

**Joseane Alves Mendes** 

Síntese de 11a-*N*-arilsulfonil-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazóis com ação antitumoral.

### Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Camilla Djenne Buarque Muller

Rio de Janeiro Setembro de 2015



**Joseane Alves Mendes** 

Síntese de 11a-*N*-arilsulfonil-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazóis com ação antitumoral.

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

> Prof<sup>a</sup>. Camilla Djenne Buarque Müller Orientadora

Departamento de Química - PUC-Rio

Prof. Alcides José Monteiro da Silva UFRJ

> Prof. Chaquip Daher Netto UFRJ

Prof. Jones Limberger Departamento de Química - PUC-Rio

> Prof. José Eugenio Leal Coordenador Setorial do Centro Técnico Científico - PUC-Rio

Rio de Janeiro, 1 de setembro de 2015

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora e do orientador.

#### **Joseane Alves Mendes**

Graduou-se em Química pela Universidade Estácio de Sá em 2012. Possui experiência em: Síntese orgânica com ênfase em Química medicinal, Reações de aza-arilação de Heck catalisadas por paládio.

Ficha Catalográfica

Mendes, Joseane Alves

Síntese de 11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5Hbenzo[a]carbazóis com ação antitumoral / Joseane Alves Mendes ; orientadora: Camilla Djenne Buarque Muller. – 2015.

157 f. : il. (color.) ; 30 cm

Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2015.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Câncer de mana. 3. Leucemia. 4. 11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5Hbenzo[a]carbazóis. 5. Aza-arilação de Heck. 6. Paládio. I. Muller, Camilla Djenne Buarque. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. III. Título.

CDD: 540

Às minhas duas joias raras minha amada mãe Salete Alves e ao meu amado pai Josias Mendes por todo amor oferecido, incentivo e educação proporcionada e ao meu namorado Jarol Ramon por todas as palavras de incentivo, apoio, carinho e por trilhar este caminho juntos.

### Agradecimentos

A Deus por está sempre presente em todos os momentos e porque me premiou com pais maravilhosos.

A professora Camilla Djenne Buarque pela orientação, apoio, confiança, incentivo, dedicação, idéias sugeridas neste trabalho e pela amizade.

A professora Prof. Vivian Mary Barral Dodd Rumjanek e ao Dr<sup>o</sup> Eduardo Jesus dos Santos Salustiano (IBqM-UFRJ) pela parceria e realização dos ensaios biológicos descritos neste trabalho.

Ao professor Arthur de Lemos Scotfield (LABMAN) pela parceria que possibilitou a utilização do CG-MS.

Ao professor Paulo R.R. Costa (LQB-IPPN-UFRJ), pela parceria e pela oportunidade de publicar artigo e projetos com o seu grupo de pesquisa.

Aos colegas do LQB: Talita de Almeida Fernandes e Julio Cesar Barcellos pelo apoio, toda ajuda oferecida, trabalhos realizados e pela amizade.

Aos professores da pós-graduação da PUC-Rio pelo ensino que contribuíram para a minha formação.

A todos os funcionários do Departamento de Química da PUC-Rio, em especial pela dedicação da Fátima Almeida junto aos alunos de pós-graduação.

Ao técnico Francisco de Assis (IPPN) e a Rosana (PUC-Rio) pela eficiência no trabalho e pela disposição em ajudar.

Aos colegas do LabSint: Alessandra Sardenberg, Brunna Accardo, Bruna Ribeiro Carolina Marques, Felipe Ribas, Leonardo Abreu, Maurício Cerón, Rafael Moreira, Rafaela Oliveira e Verônica Diniz por todos os momentos compartilhados, risadas, brincadeiras, apoio, ajuda e pela amizade.

A minha amiga Rosangela Mendes e a todos os colegas da pós-graduação da PUC-Rio por todas as horas de estudos e alegrias compartilhadas.

À CAPES e à PUC, pelos auxílios concedidos, sem as quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

#### Resumo

Mendes, Joseane Alves; Müller, Camilla Djenne. Buarque. **Síntese de 11a-***N*-arilsulfonil-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazóis com ação antitumoral. Rio de Janeiro, 2015. 157p. Dissertação de Mestrado- Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Este trabalho apresenta a síntese e caracterização de 11-tosil-6,6a,11, 11tetraidro-5H-benzo[a]carbazois análogos ao LQB223, um composto previamente sintetizado em nosso grupo de pesquisa que tem ação anticâncer e antileishmanial in vitro e ação antimalarial in vitro e in vivo. A etapa chave da obtenção reação para а dos 5-metoxi-11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5Hbenzo[a]carbazol (97a), 6-metoxi-11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5Hbenzo[a]carbazol (**97b**) е 7-metoxi-11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5Hbenzo[a]carbazol (97c) envolve uma reação de aza-arilação de Heck catalisada por paládio na presença de carbonato de prata e acetona entre o N-tosil-oiodoanilina (55b) e dihidronaftalenos substituídos (100a, 100b, e 100c), preparados previamente a partir de tetralonas comerciais (84a, 84b, 84c). Os compostos 5-hidroxi-11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (98a), 6hidroxi-11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (98b) e o 7-hidroxi-11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5H--benzo[a]carbazol (98c) foram obtidos através da desproteção das metoxilas com BBr<sub>3</sub> em rendimentos quantitativos. Todos os compostos foram avaliados quanto a ação anticâncer em linhagens de leucemia que apesentam o fenótipo MDR lucena e FEPS e em linhagem de leucemia K562 e nas linhagens de câncer de mama MCF-7, que expressa o receptor de estrogênio, e MDA-MD231.Dentre os compostos preparados, o composto 6metoxi-11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (97b) foi tão ativo quanto o LQB223 frente a ação antileucêmica nas linhagens K562, lucena e FEPS, entretanto foi mais eficaz que o LQB223 nas linhagens de MCF-7  $(IC_{50}=5,93\pm3,58 \mu M)$  e MDA-MD231  $(IC_{50}=8,29\pm2,08 \mu M)$ , apresentando um nível baixo de toxicidade para as células sadias. Por outro lado, o composto 6hidroxi-11a-N-arilsulfonil-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (98b), apesar de ser muito ativo em linhagens de câncer mama, possui um alto nível de toxicidade para células sadias e composto 7-hidroxi-11a-*N*-arilsulfonil-tetrahidro-5*H*-benzo[a]carbazol (**98c**) foi eficaz em MDA-MD231 (IC<sub>50</sub>= 4,84) porém ainda não foi avaliado quanto a toxicidade em células sadias. Os dados sugerem que os compostos oxigenados **97b** e **98c** direciona a ação para o câncer de mama.

### Palavras-chave

Câncer de mama; leucemia; 11a-*N*-arilsulfonil-tetrahidro-5Hbenzo[a]carbazóis; aza-arilação de Heck; paládio. Mendes, Joseane Alves; Müller, Camilla Djenne. Buarque (Advisor). **Synthesis of the 11a-N-aryIsulfonil-tetrahydro-5H-benzo[a]carbazoles with antitumoral activity**. Rio de Janeiro, 2015. 157p. MSc. Dissertation - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

This work describes the synthesis and characterization of the 11a-Nanalogous arylsulfonil-tetrahydro-5*H*-benzo[a]carbazoles LQB223, to а previously synthesized compound by our research group that has anti-cancer and antileishmanial activity in vitro and antimalarial activity in vitro and in vivo. The key step of the reaction for obtaining the 5-methoxy-11a-N-arylsulfoniltetrahydro-5*H*-benzo[a]carbazole (97a), 6-methoxy-11a-*N*-arylsulfonil-tetrahydro-5H-benzo[a]carbazole (97b) and 7-methoxy-11a-N-arylsulfonil-tetrahydro-5Hbenzo[a]carbazole (97c) is the palladium catalyzed Heck aza-arylation reaction in the presence of silver carbonate and acetone from *N*-tosyl-o-iodoaniline (55b) and substituted dihydronaphthalenes (100a, 100b and 100c), previously prepared from commercial tetralones (84a, 84b and 84c). The compounds 5hydroxy-11a-N-arylsulfonil-tetrahydro-5H-benzo[a]carbazole (98a), 6-hydroxy-11a-N-arylsulfonil-tetrahydro-5H-benzo[a]carbazole (98b) and 7-hydroxy-11a-Narylsulfonil-tetrahydro-5*H*-benzo[a]carbazole obtained (**98c**) were by deprotection with BBr<sub>3</sub> in yields quantitative. All compounds were evaluated for anticancer activity in K562, FEPS and Lucena leukemia cell lines, which exhibit the MDR phenotype, and in breast cancer cell lines MCF-7, which expresses the estrogen receptor, and MDA-MD231.Among the compounds prepared, the compound 97b is as active as LQB223 for the antileukemic activity on K562 lines, and Lucena FEPs, however it is more effective than the LQB223 in MCF-7 (IC50 = 5.93 ± 3.58 mM) and MDA-MD231 (IC50 = 8.29 ± 2.08 uM) breast cancer lines, with low level of toxicity to healthy cells. The compound 98b presents similar activity to 97b but is toxic. The compound 98c is effective in MDA-MD231 ( $IC_{50}$ = 4,84) but, level of toxicity to healthy cells was not test yet. The reports suggest that the oxygenation pattern in the 3 position directs to the anticancer activity to the breast cancer lines.

### Keywords

Breast cancer; leukemia; 11a-N-arylsulfonil-tetrahydro-5Hbenzo[a]carbazoles; aza-Heck arylation; palladium.

# Sumário

1 Introdução	23
1.1 CÂNCER	23
1.1.1 QUIMIOTERAPIA DO CÂNCER	24
2 Alcaloides	29
2.1 Benzocarbazóis	33
3 Síntese dos benzocarbazóis	39
3.1 Aza-arilação de Heck	39
3.2 Reação de Fisher indol	44
3.3 Reações em "único pote" catalisadas por cobre	47
3.4 Substituição Nucleofílica Radicalar (S <sub>NR</sub> 1)	50
4 Experiência prévia do grupo	53
5 Objetivos Gerais	56
6 Objetivos específicos	57
7 Estratégia sintética	58
8 Justificativa	60
9 Resultados e discussão	65
9.1 Síntese dos produtos 97a, 97b e 97c	65
9.2 Análise dos espectros dos produtos 97a, 97b, 97c.	73
9.2 Síntese dos fenóis 98a, 98b, 98c	76
9.4 ANÁLISE FARMACOLÓGICA	83
9.5 Avaliação do efeito citotóxico em células de câncer de mama (linhagens MCF-7, MDA-MB-231).	
9.6 Avaliação do efeito citotóxico dos compostos 97a,97b,97c, 98b e 98a (linhagens K562 e Lucena I)	88

9.7 Resistência de células mononucleares de sangue periférico	04
frente aos produtos 98b e 97b	91
9.8 Resultados dos IC <sub>50</sub> em linhagens de câncer de mama e	00
	92
10 Perspectivas	94
11 Conclusões	95
12 Experimental	96
12.1 Materiais e métodos	96
12.2 Procedimentos experimentais:	97
13 Referências bibliográficas	107
Anexo: Seção de espectros	116

### Lista de Abreviaturas

A549	Linhagem de célula de pulmão
ΑΡΤ	Attached-Proton-Test
ATP	adenosina trifosfato
δδ	deslocamento químico
CAN	cerium amonium nitrate (nitrato de cério e amonio)
COSY	Correlation spectroscopy
CYP 450	citocromo P450
CDDP	Cisplatina
DNA	Desoxiribonucleic acid (ácido desoxiribonucleico)
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
d	dupleto
dd	duplo dubleto
dt	duplo tripleto
DNR	Daunorrubicina
EM	Espectrometria de massas
ESI	Electrospray ionization
ERα	receptor de estrogênio alfa
ERβ	receptor de estrogênio beta
GC-MS	Gas chromatography- mass spectrometry (cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas)
GSH	glutationa
GLOBOCAN	Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide
HeLa	linhagem celular epitelial de carcinoma de cólon de útero
HCA	ácido homocisteico
Hz	Hertz

HL-60	Linhagem de célula de leucemia pró-mielocítica
НСТ	Linhagem de célula de câncer de cólon
HSQC	Heteronuclear single quantum coherence
HT22	linhagens de células neuronais
IBqM	Instituto de Bioquímica Médica
IC50	concentração da substância para produzir 50% do efeito
INCA	Instituto Nacional do câncer
J	constante de acoplamento
K562	Linhagem de eritroleucemia humana
L	ligante
LQB	Laboratório de Química Bioorgânica
KPS	kinesin spindle protein
MAO	monoamina oxidase
MCF	Linhagem de célula maligna derivada de mama
MDA-MB435	Linhagem de célula tumoral de melanoma
MDA-MB231	Linhagem de tumor de mama triplo negativo
MDR	Multidrug resistance
m/z	massa/carga
Ме	metila
IPPN	Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais
OMS	Organização Mundial de Saúde
OAc	acetato
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells (células monoclueadas do
	sangue periférico)
PHA	phytohemagglutinin (fitohemaglutinina)

ppm	parte por milhão de frequência aplicada
PUC-Rio	Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro
PEG 400	Polyethylene glycol 400
q	quarteto
R	substituinte orgânico
RNA	ácido ribonucléico
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
S <sub>NR</sub> 1	Substituição Nucleofílica Radicalar
SN <sub>2</sub>	Substituição nucleofílica bimolecular
S	Simpleto
SF	Linhagem de célula de glioblastoma
t	tripleto
t.a	temperatura ambiente
t.d	tripleto de dupleto
TE	transferência eletrônica
THF	tetraidrofurano
TLC	Thin layer chromatography
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
VCR	vincristina
WHO	World Health Organization

# Lista de Figuras

Figura 1: Incidência e mortalidade de alguns cânceres no Brasil	
(Adaptado de GLOBOCAN 2012)	24
Figura 2: Mecanismos e locais de ação de alguns agentes	
antineoplásicos (Adaptado de Goodman & Gilman, 2010).	25
Figura 3: Antibióticos antracíclicos intercalantes de DNA	26
Figura 4: Estrogênios endógenos	27
Figura 5: Classificação de alcaloides em protoalcaloides e	
alcaloides verdadeiros	30
Figura 6: Alcaloides naturais e sintéticos com ação antineoplásica	32
Figura 7: Variação estrutural dos benzocarbazóis	33
Figura 8: Benzo[a]carbazóis com ação contra o câncer de mama.	34
Figura 9: Benzo[a]carbazóis com ação anticâncer em linhagens:	
A549 e HCT 116	35
Figura 10: Benzo[a]carbazóis 22a e 22b inibidores da tirosina	
quinase	36
Figura 11: Benzo[a]carbazóis com ação neuroprotetora.	36
Figura 12: Benzo[a]carbazóis com ação anti-dopaminérgica.	37
Figura 13: Benzo[a]carbazóis 25 e 26 com ação antidepressiva	37
Figura 14: Benzo[a]carbazóis que atuaram como antídoto do	
zoxazolamine.	38
Figura 15: compostos sintetizados pelo grupo de pesquisa	
LQB-IPPN-UFRJ	53
Figura 16: Estudo estrutura-reatividade do LQB 223 por Buarque	
colaboradores.	55
Figura 17: Substância alvo deste trabalho	57
Figura 18: Isoflavonóides isolados de Platymiscium floribundum	
com ação anticâncer	61
Figura 19: Tetracíclicos com ação antiestrogênica	61
Figura 20: Interação da ligação agonista (cor amarela ) e ligação	
antagonista (cor rosa) com o receptor de estrogênio (adaptado de	
MEEGAN;LLOYD,2003)	62

Figura 21: LQB 192 (94) e a quinona análogo do LQB 223 (96)	62
Figura 22: Caracterização dos compostos 107a, 107b, 107c	
e 107d.	67
Figura 23: Multipleto surgido no composto <b>107d</b> na região	
6,72-6,65	68
Figura 24: Caracterização dos compostos <b>100a</b> , <b>100b</b> , <b>100c</b>	
e 100d.	69
Figura 25: Cromatograma do produto <b>97c</b> após coluna	
cromatográfica	71
Figura 26: Espectro de massas do produto <b>97d.</b>	72
Figura 27: Estrutura dos compostos <b>97a</b> , <b>97b</b> , <b>97c.</b>	73
Figura 28: Proposta de fragmentação das substâncias <b>97a</b> , <b>97b,</b>	
97c no espectro de massas.	76
Figura 29: Conformação do produto <b>98c</b> pelo chem draw Pelo	
método Gauss View.	78
Figura 30: Proposta de fragmentação das substâncias <b>98a</b> , <b>98b,</b>	
98c no espectro de massas.	79
Figura 31: Substâncias avaliadas quanto à atividade em ensaios	
in vitro	83
Figura 32: Efeito dos benzo [a] carbazóis <b>97a, 97b</b> , <b>97c</b> , <b>98b</b> e do	
LQB 223 (96) na viabilidade celular de linhagem MCF-7, tumor de	
mama responsivo a hormônios utilizando DNR – daunorrubicina	
300 μg/mL e CDDP – cisplatina 10 mM como controle.	85
Figura 34: Efeito dos benzo [a] carbazóis <b>97a, 97b</b> e <b>97c</b> e do	
LQB 223 (96) na viabilidade celular nas linhagens de MDA-MB-231,	
tumor de mama triplo negativo, irresponsivo a hormônios utilizando	
DNR – daunorrubicina 300 µg/mL e CDDP – cisplatina 10 µM como	
controle.	87
Figura 35: Efeito dos benzo[a]carbazóis <b>97a, 97b</b> , <b>97c, 98a e 9b</b> na	
viabilidade celular nas linhagens de K562, leucemia mieloide crônica	
utilizando DNR – daunorrubicina 300 μg/mL e VCR, vincristina	
60 μM como controle.	89
Figura 36: Efeito dos benzo[a]carbazóis 97a, 97b ,97c, 98a e	
98b na viabilidade celular nas linhagens de Lucena-1, LMC	

multirresistente. DNR – daunorrubicina 300 μg/mL e VCR,	
vincristina 60 μM como controle.	90
Figura 37: Efeito dos benzo[a]carbazóis <b>98b e 97b</b> na viabilidade	
celular viabilidade de células mononucleares de sangue periférico	
utilizando como controle DNR – daunorrubicina 300 µg/mL e	
ativados por PHA – mitógeno, 5 mg/mL.	91
Figura 38: Proposta para ensaios <i>in vivo</i>	94

# Índice de Esquemas

Esquema 1: Biossíntese dos alcaloides verdadeiros ou	
protoalcaloides	31
Esquema 2: Aza-ariladutos de Heck sintetizados por Larock e	
colaboradores.	40
Esquema 3: Ciclo catalítico da reação de aza-Heck	
(Adaptado de Buarque, 2010).	41
Esquema 4: Ciclo catalítico da reação de Heck	
(Adaptado de BORSINI, 2010)	42
Esquema 5: Reações entre olefinas e orto-iodoanilina	
substituídas(adaptado de Buarque, 2010)	43
Esquema 6: Aza-arilação de alcadienos descrita por Larock e	
colaboradores	44
Esquema 7: Reação de Fisher Indol	45
Esquema 8: Proposta mecanística da reação Fisher Indol	46
Esquema 9: Síntese de Fisher Indol entre cromanonas 69a	47
Esquema 10: Síntese de benzo[a]carbazois catalisadas por cobre	48
Esquema 11: Ciclo catalítico da reação com cobre proposta	
por Zhu e colaboradores.	49
Esquema 12 Método de Olofsson para síntese de iodo hipervalente	49
Esquema 13: Mecanismo geral das reações de S <sub>NR</sub> 1	
(adaptado de Rosso et al.,2003)	50
Esquema 14: síntese de Benzocarbazóis via reação de S <sub>NR</sub> 1	51
Esquema 15: Mecanismo de S <sub>NR</sub> 1 proposto por Gúio	
e colaboradores.	52
Esquema 16: Estratégica sintética para obtenção de	
5,6 e 7-metóxi-N-tosiltetrahidrobenzocarbazóis (97a, 97b e 97c)	58
Esquema 17: Estratégica sintética para obtenção dos	
5,6 e 7-hidróxi- <i>N</i> -tosi-tetrahidrobenzocarbazóis (98a, 98b, 98c).	59
Esquema 18: Estratégia sintética para obtenção da N-tosil-5,8-p-	
benzo[a]carbazolquinona (99)	59

Esquema 19: Mecanismo proposto para formação da espécie	
aceptora de Michael a partir do composto 99	
(Adaptado de Buarque , 2010)	64
Esquema 20: Compostos 97a, 97b e 97c sintetizados a	
partir da reação de aza-arilação de Heck.	65
Esquema 21: Síntese do N-tosil-orto-iodo anilina (55b).	66
Esquema 22: Redução das tetralonas 84	66
Esquema 23: Preparação das olefinas 100a, 100b, 100c e 100d.	68
Esquema 24: Reação de Aza-arilação entre os diidronaftalenos	
(100) substituídos e <i>N</i> -tosil- <i>orto</i> -iodo anilina (55b)	70
Esquema 25: Síntese dos fenóis 98a, 98b e 98c.	77
Esquema 26: Mecanismo proposto para a desmetoxilação.	77
Esquema 27: Tentativa de obtenção da N-tosil-5,8-p-	
benzo[a]carbazolquinona ( <b>99</b> ) com Sal de Fremy	80
Esquema 28: Síntese das quinonas 109a, 109c, 109b,109d	
proposta por Mostaghim e colaboradores	81
Esquema 29: Síntese de quinonas 111 e 113 propostas por	
Uliana e colaboradores	81
Esquema 30: Síntese de quinonas 115,117, 119,121 e 123	
com Sal de Fremy	82
Esquema 31: Proposta de novos análogos	94

# Índice de Espectros

Espectro 1 :RMN <sup>1</sup> H do LQB 223	117
Espectro 2: RMN <sup>1</sup> H do produto (55b)	118
Espectro 3: RMN <sup>1</sup> H do produto (107a)	119
Espectro 4: RMN <sup>1</sup> H do produto (100a)	120
Espectro 5: RMN <sup>1</sup> H do produto (97a)	121
Espectro 6: RMN <sup>13</sup> C Dept 90 do produto (97a)	122
Espectro 7: RMN <sup>13</sup> C Dept 135 do produto (97a)	123
Espectro 8: RMN <sup>13</sup> C do produto (97a)	124
Espectro 9: Espectro de massas de baixa resolução produto (97a)	125
Espectro 10: RMN <sup>1</sup> H do produto (107b)	126
Espectro 11: RMN <sup>1</sup> H do produto (100b)	127
Espectro 12: RMN <sup>1</sup> H do produto (97b)	128
Espectro 13: COSY <sup>1</sup> H do produto (97b)	129
Espectro 14: HSQC do produto (97b)	130
Espectro 15: RMN <sup>13</sup> C do produto (97b)	131
Espectro 16: Espectro de massas de baixa resolução do produto (97b)	132
Espectro 17: RMN <sup>1</sup> H do produto (107c)	133
Espectro 18: RMN <sup>1</sup> H do produto (100c)	134
Espectro 19: RMN <sup>1</sup> H do produto (97c)	135
Espectro 20: RMN <sup>13</sup> C do produto (97c)	136
Espectro 21: Espectro de massas de baixa resolução do produto (97c)	137
Espectro 22: RMN <sup>1</sup> H do produto (107d)	138
Espectro 23: RMN <sup>13</sup> C do produto (107d)	139
Espectro 24: RMN <sup>1</sup> H do produto (100d)	140
Espectro 25: RMN <sup>13</sup> C do produto (100d)	141
Espectro 26: RMN <sup>1</sup> H do produto (98a)	142
Espectro 27: RMN <sup>13</sup> C do produto (98a)	143
Espectro 28: Espectro de massas do produto (98a)	144
Espectro 29: Espectro de massas de alta Resolução (98a)	145
Espectro 30: Infravermelho do produto (98a)	146
Espectro 31: RMN <sup>1</sup> H do produto (98b)	147
Espectro 32: RMN <sup>13</sup> C do produto (98b)	148
Espectro 33: Espectro de massas de baixa resolução do produto (98b)	149
Espectro 34: Espectro de massas de alta Resolução (98b)	150

Espectro 35: Infravermelho do produto (98b)	151
Espectro 36: RMN <sup>1</sup> H do produto (98c)	152
Espectro 37: COSY <sup>1</sup> H do produto (98c)	153
Espectro 38: RMN <sup>13</sup> C do produto (98c)	154
Espectro 39: Espectro de massas do produto (98c)	155
Espectro 40: Espectro de massas de alta resolução do (98c)	156
Espectro 41: Infravermelho do produto (8c)	157

## Ìndice de Tabelas

Tabela 1: Resultado obtido em linhagem anticâncer <i>in vitro</i>	
(valores de IC <sub>50</sub> em μM).	53
Tabela 2: Deslocamento químico e multiplicidade dos hidrogênios	
dos 107a, 107b, 107c e 107 d.	67
Tabela 3: Deslocamento químico e multiplicidade dos hidrogênios	
dos 100a, 100b, 100c e 100d.	69
Tabela 4: Condições reacionais para a obtenção compostos <b>97a</b> ,	
97b, 97c.	70
Tabela 5: Deslocamento químico e multiplicidade dos hidrogênios	
dos <b>97a, 97b, 97c.</b>	74
Tabela 6: Deslocamento químico em RMN <sup>13</sup> C dos <b>97a, 97b, 97c.</b>	75
Tabela 7: Condições reacionais para a obtenção dos compostos <b>98a</b> ,	
<b>98b</b> , <b>98c</b> empregando 5 equivalentes de BBr <sub>3.</sub>	78
Tabela 8: Efeito dos compostos <b>97a,97b,97c</b> , <b>98b,98c</b> em linhagens	
de câncer de mama Os resultados são reportados em valores de	
IC50±DP. (IC <sub>50</sub> valor em $\mu$ M)	92
Tabela 9: Efeito citotóxico dos compostos LQB223, 97b e 97b em	
células PBMC ativadas por PHA (IC <sub>50</sub> em $\mu$ M).	93

### Introdução

#### 1.1 Câncer

Com o crescimento da economia e o avanço da ciência e tecnologia, o envelhecimento da população é observado em muitos países desenvolvidos e em desenvolvimento, onde as doenças crônico-degenerativas vêm ganhando destaque ao passar dos anos, tornando-se uma preocupação mundial (INCA, 2014).

O câncer é um termo utilizado para a denominação de várias doenças que afetam qualquer parte do corpo, sendo originado a partir de um crescimento desordenado de células que provoca mutações. São contabilizados 8,2 milhões de mortes em todo o mundo e espera-se um aumento de 70% para as próximas duas décadas. A maioria dos novos casos registrados de câncer no mundo ocorrem na África, Ásia e América Central e do Sul. As causas de câncer podem ser evitadas a partir de estratégias baseadas em prevenção, detecção precoce e tratamento de pacientes diagnosticados (WHO, 2014).

No Brasil, dentre todos os tipos de cânceres registrados no país, excluindo o câncer de pele não-melanona, o câncer de próstata é o mais incidente entre os homens e o câncer de mama é o mais frequente entre as mulheres (Figura 1).



Figura 1: Incidência e mortalidade de alguns cânceres no Brasil (Adaptado de GLOBOCAN 2012)

A estimativa para 2014, válida também para 2015, é de 576 mil novos casos de câncer, com maior incidência para o de pele, próstata e mama feminino. Entre as mulheres, estima-se 57 mil casos novos de câncer de mama com um risco de 56,09 a cada 100 mil mulheres, sendo o câncer de maior incidência entre as brasileiras (INCA, 2014). Cabe ressaltar o grande aumento em relação a 2008, período no qual estimava-se 49 mil casos.

O câncer de mama apresenta a maior prevalência em 145 países, tornando-se o recordista perante o câncer de colo de útero e o da tireoide em mulheres de 185 países pesquisados no período de 2008. (BRAY *et al.*, 2013). Nos Estados unidos, conforme dados do GLOBOCAN 2012, a estimativa de mortalidade por câncer de mama é 43,909 mil, enquanto no Brasil é de 16,412 mil mulheres por ano (GLOBOCAN, 2012), sendo que a sobrevida no Brasil é ainda de 80%, valor relativamente baixo quando comparado com países desenvolvidos como a Inglaterra cuja a sobrevida é de 95%. (INCA, 2014).

#### 1.1.1 QUIMIOTERAPIA DO CÂNCER

O tratamento com quimioterapia é usualmente prescrito em protocolos compostos por mais um medicamento. Os efeitos colaterais são controlados por doses apropriadas para obter uma melhor resposta terapêutica e melhora do estado do paciente (SAWADA *et al.*, 2009). Os fármacos possuem diferentes

mecanismos de ação molecular (Figura 2). Os agentes alquilantes, por exemplo, atuam afetando a síntese de DNA e a divisão celular interferindo na integridade do DNA devido ligações interfilamentares, impedindo, portanto, a replicação celular causando a morte de células anormais. (ALMEIDA *et al.*, 2005; GOODMAN; GILMAN, 2010).



Figura 2: Mecanismos e locais de ação de alguns agentes antineoplásicos (Adaptado de Goodman & Gilman, 2010).

Os inibidores da síntese de RNA e DNA são os análogos das pirimidinas, como por exemplo, a fluouracila, que tem a sua ação baseada no bloqueio da síntese de trifosfato de timidina, fundamental para a integridade do DNA, devido à interação com a timidilato sintase e o monofosfato de fluorodesoxiuridina (produto de conversão enzimática da 5-fluoruracila) (GOODMAN; GILMAN, 2010).

Entre os agentes intercalantes de DNA estão os antibióticos antracíclicos, substâncias naturais derivadas do fungo *streptococcus peucetius var. caesius* que são capazes de intercalar-se com o DNA inibindo a sua replicação e a transcrição pelo RNA. Os antracíclícos possuem em sua estrutura o grupo *p*-

quinona e a *p*-hidroquinona em anéis adjacentes que participam do ciclo redox gerando espécies radicalares de oxigênio, possibilitando a ligação com a fita de DNA. A doxurrubicina (**1a**) e a daunorrubicina (**1b**) (Figura 3) são os principais exemplos de antracíclicos utilizados para o tratamento de leucemias agudas. (CUMMINGS *et al.*, 1991; GOODMAN; GILMAN, 2010).



Figura 3: Antibióticos antracíclicos intercalantes de DNA

O Paclitaxel conhecido comercialmente como Taxol®, é um alcaloide isolado da casca da árvore *Taxus brevifolia*. Este antineoplásico muito utilizado clinicamente para o câncer de mama tem como mecanismo de ação a ligação à subunidade da β-tubulina, promovendo a polimerização e estabilização dos microtúbulos (ALTMANN; GERTSCH, 2007).

Os microtúbulos são um dos componentes que integram o citoesqueleto, sendo importante para diversas funções biológicas como o desenvolvimento e a manutenção das células, transporte intracelular de vesículas, mitocôndrias e muitos outros componentes do meio intracelular. Existem duas classificações para os compostos que atuam nos microtúbulos: os capazes de estabilizar os microtúbulos, tal como o paclitaxel resultando no bloqueio do ciclo celular, isto é, na fase G2/M com consequente apoptose de células proliferadas (ALTMANN; GERTSCH, 2007; SURAPANENI; DAS; DAS, 2012) e os que impedem a polimerização da tubulina e/ou desestabiliza os microtúbulos existentes (tais como alcaloides da vinca ou colchicina)(ALTMANN; GERTSCH, 2007). Apesar de todos os investimentos realizados para o tratamento do câncer, nem sempre a cura é alcançada. Em relação ao câncer de mama, a hormonioterapia é aplicada ao tratamento paliativo (LEAL; CUBERO; GIGLIO, 2010). Os carcinomas que surgem nas glândulas mamárias são estimulados pelo estrogênio, hormônio esteroide que normalmente exerce inúmeras funções fisiológicas. (GOODMAN; GILMAN, 2010). Os estrogênios intercedem através de dois receptores que são membros da superfamília de receptores nucleares (MEEGAN; LLOYD, 2003). Estes receptores estão localizados em cromossomos e são denominados ERα e ERβ. Ambos contribuem para a resposta na transcrição de genes através da ligação com os estrogênios(GOODMAN; GILMAN, 2010).

Os estrogênios endógenos mais potentes são o 17β estradiol (**2a**), a estrona (**2b**) e o estriol (**2c**) e estes possuem uma alta afinidade e seletividade pelos receptores devido ao grupo fenol presente no anel A da estrutura (Figura 4)(GOODMAN; GILMAN, 2010).



Figura 4: Estrogênios endógenos

A terapia para o câncer de mama consiste no uso de antiestrogênicos denominados moduladores seletivos dos receptores de estrogênio que ligam-se aos receptores ERα ou ERβ das células, levando a uma redução da transcrição dos genes regulados por este receptor, que consequentemente leva a diminuição do crescimento das células cancerígenas na mama. (KOMM, 2008; GOODMAN; GILMAN, 2010).

O antiestrogênico de referência é o tamoxifeno, cujo o mecanismo de ação consiste em competir com o estrogênio à ligação com o ERα, receptor positivo em câncer de mama. (MEEGAN; LLOYD, 2003; ZHANG *et al.*, 2015).

Embora existam muitos fármacos para o tratamento do câncer, um dos maiores obstáculos na quimioterapia é o fenômeno de resistência a múltiplas drogas que dificulta o tratamento do paciente. As células tumorais com fenótipo MDR apresentam resistência tanto a quimioterapia indicada quanto a outros fármacos que não apresentam entre si quaisquer semelhança estrutural ou ação farmacológica. O fenômeno MDR é multifatorial e está relacionado a vários mecanismos moleculares(SANTOS, 2008).

A partir desta problemática, pesquisadores do mundo inteiro buscam inovação no tratamento do câncer e de muitas outras enfermidades com o objetivo de obter a cura ou melhora do quadro do paciente.

### 2 Alcaloides

Os alcaloides são substâncias ativas isoladas de plantas na quais muitos podem ser utilizadas clinicamente (MARTHA PEREZ GUTIERREZ; MARIA NEIRA GONZALEZ; HOYO-VADILLO, 2013).

São encontrados em maioria nas Angiospermas, sendo definidos como compostos orgânicos alcalinos constituídos por bases nitrogenadas derivados de aminoácidos ou de outros precursores como os terpenos e esteróides. (DEWICK, 2002; SIMOES *et al.*, 2003; EVANS, 2009). Podem também ser encontrados em fungos, bactérias, animais marinhos, esponjas, lesmas e alguns pássaros e mamíferos. Uma das principais funções dos alcaloides é a de defesa química contra herbívoros ou predadores. Além disso, podem ser utilizados pelas plantas como herbicidas contra plantas competidoras(FATTORUSO; TAGLIALATELA-SCAFATI, 2008).

A classificação de um alcaloide pode ser realizada de acordo com a sua estrutura química e pela biossíntese. Alcaloides provenientes de aminoácidos podem ser divididos em alcaloides verdadeiros e protoalcaloides (Figura 5) (EVANS, 2009). A presença do heterociclo em sua estrutura é característica de alcaloide verdadeiro como, por exemplo, os alcaloides pirrolidínicos, pirrolizidínicos, piperidínicos, quinolizidínicos, isoquinolínicos, indólicos etc. (MORILLA, 2003; EVANS, 2009). Os protoalcaloides, entretanto, não apresentam este tipo de esqueleto heterocíclico. (EVANS, 2009).



Figura 5: Classificação de alcaloides em protoalcaloides e alcaloides verdadeiros

Na biossíntese dos alcaloides verdadeiros ou protoalcaloides, o aminoácido precursor (7) da origem ao esqueleto principal nitrogenado e a função ácida é eliminada por descarboxilação(8e). Entretanto, alguns alcaloides denominados pseudoalcaloides (8d) são derivados de terpenos, esteroides ou acetais obtidos por reações de transaminação entre os aminoácidos (Esquema 1) (DEWICK, 2002; MORILLA, 2003).



Alcaloides Verdadeiros ou Protoalcaloides

Esquema 1: Biossíntese dos alcaloides verdadeiros ou protoalcaloides

Em Química Medicinal, alcaloides são alvos de pesquisas e diversas ações biológicas são relacionadas a estes compostos: anti-inflamatória. (LIU *et al.*, 2015), antioxidante (NIKOLIĆ-KOKIĆ *et al.*, 2015), antifúngica (ATA *et al.*,

2010), antiespasmódica (GIRARDOT *et al.*, 2012), antimicrobiana (MOREL; ARAUJO; SILVA, 2002; GURUDEEBAN; RAMANATHAN; SATYAVANI, 2013; ALAMZEB *et al.*, 2015), antialérgico (CHUKAEW et al., 2008) e anti-HIV (ASHOK *et al.*, 2015). Na luta contra o câncer, muitos alcaloides isolados de produtos naturais são clinicamente utilizados para o tratamento de diferentes cânceres como é o caso dos alcaloides da vinca denominadas vimblastina (**11a**) e vincristina (**11b**), campotecina (**13a**) e o paclitaxel (**12a**) (citato anteriormente), que originou alguns de seus respectivos análogos: vinorelbina (**11c**), irinotecano (**13b**) e o docetaxel (**12b**) (Figura 6)



Figura 6: Alcaloides naturais e sintéticos com ação antineoplásica

Neste âmbito, o desenvolvimento de agentes antineoplásicos, incluindo os pertencentes a classe de alcaloides, está em constante expansão devido as promissoras ações biológicas relatadas (ABDELFATAH; EFFERTH, 2015; LI *et al.*, 2015;WADA *et al.*, 2015;ZHAO *et al.*, 2015).

### 2.1 Benzocarbazóis

Os benzocarbazóis pertencem à classe de alcaloides indólicos sendo identificados em derivados de petróleo, rochas e carvão (OLIVEIRA *et al.*, 2006; CAO *et al.*, 2010; FABOYA *et al.*, 2014). A característica principal de um benzocarbazol está ilustrada na Figura 7 na qual observa-se a presença de quatro anéis, constituindo um tetraciclo nitrogenado. Os benzocarbazóis são denominados conforme a fusão do anel D no carbazol, sendo classificados como benzo[a]carbazol (**14a**) benzo[b]carbazol (**14b**) e benzo[c]carbazol (**14c**) (ASCHE; DEMEUNYNCK, 2007).



Figura 7: Variação estrutural dos benzocarbazóis

Há décadas, os benzocarbazóis são alvos de pesquisas no tratamento do câncer(BEISLER, 1971).

Em um artigo publicado em 1986, Von Angerer e colaboradores relataram a relação de estrutura-atividade de benzo[a]carbazóis contra o câncer de mama em função da ligação aos receptores de estrogênio. Dentre uma série de compostos sintetizados, os compostos **15** e **16** apresentaram potente ação em linhagens de câncer de mama, MCF-7 com valores de inibição de crescimento

celular obtidos pelo método de contagem celular comparáveis ao Tamoxifeno (**17**), expressos em IC<sub>50</sub>=0,020±0,05µM (Figura 8) (VON ANGERER; PREKAJAC, 1986). Cabe ressaltar que a natureza tetracíclica dos benzocarbazóis faz com que estes se assemelhem muito ao hormônio estrogênio, e, portanto, ambas as estruturas interagem com o receptor de estrogênio através do mesmo local de ligação especialmente quando há estruturas com duas hidroxilas equidistantes situadas na posição 3 e 8 ou 9 do tetraciclo (VON ANGERER; PREKAJAC, 1986; ASCHE; DEMEUNYNCK, 2007; TASKIN; SEVIN, 2011).

Recentemente, Martin e colaboradores demonstraram a ação anticâncer *in vivo* do *N*-etil-2-morfolina-2,8-diidroxi-5,6-dihidrobenzo[a]carbazol (**18**) e o *N*etil-2-dimetilamino-2,8-dihidroxi-5,6-dihidrobenzo[a]carbazol (**19**), (Figura 8) Estes benzo[a]carbazóis reduziram o crescimento de até 44% dos tumores de mama em ratos em ensaios *in vivo* e em ensaios *in vitro* foi observado uma inibição de formação de colônias em concentrações de 5  $\mu$ M (MARTIN *et al.*, 2002).





Figura 8: Benzo[a]carbazóis com ação contra o câncer de mama.

Além da ação antiestrogênica os benzo[a]carbazóis são também alvo de pesquisas em outras linhagens de cânceres. Wang e colaboradores sintetizaram derivados do 11H-benzo[a]carbazol-5-carboxamida, e observaram que os compostos **21a** e **21b**, que possuem átomo de bromo na posição 2 e grupamentos amina na posição 5 (Figura 9), apresentaram potente atividade anticâncer *in vitro* em linhagens de células A549 (pulmão) e HCT-116 (cólon). Os compostos **21a e 21b** apresentaram ação em linhagens de HL-60, induzindo a apoptose celular na fase G2/M e a inserção do grupo hidroxila resultou em perda da atividade (WANG *et al.*, 2011).



Figura 9: Benzo[a]carbazóis com ação anticâncer em linhagens: A549 e HCT 116

Os benzo[a]carbazóis **22a** e **22b** (Figura 10) apresentam ação inibitória da enzima da tirosina quinase (essencial ao processo de mitose), mas, não foram ativas em linhagens de células epiteliais de carcinoma de cólon de útero (HeLa) (OISHI *et al.*, 2010).



Figura 10: Benzo[a]carbazóis 22a e 22b inibidores da tirosina quinase

Além da ação anticâncer, outras ações biológicas podem ser descritas para os benzo[a]carbazóis. Zhu e colaboradores relataram a ação neuroprotetora dos compostos **23a** e **23b** contra lesão celular induzida pelo glutamato ou ácido homocisteico (HCA) em células neuronais HT22. A substância **23a** não apresentou efeito neuroprotetor em nenhum dos ensaios realizados, enquanto o **23b** foi ativo (Figura 11). Cabe ressaltar, a presença também do grupo arilsulfonamida do tipo tosil no composto **23b**, um possível grupo farmacofórico (ZHU *et al.*, 2013a).



Inibição de células lesionadas por glutamato:  $3\mu$ M=4%; 10 $\mu$ M=16% 30 $\mu$ M=26%

Inibição de células lesionadas por HCA: 3μM=18%; 10μM=30%; 30μM=30%

Figura 11: Benzo[a]carbazóis com ação neuroprotetora.

Em estudos preliminares, Guío e colaboradores descreveram a ação de benzo[a]carbazóis **24a**, **24b** e **24c** (Figura 12) como antagonistas dopaminérgicos, realizado a partir observação comportamental em ratos por diminuir o ato de roer. Quando administrados com apomorfina, o comportamento dos animais assemelharam-se ao antipsicótico clozapina (**24**) (GUÍO *et al.*, 2011)


Figura 12: Benzo[a]carbazóis com ação anti-dopaminérgica.

Carroti e colaboradores relataram que o composto **25** (Figura 13) foi capaz de inibir a MAO com valor de IC  $_{50} = 12 \mu$ M enquanto que o **26** foi menos efetivo. A monoamina oxidase (MAO) é responsável por regular neurotransmissores, tais como a serotonina, dopamina e norepinefrina. Os inibidores da MAO são usados para o tratamento de depressão e da doença de Parkinson. (CAROTTI *et al.*, 2007).



Inibidor da MAO:IC<sub>50</sub>=12µM

Inibidor da MAO: $IC_{50}$ = 29,7µM

Figura 13: Benzo[a]carbazóis 25 e 26 com ação antidepressiva

Além destes exemplos, estudos remotos demostraram a capacidade dos benzo[a]carbazóis em diminuir o efeito de um antiespasmódico em ensaios *in vivo*. Neste estudo, os benzo[a]carbazóis substituídos no anel A e D inibiram a ação do medicamento zoxazolamine, observando-se a redução do tempo da paralisia exercida pelo fármaco no grupo controle. Grupos tratados com os benzo[a]carbazóis ligados a CI ou Br independentes da posição do anel (A ou D) apresentaram melhores resultados em relação aos compostos contendo grupos desativadores como o nitro (Figura 14). Além disso, a inserção de gruposdoadores de elétrons não volumosos contribui para esta ação(BUU-HOÏ; HIEN, 1968).



Figura 14: Benzo[a]carbazóis que atuaram como antídoto do zoxazolamine.

# 3 Síntese dos benzocarbazóis

### 3.1 Aza-arilação de Heck

A aza-arilação de Heck é uma variante da reação de Heck clássica que permite a síntese de benzo[a]carbazóis através da formação de uma ligação C-C e C-N em um "único pote", sendo um método sintético interessante para obtenção de produtos naturais ou sintéticos.

A reação de Heck catalisada por paládio tem sido um marco para síntese de acoplamento entre carbono-carbono sp<sup>2</sup>-sp<sup>2</sup> pela forma versátil e aplicável a uma ampla gama de olefinas substituídas, dienos, e outros compostos insaturados para a síntese de compostos naturais, produtos farmacêuticos e polímeros (BELETSKAYA; CHEPRAKOV, 2000; DOUNAY; OVERMAN, 2003; JOHANSSON SEECHURN *et al.*, 2012 ; YANG *et al.*, 2013).

Atualmente outros catalisadores mais baratos estão sendo pesquisados para a substituição do paládio em reações de Heck como, por exemplo, o níquel (MA *et al.*, 2006; GØGSIG et al., 2012; SHUKLA *et al.*, 2015) e o cobre(CALÒ *et al.*, 2005; LI; WANG; XIE, 2005; NISHIKATA *et al.*, 2014).

A reação de aza-arilação de Heck foi primeiramente estudada por Larock e colaboradores que descreveram a síntese entre derivados da *orto*-iodo anilina e dienos empregando o paládio como catalisador para a formação de azaariladutos de Heck (Esquema 2) (LAROCK; BERRIOS-PENA; NARAYANAN, 1990; LAROCK; TU; PACE, 1998; LAROCK; YUM; REFVIK, 1998; LAROCK, 1999).



Esquema 2: Aza-ariladutos de Heck sintetizados por Larock e colaboradores.

O mecanismo proposto para a reação de aza-arilação de Heck é semelhante ao descrito por Buarque e colaboradores para a reação de oxiarilação de Heck, estudado por ESI-MS na presença ou ausência de fosfina, em que foram detectados intermediários catiônicos de paládio como o de carbopaladação **38** e o paladaciclo **39** (Esquema 3) (BUARQUE *et al.,* 2010)



Esquema 3: Ciclo catalítico da reação de aza-Heck (Adaptado de Buarque, 2010).

#### A reação consiste de 4 etapas fundamentais:

Inicialmente, ocorre a adição oxidativa. O Pd (0) reage com Ar-I (34) formando a espécie 35. Após a perda do halogênio, é gerada a espécie ativa catiônica de organopaládio (36). Esta se coordena à olefina (37) caracterizando a segunda etapa.

A terceira etapa envolve a carbopaladação sin estereosseletiva da dupla ligação no organopaládio, levando a formação de um paladaciclo catiônico intermediário **39**.

A diferença entre a aza-arilação de Heck e a reação de Heck está na última etapa, a formação da ligação C-N (heterociclização) ao invés de uma ligação C-C com formação de um novo alceno (Esquema 4)(BORSINI, 2010).



Esquema 4: Ciclo catalítico da reação de Heck (Adaptado de BORSINI, 2010)

Já foi evidenciado que esta reação só ocorre na presença de *o*iodoanilinas substituídas por grupo tosil, acetil ou mesil, ao contrário de reações de aza-arilação com a *orto*-iodoanilina não substituída, que não levam a formação do aduto de aza-Heck, conforme o Esquema 5.



B= 5 mol% Pd(OAc)<sub>2</sub>, 1 equiv. NaOAc, 0,5 equiv. nBu<sub>4</sub>NCl, 0,5 equiv. DMG, etilenoglicol, 100°C, 24 h

Esquema 5:Reações entre olefinas e orto-iodoanilina substituídas (adaptado de Buarque, 2010)

Segundo Larock e colaboradores, as reações de aza-arilação são regiosseletivas. O emprego de alcadienos gera a ligação C-N na dupla ligação do carbono mais substituído conforme equação 4 (Esquema 6), ou na dupla ligação do carbono menos impedido como observado na equação 7 (LAROCK; BERRIOS-PENA; FRIED, 1991; LAROCK; TU; PACE, 1998).



D=5% mol Pd(OAc)<sub>2</sub> e PPh<sub>3,5</sub> equiv. Na<sub>2</sub>CO<sub>3,</sub>1 equiv.*n*-Bu<sub>4</sub>NCl,DMF,100°C, 24h



Aduto de aza-arilação de Heck (65)

E=Pd(dba)<sub>2</sub> :PPh<sub>3</sub>: 1:2 mmol, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, *n*-Bu<sub>4</sub>NCI,DMA, 80°C, 72h

Esquema 6: Aza-arilação de alcadienos descrita por Larock e colaboradores

### 3.2 Reação de Fisher indol

A primeira indolização de uma aril-hidrazona foi efetuada por Hermann Emil Fischer e Jourdan em 1883. A reação de Fischer indol é uma reação clássica de obtenção de indóis e benzocarbazóis. O Esquema 7 mostra um exemplo de reação para obter o benzocarbazol **66p** a partir da condensação entre aril-hidrazinas do tipo **66a** e cetonas do tipo **66b** na presença de ácido, fornecendo as aril-hidrazonas (**66g**) (ROBINSON, 1963; SAJJADIFAR *et al.*, 2010). Esta reação envolve uma série de etapas como, protonação, formação de uma nova ligação C-C via rearranjo [3,3] sigmatrópico (**66m**) e eliminação de amônia. (SAJJADIFAR *et al.*, 2010)



Esquema 7: Esquema geral da reação de Fisher Indol

O mecanismo da reação se inicia com a formação da hidrazona **66g** via catálise ácida entre a cetona **66b** e a amina **66a**. A hidrazona tautomeriza-se formando uma enamina **66i**. Em seguida, a enamina **66i** se rearranja formando a ligação C-C com consequente quebra da ligação N-N por movimentação de elétrons em torno do anel de seis membros obtendo-se o intermediário **66j**. A próxima etapa segue com a re-aromatização de **66j** levando a formação do aminal **66m**, que sob catálise ácida conclui a última etapa que é a eliminação da amônia **66n** e a formação do indol **66p** (Esquema 8).



Esquema 8: Proposta mecanística da reação Fisher Indol

Esta metodologia é ainda muito utilizada para a síntese de compostos bioativos (SAJJADIFAR *et al.*, 2010; KOTHA; CHINNAM; ZHONG, 2012; TIWARI, 2013; KOTHA; LI; XU; PARK *et al.*, 2014; KUMAR CHINNAM, 2015).

Recentemente, a reação de Fischer indol foi empregada na síntese de um produto natural com ação contra leucemia isolado da *Robinia pseudoacacia*, a aza-medicarpina **69a** (DEJON et al., 2013) (Esquema 9).



Esquema 9: Síntese de Fisher Indol entre cromanonas 69a

Embora muito versátil, esta metodologia ainda apresenta limitações, geralmente relacionadas aos grupos ligados a aril-hidrazina. Sajjadifar e colaboradores relatam que a presença de grupos retiradores de elétrons diminui a eficiência da reação (SAJJADIFAR *et al.*, 2010). Na presença do grupo nitro, por exemplo, a reação não ocorre. A formação de outro produto por decomposição ou isomerização da aril-hidrazona pode restringir as reações de Fisher indol nestes casos(ROBINSON, 1963; BOYD; SPERRY, 2012)

### 3.3 Reações em "único pote" catalisadas por cobre

Apesar do paládio oferecer a vantagem de ser mais versátil e eficiente em reações de aminação, as reações de acoplamento C-N na presença de sais ou óxidos de cobre em estado de oxidação (I) ou (II) são muito empregadas para a síntese de produtos naturais, pois o cobre é bastante econômico (BELETSKAYA; CHEPRAKOV, 2004; DEJON *et al.*, 2013; ZHU *et al.*, 2013b).

Alguns pesquisadores descrevem que o emprego de uma nova espécie de cobre, o Cu (III) que é altamente eletrofílico, o que facilita a etapa de metalação. Este processo é mais efetivo com compostos de iodo hipervalentes por ser um oxidante forte, permitindo a oxidação do Cu (I) a Cu (III) de forma a obter um intermediário eletrofílico requerido (PHIPPS; GRIMSTER; GAUNT, 2008; MERRITT; OLOFSSON, 2009; SAMBIAGIO *et al.*, 2014).

Zhu e colaboradores empregaram o uso de iodo hipervalentes do tipo **70** e aminas alifáticas, anilinas ou sulfonamidas do tipo **72a** na presença de Cu (III) como catalisador em síntese de carbazóis e benzo[a]carbazóis, dentre estes o



11-tosil-11H-benzo[a]carbazol (**76**), em rendimento de 65% e o 11-(p-toluil)-11Hbenzo[a]carbazol **77**, em rendimento de 60% (Esquema 10).

Esquema 10: Síntese de benzo[a]carbazois catalisadas por cobre

O ciclo da reação proposto por Zhu e colaboradores é iniciado com a redução do Cu(OAc)<sub>2</sub> para Cu(I) por aminas ou por solventes, como por exemplo, o álcool isopropílico. A adição oxidativa do regente iodo hipervalente **70** fornece o intermediário **71** que pode ser atacado por aminas do tipo **72a** em meio básico. A espécie formada **73** sofre então uma eliminação redutiva para obter o produto **74**, regenerando o Cu (I). A inserção de ligantes a temperatura alta conduz a adição oxidativa intramolecular para formar o intermediário **75**. A última etapa é concluída através da eliminação redutiva formando o 11-tosil-11H-benzo[a]carbazol (**76**), e restaurando a fase inicial do ciclo (Esquema 11).



Esquema 11: Ciclo catalítico da reação com cobre proposta por Zhu e colaboradores.

O mecanismo é ainda incerto, porque o Cu pode promover transformações radicalares e não radicalares e, além disso, são dependentes da natureza do substrato (SAMBIAGIO *et al.*, 2014).

A metodologia é interessante porque o benzo[a]carbazol (**76**) foi sintetizado em 65% de rendimento na presença de cobre, mais barato que o paládio. A síntese de **70** envolve uma adaptação do método de Olofsson, (Esquema 12) (BIELAWSKI; OLOFSSON, 2007)



Esquema 12: Método de Olofsson para síntese de iodo hipervalente

### 3.4 Substituição Nucleofílica Radicalar (S<sub>NR</sub>1)

A substituição nucleofílica em aromáticos são limitadas pois dependem do substrato, do nucleófilo e das condições gerais da reação. A substituição nucleofílica radicalar ( $S_{NR}$ 1) é um excelente meio de efetuar a substituição nucleofílica de diferentes tipos de substratos aromáticos e alifáticos que apresentem bons grupos de saída e são uma alternativa metodológica para formação da ligação sp<sup>2</sup>-sp<sup>2</sup>.

O mecanismo geral de  $S_{NR}1$  consiste em uma reação entre nucleófilo com o radical resultante da clivagem da ligação RX **78** (X é usualmente um halogênio) proporcionando radicais R **79** e o ânion do grupo de partida X<sup>-</sup> **80**. A reação segue por um mecanismo de dissociação concertada, à medida que a ligação C-X é rompida, o ânion radical **81** é formado pela transferência eletrônica (Esquema 13) (COSTENTIN; HAPIOT; ME, 1999; ROSSI; PIERINI; PEN, 2003).

Em alguns casos, há a formação do ânion radical, RX <sup>••</sup> **83**, como intermediário na forma de substratos aromáticos. Entretanto, a etapa chave em reações de  $S_{NR}1$  é o acoplamento do radical R <sup>•</sup> **79** com o nucleófilo gerando o ânion radicalar o RNu <sup>••</sup> **81**. O processo é finalizado através de um processo em que um elétron é transferido do ânion radicalar para o substrato, levando à formação do produto de substituição **82**, concluindo o ciclo de propagação (Esquema 13) (COSTENTIN; HAPIOT; ME, 1999)



Esquema 13: Mecanismo geral das reações de S<sub>NR</sub>1(adaptado de Rosso et al.,2003)

Gúio e colaboradores sintetizaram benzo[a]carbazóis do tipo 86 a partir da reação entre tetralonas comerciais do tipo **84** com *o*-iodoanilinas **85** por  $S_{NR}1$  (Esquema 14).



Esquema 14: síntese de Benzocarbazóis via reação de S<sub>NR</sub>1

A síntese total consiste de quatro etapas: na primeira etapa inicia-se pela tranferência eletrônica formando um radical **88** que é originado por uma fragmentação da ligação C-I; a segunda etapa consiste da reação com o nucleófilo, o ânion radical **91** oriundo da tetralona comercial **90**, para formar a ligação C-C. O ânion radical originado na etapa anterior produz o produto de substituição **92** por transferência eletrônica para a substrato **87** que por desidratação forma o produto final na última etapa **86** (Esquema 15) (GUÍO *et al.*, 2011).



Esquema 15: Mecanismo de S<sub>NR</sub>1 proposto por Gúio e colaboradores.

As reações costumam ser de tempo curto e mesmo quando não há transferência eletrônica (TE) espontânea a partir do nucleófilo para o substrato, existe a possibilidade de a etapa ser desencadeada por fotoestimulação ou por FeBr<sub>2</sub>. Em alguns casos a foto-estimulação pode gerar produtos monosubstituídos e dissubstituídos em reações radicalares em compostos aromáticos (LUKACH; ROSSI, 1999).

Além dos rendimentos moderados de 42% a 62%, a reação necessita de DMSO seco e desgaseificado e terc-butóxido de potássio(BAROLO, SILVIA *et al.*, 2006)

# 4 Experiência prévia do grupo

A reação aza-arilação de Heck vem sendo empregada na síntese de azapetrocarpanos e benzocarbazóis por nosso grupo de pesquisa. Este trabalho vem dando continuidade ao trabalho realizado pela professora Camilla D. Buarque em sua tese de doutorado, sob orientação do professor Paulo R.R.Costa (LQB-IPPN-UFRJ) que trabalhou com reações de oxiarilação e azaarilação de Heck. A Figura 15 ilustra algumas substâncias sintetizados no LQB, cuja a arquitetura molecular é sugerida visando potencialização da ação destes candidatos a fármaco. A Tabela 1 mostra alguns resultados de ação anticâncer obtidos por estes compostos (BUARQUE *et al.,* 2011)



Figura 15: compostos sintetizados pelo grupo de pesquisa LQB-IPPN-UFRJ

LQB	HL-60	HCT-8	SF-295	MDA- MB435	K562	Lucena I	PBMC
Doxorrubicina	0,04	0,02	0,48	0,96	ND	ND	1,66
LQB 118 (93)	1,3	2,6	3,6	2,3	1,67	2,75	>20
LQB 192 (94)	7,4	0,6	3,9	0,4	5,33	5,63	23,1
LQB 226 (95)	6,1	9,0	31,5	5,0	ND	ND	ND
LQB 223 (96)	1,0	3,0	>62,5	0,5	ND	ND	7,2

Tabela 1: Resultado obtido em linhagem anticâncer in vitro (valores de IC<sub>50</sub> em µM).

ND=Não determinado, IC<sub>50</sub> (valor requerido para inibir 50% do crescimento celular).

Dentre os compostos citados na Figura 15, o **LQB 118 (93)**, desenvolvido por Netto e colaboradores (NETTO *et al.*, 2010), apresentou alto potencial anticâncer sendo ativo em todas as linhagens citadas na Tabela 1 e, além disso, revelou ser um potente antileshimanial em ensaios *in vivo* sendo, portanto alvo de estudos contínuo do grupo (MAIA *et al.*, 2011; DE SÁ BACELAR *et al.*, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2014; MARTINO *et al.*, 2014).

O LQB 118 (93) é uma substância classificada como pterocarpanquinona devido a uma hibridação entre um pterocarpano (pertencente à classe dos isoflavonoídes) e o lapachol (RIBEIRO et al., 2013). Em virtude da potente ação anticâncer do LQB 118 (93), foi desenvolvido o LQB 192 (94), denominado azapterocarpanquinona, na qual foi feita uma troca do grupo oxigênio pelo arilsulfonamida, grupo responsável pela ação biológica de muitos fármacos (BOGEN et al., 2010; BASHIR et al., 2011; DE OLIVEIRA et al., 2011; LUO et al., 2011; YANG et al., 2011; MALWAL et al., 2012; ZOUMPOULAKIS et al., 2012) MALWAL et al., 2012; NEITZEL et al., 2011; ZOUMPOULAKIS et al., 2012; AL-DOSARI et al., 2013; GHORAB et al., 2010, 2015; CARTA et al., 2015; REDDY et al., 2015). O LQB 226 (95), um aza-pterocarpano foi planejado através da estratégia de simplificação molecular (BARREIRO, 2002), para manter o grupo arilsulfonamida sem a presença do grupo p-quinona. De acordo com a tabela 1, o LQB 226 (95) não revelou ser um potente candidato à fármaco, enquanto o LQB 192 (94) apresentou melhor perfil anticâncer nas linhagens celulares estudadas. Em razão desses resultados foi proposto a troca isostérica do oxigênio do aza-pterocarpano LQB 226 (95) pelo metileno, originando o LQB 223 (96), um N-tosil-tetrahidrobenzo[a]carbazol, pertencente a classe dos alcaloides, com um grupo aril-sulfonamida. Este composto apresentou ação semelhante ao antineoplásico doxorrubicina em linhagens de células de melanoma MDA-MB435 e ação anticâncer em linhagens de leucemia (HL-60) e em linhagens de câncer de cólon (HCT-8).

Buarque e colaboradores mostraram que o grupo arilsulfonamida do tipo tosil é o provável grupo farmacofórico responsável pela ação anticâncer devido a drástica redução do efeito citotóxico após a remoção do mesmo (Figura 16) (BUARQUE *et al.*, 2014).



Figura 16: Estudo estrutura-reatividade do LQB 223 por Buarque colaboradores.

Além do estudo anticâncer, é válido ressaltar que o LQB 223 (96) apresentou ação contra os parasitos da malária (doença provocada por protozoários do gênero *plasmodium*). Ensaios *in vitro* demonstraram que o LQB 223 (96) possui ação como inibidor da *P.falciparum* topoisomerase I em parasitos CQ-resistentes (W2) E CQ-sensíveis (3D7) com valores de  $IC_{50}=10.2 \pm 1.2 \mu g/mL$  e  $IC_{50}=7.8 \pm 3 \mu g/mL$  respectivamente. Ensaios *in vivo* utilizando ratos infectados com *P.berghei* por via sanguínea em doses de 100mg/Kg ou 50 mg/Kg por 3 dias mostrou que o LQB 223 (96) reduziu a parasitemia respectivamente em 67% e 30% no quinto dia da infecção (CORTOPASSI *et al.*, 2014)

# 5 Objetivos Gerais

Tendo em vista os interessantes resultados obtidos com o LQB 223 (96), o objetivo desta dissertação foi sintentizar análogos desta substância com diferentes padrões de oxigenação no anel A e avaliar a ação anticâncer, em especial em linhagens de células de leucemia e câncer de mama. Após definir o provável protótipo, definiremos as características estruturais requeridas para as ações farmacológicas.

# 6 Objetivos específicos

O principal objetivo específico é sintetizar N-tosiltetrahidrobenzo[a]carbazóis com diferentes grupos oxigenados como hidroxilas, metoxilas ou *p*-quinona no anel A (Figura 17). Como a presença dos grupos hidroxilas e metoxilas nos compostos tetracíclicos podem ser fundamentais para a interação com receptores de estrogênio, serão inseridos estes grupos em 3 posições distintas do anel A dos benzo[a]carbazóis.



Figura 17: Substância alvo deste trabalho

O segundo objetivo é avaliar a ação antineoplásica em quatro linhagens de células de câncer: MCF-7 (responsivo a hormônios), MDA-MB-231 (tumor de mama triplo negativo), K562 (leucemia mieloide crônica), Lucena-1 (leucemia mileode crônica multiressistente) e PBMC (referente a toxicidade em células sadias). Estas linhagens foram selecionadas no Laboratório de Imunologia Tumoral (IBqM-UFRJ) coordenado pela Prof. Vivian Mary Barral Dodd Rumjanek.

# 7 Estratégia sintética

A estratégia de aza-arilação de Heck catalisada por paládio das olefinas 100a, 100b, 100c pela tosil-iodo-anilina (55b) será empregada como etapa chave na síntese dos compostos 97a, 97b ,97c Para a obtenção das olefinas 100a, 100b, 100c, partiremos de metóxi-tetralonas 84a, 84b, 84c, seguida de reações de redução e eliminação do álcool (Esquema 16).



Esquema 16: Estratégica sintética para obtenção de 5,6 e 7-metóxi-Ntosiltetrahidrobenzocarbazóis (97a, 97b e 97c)

Para a obtenção dos fenóis **98a**, **98b** e **98c**, a estratégia envolve a reação de desmetilação com BBr<sub>3</sub> a partir de **97a**, **97b** e **97c** (Esquema 17).



Esquema 17: Estratégica sintética para obtenção dos 5,6 e 7-hidróxi-*N*-tositetrahidrobenzocarbazóis (**98a**, **98b**, **98c**).

Para a obtenção do composto **99**, a estratégia consiste na oxidação do produto de **97d** com nitrato de amônio cérico (CAN), ou de **98a** com Sal de Fremy (Esquema 18).



Esquema 18: Estratégia sintética para obtenção da *N*-tosil-5,8-pbenzo[a]carbazolquinona (**99**)

# 8 Justificativa

Considerando que o grupo arilsulfonamida é o provável farmacóforo do **LQB223** (96) (BUARQUE *et al.*, 2014), faz parte da estratégia, manter este grupo na estrutura destes novos análogos.

Pesquisas revelam que grupos metoxilas e hidroxilas no anel A apresentam ação em linhagens de células leucêmicas induzindo apoptose celular e danificando o DNA (MILITÃO et al., 2006, 2007) Além dos exemplos mostrados pelo grupo do Von Angerer sobre os benzocarbazóis oxigenados no anel A e D terem ação contra o câncer de mama de forma semelhante ao fármaco tamoxifeno. (ANGERER; PREKAJAC, 1986; MARTIN et al., 2002; ASCHE; DEMEUNYNCK, 2007; TASKIN; SEVIN, 2011), existem diversos exemplos na literatura de flavonoides e isoflavonóides com ação anticâncer que mantém este padrão de oxigenação. A Figura 18 mostra alguns exemplos de isoflavonóides isolados das raízes de Platymiscium floribundum que apresentam potencial ação anticâncer em linhagens de células HL 60 (leucemia prómielocítica), HCT-8 (câncer de cólon) e MCF-7 (câncer de mama)(FALCÃO et al., 2005). Além disso, esses isoflavonóides possuem ação antiproliferativa por inibir a síntese de DNA em linhagens de células HL-60 (MILITÃO et al., 2006) e atuam em linhagens de câncer de mama, induzindo a apoptose por inibição do ciclo celular na prometafase (MILITÃO et al., 2014).



Figura 18: Isoflavonóides isolados de Platymiscium floribundum com ação anticâncer

Miller e colaboradores descreveram em uma patente a ação de diversos tetracíclicos oxigenados no anela A e D com ação antiestrogênica (Figura 19).



Figura 19: Tetracíclicos com ação antiestrogênica

De acordo com Meegan e colaboradores, estes compostos tetracíclicos oxigenados devem atuar como antagonistas, competindo com o estrogênio pela interação com os receptores ERα ou ERβ (Figura 20).



Figura 20: Interação da ligação agonista (cor amarela ) e ligação antagonista (cor rosa) com o receptor de estrogênio (adaptado de MEEGAN;LLOYD,2003)

Em relação a síntese da 5,8-benzo[a]carabazol-*p*-quinona (99), o objetivo é fazer uma simplificação molecular em relação ao composto LQB 192 (94), que foi muito ativo em determinadas linhagens de câncer, mas do ponto de vista sintético, não é interessante (Figura 21). Ademais, o composto LQB 118 (93) (NETTO *et al.*, 2010), revelando-se um potente agente anticâncer em linhagens de células leucêmicas, câncer de prostata e inclusive para outras enfermidades como a leishmaniose, também apresenta o grupo *p*-quinona (COSTA *et al.*, 2014; DE SÁ BACELAR *et al.*, 2013; MAIA *et al.*, 2011; MARTINO *et al.*, 2014).



Figura 21: LQB 192 (94) e a quinona análogo do LQB 223 (96)

As quinonas podem ser facilmente reduzida por várias enzimas a hidroquinonas (esquema 19). A bio-redução dos quinonas pode ser através de enzimas redutoras como a CYP450 redutase ocorrendo a redução de um elétron para produzir radicais semiquinona ou através de enzimas redutoras como DTdiaforase , havendo a redução de dois elétrons a hidroquinonas em condições hipóxicas. A DT-diaforase é a principal enzima responsável pela redução de dois eletrons na quinonas e é expresso em níveis elevados em muitos tumores sólidos humanos, tais como o da tiróide, supra-renal, da mama, ovário, cólon e câncer de pulmão (CHEN; HU, 2008).



Esquema 19: Redução da quinona através da CYP450 redutase e DT-diaforase (Adaptado de CHEN; HU, 2008)

Assim como descrito por Buarque e colaboradores (BUARQUE *et al.*, 2011), esperamos que o composto **99** possa formar intermediários bioalquilantes (Esquema 20)



Esquema 20: Mecanismo proposto para formação da espécie aceptora de Michael a partir do composto **99** (Adaptado de Buarque , 2010)

# 9 Resultados e discussão

### 9.1 Síntese dos produtos 97a, 97b e 97c

Conforme mencionado anteriormente, para a síntese dos *N*-tosil-benzo[a] carbazóis **97a**, **97b**, **97c** (Esquema 21), seguimos a estratégica descrita por Buarque e colaboradores para a síntese do LQB 223 (96). (BUARQUE, 2010; BUARQUE *et al.*, 2011), cuja a etapa chave é a reação de aza-arilação de Heck do diidronaftaleno (**100a**, **100b e 100c**) pela *N*-tosil-*orto*-iodo anilina (**55b)**.



Esquema 21: Compostos **97a**, **97b** e **97c** sintetizados a partir da reação de aza-arilação de Heck.

Inicialmente, preparamos o *N*-tosil-*orto*-iodo anilina (**55b**) a partir da *orto*iodo-anilina (**52**) empregando cloreto de tosila (**106**) e piridina 10% v/v em diclorometano seco. A reação ocorreu em temperatura de 45°C sob refluxo em 4h (Esquema 22). Após a recristalização com etanol e sucessivas lavagens com hexano, o produto foi obtido em 88% de rendimento. O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Espectro 2) possui o sinal característico do grupo tosila, um simpleto em 2,36 ppm com integração de 3 prótons, além dos demais hidrogênios na região do aromático com deslocamento químico em 7,6ppm e 6,8 ppm.



Esquema 22: Síntese do N-tosil-orto-iodo anilina (55b).

Para a síntese das olefinas substituídas **100a**, **100b**, **100c** e **100d** (Esquema 23), partimos de tetralonas comerciais de acordo com a metodologia descrita por JR e colaboradores (JR *et al.*, 2005).

A primeira etapa consiste na reação de redução das tetralonas obtidas comercialmente (**84a**, **84b**, e **84c**) com o borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) dissolvido em metanol à temperatura ambiente (Esquema 23). Verificou-se por TLC que o produto de partida após 40 minutos havia sido totalmente consumido.



Esquema 23: Redução das tetralonas 84

. Os rendimentos brutos foram obtidos com grau de pureza satisfatório observando-se nos espectros de RMN<sup>1</sup>H dos compostos **107a**, **107b**, **107c** (Figura 22) a presença do multipleto em aproximadamente 4,7 ppm sinal (Tabela 2) pertencente ao próton H7 gerado após a reação de redução. Para a substância **107d** (Espectro 22) este sinal do H7 aparece como um tripleto em 5,02 ppm com J=4,4Hz.



Figura 22: Caracterização dos compostos 107a, 107b, 107c e 107d.

Tabela 2: Deslocamento químico e multiplicidade dos hidrogênios dos **107a**, **107b**, **107c** e **107 d**.

Hidrogênio	δ(ppm) <i>J</i> (Hz)	δ(ppm) <i>J</i> (Hz)	δ(ppm) <i>J</i> (Hz)	δ(ppm) <i>J</i> (Hz)
	107a	107b	107c	107d
H1	6,73; dd; 8,		6,74; dd; 8, 1,	6,72-6,65; m
	1,07Hz		4,2Hz	
H2	7,20; t; 7,9Hz	6,74; dd; 8, 5,		6,72-6,65; m
		2,5Hz		
H3	7,07; d; 7,8Hz	7,07; d; 7,8Hz	7,07; d; 7,8Hz	3,84; s
H6		6,60; d; 2,2Hz	7,21-7,12 m	3,77; s
H7	4,80; m	4,71; m	4,78-4,74; m	5,02; t; 4,4Hz
H8	2,60-2,50; m e	2,82-2,73; m e	2,79-2,69; m e	2,52-2,41; m e
	2,76; dt; 10, 5,9Hz	2,72-2,62; m	2,52; dt; a14,	2,78; dd; 22, 3,
			8,7Hz	4,6
H9-H10	2,0-1,75; m	2,0-1,81; m	1,96-1,74; m	2,04-1,68; m
H 12	3,83; s	3,76; s	3,81; s	3,77

107a:Espectro 3, 107b:Espectro 10, 107c:Espectro 17, 107d:Espectro 22

Conforme observado na Tabela 2, os compostos apresentam deslocamento químico distintos no anel aromático, devido a presença do grupo metoxi, portanto, todo o hidrogênio em posição meta a este grupo doador de elétron no anel aromático será mais desblindado e visualizado em campo mais baixo.

A presença de um estereocentro em C7 resulta em hidrogênios diasterotópicos ligados a C8, apresentando deslocamentos químicos diferentes.

O composto **107d** apresenta dois sinais de simpleto correspondente aos dois grupos metoxi. Além disso, é observado um multipleto na região dos

aromáticos (Figura 23) resultante de dois dubletos com deslocamento químico muito próximo. A integração corresponde ao número de hidrogênios e o espectro de carbono (Espectro 22) confirma a presença de dois grupos metino (CH) na região dos aromáticos com deslocamento químico 109,36 ppm e 107,83 ppm somado a existência de todos os demais carbonos.



Figura 23: Multipleto surgido no composto 107d na região 6,72-6,65

Tendo os álcoois **107a**, **107b**, **107c**, **107d** em mãos, seguimos com a reação de desidratação empregando o ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) em THF destilado sob refluxo a 80°C (Esquema 24). Verificou-se por TLC que o material de partida tinha sido formado após 2h de reação, obtendo-se produtos oleosos com coloração marrom com rendimento bruto do **100b** de 94%. Devido à instabilidade do produto, é necessária a purificação com coluna de sílica gel com 1% de acetato/hexano como eluente caso o produto seja armazenado por um tempo.



Esquema 24: Preparação das olefinas 100a, 100b, 100c e 100d.

O espectro de RMN<sup>1</sup> H destes compostos é caracterizado pelo surgimento de mais dois prótons (um dubleto em 6,4 ppm e um multipleto em 6,0 ppm) e a ausência do sinal de multipleto em 4,7 ppm. (Espectros 4,11,18 e 25)



Figura 24: Caracterização dos compostos 100a, 100b, 100c e 100d.

Tabela 3: D	eslocamento	químico	е	multiplicidade	dos	hidrogênios	dos	100a,	100b,	100c
e 100d.										

Hidrogênio	δ(ppm) <i>J</i> (Hz) 100a	δ(ppm) <i>J</i> (Hz) 100b	δ(ppm) <i>J</i> (Hz) 100c	δ(ppm) <i>J</i> (Hz) 100d
H7	6,43; d, 9,6Hz	6,41; d; 9,6Hz	6,43; d, 9,5Hz	6,81; d, 9,8Hz
H8	6,02; m	5,93-5,85; m	6,07-5,99; m	6,08-6,01; m
H (metoxi)	3,83; s	3,79; s	3,83; s	3,78; s

100a: Espectro 4, 100b; Espectro 11, 100c:Espectro 18, 100d:Espectro 22

O composto **100d** apresenta um dubleto em 6,43 ppm com J=9,6 Hz, um multipleto em 6,08-6,01 ppm e um simpleto em 3,78 ppm. O espectro de RMN-C<sup>13</sup> mostra a presença de todos os carbonos somado aos dois carbonos olefínicos (CH) desblindados em 128,72 ppm e 122,17 ppm na região dos aromáticos.

A partir dos diidronaftalenos substituídos **100a**, **100b** e **100c**, realizamos a reação de aza-arilação destes com a *N*-tosil-*orto*-iodo anilina (**55b**) empregando as mesmas condições descritas por Buarque e cols., variando apenas as quantidades de equivalentes de Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> com 1,2 ou 3,0 equivalentes. As reações foram monitoradas por TLC, e após o consumo total dos reagentes, o isolamento foi realizado por uma filtração em celite para remoção do catalisador e dos sais de prata.

Cabe ressaltar que o estudo metodológico da reação de aza-arilação de Heck com inúmeros substratos foi feito em colaboração com o aluno de doutorado Julio Barcellos do LQB-UFRJ (BARCELLOS *et al.*, 2015) e alguns resultados obtidos por ele serão apresentados para efeito de comparação.



Esquema 25: Reação de Aza-arilação entre os diidronaftalenos (**100**) substituídos e *N*-tosil-*orto*-iodo anilina (**55b**)

Tabela 4: Condições	reacionais para a	obtenção	compostos \$	<b>97a</b> ,	97b,	97c.
	•		•			

Entrada	Produto	Condição	Temperatura (°C)	Tempo	Rendimento%
1	97a	А	60	20h	45
2	97a	В	60	22h	46
3	97a	С	130	10 minutos	45
4	97b	А	60	20h	35
5	97b	В	60	25h	44
6	97b	С	130	30 minutos	45
7	97c	А	60	20h	24
8	97c	В	60	20h	30
9	97c	С	130	10 minutos	55

Condição A: Pd(OAc)<sub>2</sub> 10%mol, 1,2 equivalente de Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, acetona, refluxo.

Condição B: Pd(OAc)<sub>2</sub> 10%mol, 3 equivalente de Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, acetona, refluxo.

\*Condição C: Pd(OAc)<sub>2</sub> 10%mol, 3 equivalente de Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, PEG 400. (BARCELLOS *et al.*, 2015).

De acordo com os resultados observados, foi possível perceber que os rendimentos dos produtos de aza-arilação de **97a**, **97b** e **97c** foram bem mais

baixos que o do diidronaftaleno não substituído, cujo rendimento é de 85% (BUARQUE *et al.*, 2011), evidenciando que a reação não é tão eficiente na presença de grupos doadores de elétrons. Observou-se que a purificação com coluna de sílica gel não foi o suficiente para a purificação total dos produtos, sendo acrescentada uma etapa de purificação, a recristalização.

De acordo com o CG-MS do composto **97c** (Figura 25) as impurezas que permanecem no produto após purificação por coluna cromatográfica tem massa m/z = 372,97, com tempo de retenção de 33, 71, indicando sobra de *N*-tosil-*orto*-iodo-anilina. O sinal de 47,60 é referente ao produto de aza-arilação de Heck com m/z= 405. No tempo de retenção de 50,85 com m/z = 403 é um produto de desidratação, entretanto não foi caracterizado por RMN<sup>1</sup>H.



Figura 25: Cromatograma do produto 97c após coluna cromatográfica

Como esperado, os rendimentos são maiores quando utilizados 3 equivalentes de carbonato de prata na presença de acetona e comparáveis aos rendimentos obtidos empregando 1,2 equivalentes de prata dissolvidas em PEG, descrita na Tese de Doutorado de Júlio Barcellos (BARCELLOS, 2015).

As reações empregando 1,2 equivalentes de prata na presença de acetona apresentaram rendimentos baixos, variando de 24% a 35% enquanto, quando empregado o mesmo equivalente de prata em reações dissolvidas em PEG-400, os rendimentos foram de no mínimo de 45% a 55% (BARCELLOS *et al.*, 2015)

Os rendimentos obtidos com 3 equivalentes de prata em reações empregando acetona como solvente, foram de até 46% em 20h, rendimentos semelhantes ao alcançado na presença de PEG 400.

A reação de Aza-arilação do produto **97d** empregando 1,2 equivalentes de prata apresentou rendimentos baixíssimos, em torno de 10%, observando-se olefina não reagido (**100d**) e *N*-tosil-*orto*-iodo anilina não reagido (**55b**) após 24 horas de reação, visualizados por TLC e detectados pelo CG-MS. Com o objetivo de melhorar a condição desta reação, empregamos a condição B e após 48h adicionamos mais paládio e carbonato de prata, entretanto, não observamos evolução na reação. A segunda alternativa foi utilizar PEG 400, com aumento da temperatura, porém, infelizmente não houve mudança significativa. A dificuldade está possivelmente relacionada a um impedimento estérico oferecido pelo grupo metóxi na posição 8.

Conforme o espectro de massas, o produto **97d** apresentou a massa esperada de m/z = 435 e de acordo com o mecanismo de fragmentação de massas (Figura 26), o produto foi previamente identificado. No entanto, não foi possível obter o espectro de RMN<sup>1</sup>H do produto puro porque mesmo após a purificação com coluna de sílica gel, o produto apresentava muitas impurezas e rendimentos baixíssimos, impossibilitando a recristalização.



Figura 26: Espectro de massas do produto 97d.

Somado a dificuldade da reação e ao custo financeiro da 5,8 dimetoxi tetralona não foi possível obter o produto **97d** em quantidade significativa para
prosseguir com a oxidação com o CAN (nitrato de amônio cérico) para a obtenção da quinona **99.** 

# 9.2 Análise dos espectros dos produtos 97a, 97b, 97c.

Os espectros (5,12,19) de RMN<sup>1</sup>H dos compostos **97a,97b,97c** (Tabela 5) são caracterizado pelos dois hidrogênios *cis* resultantes da inserção sin que são o dubleto em 5,40 ppm e o multipleto em 3,00 ppm.

Os multipletos em torno de 2,5 ppm com integral 2 e prótons diasterotópicos (H axial e o H equatorial) em campo alto se referem aos hidrogênios do anel alifático. A presença do simpleto em torno de 2,3 ppm é compatível com o esperado para a metila do tosil enquanto que o simpleto em torno de 3,7 ppm é característico da metila ligada ao oxigênio.



Figura 27: Estrutura dos compostos 97a, 97b, 97c.

Hidrogênio	δ(ppm) <i>J</i> (Hz) 97a	δ(ppm) <i>J</i> (Hz) 97b	δ(ppm) <i>J</i> (Hz) 97c
H6b	3,05-3,00; m	3,12-3,06; m	3,13-3,07; m
H11a	5,41; d; 8,4Hz	5,39; d; 8,5Hz	5,40; d; 8,5Hz
Hb	2,22-2,10; m	2,56-2,41; m	2,49-2,43; m
Haxial e	2,74-2,66; m e	2,12; dd; 13, 8,	2,14; dt; 11, 7,
Hequatorial	1,95-1,84 m	3,9Hz e 2,02-1,91;	3,9Hz e 2,05-
		m.	1,96; m.
Hd	2,36; s	2,36; s	2,41; s
H5	3,73; s	3,74; s	3,90; s

Tabela 5: Deslocamento químico e multiplicidade dos hidrogênios dos 97a, 97b, 97c.

97a: Espectro 5; 97b : Espectro 12, 97c Espectro 19

O resultado se confirma pela análise dos espectros de RMN<sup>13</sup>C(Tabela 6). Para a compreensão de espectros desacoplados de carbono avaliamos a substância **97a** pelas técnicas de *DEPT 135* e *DEPT 90* (distortionless enhancement by polarization transfer). No espectro 6 de *DEPT 90* podemos visualizar somente carbonos que estão ligados a um hidrogênio. Sendo assim, observamos 11 sinais referentes a estes carbonos em que 9 deles são de carbonos aromáticos, dois sinais em campo mais alto em 69,09 ppm e 39,01 ppm são referentes a CH resultantes da adição sin e dois sinais com deslocamento químico 129,57 ppm e 127,06 ppm são de carbonos CH equivalentes.

Seguimos com a análise do espectro de *DEPT 135* (Espectro 7) em que determinamos todos os carbonos com exceção dos quaternários. A técnica auxiliou na determinação dos CH<sub>3</sub> existentes, que têm sinais positivos, e os CH<sub>2</sub> com sinais negativos. Sendo assim, o carbono O-CH<sub>3</sub> apresenta deslocamento químico de 55,31 ppm, enquanto o CH<sub>3</sub> do grupo tosil apresenta o deslocamento (21,52 ppm).

O espectro de RMN-C<sup>13</sup> permite também visualizar os carbonos quaternários, sendo o mais desblindado, o C-OCH<sub>3</sub> que possui um deslocamento químico em 155,82 ppm.(Espectro 8)

Para as demais substâncias, utilizamos somente a técnica APT (Attached-Proton-Test) para a interpretação do RMN<sup>13</sup>C (Espectros 15 e 19), uma vez que são análogos (Tabela 6)

Tabela 6: Deslocamento químico em RMN<sup>13</sup>C dos 97a, 97b, 97c.



C1( Carbono (maa) (maa) (mag)δ

Carbonio	o(ppiii)	<b>O</b> (PP)	o(ppiii)	
	97 <sup>a</sup>	97b	97c	
C1	155,82	158,61	158,36	
C2	22,36	23,52	23,87	
C3	17,31	25,01	23,67	
C4	69,09	63,80	64,15	
C5	39,01	39,36	39,27	
C10	21,52	21,56	21,56	
$CH_3$ (METOXI)	55,31	55,15	55,33	

97a: Espectro 8, 97b: Espectro 15, 97c: Espectro 20.

A análise por COSY<sup>1</sup>H (Correlation spectroscopy) do composto **97b**, (Espectro 13) e o HSQC confirma todos os deslocamentos e multiplicidades descritas acima.

O espectro de massas, dos compostos **97a**, **97b**, **97c** apresenta um sinal típico da perda do grupo tosil como mostra a proposta de fragmentação da Figura 28 abaixo.



Figura 28: Proposta de fragmentação das substâncias **97a**, **97b**, **97c** no espectro de massas.

# 9.2 Síntese dos fenóis 98a, 98b, 98c

A síntese dos fenóis **98a**, **98b** e **98c** foi realizada através da reação com 5 equivalentes de BBr<sub>3</sub> a partir dos compostos **97a**, **97b**, **97c** sob atmosfera inerte, empregando as condições escritas por Malik e colaboradores (MALIK et al., 2011).



Esquema 26: Síntese dos fenóis 98a, 98b e 98c.

Esta é uma reação de desmetilação que consiste em 2 etapas: uma reação ácido-base, entre o oxigênio com boro seguida de substituição nucleofílica bimolecular (SN<sub>2</sub>). (Esquema 27)



Esquema 27: Mecanismo proposto para a desmetoxilação.

Esta reação resultou em produtos puros, sólidos e de coloração branca, em rendimentos quantitativos conforme a tabela 7. Estes produtos são instáveis e devem ser armazenados sob atmosfera inerte e no freezer.

Produto	Solvente	Temperatura	Rendimento%	Tempo
98a	$CH_2CI_2$	0°C	92	2h
98b	$CH_2CI_2$	0°C	88	2h
98c	$CH_2CI_2$	Та	98	1h

Tabela 7: Condições reacionais para a obtenção dos compostos **98a**, **98b**, **98c** empregando 5 equivalentes de BBr<sub>3</sub>.

De acordo com a tabela 7, as reações para obtenção dos produtos **98a** e **98b** foram bem sucedidas a 0°C em 2h de reação em excelentes rendimentos. Por outro lado, para o produto **98c**, a reação só ocorreu a temperatura ambiente. Uma provável explicação para a necessidade de aumentar a temperatura pode está relacionada ao impedimento estéreo existente devido ao arranjo espacial do grupamento tosil próximo ao intermediário R-OCH<sub>3</sub>BBr<sub>2</sub> (Figura 29), resultando em um aumento da densidade eletrônica em torno do carbono saturado, consequentemente aumentando a energia livre de ativação da reação, retardando, portanto, o ataque do nucleófilo e a formação do estado de transição.



Figura 29: Conformação do produto **98c** pelo chem draw Pelo método Gauss View.

A ausência dos simpletos em 3,7 ppm nos espectros de RMN<sup>1</sup>H dos compostos **98a**, **98b** e **98c** indica a presença dos fenóis. Adicionalmente o

espectro de Infravermelho permitiu a visualização da banda larga em 3451 cm<sup>-1</sup> que é característica do estiramento axial da ligação O-H (Espectros 30, 35, 41).

No espectro de massas, os compostos **98a**, **98b**, **98c** apresentam uma fragmentação é referente a perda do tosil semelhante aos compostos com grupo metoxi como mostra a proposta de fragmentação da Figura 30.



Figura 30: Proposta de fragmentação das substâncias **98a**, **98b**, **98c** no espectro de massas.

Os produtos **98a**, **98b** e **98c** também foram analisados em espectros massa de alta resolução, obtendo o valor calculado de [M+Na] 414.1134, [M+Na] 414.1138, [M+Na] 414.1134 respectivamente conforme espectros 29, 34, 40.

### 9.3

### Tentativa de obtenção da N-tosil-5,8-p-benzo[a]carbazolquinona (99)

Para a tentativa de obtenção do *N*-tosil-5,8-p-benzo[a]carbazolquinona (99) a partir do fenol 98a com sal de Fremy (nitrosodissulfonato de potássio), empregamos as condições descritas por ComPain-Batissou e colaboradores (COMPAIN-BATISSOU et al., 2004).



Esquema 28: Tentativa de obtenção da *N*-tosil-5,8-*p*-benzo[a]carbazolquinona (**99**) com Sal de Fremy

Alguns relatos da literatura demonstram que o pH do meio estabiliza o composto sal de fremy (DEYA *et al.,* 1987; GIETHLEN; SCHAUS, 1997). Mediante esta informação, preparamos uma solução tampão-fosfato pH 5,8 e adaptamos as condições realizadas por Deya e colaboradores empregando 2,5 equivalentes do sal de fremy (DEYA *et al.,* 1987). A reação foi mantida a temperatura ambiente por 2 horas e monitorada por TLC. Infelizmente, após verificar o espectro de RMN-<sup>1</sup>H e o espectro de massas, percebemos apenas a presença do material de partida.

A obtenção de *p*-quinonas a partir de fenóis é um método clássico e existem diversos exemplos na literatura. Mostaghim e colaboradores descreveram a síntese de diversas p-quinonas substituídas do tipo **115** empregando peróxido de hidrogênio em presença de acetato de cobaltoII ou acetato de manganês II (Esquema 29)(MOSTAGHIM; AHMADIBENI, 2003). Os rendimentos variaram entre 45% e 75% dependendo da natureza do substituinte



Esquema 29: Síntese das quinonas **109a**, **109c**, **109b**,**109d** proposta por Mostaghim e colaboradores

Uliana e colaboradores descreveram o emprego de diversos oxidantes, incluindo complexos de rutênio. A *p*-quinona 119 foi obtida em 62% de rendimento.



Esquema 30: Síntese de quinonas 111 e 113 propostas por Uliana e colaboradores

Para a obtenção de carbazóis-quinonas (**115, 117, 119, 121,123**), foi utilizado com sucesso o oxidante Sal de Fremy. Os produtos foram obtidos em rendimentos que variaram em 42 a 76% de rendimento em baixos tempos de reação, (Esquema 31) (ZIMMER; LANKIN; HORGAN, 1971; COMPAIN-BATISSOU et al., 2004).



Esquema 31: Síntese de quinonas 115,117, 119,121 e 123 com Sal de Fremy

# 9.4 ANÁLISE FARMACOLÓGICA

Com o objetivo de testar a resistência das células a uma substância sintética e estabelecer um modelo de avaliação do efeito antitumoral, o Dr° Eduardo Salustiano Jesus dos Santos pesquisador do Laboratório de Imunologia Tumoral (IBqM-UFRJ), realizou ensaios *in vitro* dos produtos **97a,97b,97c** e o fenol **98b** em linhagens de câncer de mama (MDA-MB-231 e MCF-7) (JORDAN, 1997), e leucemia mieloide crônica (K562 e Lucena-1) (RUMJANEK; TRINDADE; WAGNER-SOUZA, 2001; DAFLON-YUNES *et al.*, 2013; ANGELO *et al.*, 2014) com diferentes concentrações das substâncias usando o LQB 223 para comparação.



Figura 31: Substâncias avaliadas quanto à atividade em ensaios in vitro

# 9.5 Avaliação do efeito citotóxico em células de câncer de mama (linhagens MCF-7, MDA-MB-231).

A linhagem MCF-7 é amplamente utilizada em estudos de câncer de mama *in vitro*, pois essas células apesar de tumorais têm conservadas

característica particulares do epitélio mamário e refere-se a um tumor de mama responsivo a hormônios.

Conforme os resultados ilustrados na Figura 33, o composto **97b** apresentou uma viabilidade celular inferior a 50% em concentrações a 5 µM enquanto na mesma concentração nenhuma das substâncias apresentaram citotoxidade.

O produto **97b** possui uma estrutura semelhante ao tamoxifeno, sugerindo uma interação com os receptores de estrogênios existentes nestas linhagens.



Figura 32: Efeito dos benzo [a] carbazóis **97a**, **97b**, **97c**, **98b** e do **LQB 223 (96)** na viabilidade celular de linhagem MCF-7, tumor de mama responsivo a hormônios utilizando DNR – daunorrubicina 300 µg/mL e CDDP – cisplatina 10 mM como controle.

A outra linhagem importante na análise celular do câncer de mama é a linhagem de MDA-MB-231, que se refere ao tumor de mama triplo negativo, irresponsivo a hormônios. Neste ensaio, o composto **98b** apresentou um nível maior de citotoxidade nesta linhagem, pois foi observada uma viabilidade celular inferior a 40% em concentrações mínimas como de 2,5 µM, enquanto para os demais compostos, a viabilidade celular é superior a 50% em todas as concentrações dos compostos estudados, sendo a única exceção o **LQB 223** (**96**) que em concentração de 10 µM apresentou uma atividade citotóxica relevante.

Para esta linhagem celular, de acordo com os resultados obtidos é observado que a atividade do **LQB 223** (96) pode ser altamente potencializada com uma inserção da hidroxila no anel A.



Figura 33: Efeito dos benzo [a] carbazóis **97a, 97b** e **97c** e do **LQB 223** (**96**) na viabilidade celular nas linhagens de MDA-MB-231, tumor de mama triplo negativo, irresponsivo a hormônios utilizando DNR – daunorrubicina 300  $\mu$ g/mL e CDDP – cisplatina 10  $\mu$ M como controle.

De forma geral, o composto **98b** foi o que apresentou maior potência quanto à ação antitumoral frente à linhagem MDA-MB-231. Este dado está condizente com a literatura, que sugere a necessidade de um esqueleto tetracíclico e um padrão oxigenado nas posições 3 e 8 (VON ANGERER; PREKAJAC, 1986).

## 9.6 Avaliação do efeito citotóxico dos compostos 97a,97b,97c, 98b e 98a (linhagens K562 e Lucena I)

Os dados da Figura 35 mostraram que o **97b** exibiu um efeito citotóxico superior as demais substâncias manifestando uma viabilidade celular em torno de 25% com concentração de apenas 5µM, enquanto na mesma concentração o composto **98b** apresentou viabilidade de 40%

Os compostos **97a** e **98a** apresentaram viabilidade abaixo de 50% somente em concentrações a partir de 20µM. Em contrapartida, o composto **97c** atinge uma viabilidade inferior a 40% em uma concentração de 10µM.

Os compostos **97b** e **98b** demonstraram um melhor perfil nestas linhagens. No entanto, os dados revelam que a inserção do grupo metoxi contribui para um efeito citotóxico mais significativo que composto fenólico. O composto **97b** possui maior ação citotóxica que o seu correspondente fenólico **98b.** 



Figura 34: Efeito dos benzo[a]carbazóis **97a, 97b** ,**97c, 98a e 9b** na viabilidade celular nas linhagens de K562, leucemia mieloide crônica utilizando DNR – daunorrubicina 300 µg/mL e VCR, vincristina 60 µM como controle.

Em linhagens de Lucena-1, LMC multirresistente o produto **97b** mostrou o melhor perfil citotóxico em comparação aos demais com uma viabilidade celular inferior a 40% em 5 µM. O produto **98b** na mesma concentração, apresentou viabilidade superior a 40%. E os demais produtos **97a,97c** e **98a**, a viabilidade celular foi superior a 50% em 5 µM.









Figura 35: Efeito dos benzo[a]carbazóis **97a**, **97b** ,**97c**, **98a** e **98b** na viabilidade celular nas linhagens de Lucena-1, LMC multirresistente. DNR – daunorrubicina 300 µg/mL e VCR, vincristina 60 µM como controle.

## 9.7 Resistência de células mononucleares de sangue periférico frente aos produtos 98b e 97b

Para que os agentes quimioterápicos possuam aplicabilidade no tratamento de pacientes com câncer é necessário testar as substâncias em estudo em células não tumorais com o intuito de observar a toxicidade destes compostos (SANTOS, 2008). Tendo em vista os resultados ilustrados na Figura 37, a substância **97b** revelou ser menos tóxica para células normais pois apresentou viabilidade celular em presença de PHA semelhantemente ao PHA negativo. No entanto, o composto **98b** revelou ser mais tóxica para as células sadias, mostrando uma diminuição da viabilidade celular em relação ao PHA negativo.



Figura 36: Efeito dos benzo[a]carbazóis **98b e 97b** na viabilidade celular em células mononucleares de sangue periférico utilizando como controle DNR – daunorrubicina 300 µg/mL e ativados por PHA – mitógeno, 5 mg/mL.

### 9.8 Resultados dos IC<sub>50</sub> em linhagens de câncer de mama e leucemia

Os valores de  $IC_{50}$  na Tabela 8 e revela o forte efeito da polaridade no anel A. O produto **97b** possui em linhagens de câncer de mama MDA-231 maior ação anticâncer que os demais produtos com grupos metoxi inseridos no anel A e melhor ação que todos os demais produtos em MCF-7. No entanto, na linhagem MCF-10A o LQB 223, apresentou melhor ação anticâncer que os demais produtos.

Tabela 8: Efeito dos compostos **97a,97b,97c,98b,98c** em linhagens de câncer de mama Os resultados são reportados em valores de IC50±DP. (IC<sub>50</sub> valor em  $\mu$ M)

Composto	MDA-MB- 231	MCF-7	MCF-10A	K562	Lucena-1	FESP	PBMC
LQB 223	31,71±3,68	17,96±5,76	6,15±1,08	2,90±065*	2,49±0,14*	2,12±0,73*	>30
97a	>40	27,35	ND	11,29±1,66	12,75±0,28	11,16±0,70	ND
97b	8,29±2,08	5,93±3,58	21,94±6,85	2,91±0,40	4,54±0,28	2,58±0,44	>40
97c	27,02	34,95	ND	8,09±2,51	10,05±0,02	7,90±2,06	ND
98a	ND	ND	ND	11,27	6,55	7,35	ND
98b	>40	16,62	33,83	2,82	3,54	2,90	>20
98c	4,84	>40	ND	13,23	26,27	8,83±0,74	ND

 $IC_{50}$ =quantidade necessária para inibir 50% do crescimento celular. \* $IC_{50}$  reportado em trabalhos recentes (Buarque et al., 2014). ND= Não determinado

O composto **98c** apresentou melhor ação anticâncer em linhagens de MDA-MB231, semelhantemente ao **98b** em ensaios de citotoxidade reportados na Figura 34.

Conforme os dados da tabela, o composto **98b** demostrou um excelente perfil anticâncer em linhagens de células leucêmicas assim como composto **97b**,

no entanto de acordo com os ensaios de toxicidade reportados na Figura 37, o análogo **98b** é tóxico para as células sadias.

A Tabela 9 ilustra a bioseletividade do LQB 223, 97b e 98b em células PBMC ativadas por PHA.

Composto	РВМС	PBMC/ MDA-MB- 231	PBMC/MCF-7	PMBC/MCF-10A	PBMC/K562	PBMC/Lucena-1	PBMC/FESP
LQB223	>30	0,946	1,670	4,878	10,345	12,048	14,151
97b	>40	4,825	6,745	1,823	13,746	8,811	15,504
98b	>20		1,203	0,591	7,092	5,650	6,897

Tabela 9: Efeito citotóxico dos compostos LQB223, 97b e 97b em células PBMC ativadas por PHA (IC<sub>50</sub> em  $\mu$ M).

O composto **97b** possui melhor bioseletividade em linhagens de células leucêmicas K562 e FESP, assim como em linhagens de câncer de mama MDA-MB231 e MCF-7. O **LQB 223** também obteve boa seletividade em linhagens de células FESP, K562 e Lucena -1 e apresentou melhor bioseletividade em linhagens de câncer de mama MCF-10A. Entretanto, o composto **98b**, demonstrou pouca seletividade em linhagens de células leucêmicas e para câncer de mama.

Uma das perspectivas deste trabalho é a síntese de novos análogos com novos padrões de substituição no anel A e D, como mostra o exemplo do composto **124**, de forma a ter novos protótipos de fármacos com ação contra o câncer. Neste contexto, poderemos sintetizar também a *orto*-quinona (**125**) e análogos desta. Resolver a síntese da *N*-tosil-5,8-p-benzo [a] carbazolquinona (**99**), também faz parte destas perspectivas.



Esquema 32: Proposta de novos análogos

A outra perspectiva é evoluir para ensaios *in vivo* o **LQB 223** e o análogo **97b** em pesquisas de câncer, visto que são altamente ativos em linhagens de câncer e não são tóxicos para as células sadias.



Figura 37: Proposta para ensaios in vivo

# 11 Conclusões

Os compostos **97a,97b,97c** foram sintetizados em rendimentos moderados empregando 1,2 ou 3 equivalentes de carbonato de prata na etapa de aza-arilação de Heck utilizando acetona como solvente. Cabe ressaltar que para a obtenção dos produtos **97a,97b** e **97c** puros, houve a necessidade da etapa recristalização após a purificação por coluna cromatográfica. O composto **97d** foi obtido em baixo rendimento e com grau de pureza inadequado para seguir com a etapa de oxidação para a obtenção da quinona **99.** Já a desmetilação dos produtos **97a,97b,97c** com BBr<sub>3</sub> foram realizadas com sucesso em rendimentos quantitativos, obtendo-se as substâncias **98a,98b** e **98c**.

O composto **99**, não foi obtido com sucesso através da oxidação do fenol **98a** empregando sal de Fremy.

Os compostos **97a**,**97b**,**97c e 98a**,**98b** foram avaliados quanto à atividade citotóxica em linhagens de câncer de mama e leucemia. O produto **97b** foi o mais promissor para todas as linhagens de leucemia.

Em linhagens câncer de mama, o composto **97d** apresentou melhor perfil anticâncer na linhagem de MCF-7, uma linhagem de câncer hormônio dependente, com valor de IC<sub>50</sub>=5,93±3,58  $\mu$ M. Em relação a linhagem MDA-MD231, apresentou IC<sub>50</sub>= 8,29±2,08  $\mu$ M enquanto que o composto **98c** revelou valor de IC<sub>50</sub>= 4,84  $\mu$ M perfil semelhante ao **98b** que possui alta citoxidade nestas linhagens

Apesar dos interessantes resultados atribuídos para o composto **98b**, o **97b** apresentou menor toxicidade em células sadias, tornando-se o análogo do **LQB 223(96)** mais promissor, sugerindo que a estrutura tetracíclica e a arilsulfonamida são importantes para a atividade antineoplásica.em linhagens de mama e leucemia.

# 12 Experimental

## 12.1 Materiais e métodos

Para a síntese de compostos foram utilizados reagentes comerciais e solventes sem qualquer purificação com exceção da piridina, diclorometano e o Tetraidrofurano.

As reações de aza-arilação de Heck foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio e a temperatura do meio reacional foi mantida através do banho de grafite.

Para a remoção parcial dos solventes durante o isolamento das reações ou ao final das colunas cromatográficas empregou-se evaporador rotatório modelo Fisatom. Um sistema de alto vácuo a 0,5 mmHg foi utilizado para eliminar totalmente os traços de solvente.

Quando necessários, os produtos forma purificados através da técnica de cromatografia em coluna com fase estacionária sílica gel de 0,040-0,063 mm.

A técnica de cromatografia em camada fina utilizando-se cromatofolhas de alumínio com gel sílica 60-F254 foi adotada na análise das reações. A revelação foi realizada através de luz ultravioleta.

A identificação dos compostos foi realizada por meio de RMN modelo Bruker 400, pertencente ao Instituto de Pesquisas de produtos Naturais da UFRJ (IPPN-UFRJ) e modelo Advance III do Departamento de química da PUC-Rio, analisadas em clorofórmio ou metanol deuterados.Os espectros de ressonância nuclear magnética apresentam valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) expressos em PPM em referência ao tetrametilsilano (TMS) para o RMN<sup>1</sup>H e ao sinal do clorofórmio ou do metanol para o RMN<sup>13</sup>C. As constantes de acoplamento foram expressas em Hertz. Os espectros de infra-vermelho foram adquiridas pelo aparelho de Infravermelho do Departamento de Química da UFRJ, utilizando pastilhas de KBr.

Os espectros de massas e os cromatogramas foram obtidos pelo aparelho de cromatografia-gasosa acoplada ao detector de espectro de massas modelo Trace Ultra, Injetor automático Thermo Scientific Triplus e um espectrômetro de massas tipo quadrupolo Thermo Scientific modelo ISQ do LABMAN do Departamento de Química da PUC-Rio.

## 12.2 Procedimentos experimentais:

Síntese do N-tosil-orto-iodo anilina (55b)



Adicionou-se *orto*-iodo-anilina (**52**) (4,6 mmoL, 1g) e cloreto de tosila (6,9 mmoL, 1311 mg) em uma solução de 10 % de piridina seca (6,0mmoL) em diclorometano e a reação foi mantida sob refluxo a 40°C por 4 horas. Após o término da reação evaporou-se o solvente e a purificação foi realizada através da recristalização usando mistura de etanol/hexano seguido de sucessivas lavagens com hexano. O produto puro **55b** foi obtido como um sólido branco em 75% de rendimento.

FM: C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>INO<sub>2</sub>S

PM: 372 g/mol

Pf: 94°C

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ (ppm): 7,65 – 7,59 (m, 4H), 7,31 – 7,26 (m, 1H), 7,20 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 6,81 (ddd, *J* = 7,9, 7,5, 1,5 Hz, 1H), 2,36 (s, 3H).

#### Síntese dos álcoois substituídos (107a, 107b, 107c).



A uma solução contendo 1,0g (5,7 mmoL) de tetralonas comerciais substituídas em 7,76 mL de metanol (191,7 mmoL) sob agitação constante, foram adicionados lentamente 429 mg de NaBH<sub>4</sub> (11,4 mmoL) e mantida a temperatura ambiente por 40 minutos. Após este tempo, adicionou-se HCI 5% para neutralização do meio reacional até obter o pH ácido. A fase orgânica foi extraída com Acetato de etila (3x 30 mL) e NaCI (sol saturada) (3x 10 mL) secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente evaporado em rota evaporador e os traços de solvente foram eliminados em sistema de alto vácuo por 1h.

FM: C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> PM: 178 g/mol

### 5-metoxi-1, 2, 3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (107a):

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,20 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,07 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,76 (dd, J = 8,1, 0,7 Hz, 1H), 4,80 – 4,76 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 2,76 (dt, J = 10,0, 5,9 Hz, 1H), 2,60 – 2,50 (m, 1H), 2,00 – 1,75 (m, 4H).

#### 6-metoxi-1, 2, 3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (107b):

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ (ppm): 7,30 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,74 (dd, *J* = 8,5, 2,5 Hz, 1H), 6,60 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 4,71 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,76 (s, 3H), 2,82 - 2,73 (m, 1H), 2,72 - 2,62 (m, 1H), 2,00 - 1,81 (m, 4H).

#### 7-metoxi-1, 2, 3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (107c):

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,21 – 7,12 (m, 1H), 7,05 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,74 (dd, J = 8,1, 4,2 Hz, 1H), 4,78 – 4,74 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,79 – 2,69 (m, 1H), 2,52 (dt, J = 14,8, 7,0 Hz, 1H), 1,96 – 1,74 (m, 4H).

#### 5,8-metoxi-1, 2, 3,4-tetrahidronaftalen-1-ol (107d):

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 6,72 – 6,65 (m, 2H), 5,02 (t, *J* = 4,4 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 2,78 (dd, *J* = 22,3, 4,6 Hz, 1H), 2,52 – 2,41 (m, 1H), 2,04 – 1,68 (m, 4H).

RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ(ppm): 152,57 (C), 152,06 (C), 129,04 (C), 128,75 (C), 109,36 (CH), 107,83 (CH), 64,03 (CH), 56,38 (CH<sub>3</sub>), 56,23 (CH<sub>3</sub>), 30,90 (CH<sub>2</sub>), 24,28 (CH<sub>2</sub>), 18,48 (CH<sub>2</sub>).

### Síntese dos dihidronaftalenos substituídos (100a, 100b, 100c).



A uma solução contendo 980mg, (5,5mmoL) de tetrahidronaftalenóis substituídos (**107a, 107b, 107c, 107d**) e THF destilado 8,5 mL (105 mmoL), adicionou-se o H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (85%, 4,5 mL) e a reação foi mantida sob refluxo a 80°C com um bolhômetro por 2,5h. Após a observação da formação da olefina em CCD, adicionou-se uma solução de NaHCO<sub>3</sub> saturada até a neutralização do meio reacional monitorando com fitas de pH. A mistura foi concentrada no rotaevaporador e posteriormente extraída com acetato de etila (3x30 mL) e solução de NaCl saturada (3x 10mL) e secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Após a evaporação do solvente, eliminaram-se os traços deste por 1h em sistema de alto vácuo.

FM: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O

PM: 160 g/mol

### 5 - metoxi-1,2-dihidronaftaleno (100a):

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7,11 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,75 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,67 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,43 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,02 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 2,79 (t, *J* = 8,4 Hz, 2H), 2,33 – 2,26 (m, 2H).

#### 6 - metoxi-1,2-dihidronaftaleno (100b):

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 6,95 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 6,1 Hz, 2H), 6,41 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 5,93 – 5,85 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 2,77 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 2,29 (dd, J = 11,5, 7.5 Hz, 2H).

#### 7 - metoxi-1,2-dihidronaftaleno (100c):

RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ (ppm):  $\delta$  7,12 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,75 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 6,43 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 6,07 – 5,99 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 2,79 (t, *J* = 8,5 Hz, 2H), 2,34 – 2,25 (m, 2H).

#### 5,8 - dimetoxi-1,2-dihidronaftaleno (100d):

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 6,81 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 6,67 (q, *J* = 8,9 Hz, 2H), 6,08 – 6,01 (m, 1H), 3,78 (s, 6H), 2,76 (t, *J* = 8,4 Hz, 2H), 2,25 (dd, *J* = 11,0, 8,2 Hz, 2H).

RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ(ppm): 151,17 (C), 150,08 (C), 128,72 (CH), 125,54 (C), 124,70 (C), 122,17 (CH), 110,56 (CH), 109,37 (CH), 56,76 (CH3), 56,70 (CH3), 22,87 (CH2), 20,65 (CH<sub>2</sub>).

### Azarilação de diidronaftalenos substituídos (97a, 97b, 97c).



A uma solução em agitação de diidronaftaleno substituído (6) (2,9 mmoL, 476 mg) em acetona, foi adicionado *N*-tosil-*orto*-iodoanilina (3) (3,6 mmoL, 1328 mg), Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3,6 mmoL, 982 mg) e Pd (OAc)<sub>2</sub> 10 mol% (0,3 mmoL, 67 mg). A mistura reacional foi refluxada por 12 horas. Após este tempo, a mistura foi resfriada, filtrada em celite e eluída com acetato de etila. O solvente é então evaporado e a massa residual foi purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica e o produto foi obtido como um sólido amarelo com a detecção de impurezas sendo necessária uma recristalização com metanol.

#### 4-metoxi-11-tosil-6,6a, 11,11a-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (97a).

FM: C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>S

PM: 405,14

PF: 205 °C -208°C

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,60 (dd, J = 14,1, 7,9 Hz, 2H), 7,51 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,23 – 7,12 (m, 4H), 7,09 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,41 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,05 – 3,00 (m, 1H), 2,74 – 2,66 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,22 – 2,10 (m, 2H), 1,95 – 1,84 (m, 1H).

**DEPT 90:** RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 129,57 (CH), 127,82 (CH), 127,06 (CH), 126,86 (CH), 125,69 (CH), 123,31 (CH), 122,64 (CH), 120,15 (CH), 108,46 (CH), 64,09 (CH), 39,01 (CH).

**DEPT 135:** RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 129,57 (CH), 127,82 (CH), 127,06 (CH), 126,86 (CH), 125,69 (CH), 123,31 (CH), 122,64 (CH), 120,15 (CH), 108,46 (CH), 64,09 (CH), 55,31 (CH3), 39,01 (CH), 22,36 (CH<sub>2</sub>), 21,52 (CH<sub>3</sub>), 17,31 (CH<sub>2</sub>).

**RMN**<sup>13</sup>**C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 155,82 (C), 143,79 (C), 142,10 (C), 136,16 (C), 135,75 (C), 135,36 (C), 129,56 (CH), 127,82 (CH), 127,06 (CH), 126,86 (CH), 126,68 (C), 125,69 (CH), 123,31 (CH), 122,64 (CH), 120,15 (CH), 108,46 (CH), 64,09 (CH), 55,31 (CH<sub>3</sub>), 39,01 (CH), 22,37 (CH<sub>2</sub>), 21,56 (CH<sub>3</sub>), 17,31 (CH<sub>2</sub>).

3-metoxi-11-tosil-6,6a, 11,11a-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (97b).

FM: C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>S

PM: 405,14

PF: 168°C- 169°C

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,89 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,22 – 7,13 (m, 3H), 7,10 (td, J = 7,4, 0,9 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 6,84 (dd, J = 8,7, 2,6 Hz, 1H), 6,44 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 5,39 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,12 – 3,06 (m, 1H), 2,56 – 2,41 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,12 (dd, J = 13,8,3,9 Hz, 1H), 2,02 – 1,91 (m, 1H).

RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 158,61 (C), 143,79 (C), 142,05 (C), 138,94 (C), 136,10 (C), 135,62 (C), 131,95 (CH), 129,55 (CH), 127,86 (CH), 127,00 (CH), 126,46 (C), 125,64 (CH), 123,35 (CH), 119,95 (CH), 113,08 (CH), 112,44 (CH), 63,80 (CH), 55,15 (CH<sub>3</sub>), 39,36 (CH), 25,01 (CH<sub>2</sub>), 23,52 (CH<sub>2</sub>), 21,56 (CH<sub>3</sub>).

2-metoxi-11-tosil-6,6a, 11,11a-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (97c).

FM: C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>S

PM: 405,14

PF: 177°C-180°C

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,66 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,57 (dd, J = 18,4, 5,5 Hz, 3H), 7,27 – 7,12 (m, 4H), 7,08 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,76 (dd, J = 8,4, 2.7 Hz, 1H), 5,40 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,13 – 3,07 (m, 1H), 2,49 – 2,43 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,14 (dt, J = 11,7, 3,9 Hz, 1H), 2,05 – 1,96 (m, 1H).

RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ(ppm)= 158,36 (C), 143,83 (C), 142,06 (C), 136,11 (C), 135,50 (C), 135,25 (C), 129,58 (C), 129,56 (CH), 128,98 (CH), 127,84 (CH), 127,01 (CH), 125,66 (CH), 123,32 (CH), 119,98 (CH), 114,94 (CH), 113,68 (CH), 64,15 (CH), 55,33 (CH<sub>3</sub>), 39,27 (CH), 23,87 (CH<sub>2</sub>), 23,67 (CH<sub>2</sub>), 21,56 (CH<sub>3</sub>).

### Oxidação de tetrahidro-5H-benzo[a]carbazóis (98a, 98b, 98c).



Em um balão contendo uma mistura de metoxi-tosil-tetrahidro-benzo [a] carbazóis substituídos 35mg (0,09mmoL) e diclometano seco 3 mL (47mmoL) adicionou-se o reagente BBr<sub>3</sub> 0,008 mL (0,4mmoL) a 0°C em atmosfera de Argônio e manteve-se por 2 horas. Após este tempo, neutralizou-se a reação com 20 mL de água destilada gelada por 20 minutos. A extração foi realizada com diclorometano (3x 15 mL) e a fase orgânica foi lavada com 15 mL de solução de NaCl saturada e secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O produto apresentou rendimentos entre 88% e 98% sem necessidade de purificação. O armazenamento destes deve ser feito em atmosfera inerte.

#### 4-hidroxi-11-tosil-6,6a, 11,11a-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (98a).

FM: C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>S

PM: 391,12

PF: 223°C -224°C

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 7,59 – 7,34 (m, 4H), 7,13 (ddd, J = 39,0, 16,8, 7,9 Hz, 6H), 6,61 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 5,47 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 3,08 – 2,99 (m, 1H), 2,66 (d, J = 16,8 Hz, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,25 – 2,01 (m, 2H), 1,88 (t, J = 14,2 Hz, 1H).

RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, MeOD) δ (ppm): 155,12 (C), 145,94 (C), 143,61 (C), 138,21 (C), 137,25 (C) ,137,29(C) ,130,99 (CH), 129,03 (CH), 128,58 (CH), 127,82 (CH), 127,29 (CH), 126,61 (C), 125,04 (CH), 122,81 (CH), 121,12 (CH), 114,26 (CH), 65,99 (CH), 40,83 (CH), 23,60 (CH<sub>2</sub>), 21,74 (CH<sub>3</sub>), 18,71 (CH<sub>2</sub>).

3-hidroxi-11-tosil-6,6a, 11,11a-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (98b).

FM: C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>S

PM: 391,12

PF: 187°C

RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,78 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,43 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,16 – 7,01 (m, 4H), 6,95 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 6,68 (dd, J = 8,5, 2,5 Hz, 1H), 6,32 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 5,30 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,03 – 2,98 (m, 1H), 2,45 – 2,30 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,07 – 1,99 (m, 1H), 1,94 – 1,84 (m, 1H).

RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 154,84 (C), 143,85 (C), 142,04 (C), 139,27 (C), 136,17 (C), 135,62 (C), 132,16 (CH), 129,58 (CH), 127,92 (CH), 127,05 (CH), 126,41 (C), 125,69 (CH), 123,39 (CH), 119,95 (CH), 114,44 (CH), 114,09 (CH), 63,88 (CH), 39,41 (CH), 24,84 (CH<sub>2</sub>), 23,53 (CH<sub>2</sub>), 21,56 (CH<sub>3</sub>).

**2-hidroxi-11-tosil-6,6a, 11,11a-tetrahidro-5H-benzo[a]carbazol (98c).** FM: C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>S

PM: 391,12

PF: 193°C-195°C

RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ (ppm) = 7,65 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,47 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 7,27 – 7,11 (m, 4H), 7,07 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 6,85 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,71 (dd, *J* = 8,3, 2,7 Hz, 1H), 5,35 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 3,13 – 3,06 (m, 1H), 2,48 – 2,43 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,16 – 2,08 (m, 1H), 2,06 – 1,96 (m, 1H).

RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 155,46 (C), 144,22 (C), 141,95 (C), 136,54 (C), 135,37 (C), 135,32 (C), 129,25 (CH), 128,62 (C), 128,39 (CH), 127,31 (CH), 126,87 (CH), 125,56 (CH), 123,34 (CH), 119,30 (CH), 115,73 (CH), 114,62 (CH), 64,25 (CH), 39,28 (CH), 23,32 (CH<sub>2</sub>), 23,07 (CH<sub>2</sub>), 20,03 (CH<sub>3</sub>).

Tentativa de obtenção da N-tosil-5,8-p-benzo[a]carbazolquinona (99)



Para a tentativa de obtenção do *N*-tosil-5,8-p-benzo[a]carbazolquinona (99) a partir do fenol 98a com sal de Fremy (nitrosodissulfonato de potássio), empregamos as condições descritas por ComPain-Batissou e colaboradores (COMPAIN-BATISSOU et al., 2004). Em 0,09 mmoL de fenol 98a dissolvidos em acetona, acrescentamos 0,23 mmol de sal de fremy dissolvidos em uma solução aquosa com 0,024 mmoL  $KH_2PO_4$ .Durante 3 horas, a cada 20 minutos, verificouse por TLC que havia somente o material de partida confirmado pelo espectro de RMN<sup>1</sup>H e pelo espectro de massas no qual identificou somente um íon molecular m/z=391, enquanto que o íon molecular esperado da quinona era de m/z 405.

# 13 Referências bibliográficas

ABDELFATAH, S. A A; EFFERTH, T. Cytotoxicity of the indole alkaloid reserpine from Rauwolfia serpentina against drug-resistant tumor cells. **Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, v. 22, n. 2, p. 308–18, 15 fev. 2015.

ALAMZEB, M. et al. A new isoquinoline alkaloid with anti-microbial properties from Berberis jaeschkeana Schneid. var. jaeschkeana. **Natural product research**, v. 29, n. 8, p. 692–7, abr. 2015.

AL-DOSARI, M. S. et al. Synthesis and anticancer activity of some novel trifluoromethylquinolines carrying a biologically active benzenesulfonamide moiety. **European journal of medicinal chemistry**, v. 69, p. 373–83, nov. 2013.

ALMEIDA, V. L. DE et al. CÂNCER E AGENTES ANTINEOPLÁSICOS CICLO-CELULAR ESPECÍFICOS E CICLO-CELULAR NÃO ESPECÍFICOS QUE INTERAGEM COM O DNA: UMA INTRODUÇÃO. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 118–129, 2005.

ALTMANN, K.-H.; GERTSCH, J. Anticancer drugs from nature--natural products as a unique source of new microtubule-stabilizing agents. **Natural product reports**, v. 24, n. 2, p. 327–57, abr. 2007.

ANGELO, M. et al. Changes in gene expression profile in two multidrug resistant cell lines derived from a same drug sensitive cell line. **Leukemia Research**, v. 38, n. 8, p. 983–987, 2014.

ASCHE, C.; DEMEUNYNCK, M. Antitumor Carbazoles. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, v. 7, n. 2, p. 247–267, 1 mar. 2007.

ASHOK, P. et al. Design, synthesis of new  $\beta$ -carboline derivatives and their selective anti-HIV-2 activity. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 25, n. 6, p. 1232–1235, 30 jan. 2015.

ATA, A. et al. Triterpenoidal alkaloids from Buxus hyrcana and their enzyme inhibitory, anti-fungal and anti-leishmanial activities. **Phytochemistry**, v. 71, n. 14-15, p. 1780–6, out. 2010.

BARCELLOS, JULIO CESAR FERREIRA. Síntese de novos análogos estruturais do LQB 223 e LQB 226 com potencial ação antcancer, antimalarial e leishimanicida. [s.l: s.n.].

BARCELLOS, J. et al. Synthesis of 11a-N-Arylsulfonyl-5-carbapterocarpans (Tetrahydro-5H-benzo[a]carbazoles) by Azaarylation of Dihydronaphthalenes with o-lodo-N-(Arylsulfonyl)anilines in Poly(ethylene glycol). **Synthesis**, v. 47, p.

A–G, 24 jun. 2015.

BAROLO, SILVIA, M. et al. One pot synthesis of substituted dihydroindeno[1,2b]indoles and dihydrobenzo[a]carbazoles by photostimulated reactions of oiodoaniline with carbanions by the SRN1 mechanism. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 43, n. 3, p. 695–699, 2006.

BARREIRO, E. J. ESTRATÉGIA DE SIMPLIFICAÇÃO MOLECULAR NO PLANEJAMENTO RACIONAL DE FÁRMACOS: A DESCOBERTA DE NOVO AGENTE CARDIOATIVO Eliezer J. Barreiro\*. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1172–1180, 2002.

BASHIR, R. et al. Synthesis of some new 1,3,5-trisubstituted pyrazolines bearing benzene sulfonamide as anticancer and anti-inflammatory agents. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 21, n. 14, p. 4301–5, 15 jul. 2011.

BEISLER, J. A. Potencial Antitumor Agents. 1. Analogs of Camptothecin. **Journal of medicinal chemistry**, v. 14, n. 11, p. 1116–1118, 1971.

BELETSKAYA, I. P.; CHEPRAKOV, A. V. The Heck Reaction as a Sharpening Stone of Palladium Catalysis. **Chemical Review**, v. 100, p. 3009–3066, 2000.

BELETSKAYA, I. P.; CHEPRAKOV, A. V. Copper in cross-coupling reactions The post-Ullmann Chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 248, n. 21-24, p. 2337–2364, dez. 2004.

BIELAWSKI, M.; OLOFSSON, B. High-yielding one-pot synthesis of diaryliodonium triflates from arenes and iodine or aryl iodides {. **Chemical communications (Cambridge, England)**, v. 2, n. 2 mL, p. 2521–2523, 2007.

BORSINI, E. Versatilità del palladio in chimica organica : attività catalitica di nuovi complessi e reazioni di carbonilazione , amminazione e alcossilazione per la sintesi di sistemi eterociclici. [s.l.] Universitá Degli studi Dell'Insubria, 2010.

BOYD, E. M.; SPERRY, J. Synthetic studies towards dendridine A: synthesis of hemi-dendridine A acetate by Fischer indolization. **Tetrahedron Letters**, v. 53, n. 28, p. 3623–3626, jul. 2012.

BRAY, F. et al. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. **International journal of cancer. Journal international du cancer**, v. 132, n. 5, p. 1133–45, 1 mar. 2013.

BUARQUE, C. D. Sintese de Pterocarpanos, Azapterocarpanos e Análogos com ação Antitumoral e Leishmanicida. [s.l.] UFRJ, 2010.

BUARQUE, C. D. et al. Palladium-catalyzed oxyarylation of olefins using silver carbonate as the base. Probing the mechanism by electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 695, n. 18, p. 2062–2067, ago. 2010.

BUARQUE, C. D. et al. Pterocarpanquinones, aza-pterocarpanquinone and derivatives: synthesis, antineoplasic activity on human malignant cell lines and
antileishmanial activity on Leishmania amazonensis. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 19, p. 6885–91, 15 nov. 2011.

BUARQUE, C. D. et al. European Journal of Medicinal Chemistry 11a- N -Tosyl-5-deoxi-pterocarpan (LQB-223), a promising prototype for targeting MDR leukemia cell lines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 78, p. 190– 197, 2014.

BUU-HOÏ, N. P.; HIEN, D.-P. The effect of benzocarbazoles and benzacridines on the paralysing action of zoxazolamine; structure/activity relationships. **Biochemical Pharmacology**, v. 17, n. 7, p. 1227–1236, jul. 1968.

CALÒ, V. et al. Copper bronze catalyzed Heck reaction in ionic liquids. **Organic letters**, v. 7, n. 4, p. 617–20, 17 fev. 2005.

CAROTTI, A. et al. Synthesis and Monoamine Oxidase Inhibitory Activity of New Pyridazine-, Pyrimidine- and 1,2,4-Triazine-Containing Tricyclic Derivates. **Journal of medicinal chemistry**, v. 50, p. 5364–5371, 2007.

CHEN, Y.; HU, L. Design of Anticancer Prodrugs for Reductive Activation. **Medicinal Research Reviews**, v. 29, n. 1, p. 29–64, 2008.

CHUKAEW, A. et al. Potential anti-allergic acridone alkaloids from the roots of Atalantia monophylla. **Phytochemistry**, v. 69, n. 14, p. 2616–20, out. 2008.

COMPAIN-BATISSOU, M. et al. Synthesis and Diels – Alder Reactivity of ortho -Carbazolequinones. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, n. 9, p. 1114–1116, 2004.

CORTOPASSI, W. A et al. Theoretical and experimental studies of new modified isoflavonoids as potential inhibitors of topoisomerase I from Plasmodium falciparum. **PloS one**, v. 9, n. 3, p. e91191, jan. 2014.

COSTA, L. et al. Pterocarpanquinone LQB-118 Induces Apoptosis in Leishmania (Viannia) braziliensis and Controls Lesions in Infected Hamsters. v. 9, n. 10, p. 1–8, 2014.

COSTENTIN, C.; HAPIOT, P.; ME, M. "Thermal " S RN 1 Reactions : How Do They Work? Novel Evidence that the Driving Force Controls the Transition between Stepwise and Concerted Mechanisms in Dissociative Electron Transfers. **Journal of American Chemical Society**, v. 121, n. 2, p. 4451–4460, 1999.

CUMMINGS, J. et al. The molecular pharmacology of doxorubicin in vivo. **European Journal of Cancer and Clinical Oncology**, v. 27, n. 5, p. 532–535, maio 1991.

DAFLON-YUNES, N. et al. Characterization of a multidrug-resistant chronic myeloid leukemia cell line presenting multiple resistance mechanisms. **Molecular** and cellular biochemistry, v. 383, n. 1-2, p. 123–35, nov. 2013.

DE SÁ BACELAR, T. et al. The pterocarpanquinone LQB 118 induces apoptosis in tumor cells through the intrinsic pathway and the endoplasmic reticulum stress

pathway. Anti-cancer drugs, v. 24, n. 1, p. 73–83, jan. 2013.

DEJON, L. et al. Synthesis of chromenoindole derivatives from Robinia pseudoacacia. **MedChemComm**, v. 4, p. 1580, 2013.

DEWICK, P. M. **Medicinal Products A Biosynthetic Approach**. second Edi ed. University of Nottingham, UK: [s.n.].

DEYA, P. M. et al. On the regioselectivity of the fremy's salt oxidation of phenols. **Tetrahedron**, v. 43, n. 15, p. 3523–3532, 1987.

DOUNAY, A. B.; OVERMAN, L. E. The asymmetric intramolecular Heck reaction in natural product total synthesis. **Chemical reviews**, v. 103, n. 8, p. 2945–64, ago. 2003.

EVANS, W. C. Trease and Evans Pharmacognosy. 17°. ed. [s.l.] Elsevier Ltd, 2009. v. 13

FABOYA, O. L. et al. Occurrence and Distribution of Carbazoles and Benzocarbazoles in Tertiary Niger Delta Source Rocks. **Petroleum Science and Technology**, v. 32, n. 24, p. 2938–2952, 10 nov. 2014.

FALCÃO, M. JOSÉ C. et al. Cytotoxic Flavonoids from Platymiscium floribundum. **Journal of Nature Products**, v. 68, p. 423–426, 2005.

FATTORUSO, E.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O. (EDS.). Modern Alkaloids: Structure, Isolation,Synthesis and Biology. Germany: WILEY-VCH, 2008.

FERNANDES, T. DE ALMEIDA. Aplicação de métodos catalíticos na síntese de succinimidas, cumarinas e desoxi-isoflavonóides. [s.l.] UFRJ, 2013.

GHORAB, M. M. et al. Synthesis of novel pyrrole and pyrrolo[2,3-d]pyrimidine derivatives bearing sulfonamide moiety for evaluation as anticancer and radiosensitizing agents. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 20, n. 21, p. 6316–20, 1 nov. 2010.

GHORAB, M. M. et al. Anticancer and radiosensitizing evaluation of novel sulfonamides with quinoline and pyrimidoquinoline groups. **Research on Chemical Intermediates**, v. 41, n. 2, p. 647–661, 8 maio 2015.

GIETHLEN, B.; SCHAUS, J. M. Oxidation of Indolines with Fremy's salt: A mechanistic proposal. **Tetrahedron**, v. 4039, n. 49, p. 8483–8486, 1997.

GIRARDOT, M. et al. Indole alkaloids from Muntafara sessilifolia with antiplasmodial and cytotoxic activities. **Phytochemistry**, v. 73, n. 1, p. 65–73, jan. 2012.

GLOBOCAN. GLOBOCAN 2012. Disponível em: <a href="http://globocan.iarc.fr/ia/World/atlas.html">http://globocan.iarc.fr/ia/World/atlas.html</a>. Acesso em: 3 maio. 2015.

GØGSIG, T. M. et al. Mild and efficient nickel-catalyzed Heck reactions with electron-rich olefins. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 1, p. 443–52, 11 jan. 2012.

GOODMAN, L.; GILMAN, A. Goodman & Gilman: Manual de Farmacologia e terapêutica. Porto Alegre: AMGH, 2010.

GUÍO, J. E. A. et al. Synthesis and Preliminary Pharmacological Evaluation of Methoxilated Indoles with Possible Dopaminergic Central Action. Latin American Journal of Pharmacy, v. 30, n. 10, p. 1934–1942, 2011.

GURUDEEBAN, S.; RAMANATHAN, T.; SATYAVANI, K. Antimicrobial and radical scavenging effects of alkaloid extracts from Rhizophora mucronata. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 47, n. 1, p. 50–53, 9 maio 2013.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2014. Incidência do câncer no Brasil. Disponível em: <a href="http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/">http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/</a>>. Acesso em: 6 jan. 2015.

JOHANSSON SEECHURN, C. C. C. et al. Palladium-catalyzed cross-coupling: a historical contextual perspective to the 2010 Nobel Prize. **Angewandte Chemie** (International ed. in English), v. 51, n. 21, p. 5062–85, 21 maio 2012.

JORDAN, V. C. MCF-7: The First Hormone-responsive Breast Cancer Cell Line '. n. 20, p. 3071–3079, 1997.

JR, L. F. S. et al. Thallium Trinitrate-Mediated Ring Contraction of 1,2-Dihydronaphthalenes:The Effect of Electron-donating and Electron-withdrawing Groups. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6, p. 1160–1173, 2005.

KOMM, B. S. A New Approach to Menopausal Therapy: The Tissue Selective Estrogen Conplex. **Reproductive Sciences**, v. 15, n. 10, p. 984–992, 2008.

KOTHA, S.; CHINNAM, A. K.; TIWARI, A. Synthesis of indole-based propellane derivatives via Weiss-Cook condensation, Fischer indole cyclization, and ringclosing metathesis as key steps. **Beilstein journal of organic chemistry**, v. 9, p. 2709–14, jan. 2013.

KOTHA, S.; KUMAR CHINNAM, A. Design of Aza-Polyquinanes via Fischer Indole Cyclization under Green Conditions. **Heterocycles**, v. 90, n. 1, p. 690, 2015.

LAROCK, R. C. Palladium-catalyzed annulation. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 576, n. 1-2, p. 111–124, mar. 1999.

LAROCK, R. C.; BERRIOS-PENA, N.; FRIED, C. A. Regioselective, Palladiumcatalyzed hetero-and carboannulation of 1,2 Dienes using functionally substituted aryl halides. **Journal |Organic Chemistry**, v. 56, n. 8, p. 2615–2617, 1991.

LAROCK, R. C.; BERRIOS-PENA, N.; NARAYANAN, K. Palladium-Catalyzed Heteroannulation of 1,3 dienes by Functionally Substitues Aryl Halides. **American Chemical Society**, v. 55, n. 11, p. 3447–3450, 1990.

LAROCK, R. C.; TU, C.; PACE, P. Synthesis of Medium-Ring Nitrogen Heterocycles via Palladium-Catalyzed Heteroannulation of 1, 2-Dienes. Journal of Organic Chemistry, v. 2, n. 98, p. 6859–6866, 1998.

LAROCK, R. C.; YUM, E. K.; REFVIK, M. D. Synthesis of 2,3-Disubstituted Indoles via Palladium-Catalyzed Annulation of Internal Alkynes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 63, n. 22, p. 7652–7662, out. 1998.

LEAL, J. H. S.; CUBERO, D.; GIGLIO, A. DEL. Hormonioterapia paliativa em câncer de mama : aspectos práticos e revisão da literatura. **Revista Brasileira Clínica Médica**, v. 8, n. 4, p. 338–343, 2010.

LI, B. L.; XU, D.-Q.; ZHONG, A. G. Novel SO3H-functionalized ionic liquids catalyzed a simple, green and efficient procedure for Fischer indole synthesis in water under microwave irradiation. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 144, p. 45–50, dez. 2012.

LI, J. et al. An efficient synthesis method targeted to marine alkaloids marinacarbolines A-D and their antitumor activities. **Journal of Asian natural products research**, v. 17, n. 3, p. 299–305, jan. 2015.

LI, J.-H.; WANG, D.-P.; XIE, Y.-X. Cul/Dabco as a highly active catalytic system for the Heck-type reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 46, n. 30, p. 4941–4944, jul. 2005.

LIU, Z.-M. et al. Amaryllidaceae alkaloids from the bulbs of Lycoris radiata with cytotoxic and anti-inflammatory activities. **Fitoterapia**, v. 101, p. 188–93, mar. 2015.

LUKACH, E.; ROSSI, R. A. Reactions of 2-lodo- and 1, 2-Dihaloadamantanes with Carbanions in DMSO by the S RN 1 Mechanism. Journal of Organic Chemistry, v. 64, n. 2, p. 5826–5831, 1999.

LUO, Y. et al. Metronidazole acid acyl sulfonamide: a novel class of anticancer agents and potential EGFR tyrosine kinase inhibitors. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 19, n. 20, p. 6069–76, 15 out. 2011.

MA, S. et al. Nickel complexes catalyzed Heck reaction of iodobenzene and methyl acrylate. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 248, n. 1-2, p. 17–20, abr. 2006.

MAIA, R. C. et al. LQB-118 , a pterocarpanquinone structurally related naphthoquinone ]: a novel class of agent with high apoptotic effect in chronic myeloid leukemia cells. p. 1143–1155, 2011.

MALIK, Q. M. et al. Synthesis and reactivity of dimethoxy-functionalised Tröger's base analogues. **Tetrahedron**, v. 67, n. 32, p. 5798–5805, ago. 2011.

MARTHA PEREZ GUTIERREZ, R.; MARIA NEIRA GONZALEZ, A.; HOYO-VADILLO, C. Alkaloids from Piper: A Review of its Phytochemistry and Pharmacology. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 163–193, 1 fev. 2013.

MARTIN, G. et al. Antitumoral activity of a new series of 5, 6-dihydrobenzo (a) carbazoles. Journal of Experimental Therapeutics and Oncology, v. 2, p. 77–84, 2002.

MARTINO, T. et al. The pterocarpanquinone LQB-118 inhibits tumor cell proliferation by downregulation of c-Myc and cyclins D1 and B1 mRNA and upregulation of p21 cell cycle inhibitor expression. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 22, n. 12, p. 3115–22, 15 jun. 2014.

MEEGAN, M.; LLOYD, D. Advances in the Science of Estrogen Receptor Modulation. **Current Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 181–210, 1 fev. 2003.

MERRITT, E. A; OLOFSSON, B. Diaryliodonium salts: a journey from obscurity to fame. **Angewandte Chemie (International ed. in English)**, v. 48, n. 48, p. 9052–70, jan. 2009.

MILITÃO, G. C. G. et al. Induction of apoptosis by pterocarpans from Platymiscium floribundum in HL-60 human leukemia cells. **Life sciences**, v. 78, n. 20, p. 2409–17, 11 abr. 2006.

MILITÃO, G. C. G. et al. Bioassay-guided fractionation of pterocarpans from roots of Harpalyce brasiliana Benth. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 15, n. 21, p. 6687–91, 1 nov. 2007.

MILITÃO, G. C. G. et al. Pterocarpans induce tumor cell death through persistent mitotic arrest during prometaphase. **Biochimie**, v. 104, p. 147–55, set. 2014.

MOREL, A.; ARAUJO, C.; SILVA, U. DA. Antibacterial cyclopeptide alkaloids from the bark of Condalia buxifolia. **Phytochemistry**, v. 61, p. 561–566, 2002.

MORILLA, A. D. **Transformaciones, Reactividad y Sintesis de Protopinas**. [s.l.] Universidad de Malaga, 2003.

MOSTAGHIM, R.; AHMADIBENI, Y. NOVEL OXIDATION OF PHENOLS TO QUINONES BY HYDROGEN. Acta Chimica Slovenica, v. 50, n. 2, p. 569–572, 2003.

NETTO, C. D. et al. New pterocarpanquinones: synthesis, antineoplasic activity on cultured human malignant cell lines and TNF-alpha modulation in human PBMC cells. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 18, n. 4, p. 1610–6, 15 fev. 2010.

NIKOLIĆ-KOKIĆ, A. et al. Ex vivo effects of ibogaine on the activity of antioxidative enzymes in human erythrocytes. **Journal of ethnopharmacology**, v. 164, p. 64–70, 22 abr. 2015.

NISHIKATA, T. et al. General and Facile Method for exo -Methlyene Synthesis via Regioselective C – C Double-Bond Formation Using a Copper – Amine Catalyst System. **Organic letters**, v. 16, n. l, p. 5816–5819, 2014.

OISHI, S. et al. Kinesin spindle protein (KSP) inhibitors with 2,3-fused indole scaffolds. **Journal of medicinal chemistry**, v. 53, n. 13, p. 5054–8, 8 jul. 2010.

OLIVEIRA, E. C. et al. Identification of alkyl carbazoles and alkyl benzocarbazoles in Brazilian petroleum derivatives. **Journal of chromatography. A**, v. 1105, n. 1-2, p. 186–90, 10 fev. 2006.

PARK, J. et al. Intramolecular Fischer indole synthesis in combination with alkyne hydroarylation: synthesis of tetracyclic chromeno-indoles. **Organic letters**, v. 16, n. 1, p. 178–81, 3 jan. 2014.

PHIPPS, R. J.; GRIMSTER, N. P.; GAUNT, M. J. Cu (II) -Catalyzed Direct and Site-Selective Arylation of Indoles Under Mild Conditions. **JACS COMMUNICATIONS**, v. 130, n. II, p. 8172–8174, 2008.

REDDY, N. D. et al. In vitro and in vivo evaluation of novel cinnamyl sulfonamide hydroxamate derivative against colon adenocarcinoma. **Chemico-biological interactions**, v. 233, p. 81–94, 27 mar. 2015.

RIBEIRO, G. A. et al. LQB-118, an orally active pterocarpanquinone, induces selective oxidative stress and apoptosis in Leishmania amazonensis. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 68, n. 4, p. 789–99, abr. 2013.

ROBINSON, B. The Fischer Indole Synthesis. **Chemical Review**, v. 63, n. 4, p. 373–401, 1963.

ROSSI, R. A.; PIERINI, A. B.; PEN, A. B. Nucleophilic Substitution Reactions by Electron Transfer. **Chemical Review**, v. 103, p. 71–167, 2003.

RUMJANEK, V. M.; TRINDADE, G. S.; WAGNER-SOUZA, K. Multidrug resistance in tumour cells : characterisation of the multidrug resistant cell line K562-Lucena 1 \*. v. 73, 2001.

SAJJADIFAR, S. et al. New 3H-indole synthesis by Fischer's method. Part I. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 15, n. 4, p. 2491–8, abr. 2010.

SAMBIAGIO, C. et al. Copper catalysed Ullmann type chemistry: from mechanistic aspects to modern development. **Chemical Society reviews**, v. 43, n. 10, p. 3525–50, 21 maio 2014.

SANTOS, E. S. J. DOS. Caracterização do Efeito Antitumoral de Novas Moléculas Sintéticas em Linhagens Tumorais Resistentes a Múltiplas Drogas. [s.l.] UFRJ, 2008.

SAWADA, N. OKINIO et al. Avaliação da qualidade de vida de pacientes com câncer submetidos à quimioterapia. **Rev Esc Enferm USP**, v. 43, n. 3, p. 581–587, 2009.

SHUKLA, P. et al. Nickel-catalyzed reductive Heck type coupling of saturated alkyl halides with acrylates and oxabenzonorbornadiene. **Tetrahedron**, v. 71, n. 15, p. 2260–2266, abr. 2015.

SIMOES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicameno**. 5°. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC, 2003.

SURAPANENI, M. S.; DAS, S. K.; DAS, N. G. Designing Paclitaxel drug delivery systems aimed at improved patient outcomes: current status and challenges. **ISRN pharmacology**, v. 2012, p. 623139, jan. 2012.

TASKIN, T.; SEVIN, F. QSAR and docking studies of inhibition activity of 5, 6-

dihydro 11-alkylbenzo [  $\alpha$  ] carbazole derivatives against estrogen receptor. Turk Journal of Chemistry, v. 35, p. 481–498, 2011.

VON ANGERER, E.; PREKAJAC, J. Benzo[a]carbazole Derivatives.Synthesis,Estrogen Receptor Binding Affinities,and Mammary Tumor Inhibiting Activity. **Journal of medicinal chemistry**, v. 29, n. 3, p. 380–386, 1986.

WADA, K. et al. Evaluation of Aconitum diterpenoid alkaloids as antiproliferative agents. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 25, n. 7, p. 1525–31, 1 abr. 2015.

WANG, Y.-Q. et al. Design, synthesis and biological evaluation of substituted 11H-benzo[a]carbazole-5-carboxamides as novel antitumor agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 12, p. 5878–84, dez. 2011.

WHO. **World Health Organization.Media Center**. Disponível em: <a href="http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>">http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/</a>. Acesso em: 7 jan. 2015.

ZHANG, W. et al. The novel role of miRNAs for tamoxifen resistance in human breast cancer. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 72, n. 13, p. 2575–2584, 18 mar. 2015.

ZHAO, N. et al. Quinolone and indole alkaloids from the fruits of Euodia rutaecarpa and their cytotoxicity against two human cancer cell lines. **Phytochemistry**, v. 109, p. 133–9, jan. 2015.

ZHU, D. et al. Discovery of novel N -substituted carbazoles as neuroprotective agents with potent anti-oxidative activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 68, p. 81–88, 2013a.

ZHU, D. et al. Synthesis of Carbazoles via One-Pot Copper-Catalyzed Amine Insertion into Cyclic Diphenyleneiodoniums as a Strategy to Generate a Drug-Like Chemical Library. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 355, p. 2172–2178, 2013b.

ZIMMER, H.; LANKIN, D. C.; HORGAN, S. W. Oxidations with potassium nitrosodisulfonate (fremy's radical). the teuber reaction. **Chemical reviews**, v. 71, n. 2, p. 228–246, 1971.

## Anexo: Seção de espectros



Espectro 1 :RMN<sup>1</sup>H do LQB 223



Espectro 2: RMN<sup>1</sup>H do produto (55b)



Espectro 3: RMN<sup>1</sup>H do produto (107a)



Espectro 4: RMN<sup>1</sup>H do produto (100a)



Espectro 5: RMN<sup>1</sup>H do produto (97a)

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 1321695/CA



Espectro 6: RMN <sup>13</sup>C Dept 90 do produto (97a)



Espectro 7: RMN<sup>13</sup>C Dept 135 do produto (97a)



Espectro 8: RMN<sup>13</sup>C do produto (97a)

124



Espectro 9: Espectro de massas de baixa resolução produto (97a)



Espectro 10: RMN<sup>1</sup>H do produto (107b)



Espectro 11: RMN<sup>1</sup>H do produto (100b)



Espectro 12: RMN<sup>1</sup>H do produto (97b)



Espectro 13: COSY <sup>1</sup>H do produto (**97b**)



Espectro 14: HSQC do produto (97b)



Espectro 15: RMN<sup>13</sup>C do produto (97b)



Espectro 16: Espectro de massas de baixa resolução do produto (97b)



Espectro 17: RMN<sup>1</sup>H do produto (**107c**)



Espectro 18: RMN<sup>1</sup>H do produto (100c)



Espectro 19: RMN<sup>1</sup>H do produto (97c)





Espectro 21: Espectro de massas de baixa resolução do produto (97c)



Espectro 22: RMN<sup>1</sup>H do produto (107d)

÷



Espectro 23: RMN<sup>13</sup>C do produto (107d)



Espectro 24: RMN<sup>1</sup>H do produto (100d)



Espectro 25: RMN<sup>13</sup>C do produto (100d)



Espectro 26: RMN<sup>1</sup>H do produto (98a)



Espectro 27: RMN<sup>13</sup>C do produto (98a)



Espectro 28: Espectro de massas do produto (98a)
	Mass Spectrum SmartFormula Report											
Analysis Name,	Ivsis Name, D:Data\Usuarios\Extern as\Josean e M_Camila-PUC_ESI_pos_JAM 01_18-05-15.d											
Method		NaFormate ESI pos 100-900 Lab-Mass.m Operator								erator	BDAL @ D E	
Sample Name		JoseaneM_Camila-PUC_ESI_pos_JAM01_18-05-15							Jost	ument	micrQTQE	213750.10368
Connent		Fluxo:240uL/h Faixa de analise de massas:50-896 FM proposta:C23 H21 N O3 S MM:391.124215 M+H:392.131491 M+Na:414.113435 2M+H:783.255706 2M+Na:805.237650										
Intens. x105. 8- - 6-					414/1137						+MS, 0.1-1	.0min #3-57
4- 2- 0		, <sup>259</sup>	0.0960								805,2370	
100		200	300		400	500			600	700	800	m/z
Meas. m/z 237.1136 259.0960	# 1 1	Ion Formula C16H15NO C16H15NO C16H14NNaO	m/z 237.1148 237.1148 259.0968	err [ppm] 5.0 5.0 3.0	mSigma 13.8 13.8 10.0	# <u>mSiama</u> 1 1	Score 100.00 100.00 100.00	rdb. 10.0 10.0 10.0	e Conf odd odd odd	N-Rule ok ok ok	ОН	$\sim$
392.1313	1	C16H14NNaO C17H23NNaO8 C23H22NO3S	259.0968 392.1316 392.1315	3.0 0.8 0.6	10.0 112.1 133.2	1	100.00 100.00 100.00	10.0 6.5 13.5	odd even even	ok ok ok	H.	
414.1137 805.2370	1 1 1 1 2 3	C17H23NNa08 C23H22N03S C23H22N03S C23H21NNa03S C46H42N2Na06S2 C48H41N206S2 C55H37N20S2 C44H43N2Na205555	392.1316 392.1315 392.1315 414.1134 805.2376 805.2401 805.2342	0.8 0.6 -0.7 0.8 3.7 -3.6	112.1 133.2 133.2 11.2 17.0 27.9 63.8	1 1 1 2 3	100.00 100.00 100.00 100.00 100.00 13.62 5.54	6.5 13.5 13.5 13.5 26.5 29.5 38.5 29.5	even even even even even even	ok ok ok ok ok ok		∾ ≈0 (+/-)
	2	C46H42N2NaO6S2	805.2376	-2.2	17.0	2	100.00	26.5	even	ok		

Espectro 29: Espectro de massas de alta Resolução (98a)

\_

\_



Espectro 30: Infravermelho do produto (98a)



Espectro 31: RMN<sup>1</sup>H do produto (98b)



Espectro 32: RMN<sup>13</sup>C do produto (98b)



JAM03\_1\_01 #5463 RT: 55,60 AV: 1 NL: 3,52E4 T: + c Full ms [55,00-450,00]

Espectro 33: Espectro de massas de baixa resolução do produto (98b)



Espectro 34: Espectro de massas de alta Resolução (98b)



Espectro 35: Infravermelho do produto (98b)



Espectro 36: RMN<sup>1</sup>H do produto (98c)



Espectro 37: COSY<sup>1</sup>H do produto (98c)



Espectro 38: RMN<sup>13</sup>C do produto (98c)



Espectro 39: Espectro de massas do produto (98c)



Espectro 40: Espectro de massas de alta resolução do (98c)



Espectro 41: Infravermelho do produto (8c)