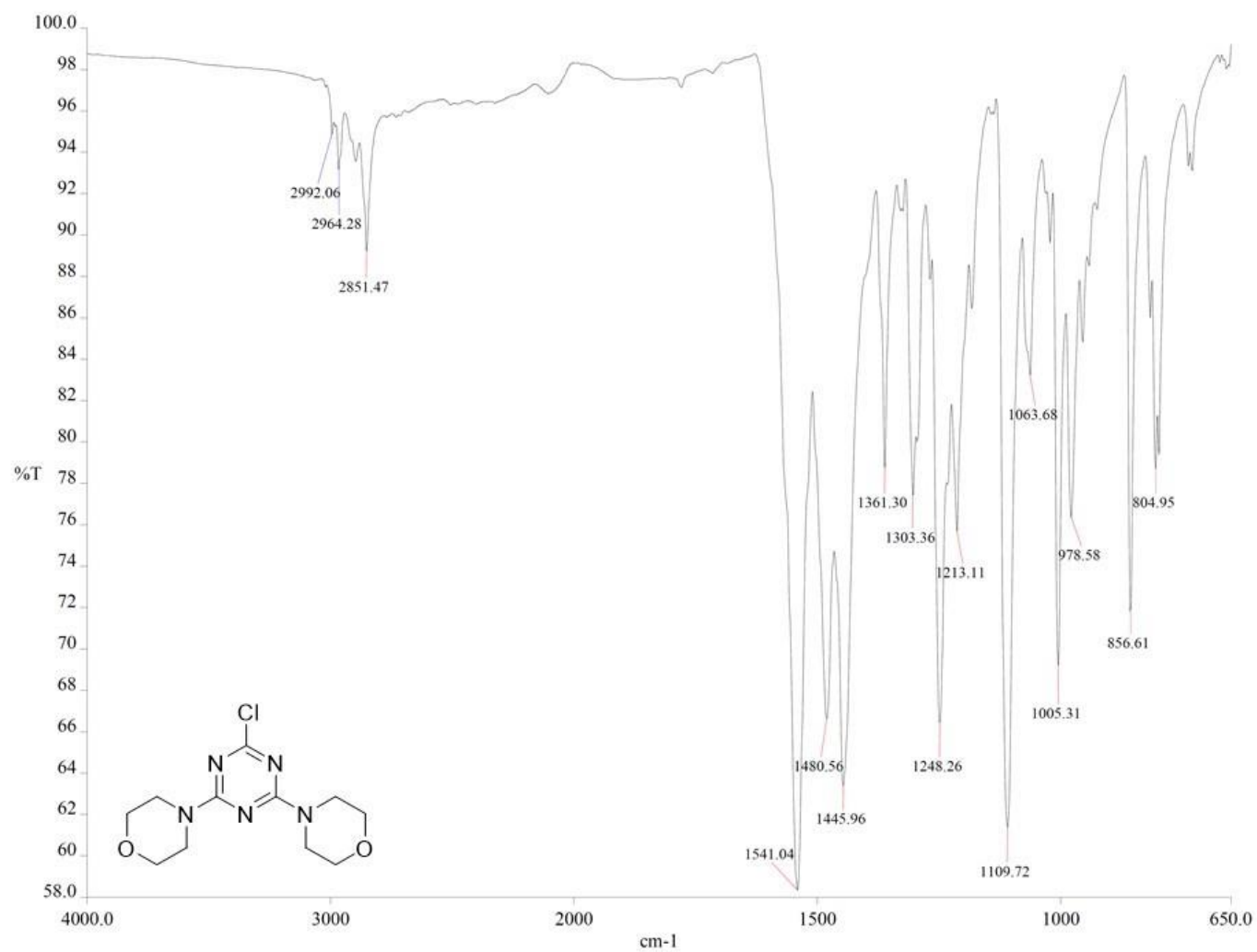
Anexo 34. Espectro de RMN de ^1H do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil 4-metilbenzenossulfonato **115**.



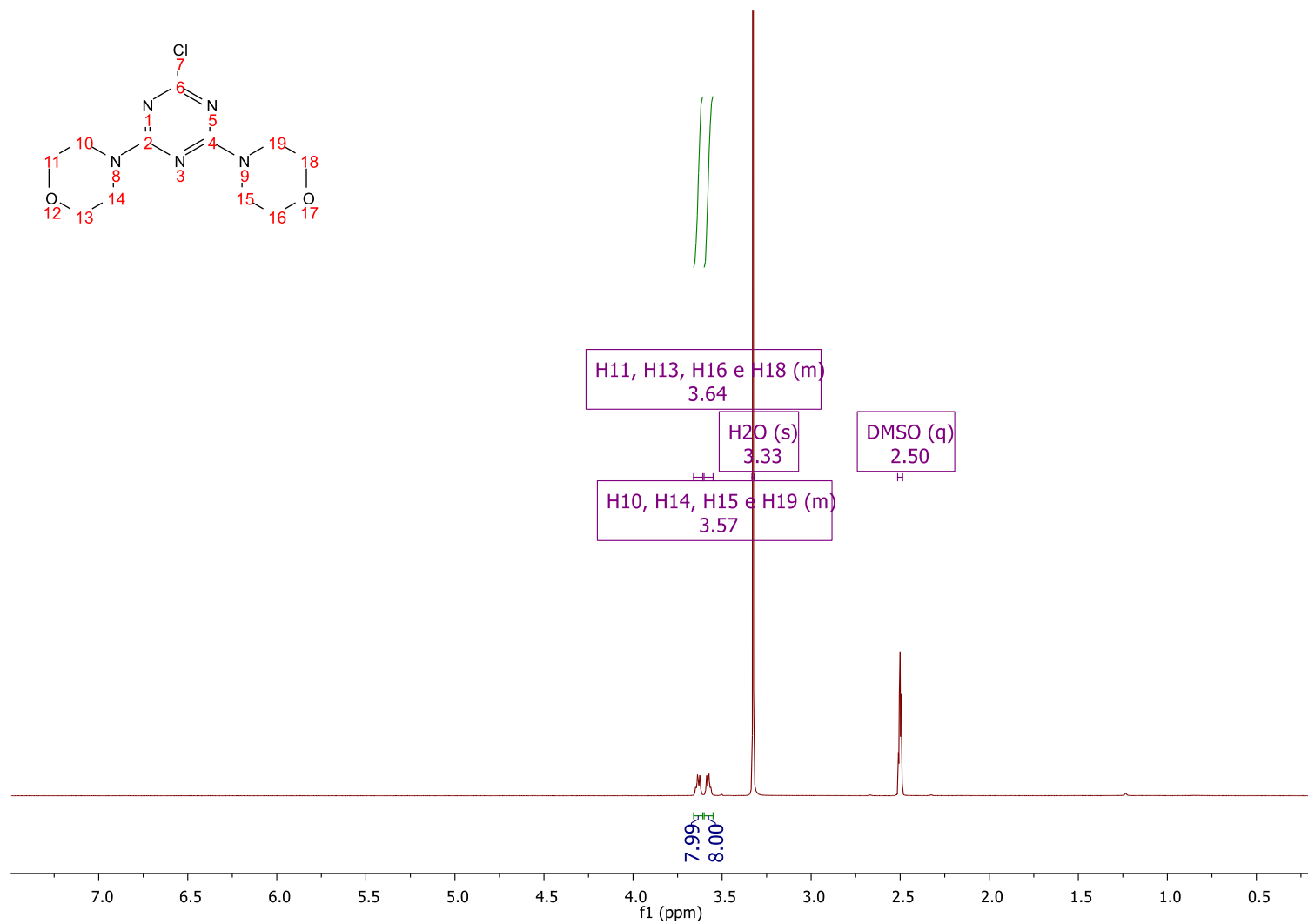
Anexo 35. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)etil 4-metilbenzenossulfonato **115**.



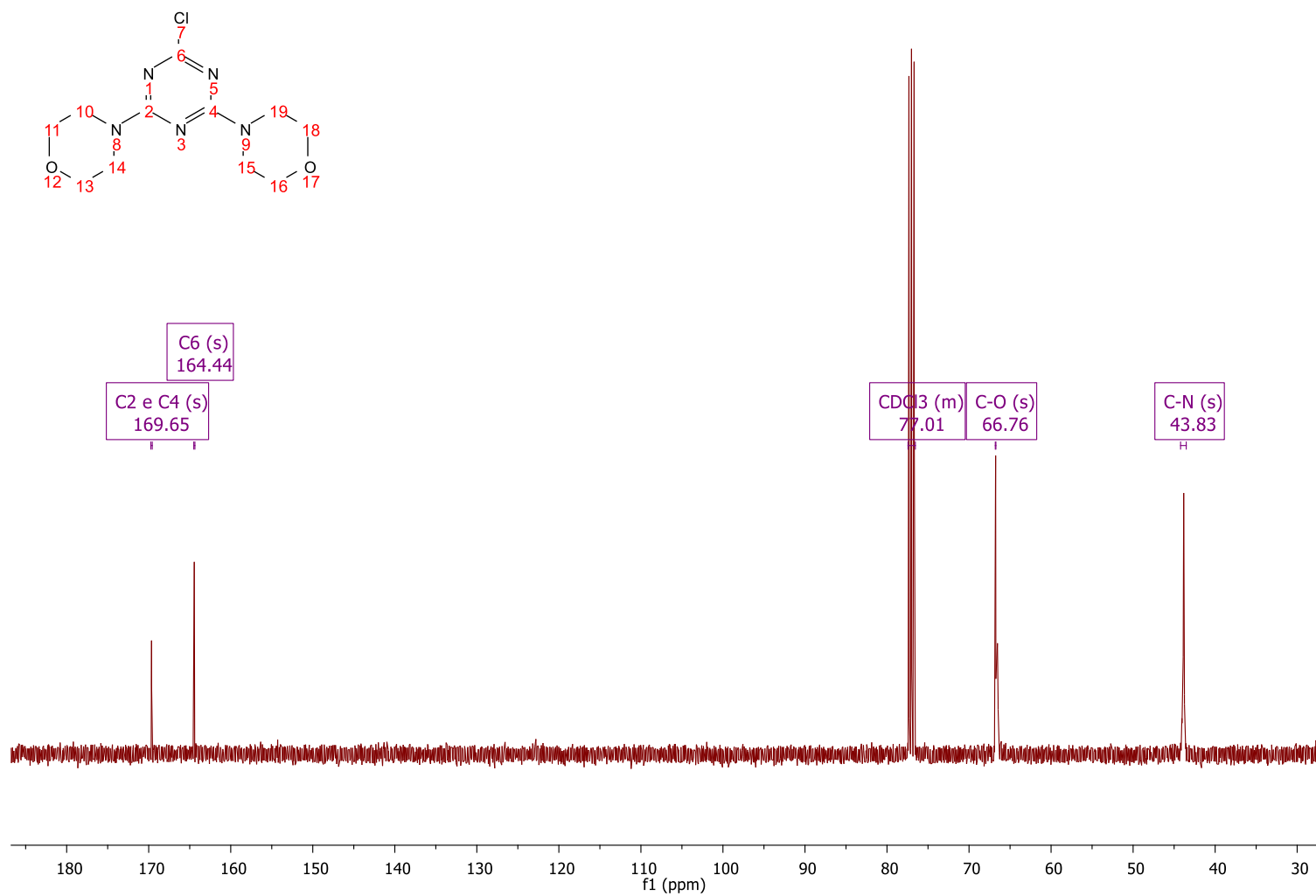
Anexo 36. Espectro de Massas do composto 2-((1,4-dioxo-1,4-di-hidronaftalen-2-il)amino)etil 4-metilbenzenossulfonato **115**.



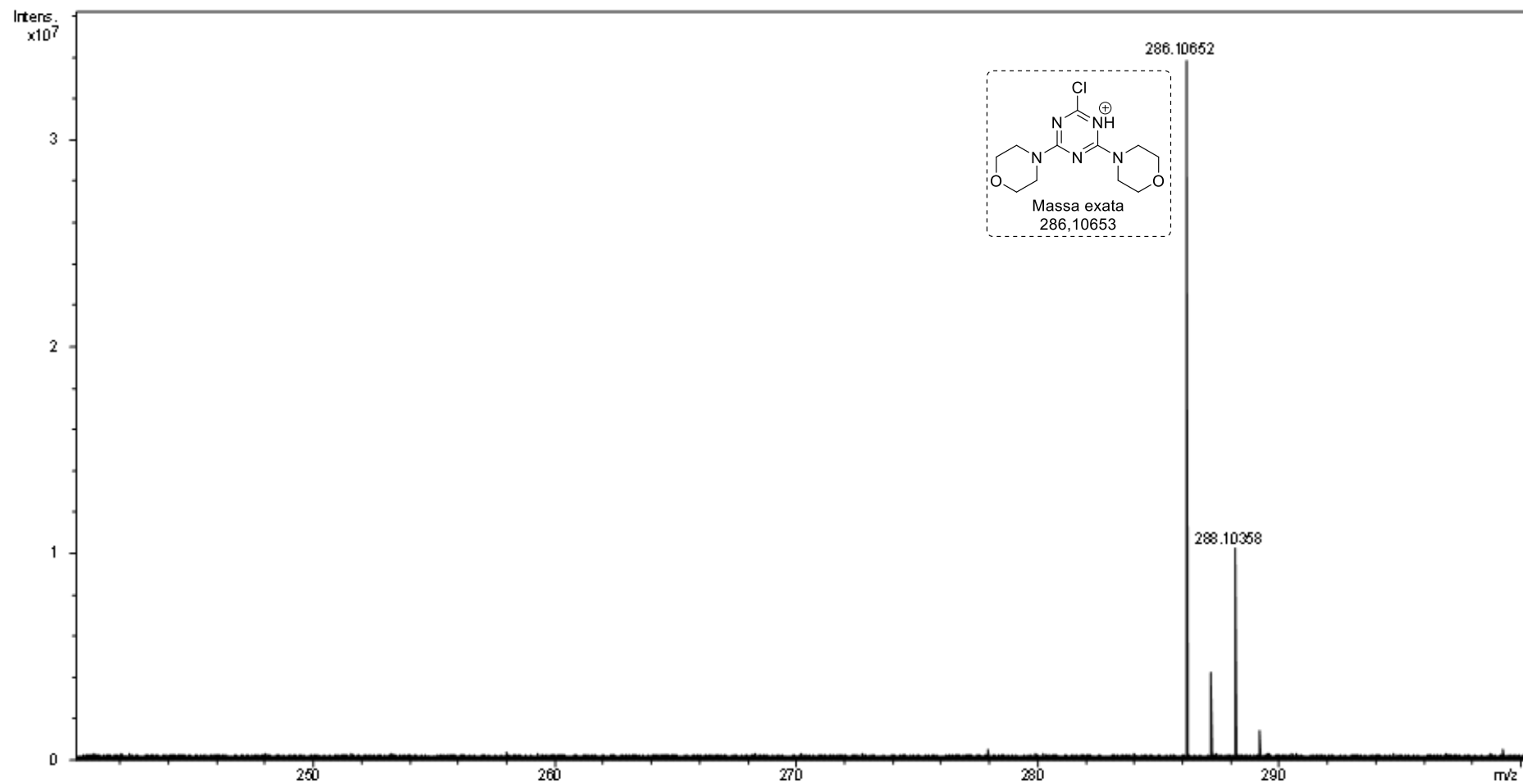
Anexo 37. Espectro de infravermelho do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina **119**.



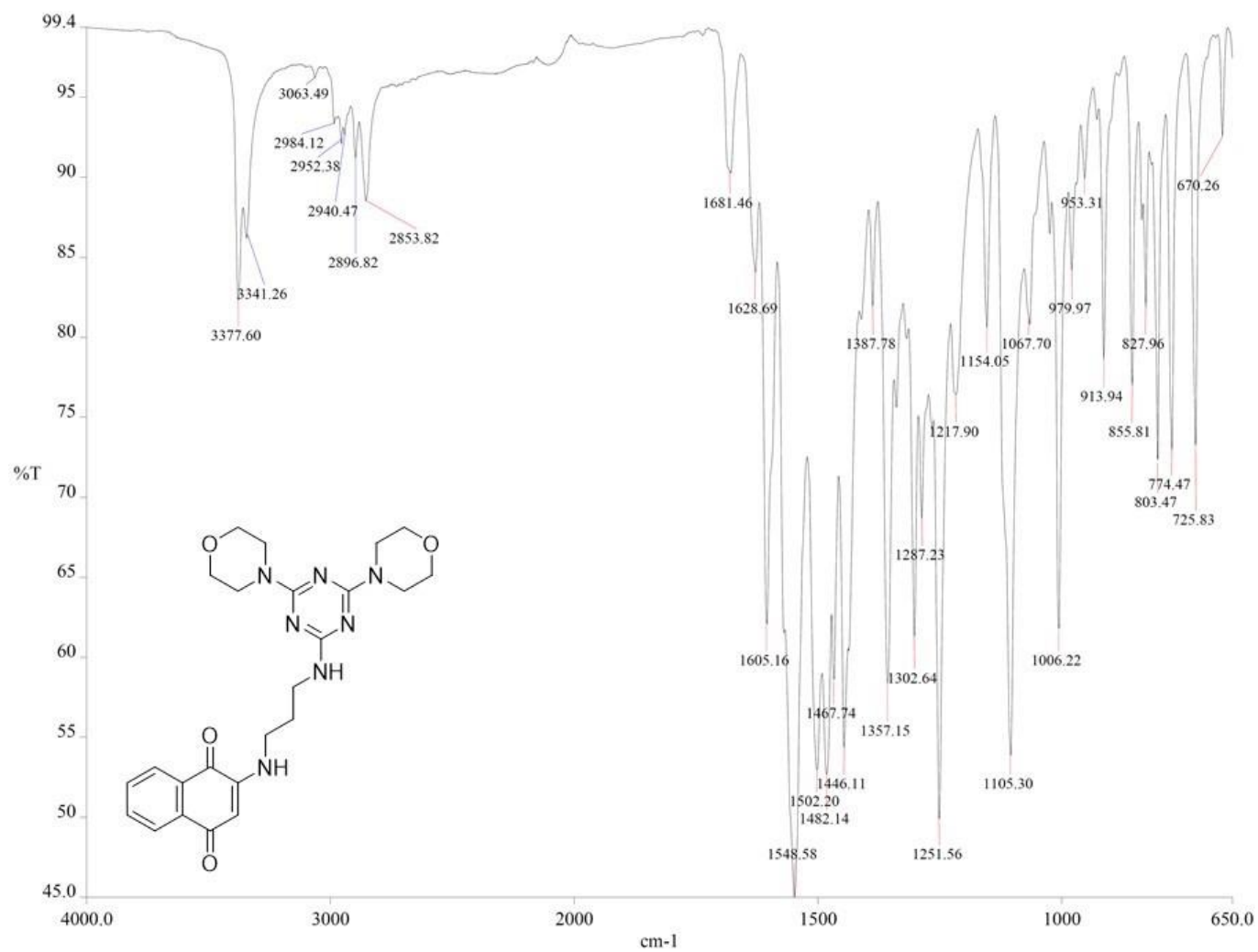
Anexo 38. Espectro de RMN de ^1H do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina **119**.



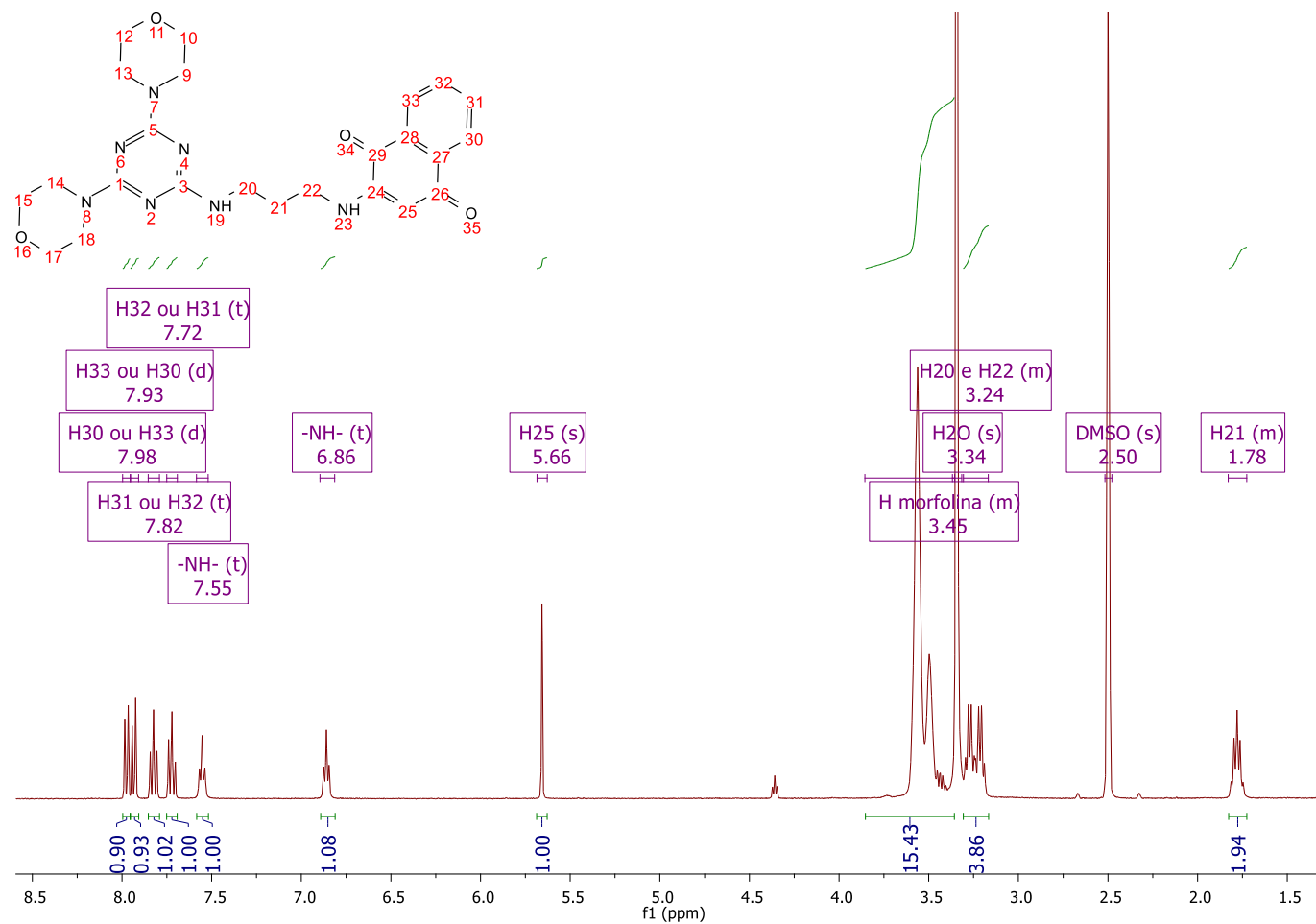
Anexo 39. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4,4'-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina **119**.



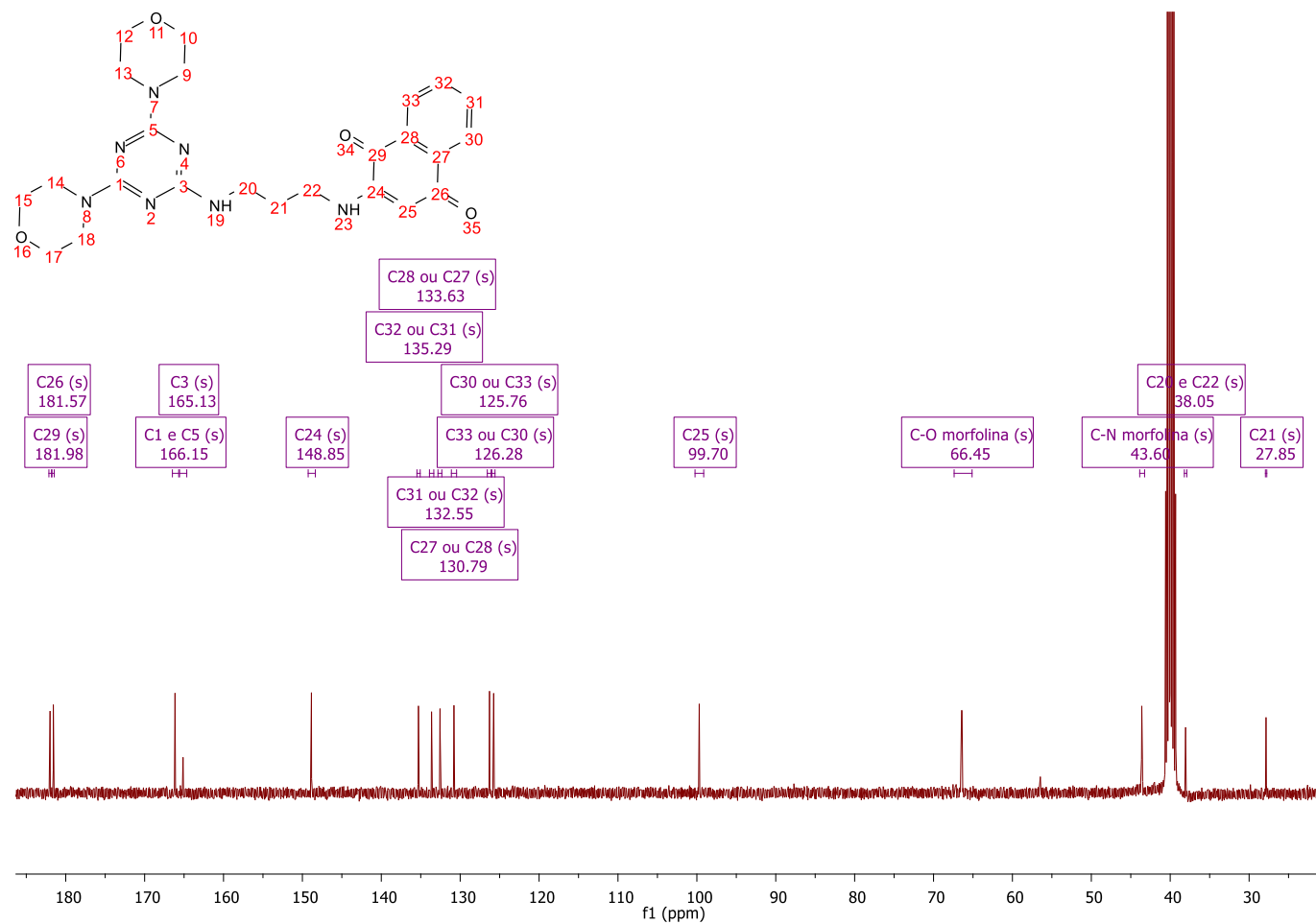
Anexo 40. Espectro de Massas do composto 4,4-(6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)dimorfolina **119**.



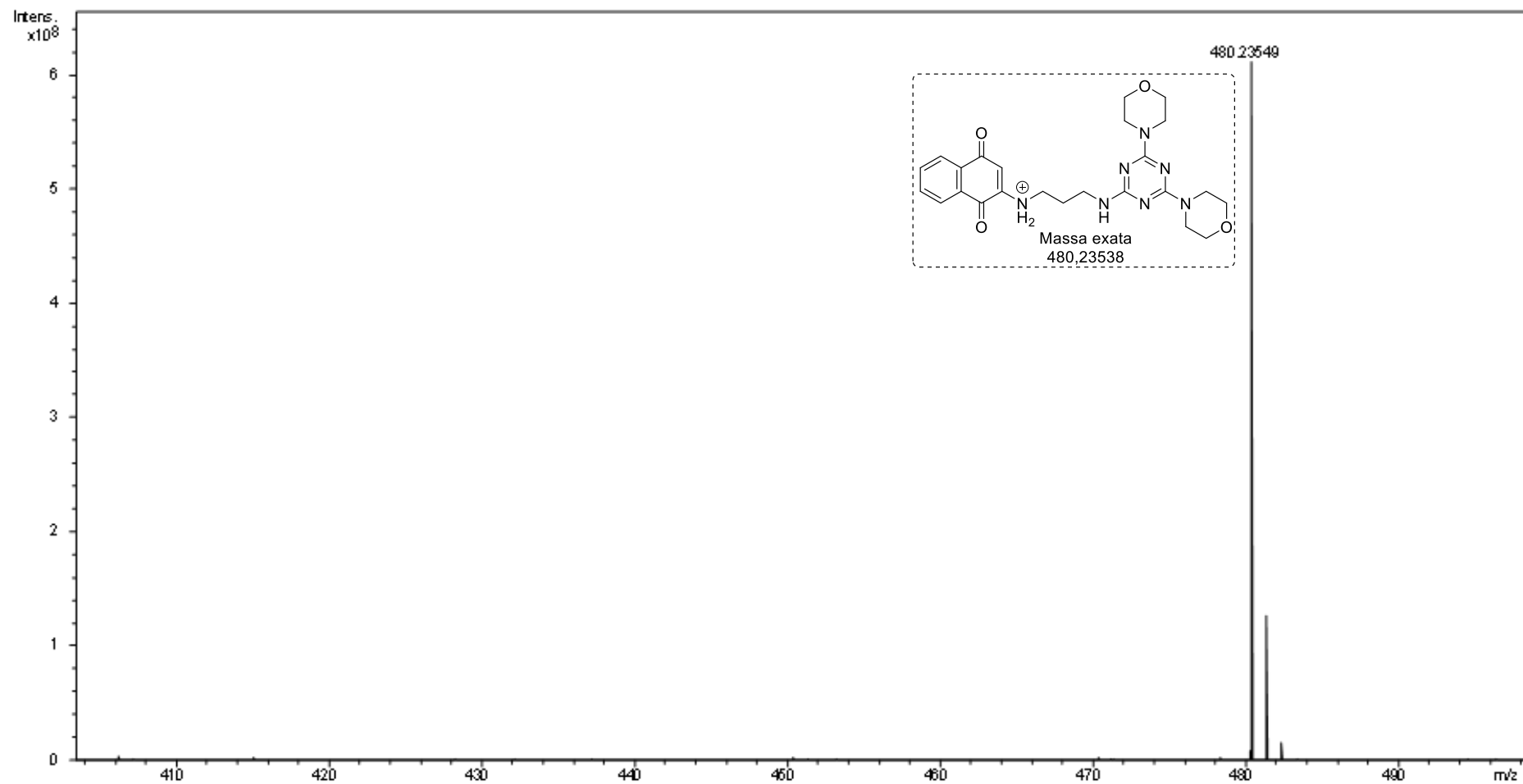
Anexo 41. Espectro de infravermelho do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona **116**.



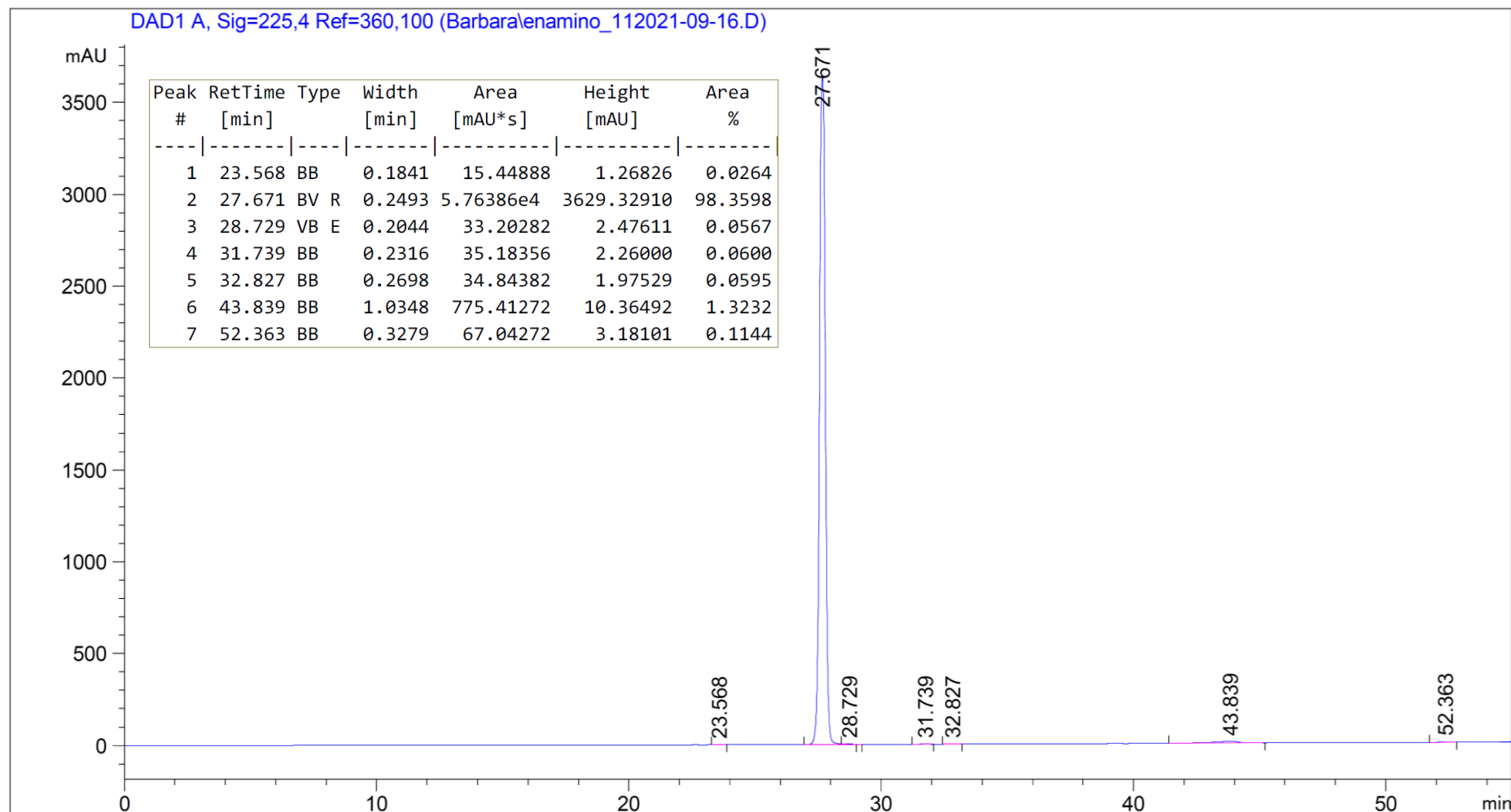
Anexo 42. Espectro de RMN de ¹H do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona **116**.



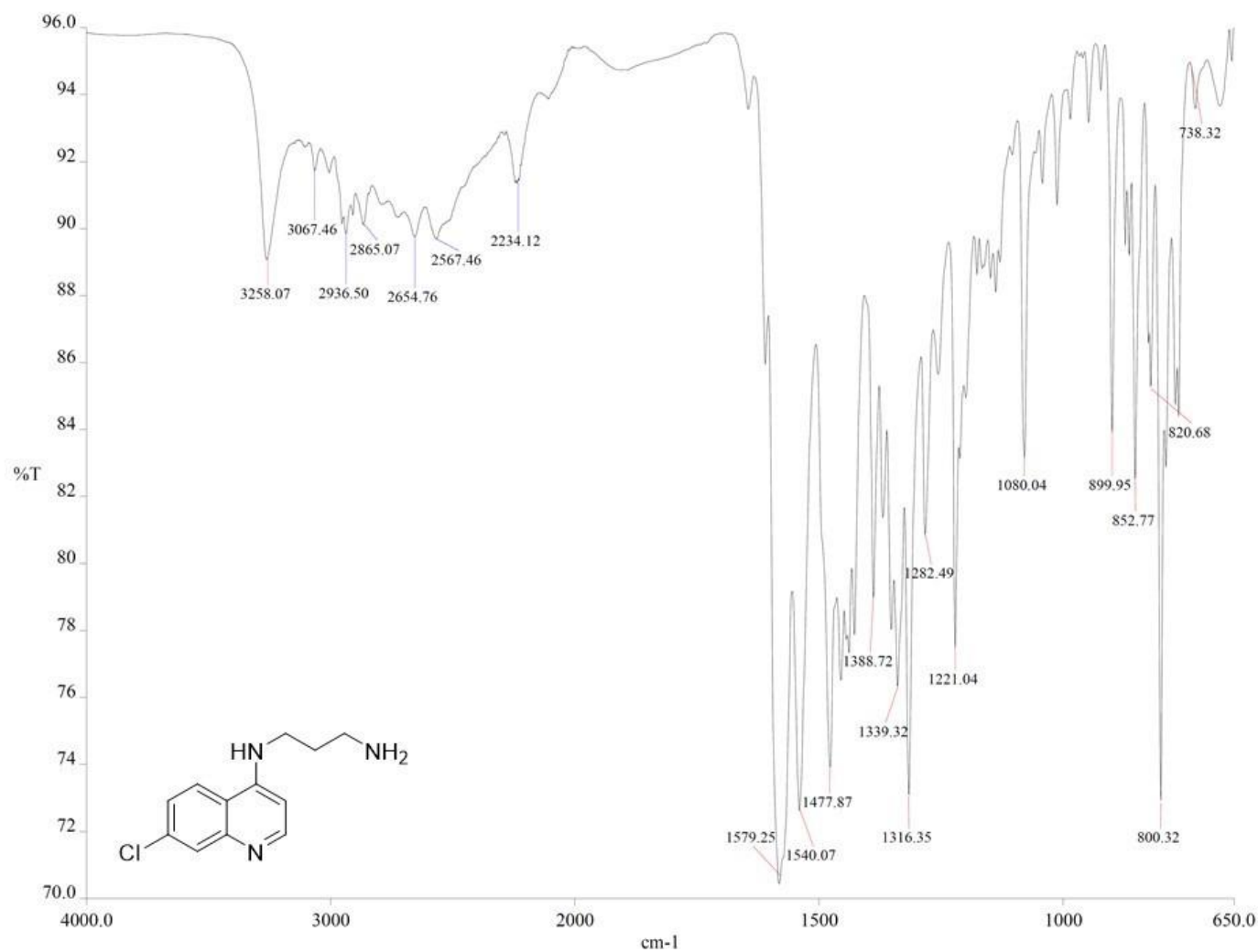
Anexo 43. Espectro de RMN de ¹³C do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona **116**.



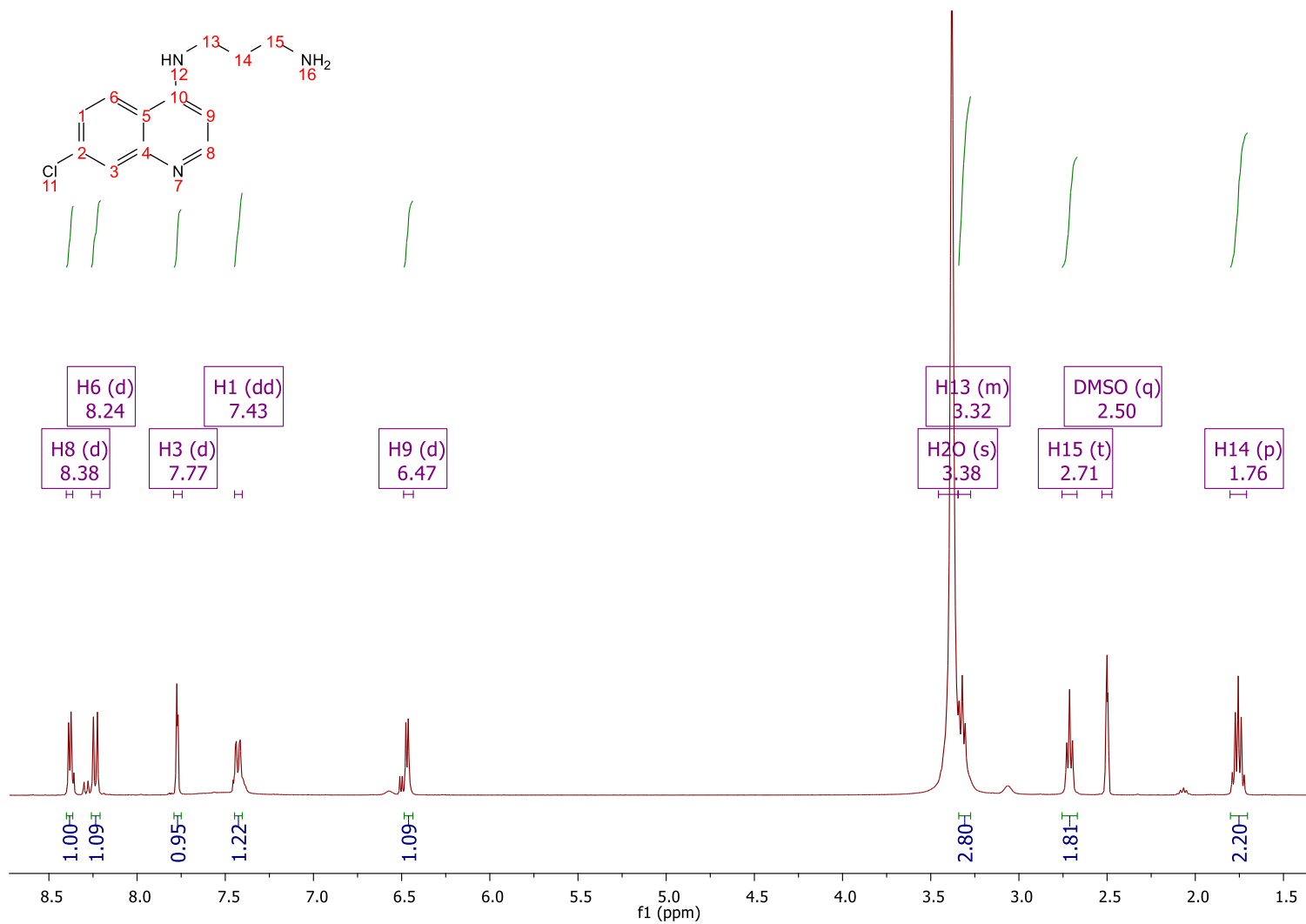
Anexo 44. Espectro de Massas do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona **116**.



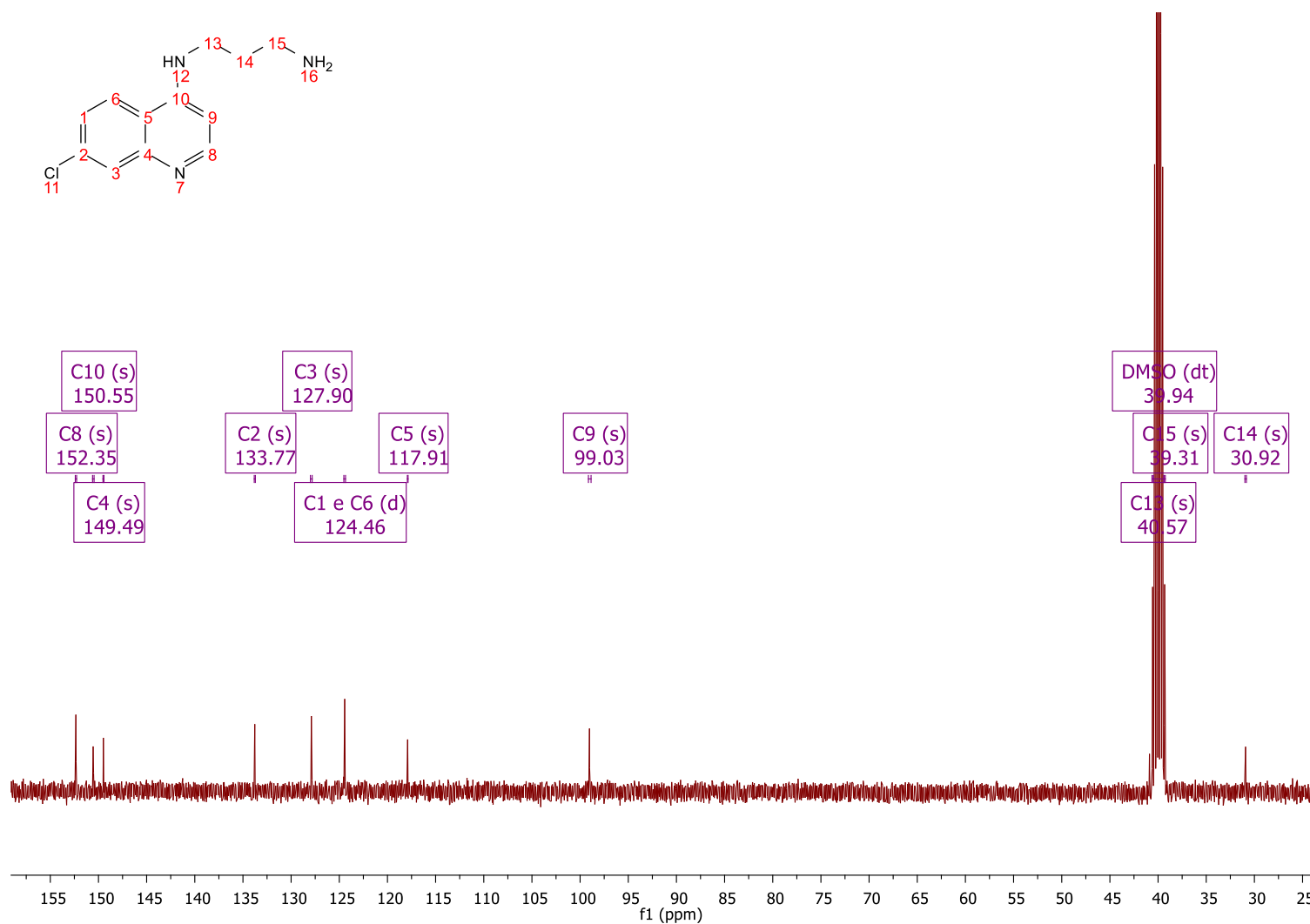
Anexo 45. Cromatograma de CLAE do composto 2-((3-((4,6-dimorfolina-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naf-taleno-1,4-diona **116**.



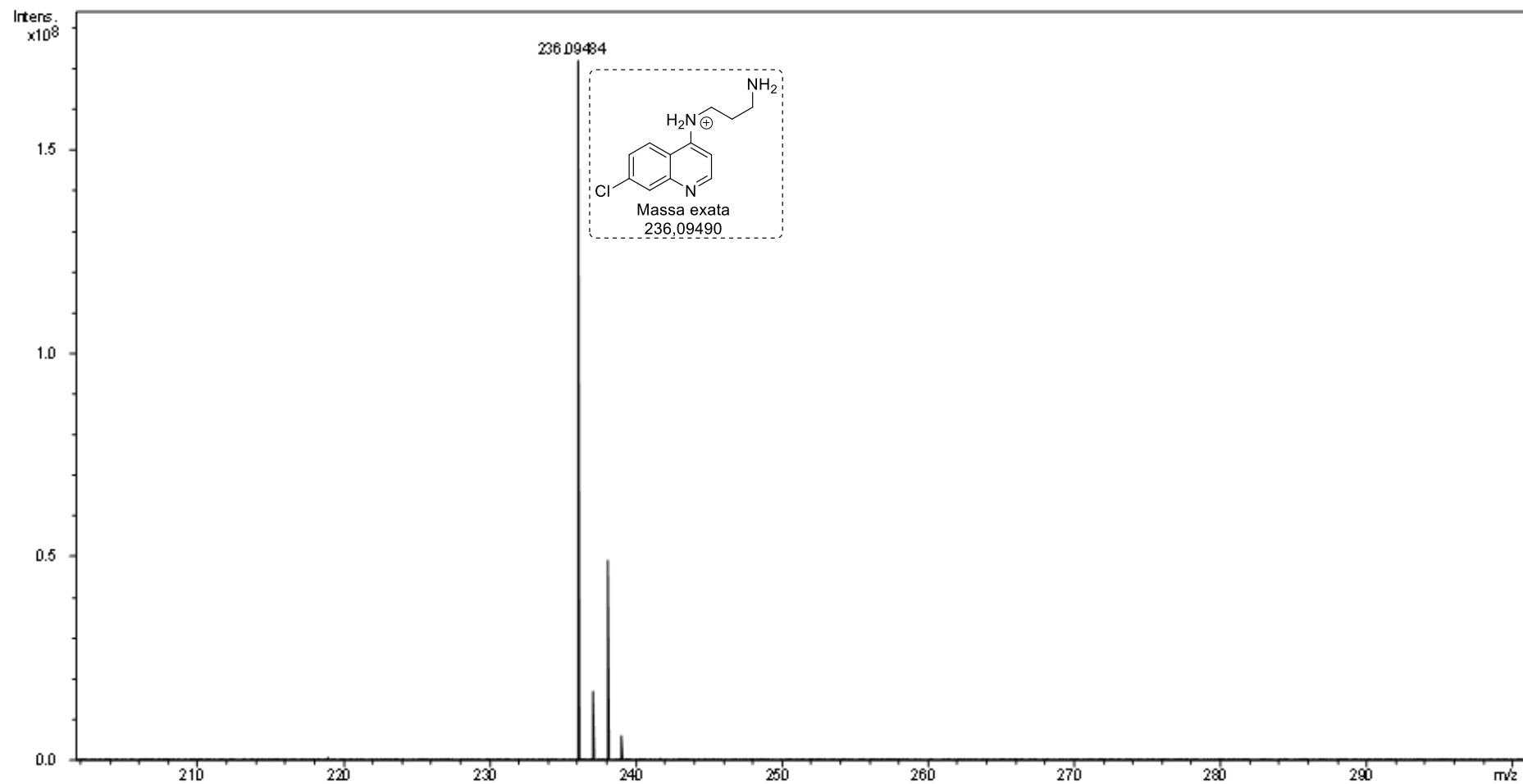
Anexo 46. Espectro de infravermelho do composto *N*¹-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina **121**.



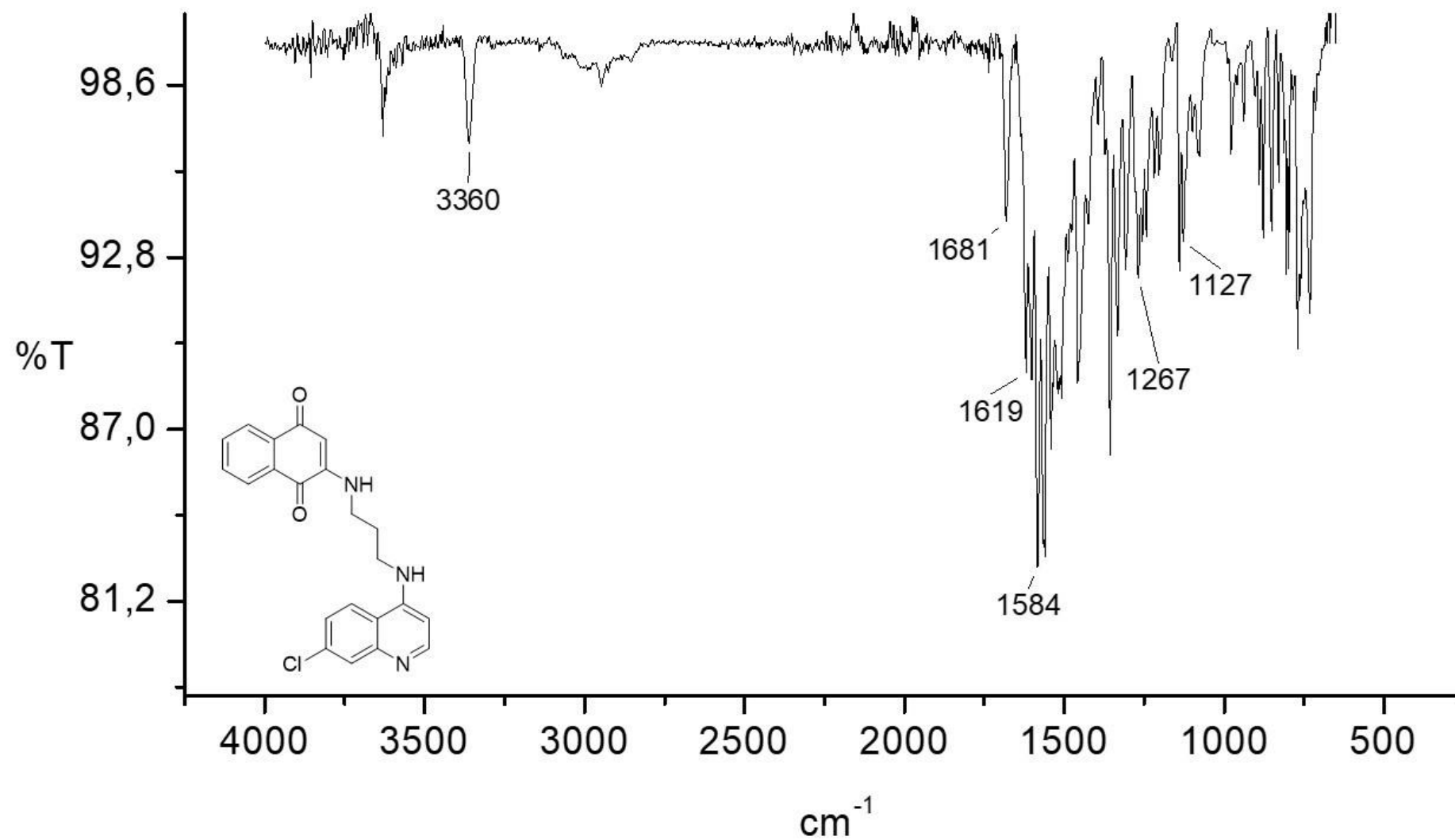
Anexo 47. Espectro de RMN de ¹H do composto *N*¹-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina **121**.



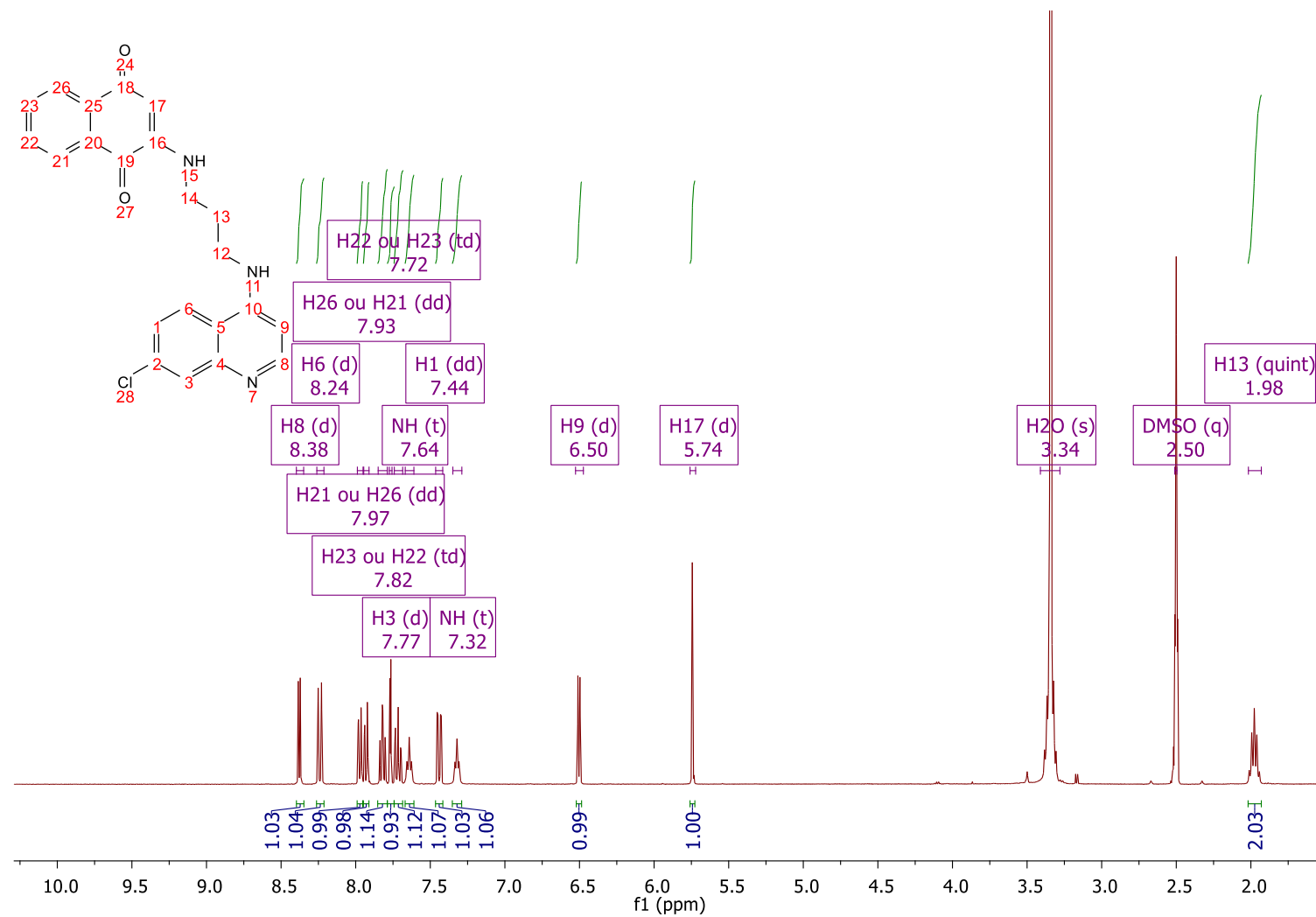
Anexo 48. Espectro de RMN de ¹³C do composto *N*¹-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina **121**.



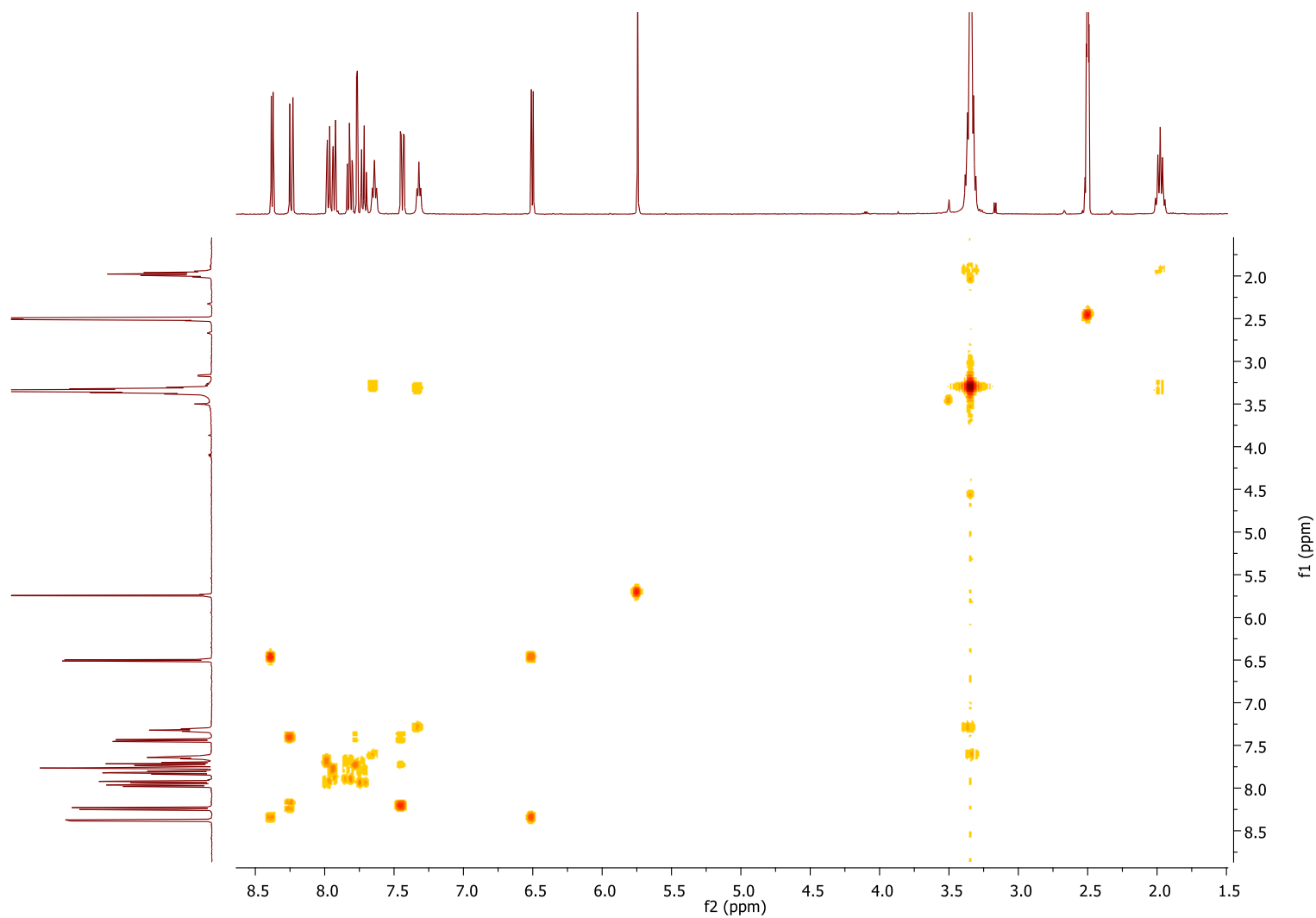
Anexo 49. Espectro de Massas do composto *N*¹-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina **121**.



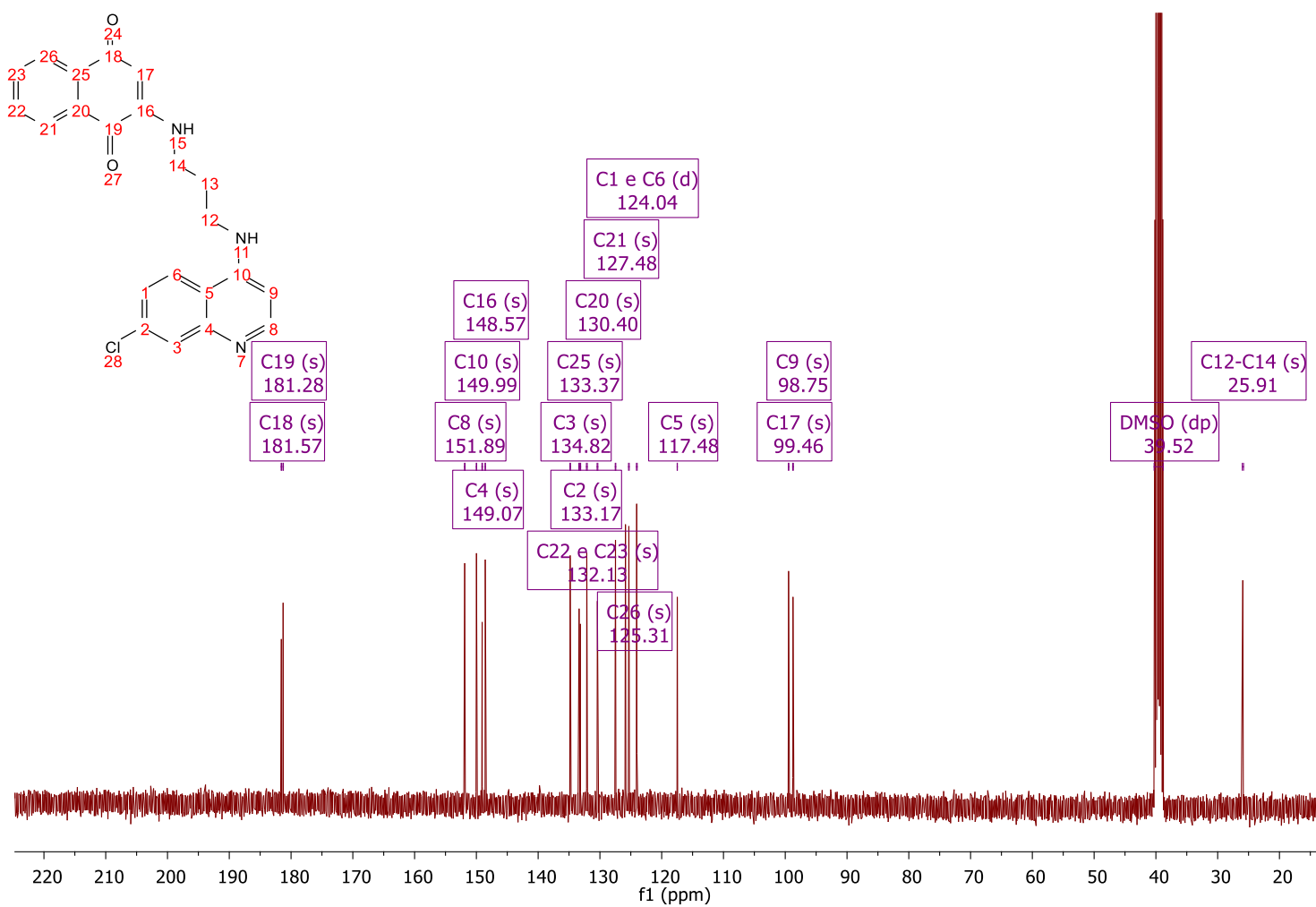
Anexo 50. Espectro de infravermelho do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.



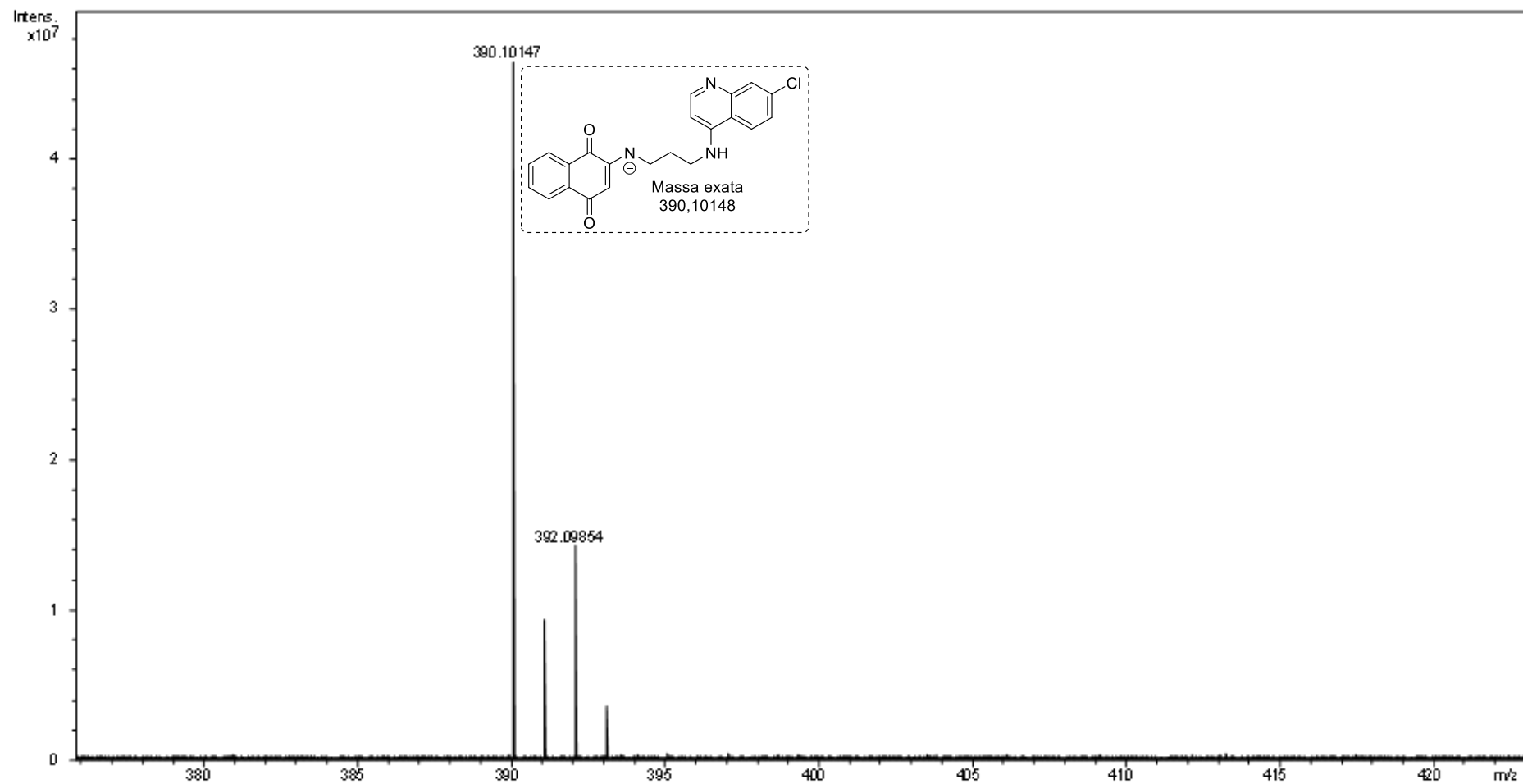
Anexo 51. Espectro de RMN de ¹H do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.



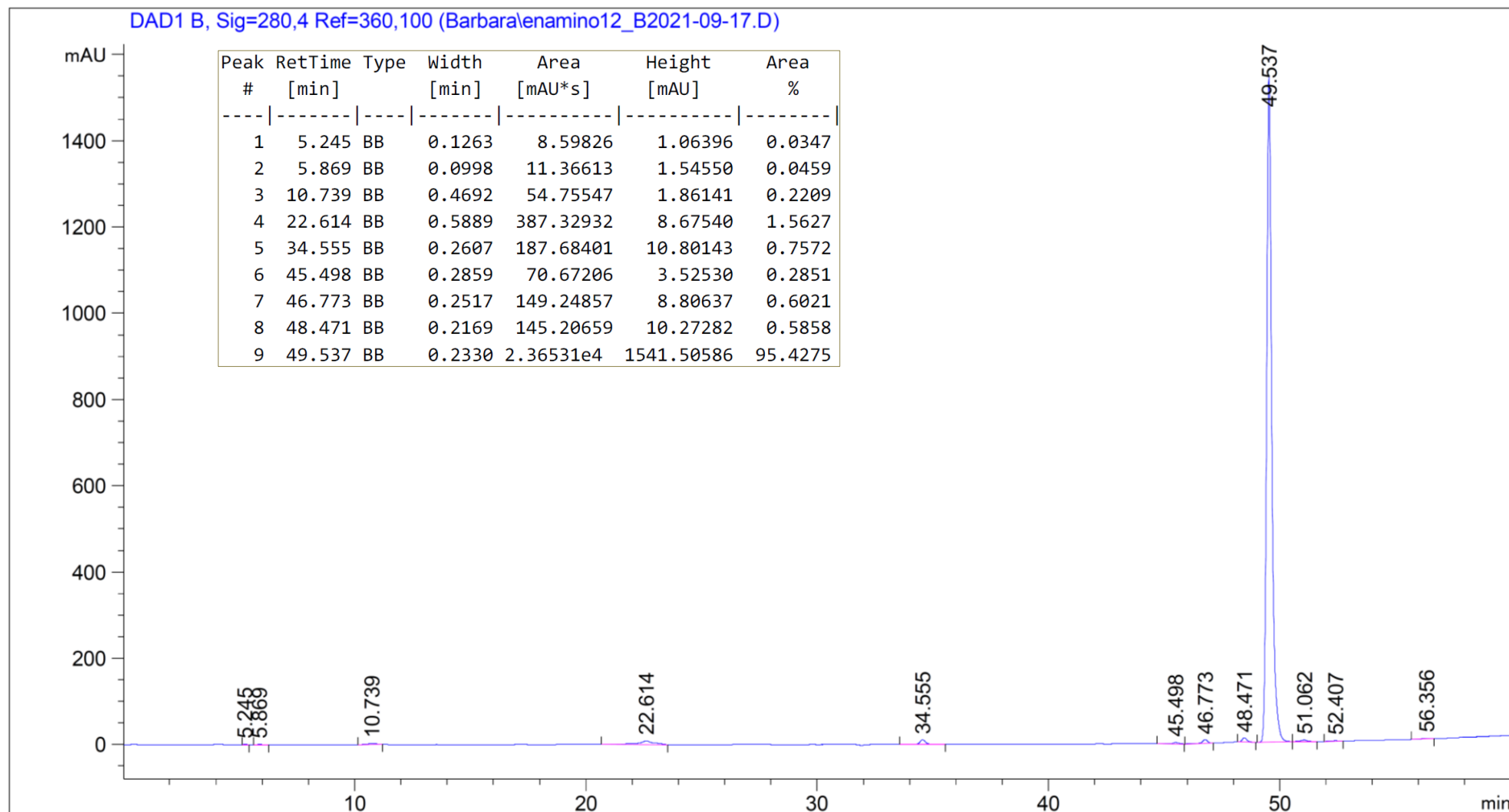
Anexo 52. Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.



Anexo 53. Espectro de RMN de ¹³C do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.



Anexo 54. Espectro de Massas do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.



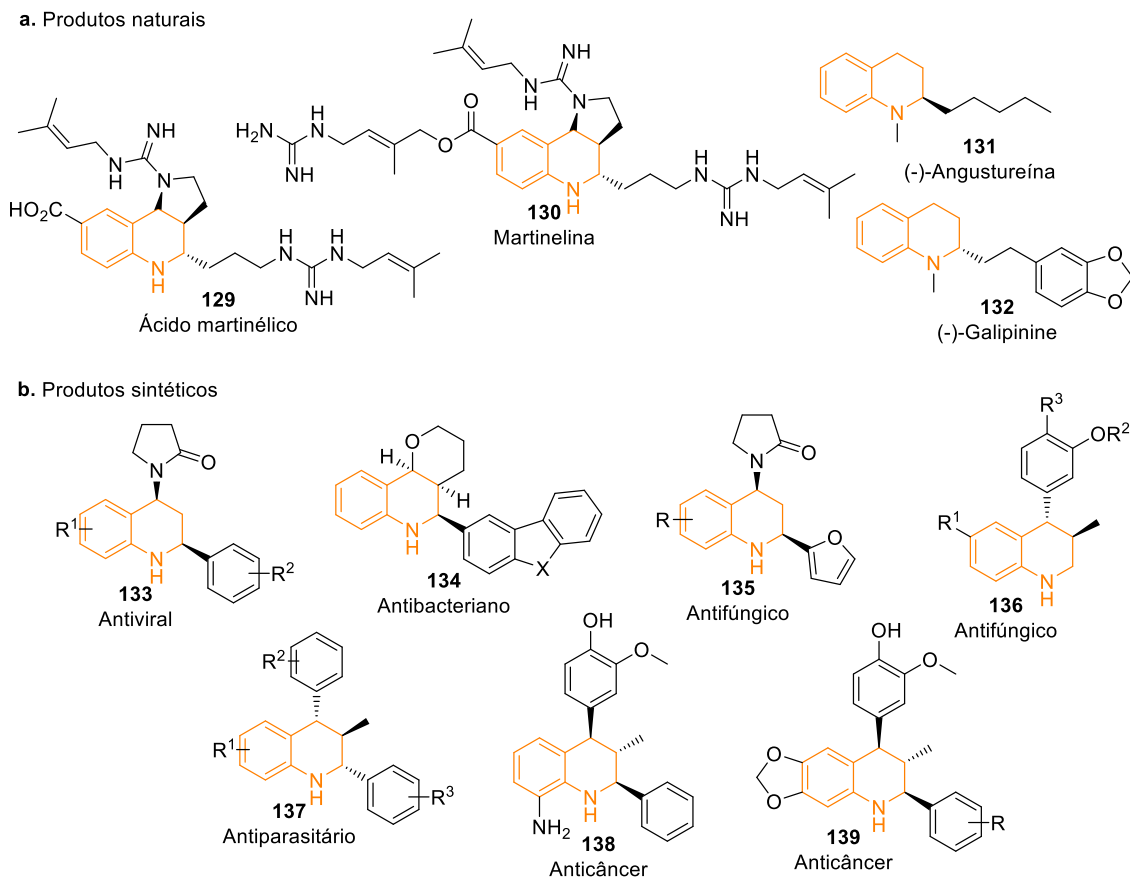
Anexo 55. Cromatograma de CLAE do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **117**.

Capítulo 2. Estudo da reação de Povarov em sistemas naftoquinônicos

1. Introdução

As tetraidroquinolinas (THQs), heterociclos nitrogenados de seis membros fundido a um anel benzênico, estão presentes em um grande número de produtos naturais e sintéticos com importantes aplicações e por isso muita atenção tem sido voltada para sua formação.¹ Dentre os produtos naturais ressalta-se os derivados de pirrol [3,2-c] quinolina, sendo os principais representantes dessa família o ácido martinélico **129** e martinélica **130**, que são antagonistas não peptídicos dos receptores B1 e B2 da bradicinina.²⁻⁴ Destaca-se também a (-)-angustureína **131** e (-)-galipinina **132** que possuem atividades farmacológicas interessantes (Figura 79a).⁵⁻⁷ Além disso, seus derivados sintéticos possuem diferentes atividades biológicas, como: antiviral **133**,⁸ antibacteriano **134**,⁹⁻¹¹ antifúngico **135-136**,^{12,13} antiparasitário **137**¹⁴ e anticancerígeno **138-139**^{15,16} (Figura 79b).

Figura 79. a) Produtos naturais com THQ; b) Produtos sintéticos com THQ.

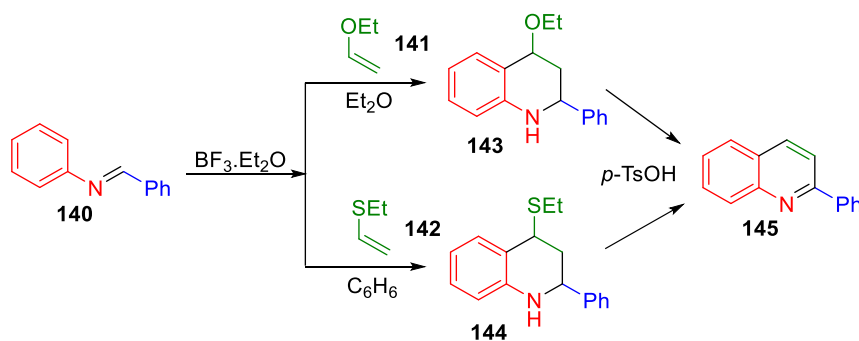


Uma das principais metodologias para a síntese de tetraidroquinolinas é a reação de Povarov que será detalhada a seguir.

1.2 Reação de Povarov

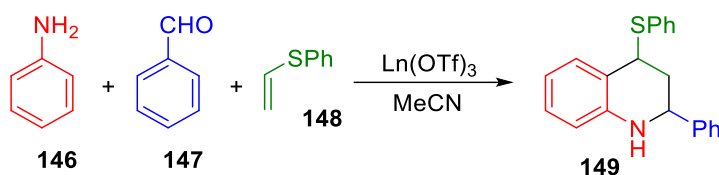
No início dos anos 1960, Povarov e colaboradores descreveram reações de formação de duas novas ligações C-C, a partir do etil vinil éter **141** ou sulfeto de vinil etílico **142** com *N*-aril iminas (bases de Schiff) **140** sob catálise ácida ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) obtendo assim tetraidroquinolinas substituídas **143-144**, que foram oxidadas a quinolina correspondente **145** (Figura 80).^{17,18} Em reconhecimento a essa descoberta essas reações de cicloadição, e suas variantes, são chamadas de reações de Povarov.¹⁹

Figura 80. Esquema da reação de Povarov.



Apesar de ser uma ferramenta útil na formação de novas ligações C-C, o que é de grande interesse na química orgânica sintética, a reação de Povarov permaneceu inexplorada por mais de trinta anos - devido aos baixos rendimentos, a necessidade de formação previa das iminas precursoras e uso de quantidades estequiométricas do catalisador.²⁰ Apenas em 1995, Kobayashi e colaboradores realizaram a versão *one-pot* multicomponente da reação de Povarov entre anilinas **146**, aldeídos aromáticos **147** e alcenos **148** como dienófilos, com formação *in situ* da imina, catalisada por triflatos de terra rara ($\text{Ln}(\text{OTf})_3$) como ácido de Lewis, e obtendo assim a tetraidroquinolina **149** de interesse (Figura 81).²¹

Figura 81. Exemplo da reação de Povarov *one-pot* multicomponente.

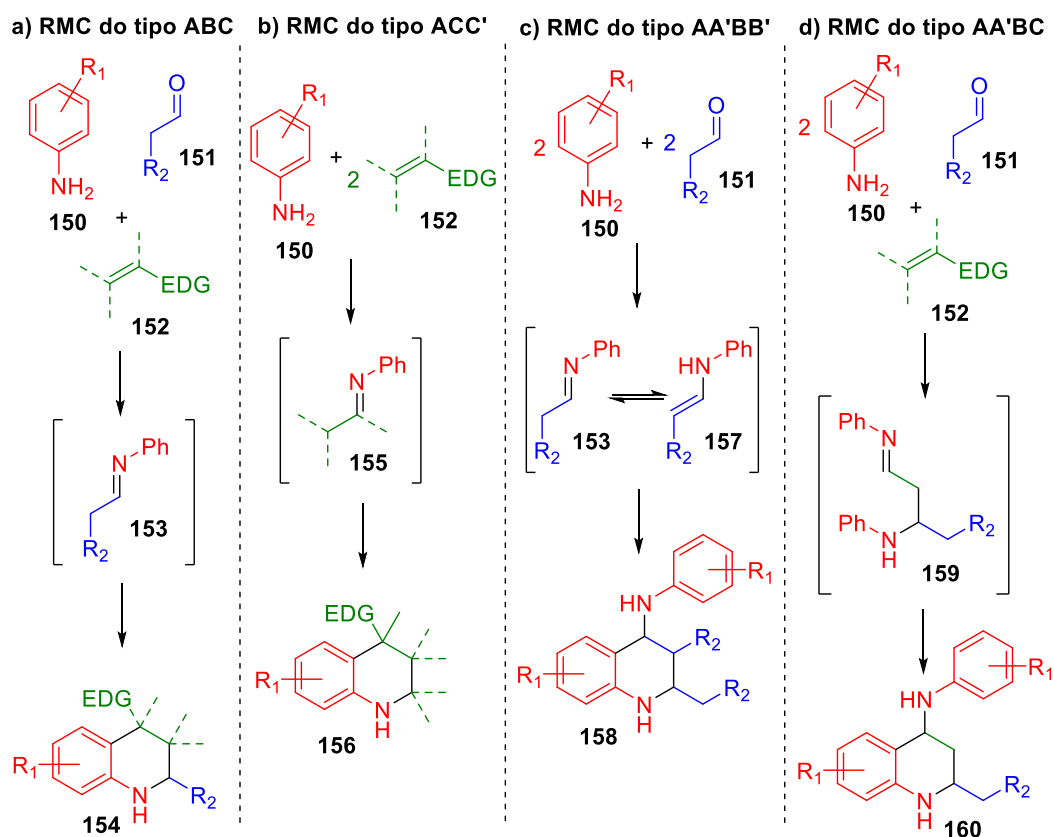


Atualmente, a reação de Povarov multicomponente pode ser classificada em quatro categorias (Figura 82):^{19,20,22} a) a combinação original e mais empregada do tipo ABC, entre anilina **150**, aldeído **151** e alceno ativado **152**, típica de outras reações multicomponentes que envolvem formação das iminas **153** geradas *in situ*;

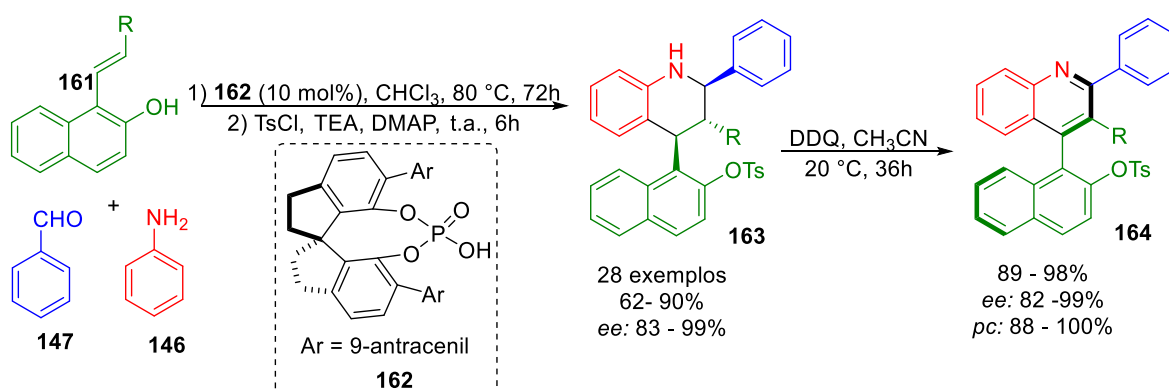
b) a reação ACC', a qual é caracterizada por ter apenas dois materiais de partida, a anilina **150** e dois equivalentes do alceno ativado **152**, onde o segundo reage com funções diferentes;

c) a reação com quatro componentes AA'BB', envolvendo dois equivalentes da anilina **150** e dois equivalentes do composto carbonilado enolizável **151**, onde a reação normalmente ocorre entre a imina **153** e seu tautômero (enamina **157**) que estão em equilíbrio no meio reacional; e

d) a reação com quatro componentes AA'BC, quando são empregadas duas arilaminas **150** (que podem ou não ser iguais), um aldeído **151** e um alceno ativado **152**, similar a metodologia clássica de três componentes. Na qual a variação ocorre na etapa final de ciclização, que passa a ser precedida por uma substituição do grupo doador de elétrons da olefina pela segunda anilina presente na reação.

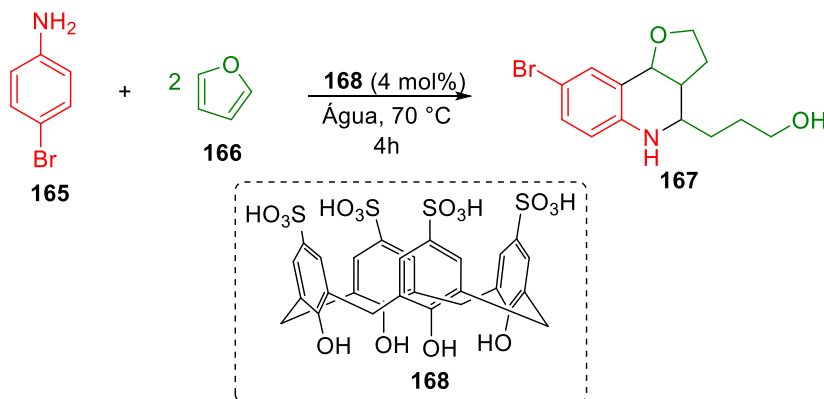
Figura 82. Tipos de Reação de Povarov multicomponente.

Recentemente, Wang e colaboradores²³ obtiveram tetraidroquinolinas assimétricas tosiladas **163**, a partir de uma reação multicomponente do tipo ABC, catalisada pelo ácido fosfórico quiral **162**. Os rendimentos foram de bons a ótimos e com altos excessos enantioméricos. Em seguida as THQ **163** foram oxidadas para as quinolinas correspondentes **164**, obtendo assim atropoisômeros de quinolina-naftaleno com rendimentos, estereosseletividade e porcentagens de conversão excelentes (Figura 83).

Figura 83. Reação multicomponente de Povarov do tipo ABC.

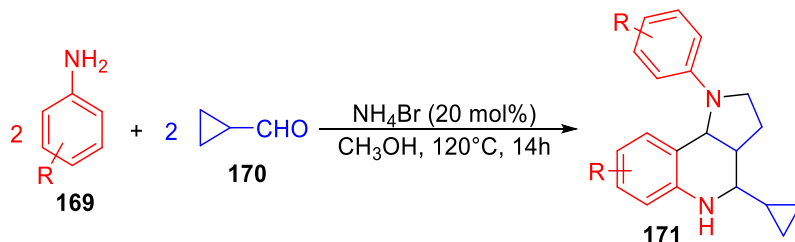
A reação do tipo ACC' foi recentemente relatada por Rezende e colaboradores,²⁴ com uma metodologia ecologicamente correta, a partir da 4-bromo anilina **165**, com dois equivalentes de furano **166**, catalisada com CX4SO₃H **168** (ácido p-sulfônico calix[4]areno) e utilizando água como solvente. O catalisador pôde ser facilmente recuperado e manteve a eficiência catalítica por até cinco ciclos (Figura 84).

Figura 84. Reação multicomponente de Povarov do tipo ACC'.



Cai e colaboradores²⁵ descreveram uma reação com quatro componentes do tipo AA'BB' entre arilaminas **169** e ciclopropanocarbaldeídos **170** na presença de NH₄Br como catalisador. A reação ocorre em cascata, primeiro um rearranjo do tipo Cloke (na imina formada) e em seguida a reação de Povarov. Este método forneceu acesso rápido a derivados de pirrolo[3,2-c]quinolina **171** em altos rendimentos (42 – 91 %), o que não é facilmente obtido usando outras metodologias existentes (Figura 85).

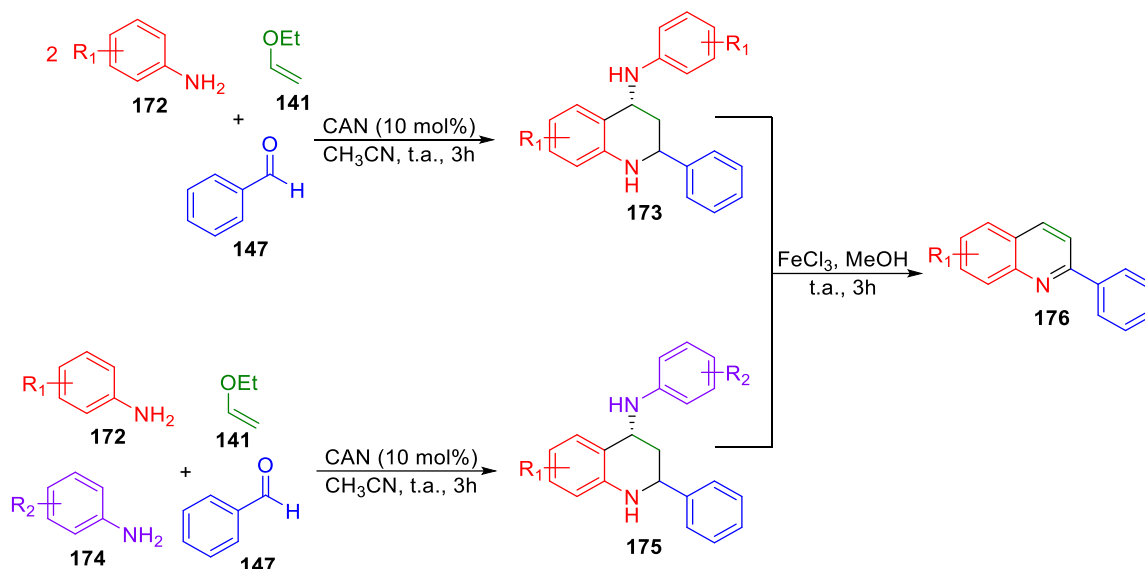
Figura 85. Reação multicomponente de Povarov do tipo AA'BB'.



A reação catalisada por CAN (nitrato de amônio cérico(IV)) entre anilinas substituídas **172** e **174**, éteres vinílicos **141** e aldeídos aromáticos **147** leva a tetraidroquinolinas funcionalizadas **173** e **175**, em uma transformação multicomponente do tipo AA'BC. Subsequentemente, esta metodologia foi estendida a uma reação com duas

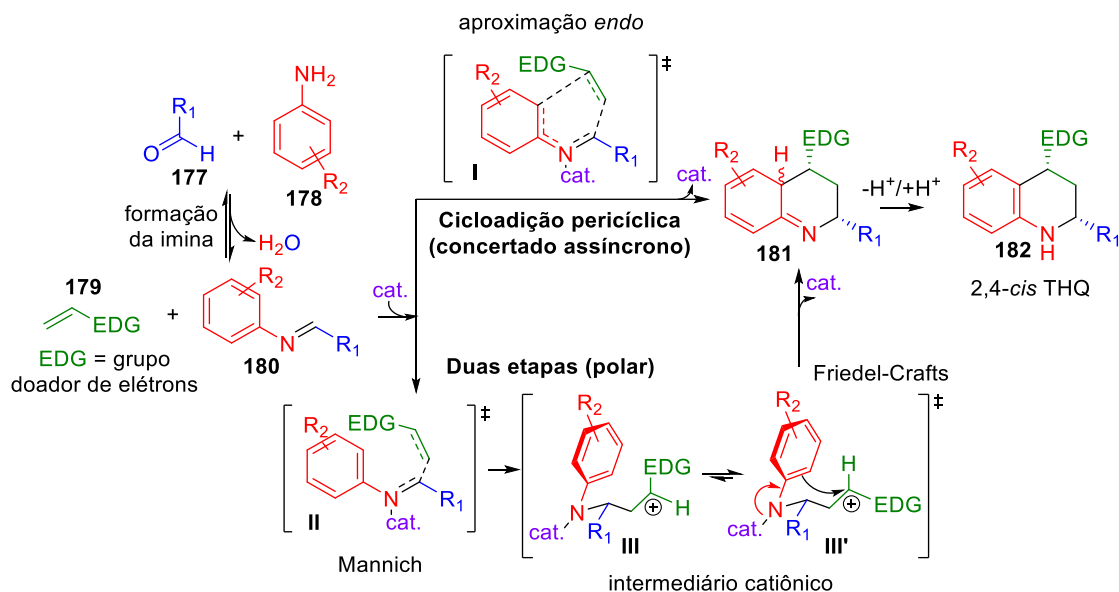
arilaminas diferentes, obtendo-se rendimentos de bons a excelentes (72 – 88 %). Em ambos os casos a oxidação leva a mesma quinolina **176** (Figura 86).²²

Figura 86. Reação multicomponente de Povarov do tipo AA'BC.



1.2.2 Estudo do mecanismo

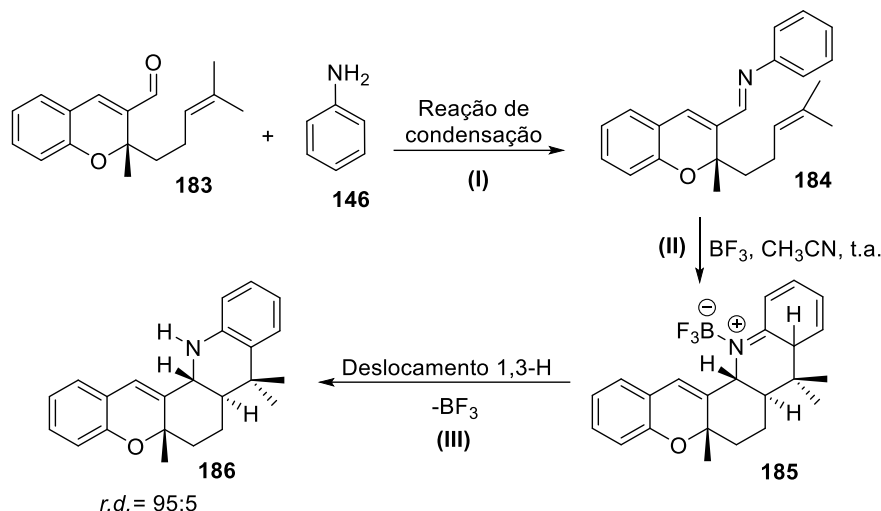
O mecanismo dessa reação ainda é uma questão em debate. Inicialmente, a reação foi classificada pelo próprio Povarov como uma cicloadição [4+2], ou seja, um mecanismo concertado, com a formação de um estado de transição (E.T.) cíclico I, classificada como aza-Diels-Alder (Figura 87).^{26,27} Entretanto, evidências apontam para um mecanismo em duas etapas, começando pela reação de Mannich, resultado do ataque nucleofílico do alceno ativado **179** (EDG - grupo doador de elétrons, do inglês *electron donating groups*) na imina protonada ou complexada com um ácido de Lewis, formando um intermediário catiônico **III**. Esse, por sua vez, sofre uma substituição eletrofílica aromática intramolecular (reação de Friedel-Crafts) (Figura 87).^{26,28}

Figura 87. Propostas mecanísticas da reação de Povarov.

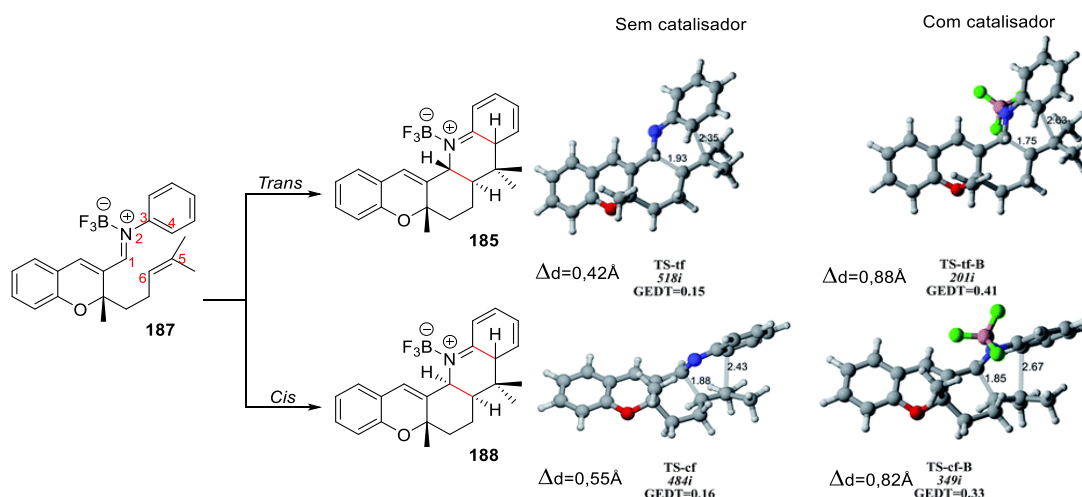
Caso a reação de Povarov fosse classificada como uma aza-Diels-Alder, seria de demanda inversa (HOMO dienófilo – LUMO dieno). Uma vez que, a presença do EDG no dienófilo leva a um aumento da energia do HOMO, e a interação do catalisador com o dieno (*N*-arilimina) reduz a energia do LUMO.^{1,29}

Palacios e colaboradores,³⁰ relataram um estudo teórico e experimental da reação de Povarov entre *N*-(3-piridil)aldiminas e diferentes olefinas (estirenos, ciclopentadieno ou indeno), utilizando BF₃.Et₂O como catalisador. Os resultados sugeriram um processo concertado assíncrono por meio de um estado de transição *endo* para formação da THQ de interesse com alta régio- e diastereosseletividade. Os aspectos estereoquímicos da reação de Povarov, ou seja, a formação preferencial do produto 2,4-*cis*, pode ser entendido como um argumento favorável ao mecanismo de cicloadição favorecido pelo E.T. I. Entretanto, o intermediário catiônico III pode estabelecer um equilíbrio conformacional, que provavelmente será deslocado para a espécie III', onde os grupos R₁ e EDG estão em posição pseudo-equatorial (Figura 87).

Também a favor do mecanismo concertado, Mahi e colaboradores³¹ realizaram um estudo computacional de uma reação já realizada experimentalmente 6 anos antes. Essa reação é um processo dominó em três etapas, sendo as duas últimas (II e III) uma reação de Povarov intramolecular (Figura 88).

Figura 88. Esquema da reação de Povarov intramolecular.

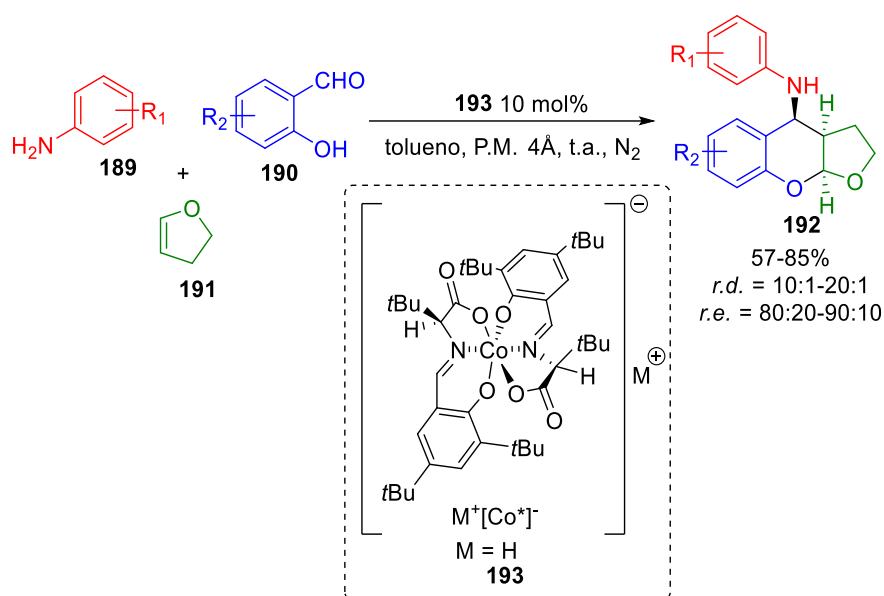
Os valores de Δd (diferença da distância das ligações formadas na reação, calculado como $\Delta d = d_{\text{C4-C5}} - d_{\text{C1-C6}}$) obtidos no E.T. refletem um processo de formação de ligação C-C assíncrono. Onde a formação da ligação C1-C6 é ligeiramente mais rápida do que da nova ligação C4-C5. Além disso, a adição do catalisador (BF_3) torna o processo altamente assíncrono, como é visto pelos maiores valores de Δd na presença do mesmo (Figura 89).

Figura 89. Valores de Δd para o E.T. com e sem o uso de catalisador.

A proposta de caráter polar do mecanismo pode ser comprovada por experimentos que envolvem o aprisionamento do E.T. III (Figura 87) por um solvente nucleofílico.³²⁻³⁴ Apesar disso, é importante lembrar que resultados inversos não evidenciam que o mecanismo está concertado, visto que a reação intramolecular (pode ser uma etapa

de aprisionamento) é uma via competitiva.³⁵ Por apresentar grande utilidade sintética, esta metodologia hoje já é conhecida como reação de Povarov interrompida. Esse procedimento consiste em materiais de partida e condições reacionais da reação de Povarov, mas com a formação de um produto diferente do aduto de Povarov. Assim como foi relatado por Jiang e colaboradores³⁶ que reagiram salicilaldeídos **190**, anilinas **189** e 2,3-diidrofurano **191**, sob catálise de ácido de Brønsted na forma de complexos aniônicos de Co(III) quirais **193** e obtiveram cis-4-aminofuranobenzopirano **192**, ao invés de tetraidroquinolinas ou quinolinas (Figura 90).

Figura 90. Esquema da reação de Povarov interrompida.



Os resultados computacionais também corroboram com o mecanismo em duas etapas, frente ao concertado. Assim como foi relatado por Domingo e colaboradores, que utilizaram a Teoria do Funcional da Densidade (DFT, do inglês *Density Functional Theory*) para estudar o efeito catálise ácida de Lewis³⁷ e de Bronsted³⁸ na reação, apontando menores barreiras energéticas no processo não concertado.

1.2.3 Escopo da Reação de Povarov

Apesar da incerteza frente ao seu mecanismo, a reação de Povarov vem sendo muito estudada desde sua adaptação para a variante multicomponente, principalmente na versão ABC clássica. Onde a diversidade estrutural dos adutos de Povarov obtidos surge da grande possibilidade de variar o escopo dos reagentes (Tabela 5).

Em relação aos aldeídos, embora os aromáticos sejam preferidos, vários exemplos de compostos alifáticos foram relatados. No que se refere as aminas, apesar da grande maioria utilizar derivados aromáticos, já se vê a possibilidade de formar estruturas a partir de aminas conjugadas a uma dupla ligação endocíclica. O dienófilo, o mais comumente variado, depende apenas da presença de um grupo doador de elétrons, por conjugação, vizinho a dupla ligação. Além disso, uma variedade de catalisadores tem sido explorada para essas transformações, como: trifilatos de lantanídeos,^{39–42} $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$,^{43–45} CAN ,^{46–49} cloretos metálicos^{50–52} e ácido trifluoroacético entre outros.^{53–55}

Tabela 5. Diferentes olefinas e aminas utilizadas na formação do aduto de Povarov.

(continua)

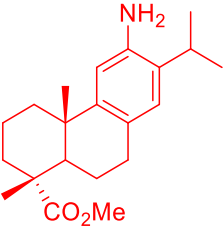
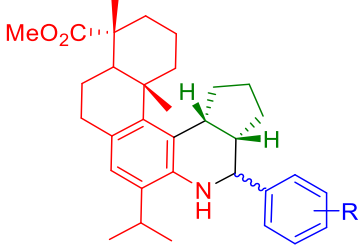
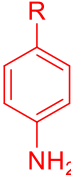
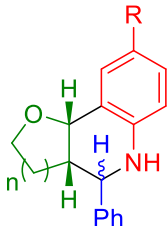
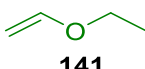
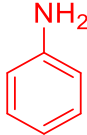
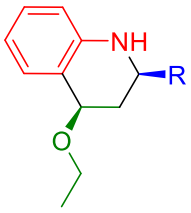
Entrada	Olefinas	Aminas	Aduto de Povarov
1 ⁵⁶	 194	 195	 R = H, 3-NO ₂ , 4-CF ₃ 196
2 ⁵⁷	 n = 1,2 197	 R = H, -OCH ₃ , Br 198	 199
3 ⁵⁸	 141	 146	 R = Ph, <i>i</i> -Pr, <i>i</i> -Bu 200

Tabela 5. Diferentes olefinas e aminas utilizadas na formação do aduto de Povarov.

(continuação)

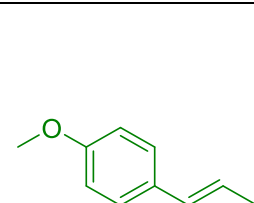
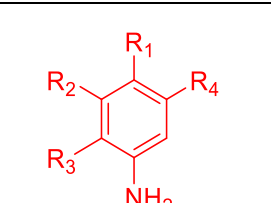
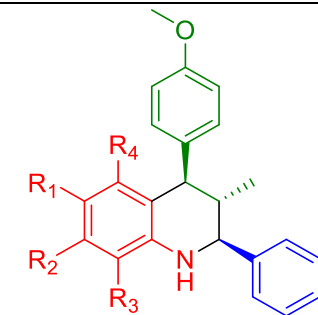
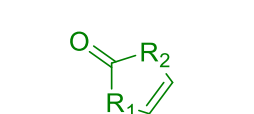
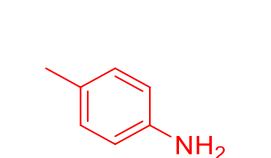
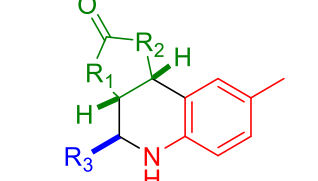
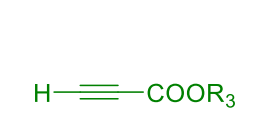
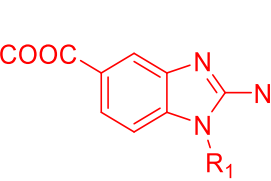
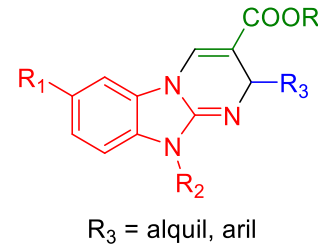
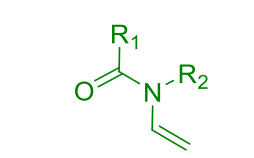
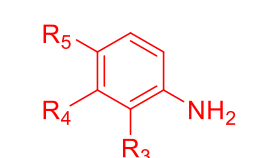
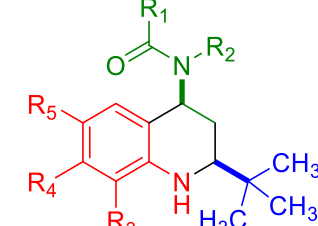
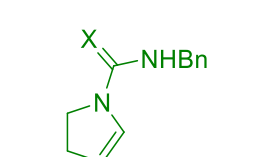
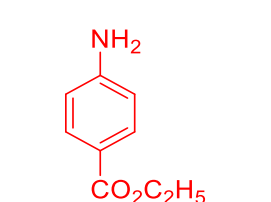
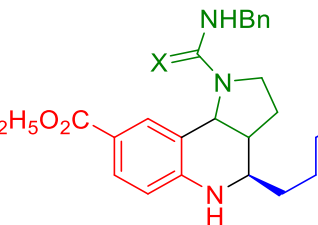
4 ⁵⁹	 201	 $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H, CH}_3$ $R_3 = \text{H, CH}_3, \text{Cl, Br, F}$ 202	 203
5 ⁶⁰	 $R_1 = \text{NH, O, S}$ $R_2 = \text{NH, N-Bn}$ 204	 205	 $R_3 = \text{aril, alquil}$ 206
6 ⁶¹	 $R_3 = \text{CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3$ 207	 $R_1 = \text{alquil}$ 208	 $R_3 = \text{alquil, aril}$ 209
7 ⁶²	 $R_1 = R_2 = -(\text{CH}_2)_3-, \text{H}$ 210	 $R_3 = R_4 = R_5 = \text{H, Cl}$ 211	 212
8 ⁶³	 $X = \text{O, S}$ 213	 214	 215

Tabela 5. Diferentes olefinas e amins utilizadas na formação do aduto de Povarov.

(continuação)

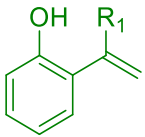
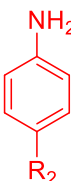
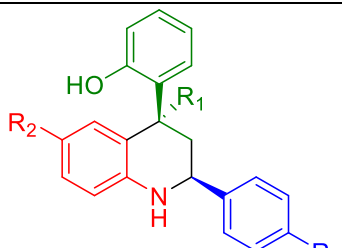
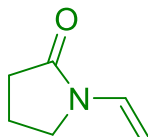
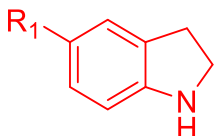
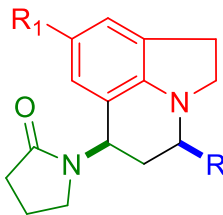
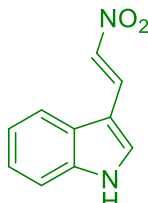
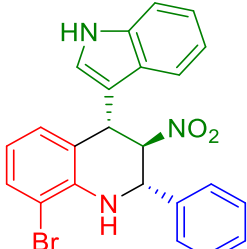
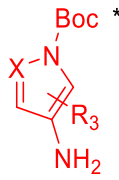
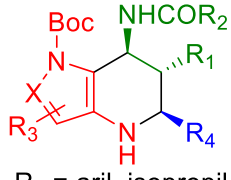
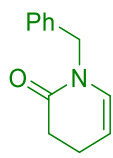
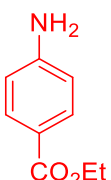
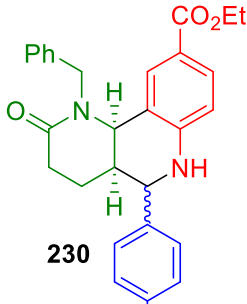
9 ⁶⁴	 $R_1 = \text{H, CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5$ 216	 $R_2 = \text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{OC}_2\text{H}_5, \text{OPh, F}$ 217	 $R_3 = \text{H, NO}_2$ 218
10 ⁶⁵	 219	 $R_1 = \text{H, CH}_3, \text{Br, Cl}$ 220	 $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5, 4\text{-ClC}_6\text{H}_4, 4\text{-BrC}_6\text{H}_4, i\text{Pr, } i\text{Bu, } t\text{Bu}$ 221
11 ⁶⁶	 222	 223	 224
12 ⁶⁷	 $R_1 = \text{H, CH}_3, \text{C}_2\text{H}_4\text{OTBS}$ $R_2 = \text{Cbz, Boc}$ 225	 $X = \text{C-CN, N}$ $R_3 = \text{H, 3-CH}_3$ 226	 $R_4 = \text{aryl, isopropil}$ 227
13 ⁶⁸	 228	 229	 $R = \text{Cl, CO}_2\text{Me}$ 230

Tabela 5. Diferentes olefinas e aminas utilizadas na formação do aduto de Povarov.

(continuação)

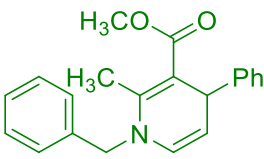
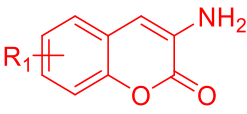
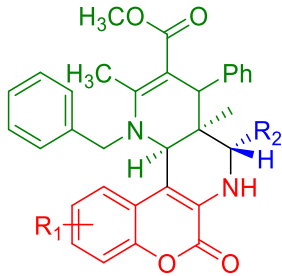
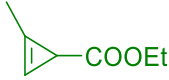
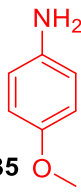
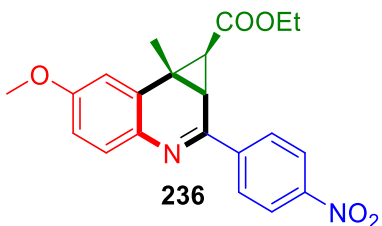
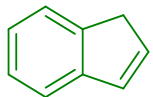
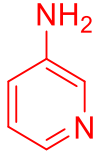
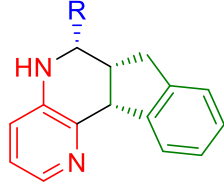
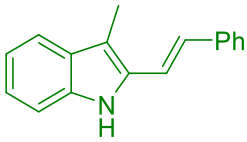
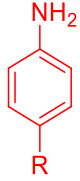
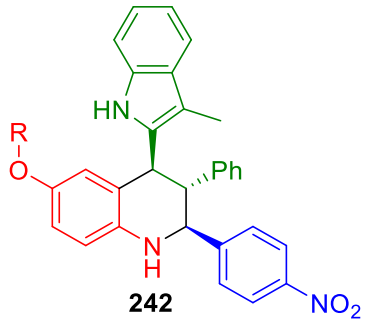
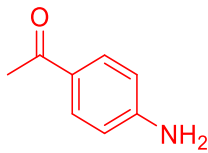
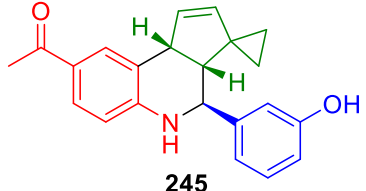
14 ⁴²	 231	 R1 = H, 6-Br, 6-NO₂, 6-OCH₃, 8-OCH₃, 8-OEt 232	 R₂ = aril 233
15 ⁶⁹	 234	 235	 236
16 ⁴⁵	 237	 238	 R = Ph, 4-CF₃C₆H₄, 3-FC₆H₄, 4-pyr, 2,4-F₂C₆H₃, 3,4-F₂C₆H₃, 4-NO₂C₆H₄ 239
17 ⁷⁰	 240	 R = CH₃, OEt, OPh, H, F, Cl 241	 242
18 ⁴¹	 243	 244	 245

Tabela 5. Diferentes olefinas e aminas utilizadas na formação do aduto de Povarov.

(continuação)

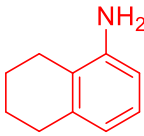
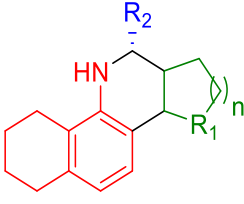
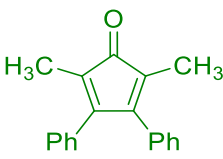
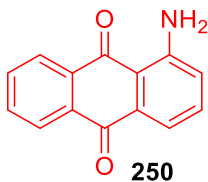
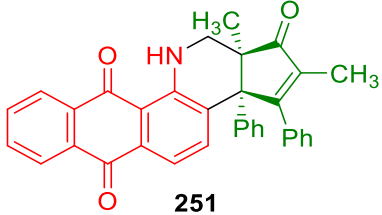
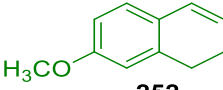
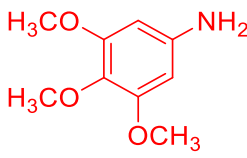
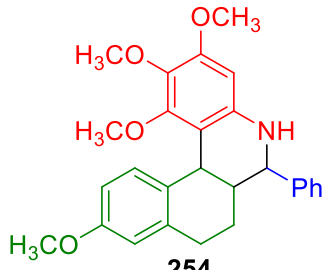
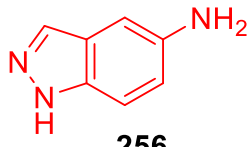
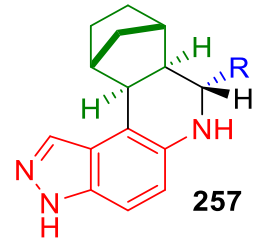
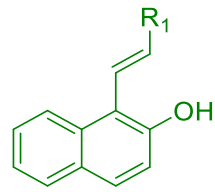
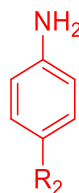
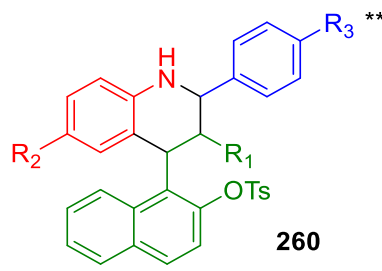
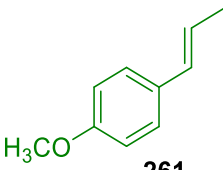
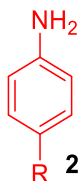
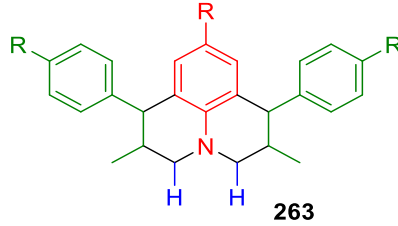
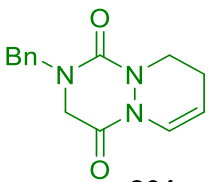
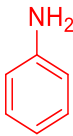
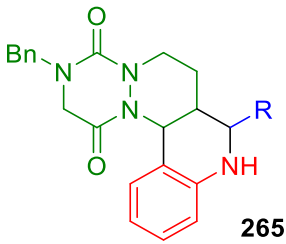
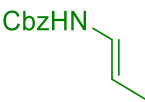
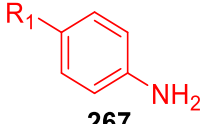
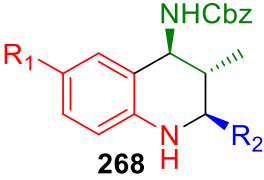
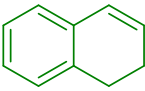
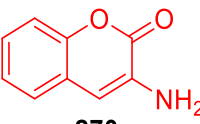
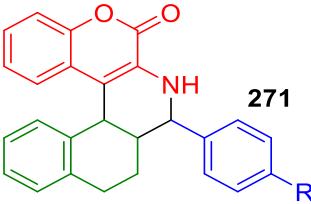
19 ⁷¹	 $n = 1, 2$ $R_1 = O, NH, N\text{-}Boc$ 246	 247	 $R_2 = \text{fenil, 2-furil, 3-tiofenil}$ 248
20 ⁵⁵	 249	 250	 251
21 ⁷²	 252	 253	 254
22 ⁴⁰	 255	 256	 $R = \text{aril, heteroaril}$ 257
23 ²³	 $R_1 = \text{aril}$ 258	 $R_2 = H, Br, F, Cl, CH_3, OEt, i\text{-}Pro, OCH_3, OPh.$ 259	 $R_3 = CN, NO_2.$ 260
24 ⁷³	 261	 $R = H, Br, F, Cl, t\text{-}Bu, SCH_3, CN, CF_3, NO_2, CO_2Et$ 262	 $R = OCH_3$ 263

Tabela 5. Diferentes olefinas e aminas utilizadas na formação do aduto de Povarov.

(conclusão)

25 ⁴³	 264	 146	 265
26 ⁷⁴	 266	 267 R ₁ = OCH ₃ , Br, NHBoc	 268
27 ⁴⁴	 269	 270	 271 R = H, F, Cl, Br, CN, NO ₂ .

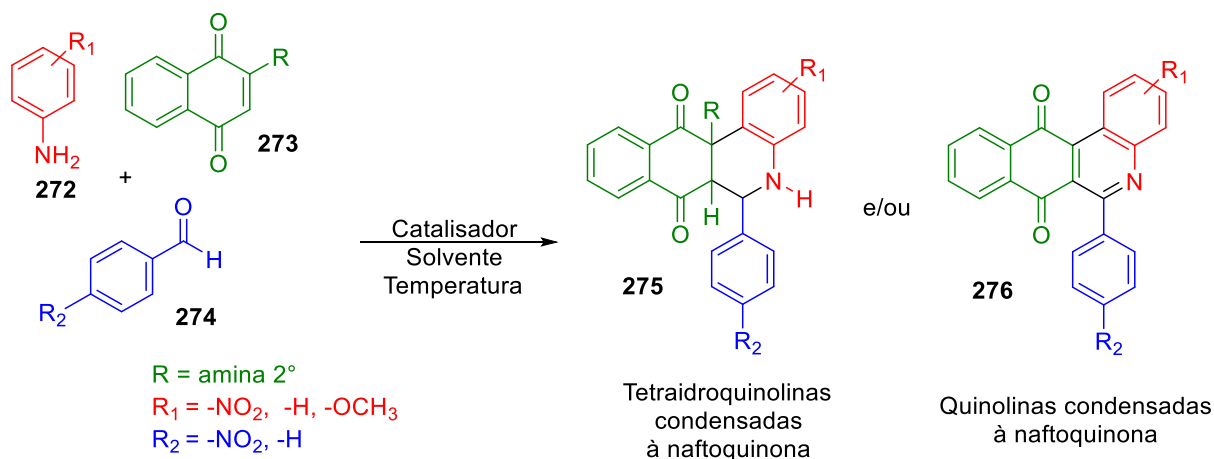
* Formada *in situ* por uma reação de redução do grupo NO₂.

** Após formação da THQ o grupo hidroxila foi protegido.

2. OBJETIVOS

- Realizar o estudo sistemático da reação de Povarov em sua versão multicomponente, a partir de diferentes 1,4-naftquinonas, incluindo as enaminonaftoquinonas sintetizadas anteriormente (Figura 91).

Figura 91. Esquema reacional proposto para o estudo da reação de Povarov.



- Investigar computacionalmente a reação de Povarov usando a enaminonaftoquinona **108** e a 2-hidroxinaftalen-1,4-diona **85** em parceria com o Laboratório Multiusuário de Química Computacional e Laboratório de Modelagem Molecular e Espectroscopia Computacional junto aos Professores Drs. Rodolfo Goetze Fiorot e José Walkimar de Mesquita Carneiro.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais

Os reagentes utilizados foram: magnésio metálico (Vetec), iodo ressublimado (Qhemis, 99,8 %), cloreto de cálcio anidro (Vetec, 96 %), ácido clorídrico (Vetec), 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (Sigma-Aldrich, 97 %), 1,4-naftoquinona (Aldrich, 97%), trietilamina (Vetec, 99 %), anilina (Vetec, 99 %), benzaldeído (Vetec, 99 %), trifluorometanossulfonato de itérbio (III) (Aldrich, 99,99 %), sulfato de sódio anidro (Dinâmica, 99 %), *p*-nitrobenzaldeído (Vetec, 98 %), *p*-nitroanilina (Carlo Erba, 99 %), ácido *p*-toluenossulfônico (Vetec, 98,5 %), ácido sulfúrico (Proquímios), ácido acético glacial (Neon, 99,8 %), hidreto de cálcio (Sigma-Aldrich, 90-95 %), bicarbonato de sódio (Vetec, $\geq 99,7$ %), éter etil vinílico (Sigma-Aldrich, ≥ 98 %), nitrato de cério (IV) e amônio (Vetec P.A.), cloreto de sódio (Vetec P.A.), nitrato de sódio (Êxodo científica P.A.), peróxido de hidrogênio (Neon, 30%), cloreto de estanho(II) diidratado (Impex P.A.), cloreto de ferro (III) hexaidratado (Vetec P.A.), iodeto de cobre (I) (Sigma-Aldrich, 98%), trifluoreto de boro etéreo (Fluka, 45,5-49,5%), *m*-metoxianilina (Aldrich, 97%), etilenoglicol (Vetec, 99,5%) e 1,2-etanoditiol. Sendo o bicarbonato de sódio e o cloreto de sódio utilizados para preparo de soluções saturadas.

O *p*-nitrobenzaldeído e a *p*-nitroanilina foram recristalizados em etanol à quente.

A trietilamina foi purificada por destilação e após tratamento guardada em frasco âmbar selado com filme de parafina e com resfriamento.

O benzaldeído foi tratado mediante extração ácido-base, utilizando uma solução saturada de bicarbonato de sódio como base e diclorometano como fase orgânica.

Para purificação da anilina, a mesma foi destilada por araste a vapor em meio básico, em seguida separada da água e agitada overnight com carbonato de potássio anidro sob atmosfera de argônio.⁷⁵

A 1,4-naftoquinona foi previamente purificada por sublimação.

Os solventes utilizados foram: água destilada, etanol (Alphatec, 95 %), metanol (Dinâmica, 99,9%), hexano (Neon, 99 %), acetato de etila (Neon, 99 %), *N,N*-dimetilformamida (Vetec, 99 %), diclorometano (Êxodo científica, 99,5 %), acetonitrila (Dinâmica, 99,5 %), tolueno (Proquímios, 99,5 %), éter de petróleo (QHEMIS, 30-60 P.A.) clorofórmio deuterado (CIL, 99,8 %) e dimetilsulfóxido deuterado (Sigma-Aldrich, 99,9%). Os solventes diclorometano e hexano, foram utilizados após destilação fracionada. A remoção de água do etanol, quando necessário, foi efetuada por

tratamento deste solvente com magnésio metálico (previamente tratado com solução de ácido clorídrico 2 mol.L⁻¹) e iodo em refluxo, seguido de destilação.⁷⁵ A remoção de água do tolueno foi realizada com secagem prévia em hidreto de cálcio, seguido da destilação em atmosfera inerte.⁷⁵

3.2. Métodos

3.2.1. Pontos de fusão

As determinações de ponto de fusão dos materiais de partida, intermediários e produtos finais foram realizadas no equipamento digital Fisatom 430D.

3.2.2 Cromatografia em camada fina (CCF)

As análises de cromatografia em camada fina foram realizadas utilizando cromatofolhas de alumínio recobertas com sílica gel UV 254 (250 µm, 20x20 cm). As amostras foram diluídas em um solvente adequado e aplicadas sobre a placa com auxílio de um capilar de vidro. Sua revelação foi efetuada com exposição à luz ultravioleta e/ou com uso de solução ácida de 2,4-dinitrofenil-hidrazina ou solução ácida de vanilina sob aquecimento.

3.2.2. Cromatografia em coluna

As cromatografias em coluna foram realizadas em colunas de vidro com torneira fixa, carregadas com sílica gel 60 flash 70-230 mesh (Agela Technologies). Os produtos brutos foram aplicados usando a menor quantidade possível de diclorometano ou adsorvido na própria sílica, com posterior passagem do eluente desejado. A pressão necessária foi realizada com uma bombinha de nebulizador.

3.2.3. Cromatografia em placa preparativa

As placas preparativas foram realizadas com placas de vidro 20x20 recobertas com silicagel e ativadas por 2h a 120 °C. Os produtos brutos foram aplicados com capilar usando a menor quantidade possível de solvente volátil. A eluição da placa com o eluente desejado, foi realizada em cuba de tamanho adequado.

3.2.4. Espectroscopia de Infravermelho

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectroscópio Agilent Cary 630 FTIR Spectrometer utilizando como parâmetros 16 scans (varreduras) e resolução de

comprimento de 4 cm^{-1} , em modo de Refletância Total Atenuada (ATR) com cristal horizontal de seleneto de zinco (ZnSe). Todas as análises foram executadas em um intervalo de comprimento de onda de 4000 a 600 cm^{-1} .

3.2.5. Ressonância Magnética Nuclear ^1H e ^{13}C

Os espectros de RMN de hidrogênio e carbono dos materiais de partida, intermediários e produtos finais foram obtidos no espectrômetro Varian de 400 MHz ou de 500 MHz com sonda Broadband $1\text{H}/\text{X}/\text{D}$ de 5 mm. Os deslocamentos químicos (δ) foram reportados em partes por milhão (ppm) referentes ao sinal do próprio solvente.

3.2.6. Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução

Os compostos foram preparados em solução apropriada contendo 0,1 % m/v de hidróxido de amônio (NH_4OH) por ionização por eletronebulização (ESI) no modo negativo, ESI(-), e 0,1 % m/v de ácido fórmico por ESI no modo positivo, ESI(+). Foi utilizado taxa de fluxo de $5\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ para a fonte de ESI. O espectrômetro de massa (modelo 9.4T Solarix, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) foi configurado para faixa de m/z 200-2000. As condições da fonte de ESI utilizadas foram: pressão do gás nebulizador de 3 bar, voltagem capilar de 3-4,1 kV, temperatura de transferência capilar de $250\text{ }^\circ\text{C}$. Os espectros de massas por Ionização por eletronebulização com Transformada de Fourier por Ressonância Ciclotrônica de Íons (ESI-FT-ICR-MS) foram adquiridos pela acumulação de 64 varreduras de sinais no NCQP-UFES. Todos os espectros de massas foram calibrados externamente utilizando trifluoroacetato de sódio (NaTFA) (m/z de 200 a 2000). Os espectros de massa foram adquiridos e processados usando o software Data Analysis (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

3.2.4 Cromatografia Gasosa acoplado ao espectrômetro de massas (CG - EM)

O espectro de cromatografia foi obtido em um cromatografo gasoso da Shimadzu GC2010 Plus/GCMS – QP2010 Ultra no modo *split* (10:1) equipado com coluna capilar VB-5 ($30\text{ m} \times 320\text{ }\mu\text{m} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$). O hélio foi usado como gás de arraste a $1,5\text{ mL}/\text{min}$. O espectrômetro de massas com analisador de massas por quadrupolo e ionização por elétrons a 70 eV operando no modo varredura (*full scan*) com corte de solvente em 3 min. Programa de temperatura do forno: temperatura inicial de $40\text{ }^\circ\text{C}$ com taxa de $8\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ até $290\text{ }^\circ\text{C}$, permanecendo por 5 min.

3.2.7. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

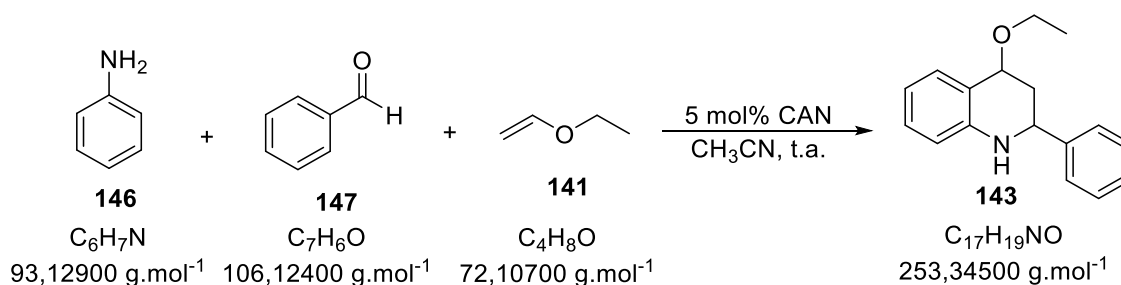
Os cromatogramas foram obtidos em um equipamento Agilent 1260 Infinity com bomba quaternária G1311C, acoplada a um detector de arranjo de diodos UV-Vis (DAD), modelo G4212B. Com sistema analítico de fase reversa: Fase reversa – Phenomenex Gemini C18 (4,6 x 250 mm 5 μ m). Para a análise, aproximadamente 1,0 mg da amostra foi solubilizado em 1,0 mL de solvente orgânico, com injeção de 10 μ L. A fase móvel foi composta por H₂O (A) e acetonitrila (B), com vazão de 1 mL.min⁻¹, com gradiente inicial de eluição de 10% B a 100%, por 55 min.

3.2.11. Estudo computacional

Os cálculos foram realizados no *software Gaussian09*®⁷⁶ utilizando a Teoria do Funcional da Densidade, DFT. As otimizações estruturais e cálculos de frequência foram realizados com o funcional ω B97X-D⁷⁷ e conjunto de funções de base 6-31+g(d), tendo suas energias computadas com conjunto de funções de base mais complexa 6-311++g(d,p)⁷⁸. A caracterização quanto à natureza dos pontos estacionários foi realizada após cálculos de frequências: pontos estacionários de mínimo (reagentes, complexos iniciais, intermediários e produtos) exibiram somente frequências vibracionais positivas enquanto as estruturas dos estados de transição com uma única frequência negativa. Em todos os cálculos, foi considerada solvatação implícita (modelo IEFPCM)^{79–81} utilizando a constante dielétrica da água (ϵ = 78.3553), simulando meio reacional polar.

3.3. Procedimentos Experimentais

3.3.1. Preparação do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidroquinolina

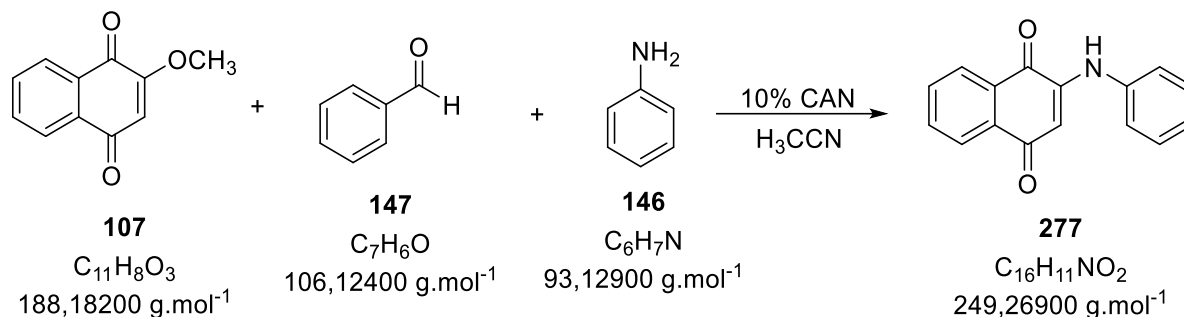


A uma solução de anilina **146** (182,6 μL , 2 mmol) e benzaldeído **147** (203,3 μL , 2 mmol) em acetonitrila (15 mL) foram adicionados o éter etil vinílico **141** (287,3 μL , 3 mmol) e o nitrato de cério (IV) e amônio (CAN) (55 mg, 0,1 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 45 minutos. Após a conclusão da reação, o solvente foi removido sob vácuo e o produto bruto solubilizado em CH_2Cl_2 (40 mL), e o extrato foi lavado com H_2O (4 x 10 mL) e salmoura (4 x 10 mL), em seguida seco com Na_2SO_4 anidro e o solvente evaporado a pressão reduzida para gerar o produto bruto. O produto foi obtido após purificação em coluna cromatográfica utilizando 5% de acetato de etila em hexano, como um óleo castanho escuro **143** (rendimento 9%).

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹, ATR): 3376, 3028, 2860, 1608, 1310.

RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 7,50 – 7,28 (m, 6H, H15-H19 e H3 ou H6); 7,06 (td, J = 7,4 e 0,9 Hz, 1H, H1 ou H2); 6,75 (td, J = 7,5 e 1,0 Hz, 1H, H2 ou H1); 6,53 (dd, J = 7,7 e 0,9 Hz, 1H, H6 ou H3); 4,83 (dd, J = 10,6 e 5,7 Hz, 1H, H8 ou H10); 4,54 (dd, J = 11,7; 2,6 Hz, 1H, H10 ou H8); 3,77 – 3,52 (m, 2H, H12); 2,42 (ddd, J = 12,3; 5,7 e 2,7 Hz, 1H, H9''); 2,09 (td, J = 11,7 e 10,6 Hz, 1H, H9'); 1,27 (t, J = 7,0 Hz, 3H, H13).

3.3.2. Preparação do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona



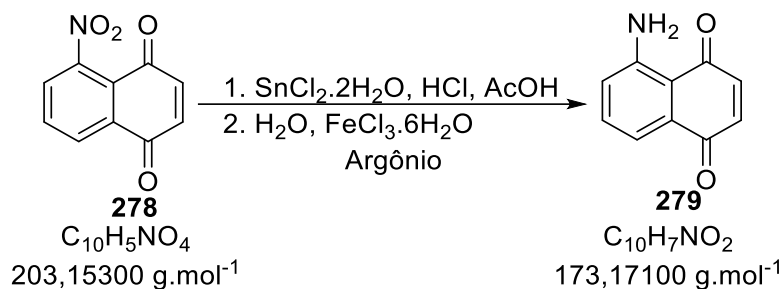
A anilina **146** (283 μL , 3,1 mmol) e o benzaldeído **147** (306 μL , 3 mmol) foram agitados por 16h com CAN (0,1645 g, 0,3 mmol) em acetonitrila (10 mL). Em seguida foi adicionada uma suspensão de 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** (0,8468 g, 4,5 mmol) em acetonitrila (20 mL) e a reação foi agitada por 24h a 60°C. O produto foi obtido **277**, após purificação em coluna cromatográfica utilizando 7 hexano:1 acetato de etila: 1 tolueno, como um sólido vermelho (rendimento 70%) com intervalo de ponto de fusão 184-185°C.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3313,6; 3055,5; 1667,1; 1636,3; 1594,4; 1568,3.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 9,20 (s, 1H, H11); 8,04 (dd, $J = 7,5$ e 1,4 Hz, 1H, H3 ou H6); 7,92 (dd, $J = 7,5$ e 1,4 Hz, 1H, H6 ou H3); 7,83 (td, $J = 7,5$ e 1,4 Hz, 1H, H1 ou H2); 7,75 (td, $J = 7,5$ e 1,4 Hz, 1H, H2 ou H1); 7,42 (ddd, $J = 8,5$; 6,9 e 1,3 Hz, 2H, H16 e H18); 7,36 (dd, $J = 8,5$ e 1,3 Hz, 2H, H15 e H19); 7,19 (tt, $J = 6,9$ e 1,3 Hz, 1H, H17); 6,08 (s, 1H, H8).

RMN de ^{13}C (101 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 183,0; 182,0; 146,6; 138,4; 135,3; 133,0; 133,0; 130,8; 129,7; 126,5; 125,7; 124,1; 102,3.

3.3.4. Preparação do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona



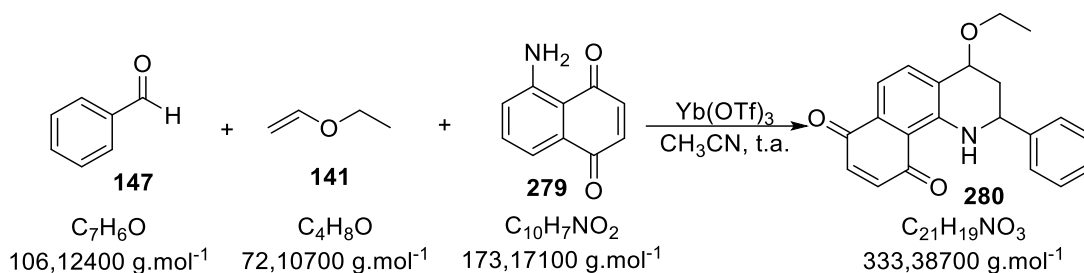
Uma solução de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (22,4 g, 99,0 mmol) em HCl concentrado (26 mL) foi adicionada gota a gota a uma suspensão da 5-nitronaftaleno-1,4-diona **278** (6,7 g, 18,0 mmol) em AcOH (130 mL) sob Ar a 50°C . A mistura reacional foi agitada a 70°C durante 15 min e depois arrefecida. Adicionou-se em seguida água (0,5 L) e uma solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (31,3 g, 116,0 mmol) em água (0,4 L) e agitou-se a mistura durante 30 min e o sólido formado foi filtrado e lavado com água em abundância. O produto **279** (rendimento 20%) foi obtido após extração no soxhlet com 10% de diclorometano em éter de petróleo.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3431, 3309, 1669, 1597.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 7,44 – 7,41 (m, 2H, H1 e H3); 6,97 – 6,93 (m, 1H, H2); 6,88 (d, $J = 10,2 \text{ Hz}$, 1H, H8 ou H9); 6,84 (d, $J = 10,2 \text{ Hz}$, 1H, H9 ou H8); 6,67 (s, 2H, H13).

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{10}\text{H}_8\text{NO}_2]^+$ exp = 174,05485 m/z , cal = 174,05495 m/z (erro = - 0,57 ppm).

3.3.5. Preparação do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona



A uma solução do composto **279** (0,2771 g, 1,6 mmol) e benzaldeído **147** (163,2 μL , 1,6 mmol) em acetonitrila (30 mL) foram adicionados o trifluorometanosulfonato de itérbio (III) ($\text{Yb}(\text{OTf})_3$) (0,05 g, 5 mol %) e o éter etil vinílico **141** (440,5 μL , 4,6 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 48h e em seguida, o solvente foi removido sob vácuo. O produto **280** (rendimento 3%) foi obtido como um sólido roxo, após purificações subsequentes em cromatografia em placa preparativa, inicialmente utilizando diclorometano como eluente e em seguida 10% de tolueno em diclorometano.

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ ppm: 9,79 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H7); 9,68 – 9,59 (m, 1H, H7*); 7,60 (dd, $J = 8,4$ e 7,6 Hz, 1H, H12); 7,55 (dd, $J = 8,4$ e 7,6 Hz, 1H, H12*); 7,48 – 7,47 (m, 1H, H1); 7,47 – 7,46 (m, 1H, H1*); 7,34 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, H6); 7,31 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, H6*); 7,25 – 7,24 (m, 1H, H13); 7,09 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H13*); 6,92 – 6,78 (m, 10H, H21-H25 e H21-H25*); 4,98 – 4,91 (m, 1H, H8); 4,88 (dt, $J = 7,5$ e 3,9 Hz, 1H, H8*); 4,28 (dt, $J = 10,5$ e 7,0 Hz, 1H, H10); 4,03 – 3,64 (m, 5H, H16, H16* e H10*); 2,38 (dt, $J = 7,1$ e 4,1 Hz, 1H, H9); 2,22 (dt, $J = 13,1$ e 3,8 Hz, 1H, H9*); 1,84 (t, $J = 13,1$ Hz, 1H, H9'); 1,80 – 1,76 (m, 1H, H9'*); 1,44 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H, H17); 1,41 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H, H17*).

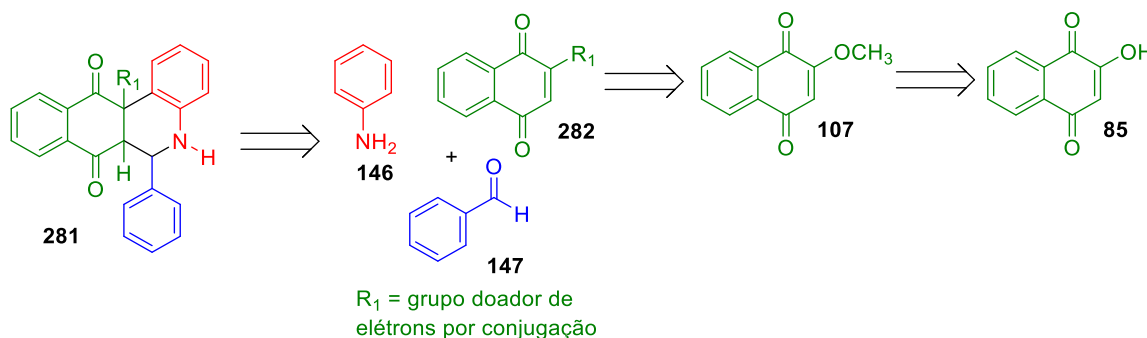
RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) δ ppm: 187,5; 186,9; 149,6; 147,8; 141,1; 137,1; 137,0; 135,7; 133,6; 132,8; 118,1; 116,6; 115,8; 112,5; 49,4; 44,8; 34,9; 30,5; 22,2.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Síntese orgânica

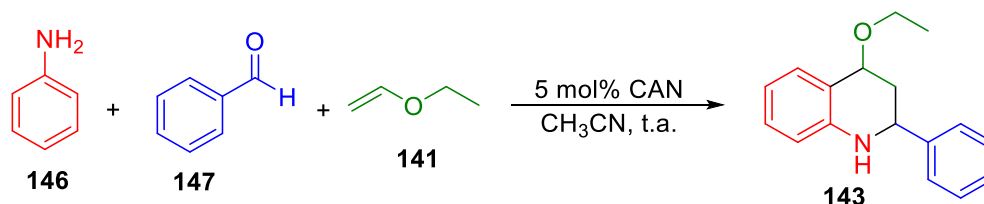
Para a reação de Povarov utilizando derivados da naftoquinona como olefina ativada, foi proposta a análise retrossintética mostrada na Figura 92.

Figura 92. Análise retrossintética para preparação das tetraidroquinolinas a partir da naftoquinona como olefina ativada.



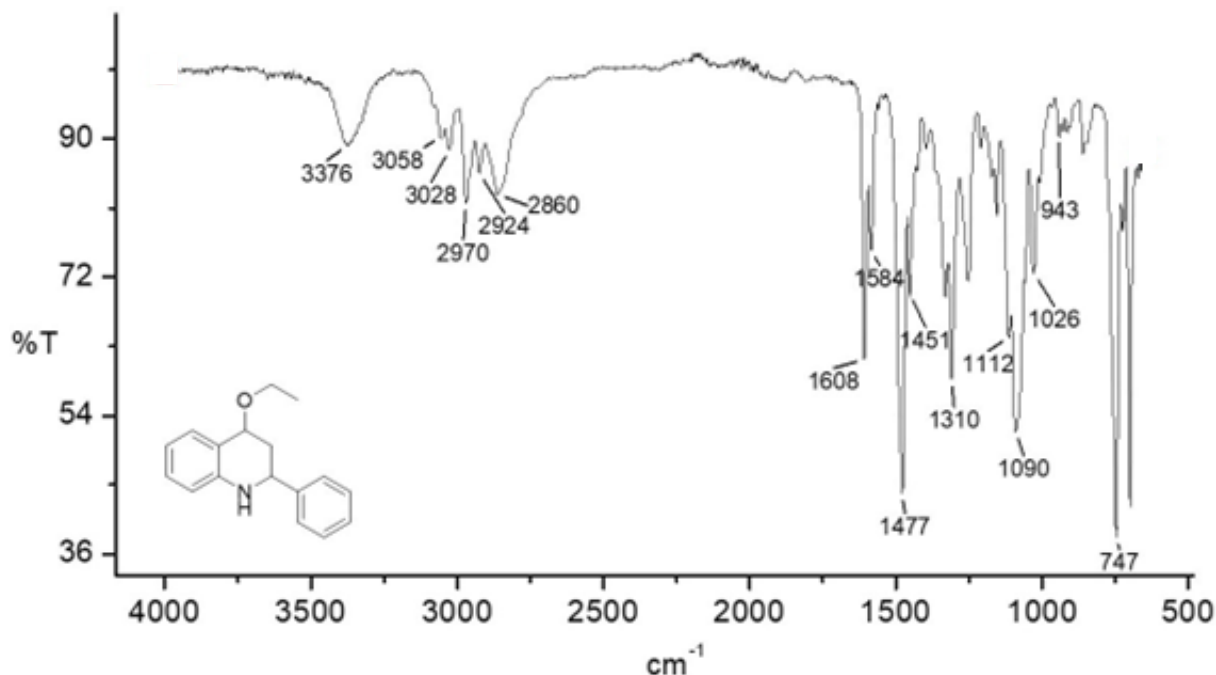
Inicialmente, a reação de Povarov foi reproduzida com o éter **141** conforme a metodologia de Sridharan e colaboradores,⁸² a fim de ajustar as condições reacionais. O produto foi obtido na forma de um óleo castanho **143** (rendimento 9%), a partir da reação entre a anilina **146**, o benzaldeído **147** e o éter etil vinílico **141**, utilizando acetonitrila como solvente e catalisada por nitrato de cério (IV) e amônio (CAN) (Figura 93).

Figura 93. Esquema da reação de Sridharan e colaboradores.



O espectro na região do infravermelho do composto **143** (Figura 94) apresentou as bandas em concordância com o descrito na literatura.⁸² Em 3376 cm^{-1} a banda referente ao estiramento da ligação NH_2 . Observa-se também as bandas em 3028 e 2860 cm^{-1} do estiramento das ligações C-H aromático e alifático, respectivamente. A banda em 1608 cm^{-1} da ligação C-C aromático e em 1310 cm^{-1} da ligação C-O-C.

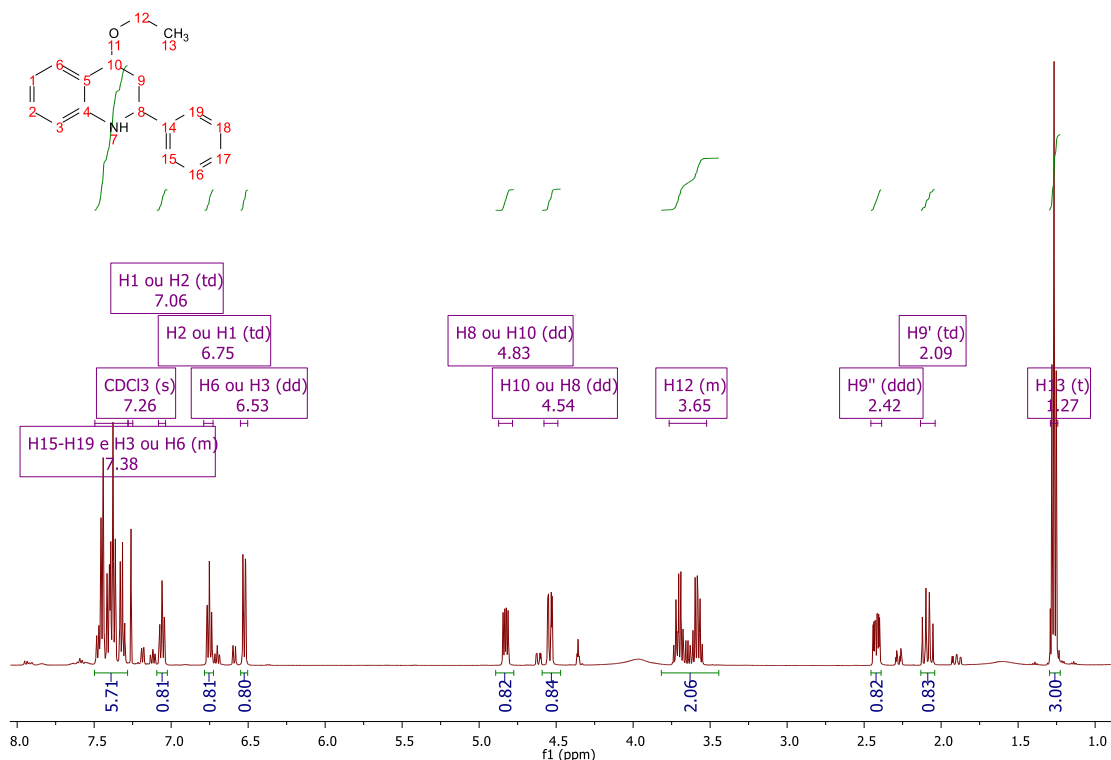
Figura 94. Espectro de infravermelho do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidroquinolina **143**.



O espectro de RMN de ^1H do composto **143** pode ser visto na Figura 95 e está condizente com o reportado na literatura.⁸² Os sinais dos hidrogênios aromáticos foram observados em 7,06 e 6,75 ppm como triplos dubletos, referente aos hidrogênios 1 e 2, que acoplam com os hidrogênios vizinhos com $J = 7,5$ Hz, além de um acoplamento em W com $J = 0,9$ Hz. De forma análoga, o duplo dubleto em 6,53 ppm acopla com os hidrogênios vizinhos com $J = 7,7$ Hz e à quatro ligações com $J = 1,0$ Hz. Os demais hidrogênios aromáticos aparecem como um multipletto em 7,50 – 7,28 ppm, com integração para 6 hidrogênios.

Na região alifática é observado um tripleto em 1,27 ppm referente ao metil 13 e um multipletto em 3,65 ppm do metileno 12, vizinho ao oxigênio, portanto mais desblindado. Os sinais restantes são do anel tetraidropiridina formado na reação. Em 2,42 e 2,09 ppm estão os sinais de H9 que aparecem em ambientes químicos diferentes, logo em sinais distintos, e acoplam com H8 e H10. O sinal em 2,09 ppm acopla com H8 e H10 com $J = 11,7$ e 10,6 Hz e o sinal em 2,42 ppm com $J = 5,7$ e 2,7 Hz. Os sinais dos hidrogênios 8 e 10 aparecem como duplos dubletos, uma vez que acoplam com H9' e H9". Além disso, o sinal em 2,42 ppm aparece como um duplo duplo dubleto com um J_2 (geminal) da ordem de 12,3 Hz.

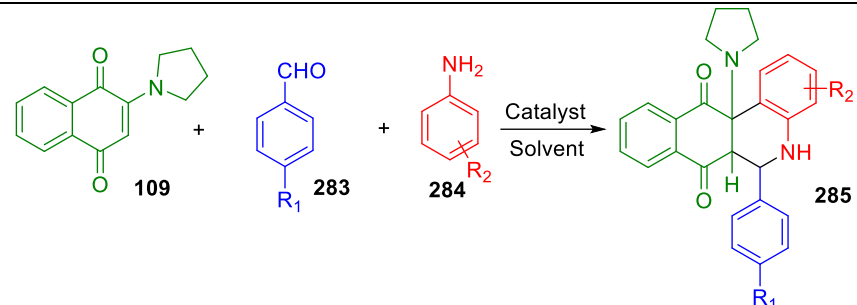
Figura 95. Espectro de RMN de ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidroquinolina **143**.



Uma vez que a reação tradicional de Povarov ocorreu de forma satisfatória, a mesma metodologia foi usada para a reação com 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**. Este derivado foi escolhido por ser uma amina terciária e, portanto, menos propensa a sofrer reações colaterais. A reação foi realizada com anilinas e aldeídos aromáticos sob catálise ácida (Tabela 6).

A metodologia de Sridharan e colaboradores⁸² foi utilizada em duas tentativas (entradas 1 e 2). Na entrada 1 a reação foi realizada a temperatura ambiente por 24 horas e outras 24 horas a 60 °C, mas os materiais de partida não foram consumidos. Em seguida, a mesma metodologia foi repetida com aquecimento por micro-ondas (T = 80 °C) durante 80 minutos (entrada 2). Após isolamento foi observada uma mistura complexa de produtos de difícil purificação.

Tabela 6. Dados experimentais das tentativas de reação de Povarov com a 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**.



Entrada	R ₁	R ₂	Catalisador	Solvente	Temperatura	Tempo
1 ^{82a}	H	H	5% CAN	H ₃ CCN	Ambiente + 60 °C	1 dia +
2 ^{82a}	H	H	5% CAN	H ₃ CCN	80 °C ^b	80 min
3 ^{83a}	H	H	200% Yb(OTf) ₃	DMF	Ambiente +	5 dias +
4 ⁸³	H	3-OCH ₃	200% Yb(OTf) ₃ 20% CuI	DMF	90 °C + 160 °C	2 dias + 2 dias
5 ^{84a}	H	H	10% BF ₃ .Et ₂ O	CH ₂ Cl ₂	45 °C	31 h
6 ⁸⁵	4-NO ₂	4-OCH ₃	10% <i>p</i> -TsOH	H ₃ CCN	Ambiente + 90 °C	1 dia + 1 dia
7 ^{85a}	4-NO ₂	4-OCH ₃	100% <i>p</i> -TsOH	H ₃ CCN	85 °C ^b	60 min

^aadaptada; ^bmicro-ondas

Paralelamente outras tentativas foram realizadas. A metodologia de Li e colaboradores⁸³ foi escolhida devido à similaridade estrutural do nucleófilo utilizado – uma enaminona. O primeiro emprego dessa metodologia ocorreu na entrada 3, utilizando 2 equivalentes de trifluorometanossulfonato de itérbio (Yb(OTf)₃) como catalisador e dimetilformamida (DMF) como solvente. Após o término da reação foi obtido um sólido de cor vermelha que após caracterização determinou-se que era a enaminonaftoquinona **109**.

Tentando aumentar a reatividade da amina, efetuou-se a substituição da anilina pela 3-metoxianilina, uma vez que o grupo metoxila é doador de elétrons (Entrada 4). A

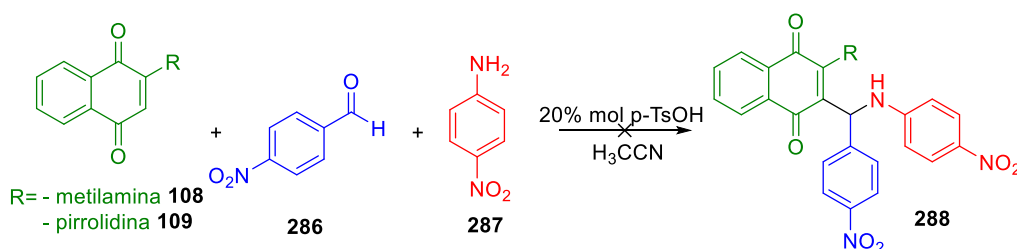
presença desse grupo favorece a estabilização do íon arênio formado na segunda etapa do mecanismo (reação de Friedel-Crafts). Além disso, foi adicionado iodeto de cobre para facilitar a formação da quinolina. No entanto, mesmo após 2 dias a 90 °C e 2 dias em refluxo (aproximadamente 160 °C), os materiais de partida não foram consumidos.

Em seguida, a metodologia proposta por Borel e colaboradores⁸⁴ também foi investigada, utilizando trifluoreto de boro eterato (entrada 5), o catalisador original da Reação de Povarov,¹⁷ e diclorometano como solvente. Foi obtida uma mistura de produtos de difícil tratamento.

A aplicação de ácidos de Brønsted como catalisador para a reação de Povarov é amplamente descrita na literatura.¹ Na entrada 6, foi utilizado 10 mol% de *p*-TsOH (ácido *p*-toluenossulfônico) como catalisador e mantido 1 dia a temperatura ambiente e 1 dia a 90 °C, mas nenhum material de partida foi consumido. Posteriormente, outra tentativa foi realizada usando quantidade estequiométrica de catalisador (entrada 7) e aquecimento em micro-ondas (*T* = 85 °C), mas nenhum material de partida foi consumido.

Para observar se a limitação reacional estava na primeira etapa do mecanismo, foi realizada a reação de Mannich com as enaminonaftoquinonas **108** e **109**. A metodologia utilizada já é consolidada em nosso grupo de pesquisa (Figura 96).⁸⁶ O aldeído e a amina foram escolhidos devido aos excelentes resultados obtidos em trabalho anterior.⁸⁶

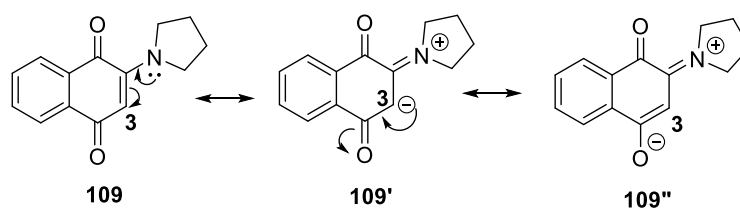
Figura 96. Tentativa de síntese do aduto de Mannich com as enaminonaftoquinonas **108** e **109**.



Em ambos os casos a reação foi isolada após 24h a temperatura ambiente e 7 dias em aquecimento brando (60-66°C) sem que fosse observada nenhuma mudança na cromatografia em camada fina. O resultado obtido indica que provavelmente a primeira etapa do mecanismo é um obstáculo para a obtenção do aduto de Povarov.

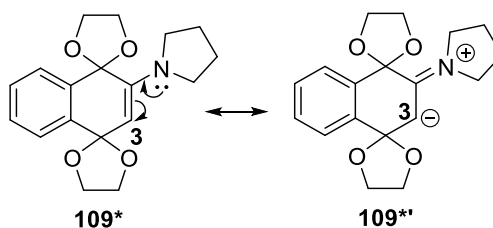
Em busca de aumentar a nucleofilicidade da olefina naftoquinônica partiu-se para a tentativa de proteção das carbonilas, impedindo assim a deslocalização eletrônica presente na estrutura (Figura 97). A estrutura canônica **109''** possui maior contribuição para o híbrido de ressonância em detrimento a estrutura canônica **109'**, responsável pela maior nucleofilicidade do carbono 3. Uma vez que, na estrutura **109''** a carga negativa se encontra no átomo de oxigênio da carbonila 4, que por ser mais eletronegativo estabiliza melhor essa carga.

Figura 97. Estruturas de ressonância da enaminonaftoquinona **109**.



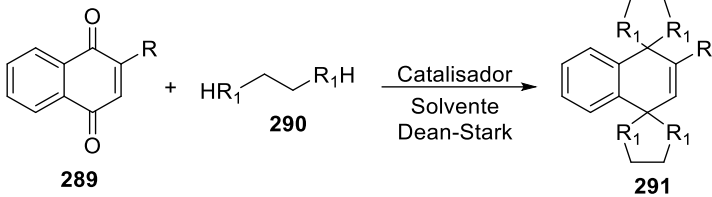
Uma alternativa para evitar essa deslocalização é a proteção das carbonilas do núcleo naftoquinônico, por exemplo com a formação de acetais, iminas ou hidrazonas.⁸⁷ Dessa forma, a carga negativa ficará mais concentrada no carbono 3, aumentando assim a sua nucleofilicidade, como pode ser visto na Figura 98.

Figura 98. Estruturas de ressonância da enaminonaftoquinona **109** com as carbonilas protegidas.



As reações foram realizadas de acordo com esquema e os dados experimentais reportados na Tabela 7.

Tabela 7. Dados experimentais das tentativas de proteção das carbonilas.

					
Tentativa	R	R ₁	Catalisador	Solvente	Tempo (h)
1 ^{88a}		O	10% <i>p</i> -TsOH	Benzeno	60
2 ^{89a}		S	50% H ₂ SO ₄	Tolueno	21
3 ^{89a}		O	20% H ₂ SO ₄	Tolueno	22
4 ^{90a}	-OCH ₃	O	20% <i>p</i> -TsOH	Tolueno	20
5 ^{90a,b}	-OCH ₃	O	20% <i>p</i> -TsOH	Tolueno	13,5
6 ^{90a}	-OH	O	20% <i>p</i> -TsOH	Tolueno	9,5
7 ^{90a}	-H	O	20% <i>p</i> -TsOH	Tolueno	12,5

^aadaptado; ^batmosfera inerte

Vale salientar que todas as reações foram realizadas sob refluxo e utilizando Dean-Stark, com o objetivo de deslocar o equilíbrio para a formação do produto, a partir do consumo da água formada no meio reacional. Na primeira tentativa (entrada 1), mesmo após um longo tempo reacional nenhuma alteração foi observada, isso pode ter acontecido pela força do ácido utilizado e até mesmo pela nucleofilicidade do grupo protetor.

Com base nesses resultados optou-se pela troca do nucleófilo e do ácido utilizados, partindo assim para a tentativa 2. Na qual foi adotado um ácido inorgânico, de menor valor de pK_a, e um nucleófilo mais forte, substituindo o heteroátomo de oxigênio para enxofre. A menor eletronegatividade do enxofre faz com que o seu par de elétrons não ligante esteja mais livre para o ataque, uma vez que o efeito indutivo atrator de elétrons exercido pelo átomo é menor.⁹¹

Essa reação foi isolada antes do consumo total do reagente limitante, pois, houve formação de uma mistura complexa, como foi observado pela CCF. Possivelmente isso aconteceu pela maior nucleofilicidade do grupo protetor e a grande quantidade

de ácido utilizada. Partindo dessa hipótese foi realizada a reação 3 usando novamente o etilenoglicol e diminuindo a quantidade de ácido no meio reacional, mas ainda assim houve formação de muitos subprodutos. Produtos esses que podem ser: formação total ou parcial de acetais e hemeacetais,⁸⁷ além disso adição oxidativa na posição 3⁹² e a substituição da amina ali presente (posição 2).⁹³

A partir dos resultados até então obtidos foi fixado um procedimento experimental utilizando etilenoglicol como grupo protetor e ácido *p*-toluenossulfônico, em uma porcentagem maior, como catalisador.

A reação 4 foi investida na proteção da 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** pela semelhança com a olefina da reação original de Povarov.¹⁸ Já nas primeiras horas de refluxo foi observado a formação de 2-hidroxinaftalen-1,4-diona **85**, ou seja, a água ali presente começou a substituir o grupo metoxila. Isso possivelmente decorreu pela presença de água tanto no solvente como liberada durante a proteção.

Com o intuito de tentar diminuir a quantidade de água no meio reacional o solvente utilizado foi previamente seco, reduzindo uma fonte de água. Além disso, a reação foi realizada em atmosfera inerte, impedindo absorção de água do ambiente externo (entrada 5). No entanto houve novamente formação de 2-hidroxinaftalen-1,4-diona **85** no meio reacional. Mostrando que provavelmente a reação de proteção (total ou parcial) ocorre, pois, há formação de água durante a proteção. Sendo assim, optou-se por tentar proteger diretamente a 2-hidroxinaftalen-1,4-diona **85** (entrada 6) e da mesma maneira que as demais reações essa apresentou formação de muitos produtos.

Por fim, para testar se além da substituição na posição 2, a adição oxidativa é um possível produto, foi realizada a tentativa de proteção na 1,4-naftoquinona **47** (entrada 7) e assim como em tentativas anteriores, a reação 7 apresentou uma mistura complexa de produtos. Levando a pressupor que a adição oxidativa ocorreu.

Diante dos insucessos das reações de Povarov utilizando as enaminaftoquinonas e da proteção da carbonila do núcleo naftoquinônico, tentativas paralelas foram realizadas com a 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**, por possuir um bom grupo doador de elétrons conjugado a dupla ligação. Esse fato influenciou diretamente na decisão de utilizá-la como possível olefina na reação de Povarov.

As reações foram realizadas empregando a estequiometria da metodologia de Sridharan e colaboradores,⁴⁶ mas variando o catalisador e as condições reacionais.

O esquema reacional e os dados experimentais das tentativas realizadas se encontram na Tabela 8.

Tabela 8. Dados experimentais das tentativas de reação de Povarov com 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**.

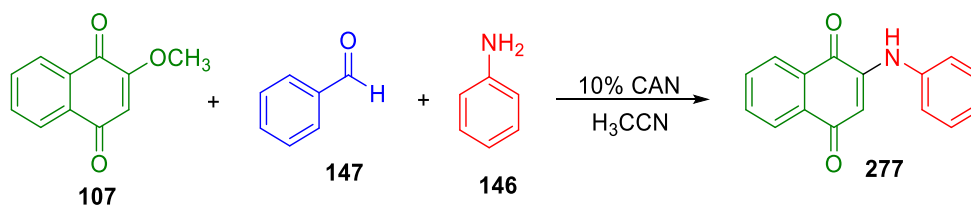
Entrada	Catalisador	Condições reacionais
1	CAN	1 dia a t.a. e 1 dia a 60°C
2	Yb(OTf) ₃	4h a 60°C ^a e 2:30h a 70°C ^a
3	Yb(OTf) ₃	20 min a 80°C ^{a,b}

^aMicro-ondas; ^bControle da potência

A reação 1 foi isolada após consumo total de um dos reagentes. O produto foi obtido na forma de um sólido vermelho com 70% de rendimento e intervalo de fusão de 184-185°C, depois de purificado por cromatografia em coluna usando como eluente a proporção 7 hexano: 1 AcOEt: 1 tolueno.

Diferente do esperado, o sólido obtido não foi o aduto de Povarov e sim o produto proveniente da substituição nucleofílica da metoxila pela anilina (Figura 99). Essa substituição provavelmente foi facilitada pela presença do catalisador ácido no meio reacional.

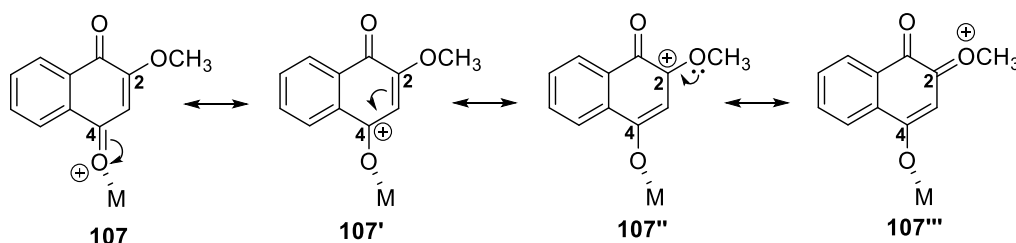
Figura 99. Reação de substituição da 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**.



Os íons metálicos de terras raras são oxofílicos e geralmente fortes ácidos de Lewis.⁹⁴ Dessa forma, o metal presente no meio reacional possivelmente teve sua complexação facilitada na carbonila 4 e consequentemente aumentando a nucleofilicidade do carbono 2 em **107''**, o que facilitou a substituição do grupo

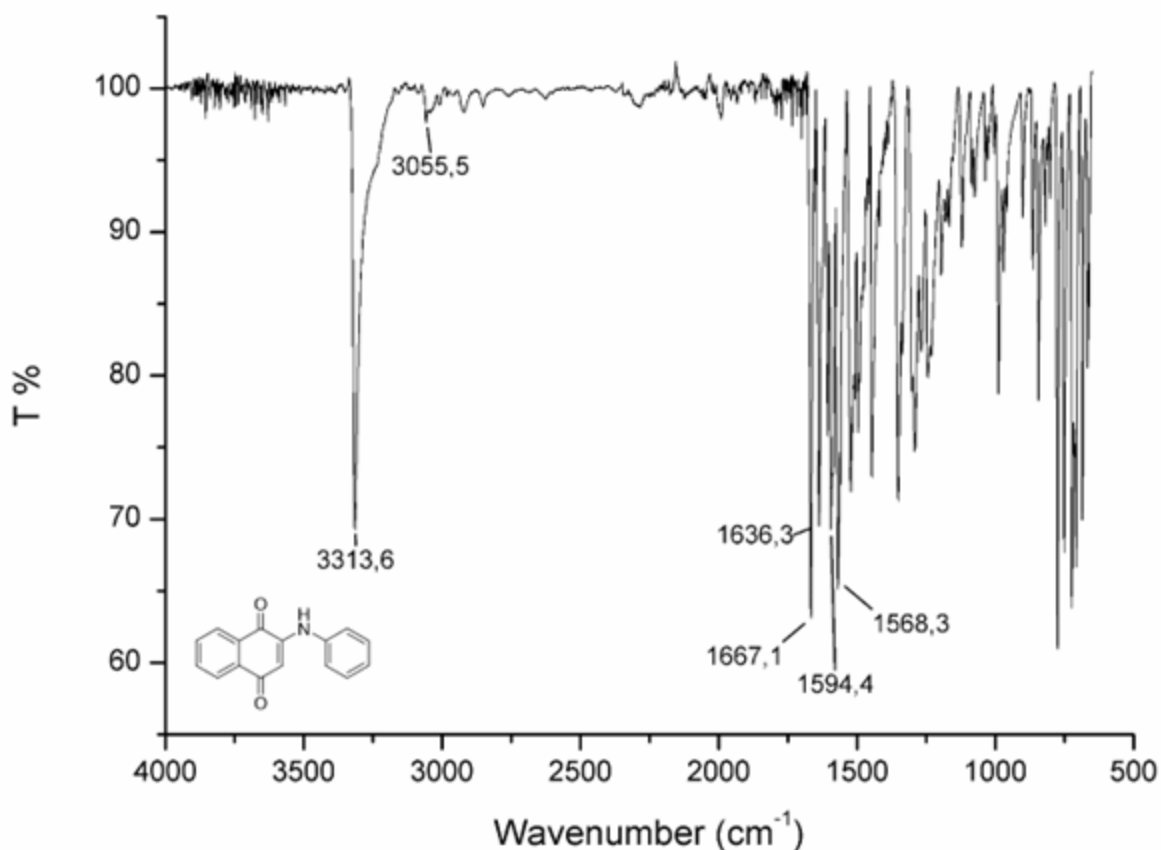
metoxila, que é um grupo factível de substituição (vide capítulo 1 - seção 4.1, página 58), pela anilina presente no meio (Figura 100).

Figura 100. Estruturas de ressonância da 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** complexada ao metal.



A obtenção do composto pôde ser comprovada pela caracterização do sólido obtido. No espectro de infravermelho notam-se as bandas referentes as ligações C=O em 1667 e 1636 cm^{-1} bem como a instauração, do núcleo quinônico, ao qual estas encontram-se conjugadas em 1594 cm^{-1} . Em 3055 e 1568 cm^{-1} observou-se as bandas referentes aos estiramentos das ligações C-H e C=C do anel aromático, respectivamente. Por fim, a banda em 3313 cm^{-1} da ligação N-H (Figura 101).

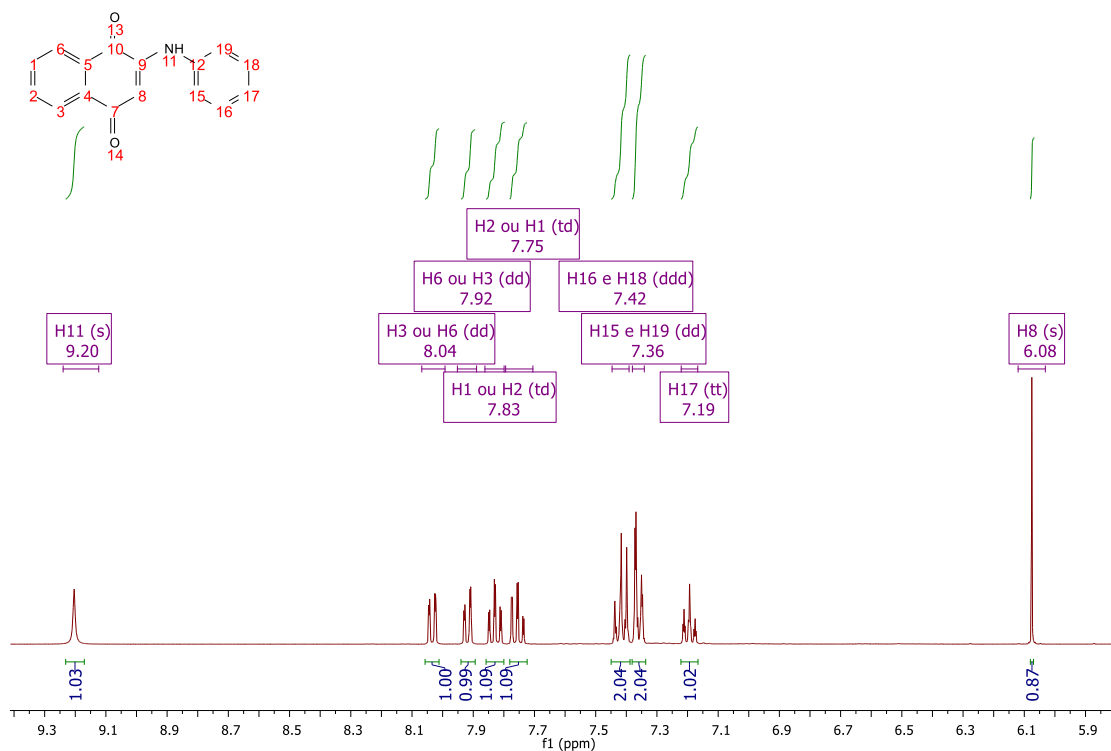
Figura 101. Espectro de infravermelho do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.



Na região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **277**⁹⁵ (Figura 102) são observados sete sinais, sendo dois duplos dubletos em 8,04 e 7,92 ppm referentes aos hidrogênios 3 e 6, e dois triplos dubletos em 7,83 e 7,75 ppm dos hidrogênios 1 e 2, todos integrando para 1H. Os dois sinais de segunda ordem dos hidrogênios 1 e 2 são originários do acoplamento com os hidrogênios vizinhos com $J = 7,5$ Hz e do acoplamento a quatro ligações (acoplamento em W) na ordem de 1,4 Hz. De forma análoga, o H3 acopla-se com H2 em 7,6 Hz e com H1 em 1,4 Hz e o H6 acopla-se com H1 em 7,6 Hz e com H2 em 1,4 Hz por meio de um J_4 . Os valores de acoplamento analisados corroboram com as correlações observadas no espectro de COSY ^1H - ^1H (Figura 103).

Os demais sinais da região aromática são um triplo triplete em 7,19 ppm, integrando para 1H, referente a H17, com $J = 6,9$ e $1,3$ Hz; um duplo dubleto em 7,36 ppm que foi atribuído aos hidrogênios 15 e 19, integrando para 2H, com $J = 8,5$ e $1,3$ Hz e por fim um duplo duplo dubleto em 7,42 ppm dos hidrogênios 16 e 18, também integrando para 2H, com $J = 8,5$; $6,9$ e $1,3$ Hz; acoplamentos esses que podem ser constatados no espectro bidimensional de COSY. O sinal em 7,42 ppm (posição meta ao N) é o mais desblindado pelo efeito mesomérico do par de elétrons não ligante do nitrogênio. Os singletos em 9,20 e 6,08 ppm são referentes aos hidrogênios 11 e 8, respectivamente. Sendo o mais blindado o sinal característico do H8 do núcleo naftoquinônico.

Figura 102. Espectro de RMN do composto ^1H da 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.



No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 104) desse composto⁹⁵ os sinais em 183,0 e 182,0 ppm foram atribuídos aos dois carbonos das carbonilas (C7 e C10) e em 146,6 ppm, região com grupos vizinhos retiradores de elétrons, o carbono 9. Na região aromática estão os sinais referentes ao anel naftoquinônico: 135,3 e 133,0 (C1 e C2); 133,0 e 130,8 (C4 e C5); 126,5 e 125,7 (C3 e C6) ppm e do fenil proveniente da anilina: 138,9 (C12); 129,7 (C16 e C18) e em 124,1 (C15 e C19). Por fim, o sinal em 102,7 ppm, na região característica de carbono com dupla ligação. Além disso, os mapas de contorno COSY e HSQC (Figura 105) corroboraram com as atribuições propostas.

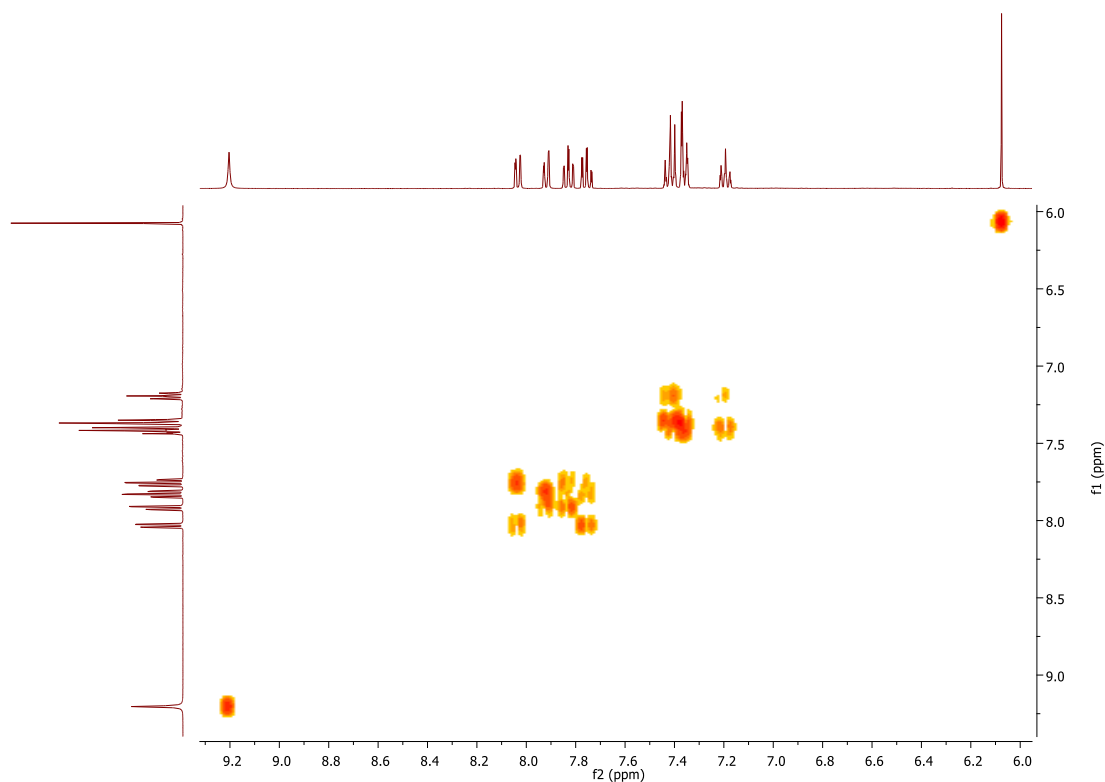
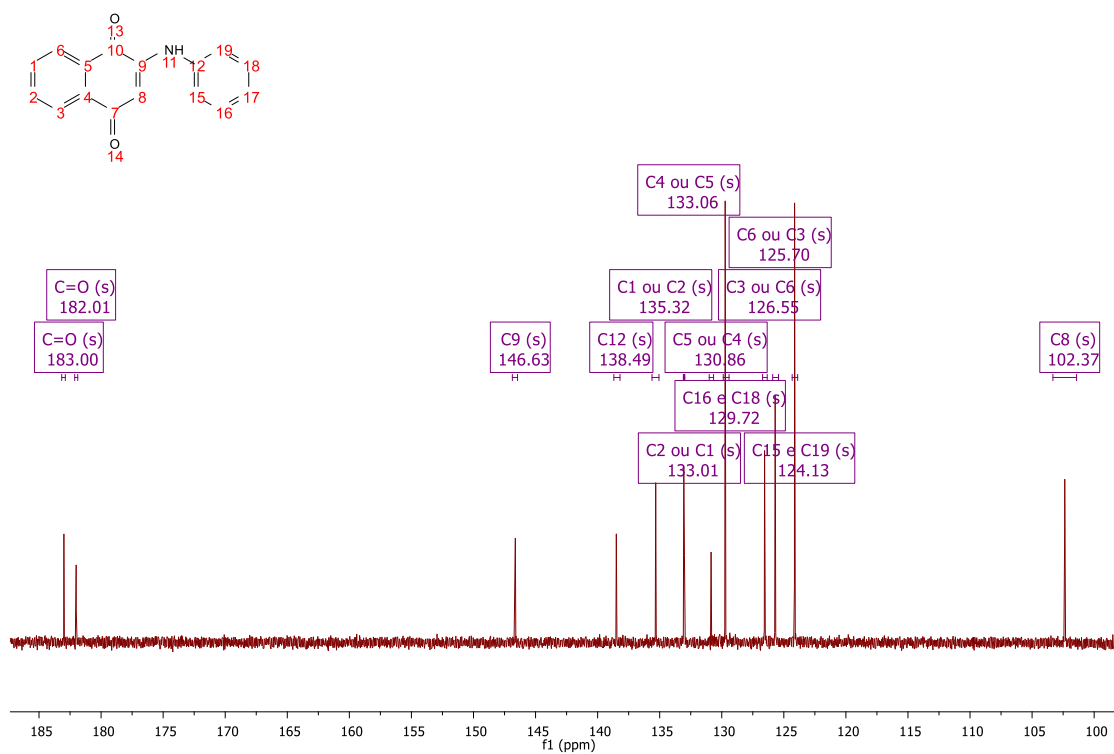
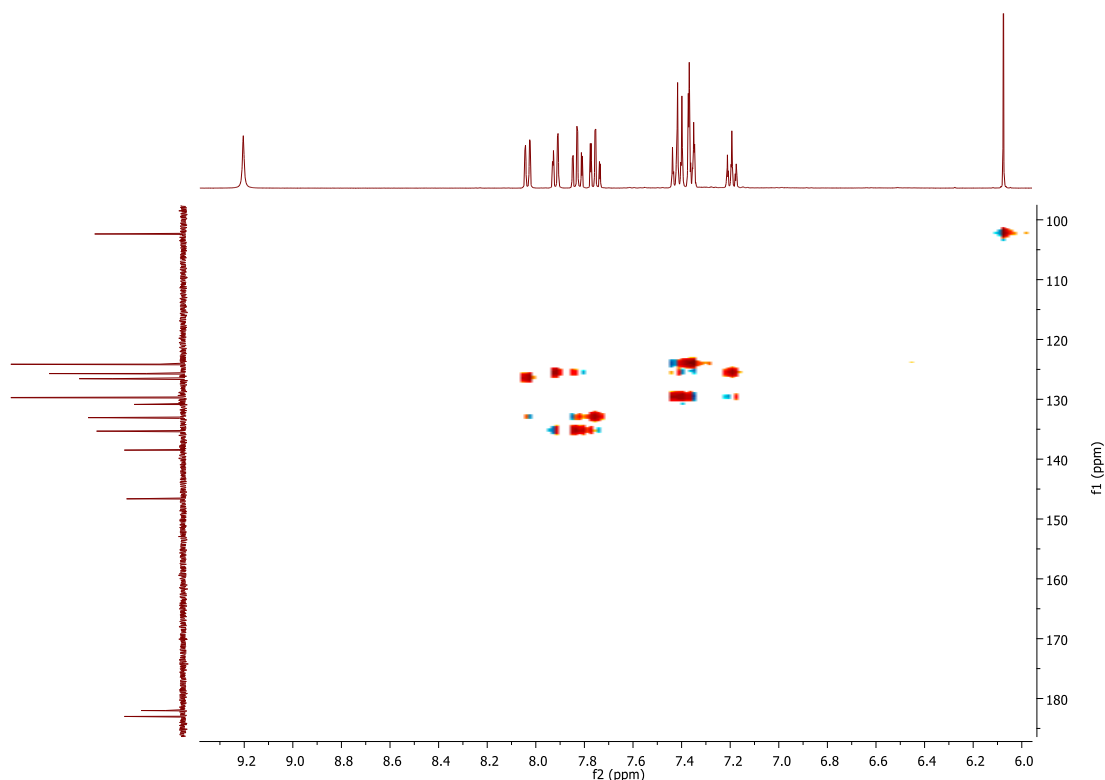
Figura 103. Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.**Figura 104.** Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.

Figura 105. Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.

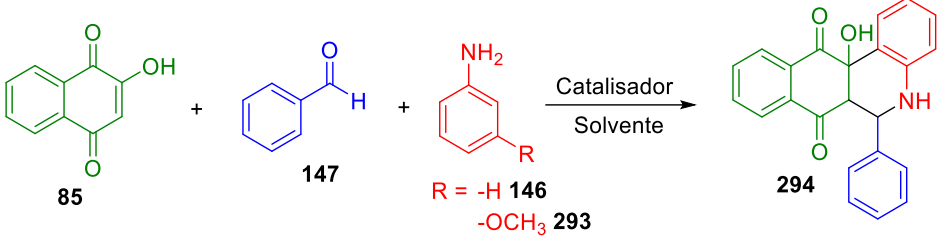


Tal como para a reação 1, as entradas 2 e 3 também formaram o produto de substituição da metoxila pela anilina, mesmo com a troca do catalisador e das condições reacionais. A partir desses resultados se concluiu que a substituição da metoxila é um processo favorecido, sendo assim esse substrato não foi adequado para a reação de Povarov.

Após os resultados insatisfatórios com a 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107**, elegeu-se a 2-hidroxinaftalen-1,4-diona **85** como olefina para as novas tentativas. Essa escolha foi fundamentada em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa,⁸⁶ onde a reação de Mannich com 2-hidroxinaftalen-1,4-diona **85** ocorreu com facilidade.⁸⁶ À vista disso, a etapa a ser vencida seria a ciclização final para obtenção das tetraidroquinolinas de interesse.

O esquema reacional e os dados experimentais das tentativas realizadas se encontram na Tabela 9.

Tabela 9. Dados experimentais das tentativas de reação de Povarov com 2-hidroxinaftalen-1,4-diona **85**.

			
Entrada	Catalisador	Solvente	Condições reacionais
1 ⁸³	200% Yb(OTf) ₃	DMF	2h a t.a.
2 ^{46a}	10% BF ₃ .Et ₂ O	CH ₂ Cl ₂	60 min 40 °C ^b
3 ^{46a}	10% BF ₃ .Et ₂ O	H ₃ CCN	10 min 70°C ^b

^aadaptado; ^bmicro-ondas.

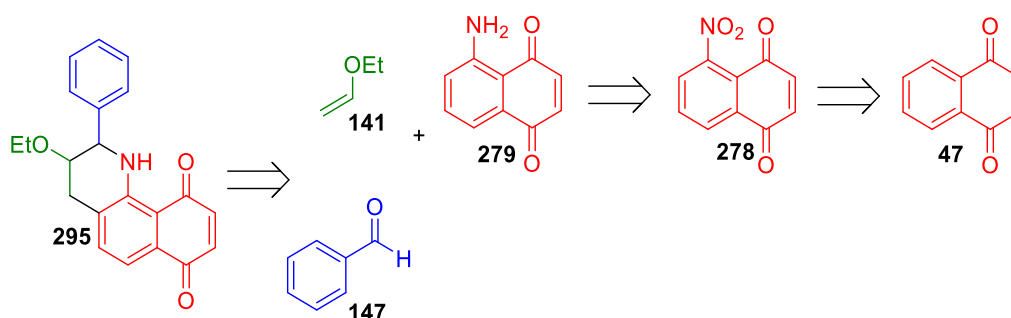
A reação 1 foi isolada após consumo total da 3-metoxianilina **293**, e como modo de isolamento foi realizada a precipitação por adição de água no meio reacional. O sólido formado foi filtrado e a água-mãe evaporada a pressão reduzida. Em seguida, foi observado que ambos os sólidos eram uma mistura dos materiais de partida. Provavelmente, a reação só havia ocorrido até a formação da imina e essa, por sua vez, sofreu hidrólise em contato com a água. A etapa de ataque nucleofílico da lausona no íon imínio formado, pode ter sido prejudicada pela grande quantidade de catalisador utilizada, levando a uma possível complexação com os oxigênios da hidroxila e carbonila.

Pensando nisso, foram propostas as entradas 2 e 3 utilizando a metodologia adaptada de Sridharan e colaboradores,⁴⁶ empregando aquecimento no reator de micro-ondas. Na tentativa da entrada 2 não foi observada nenhuma alteração mesmo após 1h de reação.

De posse desse resultado foi realizada a troca por um solvente com maior ponto de ebulição e, além disso, que também solubilizasse todos os materiais de partida (entrada 3). Ao final da reação o sólido formado foi filtrado e a água-mãe evaporada a pressão reduzida. O sólido era constituído por uma mistura dos materiais de partida e o material obtido pela evaporação do solvente foi submetido a purificação em coluna cromatográfica utilizando como eluente 2 hexano: 1 acetato de etila. No entanto, obteve-se uma mistura complexa de compostos.

Diante dos insucessos anteriores visando obter as tetraidroquinolinas a partir da naftoquinona como nucleófilo da reação, foi planejada a análise retrossintética mostrada na Figura 106 em que a naftoquinona agora seria empregada como amina.

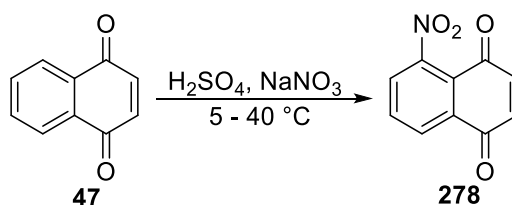
Figura 106. Análise retrossintética para preparação da tetraidroquinolina a partir da naftoquinona como amina.



Iniciou-se a rota sintética pela nitração da 1,4-naftoquinona **47**, na presença de ácido sulfúrico e nitrato de sódio para obter a 5-nitronaftaleno-1,4-diona **278**. A princípio a reação foi realizada via metodologia de Maugel e Snider,⁹⁶ mas devido ao baixo rendimento obtido outro procedimento experimental foi testado. Sendo assim, empregada a metodologia de Ivashkina e colaboradores.⁹⁷ As mudanças reacionais nas diferentes metodologias envolveram uma diminuição do tempo reacional e a troca do solvente de recristalização.

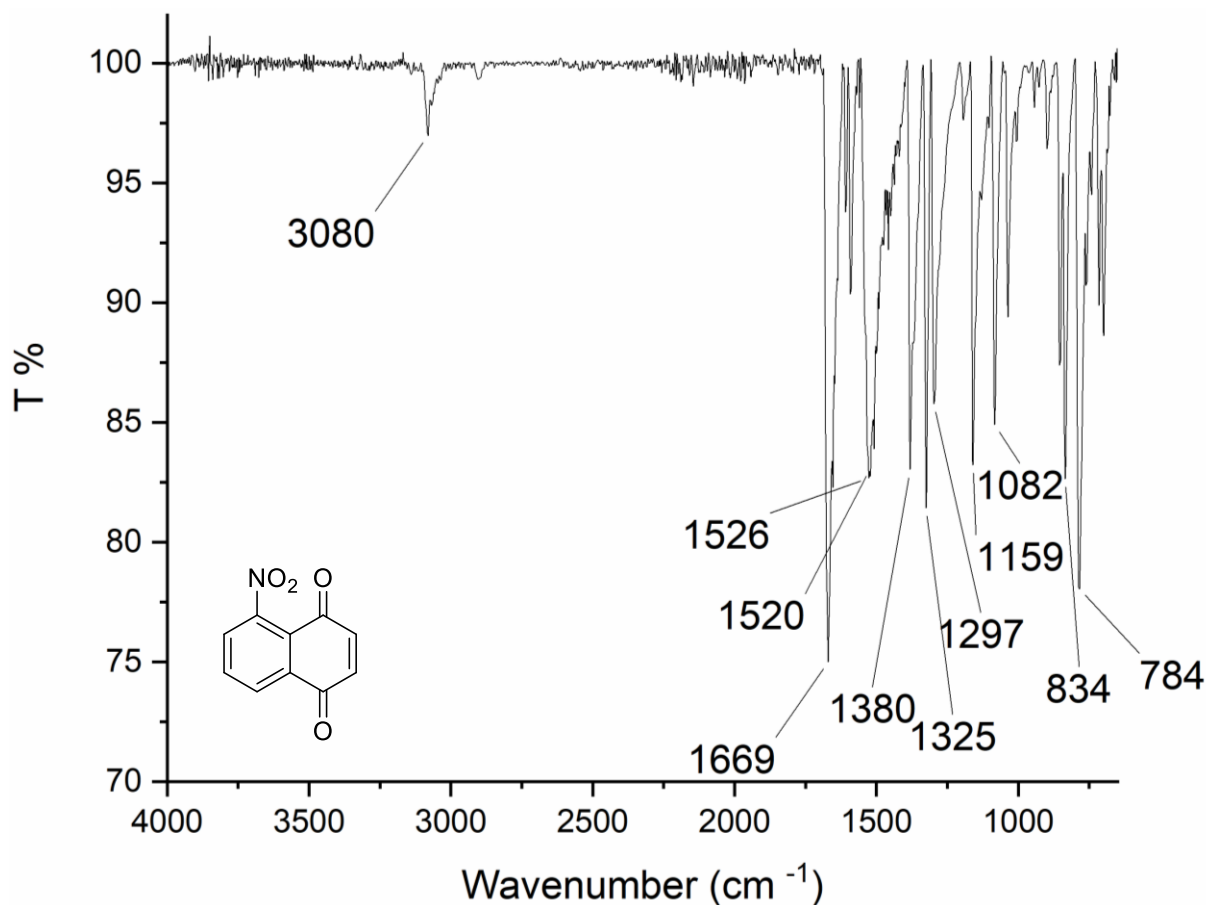
O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 45% e intervalo de ponto de fusão de 161-162 °C, após filtração em sílica utilizando diclorometano como eluente, seguido de recristalização em metanol à quente (Figura 107).⁹⁷

Figura 107. Reação de nitração da 1,4-naftoquinona **47**.



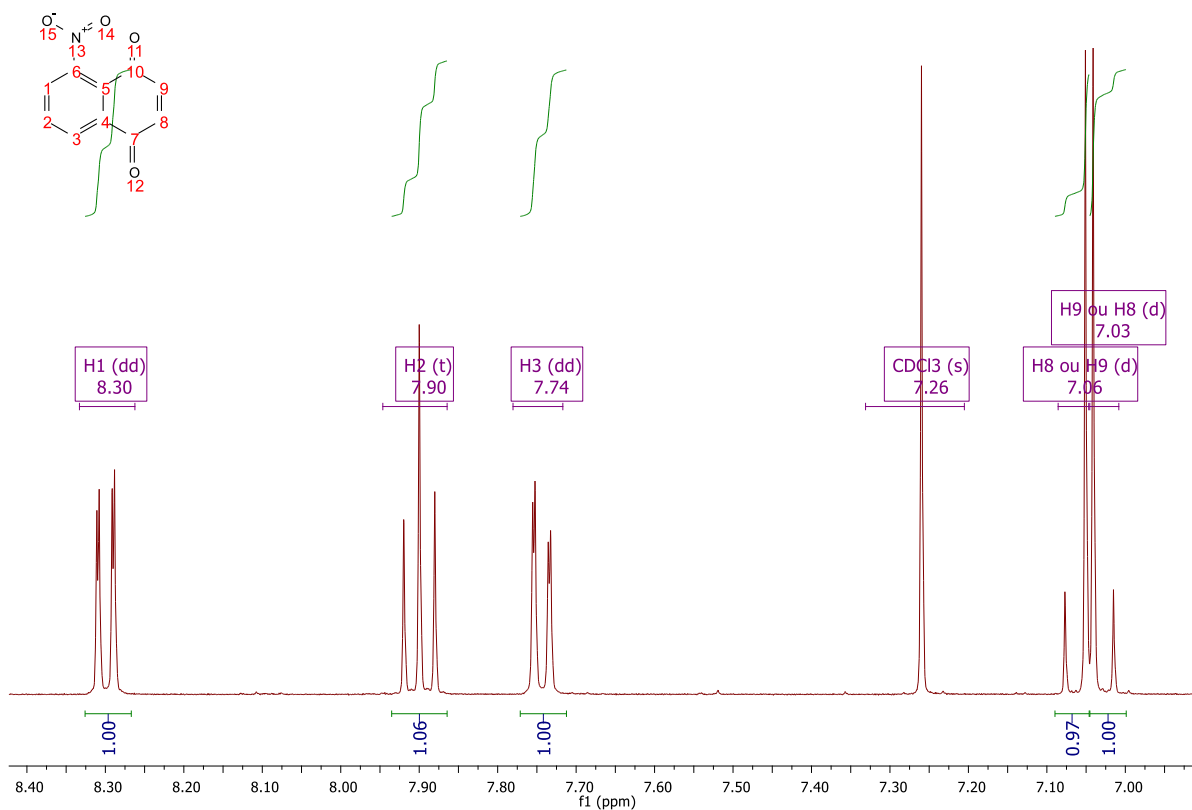
No espectro de infravermelho foram observadas as bandas em 1520 e 1325 cm^{-1} dos estiramentos assimétricos e simétricos da ligação C-NO₂, respectivamente. Em 1669 cm^{-1} a banda da C=O e por fim, em 3080 cm^{-1} a vibração de estiramento de C-H do anel aromático (Figura 108).⁹⁶

Figura 108. Espectro de infravermelho do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona **278**.



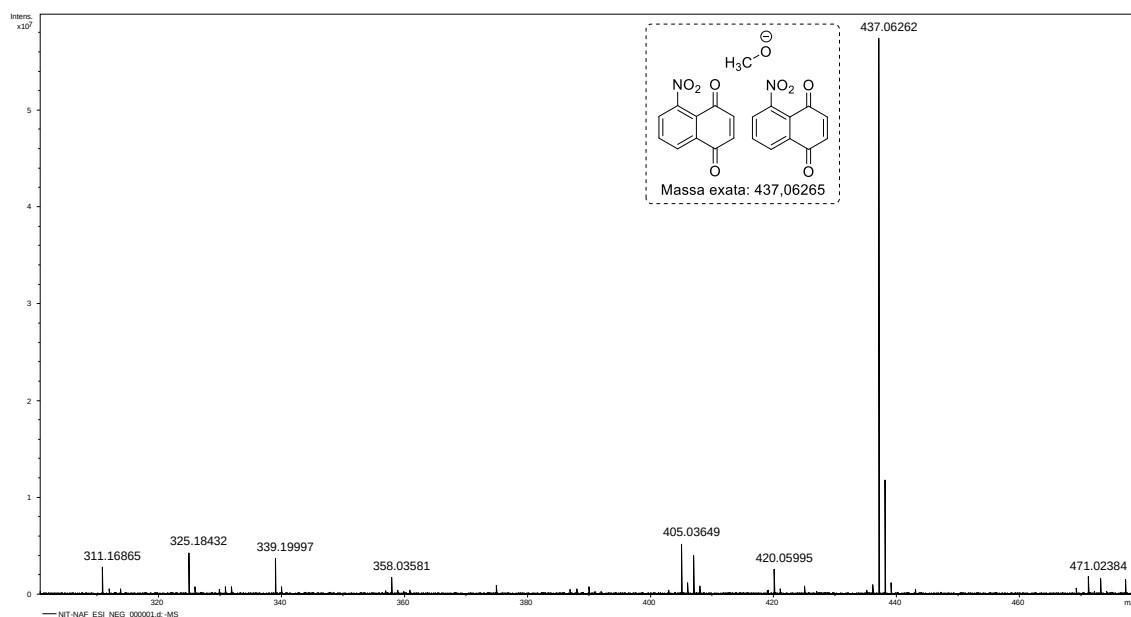
A caracterização por RMN de ¹H do composto **278** corroborou com o descrito na literatura (Figura 109).⁹⁶ Na região aromática os sinais de segunda ordem dos hidrogênios 1 (8,30 ppm) e 3 (7,74 ppm) são originários do acoplamento com o hidrogênio vizinho (H2) com $J = 7,9$ Hz e também com o acoplamento entre si à quatro ligações (acoplamento em W) na ordem de 1,2Hz. O tripleto em 7,90 ppm, referente ao hidrogênio 2, acopla com os hidrogênios vizinhos (H1 e H3) com $J = 7,9$ Hz. Por fim, os dubletos em 7,03 e 7,06 ppm são referentes aos hidrogênios 8 e 9 e acoplam entre si com um $J = 10,4$ Hz.

Figura 109. Espectro de RMN ^1H do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona **278**.



No espectro de massas de alta resolução - ESI(-) do composto **278** (Figura 110) nota-se a presença de um pico m/z 437,06262, correspondente ao seu dímero com um grupo metoxi, de massa exata 437,06265 e erro relativo de -0,07 ppm.

Figura 110. Espectro de Massas do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona **278**.



De posse da 5-nitronaftaleno-1,4-diona **278** foi possível dar sequência com a redução do grupo nitro para formação da amina desejada. Realizando uma reação em duas etapas, inicialmente com uma reação de redução, seguida da reoxidação das carbonilas. O esquema reacional e os dados experimentais estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10. Dados experimentais da reação de redução do grupo nitro.

Entrada	Etapa de redução	Etapa de reoxidação	Isolamento
1 ⁹⁸	AcOH N ₂ S ₂ O ₄	H ₂ O ₂ (30%)	Filtração do sólido formado.
2 ⁹⁷	SnCl ₂ .2H ₂ O HCl AcOH	H ₂ O FeCl ₃ .6H ₂ O	Basificação da solução e extração com CH ₂ Cl ₂ .
3 ⁹⁹	SnCl ₂ .2H ₂ O HCl AcOH	FeCl ₃ .6H ₂ O (solução em H ₂ O)	Banho de gelo e filtração do sólido formado.
4 ^{a100}	SnCl ₂ .2H ₂ O HCl AcOH	H ₂ O FeCl ₃ .6H ₂ O (solução em H ₂ O)	Filtração do sólido formado.

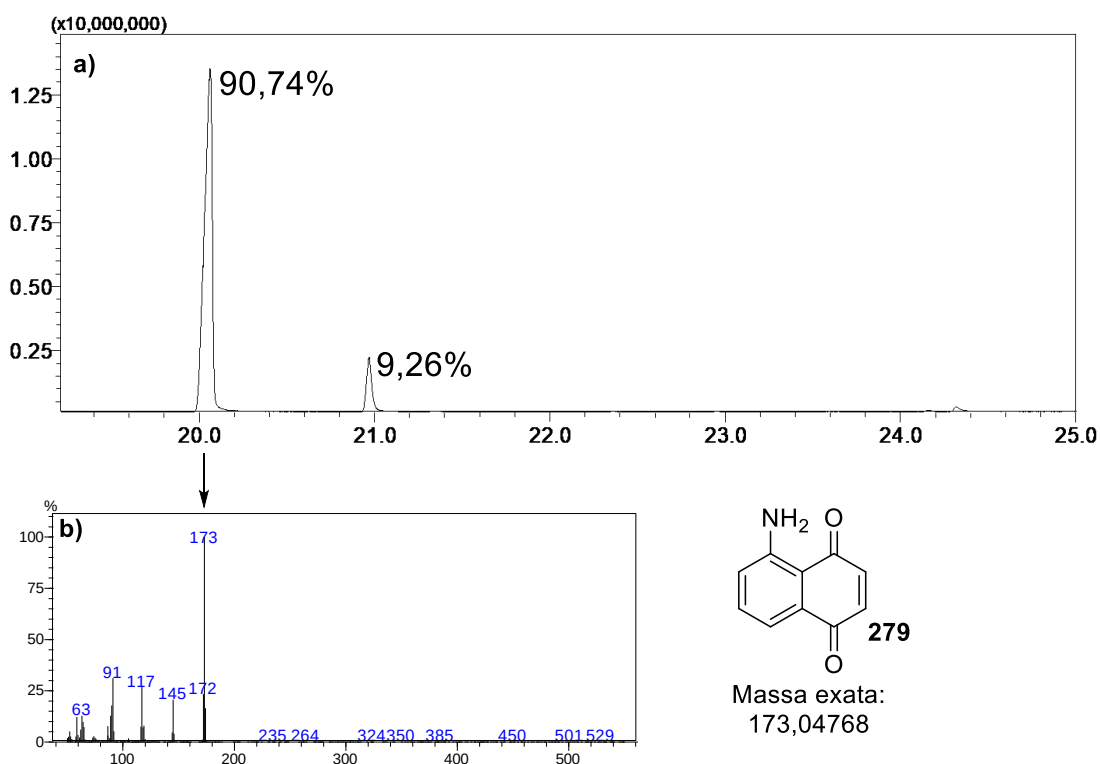
^aem atmosfera inerte.

Na entrada 1, a metodologia escolhida foi de Li e colaboradores,⁹⁸ ao final da reação foi formado uma mistura complexa de difícil purificação, e com base nesse resultado optou-se pela troca dos agentes redutor e oxidante (entradas 2-4). Na entrada 2 utilizou-se cloreto de estanho (II) em meio ácido e cloreto de ferro (III), como agentes redutor e oxidante, respectivamente. Ao final da reação foi formada uma mistura complexa de produtos de difícil purificação.

Em seguida, a metodologia proposta por Ivashkina e colaboradores⁹⁷ foi escolhida (entrada 3), devido a simplicidade no isolamento. Após o término da reação a solução foi mantida em banho de gelo (4 – 5 °C) por 12h e o sólido formado foi filtrado, lavado com água e purificado por coluna cromatográfica utilizando 6 hexano : 1 acetato de etila como eluente. O produto isolado após a purificação não era o desejado.

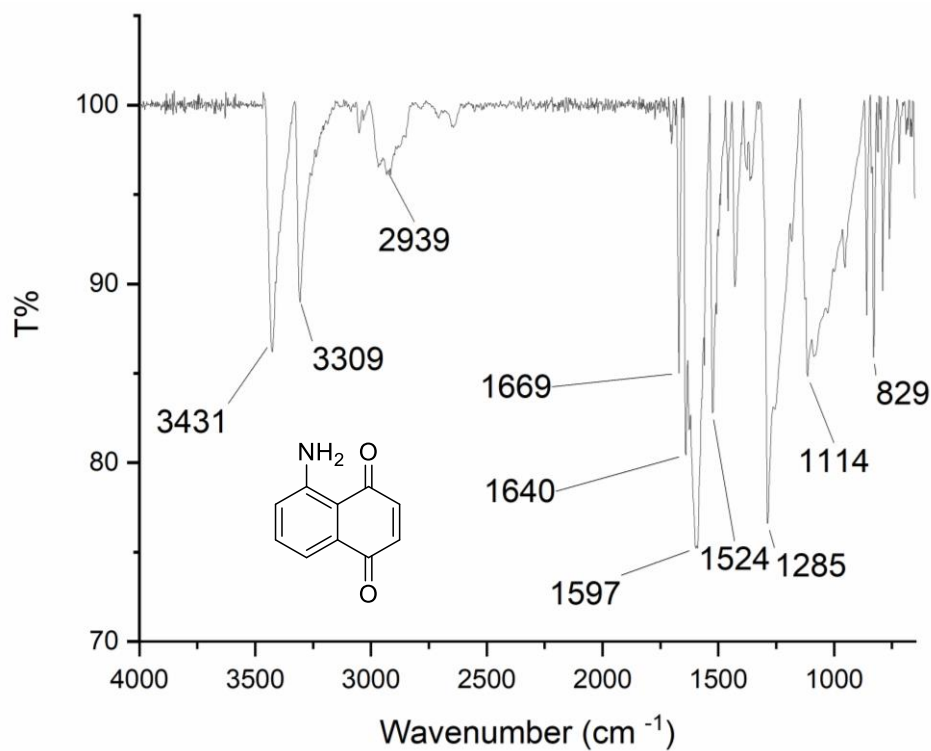
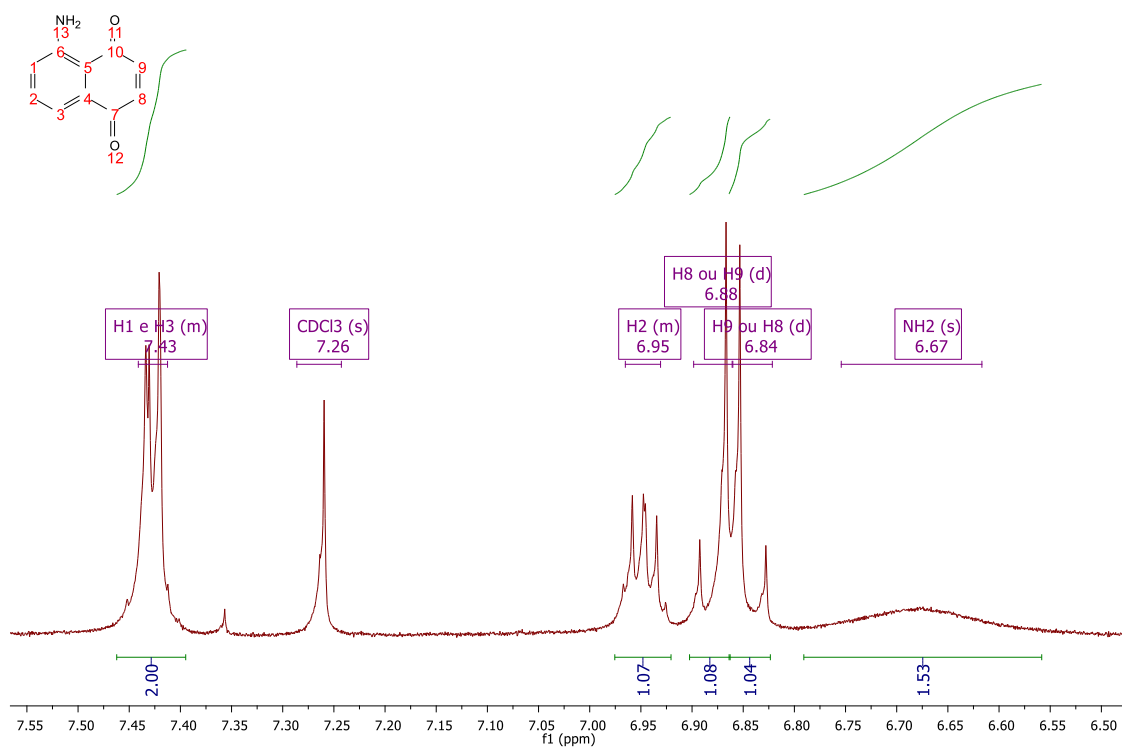
Por último, optou-se por uma metodologia em atmosfera inerte (entrada 4), a fim de retardar o processo de oxidação pelo ar e assim minimizar possíveis reações colaterais. Ao final da reação o produto bruto foi filtrado, lavado água e extraído no soxhlet utilizando 10% de diclorometano em éter de petróleo como solvente. Após extração o sólido obtido foi analisado por CG-EM (Figura 111), apresentando uma pureza de 90,74%.

Figura 111. Resultado da análise do CG-EM do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona **279**.



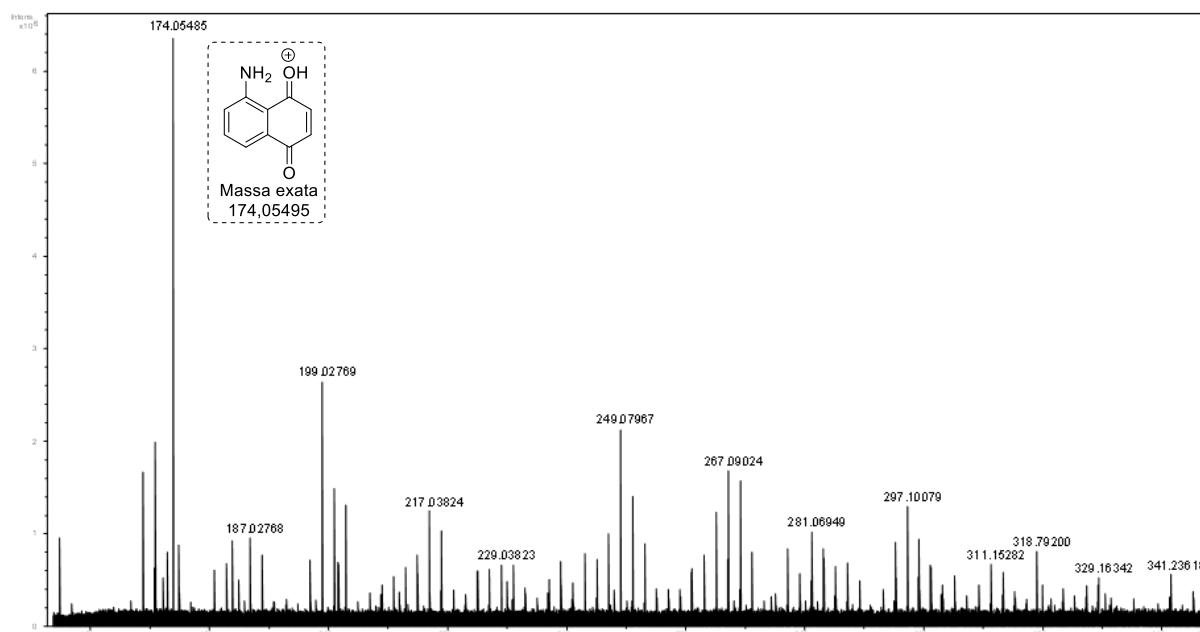
O espectro de infravermelho obtido para o composto **279** foi condizente com o reportado na literatura.^{97,98} Em 3431 e 3309 cm^{-1} as bandas referentes ao estiramento característico do grupo amina NH_2 , em 1669 cm^{-1} o estiramento das carbonilas da quinona e por fim, em 1597 cm^{-1} a banda da ligação C-C do anel aromático (Figura 112).

O espectro de RMN de ^1H do composto **279**, visto na Figura 113, também corroborou com o descrito na literatura.^{97,98} Observou-se na região aromática dois multipletos em 7,43 e 6,95 ppm, sendo o primeiro sinal dos hidrogênios 1 e 3, e o segundo do hidrogênio 2. Além disso, dois dubletos em 6,88 e 6,84 ppm, referente a H8 e H9, que acoplam entre si com $J = 10,2\text{ Hz}$. Por fim, um singlete alargado em 6,67 ppm dos hidrogênios lábeis do NH_2 .

Figura 112. Espectro de infravermelho do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona **279**.**Figura 113.** Espectro de RMN de ¹H do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona **279**.

O espectro de massas de alta resolução - ESI-(+) do composto **279** (Figura 114) mostra o íon molecular protonado $[C_{10}H_8NO_2]^+$ obtido com razão massa/carga 174,05485. Corroborando com o valor calculado de 174,05495 m/z e erro de - 0,57 ppm.

Figura 114. Espectro de Massas do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona **279**.



De posse da amina de interesse **279**, partiu-se para a última etapa da rota sintética proposta (vide Figura 106). O esquema reacional e os dados experimentais estão dispostos na Tabela 11.

Tabela 11. Dados experimentais da reação de Povarov a partir da 5-aminonaftaleno-1,4-diona **279**.

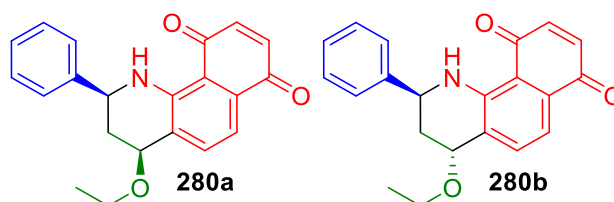
Entrada	Condições reacionais	Tempo (h)
1 ⁸²	5 mol% CAN, CH ₃ CN, t.a.	56
2 ¹⁰¹	5 mol% Yb(OTf) ₃ , CH ₃ CN, t.a.	48

Na primeira tentativa a metodologia escolhida foi de Sridharan e colaboradores,⁸² e a reação foi isolada após 56h, pois nenhuma mudança estava mais sendo observada, e o sólido formado foi filtrado e a água-mãe evaporada a pressão reduzida. O sólido filtrado era uma mistura dos materiais de partida e o obtido pela evaporação do solvente foi submetido a purificação em coluna cromatográfica utilizando 30% de hexano em diclorometano, mas por se tratar de uma mistura complexa não foi possível a purificação.

Com base no resultado obtido foi realizada uma nova tentativa (entrada 2) utilizando a metodologia de Kudale e colaboradores.¹⁰¹ Após 48h a reação foi isolada, pois a amina já havia sido quase completamente consumida e nenhuma alteração era observada. O aduto de Povarov **280** foi obtido após purificações subsequentes em cromatografia em placa preparativa, inicialmente utilizando diclorometano como eluente e em seguida 10% de tolueno em diclorometano.

Após isolado foi observado que o produto se tratava de uma mistura dos diastereoisômeros (Figura 115) como é possível constatar pela duplicidade dos sinais presentes nos espectros de RMN.

Figura 115. Diastereoisômeros do aduto de Povarov **280**.



A região aromática do espectro de RMN de ^1H do aduto **280** (Figura 116) mostra os sinais característicos da naftoquinona um dubleto em 7,09 ppm e um duplo dubleto em 7,55 ppm, referente aos hidrogênios 13 e 12, respectivamente, que acoplam com $J = 8,4$ Hz. Além disso, um dubleto em 7,31 ppm de H6 e um multipletto em 7,47-7,46 ppm de H1. Onde H12 e H1 acoplam entre si, como pode ser visto pelo espectro de COSY ^1H - ^1H (Figura 117). Ainda na região aromática, foi atribuído um multipletto na faixa de 6,92-6,78 ppm referente aos hidrogênios do anel fenila (H21-H25) proveniente do benzaldeído.

Na região alifática foi observado um dubleto em 1,41 ppm referente ao metil (H17) e um multipletto em 3,64-4,03 ppm do metileno (H16). Os demais sinais foram atribuídos aos hidrogênios do anel tetraidropiridina formado na reação, em 2,22 e 1,80-1,76 ppm.

estão os sinais de H9 que aparecem em ambientes químicos distintos, logo em sinais diferentes, e acoplam entre si, além de acoplar com os sinais em 4,88 ppm (H8) e 4,03-3,64 ppm (H10), como pode ser visto pelo espectro de COSY ^1H - ^1H (Figura 117). Além disso, na Figura 118 da expansão da região alifática do mapa de contorno COSY foi observado a duplicação dos sinais correlacionados.

Figura 116. Espectro de RMN de ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona **280**.

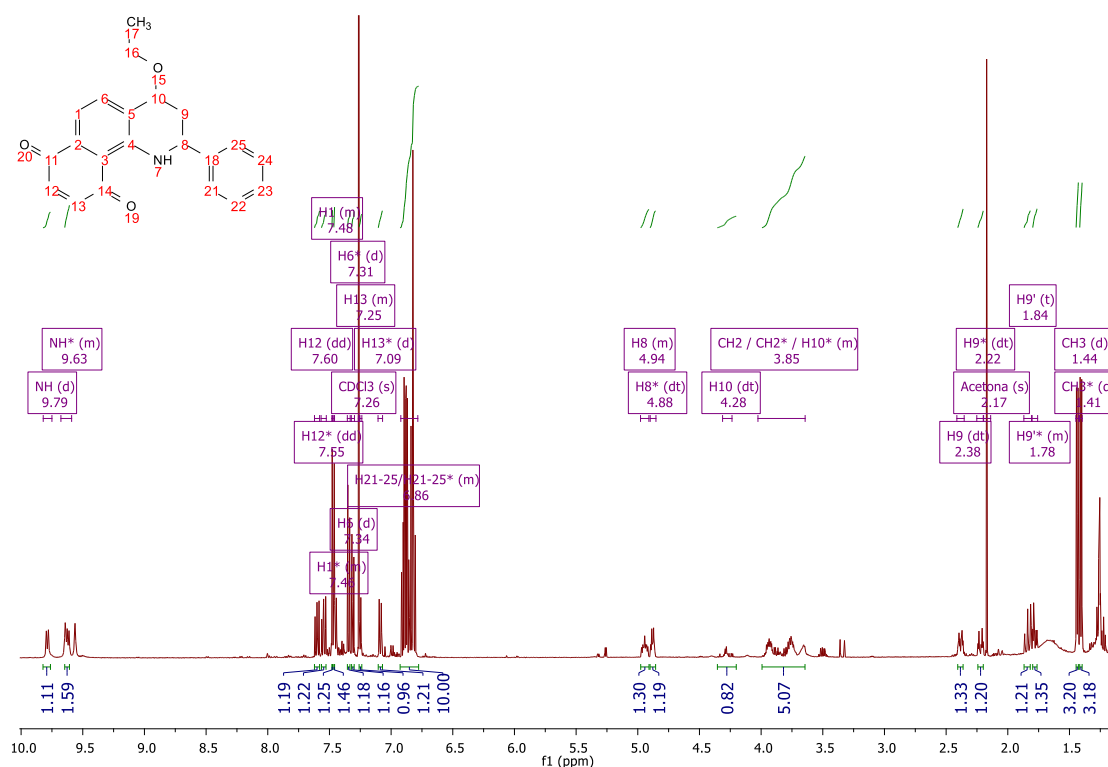


Figura 117. Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona **280**.

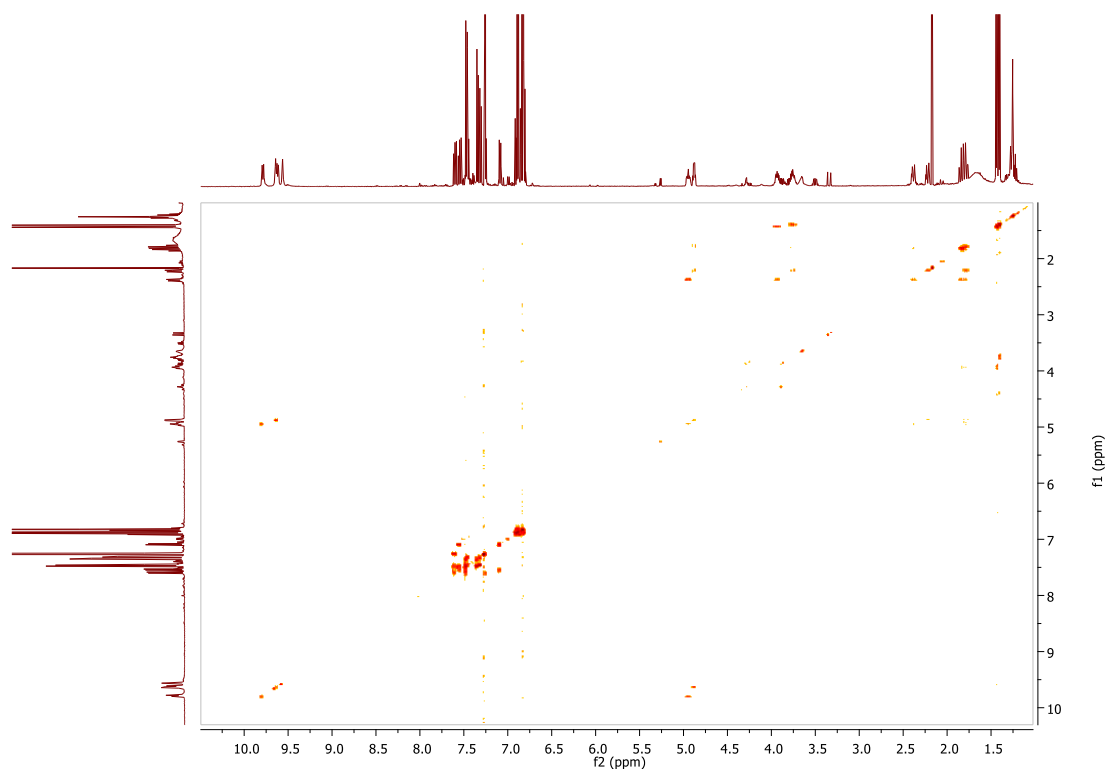
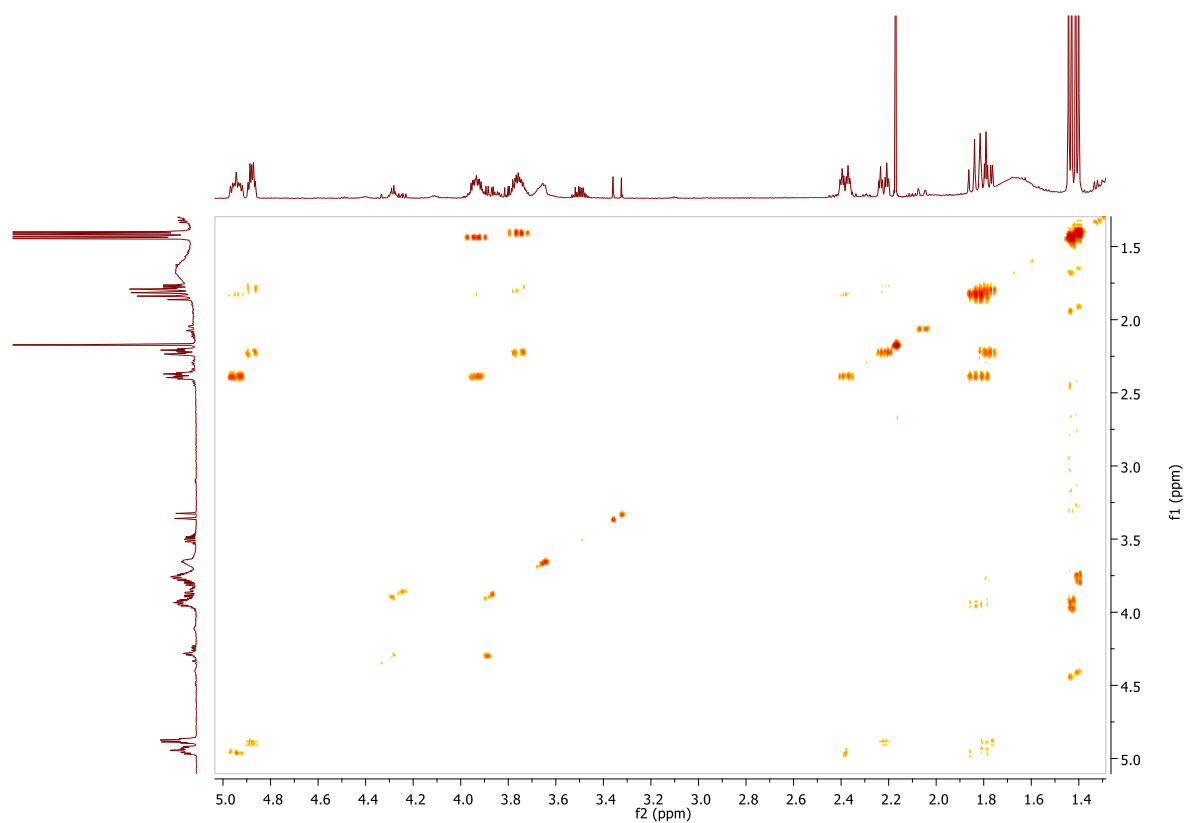


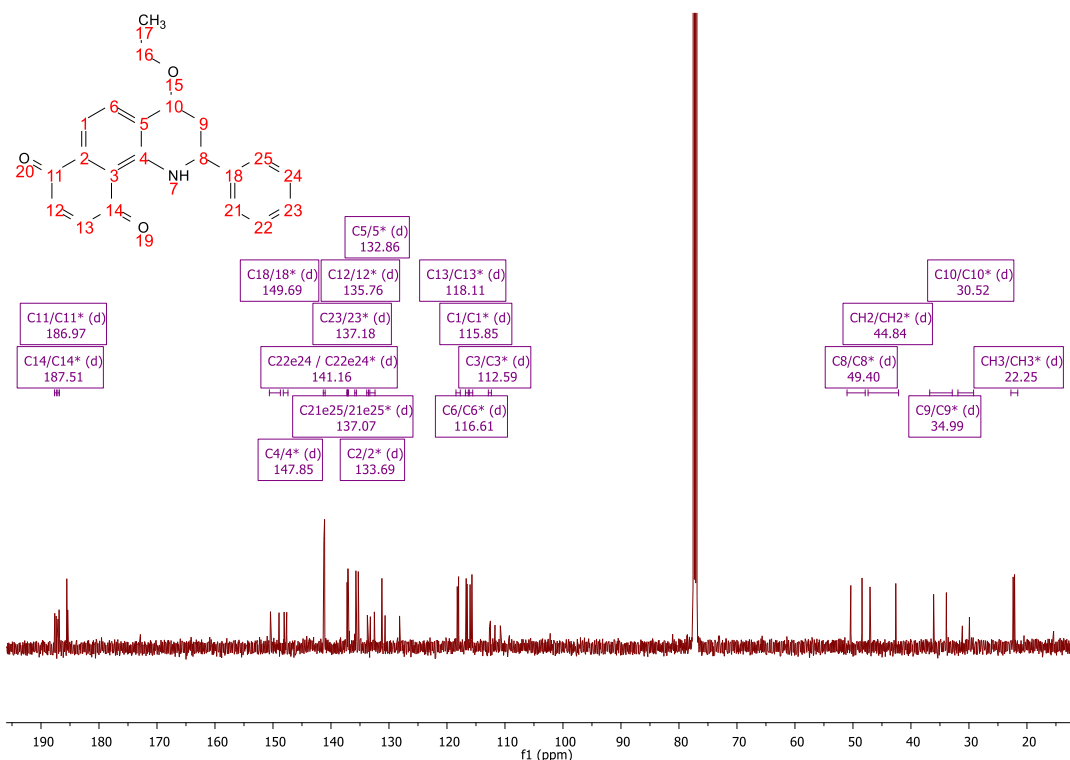
Figura 118. Expansão do espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona **280**.



No espectro de RMN de ^{13}C do composto **280** (Figura 119) os sinais aparecem como dubletos, pois estão duplicados, assim como nos demais espectros de RMN. Os sinais em 187,5 e 186,9 ppm foram atribuídos aos carbonos das carbonilas (C11 e C14) e na região aromática os sinais referentes ao anel naftoquinônico: 147,8 (C4); 135,7 (C12); 133,6 (C2); 132,8 (C5); 118,1 (C13); 116,6 (C6); 115,8 (C1) e 112,5 (C3) ppm e do fenil proveniente do benzaldeído: 149,6 (C18); 141,1 (C22 e C24); 137,1 (C23) e 137,0 (C21 e C25) ppm.

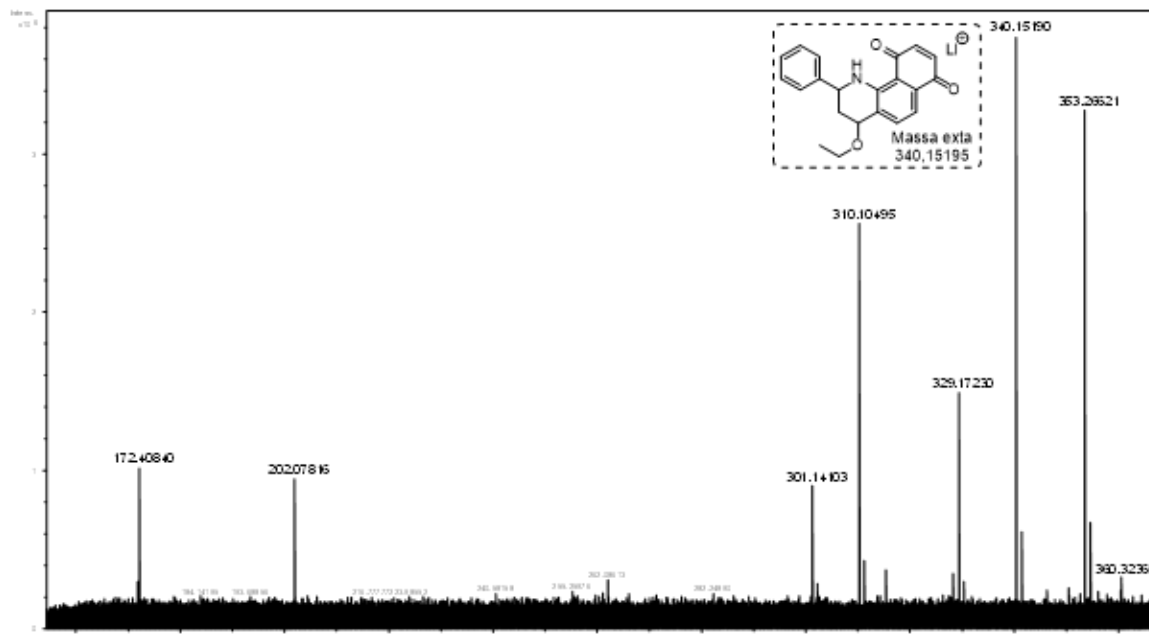
Por fim, na região alifática os sinais da tetraidropiridina: 49,4 (C8); 34,9 (C9) e 30,5 (C10) ppm e do grupo etoxido: 44,8 (C16) e 22,2 (C17) ppm.

Figura 119. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona **280**.



O espectro de massas do composto **280** foi obtido por elétron spray no modo positivo (Figura 120), onde observa-se o pico de razão massa/carga 340,15190 do íon molecular junto com o lítio $[\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{LiNO}_3]^+$, corroborando com o calculado 340,15190 m/z , com um erro de -0,14 ppm.

Figura 120. Espectro de Massas do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona **280**.



4.2. Estudo computacional

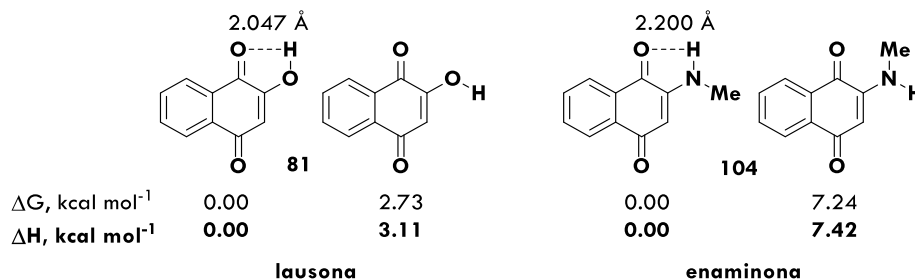
Após os resultados obtidos na reação de Povarov utilizando derivados da naftoquinona como olefina ativada, foi realizado um estudo computacional em parceria com o Laboratório Multiusuário de Química Computacional e Laboratório de Modelagem Molecular e Espectroscopia Computacional junto aos Professores Drs. Rodolfo Goetze Fiorot e José Walkimar de Mesquita Carneiro.

As reações de Mannich e Povarov podem ser realizadas de maneira multicomponente (partido do aldeído, amina e olefina ativada), mas o modelo escolhido, para realização dos cálculos, considera o íon imínio pré-formado.

O ácido de Brønsted empregado como catalisador e a enaminonaftoquinona derivada da 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85** com metilamina (2-(metilamino)naftalen-1,4-diona **104**), foram utilizados como abordagem pela simplicidade.

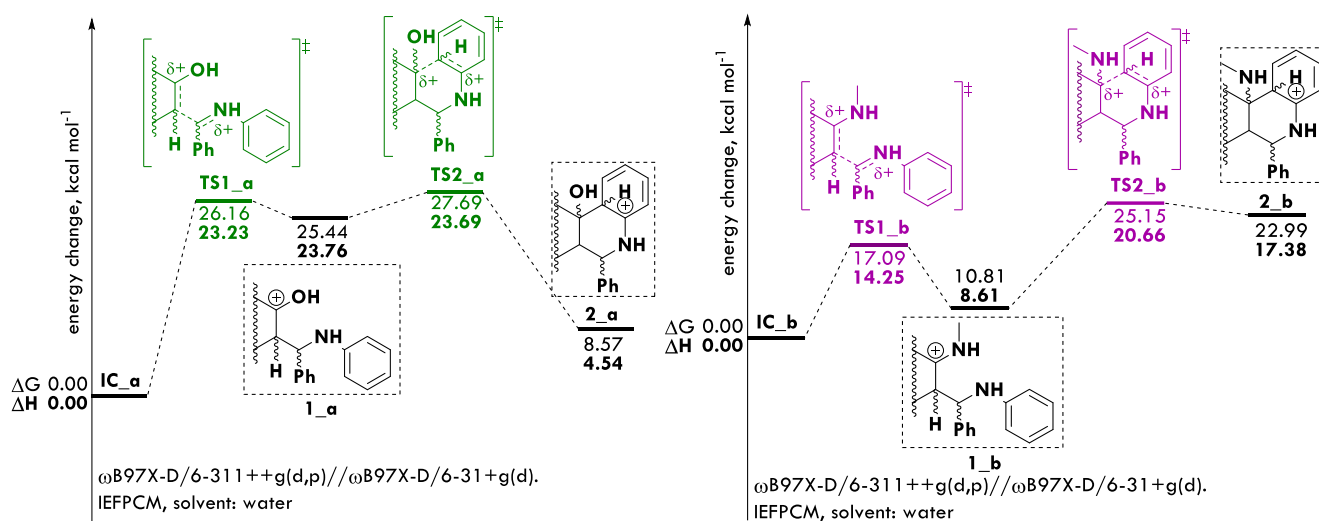
Primeiramente foi avaliado a estabilidade de diferentes conformêros da 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85** e da enaminonaftoquinona **108** (Figura 121). O mais estável apresentou respectivamente distâncias da ligação de hidrogênio intramolecular de 2,047 e 2,200 Å.¹⁰² Para os seguintes cálculos foram utilizadas as conformações mais estáveis.

Figura 121. Estabilidade relativa dos confôrmeros da enaminonaftoquinona e da lausona. Energia livre de Gibbs relativa a entalpia. Valores de energia em kcal mol⁻¹.



Em seguida a Figura 122 compara a mudança de energia dos mecanismos para o sistema com a 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85** (**índice_a**) e enaminonaftoquinona **108** (**índice_b**).

Figura 122. Mudança energética para os pontos estacionários relevantes dos caminhos reacionais analisados. Comparação entre reação com sistema com lausona e enaminonaftoquinona. Valores de energia em kcal mol⁻¹.



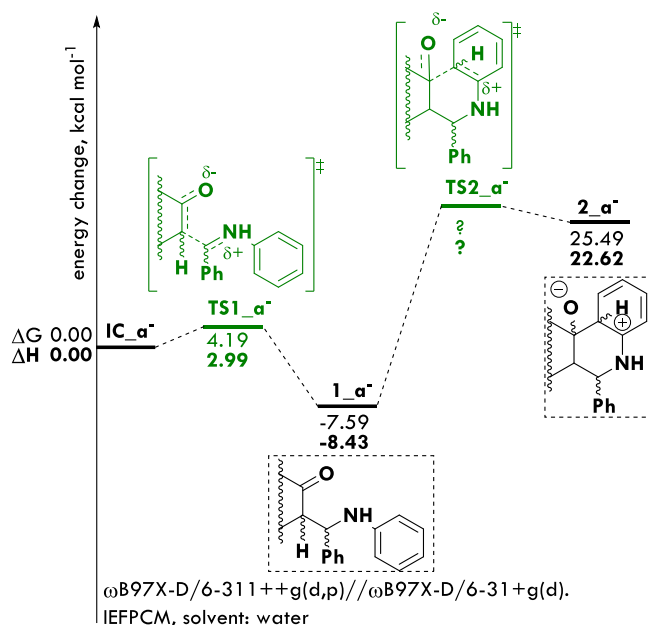
De acordo com os resultados, existe uma maior barreira para obtenção do intermediário **1_a** em comparação a **1_b**, sugerindo que a formação do aduto de Mannich seria mais lenta com a 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85** em relação a enaminonaftoquinonas **108**. Essa barreira energética de aproximadamente 26 Kcal.mol⁻¹ não reflete a obtenção experimental do aduto de Mannich em menos de 30 min a temperatura ambiente, como realizado pelo nosso grupo de pesquisa.⁸⁶

O processo de ciclização com a 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85** (**TS2_a**) tem uma baixa barreira associada, sugerindo que a formação de **2_a** deveria ocorrer

paralelamente à formação do aduto de Mannich, o que também não corrobora com os resultados experimentais (rendimentos de mais de 90 %).

Já para a reação com a enaminoaftoquinonas **108**, a etapa de ciclização (**TS2_b**) é acompanhada de um aumento considerável da energia do sistema, sugerindo que o aduto de Povarov dificilmente seria formado em detrimento do produto de Mannich. Para contornar a divergência entre os valores de energia calculados e os resultados experimentais para o mecanismo de Mannich com a 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85**, considerou-se a reação a partir do ânion lausonato e os resultados encontram-se na Figura 123.

Figura 123. Mudança energética associada à reação do imínio com lausonato. Valores de energia em kcal mol⁻¹.

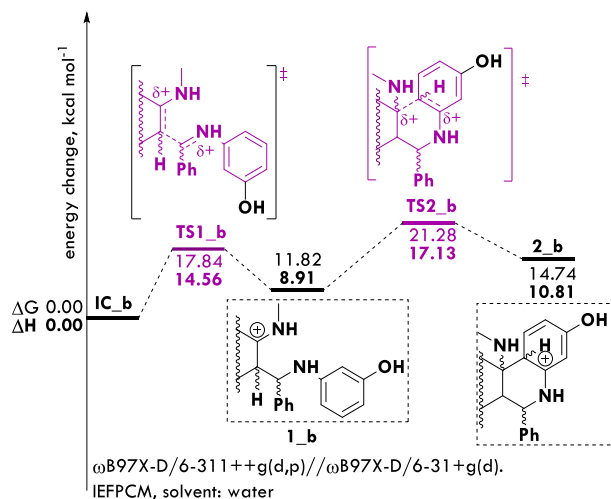


Lembrando que a reação é multicomponente, logo existe amina livre presente no meio para desprotonar a 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona **85**. Dessa forma, na formação do intermediário **1_a⁻** (aduto de Mannich) ocorre um decréscimo de energia e em contrapartida, observa-se que a formação do produto de Povarov é desfavorecido com relação a Mannich, corroborando assim com os resultados experimentais.⁸⁶

Na busca de favorecer a síntese do produto de Povarov, a partir da enaminoaftoquinona **108** como olefina ativada, desenhou-se uma proposta reacional utilizando uma amina aromática capaz de estabilizar a carga positiva no intermediário **2_b** e também no estado de transição envolvido na formação do heterociclo **TS2_b**.

A escolhida foi a 3-hidroxianilina. O grupamento hidroxila, por efeito de ressonância +R, deveria desempenhar esse papel (Figura 124).

Figura 124 - Mudança energética associada à reação da enaminonaftoquinona com a imina formada a partir da 3-hidroxianilina. Valores de energia em kcal mol⁻¹.



Comparando os resultados obtidos no sistema da enaminonaftoquinona **108** partindo da imina sem substituinte e com substituinte, a energia relativa do estado de transição para a ciclização (**TS2_b**) caiu de aproximadamente 4 Kcal.mol⁻¹. Entretanto, formação do produto da ciclização **2_b** continua endergônica, apesar da diminuição de cerca de 9 Kcal.mol⁻¹.

5. CONCLUSÕES

As tentativas da reação de Povarov multicomponente foram realizadas com três diferentes naftoquinonas substituídas na posição 2, como olefina, são elas: 2-(pirrolidin-1-il)naftalen-1,4-diona **109**, 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** e a 2-hidroxinaftalen-1,4-diona **85**.

A enaminonaftoquinona **109** testada provavelmente possui baixa nucleofilicidade frente a reação de Povarov, uma vez que a reação ocorreu como esperado na presença de éter etil vinílico como nucleófilo, mas não foi processada com a 2-amina-1,4- naftoquinona sugerida. Além disso, o seu emprego na reação de Mannich indicou que provavelmente a primeira etapa do mecanismo é um obstáculo para a obtenção do aduto de Povarov utilizando enaminonaftoquinonas como olefina ativada. Esses resultados corroboram com cálculos computacionais, onde a formação do intermediário de Mannich não é favorecida. A fim de aumentar a nucleofilicidade da olefina naftoquinônica, foram realizadas tentativas de proteção dos nucleófilos sugeridos para atuar na reação de Povarov.

Como alternativa ao uso das enaminonaftoquinas lançou-se mão da 2-metoxinaftalen-1,4-diona **107** e da 2-hidroxinaftalen-1,4-diona **85**. No entanto, em nenhum dos casos o aduto de Povarov foi obtido.

Diante dos insucessos em empregar o núcleo naftoquinônico como nucleófilo, racionalizou-se a naftoquinona como amina da reação. Para tal, sintetizou-se o precursor 5-aminonaftalen-1,4-diona **279** em duas etapas a partir da naftalen-1,4-diona **47**. Entretanto, após realizar a reação de Povarov nas metodologias propostas foram obtidas misturas complexas de difícil purificação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Muthukrishnan, I., Sridharan, V. & Menéndez, J. C. Progress in the Chemistry of Tetrahydroquinolines. *Chem. Rev.* **119**, 5057–5191 (2019).
2. Witherup, K. M. *et al.* Martinelline and Martinellic Acid, Novel G-Protein Linked Receptor Antagonists from the Tropical Plant *Martinella iquitosensis* (Bignoniaceae). *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 6682–6685 (1995).
3. Lovely, C. & Bararinarayana, V. Synthetic Studies Toward the Martinella Alkaloids. *Curr. Org. Chem.* **12**, 1431–1453 (2008).
4. Nyerges, M. Construction of pyrrolo[3,2-c]quinolines - Recent advances in the synthesis of the martinelline alkaloids. *Heterocycles* **63**, 1685–1712 (2004).
5. Jacquemond-Collet, I., Hannedouche, S., Fabre, N., Fourasté, I. & Moulis, C. Two tetrahydroquinoline alkaloids from *Galipea officinalis*. *Phytochemistry* **51**, 1167–1169 (1999).
6. Jacquemond-Collet, I. *et al.* Antiplasmodial and cytotoxic activity of galipinine and other tetrahydroquinolines from *Galipea officinalis*. *Planta Med.* **68**, 68–69 (2002).
7. Houghton, P. J., Woldemariam, T. Z., Watanabe, Y. & Yates, M. Activity against *Mycobacterium tuberculosis* of alkaloid constituents of *Angostura* bark, *Galipea officinalis*. *Planta Med.* **65**, 250–254 (1999).
8. Bedoya, L. M. *et al.* Quinoline-based compounds as modulators of HIV transcription through NF- κ B and Sp1 inhibition. *Antiviral Res.* **87**, 338–344 (2010).
9. Dhanapal, R., Perumal, P. T. & Sridhar, R. Synthesis of pyranoquinolines via imino Diels-Alder reaction: Comparison of antibacterial efficacy of chirally separated individual diastereomers. *Indian J. Chem. - Sect. B Org. Med. Chem.* **53**, 193–199 (2014).
10. Dhanapal, R., Perumal, P. T., Damodiran, M., Ramprasath, C. & Mathivanan, N. Synthesis of quinoline derivatives for fluorescent imaging certain bacteria. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **22**, 6494–6497 (2012).
11. Kantevari, S. *et al.* Synthesis and antitubercular evaluation of novel dibenzo[b,d]furan and 9-methyl-9H-carbazole derived hexahydro-2H-pyrano[3,2-c]quinolines via Povarov reaction. *Eur. J. Med. Chem.* **46**, 4827–4833 (2011).

12. Gutiérrez, M., Carmona, U., Vallejos, G. & Astudillo, L. Antifungal activity of tetrahydroquinolines against some phytopathogenic fungi. *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.* **67 C**, 551–556 (2012).
13. Romero Bohórquez, A. R., Kouznetsov, V. V. & Zacchino, S. A. Synthesis and in vitro evaluation of antifungal properties of some 4-aryl-3-methyl-1,2,3,4-tetrahydroquinolines derivatives. *Univ. Sci.* **20**, 177–189 (2015).
14. Fonseca-Berzal, C. *et al.* Selective activity of 2,4-diaryl-1,2,3,4-tetrahydroquinolines on *Trypanosoma cruzi* epimastigotes and amastigotes expressing β -galactosidase. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **23**, 4851–4856 (2013).
15. Muñoz, A., Sojo, F., Arenas, D. R. M., Kouznetsov, V. V. & Arvelo, F. Cytotoxic effects of new trans-2,4-diaryl-3-methyl-1,2,3,4-tetrahydroquinolines and their interaction with antitumoral drugs gemcitabine and paclitaxel on cellular lines of human breast cancer. *Chem. Biol. Interact.* **189**, 215–221 (2011).
16. Kouznetsov, V. V., Merchan-Arenas, D. R., Tangarife-Castaño, V., Correa-Royero, J. & Betancur-Galvis, L. Synthesis and cytotoxic evaluation of novel 2-aryl-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methyl-6,7-methylenedioxy-1,2,3,4-tetrahydroquinolines, podophyllotoxin-like molecules. *Med. Chem. Res.* **25**, 429–437 (2016).
17. Povarov, L.S.; Grigos, V.I.; Mikhailov, B. M. Reaction of benzylideneaniline with some unsaturated compounds. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Otd. Khim. Nauk* **11**, 2039–2041 (1963).
18. Povarov, L.S.; Mikhailov, B. M. A new type of diene condensation reaction. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Otd. Khim. Nauk* **5**, 953–956 (1963).
19. Fochi, M., Caruana, L. & Bernardi, L. Catalytic asymmetric Aza-Diels-Alder reactions: The Povarov cycloaddition reaction. *Synth.* **46**, 135–157 (2014).
20. Forero, J. S. B., Jones Junior, J. & Silva, F. M. da. The Povarov reaction as a versatile strategy for the preparation 1,2,3,4-tetrahydroquinoline derivatives: An overview. *Curr. Org. Synth.* **13**, 157–175 (2016).
21. Kobayashi, S.; Ishitani, H.; Nagayama, S. Lanthanide Triflate Catalyzed Imino Diels-Alder Reactions; Convenient Syntheses of Pyridine and Quinoline Derivatives. *Synth.* **9**, 1195–1202 (1995).
22. Ribelles, P., Sridharan, V., Villacampa, M., Ramos, M. T. & Menéndez, J. C.

- Diastereoselective, multicomponent access to trans-2-aryl-4-arylamino-1,2,3,4-tetrahydroquinolines via an AA'BC sequential four-component reaction and their application to 2-arylquinoline synthesis. *Org. Biomol. Chem.* **11**, 569–579 (2013).
23. Wang, S. J., Wang, Z., Tang, Y., Chen, J. & Zhou, L. Asymmetric synthesis of quinoline-naphthalene atropisomers by central-to-axial chirality conversion. *Org. Lett.* **22**, 8894–8898 (2020).
 24. Ruth, T. *et al.* Tetrahydroquinolines by the multicomponent Povarov reaction in water: calix[n]arene-catalysed cascade process and mechanistic insights. *Org. Biomol. Chem.* **17**, 2913–2922 (2019).
 25. Cai, J., Li, F., Deng, G. J., Ji, X. & Huang, H. The cyclopropylimine rearrangement/Povarov reaction cascade for the assembly of pyrrolo[3,2-*c*]quinoline derivatives. *Green Chem.* **18**, 3503–3506 (2016).
 26. Abranches, P. A da S.; Paiva, W. F.; Fátima, Â. de; Martins, F. T.; Fernandes, S. A. Calix[n]arene-Catalyzed Three-Component Povarov Reaction: Microwave-Assisted Synthesis of Julolidines and Mechanistic Insights. *J. Org. Chem.* **83**, 1761–1771 (2018).
 27. Povarov, L. S. α,β -Unsaturated ethers and their analogues in reactions of diene synthesis. *Russ. Chem. Rev.* **36**, 656–670 (1967).
 28. Bello, D., Ramon, R. & Lavilla, R. Mechanistic Variations of the Povarov Multicomponent Reaction and Related Processes. *Curr. Org. Chem.* **14**, 332–356 (2010).
 29. Sridharan, V., Suryavanshi, P. A. & Menendez, J. C. Advances in the Chemistry of Tetrahydroquinolines. *Chem. Rev.* **111**, 7157–7259 (2011).
 30. Palacios, F. *et al.* Lewis acid activated aza-diels-alder reaction of N-(3-Pyridyl)aldehydes: An experimental and computational study. *European J. Org. Chem.* 2091–2099 (2010) doi:10.1002/ejoc.200901325.
 31. Mahi, M. A., Mekelleche, S. M., Benchouk, W., Aurell, M. J. & Domingo, L. R. Theoretical study of the regio- and stereoselectivity of the intramolecular Povarov reactions yielding 5H-chromeno[2,3-*c*]acridine derivatives. *RSC Adv.* **6**, 15759–15769 (2016).
 32. Hermitage, S., Jay, D. A. & Whiting, A. Evidence for the non-concerted [4+2]-cycloaddition of N-aryl imines when acting as both dienophiles and dienes under Lewis acid-catalysed conditions. *Tetrahedron Lett.* **43**, 9633–9636 (2002).

33. Alves, M. J., Azoia, N. G. & Fortes, A. G. Regio- and stereo-selective aza-Diels-Alder reaction of ethyl glyoxylate 4-methoxyphenylimine with 1,3-dienes in the presence of BF₃·Et₂O. Evidence for a non-concerted mechanism. *Tetrahedron* **63**, 727–734 (2007).
34. Hermitage, S. *et al.* OBC. 2451–2460 (2004).
35. Fochi, M., Caruana, L. & Bernardi, L. Catalytic Asymmetric Aza-Diels – Alder Reactions: The Povarov Cycloaddition Reaction. *Synthesis (Stuttg)*. **46**, 135–157 (2014).
36. Jiang, H.-J., Liu, K., Wang, J., Li, N. & Yu, J. Brønsted acids of anionic chiral Co(III) complexes as catalysts for the stereoselective synthesis of cis-4-aminofuranobenzopyrans. *Org. Biomol. Chem.* **15**, 9077–9080 (2017).
37. Domingo, L. R. ., Aurell, M. J. ., Sáez, J. A. . & Mekelleche, S. M. Understanding the mechanism of the Povarov. *RSC Adv.* **4**, 25268–25278 (2014).
38. Ríos-Gutiérrez, M. ., Layeb, H. . & Domingo, L. R. A DFT study of the mechanism of Brønsted acid catalysed Povarov reactions. *Tetrahedron* **71**, 9339–9345 (2015).
39. GOEBEL, G. L. *et al.* Small molecules with tetrahydroquinoline-containing Povarov scaffolds as inhibitors disrupting the Protein–RNA interaction of LIN28–let-7. *Eur. J. Med. Chem.* **228**, 114014 (2022).
40. Dayal, N., Wang, M. & Sintim, H. O. HSD1787, a Tetrahydro-3 H-Pyrazolo[4,3-f]Quinoline compound synthesized via povarov reaction, potently inhibits proliferation of cancer cell lines at nanomolar concentrations. *ACS Omega* **5**, 23799–23807 (2020).
41. Saranya, S., Baiju, T. V., Gopalan, G. & Radhakrishnan, K. V. Lewis acid catalyzed povarov reaction of pentafulvenes and spiro[2,4]-hepta-[4,6]-diene: An efficient access to cyclopentene fused quinolines. *Synth. Commun.* **48**, 816–829 (2018).
42. Islam, K., Das, D. K., Akram, E. & Khan, A. T. Exploration of C5-C6-Unsubstituted 1,4-Dihydropyridines for the Construction of exo -Hexahydro-1 H -chromeno[3,4- h][1,6]naphthyridine-3-carboxylates Using a Stereoselective Povarov Reaction. *Synth.* **47**, 2745–2755 (2015).
43. MAUJEAN, T., CHATAIGNER, I., GIRARD, N., GULEA, M. & BONNET, D. Endocyclic Enamides Derived from Aza-Diketopiperazines as Olefin Partners in

- Povarov Reaction: An Access to Tetracyclic N-Heterocycles. *European J. Org. Chem.* **2020**, 7385–7395 (2020).
44. Soni, R. & Soman, S. S. Metal Free Synthesis of Coumarin Containing Hetero[n]helicene like Molecules with TICT and AIE Properties. *Asian J. Org. Chem.* **11**, 3–12 (2022).
 45. Alonso, C. *et al.* Synthesis and biological evaluation of indeno[1,5]naphthyridines as topoisomerase i (TopI) inhibitors with antiproliferative activity. *Eur. J. Med. Chem.* **115**, 179–190 (2016).
 46. SRIDHARAN, V., AVENDAÑO, C. & MENÉNDEZ, J. C. Convenient, two-step synthesis of 2-styrylquinolines: an application of the CAN-catalyzed vinylogous type-II Povarov reaction. *Tetrahedron* **65**, 2087–2096 (2009).
 47. Vinylog, C., Avendaño, C. & Menéndez, J. C. CAN-Catalyzed Vinylogous Povarov Reactions: The First Three-Component Synthesis of 2-Functionalized Tetrahydroquinolines from Anilines, Cinnamaldehyde and Vinyl Ethers. *Synlett* **7**, 1079–1082 (2007).
 48. GOLI, N. *et al.* Expanding the tetrahydroquinoline pharmacophore. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **27**, 1714–1720 (2017).
 49. GOLI, N. *et al.* Synthetic Strategy toward the Pentacyclic Core of Melodinus Alkaloids. *J. Org. Chem.* **83**, 2244–2249 (2018).
 50. RAI, M., JADHAV, S. & FAROOQUI, M. Sn-PILC: A novel efficient and recyclable catalyst for one-pot three component Povarov's inverse-electron-demand hetero Diels-Alder reaction for a facile synthesis of tetrahydropyranoquinoline derivatives under neat conditions. *Orbital - Electron. J. Chem.* **8**, 149–153 (2016).
 51. CHEN, C. *et al.* Synthesis and in vitro evaluation of 4-substituted furano[3,2-c] tetrahydroquinolines as potential anti-cancer agents. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **31**, 853–858 (2016).
 52. GUO, Q. *et al.* Efficient Synthesis of Tetrahydroquinolines from the Reaction of Aldehyde, Aniline, and Alkene under the In Situ Redox of SnCl₂ and FeCl₃. *J. Heterocycl. Chem.* **51**, 1100–1105 (2014).
 53. TOLSTIKOV, A. G., SAVCHENKO, R. G., LUKINA, E. S., LIMANTSEVA, R. M. & ODINOKOV, V. N. Synthesis of 6-aryl-6,6a,7,9a-tetrahydro-5H-cyclopenta[c]-1,7- and -1,8-phenanthrolines. *Russ. Chem. Bull. Int. Ed.* **63**, 2077–2080 (2014).

54. BROWN, C. E., MCNULTY, J., BORDÓN, C., YOLKEN, R. & JONES-BRANDO, L. Enol ethers as carbonyl surrogates in a modification of the Povarov synthesis of 3-aryl quinolines and their anti-Toxoplasma activity. *Org. Biomol. Chem.* **14**, 5951–5955 (2016).
55. BENMEDDAH, A. *et al.* First Examples of Povarov Reaction of Cyclopentadienones. *Helv. Chim. Acta* **101**, 1–9 (2018).
56. Tolstikov, A. G. *et al.* The Povarov reaction of cyclopentadiene with imines from methyl 12-amino-dehydroabietate. *Heteroat. Chem.* **16**, 605–612 (2005).
57. Mayekar, Narayan V.; Nayak, S. K. . C. TiCl₃ as a New Catalyst for the Imino Diels-Alder Reaction. *Nat. Prod. Commun.* **1**, 767–771 (2006).
58. Legros, J., Crousse, B., Ourévitch, M. & Bonnet-Delpon, D. Facile synthesis of tetrahydroquinolines and julolidines through multicomponent reaction. *Synlett* 1899–1902 (2006) doi:10.1055/s-2006-947360.
59. Kouznetsov, V. V., Bohórquez, A. R. R. & Stashenko, E. E. Three-component imino Diels-Alder reaction with essential oil and seeds of anise: generation of new tetrahydroquinolines. *Tetrahedron Lett.* **48**, 8855–8860 (2007).
60. Vicente-García, E., Ramón, R. & Lavilla, R. New heterocyclic inputs for the povarov multicomponent reaction. *Synthesis (Stuttg)*. 2237–2246 (2011) doi:10.1055/s-0030-1260062.
61. Chen, C. H., Yellol, G. S., Lin, P. T. & Sun, C. M. Base-catalyzed povarov reaction: An unusual [1,3] sigmatropic rearrangement to dihydropyrimidobenzimidazoles. *Org. Lett.* **13**, 5120–5123 (2011).
62. Kouznetsov, V. V., Meléndez Gómez, C. M., Rojas Ruíz, F. A. & Del Olmo, E. Simple entry to new 2-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline and 2,3-dialkylquinoline derivatives using BiCl₃-catalyzed three component reactions of anilines and aliphatic aldehydes in the presence (or lack) of N-vinyl amides. *Tetrahedron Lett.* **53**, 3115–3118 (2012).
63. Dagousset, G., Retailleau, P., Masson, G. & Zhu, J. Chiral phosphoric acid-catalyzed enantioselective three-component Povarov reaction using cyclic enethioureas as dienophiles: Stereocontrolled access to enantioenriched hexahydropyrroloquinolines. *Chem. - A Eur. J.* **18**, 5869–5873 (2012).
64. Shi, F. *et al.* An asymmetric organocatalytic povarov reaction with 2-hydroxystyrenes. *J. Org. Chem.* **77**, 6970–6979 (2012).

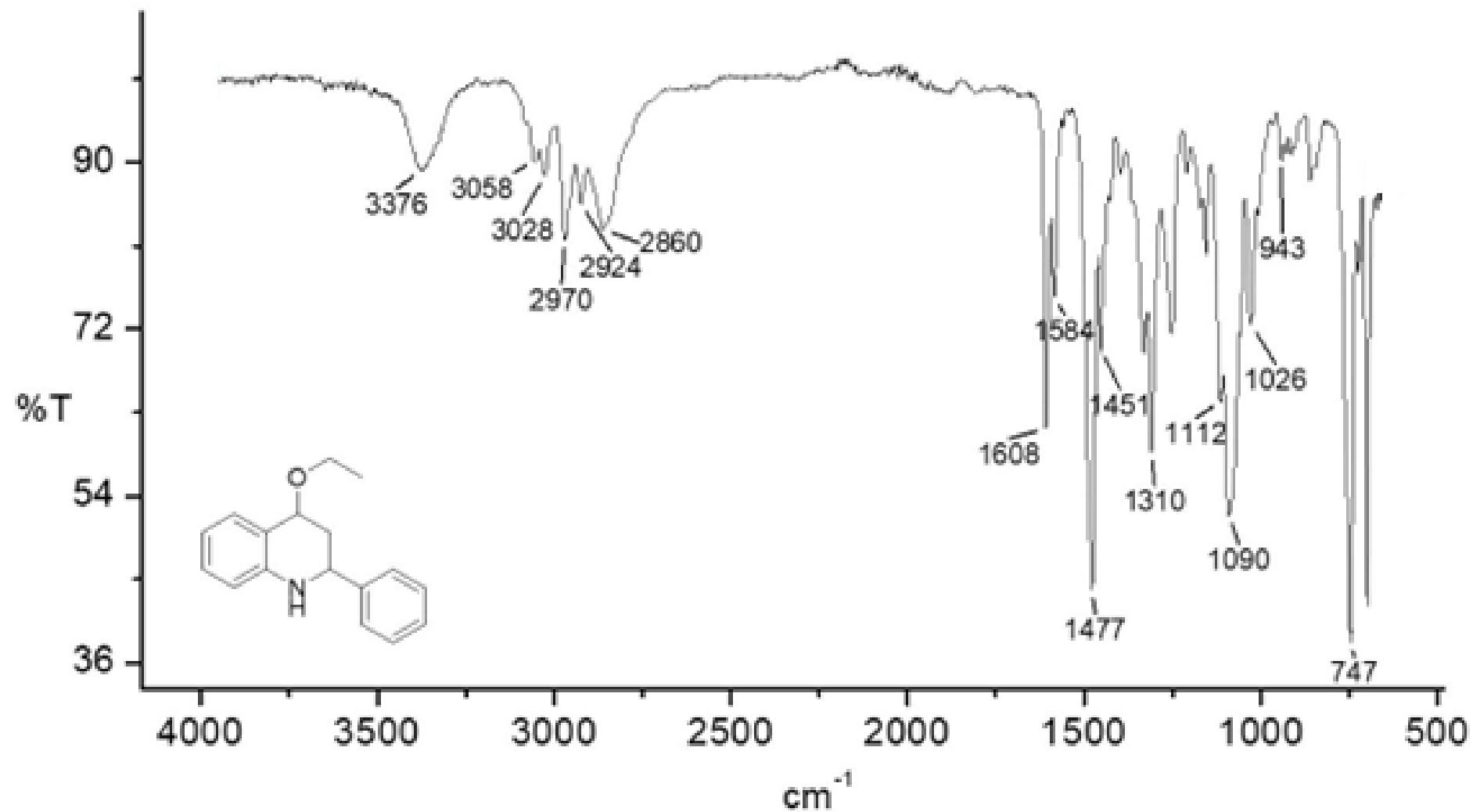
65. Min, C., Mittal, N., Sun, D. X. & Seidel, D. Conjugate-base-stabilized brønsted acids as asymmetric catalysts: Enantioselective povarov reactions with secondary aromatic amines. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **52**, 14084–14088 (2013).
66. Zanwar, M. R., Gawande, S. D., Kavala, V., Kuo, C. W. & Yao, C. F. Iron(III) chloride catalyzed synthesis of highly substituted indolyl-tetrahydroquinoline derivatives by using indolynitroalkene as dienophiles and its application to the synthesis of indolo-benzonaphthyridine derivatives. *Adv. Synth. Catal.* **356**, 3849–3860 (2014).
67. Brioché, J. *et al.* Chiral phosphoric acid-catalyzed enantioselective three-component aza-diels-alder reactions of aminopyrroles and aminopyrazoles. *Adv. Synth. Catal.* **356**, 1719–1724 (2014).
68. Di Pietro, O. *et al.* 1,2,3,4-Tetrahydrobenzo[h][1,6]naphthyridines as a new family of potent peripheral-to-midgorge-site inhibitors of acetylcholinesterase: Synthesis, pharmacological evaluation and mechanistic studies. *Eur. J. Med. Chem.* **73**, 141–152 (2014).
69. Luo, H. X., Niu, Y. H., Cao, X. P. & Ye, X. S. Cyclopropenes for the Synthesis of Cyclopropane-Fused Dihydroquinolines and Benzazepines. *Adv. Synth. Catal.* **357**, 2893–2902 (2015).
70. Dai, W., Jiang, X., Tao, J. & Shi, F. Application of 3 - Methyl-2-vinylindoles in Catalytic Asymmetric Povarov Reaction: Diastereo- and Enantioselective Synthesis of Indole-Derived Tetrahydroquinolines. *J. Chem. Phys.* **81**, 185–192 (2016).
71. Cerra, B. *et al.* Exploiting Chemical Toolboxes for the Expedited Generation of Tetracyclic Quinolines as a Novel Class of PXR Agonists. *ACS Med. Chem. Lett.* **10**, 677–681 (2019).
72. Viglianisi, C. *et al.* Synthesis of Heterohelices by a Catalytic Multi-Component Povarov Reaction. *European J. Org. Chem.* 164–167 (2019) doi:10.1002/ejoc.201801489.
73. Braga, I. B. *et al.* Anise Essential Oil as a Sustainable Substrate in the Multicomponent Double Povarov Reaction for Julolidine Synthesis. *J. Org. Chem.* **85**, 15622–15630 (2020).
74. Kazancioglu, M. Z., Quirion, K., Wipf, P. & Skoda, E. M. Enantioselective synthesis and selective functionalization of 4-aminotetrahydroquinolines as

- novel GLP-1 secretagogues. *Chirality* **34**, 521–536 (2021).
75. Armarego, W. L. F; Chai, C. L. *Purification of laboratory chemicals*. (2009).
 76. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Had, and D. J. F. Gaussian 09. (2009).
 77. Chai, J. & Martin, H. Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom – atom dispersion corrections. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10**, 6615–6620 (2008).
 78. You, A., Be, M. A. Y. & In, I. Self-consistent molecular orbital methods . XX . A basis set for correlated wave functions. *J. Chem. Phys.* **72**, 650–654 (1980).
 79. Cancès, E., Mennucci, B. & Tomasi, J. A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics. *J. Chem. Phys.* **107**, 3032–3041 (1997).
 80. Mennucci, B., Cancès, E. & Tomasi, J. Evaluation of Solvent Effects in Isotropic and Anisotropic Dielectrics and in Ionic Solutions with a Unified Integral Equation Method: Theoretical Bases , Computational Implementation , and Numerical Applications. *J. Phys. Chem. B* **101**, 10506–10517 (1997).
 81. Miertus, S., Scrocco, E. & Tomasi, J. Electrostatic Interaction of a Solute With a Continuum. a Direct Utilization of AB Initio Molecular Potentials for the Prediction of Solvent Effects. *Chem. Phys.* **55**, 117–129 (1981).
 82. Sridharan, V., Avendaño, C. & Menéndez, J. C. New findings on the cerium(IV) ammonium nitrate catalyzed Povarov reaction: Stereoselective synthesis of 4-alkoxy-2-aryl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline derivatives. *Synthesis (Stuttg)*. 1039–1044 (2008) doi:10.1055/s-2008-1032126.
 83. Li, Y., Cao, X., Liu, Y. & Wan, J.-P. Regioselective three-component synthesis of 2,3-disubstituted quinolines via the enaminone modified Povarov reaction. *Org. Biomol. Chem.* **15**, 9585–9589 (2017).
 84. Borel, C. R., Barbosa, L. C. A., Maltha, C. R. Á. & Fernandes, S. A. A facile one-pot synthesis of 2-(2-pyridyl)quinolines via Povarov reaction. *Tetrahedron Lett.* **56**, 662–665 (2015).
 85. Lin, W. C. & Yang, D. Y. Visible light photoredox catalysis: Synthesis of indazolo[2,3-a]quinolines from 2-(2-nitrophenyl)-1,2,3,4-tetrahydroquinolines.

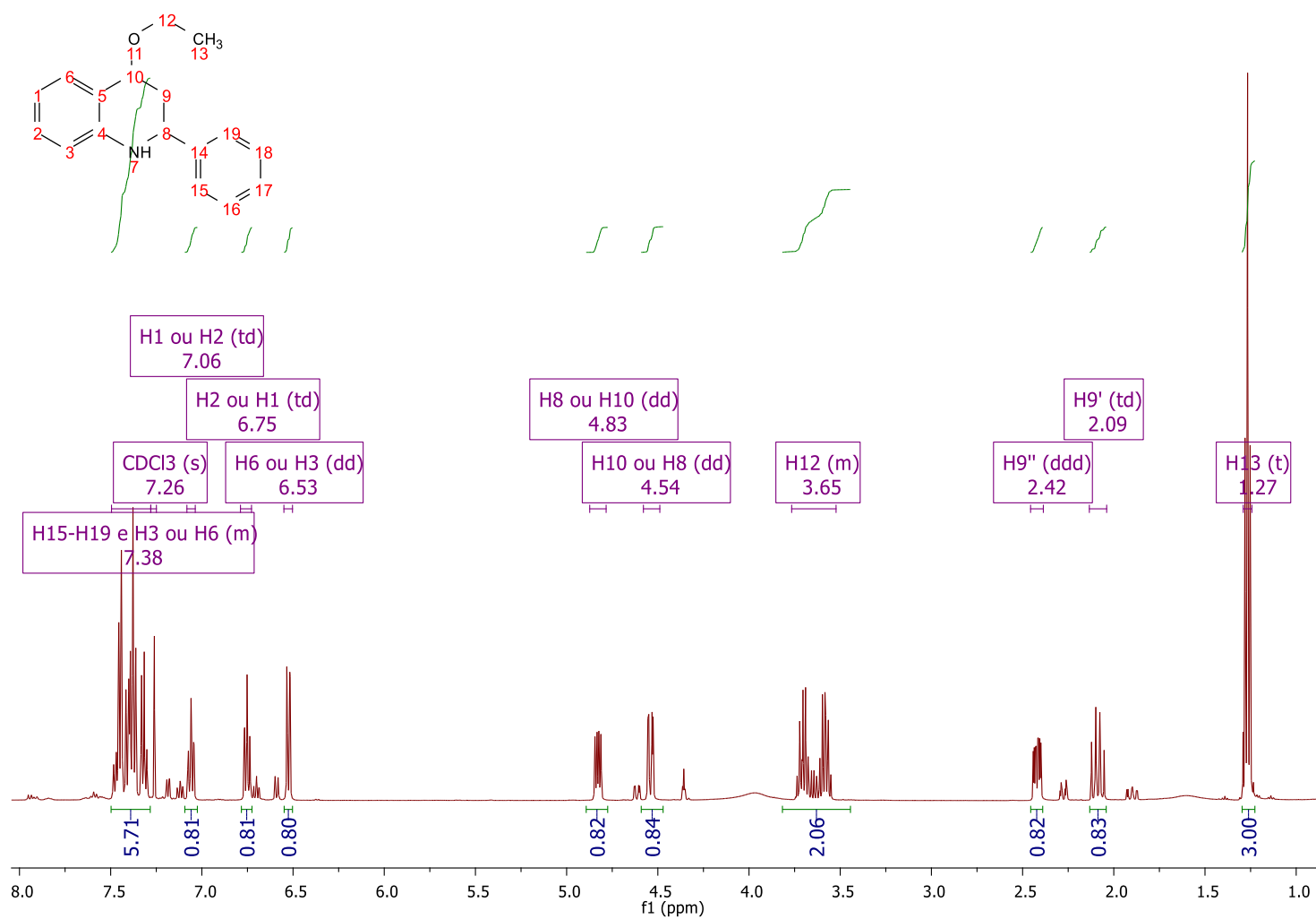
- Org. Lett.* **15**, 4862–4865 (2013).
86. Fiorot, R. G. *et al.* A simple and convenient method for synthesis of new aminonaphthoquinones derived from lawsone by catalytic multicomponent Mannich reaction. *Tetrahedron Lett.* **55**, 4373–4377 (2014).
 87. Greene, T. W. & Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*. *Protective Groups in Organic Synthesis* vol. 9 (1999).
 88. Leinweber, D. & Butenschön, H. A New and Convenient Synthesis of 1,2-Dioxobenzocyclobutene via Photodecarbonylation. *Tetrahedron Lett.* **38**, 6385–6386 (1997).
 89. Almog, J., Stepanov, N. & Dubnikova, F. Protection of the carbonyl groups in 1,2-indanedione: propellane versus acetal formation. *Tetrahedron Lett.* **49**, 1870–1876 (2008).
 90. Leinweber, D., Weidner, I., Wilhelm, R., Wartchow, R. & Butenschön, H. Synthesis of enantiopure tricarbonyl(indan-1,2-dione)chromium. *European J. Org. Chem.* 5224–5235 (2005) doi:10.1002/ejoc.200500527.
 91. Smith, M. B. *ORGANIC SYNTHESIS*. (Elsevier, 1946).
 92. Delarmelinaa, M. *et al.* Synthesis, Antitumor Activity and Docking of 2,3-(Substituted)-1,4-Naphthoquinone Derivatives Containing Nitrogen, Oxygen and Sulfur. *J. Braz. Chem. Soc.* **26**, 1804–1816 (2015).
 93. Bonifazi, E. L. *et al.* Antiproliferative activity of synthetic naphthoquinones related to lapachol. First synthesis of 5-hydroxylapachol. *Bioorganic Med. Chem.* **18**, 2621–2630 (2010).
 94. Mlynarski, J. *Chiral Lewis Acids in Organic Synthesis*. (Wiley-VCH, 2017).
 95. Chen, Xu-Ling; Dong, Yu; He, Shuai; Zhang, Rui; Zhang, Hua; Tang, Lei; Zhang, Xiao-Mei; Wang, J.-Y. A One-Pot Approach to 2- (N-Substituted Amino) -1 , 4-naphthoqui- nones with Use of Nitro Compounds and 1 , 4-Naphthoquinones in Water. *Synlett* **30**, 615–619 (2019).
 96. Maugel, N. & Snider, B. B. Efficient synthesis of the tetracyclic aminoquinone moiety of marmycin A. *Org. Lett.* **11**, 4926–4929 (2009).
 97. IVASHKINA, N. V., ROMANOV, V. S., MOROZ, A. A. & SHVARTSBERG, M. S. 5-Arylethynyl-1,4-Naphthoquinones. *Bull. Acad. Sci. USSR Div. Chem. Sci.* **33**, 2345–2348 (1984).
 98. LI, H., LIU, R., JI, Y. & WANG, Y. A new method for the synthesis of juglone. *J.*

- Chem. Pharm. Res.* **6**, 72–76 (2014).
99. Jardim, G. A. M. *et al.* Rhodium-catalyzed C-H bond activation for the synthesis of quinonoid compounds: Significant Anti-Trypanosoma cruzi activities and electrochemical studies of functionalized quinones. *Eur. J. Med. Chem.* **136**, 406–419 (2017).
100. SHVARTSBERG, M. S., KOLODINA, E. A., LEBEDEVA, N. I. & FEDENOK, L. G. Vicinal acetylenic derivatives of 2-amino-1,4-naphthoquinone as key precursors of heterocyclic quinones. *Russ. Chem. Bull.* **61**, 582–588 (2012).
101. KUDALE, A. A., KENDALL, J., MILLER, D. O., COLLINS, J. L. & BODWELL, G. J. Povarov reactions involving 3-aminocoumarins: Synthesis of 1,2,3,4-tetrahydropyrido[2,3-c]coumarins and pyrido[2,3-c]coumarins. *J. Org. Chem.* **73**, 8437–8447 (2008).
102. ROZAS, I., ALKORTA, I., ELGUERO, J. Intramolecular Hydrogen Bonds in *ortho*-Substituted Hydroxybenzenes and in 8-Substituted 1-Hydroxynaphthalenes: Can a Methyl Group Be an Acceptor of Hydrogen Bonds? *J. Phys. Chem. A.* **105**, 10462–10467 (2001).

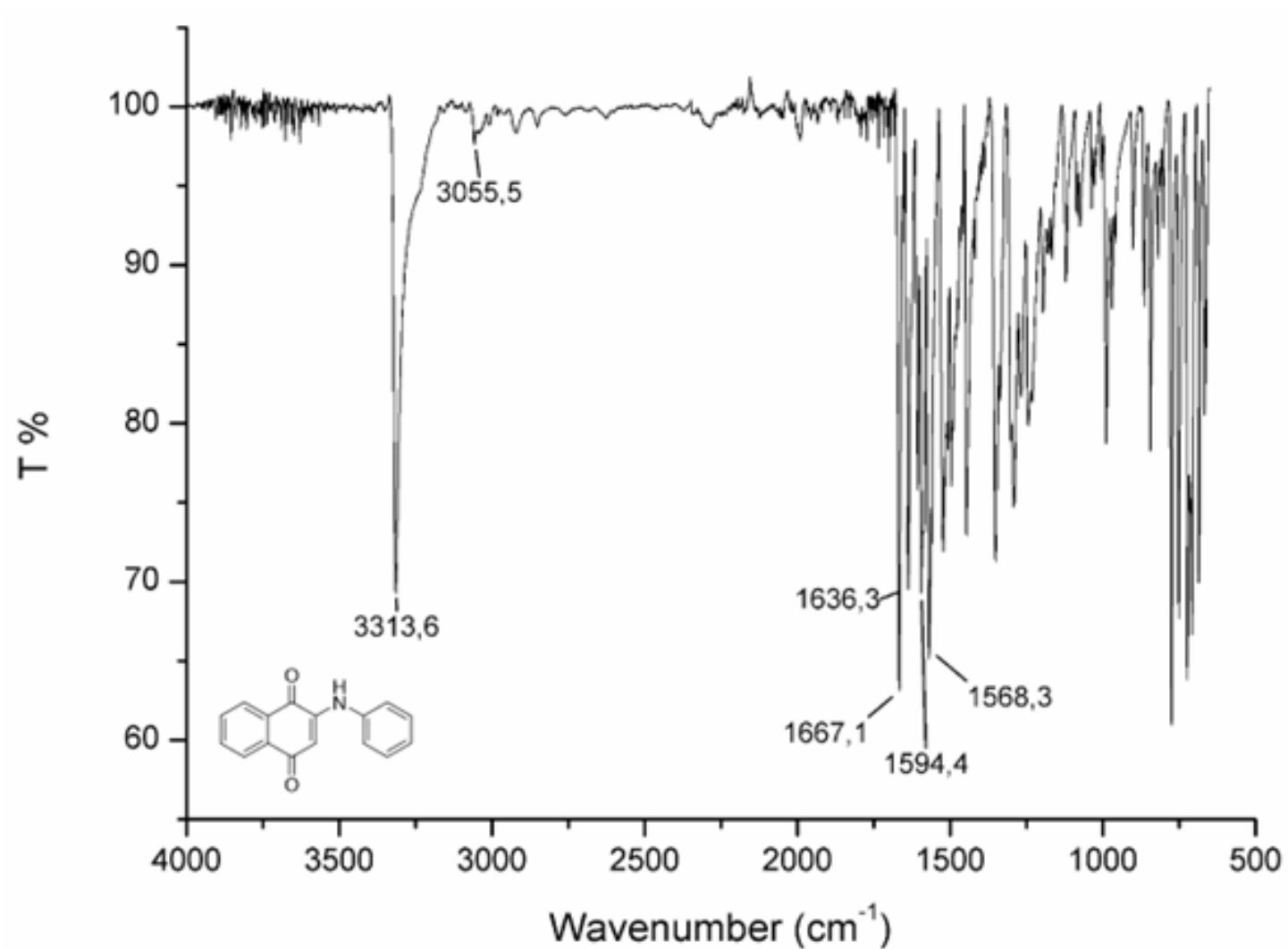
7. ANEXOS – Caracterização



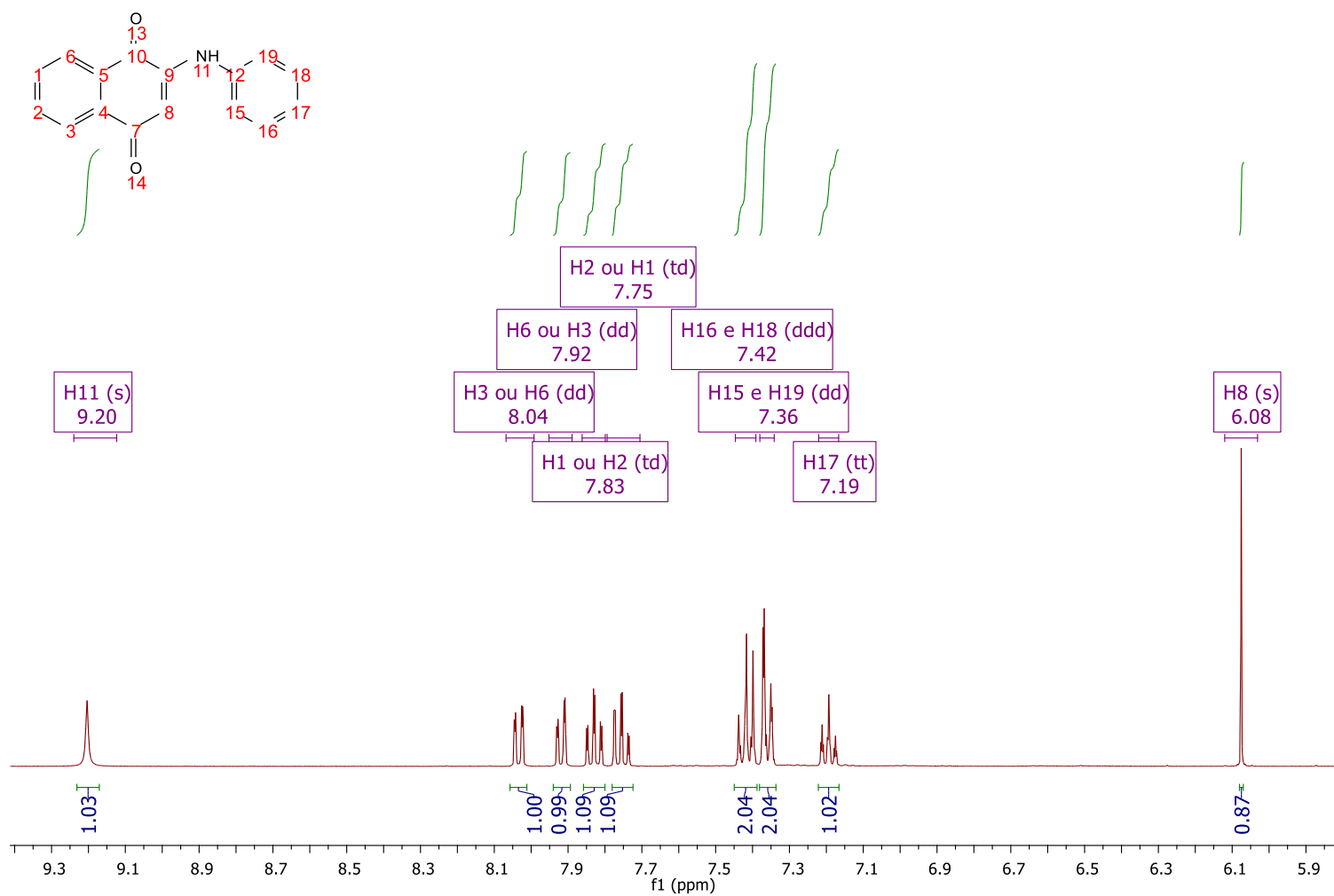
Anexo 1. Espectro de infravermelho do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidroquinolina **143**.



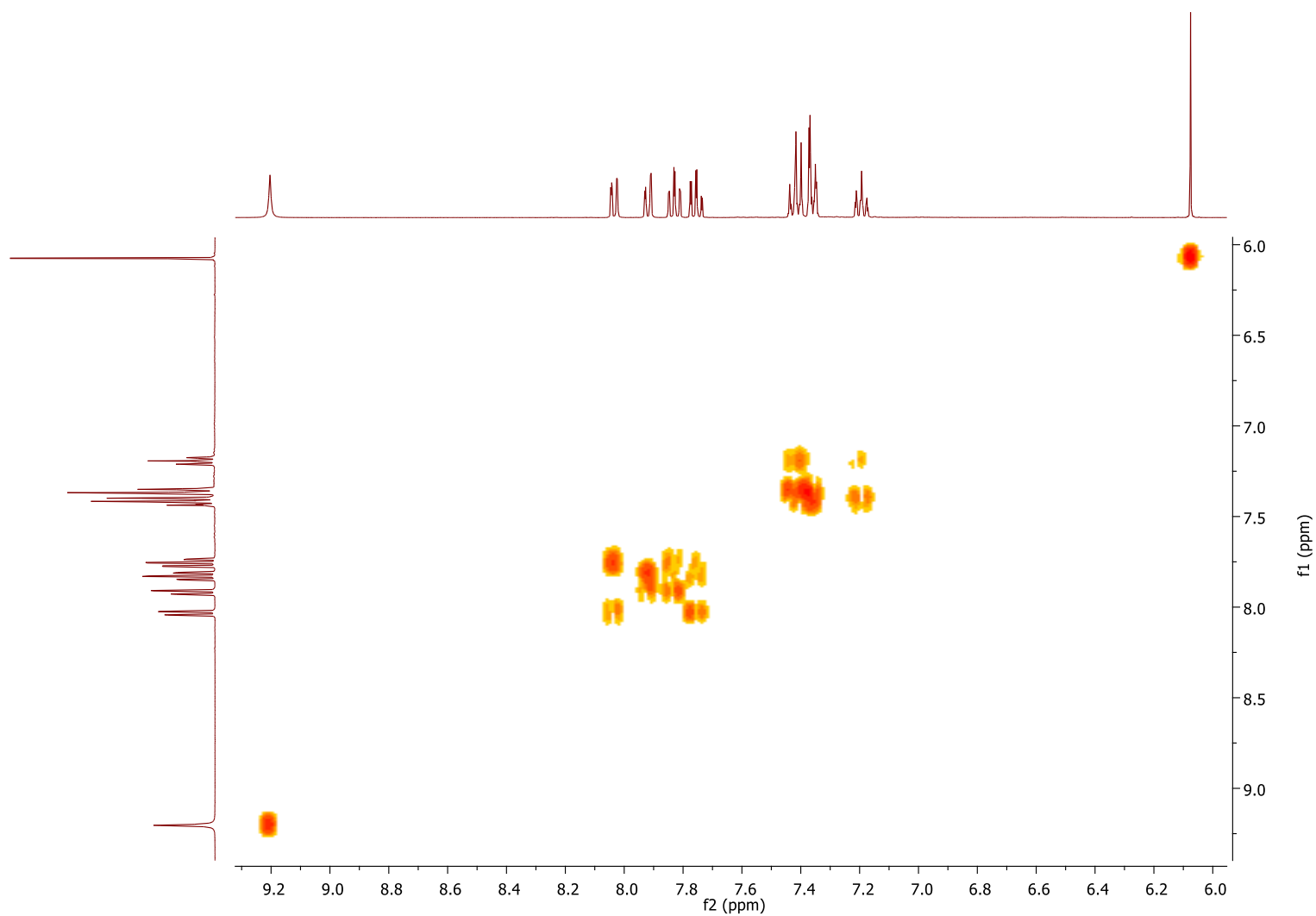
Anexo 2. Espectro de RMN de ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidroquinolina **143**.



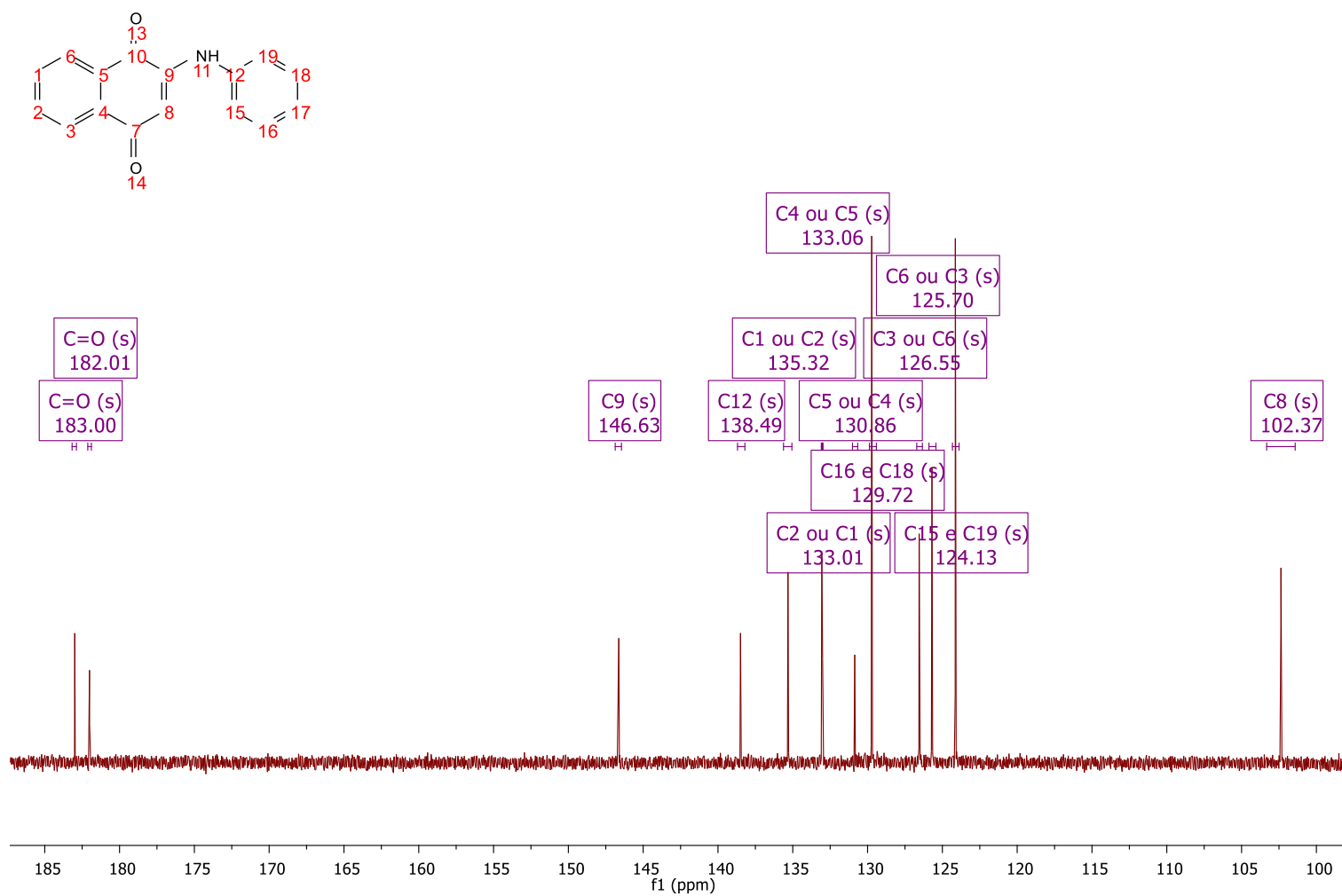
Anexo 3. Espectro de infravermelho do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.



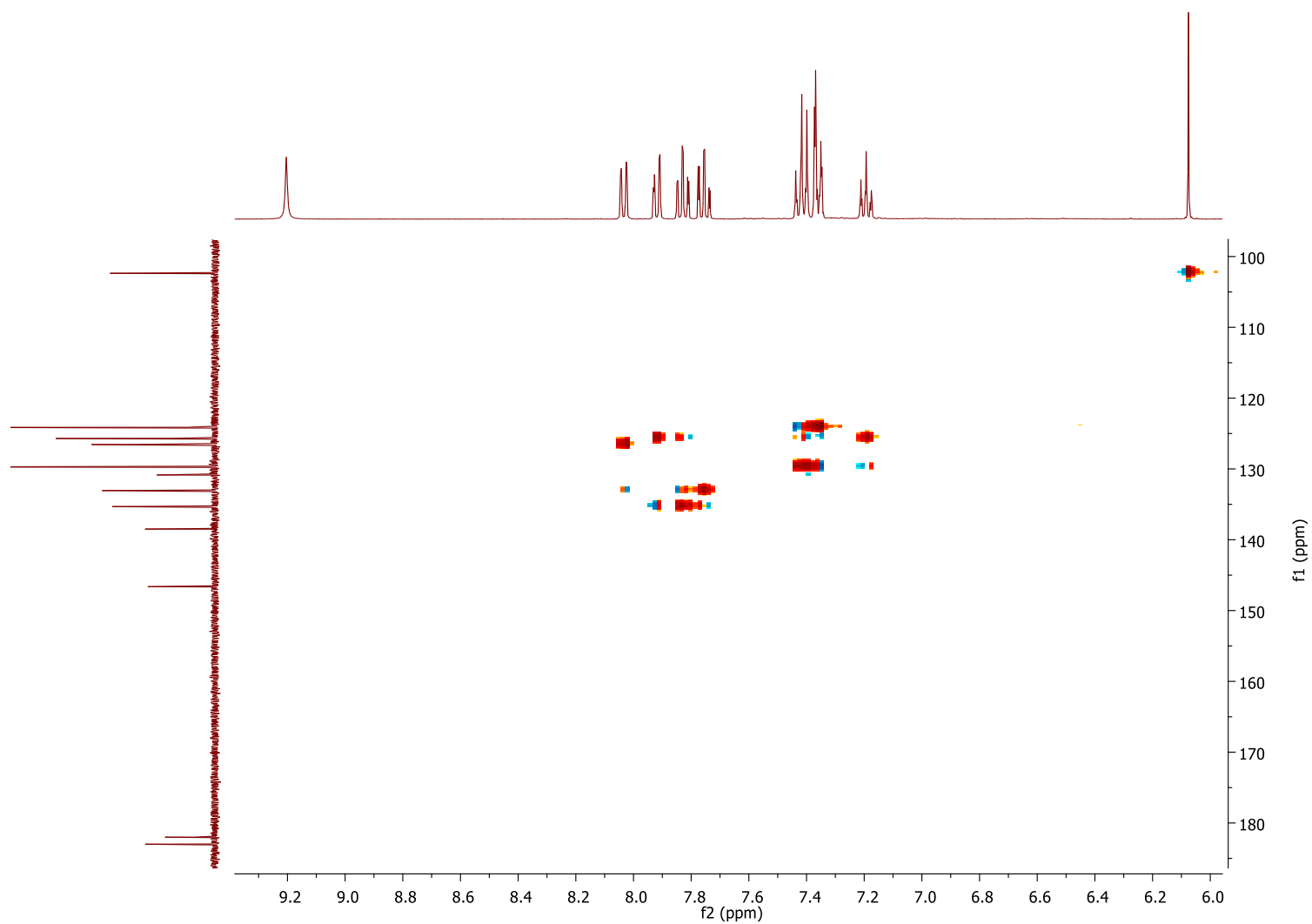
Anexo 4. Espectro de RMN de ^1H da 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.



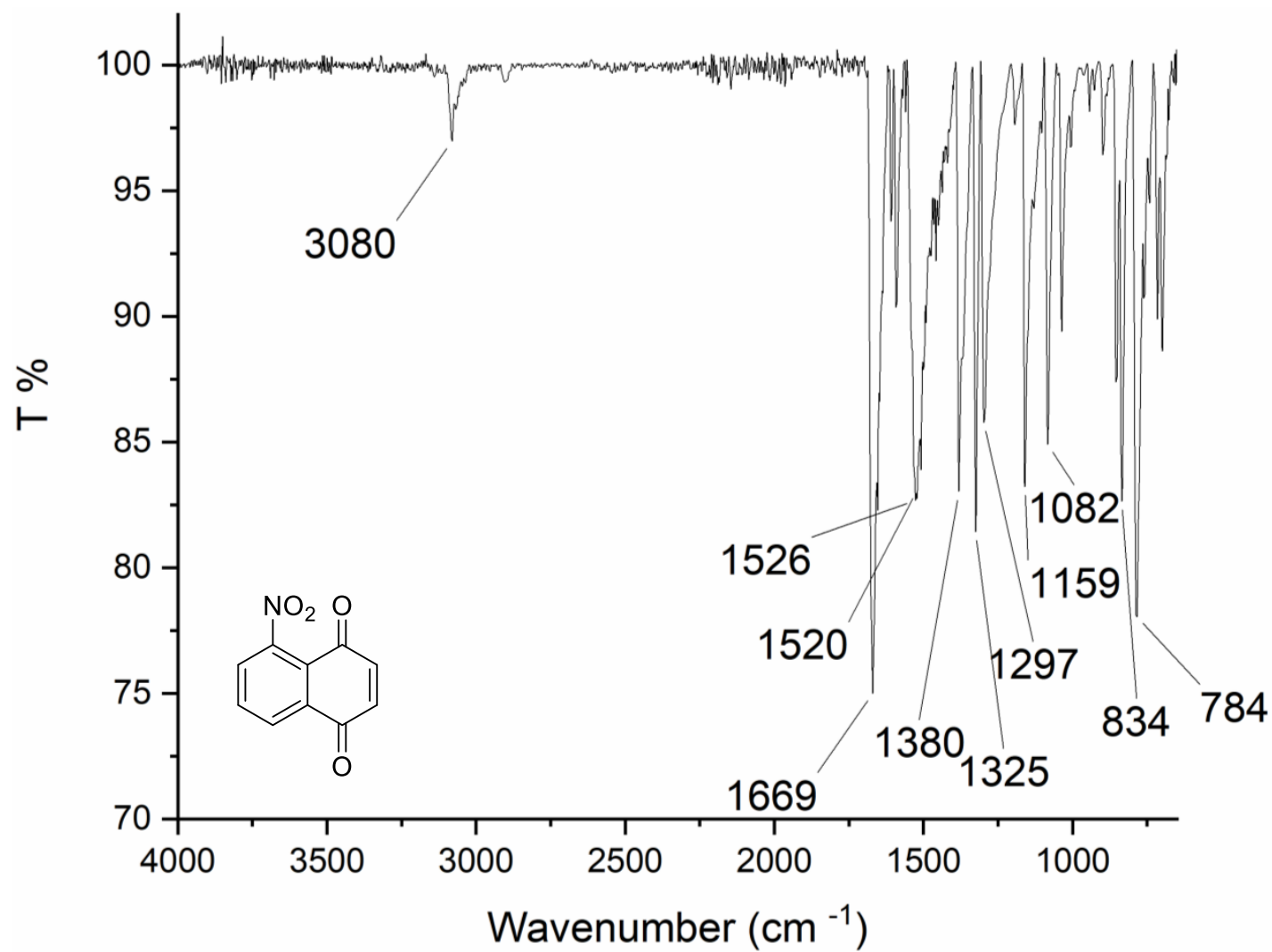
Anexo 5. Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.



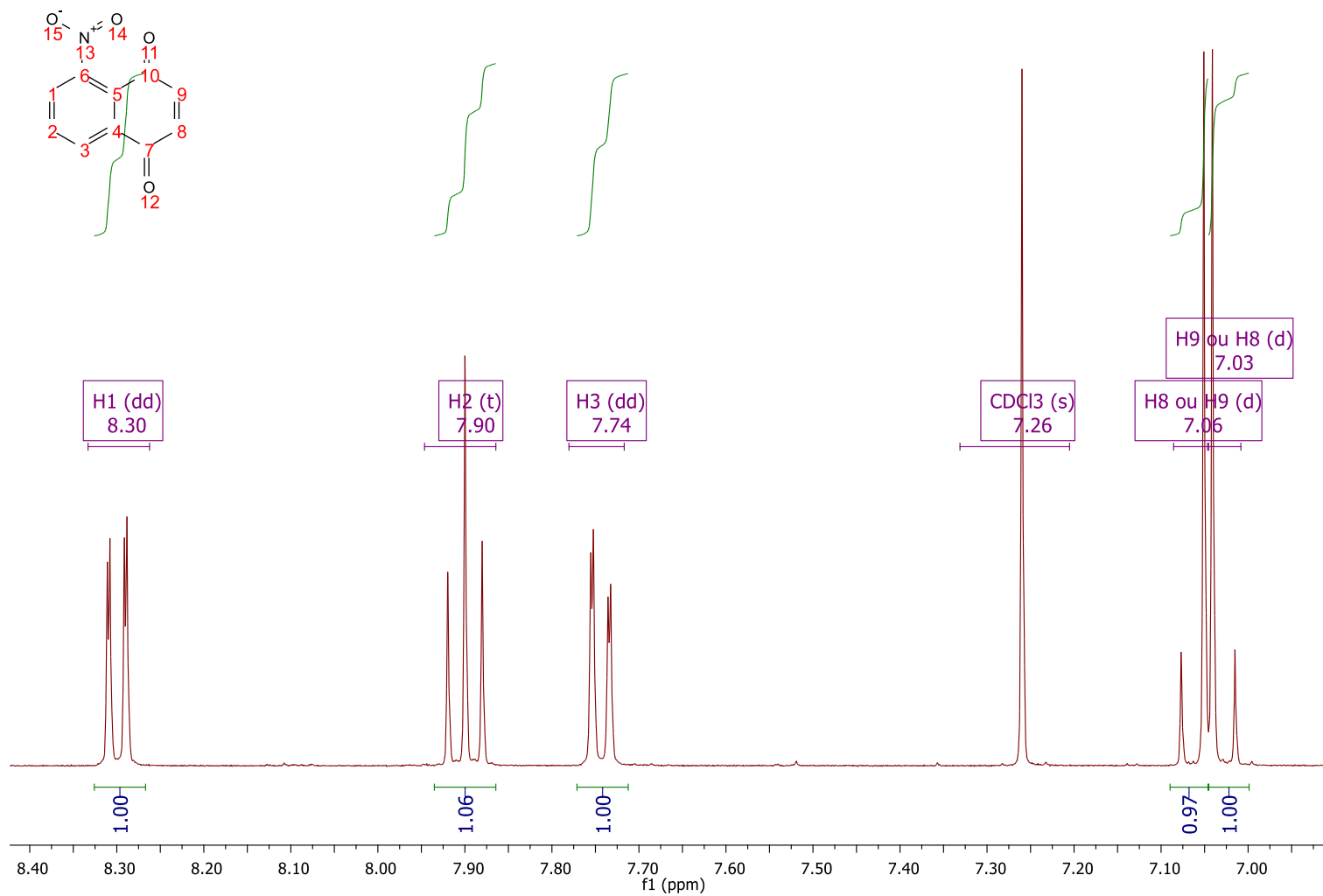
Anexo 6. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.



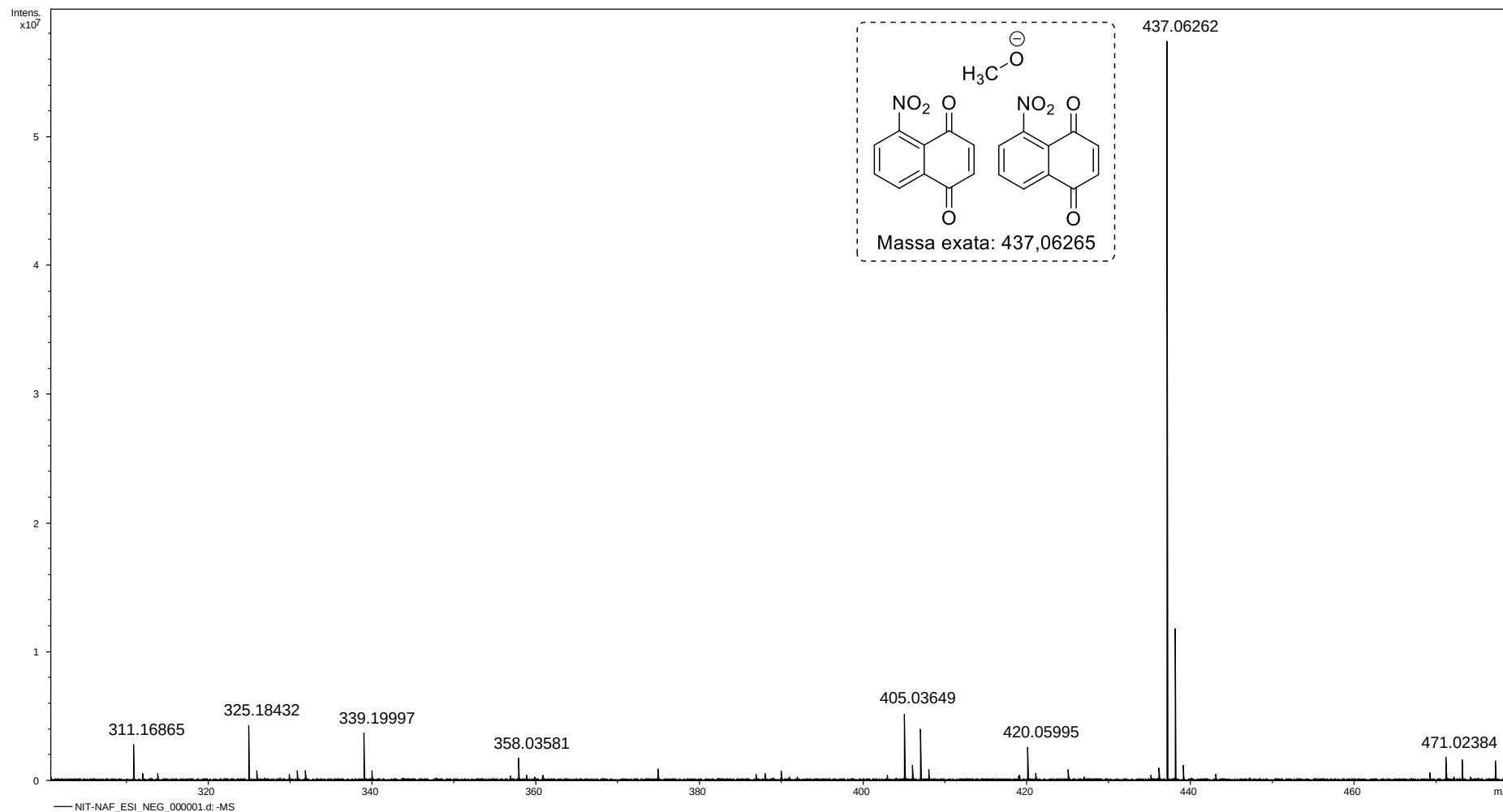
Anexo 7. Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C do composto 2-(fenilamino)naftalen-1,4-diona **277**.



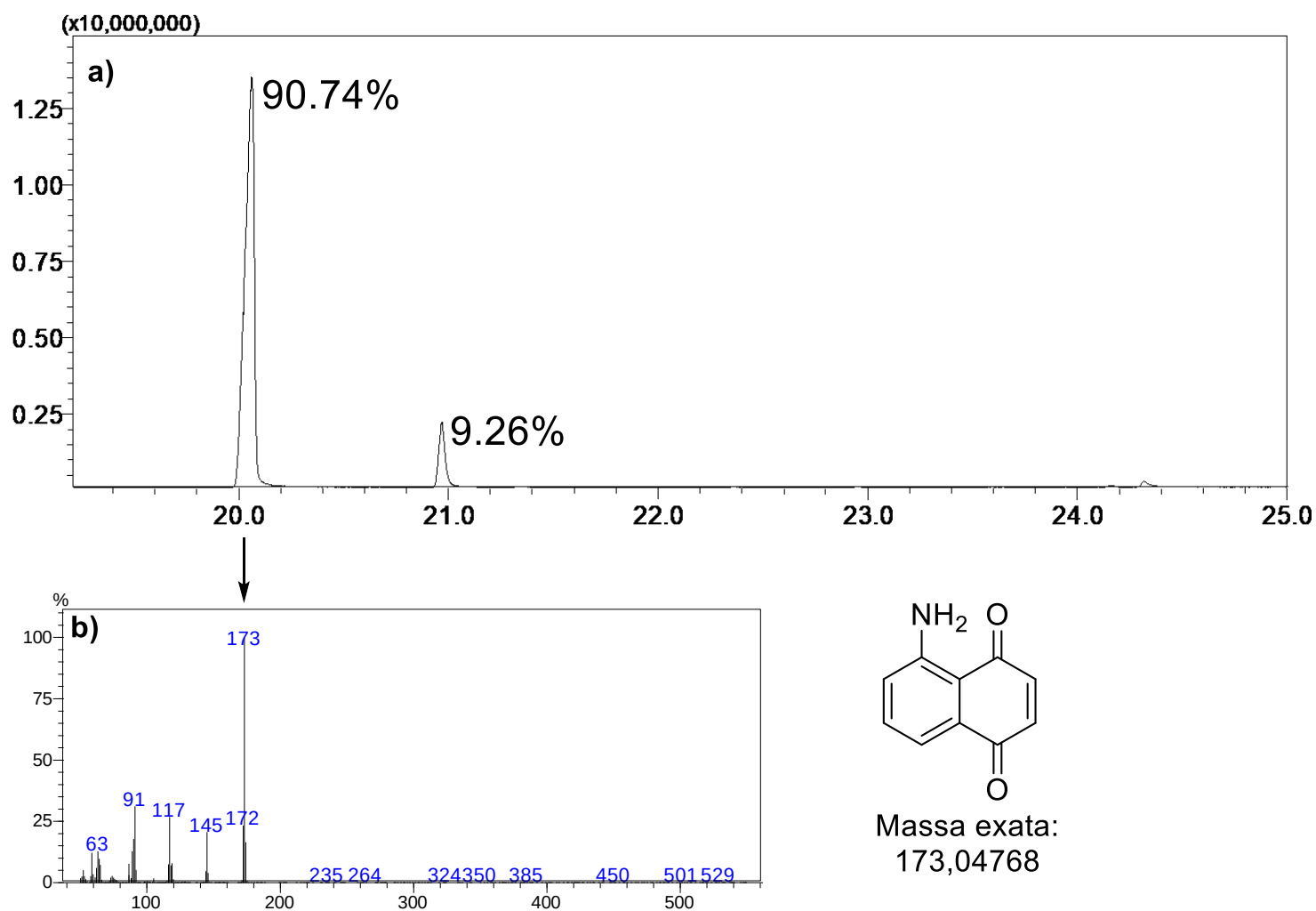
Anexo 8. Espectro de infravermelho do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona **278**.



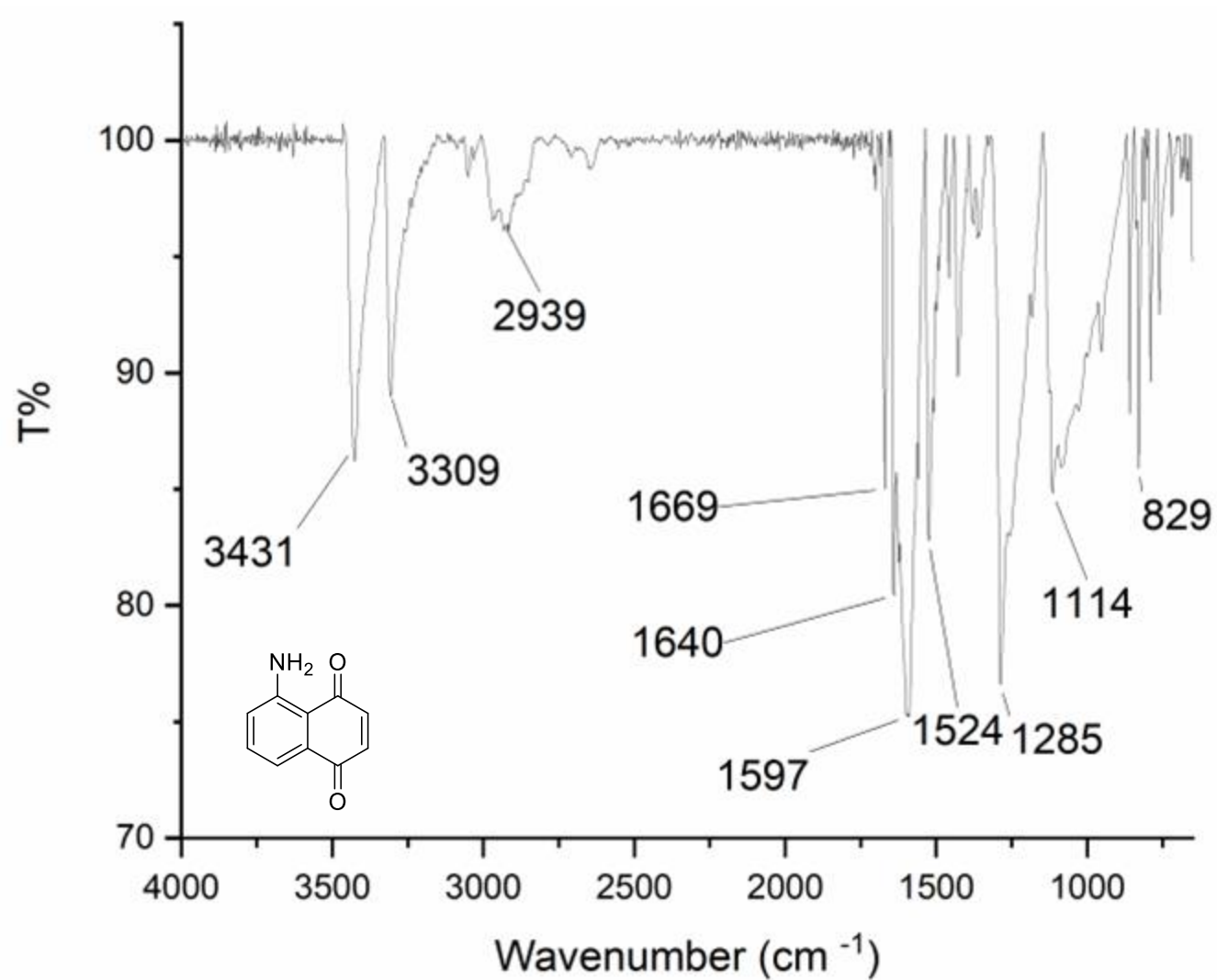
Anexo 9. Espectro de RMN de ^1H do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona 278.



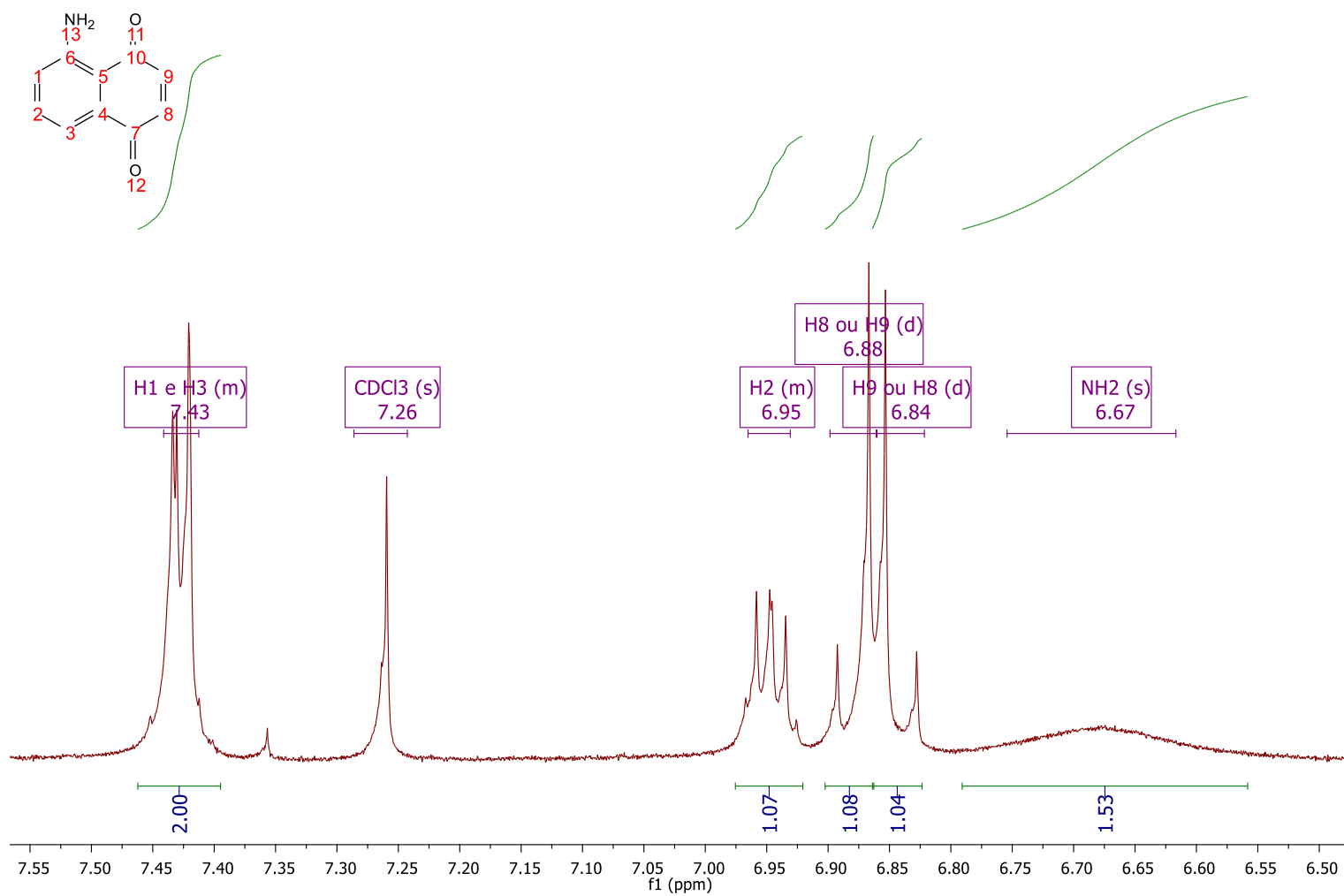
Anexo 10. Espectro de Massas do composto 5-nitronaftaleno-1,4-diona **278**.



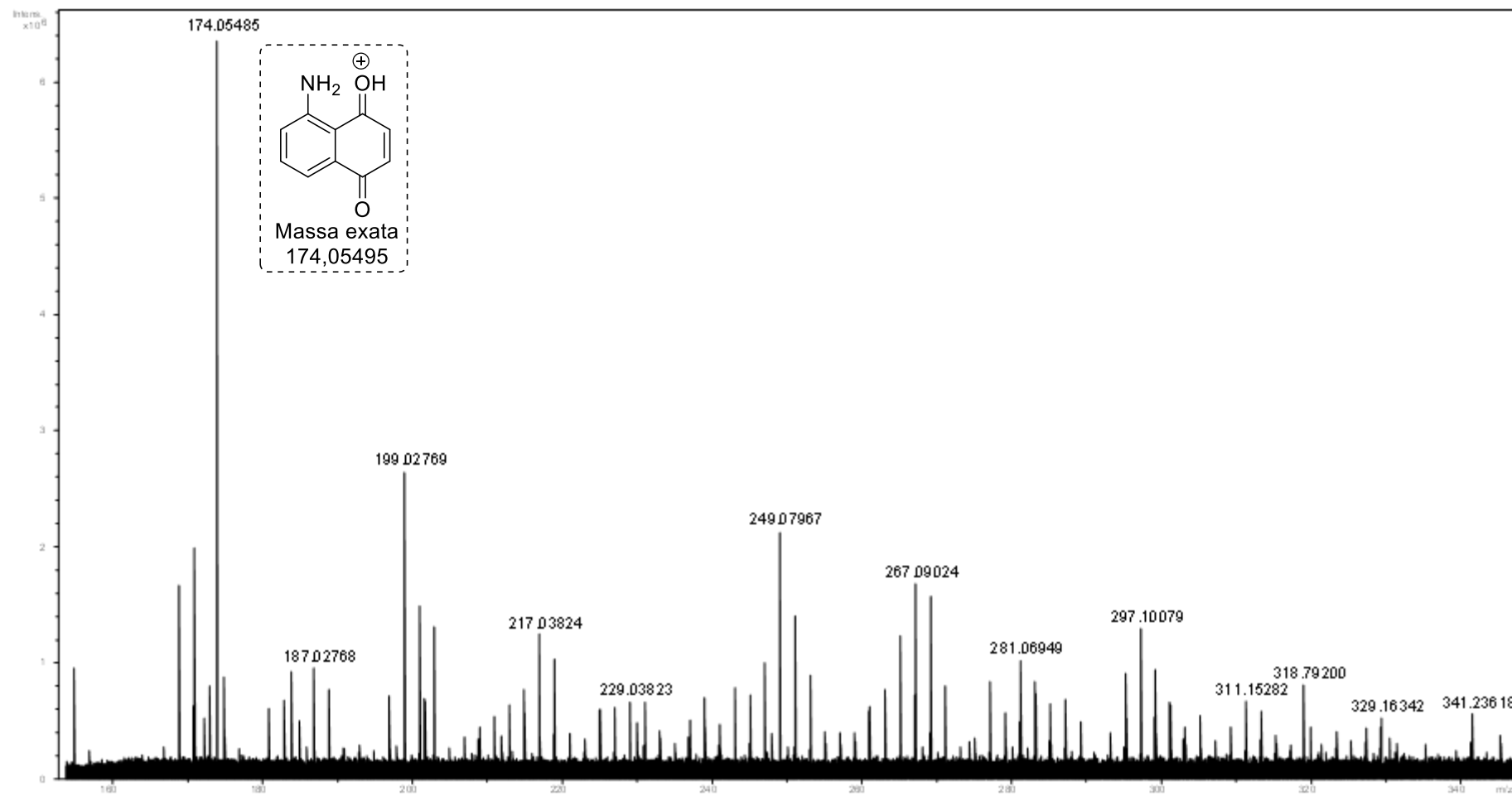
Anexo 11. Resultado da análise do CG-EM do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona **279**.



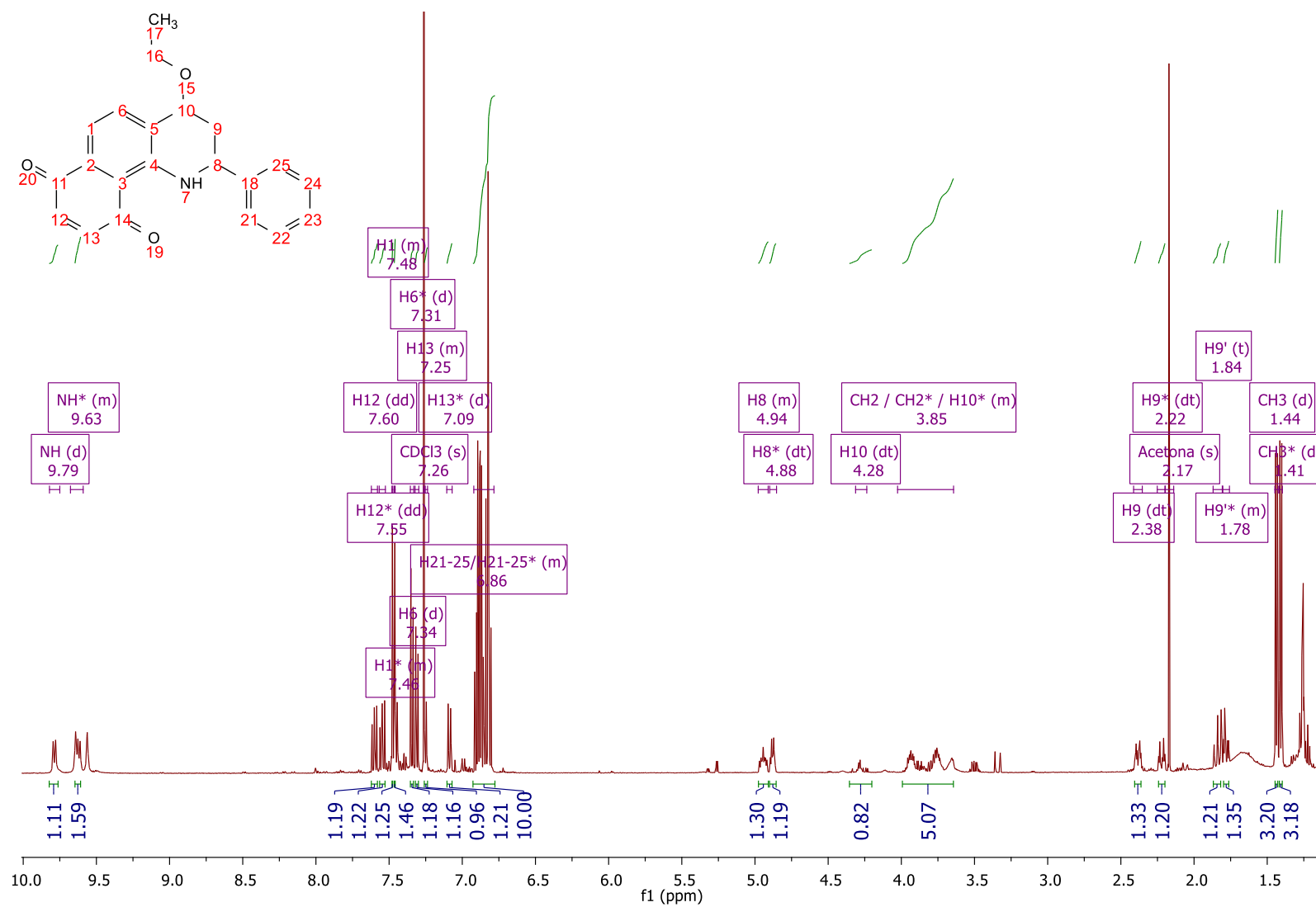
Anexo 12. Espectro de infravermelho do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona **279**.



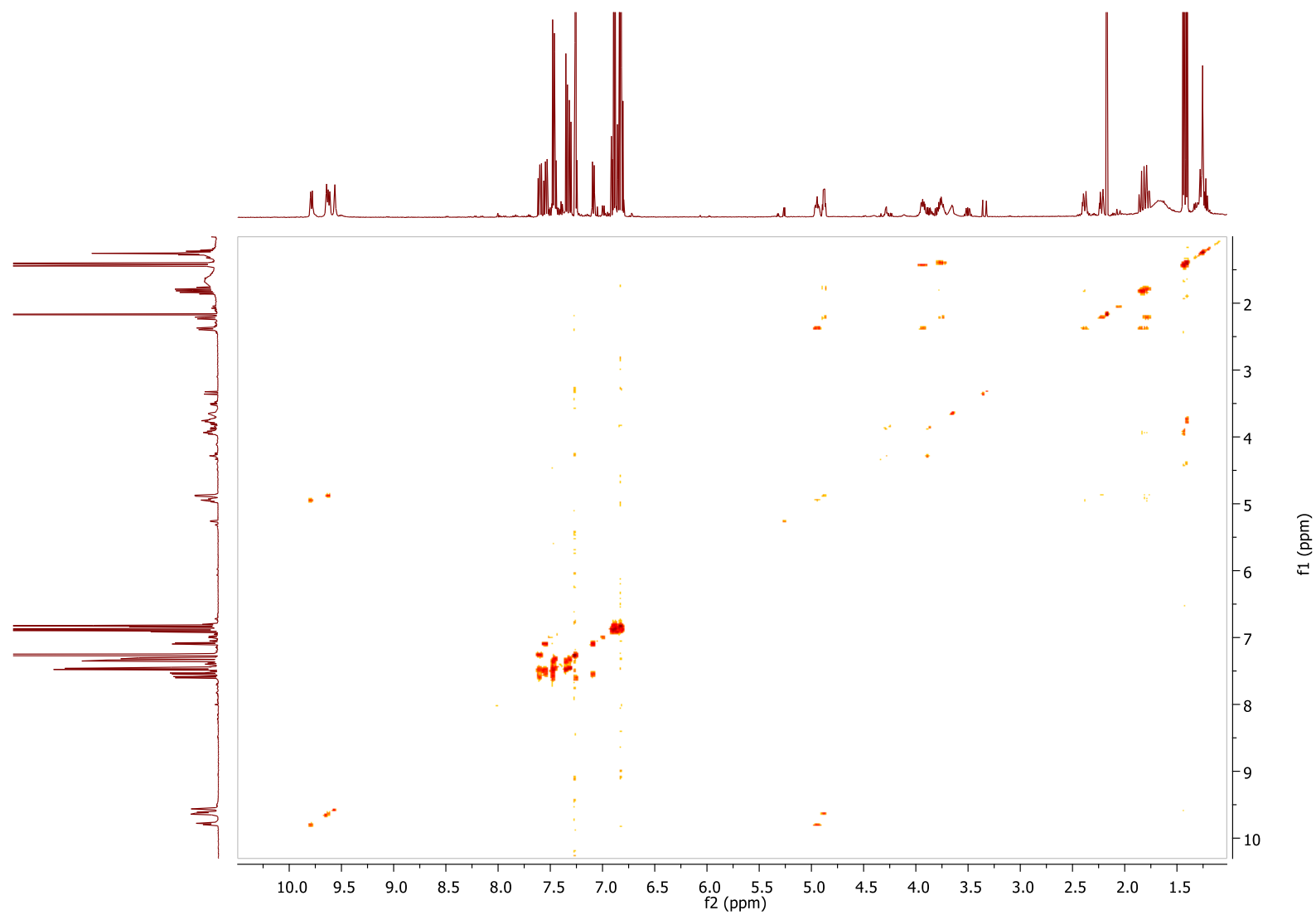
Anexo 13. Espectro de RMN de ^1H do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona **279**.



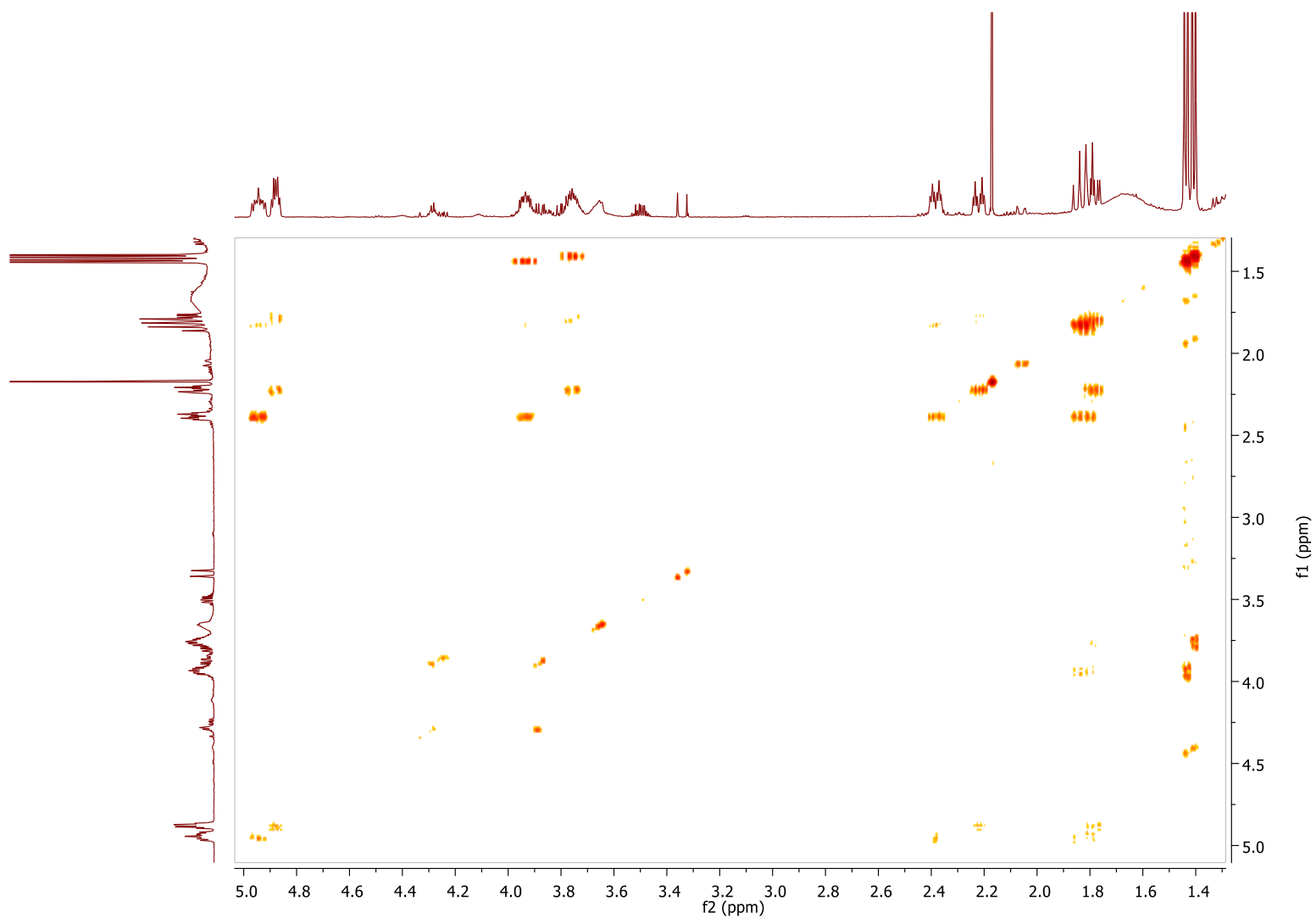
Anexo 14. Espectro de Massas do composto 5-aminonaftaleno-1,4-diona 279.



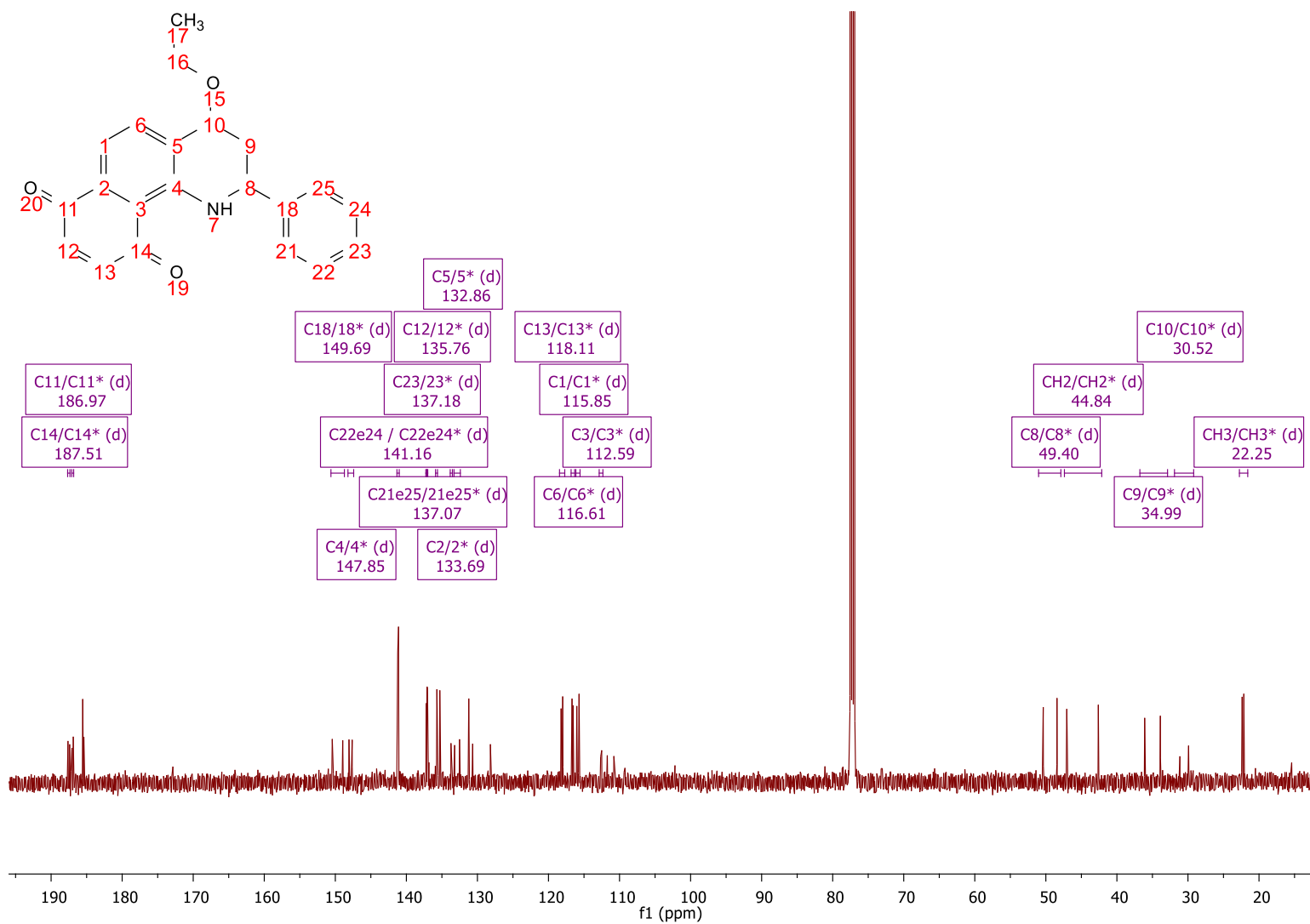
Anexo 15. Espectro de RMN de ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona **280**.



Anexo 16. Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona **280**.



Anexo 17. Expansão do espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona **280**.



Anexo 18. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4-etoxi-2-fenil-1,2,3,4-tetraidrobenzo[h]quinolina-7,10-diona **280**.

8. ANEXOS – Produção científica

Synthesis, structure-activity relationship and evaluation of new nonpolymeric chemical additives based on naphthoquinone derivatives as wax precipitation inhibitors and pour point depressants to petroleum

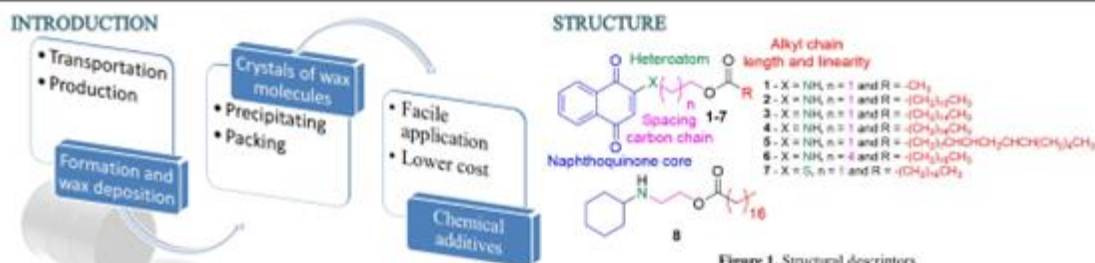
Bárbara C. Lemos^{1*}, Vitor Gilles¹, Gustavo R. Gonçalves², Eustáquio Vinícius R. de Castro², Maicon Delarmelina³, José W. de M. Carneiro³, Sandro J. Greco^{3**}

¹Laboratory of Applied Organic Synthesis, Department of Chemistry, Federal University of Espírito Santo, Vitória, Espírito Santo 29075-910, Brazil

²Nucleus of Competences in Petroleum Chemistry, Federal University of Espírito Santo, Vitória, Espírito Santo 29075-910, Brazil

³Institute of Chemistry, Fluminense Federal University, 24210-150 Niterói, RJ, Brazil

*greco@outlook.com



RESULTS AND DISCUSSION

After synthesis of the molecules **1-8** calorimetric experiments (Table 1) were employed for the structure-activity relationship study and to set out the best components for maximized inhibition

Table 1. Results of TIAC, pour point and % paraffin precipitate.

Inhibitor (200ppm)	WAT (°C)	Pour Point (°C)	Wax deposition (%)
Blank	69.2	42	14.52
Commercial	65.9	38	21.23
1	62.8	38	8.84
2	63.7	41	8.63
3	63.1	35	8.31
4	61.5	32	6.10
5	62.7	38	8.34
6	67.5	38	19.15
7	68.9	38	30.83
8	71.6	45	44.28

Comparing the results of the esters **1-5** it was observed that inhibitor **4** was more effective (higher alkyl chain). This suggests that the interaction with petroleum paraffins is probably more effective. The effect of spacer size was evaluated by comparing additives **4** and **6** and it was found that the shorter distance between the polar nucleus and the ester alkyl chain makes the additive more effective.

The effect of the heteroatom was evaluated through compounds **4** and **7**. It was determined that when the nitrogen atom is directly bound to naphthoquinone the results are much better. In fact, compound **7** actually functioned as a paraffin nucleator, since WAT values were higher than white. Computational studies suggest that the higher effectiveness of **4** is due to the greater polarization of naphthoquinone as a consequence of the effective conjugation of the nitrogen atom (Figure 1).



Figure 1. Atomic ESP charges over the naphthoquinone core of **4** e **7**.

ACKNOWLEDGMENTS:



¹Valinejad R, Nazar Fuel 2013;106:843-850.

²Sulaimans SA, Bigua BK, Chala GT. J. Pet. Sci. Eng. 2017;152:549-554

CONCLUSIONS

In all analyzes performed the new class of quinone-based additives presented better results than those commercially available, even when applied in concentrations lower than those reported in the literature.

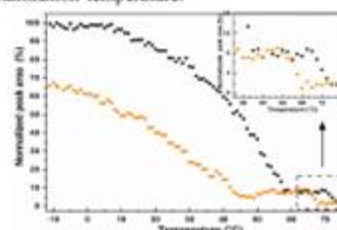
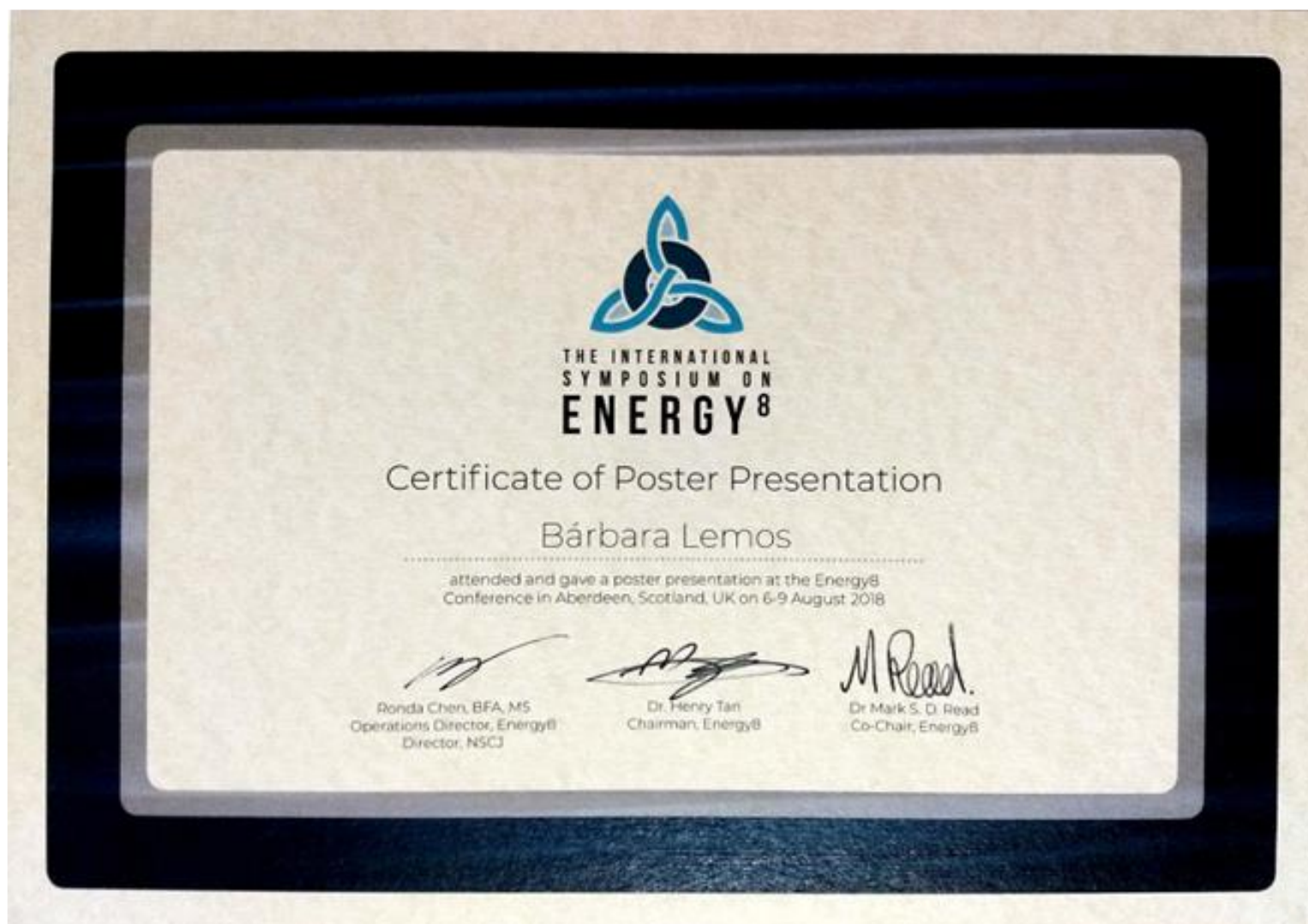


Figure 2. X-ray diffractograms for oil without and with additive **4**.

Greatest change in viscosity was obtained with additive **4**. It is noteworthy that compounds **8**, without the naphthoquinone core, was also effective in the rheological change of oil (Table 2).

Table 2. Results of density and viscosity.

Inhibitor (200ppm)	Density (g.mL ⁻¹)	Dynamic Viscosity (Pa.s)	Kinematic Viscosity (m ² .s ⁻¹)
Blank	0.8595	0.5484	638.0043
1	0.8410	0.2761	328.3286
2	0.8448	0.3234	382.8622
3	0.8621	0.2753	319.3813
4	0.8578	0.1825	212.7114
5	0.8651	0.2519	291.1916
6	0.8598	0.2554	297.1032
7	0.8585	0.2282	265.7835
8	0.8574	0.2037	237.5894



Anexo 2. Certificado de apresentação do banner no 8th International Symposium on Energy.

Synthesis, molecular modeling and anticancer activities of new molecular hybrids containing 1,4-naphthoquinone, 7-chloroquinoline, 1,3,5-triazine and morpholine cores as PI3K and AMPK inhibitors in the metastatic melanoma cells

Rodolfo G. Fiorot^a, Regina Westphal^a, Bárbara C. Lemos^a, Paola R. Gonçalves^b, Maruska R. N. Fernandes^c,
Carmen V. Ferreira^c, Alex G. Taranto^d and Sandro J. Greco^{a*}

* Applied Organic Synthesis Laboratory, Chemistry Department, Federal University of Espírito Santo, Vitória, Espírito Santo, Brazil.

^b Department of health sciences, CEUNES, Federal University of Espírito Santo, São Mateus, Espírito Santo, Brazil.

^c Department of Biochemistry and Tissue Biology, Institute of Biology, University of Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.

^d Pharmaceutical Chemistry Laboratory, Federal University of São João del Rei, Campus Centro Oeste, Divinópolis, Minas Gerais, Brazil

*greco5@outlook.com

17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis – Salvador, Bahia, Brazil, 21 - 24/10/2018

INTRODUCTION

The incidence of human metastatic melanoma (SKMEL), which is the most aggressive skin cancer form, is increasing and unfortunately presents low survival rates. Its treatment still poses a challenge, since currently available therapies present poor efficacy.¹ PI3K and AMPK kinases, which are key players in autophagy, are highlighted as important targets of cancer chemotherapy once they are strongly associated to the cell reproduction. Those kinases are overexpressed in human metastatic melanoma.^{2,3} 1,4-naphthoquinones, quinolines, 1,3,5-triazines and morpholine were selected by our research group to design new hybrids with potential anticancer activity. These frameworks are present in drugs with recognized anticancer activity and different mechanisms, including cytotoxic and inhibitors of enzymes of signaling pathways.

OBJECTIVES

The objective of this work was the synthesis, molecular modeling and evaluation of anticancer activity (as PI3K and AMPK inhibitors in the metastatic melanoma cells) of three new molecules containing 1,4-naphthoquinone, 1,3,5-triazine and quinoline frameworks.

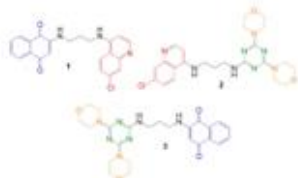


Figure 1. Molecular hybrids containing 1,4-naphthoquinone, 1,3,5-triazine, morpholine and quinoline cores.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Docking studies

Table 1 shows that all designed hybrids (**1**, **2** and **3**) had interaction energies close or better than exhibited by the control drugs.

Table 1 - Ligand/receptor interaction energies of compounds against respective molecular targets.

Compound	Interaction Energy (kcal mol ⁻¹)	
	PI3Ky	AMPK
Wortmannin	-8.7	-
LY294002	-8.5	-
AICAR	-	-6.5
GSK621	-	-6.7
1	-8.8	-6.2
2	-8.3	-7.5
3	-9.2	-8.1

2. Chemical results

The intermediates **4** and **5**, prepared following a procedures that has been previously published, were submitted to synthesize the target molecular hybrid **1**. The conditions are displayed in Fig. 2.

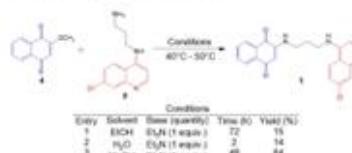


Figura 2. Síntesis de la molécula híbrida diana **1**.

For the next hybrid, morpholine-triazine-quinoline **2**, the intermediate nucleophilic **5** reacts with the electrophilic intermediate **6** (Fig. 3), both which was already prepared.



Figura 3. Síntesis de la molécula híbrida diana **2**.

Once the electrophilic intermediate **6** was synthesized, compound **7** – the nucleophile to obtain the molecular hybrid **3** – was prepared following a procedure described by our research group earlier (Fig. 4). In the following step, the target molecular hybrid **3** was obtained (Fig. 4).



Figura 4. Síntesis de target molecular híbrido 3.

3. Anticancer Activity

Biological results showed that compounds **2**, **3** and intermediate **6** decreased the viability of melanoma with IC_{50} values around 25 μ M and affected the expression of PI3K, inhibiting AMPK as well. The other compounds tested **1**, **5** and **7** did not obtain relevant cytotoxicity.

CONCLUSIONS

Previous docking study showed that hybrids present the same potential inhibitory activity of PI3Ky and AMPK of the control drugs, or even better. **1**, **2** and **3** were obtained in yields ranging from 43% to 84%. Biological results showed that compounds **2**, **3** and **6** decreased the viability of melanoma cells and affected the expression of PI3K, inhibiting AMPK as well.

REFERENCES

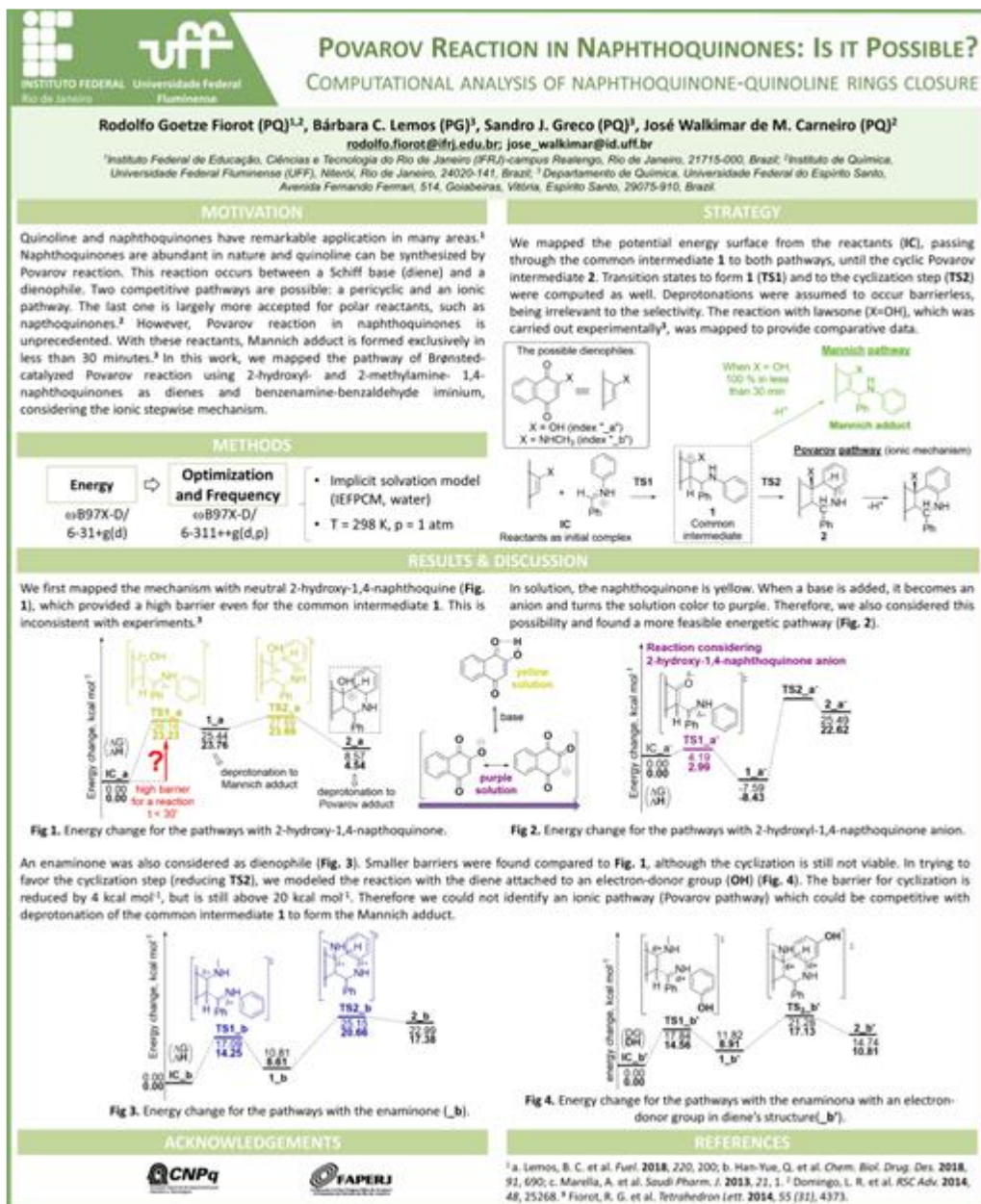
1. Gonçalves PR, Rocha-Santos KJ, Fernandes MR, Almeida J, Durán N, Ferreira-Herdner CV. *Tumour Biol*. 2015; 37:1404-1408.
2. Vivanco I, Sawyers CL. *Nat Rev Cancer*. 2002; 2:489-501.
3. Coker-Orban D, Coker-Orban F, Aravanis ED, Coker-Orban A, Pylayev-Ginsberg N. *Exp Cell Res*. 2015; 338:10-21.

ACKNOWLEDGMENTS





Anexo 4. Certificado de apresentação do banner na 17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis.



Anexo 5. Banner apresentado na 42° Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.



42^a
Reunião Anual
Sociedade Brasileira de Química

EIXOS MOBILIZADORES EM QUÍMICA

de 27 a 30/05/2019
Joinville, SC

Realização:
Sociedade Brasileira de Química



Joinville, 27 a 30 de maio de 2019

ATESTADO

Atestamos que o trabalho "Povarov reaction in naphthoquinones: computational support for a novel route for quinoline-naphthoquinones", autoria de Fiorot, R. G.; Lemos, B. C.; Greco, S. J.; Carneiro, J. W. de M. foi apresentado na forma de pôster durante a 42^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.

Joinville, 30 de maio de 2019.



Norberto Peporine Lopes
Presidente da SBQ



Fernando de Carvalho da Silva
Secretário Geral da SBQ

Anexo 6. Certificado de apresentação do banner na 42^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.

Synthesis, Molecular Modelling and Anticancer Activities of New Molecular Hybrids Containing 1,4-Naphthoquinone, 7-Chloroquinoline, 1,3,5-Triazine and Morpholine Cores as PI3K and AMPK Inhibitors in the Metastatic Melanoma Cells

Rodolfo G. Fiorot,^{a,*} Regina Westphal,^b Bárbara C. Lemos,^b Rodrigo A. Romagna,^b Paola R. Gonçalves,^c Maruska R. N. Fernandes,^d Carmen V. Ferreira,^d Alex G. Taranto^e and Sandro J. Greco^{a,b}

^aInstituto Federal de Ciências, Educação e Tecnologia do Rio de Janeiro, 21710-240 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

^bLaboratório de Síntese Orgânica e Aplicada, Departamento de Química, Universidade Federal do Espírito Santo, 29075-910 Vitória-ES, Brazil

^cDepartamento de Ciências da Saúde, Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES), Universidade Federal do Espírito Santo, 29932-540 São Mateus-ES, Brazil

^dDepartamento de Bioquímica e Biologia Tecidual, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 13083-970 Campinas-SP, Brazil

^eLaboratório de Química Farmacêutica, Universidade Federal de São João del Rei, Campus Centro Oeste, 35501-296 Divinópolis-MG, Brazil

Three molecular hybrids containing 1,4-naphthoquinones, 1,3,5-triazines, morpholine and 7-chloroquinoline, which have recognized contributions to the biological activity of many drugs, were synthesized in yields ranging from 43-84%. All hybrids were obtained in three steps starting from readily available reactants: lawsonic acid, cyanuric chloride, morpholine and 4,7-dichloroquinoline. A previous docking study was carried out to identify the binding energy and pharmacophore conformation of the promising anticancer compounds with PI3Kγ (phosphoinositide 3-kinase) and AMPK (5' AMP-activated protein kinase). The cancer activity in human metastatic melanoma cells (SK-MEL-103) were performed, and the synthesized compounds presented half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) values around 25 μM. The expressions of PI3K and AMPK were also determined using western blotting technique, and all molecular hybrids negatively modulated both targets.

Keywords: molecular hybridization, anticancer activity, 1,4-naphthoquinone, 1,3,5-triazine, 7-chloroquinoline

Introduction

Continuous studies are essential to understand the mechanisms of cancer evolution and to provide more efficient and selective ways to eradicate it. Cancer is one of the prominent causes of morbidity and mortality worldwide; it is the second leading cause of death globally, thus, development of new drugs more selective and potent is necessary.¹

The polypharmacology is not a new concept and the approaches adopted for administering the two or more drugs together are varied. Taking two or more drugs

simultaneously, co-formulation of two or more active agents in a single tablet and development of hybrid molecular entities capable to modulate multiple targets are the three popular approaches for multidrug therapy. Hence, the present form of polypharmacology is gaining popularity in the form of hybrid molecules (multiple ligand approach).²

Molecular hybridization (MH) is a strategy of rational design of new prototypes, where the lead compound is produced through an adequate fusion of pharmacophoric sub-unities. MH is performed to achieve one of the following objectives: (i) synergism of pharmacological action, (ii) dual action therapy pharmacological or (iii) modulation of undesirable side effects.³

*e-mail: rodolfo.fiorot@ifrrj.edu.br; grecoj@outlook.com



Contents lists available at ScienceDirect

Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bmcl

Synthetic enamine naphthoquinone derived from lawsone as cytotoxic agents assessed by in vitro and in silico evaluations

Bárbara C. Lemos^a, Regina Westphal^a, Eclair Venturini Filho^a, Rodolfo G. Fiorot^b, José Walkimar M. Carneiro^b, Anne Caroline C. Gomes^c, Celina J. Guimarães^{d,e}, Fátima C. E. de Oliveira^e, Pedro Mikael S. Costa^e, Claudia Pessoa^e, Sandro J. Greco^{a,*}

^a Chemistry Department, Federal University of Espírito Santo, Vitória, Espírito Santo CEP-29075-910, Brazil

^b Chemistry Institute, Federal Fluminense University, Outeiro de São João Batista, 24020-141 Niterói, RJ, Brazil

^c Faculty of Pharmacy, Federal Institute of Rio de Janeiro, Campus Realengo, Rio de Janeiro CEP- 21715-000, Brazil

^d Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará CEP- 60430-275, Brazil

^e Pharmacy Sector, Foundation of Oncology Control of the state of Amazonas, Manaus, Amazonas CEP- 69040-010, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Enamine naphthoquinone
Antiproliferative activity
Structure/activity relationship
Docking

ABSTRACT

We synthesized ten enamine naphthoquinones with yields ranging from 43 to 76%. These compounds were screened for their in vitro antiproliferative activities by MTT assay against four types of human cancer cell lines: HCT116, PC3, HL60 and SNB19. The naphthoquinones bearing the picolylamine (**7**) and quinoline (**12**) moieties were the most active ($IC_{50} < 24 \mu M$ for all the cell lines), which were comparable or better to the values obtained for the control drugs. In silico evaluations allowed us to develop a qualitative Structure-Activity Relationship which suggest that electrostatic features, particularly the C₂-C₃ internuclear repulsion and the molecular dipole moment, relate to the biological response. Furthermore, Molecular Docking simulations indicate that the synthetic compounds have the potential to act as anticancer molecules by inhibiting topoisomerase-II and thymidylate synthase.

Cancer has become a significant global health problem as it has one of the highest mortality rates worldwide. Notwithstanding the progress observed in cancer treatments in the past decades, epidemiology data clearly point to urgent need of discovery and development of new drugs capable of ending or at least mitigating the obstacles faced by cancer, such as the problem involving the multiple drugs resistance (MDR).

1,4-Naphthoquinone scaffold is the most stable and widely reported isomeric form of naphthoquinones. This compounds class are important natural substances that are widely distributed in different families of plants, fungi, and some animals. The anticancer significance of 1,4-naphthoquinone core have been widely studied.^{1–4} Several mechanisms of action related to the 1,4-naphthoquinone moiety are observed and the cell growth inhibition may occur due to apoptosis, topoisomerase II- α , telomerase, α -DNA polymerase, heat shock protein HSP90 inhibitory action, oxidative stress caused by reactive oxygen species (ROS), DNA alkylation and others.^{7–11} Recently our research group described cytotoxic effects on human lungs (H460), triple-negative breast (MDA-MB-231) and ovarian (A2780) cancer cell lines of the eleven 2,3-

(substituted)-1,4-naphthoquinone derivatives. Additionally, molecular docking were carried out indicating a potential inhibiting capacity of the PI3K protein.⁶

Enamine naphthoquinone or 2-amine-1,4-naphthoquinone have been a subject of study for many years because of their use in a variety of medical and biological applications, including anticancer activity.^{12–16} The introduction of amino substituents onto the quinone moiety can exert influence on its redox properties, inducing oxidative stress in cells and alkylation of DNA. Several enamine naphthoquinones with anticancer activity are described in the literature (Fig. 1).

Besides that, the enamine quinone moiety is prevalent in several drugs that are in use such as the commercial anticancer agents streptozotocin and actinomycin and antibiotics geldanamycin, mitomycin and rifamycin (Fig. 2).

In this context, this work presents the simple and fast synthesis of ten enamine naphthoquinones **3–12** obtained from 2-methoxy-lawsone **2** which in turn was obtained by O-methylation of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (lawsone) **1** (Scheme 1). We assessed the antiproliferative

* Corresponding author.

E-mail addresses: greco@outlook.com, sandro.greco@ufes.br (S.J. Greco).

<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128419>

Received 26 August 2021; Received in revised form 15 October 2021; Accepted 19 October 2021

Available online 26 October 2021

0960-894X/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.



Enantioselective Povarov Reactions: An Update of a Powerful Catalytic Synthetic Methodology

Bárbara C. Lemos,^[a] Eclair Venturini Filho,^[a] Rodolfo G. Fiorot,^[b] Fabrizio Medici,^[c] Sandro J. Greco,^{*,[a]} and Maurizio Benaglia^{*,[c]}

The enantioselective Povarov reaction is one of the most powerful synthetic strategy to synthesize chiral, highly functionalized 1,2,3,4-tetrahydroquinolines. The present Minireview aims to collect the most significant successful examples of highly efficient enantioselective catalytic protocols for this reaction, since 2014. A comprehensive discussion of different catalytic strategies employed in recent years to realize the enantioselective

Povarov reaction is provided; the use of chiral phosphoric acids, thio(urea) and proline derivatives, as well as transition metal complexes will be presented. Additionally, this Minireview critically discusses the intriguing and yet obscure mechanistic pathways of this well-known reaction, the controversial dispute between a concerted or a polar two-step process.

1. Introduction

Nitrogen heterocycles are widely widespread in bioactive natural products, pharmaceuticals, agrochemicals, dyes and cosmetics.^[1] Considering the importance of these compounds and their applicability in modern science, the synthesis of N-heterocycles and their derivatives has always been an attractive topic in organic synthesis. Tetrahydroquinolines (THQs) **1** (Figure 1), a six-membered nitrogen heterocycle fused to a benzene ring, are among the most important heterocycles, due to their presence in a large number of natural and synthetic products with important biological applications.^[2]

Natural products based on 1,2,3,4-THQ demonstrate interesting pharmacological activities, such as (–)-angusturein **2** and (–)-galipinin **3**.^[3–5] In addition, many biologically relevant tricyclic alkaloids contain a THQ core. The family of pyrrole [3,2-*c*] quinoline derivatives, with the main representatives of this family, martinellin **4** and martinellin **5**, are non-peptide bradykinin B1 and B2 receptor antagonists (Figure 2a).^[6–8] Therefore, not surprisingly, a lot of attention has been focused on the preparation and development of synthetic methods dedicated to the construction of the enantioenriched THQ skeleton,

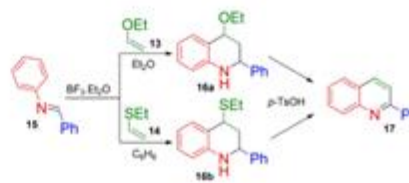


Figure 1. General structure of tetrahydroquinoline (THQ).

mainly due to the bioactive importance of its enantiomerically pure derivatives (**6–12**) such as: antiviral,^[9] antibacterial,^[10–12] antifungal,^[13,14] antiparasitic^[15] and anticancer (Figure 2b).^[16,17]

The Povarov reaction (PR) represents one of the most straightforward synthetic access to THQs. In the early 60's, L. S. Povarov et al. described reactions of formation of two new C–C bonds, from ethyl vinyl ether **13** or ethyl vinyl sulfide **14** with N-arylimines (Schiff bases) **15** under acid catalysis (BF₃·Et₂O), thus affording substituted THQs **16** (a and b), which were oxidized to the corresponding quinoline **17** (Scheme 1).^[18,19] In recognition of the discovery, these cycloaddition reactions and their variants are called Povarov reactions.^[20]

In 1995, S. Kobayashi et al. performed the multicomponent one-pot version of the PR between anilines, aromatic aldehydes and alkenes as dienophiles, catalyzed by rare earth triflates (Ln(OTf)₃) as Lewis acid, thus obtaining THQs of interest.^[21] Thereafter, in 1996, the same research group developed the first example of the enantioselective multicomponent PR with



Scheme 1. Povarov reaction.

[a] B. C. Lemos, Dr. E. Venturini Filho, Prof. Dr. S. J. Greco
Chemistry Department,
Federal University of Espírito Santo,
Vitória, Espírito Santo, CEP: 29075-910, Brazil
E-mail: sandro.greco@ufes.br
https://labsoa.ufes.wixsite.com/isoa

[b] Prof. Dr. R. G. Fiorot
Chemistry Institute,
Federal Fluminense University,
Outeiro de São João Batista, RJ, 24020-141, Niterói, Brazil

[c] Dr. F. Medici, Prof. Dr. M. Benaglia
Dipartimento di Chimica
Università degli Studi di Milano
Via Golgi 19
Milano, Italy
E-mail: maurizio.benaglia@unimi.it
https://sites.unimi.it/benaglia/index.html

Part of the "Organocatalysis" Special Collection.