



Rachel de Campos Vilas Novas

Síntese de 3-aryl-4-N-aryl-cumarinas e N-aryl-azacumestanos com potencial ação para leishmaniose e câncer de mama

Dissertação de Mestrado

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

Orientadora: Prof. Camilla Djenne Buarque
Co-orientador: Prof. Leonardo Simões de Abreu Carneiro

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2024



Rachel de Campos Vilas Novas

Síntese de 3-aril-4-N-aril-cumarinas e N-aril-azacumestanos com potencial ação para leishmaniose e câncer de mama

Dissertação de Mestrado

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

Prof. Camilla Djenne Buarque

Orientadora

Departamento de Química – PUC-Rio

Prof. Leonardo Simões de Abreu Carneiro

Co-orientador

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

Prof. Marcos Couto

Instituto Federal do Rio de Janeiro

Prof. Sergio Pinheiro

Universidade Federal Fluminense

Prof. Vanessa Nascimento

Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro, 29 de fevereiro de 2024

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

Rachel de Campos Vilas Novas

Graduou-se em Química na Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio) em 2021. Participou de congressos na área da química, apresentando seu trabalho em síntese orgânica. Realizou mentorias e monitorias na docência.

Ficha Catalográfica

Novas, Rachel de Campos Vilas

Síntese de 3-aril-4-N-aril-cumarinas e N-aril-azacumestanos com potencial ação para leishmaniose e câncer de mama / Rachel de Campos Vilas Novas; Orientadora: Camilla Djenne Buarque ; coorientador: Leonardo Simões de Abreu Carneiro. - 2024
121 f. : il. Color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2024.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Anti-câncer. 3. Anti-leishmanial. 4. Catálise fotorredox 5. Adição de Michael . 6. Liberdade conformacional. I. Muller, Camilla Djenne Buarque. II. Carneiro, Leonardo Simões de Abreu. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. IV. Título.

CDD: 540

Agradecimento

Aos meus pais por sempre me apoiarem neste caminho acadêmico.

À minha orientadora e coorientador, meus pais científicos que me aceitaram em seu laboratório, ambos com muita paciência e amor com o que fazem. Os dois são uma grande inspiração para mim.

Aos meus amigos do LabSint, em especial minhas ICs Mariana Teles, Priscila Carvalhais e Dayanne Christine por me ajudarem muito durante a minha jornada e torna-la mais divertida. Também quero agradecer ao Samuel Bento por sempre me ajudar, levando amostras para a UFRJ, discutindo química e focando nas horas vagas. Venho aqui agradecer também o doutorando Marcelo Folhadella por compartilhar a sua experiência de laboratório e da PUC.

Aos meus amigos e principalmente ao Vicente por todo o apoio emocional durante os períodos difíceis.

Ao técnico Alvaro do RMN e a Sulamita do CG-MS e da coluna automática por toda a disposição e carinho.

À PUC-Rio e todos os seus funcionários por tornar possível e mais prazerosa a nossa pesquisa.

Ao Fernando e a FioCruz por realizarem os testes biológicos das minhas moléculas.

Aos professores da PUC-Rio que sempre estão me ajudando a evoluir como pessoa e profissional.

À Central Analítica, Departamento de Química e às agências de fomento CAPES, FAPERJ e CNPq.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Resumo

Novas, Rachel de Campos Vilas; Müller, Camilla Djenne Buarque. **Síntese de 3-aril-4-*N*-aril-cumarinas e *N*-aril-azacumestanos com potencial ação para leishmaniose e câncer de mama.** Rio de Janeiro, 2024. 117p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

O trabalho visou sintetizar azacumestanos inéditos, derivados de **27** através da formação da ligação CN empregando bis-trifluoroacetoxi iodobenzeno (PIFA) e analisar a influência da rigidez conformacional na atividade biológica contra leishmaniose e câncer de mama. Além disso, este projeto visou sintetizar 3-Aril-4-*N*-Aril-cumarinas com padrões de oxigenação no anel A, e seus azacumestanos derivados, visto que é um padrão típico de produtos naturais. Para a obtenção das 3-Aril-4-*N*-Aril-cumarinas **27a-f**, a primeira etapa consistiu em uma reação de condensação da 4-hidroxycumarina **80** com diferentes anilinas comerciais **70a-d** com rendimentos de 56 a 70%. Em seguida houve uma etapa de arilação via catálise fotorredox levando aos compostos **27a-f** com rendimentos de 32 a 76%. A última etapa consistiu numa aminação oxidativa para a obtenção dos azacumestanos **68a-f** que foram obtidos com rendimentos de 32 a 92%. Para a obtenção de 3-aril-4-*N*-arilcumarinas com diferentes padrões de oxigenação no anel A, utilizou-se fenóis parcialmente metilados **84** para gerar os compostos **85**. As etapas de acilação dos fenóis foram realizadas com rendimentos de 77 a 95%, a etapa de metilação do fenol **84a** em até 80% de rendimento e as hidroxycumarinas **86a,c,d** foram obtidas com sucesso. Contudo, não foi possível realizar a etapa seguinte de condensação. Com esses resultados, realizou-se uma investigação para uma nova rota, que se baseou em adições de Michael oxidativas e arilações descarboxilativas. Foi possível realizar a arilação descarboxilativa de cumarinas ácido carboxílicos **13** empregando ácidos borônicos com 16% de rendimento, além de realizar o aza-Michael oxidativo de **13** empregando a anilina com 22% de rendimento. Os *N*-aril-azacumestanos **68a-c** sintetizados foram testados para leishmaniose, e demonstraram-se inativos, ao contrário dos intermediários 3-Aril-4-*N*-Aril-cumarinas, demonstrando a importância da liberdade conformacional para a atividade biológica. Entretanto, contra as linhagens MCF-7 e MDA-MB-231, não foram observadas mudanças

significativas nos valores de CC_{50} .

Palavras-chave:

Aminocumarinas; azacumestanos; catálise fotorrdox; hypervalent iodine; leishmaniose; câncer de mama.

Abstract

Novas, Rachel de Campos Vilas; Müller, Camilla Djenne Buarque (Advisor). **Synthesis of 3-aryl-4-*N*-aryl-coumarins and *N*-aryl-azacoumestanes with potencial antileishmaniasis and anti breast cancer activity.** Rio de Janeiro, 2024. 117p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

This work aimed to synthesize novel azacoumestanes derived from **68** through the formation of C-N bond using bis-trifluoroacetoxy iodobenzene (PIFA) and to analyze the influence of conformational rigidity on the biological activity against leishmaniasis and breast cancer. In addition, this project aimed to synthesize 3-aryl-4-*N*-aryl-coumarins with oxygenation patterns in the A ring, and its derived azacoumestan. To obtain the 3-aryl-4-*N*-aryl-coumarins **27a-f**, the first step consists of a condensation reaction of 4-hydroxycoumarin **80** with different commercial anilines **70a-d** with yields from 56 to 70%. The last step was an intramolecular oxidative amination, to obtain the azacoumestan **68a-f** that were obtained with yields of 32 to 92%. To obtain 3-aryl-4-*N*-aryl-coumarins with different oxygenation patterns, the synthetic route began with an acylation of different phenols **84**, followed by a methylation and cyclization reaction to form oxygenated compounds derived from 4-hydroxy-coumarin **86a-c**. Acylations were performed with yields from 77 to 95%, methylation of **84a** with 80% and hydroxycoumarins **86a,c,d** were successfully obtained, but it was not able to perform the condensation reaction. With these results, the investigation of a new route was carried out, which was based on oxidative Michael additions and decarboxylative arylations. It was possible to reproduce a decarboxylative arylation, in addition to performing the oxidative aza-Michael of interest with 22% yield in water at 65 °C. The synthesized azacoumestans **68a-c** inactive against leishmaniasis, unlike the 3-aryl-4-*N*-aryl-coumarins intermediates, demonstrating the importance of conformational rigidity for biological activity. On the other hand, for breast anticancer activity, no significant changes were observed.

Keywords:

Aminocoumarins; azacoumestans; photoredox catalysis; hypervalent iodine; leishmaniasis; breast cancer.

Sumário

1. Introdução	13
1.1 Leishmaniose	13
1.2 Câncer de Mama.....	16
1.3 Cumarinas	19
1.3.1 Arilação C3 de cumarinas	21
1.3.2 Cumarinas com atividade anti-leishmanial e anti-câncer.....	29
1.4 Azacumestanos e ligação CN	33
1.5 Adição de Michael.....	37
1.5.1 Aza-Michael empregando anilinas.....	38
1.5.2 Adição de Michael empregando 3-ácido cumarina carboxílicos	39
1.6 Rigidez molecular	41
2. Objetivos Gerais	43
2.1 Objetivos Específicos.....	43
3. Justificativa.....	43
4. Resultados e Discussões.....	49
4.1 Síntese dos Azacumestanos	49
4.2 Atividade Biológica	59
4.3 Síntese das Cumarinas e Azacumestanos Oxigenados	60
4.4 Desenvolvimento de nova metodologia	67
5. Conclusão.....	79
6. Perspectivas	80
7. Materiais e Métodos	82
7.1 Secagem Tolueno.....	82
7.2 Secagem DMSO.....	82
7.3 Síntese 4- <i>N</i> -Arilcumarinas	82
7.4 Síntese 3-Aril-4- <i>N</i> -Arilcumarinas.....	84
7.5 Síntese dos sais de diazônio	86
7.6 Síntese Ru(bpy) ₃ Cl ₂	86
7.7 Síntese dos <i>N</i> -aril-Azacumestanos	87
7.8 Síntese de acetofenonas	89
7.9 Metilação de acetofenonas	89
7.10 Síntese de 4-hidróxicumarinas oxigenadas.....	90
7.11 Síntese de 12 via arilação descarboxilativa	91
7.12 Adição de Michael oxidativa	91

8. Caracterizações.....	93
8.1 Espectros de Ressonância magnética nuclear de H ¹	93
8.2 RMN de ¹³ C	105
8.3 Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-MS)	107
9. Referencias:.....	110

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Medicamentos para o tratamento de Leishmaniose	15
Figura 2: Surgimento do câncer (retirado do site do INCA)	17
Figura 3: Quimioterapia do câncer de mama	18
Figura 4: Estrutura cumarina (1)	19
Figura 5: Cumarinas naturais com ação anti-leishmanial contra <i>L. amazonensis</i>	29
Figura 6: Cumarinas naturais com ação antileishmanial <i>L. major</i>	30
Figura 7: Cumarinas sintéticas e atividade antileishmanial contra <i>L. Major</i>	30
Figura 8: Cumarinas sintéticas e atividade anti-câncer contra BKH-21 e H-157	31
Figura 9: Cumarina-triazol com ação anti-câncer contra PC3, MGC803, HepG2	31
Figura 10: Cumarinas com atividade anti-câncer contra DU145, B16F10, MCF-7	32
Figura 11: Cumarinas indol e anilnocumarinas com ação anti-câncer	33
Figura 12: Estrutura cumestano vs azacumestano	33
Figura 13: Molécula vs Conformação Ativa (Imagem adaptada de Alastair)	42
Figura 14: Compostos com esqueleto tetracíclico: azacumestano, azapterocarpanos e estradiol	47
Figura 15: RMN ¹ H do composto 68a (CDCl ₃ , 400 MHz)	56
Figura 16: RMN ¹ H do composto 68b (CDCl ₃ , 400 MHz)	56
Figura 17: RMN ¹ H do composto 68c (CDCl ₃ , 400 MHz)	57
Figura 18: RMN ¹ H do composto 68d (CDCl ₃ , 400 MHz)	57
Figura 19: RMN ¹ H do composto 68e (CDCl ₃ , 400 MHz)	58
Figura 20: RMN ¹ H do composto 68f (CDCl ₃ , 400 MHz)	58
Figura 21: Cumarinas e Azacumestanos testados in vitro	59
Figura 22: Cumarinas e Azacumestanos oxigenados	61
Figura 23: Planejamento sintético para as 4-hidroxycumarinas oxigenadas	61
Figura 24: Tentativa da síntese dos compostos 87a e 87c	67
Figura 25: Caracterizações da reação de arilação descarboxilativa (CG-MS e RMN ¹ H - CDCl ₃ , 400 MHz)	69
Figura 26: Influência da temperatura no Aza-Michael oxidativo	73
Figura 27: Espectro de massas do aza-michael oxidativo em metanol. Anilina (Massa molar: 93,13 g/mol)	74
Figura 28: Espectro de massas do aza-Michael oxidativo em metanol. Produto (Massa molar: 281,27 g/mol)	74
Figura 29: Espectro de massas do aza-Michael oxidativo em metanol. 3-Ácido cumarino carboxílico (Massa Molar: 190,15 g/mol)	75
Figura 30: RMN de ¹ H do produto do aza-Michael oxidativo (115) (CDCl ₃ , 400 MHz)	76
Figura 31: Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) do composto 26a	93
Figura 32: Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) do composto 26b	94
Figura 33: Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) do composto 26c	

.....	94
Figura 34: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 26d	
.....	95
Figura 35: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27a	95
Figura 36: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27b	96
Figura 37: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27c	96
Figura 38: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27d	97
Figura 39: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27e	97
Figura 40: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27f	98
Figura 41: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 68a	98
Figura 42: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 68b	99
Figura 43: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 68c	99
Figura 44: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 68d	100
Figura 45: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 68e	100
Figura 46: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 68f	101
Figura 47: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 84a	
.....	101
Figura 48: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 84b	
.....	102
Figura 49: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 84c	
.....	102
Figura 50: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 85a	
.....	103
Figura 51: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 86a	
.....	103
Figura 52: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 86c	
.....	104
Figura 53: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 86d	
.....	104
Figura 54: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 121	
.....	105
Figura 55: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 68a	105
Figura 56: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 68b	.106
Figura 57: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 68c	.106
Figura 58: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 68e	.107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: 3-aryl-4-N-arylcumarinas previamente sintetizadas no LabSint com melhor ação antileishmanial.....	44
Tabela 2: Ação antileishmanial e anti-câncer das 3-aryl-4-N-arylcumarinas previamente sintetizadas no LabSint.....	45
Tabela 3: Resultados Farmacológicos dos Azacumestanos	59
Tabela 4: Ácido de Lewis e rendimentos do aza-Michael oxidativo em água a 65 °C	76
Tabela 5: Condições reacionais e rendimentos do aza-Michael oxidativo	77

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Metodologias clássicas para a obtenção de cumarinas	20
Esquema 2: Arilação C3 da cumarina via acoplamento de Suzuki	21
Esquema 3: Arilação C3 da cumarina via acoplamento cruzado decarboxilativo	22
Esquema 4: Arilação C3 da cumarina via acoplamento decarboxilativo - exemplo 2	23
Esquema 5: Arilação C3 da cumarina via acoplamento dessulfatativo	24
Esquema 6: Arilação C3 da cumarina via arilação desidrogenativa 1	25
Esquema 7: Arilação C3 da cumarina via arilação desidrogenativa 2	26
Esquema 8: Arilação C3 da cumarina via benzino	27
Esquema 9: Arilação C3 da cumarina via catálise fotorredox	28
Esquema 10: Metodologias para síntese de azacumestanos	34
Esquema 11: Ligação C-N via ciclização intramolecular com azida para formação do indol	35
Esquema 12: Ligação C-N via Cadogan para formação do indol	36
Esquema 13: Reação de Heck intramolecular para formação de núcleo indólico	36
Esquema 14: Síntese do azacumestano via acoplamento cruzado intramolecular desidrogenativo	37
Esquema 15: Síntese do azacumestano 68 via aminação oxidativa com PIFA	37
Esquema 16: Aza-Michael entre anilina (70) e 3-nitro-2-fenil-2H-cromeno (69)	38
Esquema 17: Aza-Michael catalisada por ácido acético	39
Esquema 18: Adição do indol (75) em 3-ácido cumarina carboxílicos	40
Esquema 19: Adição de Michael, descarboxilação e esterificação/amidação one pot	41
Esquema 20: Análise retrossintética para obtenção dos azacumestanos 68	45
Esquema 21: Cumarinas 88 e azacumestanos 89 oxigenados no anel A	48
Esquema 22: Reação de N-Arilação e resultados farmacológicos para leishmaniose (promastigota e amastigota) e células MCF-7 (câncer de mama)	49
Esquema 23: Proposta mecanística de N-Arilação de 4-hidróxicumarinas	50
Esquema 24: Catálise Fotorredox para arilação de N-arilcumarinas	51
Esquema 25: Proposta mecanística da catálise fotorredox	52
Esquema 26: Reação de aminação oxidativa de 3-aril-4-aminocumarinas 27	54
Esquema 27: Proposta mecanística para ciclização com intermediário carbocátion	54
Esquema 28: Proposta mecanística para ciclização com intermediário radicalar catiônico	55
Esquema 29: Proposta de intermediários da reação de acilação e rearranjo de Fries	62
Esquema 30: Metilação da acetofenona	63

Esquema 31: Metilação da hidroquinona seguida de acilação.....	64
Esquema 32: Síntese de 4-hidroxicumarinas oxigenadas	65
Esquema 33: Mecanismo 4-hidroxicumarina oxigenada	65
Esquema 34: N-arilação das cumarinas oxigenadas 86a, 86c, 86d	66
Esquema 35: Limitação da catálise fotorredox	67
Esquema 36: Tentativa de reações arilação por desidrogenação.....	68
Esquema 37: Reação de Arilação descarboxilativa	68
Esquema 38: Reação de Aza-Michael oxidativo	70
Esquema 39: Adições de Michael com anilinas e compostos carbonílicos □□□-insaturados	71
Esquema 40: Adição em ácido 3-cumarino-carboxílico.....	72
Esquema 41: Esterificação de Fisher.....	77
Esquema 42: Teste de Aza-Michael oxidativo em outro substrato.....	77
Esquema 43: Ligação de hidrogênio intramolecular.....	78
Esquema 44: Aza-michael oxidativo com ácido cinâmico e anilina	78
Esquema 45: Perspectivas para reações envolvendo ácidos 3-cumarino- carboxílicos 13	80
Esquema 46: Síntese dos compostos derivados dos N-aril- azacumestanos sem substituição no nitrogênio	81
Esquema 47: Síntese de ácidos 3-cumarino-carboxílicos oxigenados (125)	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RMN ¹³C	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ¹³ C
RMN ¹H	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ¹ H
Ac	Grupo acetil
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CC₅₀	Concentração Citotóxica 50%
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG-MS	Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DCE	1,2-Dicloroetano
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
FAPERJ	Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
HFIP	Hexafluoro-2-propanol
IC₅₀	Concentração Inibitória 50%
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IS	Índice de Seletividade
LC	Leishmaniose Cutânea
LM	Leishmaniose Mucocutânea
LT	Leishmaniose Tegumentar
LV	Leishmaniose Visceral
MW	Microondas
Ph	Grupo arila
PIDA	Diacetoxidobenzeno
PIFA	bis-trifluoroacetoxi iodobenzeno
SET	Transferência de um elétron
SUS	Sistema Único de Saúde
TFE	2,2,2-Trifluoroetanol
THF	Tetraidrofurano

1. Introdução

A química medicinal é uma área multidisciplinar que une a química e a farmácia, utilizando os conhecimentos de síntese para o *design* de moléculas com potencial ação biológica. Ela é composta por diversas fases que necessitam de profissionais de diferentes áreas como a química computacional, bioquímica, biologia, toxicologia, microbiologia e medicina. Com o auxílio de todos, busca-se o desenvolvimento de vacinas e tratamentos de patologias causadas por bactérias, protozoários, vírus, e células cancerígenas, dentre outras. ^[1]

O câncer é uma doença mundialmente conhecida, e no Brasil, estima-se que ocorram mais de 600 mil novos casos por ano. O diagnóstico precoce é imprescindível para o tratamento, mas ainda é um desafio principalmente para a população de baixa renda. O Instituto Nacional de Câncer (INCA) desenvolve campanhas de prevenção em diferentes regiões e o Sistema Único de Saúde (SUS) oferece tratamento gratuito incluindo cirurgias, radioterapia e quimioterapia, mas ainda é necessária a busca de novos tratamentos menos prejudiciais à saúde dos pacientes. ^[2]

Diferentemente das doenças mundialmente conhecidas, as comuns em países subdesenvolvidos são negligenciadas, e muitas delas são causadas por protozoários como a leishmaniose, doença de chagas e malária. De acordo com o ministério da saúde, a leishmaniose afeta mais de 3500 pessoas anualmente no Brasil ^[3] e novos tratamentos ainda são requeridos.

1.1 Leishmaniose

A Leishmaniose é uma patologia causada por diferentes protozoários do gênero *Leishmania* e família *Trypanosomatidae*. Existem 22 espécies patogênicas para o ser humano e seu vetor de transmissão são os mosquitos infectados da família *Psychodidae*. Desta forma, é uma doença associada a regiões tropicais e subtropicais, onde as condições climáticas são favoráveis aos mosquitos transmissores. Além disso, fatores como falta de saneamento básico, pobreza, desmatamento, falta de acesso a serviço de saúde adequados, também favorecem a sua disseminação. ^[4]

Globalmente, a leishmaniose está entre as dez principais doenças tropicais negligenciadas com mais de 12 milhões de pessoas infectadas. Nas Américas, África e regiões da Ásia, a leishmaniose continua sendo um importante problema

de saúde e são encontradas suas 3 formas clínicas: cutânea, mucosa e visceral. [4]

A leishmaniose cutânea (LC) também conhecida como tegumentar (LT), é o caso clínico mais encontrado, com cerca de 90% dos casos. Tem como sintomas lesões localizadas, múltiplas ou difusas, com aspecto de úlceras na pele e/ou mucosas. As feridas se desenvolvem lentamente, não cicatrizam, causam coceira intensa na região das lesões e pode haver o aparecimento de nódulos. As principais espécies envolvidas na ocorrência de casos de LT no Brasil são : *L. amazonensis*., *L. guyanensis* e *L. braziliensis*. [2]

A leishmaniose mucosa ou mucocutânea (LM) se restringe ao rosto, atingindo nariz e garganta. Caso não tratada adequadamente, as membranas mucosas do nariz e da boca podem ser destruídas parcialmente ou totalmente, causando deformidade. As principais espécies envolvidas são: *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) panamensis* e *L. (V.) guyanensis*. [5]

A leishmaniose visceral (LV) é a mais grave e caso não tratada, pode levar a óbito até 90% dos casos. Ela é causada pela *L. infantum* e diferentemente da LT e LM, a LV afeta os órgãos internos, aumenta o tamanho do fígado e baço, reduz a força muscular, causa anemia e febres longas. [5]

O tratamento indicado depende do tipo de leishmaniose, da espécie do protozoário e da resposta do paciente. Os medicamentos disponíveis comercialmente são: antimoniais, anfotericina B, isetionato de pentamidina e a miltefosina (**Figura 1**).

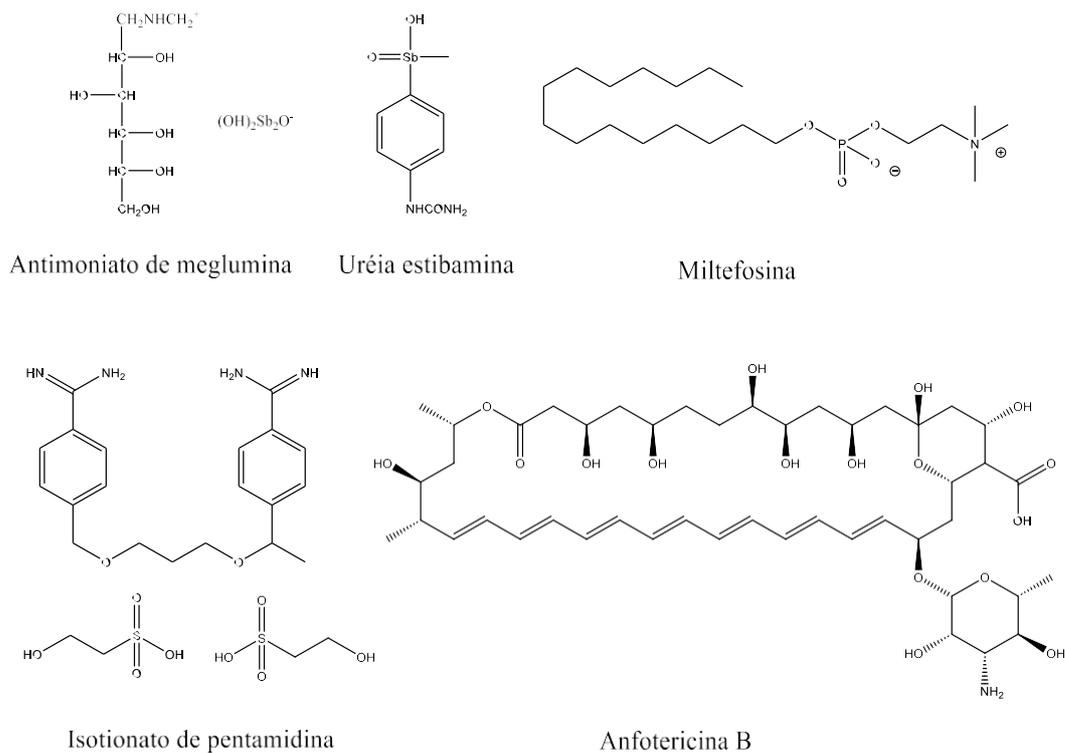


Figura 1: Medicamentos para o tratamento de Leishmaniose

Os antimoniais pentavalente são quimioterápicos recomendados para pacientes com leishmaniose mucocutânea e podem ser administrados com ou sem pentoxifilina oral. Seu mecanismo de ação foi muito estudado ao longo dos anos e atuam na inibição da glicólise e β -oxidação de ácidos graxos, interferindo na produção de energia em amastigotas de *Leishmania*.^[6] Outros estudos demonstraram a inibição da enzima topoisomerase II de *L. donovani*^[7] e da fosfofrutoquinase.^[8] Contudo, a administração dessa medicação é via intravenosa, de longa duração (diária por 20 dias) e com diversos efeitos colaterais como: cardiotoxicidade, disfunção gastrointestinal, pancreatite e o enrijecimento das articulações.^[9]

O isotionato de pentamidina é um antiparasitário e atua inibindo o crescimento e a reprodução dos parasitas. Esta medicação é utilizada no tratamento de leishmaniose cutânea de forma injetável, a cada 3 dias com um total de 5 injeções e é menos tóxica que os antimoniais pentavalente. Em contrapartida, no tratamento da LV, as doses são maiores, intercalando um dia com no máximo 10 injeções, com efeitos colaterais mais latentes.^[10]

A anfotericina B também é injetável e é recomendada para pacientes com leishmaniose visceral. Ela é o medicamento leishmanicida mais potente disponível

comercialmente e existem 3 formulações: Anfotericina dispersão coloidal (Amphocil), anfotericina complexo lipídico (Abelcet) e a anfotericina (AmBiome). As taxas de cura são de 90-95%, contudo, a sua taxa de nefrotoxicidade podem ser superiores a 50%. [11]

A miltefosina é o único tratamento via oral e é indicado para leishmaniose tegumentar, principalmente das espécies *L. mexicana*, *L. guyanensis* e *L. braziliensis*. É o medicamento disponibilizado pelo SUS, em primeira linha de tratamento de Leishmaniose cutânea (portaria no 56, de 30 de outubro de 2018). O seu mecanismo de ação não foi totalmente elucidado, mas não está relacionado ao estado imunológico do hospedeiro, sendo uma opção viável para pacientes imunodeprimidos. [12]

Por conseguinte, visto que os medicamentos disponíveis possuem dados efeitos colaterais como nefrotoxicidade, cardiotoxicidade, pancreatite, disfunção gastrointestinal e entre outros, é fundamental que autoridades de saúde, pesquisadores, profissionais da saúde e comunidades se unam para o combate à doença, garantindo acesso à prevenção, diagnóstico e tratamento adequado. Além de que a maioria dos medicamentos disponíveis são de administração intravenosa, que por sua vez depende da ida do paciente ao hospital.

1.2 Câncer de Mama

O câncer é uma doença causada por uma mutação genética, cujo crescimento desordenado das células cancerígenas causam tumores em diversas partes do corpo (**Figura 2**). Quando encontrado em tecidos epiteliais, são denominados carcinomas e nos tecidos conjuntivos sarcomas. [13]

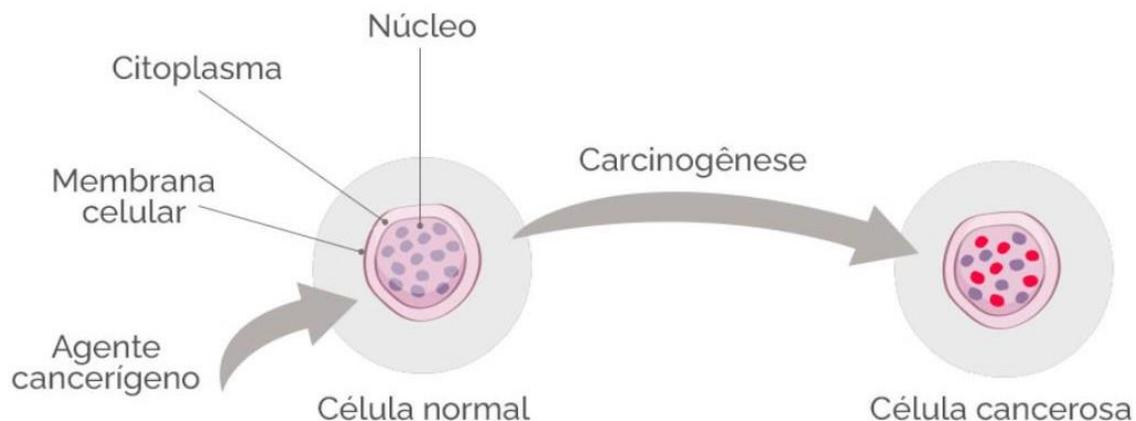




Figura 2: Surgimento do câncer (retirado do site do INCA)

Dado ao aumento da expectativa de vida da população e aumento da população mais idosa, devido a redução das taxas de fertilidade e mortalidade infantil, uma das estimativas é que 20% da população terá câncer durante a sua vida.

^[14] No Brasil estima-se 704 mil novos casos de câncer para cada ano de 2023 a 2025, 36% maior em comparação a 2018-2019. ^[15]

Dentre os cânceres, o câncer de mama é mais comum em mulheres, representando 99% dos casos e o mais incidente no mundo. O tratamento pode ser realizado através de cirurgias, quimioterapia, radioterapia, além de cuidados paliativos. A quimioterapia utiliza medicamentos que quando misturados ao sangue, tem o intuito de destruir as células cancerígenas. Sua administração pode ser oral, intravenosa, intramuscular, subcutânea, intratecal (pela espinha dorsal) ou tópica. Os medicamentos mais utilizados na quimioterapia do câncer de mama são: 5-fluoracil, capecitabina, doxorubicina, docetaxel, ciclofosfamida e carboplatina **(Figura 3)**. ^[16]

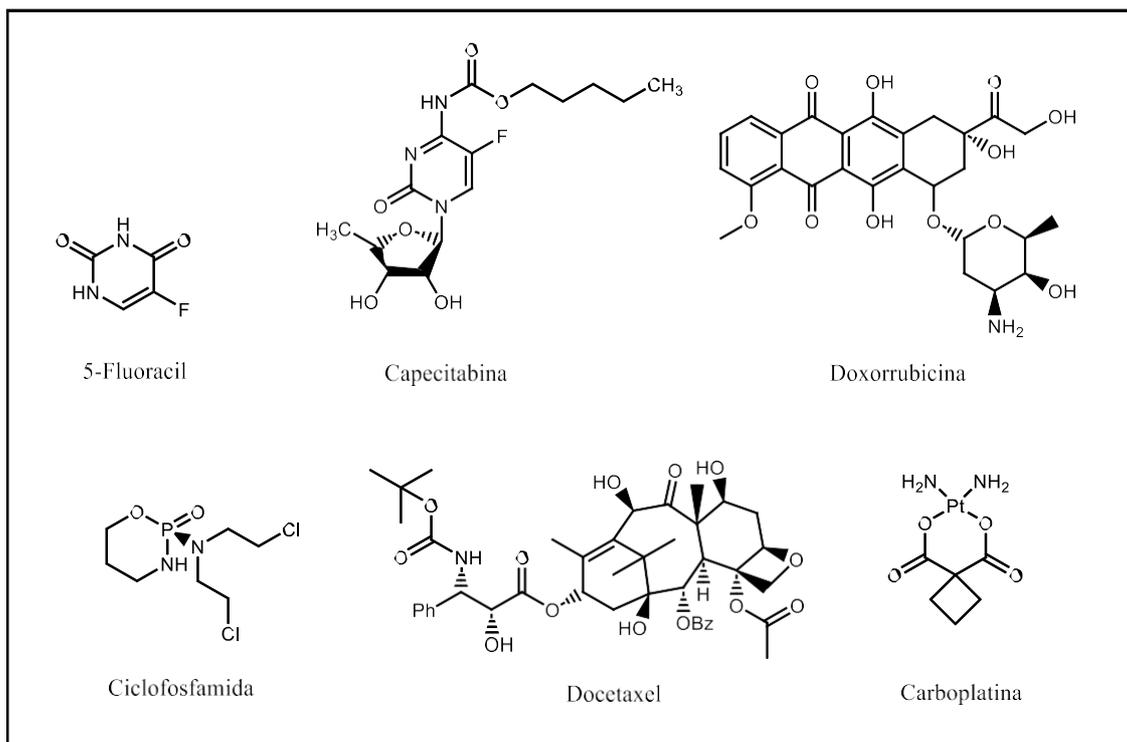


Figura 3: Quimioterapia do câncer de mama

O 5-fluorouracil é muito similar estruturalmente a uma base nitrogenada (Uracila) que é encontrada apenas no RNA, e ele atua inibindo uma enzima importante para a replicação do DNA, impedindo a sua duplicação. Este medicamento está disponível comercialmente na forma de creme dermatológico e ampola. Ele atua em todos os tecidos do corpo principalmente na medula óssea e mucosas. Os efeitos colaterais consistem em anemia, queda de imunidade e das plaquetas – oriundo da medula óssea – e inflamação na cavidade oral e intestino – provenientes das mucosas. [17]

A capecitabina é um pró-fármaco que após processos de quebra converte-se no 5-fluorouracil (forma ativa). Assim, o medicamento pode ser administrado via oral. Contudo, os efeitos colaterais persistem. [17]

A doxorubicina inclui-se no grupo das antraciclinas. Do mesmo modo que os medicamentos citados anteriormente, o efeito secundário está relacionado à células de rápida e constante replicação como as células sanguíneas. Ademais, também possui um efeito cardiotoxico irreversível com risco de insuficiência cardíaca. [18]

O docetaxel pertence ao grupo de taxanos – substâncias derivadas da árvore *Taxus baccata*, possui ação antimitótica, mas é neurotóxico. Estudos indicam que

provavelmente a medicação causa sensibilidade dos nociceptores e lesiona os nervos periféricos, causando mialgias e artralguas. [19]

A ciclofosfamida é utilizada no tratamento de câncer e doenças autoimunes, sendo encontrada na forma de comprimido e também intravenoso. Seu uso pode reduzir os níveis de células sanguíneas tornando o paciente mais suscetível a infecções e pode causar infertilidade permanente. [20]

A carboplatina é um análogo menos tóxico da cisplatina, possui ação alquilante e também interfere na replicação do DNA através de ligações covalentes. Entretanto, assim como a cisplatina, não pode ser utilizado como em altas doses pelo desenvolvimento de resistência, além de causar náusea, vômitos, ser nefrotóxica e neurotóxica. [21]

Dado que as estimativas para o aumento de casos de câncer é de 77% para 2050, e os medicamentos existentes possuem uma alta toxicidade e a tendência de desenvolver resistência, a busca por novos tratamentos é desenvolvida por todo o mundo. [22]

1.3 Cumarinas

As cumarinas são produtos naturais, importantes metabólitos secundários de plantas e suas diversas atividades biológicas são bem conhecidas na literatura. Sua estrutura consiste em um anel aromático que pode promover interações hidrofóbicas, como interações π , fundida a uma lactona, grupo aceptor de ligação de hidrogênio (**Figura 4**). Mais de 1300 tipos de cumarinas foram descobertas e em geral, apresentam substituintes oxigenados nas posições C5, C6, C7 e C8 (1-2). [23]

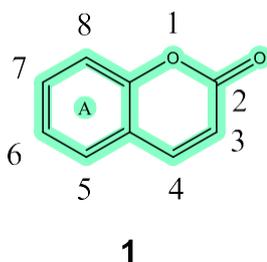
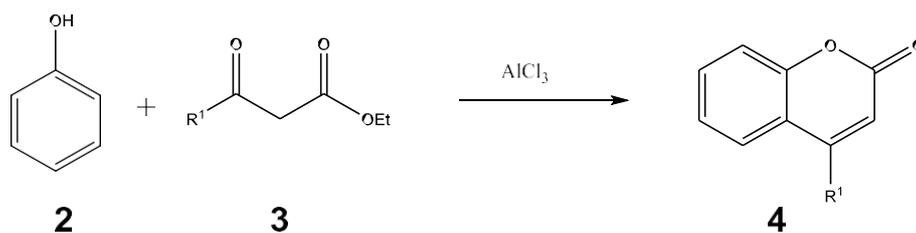


Figura 4: Estrutura cumarina (**1**)

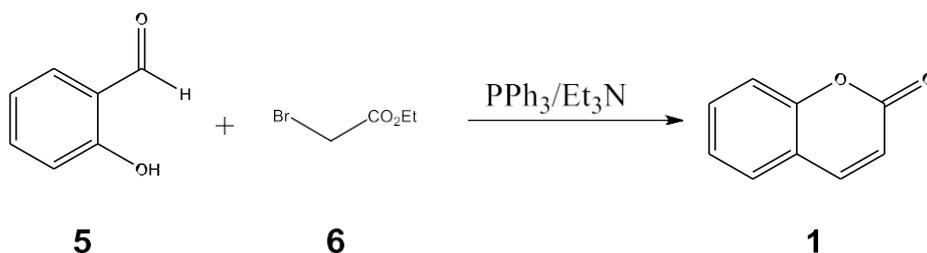
As metodologias mais clássicas para a síntese de cumarinas podem ser observadas no **Esquema 1**, por Wittig [24] empregando ilídeos de fósforo e derivados salicilaldeídos (**5**), Pechmann [25] que envolve a condensação de fenóis

(2) e β -cetoésteres (3), Perkin ^[26] que envolve a condensação entre salicilaldeídos (5) e anidrido acético (7) e Knoevenagel ^[27] empregando salicilaldeído (5) e propionato de alquila (9).

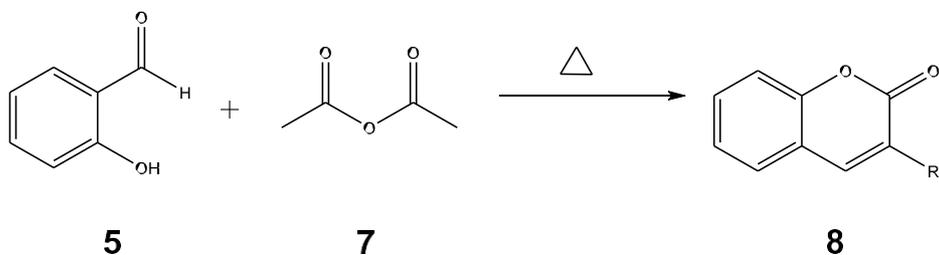
Pechmann



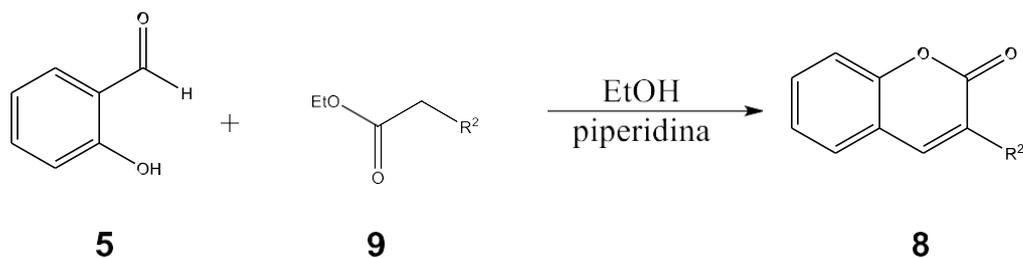
Wittig



Perkin



Knoevenagel



Esquema 1: Metodologias clássicas para a obtenção de cumarinas

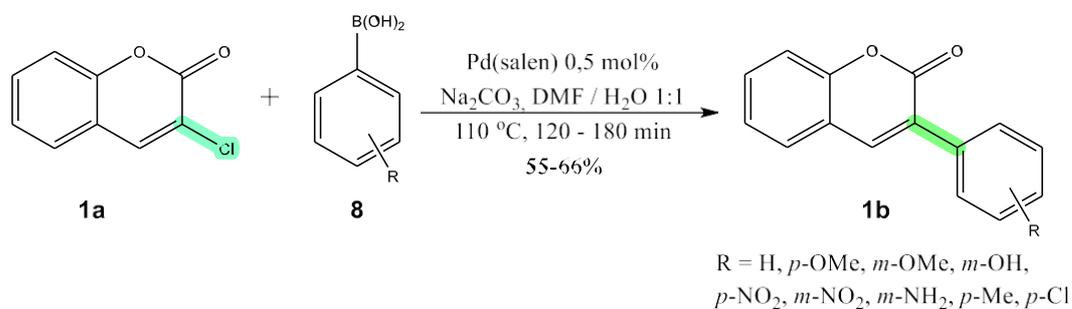
A reação de Pechmann apresenta exemplos utilizando 100 mL de H_2SO_4 e também ácidos de Lewis como ZrCl_4 , ZnCl_2 , InCl_3 em altas temperaturas. O

reagente de Wittig costuma ser derivado somente de haletos de alquila primários, devido a ineficiência em haletos secundários, dificultando a síntese de cumarinas C3 substituídas. Ademais, a reação também é encontrada em altas temperaturas e no âmbito da química verde, é uma reação com baixa eficiência atômica. Perkin e Knoevenagel muitas vezes possuem metodologias com mais de uma etapa e também com drásticas condições reacionais.

1.3.1 Arilação C3 de cumarinas

A presença de um anel aromático na posição C3 garante uma extra funcionalização, presente em produtos naturais e que vem sendo bem explorada na síntese de candidatos a fármacos. [28] Das metodologias apresentadas previamente para a síntese de 3-arilcumarinas, a condensação de Perkin é a mais direta, mas como normalmente é necessário o uso de ácidos fortes e altas temperaturas, uma alternativa é arilar diretamente a posição 3.

Em 2011 foi reportada uma arilação via acoplamento de Suzuki com 9 exemplos partindo da 3-cloro-cumarina (**10**), empregando ácidos borônicos (**11**) como fonte de grupo arila, que são encontrados comercialmente com diversos padrões de substituição, mas em comparação aos haletos de arila são mais onerosos e possuem uma menor variabilidade sintética (**Esquema 2**). Além disso, a cumarina (**10**) de partida e o catalisador precisam ser previamente preparados. [29]

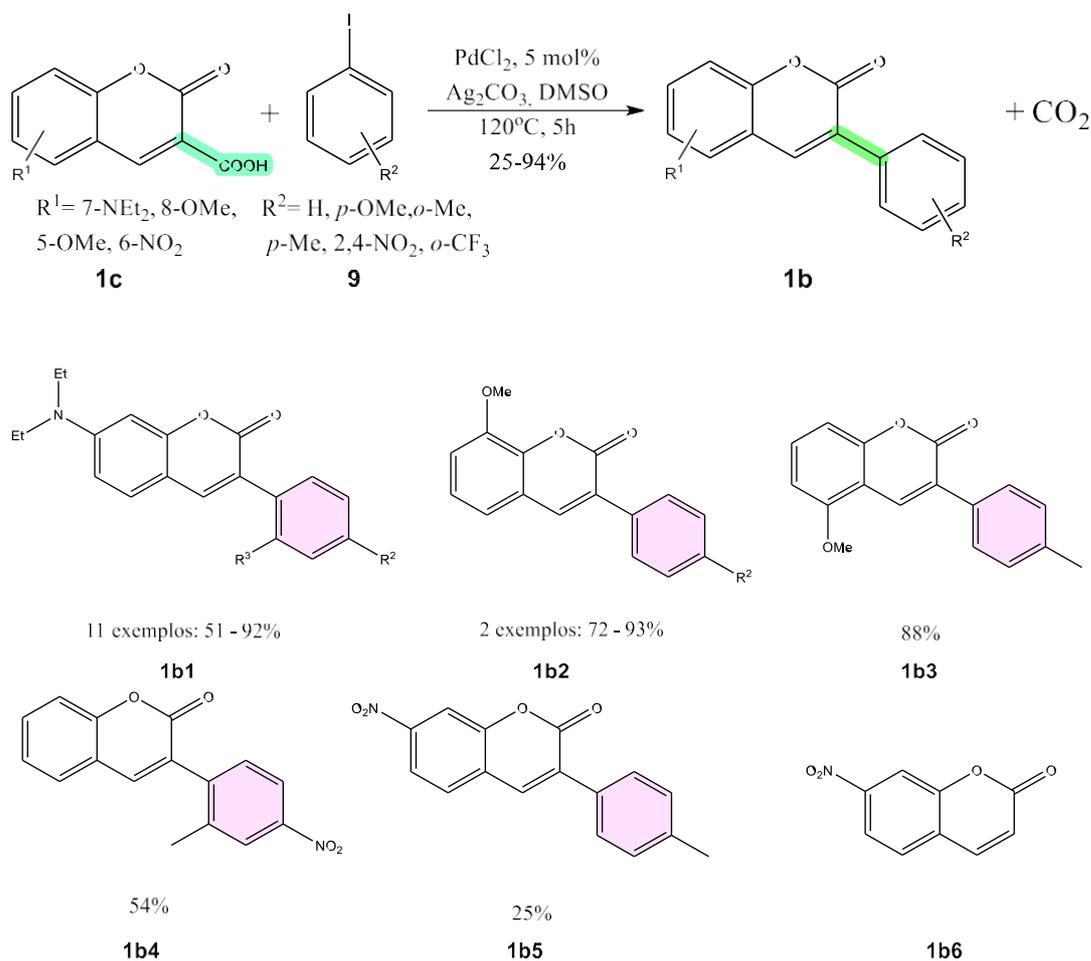


Tetrahedron Lett., 2011, 52 (11), 1225-1227

Esquema 2: Arilação C3 da cumarina via acoplamento de Suzuki

Outra metodologia é por acoplamento cruzado descarboxilativo a partir de 3-ácido cumarinas carboxílico (**13**) e iodetos de arila (**14**), sem a necessidade de uma etapa de pré funcionalização da cumarina para garantir a regiosseletividade (**Esquema 3**). [30] Entretanto, foi reportado que não há a formação do produto não

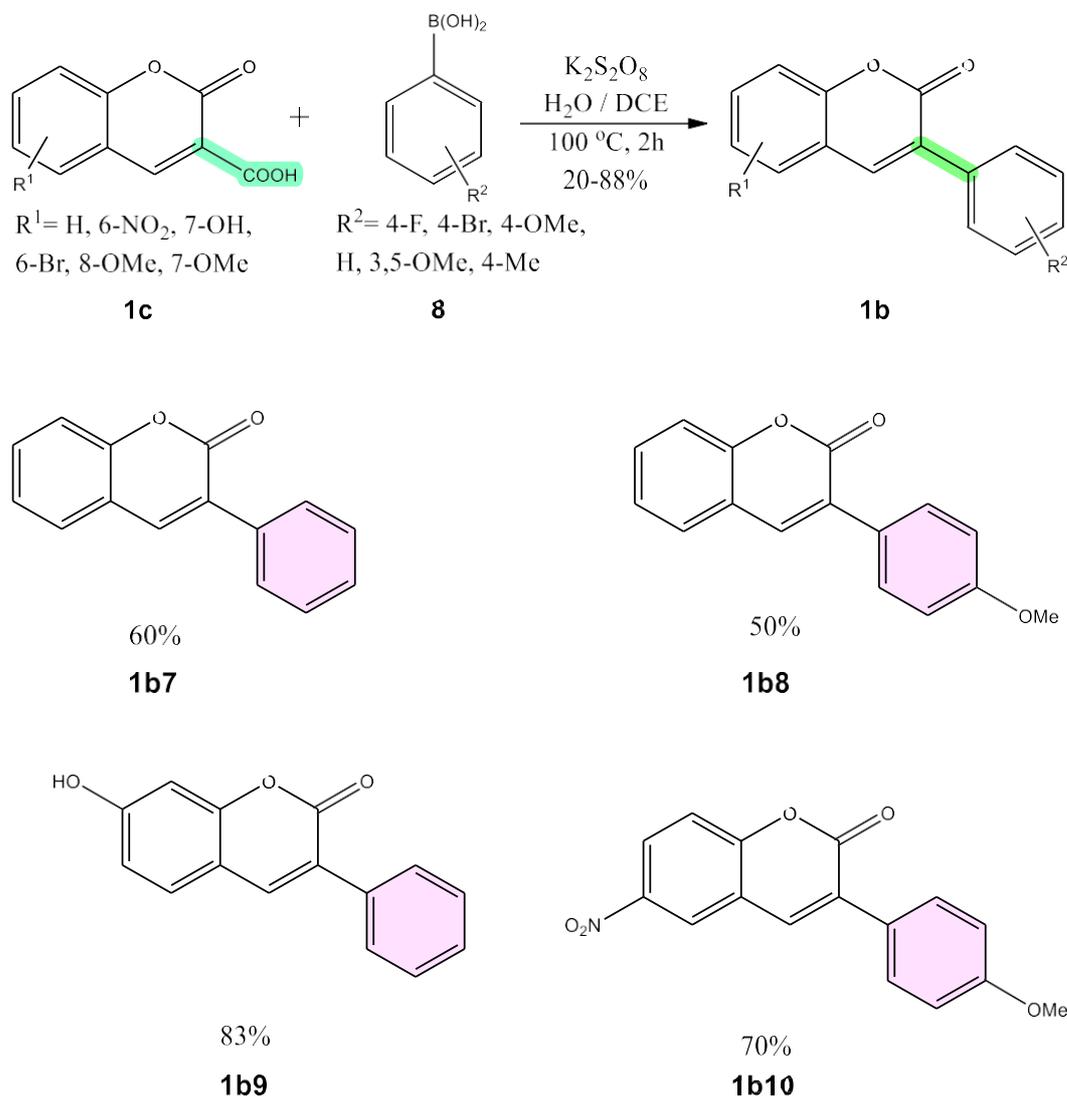
substituído, e a reação não foi bem sucedida com grupo fortemente retirador de elétrons, havendo a formação do produto lateral **15f** de descarboxilação.



Org. Chem., 2013, 78 (7), 2957-2964

Esquema 3: Arilação C3 da cumarina via acoplamento cruzado decarboxilativo

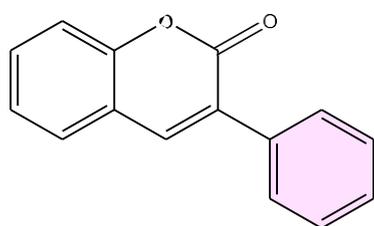
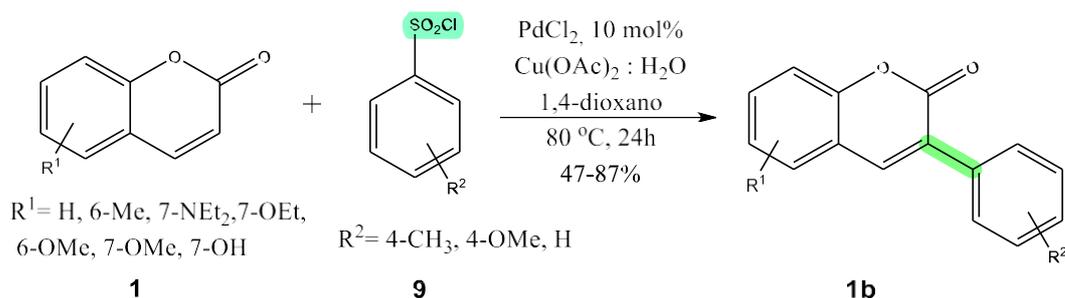
Outra metodologia descarboxilativa encontrada é sem catalisador e utiliza ácidos borônicos (**11**) ao invés de iodetos de fenila (**14**) (Esquema 4). O artigo contém 17 exemplos com 7 ácidos borônicos (**11**) diferentes, todos com substituintes na posição *para* porém nenhum exemplo com grupo retirador. A presença de grupos doadores de elétrons C7 na cumarina **13** e retiradores de elétrons em C6 se apresentou benéfica. Os ácidos fenil borônicos (**11**) com grupos doadores por sua vez, apresentaram uma queda em seus rendimentos. ^[31]



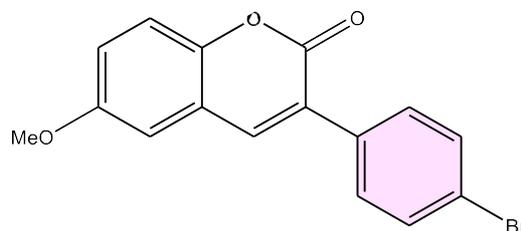
Chem. Commun., 2017, 53 (77), 10676-10679

Esquema 4: Arilação C3 da cumarina via acoplamento decarboxilativo - exemplo 2

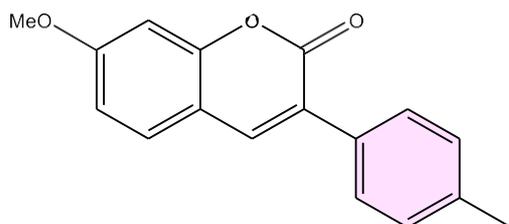
Também encontra-se acoplamento cruzado dessulfatativo, utilizando cloretos de sulfonilas (**18**) (**Esquema 5**). É uma reação longa de 24h em aquecimento, com 10 mol% de catalisador de paládio e 1 equivalente de acetato de cobre. Os compostos (**18**) sofrem facilmente uma clivagem da ligação C-S liberando SO₂. O escopo da reação foi explorado com grupos doadores de elétrons como aminas e alcóxi com rendimentos de 57 – 87%. Entretanto, com nitro-cumarinas (grupo retirador de elétrons), o produto foi obtido apenas em quantidades traço. [32]



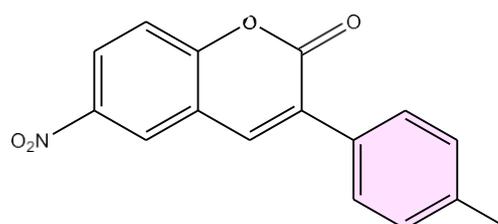
68%

1b11

72%

1b12

87%

1b13

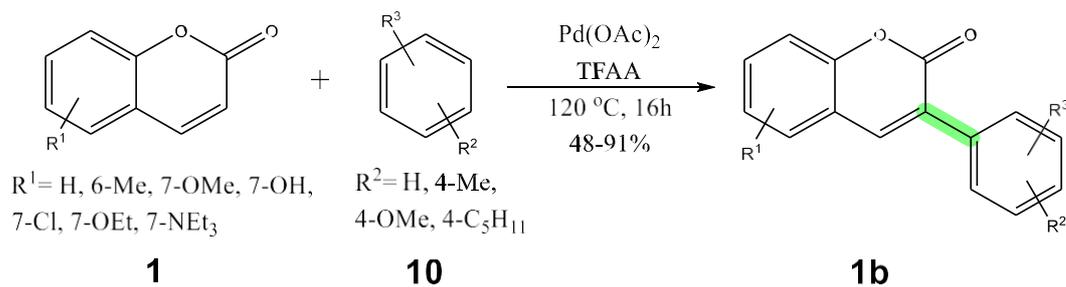
0%

1b14

Adv. Synth. Catal., **2013**, 355 (17), 3407-3412

Esquema 5: Arilação C3 da cumarina via acoplamento dessulfítico

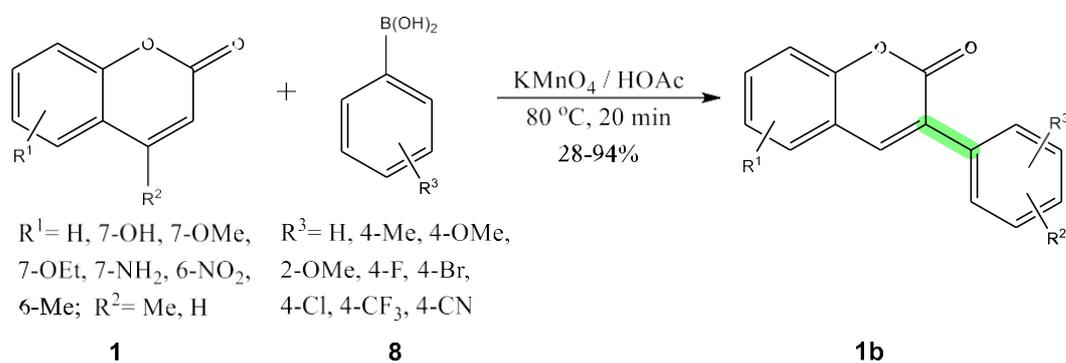
Uma outra metodologia catalisada por paládio consiste na arilação desidrogenativa por ativação C-H partindo de arênios (**20**) (**Esquema 6**). Assim como a reação anterior, os produtos são obtidos em maiores rendimentos com substituintes na cumarina de partida (**17**) e é uma reação de 16 h a 120 °C. ^[33] O mecanismo proposto começa com a formação de uma espécie de paládio mais eletrofílica com TFAA no meio, que se liga ao C3 da cumarina **17** e por subsequente coordenação de **20** e eliminação redutiva obtém-se o produto **19**.

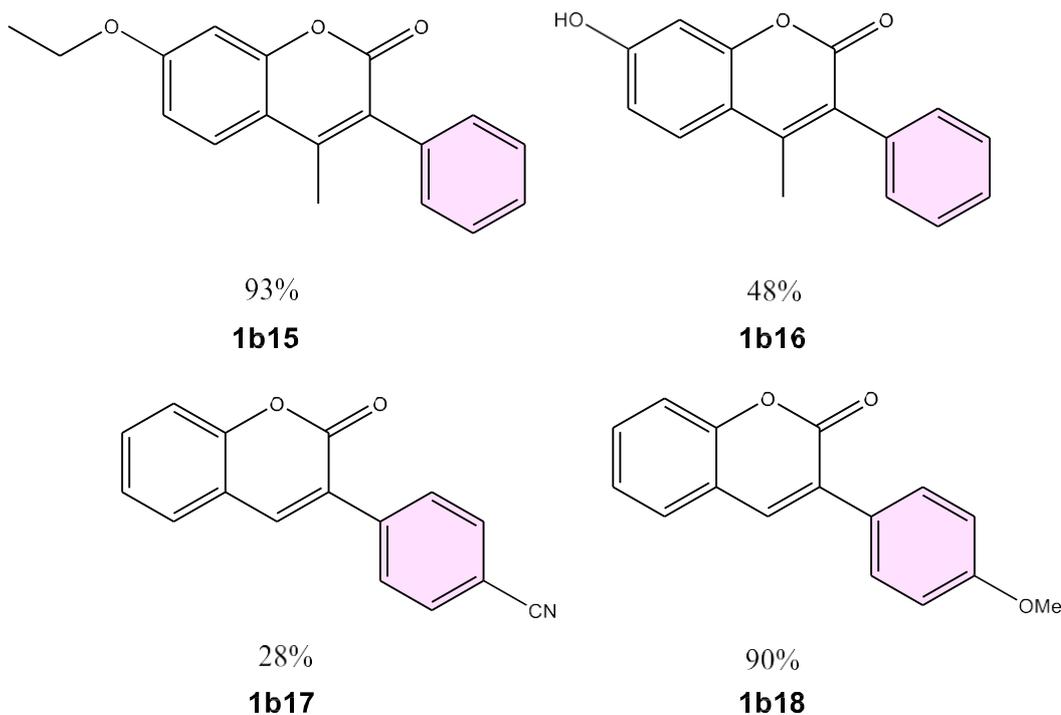


Chem. Commun., 2013, 49 (93), 10935

Esquema 6: Arilação C3 da cumarina via arilação desidrogenativa 1

Também há exemplos de arilação desidrogenativa empregando ácidos borônicos (**11**) e permanganato de potássio (**Esquema 7**). A reação é rápida com apenas duas etapas, mas os rendimentos com ácidos borônicos com grupos retiradores é baixo. [34]

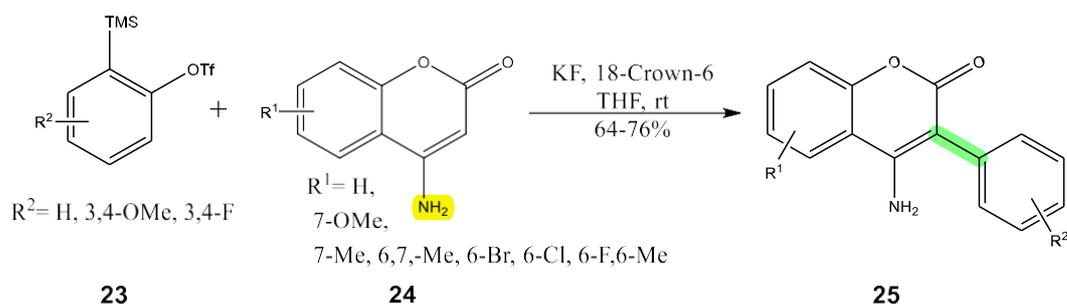


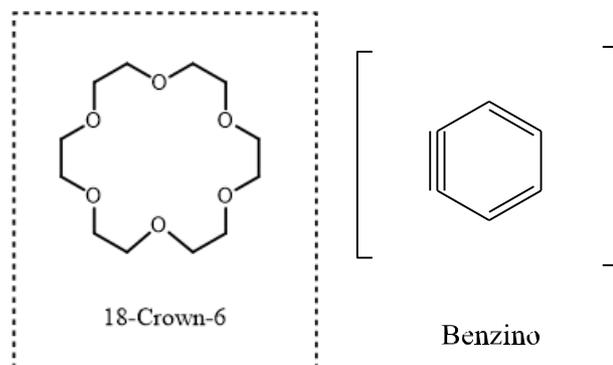
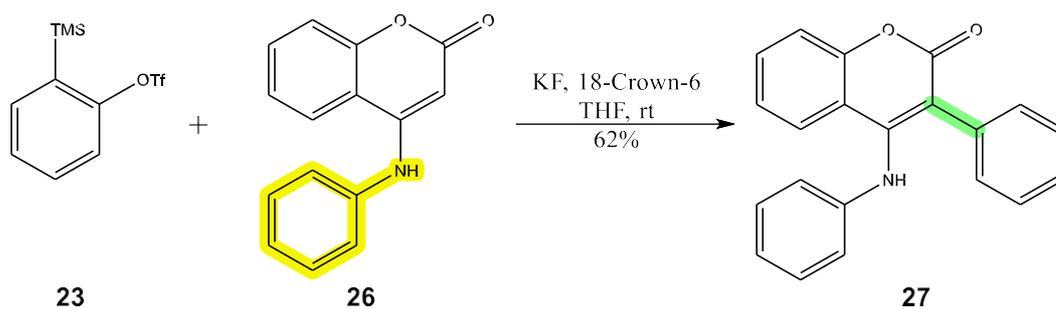


RSC Adv., 2016, 6 (42), 35936-35944

Esquema 7: Aрилаção C3 da cumarina via arilação desidrogenativa 2

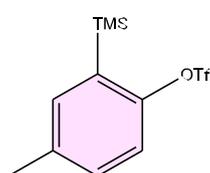
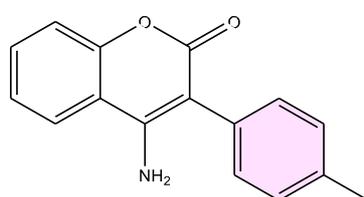
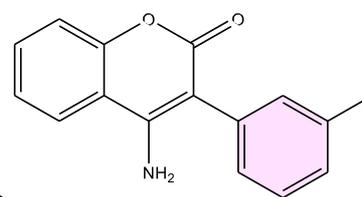
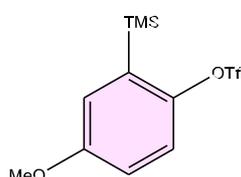
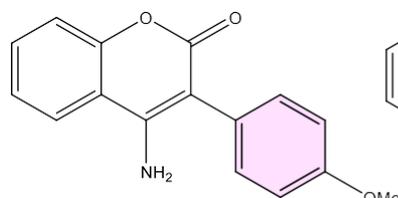
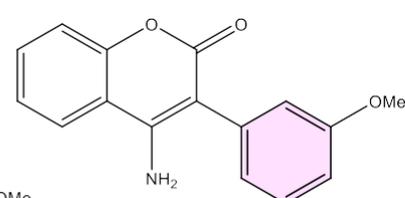
Aрилаção empregando triflatos (**23**) para a formação de benzino no meio foi reportada em 2019. É uma metodologia livre de metais a temperatura ambiente por 6 h, entretanto, 2-(trimetilsilil)fenil triflato (**23**) são onerosos e seria necessário a síntese de mais substratos como este para obter diferentes substituições. Para mais, uma mistura de produtos é gerada quando o 2-(trimetilsilil)fenil triflato (**23**) substituído não é simétrico.^[35]





Precursor

Mistura de produtos

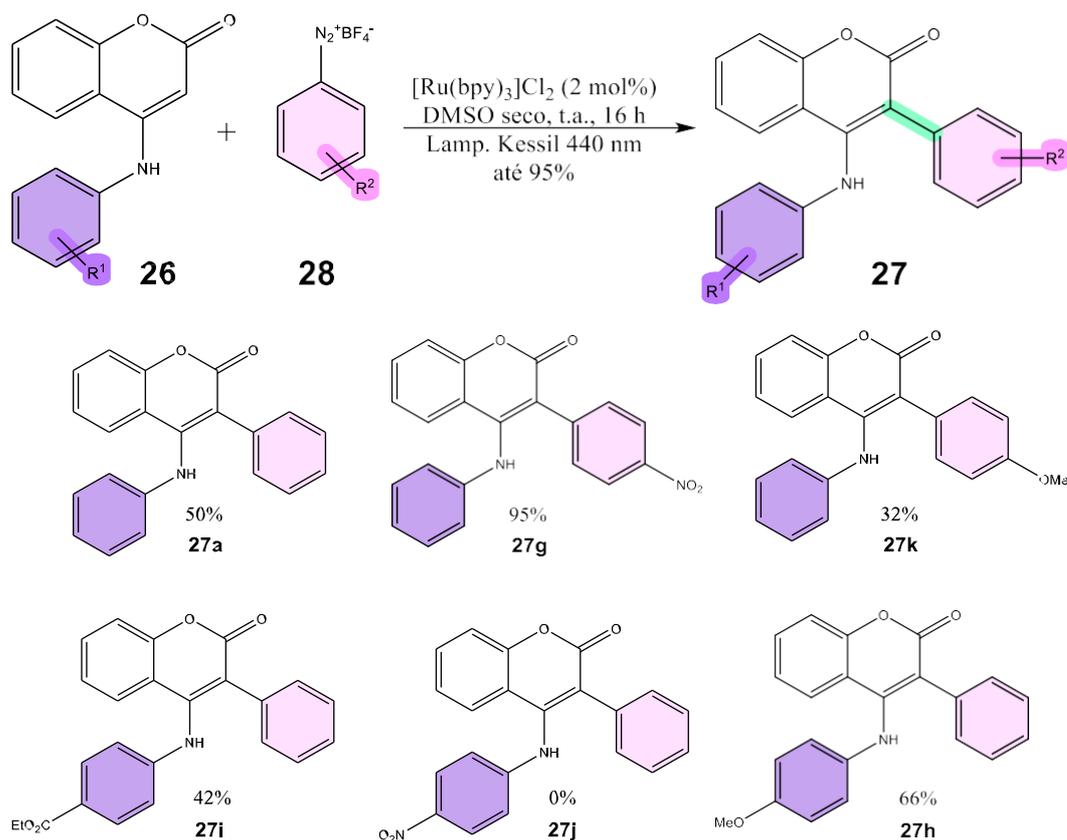
**23a****25a****25b****23b****25c****25d**

Org. Biomol. Chem., **2019**, *17*, 9014-9025

Esquema 8: Arilação C3 da cumarina via benzino

Recentemente, o nosso grupo de pesquisa reportou uma estratégia de obtenção de 3-aryl-4-(*N*-aryl)aminocumarinas (**26**) empregando a arilação foto-redox como etapa chave utilizando-se sais de diazônio (**28**) e [Ru(bpy)₃]Cl₂

como fotocatalisador e os produtos foram obtidos em até 95% de rendimento. O mecanismo proposto é radicalar e desta forma, grupos retiradores no sal de diazônio **28** e grupos doadores na aminocumarina **26** apresentaram rendimentos mais altos (**Esquema 9**).^[36]



Bioorg. Chem., 2021, 114, 1051-41

Esquema 9: Arilação C3 da cumarina via catálise fotoredox

Esta metodologia parte de sais de diazônio (**28**) que são simples de sintetizar a partir de anilinas comerciais, que por sua vez, são encontradas com variadas opções de substituição em valores acessíveis. O catalisador é facilmente sintetizado ou pode ser adquirido comercialmente. As aminocumarinas **26** são produtos de uma rápida reação entre a 4-hidroxycumarina e anilinas.

Esta reação se destaca por arilar cumarinas 4-N-substituídas na posição C3. Como pode ser observado, a maioria das metodologias descritas anteriormente não possuem substituintes na posição C4 e apenas um dos artigos realiza em 4-amino-aryl-cumarinas (**26**) com apenas um exemplo (**27**).^[35] A reação desenvolvida pelo grupo obtém com sucesso as cumarinas desejadas, mas necessita de 5 equivalentes

de material de partida (**26**), além de ter algumas limitações como: realizar em substratos 4-aminocumarinas (NH₂) (**24**) e sais de diazônio (**28**) com substituição em *meta* e *orto*.

1.3.2 Cumarinas com atividade anti-leishmanial e anti-câncer

Na literatura encontram-se alguns exemplos de cumarinas com ação anti-parasitária, tal como anti-leishmanial. Um exemplo de cumarina natural é a cumarina (-) mammea A/BB (**29**) isolada da *C. braziliense* e junto com as suas derivadas **30** e **31**, apresentaram notória atividade contra *L. amazonensis*. Na **Figura 5** abaixo, está descrito o IC₅₀ em µM e o índice de seletividade na forma promastigota e amastigota. [37]

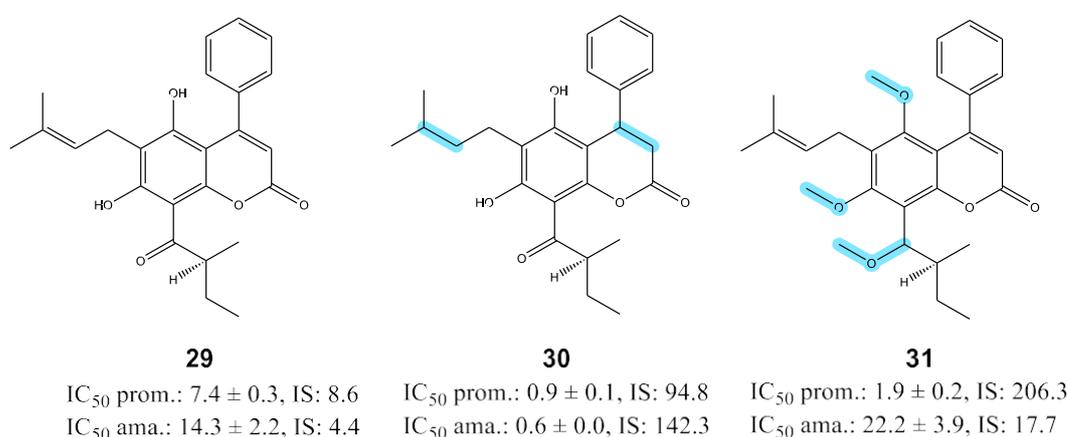


Figura 5: Cumarinas naturais com ação anti-leishmanial contra *L. amazonensis*

A partir destes dados, percebe-se o impacto nos IC₅₀ e índice de seletividade (IS) na presença de insaturações e também metoxilas na molécula. Com base nos resultados da forma amastigota, a molécula **29** obteve um IC₅₀ satisfatório, entretando, um baixo índice de seletividade, mas ao metoxilar 3 oxigênios, o índice de seletividade quadruplicou, porém aumentou o IC₅₀. O resultado mais promissor foi de **30**, sem as duplas ligações destacadas acima e com as hidroxilas, desta forma, obteve-se um IC₅₀ menor do que 1 µM e um índice de seletividade de 142, isto é, trinta e duas vezes maior do que com **29**.

Outro exemplo de cumarina natural, é a extraída das raízes de *V. Brachycalyx* que obteve ação biológica para *L. major* promastigota. Na **Figura 6** está o IC₅₀ também em µM e nota-se a importância da estereoquímica na atividade

biológica. O composto R (**33**) demonstrou ser menos ativo que o S (**32**) na forma promastigota. Contudo, não foram reportadas as citotoxicidades e os índices de seletividade. [38]

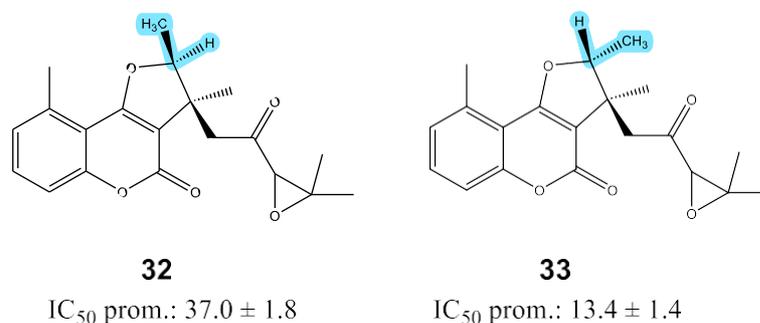
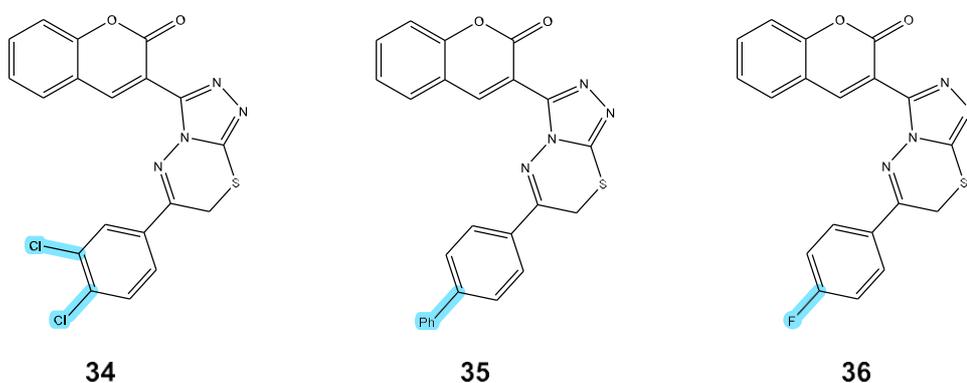


Figura 6: Cumarinas naturais com ação antileishmanial *L. major*

Também encontram-se exemplos de cumarinas sintéticas, muitas delas como híbridos com triazol, imidazol, piridina, imina, anilinas e entre outros. [39] Abaixo tem-se o exemplo de cumarinas-triazolotiadiazinas com ação contra *L. major* na forma promastigota (IC_{50} em μM) com resultados comparáveis a anfotericina B que possui um $IC_{50} = 0.47 \pm 0.09$. [40]



IC_{50} promastigota: 0.89 ± 0.08 IC_{50} promastigota: 1.02 ± 0.11 IC_{50} promastigota: 3.45 ± 0.13

Figura 7: Cumarinas sintéticas e atividade antileishmanial contra *L. Major*

Neste trabalho foram avaliados 10 cumarinas com diferentes padrões de substituição. O resultado mais promissor foi para a molécula **34** substituída por dois cloros e o menos ativo, substituída por flúor (**36**). Essas cumarinas também foram testadas para linhagens de câncer de mama, como carcinoma pulmonar (H-157) e fibroblasto renal (BHK-21) e foram obtidos $IC_{50} = 1.73 \pm 0.15 \mu M$ e $1.39 \pm 0.12 \mu M$ para **34**, $1.01 \pm 0.12 \mu M$ e $5.72 \pm 0.16 \mu M$ para **35** e $2.85 \pm 0.19 \mu M$ e $2.98 \pm 0.17 \mu M$ para **36** respectivamente. Na **Figura 8** encontram-se outros substituintes

testados com resultados promissores:

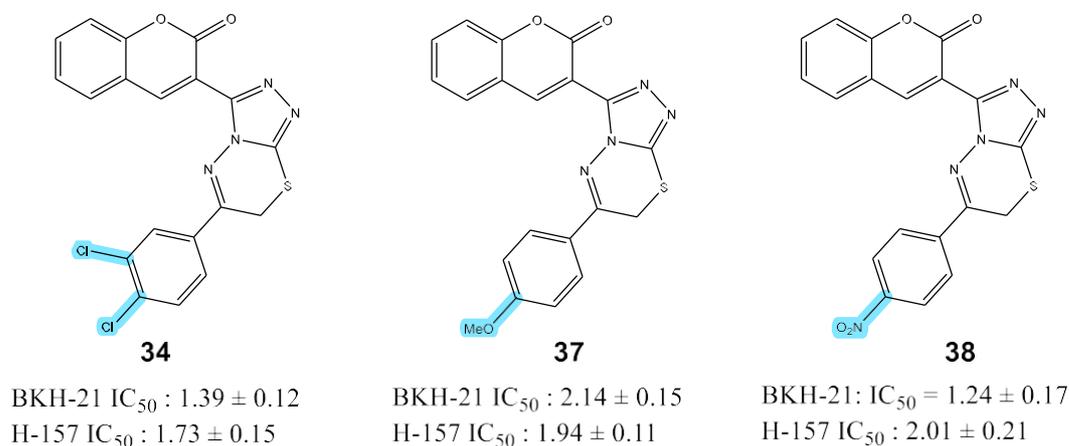


Figura 8: Cumarinas sintéticas e atividade anti-câncer contra *BKH-21* e *H-157*

Os resultados foram próximos aos de referência (fármacos utilizados para o tratamento), as moléculas contra BHK-21 foram comparados com a vincristina que possui um $IC_{50} = 1.08 \pm 0.09 \mu\text{M}$ e contra o H-157 com a cisplatina de $IC_{50} = 1.31 \pm 0.03 \mu\text{M}$. Além de híbridos 1,2,4-triazóis, também encontra-se híbridos 1,2,3-triazol. Segue um exemplo de cumarina-triazol **39** que mostrou ação antiproliferativa nas linhagens de câncer de próstata (PC3), câncer no estômago (MGC-801) e câncer de fígado (HepG2) (**Figura 9**).^[41]

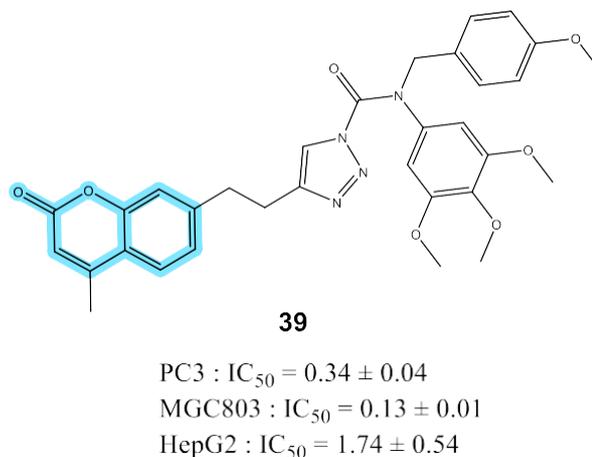
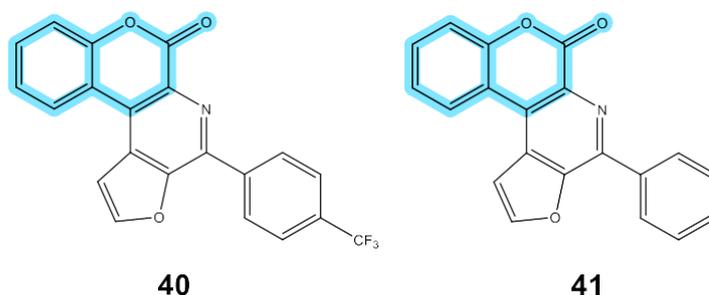


Figura 9: Cumarina-triazol com ação anti-câncer contra PC3, MGC803, HepG2

Também encontram-se cumarinas com estruturas heterocíclicas fundidas com atividade anti-câncer para câncer de próstata (DU-145), câncer de pele (B16F10) e câncer de mama (MCF-7) (**Figura 10**).^[42]

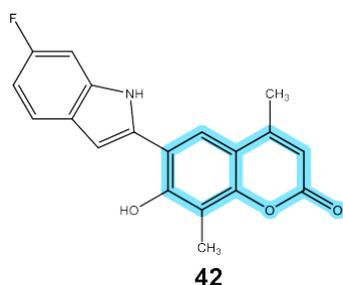


DU145: $IC_{50} = 20.88$
 B16F10: $IC_{50} = 12.98$

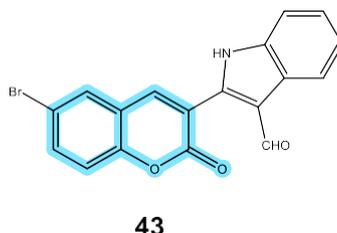
MCF-7 : $IC_{50} = 8.00$

Figura 10: Cumarinas com atividade anti-câncer contra DU145, B16F10, MCF-7

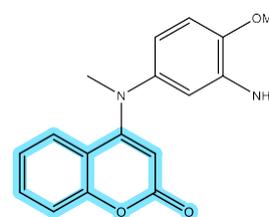
Conjuntamente, híbridos indol^[43] e anilincumarinas^[44] são estruturas com potencial ação anticâncer. Na **Figura 11** abaixo estão presentes alguns exemplos com seus IC_{50} e EC_{50} expresso em μM em diferentes linhagens de câncer.



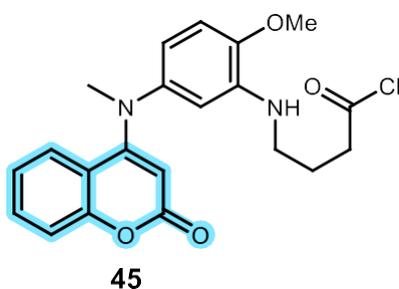
CCRF-CEM: $GI_{50} = 4.42$
 MCF-7: $GI_{50} = 2.57$
 PC-3: $GI_{50} = 2.64$
 OVCAR-3: $GI_{50} = 2.28$



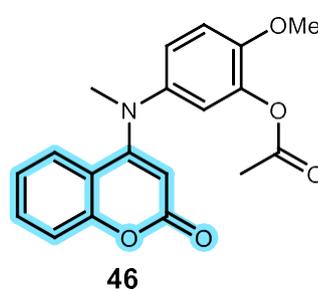
MCF-7 : $IC_{50} = 7.4$



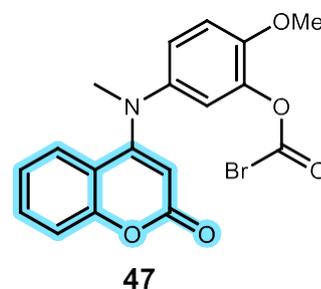
SKOV3: $IC_{50} = 23.4 \pm 2.1$
 HCT116: $IC_{50} = 2.9 \pm 0.5$
 HepG2: $IC_{50} = 3.3 \pm 0.1$



SKOV3: $IC_{50} = 3.5 \pm 0.1$
 HCT116: $IC_{50} = 31.9 \pm 13.4$
 HepG2: $IC_{50} = 27.3 \pm 11.0$



SKOV3: $IC_{50} = 5.6 \pm 0.8$
 HCT116: $IC_{50} = 25.6 \pm 2.8$
 HepG2: $IC_{50} = 14.7 \pm 3.1$



SKOV3: $IC_{50} = 5.6 \pm 0.9$
 HCT116: $IC_{50} = 27.2 \pm 5.2$
 HepG2: $IC_{50} = 10.9 \pm 1.0$

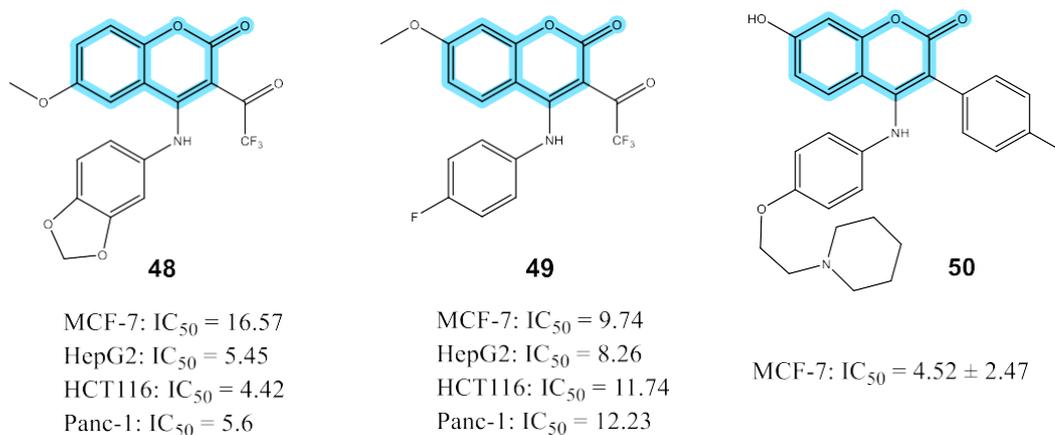


Figura 11: Cumarinas indol e anilincumarinas com ação anti-câncer

1.4 Azacumestanos e ligação CN

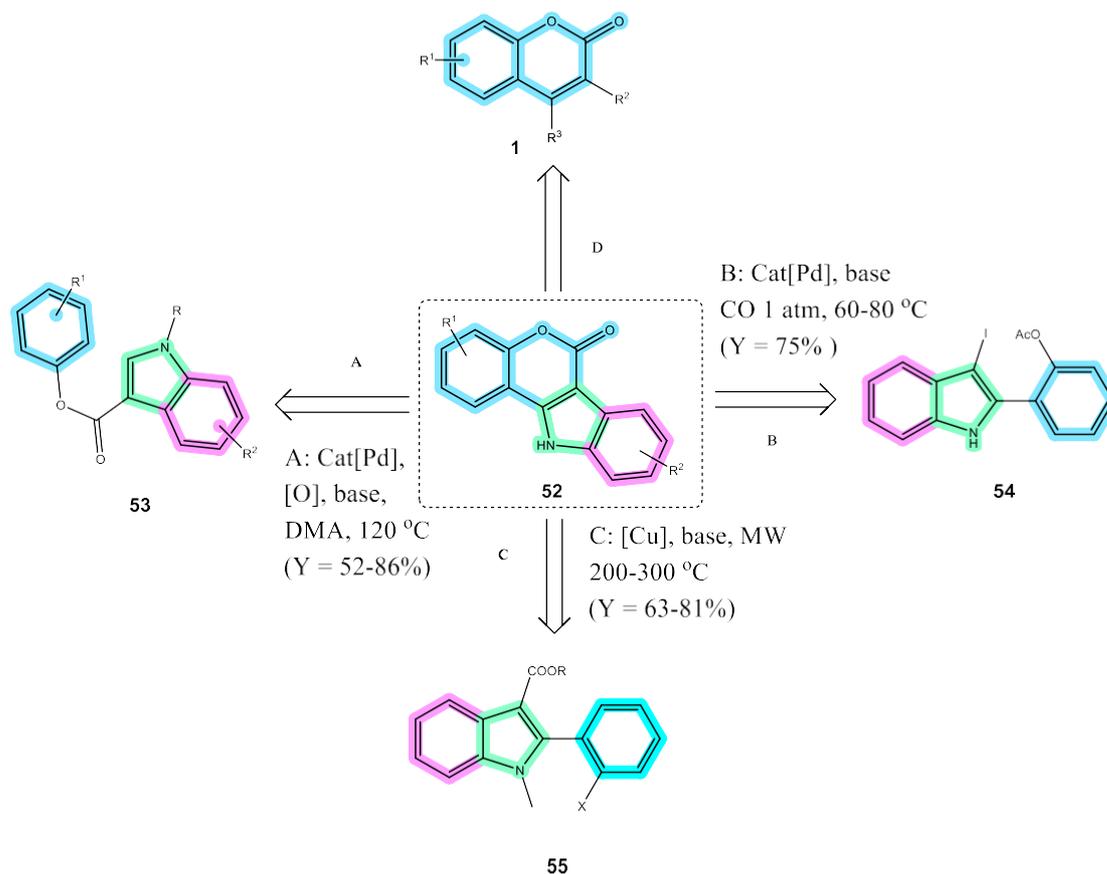
Os cumestanos são produtos naturais que apresentam um núcleo cumarina fundido a um benzofurano com inúmeros exemplos de atividades farmacológicas.^[45-47] O azacumestano **52** difere do cumestano **51** pelo heteroatomo presente no anel fundido, (cumestano – oxigênio, azacumestano – nitrogênio), sendo portanto, potenciais bioisómeros.^[48] Além do nitrogênio conferir propriedades diferentes de um átomo de oxigênio devido às diferentes propriedades eletrônicas, este átomo pode ser funcionalizado, possibilitando um novo arsenal de compostos.



Figura 12: Estrutura cumestano vs azacumestano

Inúmeras estratégias sintéticas são descritas na literatura para a obtenção de cumarinas e cumestanos, entretanto, as aminocumarinas e azacumestanos, também denominados de indol[3,2-c]cumarinas, já tiveram seus potenciais reconhecidos

recentemente [44,77] , mas suas ações biológicas foram pouco exploradas. O azacumestano pode ser obtido partindo de cumarinas, buscando a formação do núcleo indol, ou o contrário como pode ser observado no **Esquema 10** abaixo:

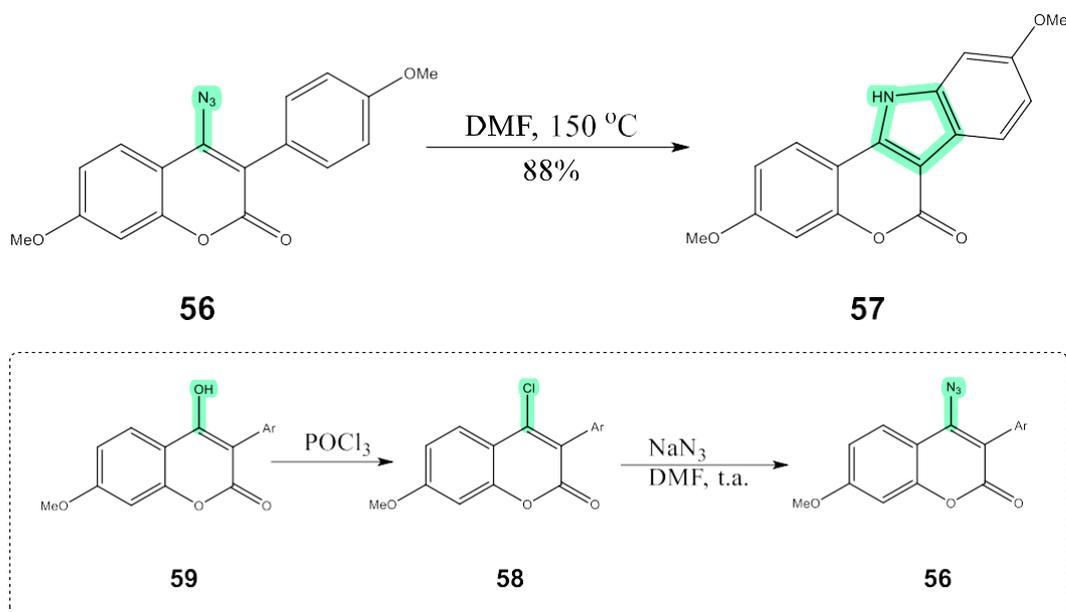


Esquema 10: Metodologias para síntese de azacumestanos

A formação de ligação C-N tem sido estudada por muitos anos devido a abundância de produtos naturais que apresentam heterocíclonitrogenados. [49] Na década de 1900, Ullmann e Goldberg foram os primeiros pesquisadores a utilizar cobre na construção dessa ligação. [50] Nesta época, era utilizada quantidade estequiométrica de sais de cobre, que depois, em 1990, essa proporção foi otimizada e começou a ser utilizado em quantidades catalíticas na presença de ligantes. Em continuação, sais de paládio foram utilizados, como por exemplo na aminação de Buchwald-Hartwig. [51] Além disso, foram desenvolvidas metodologias com outros metais de transição [52] e também livres de metais. [53]

Em 1991 Wolfgang e colaboradores reportaram a síntese do azacumestano **57** via ciclização térmica intramolecular a partir da cumarina-azida **56**. (**Esquema 11**) O material de partida é sintetizado em duas etapas a partir da cumarina **59** com **58**

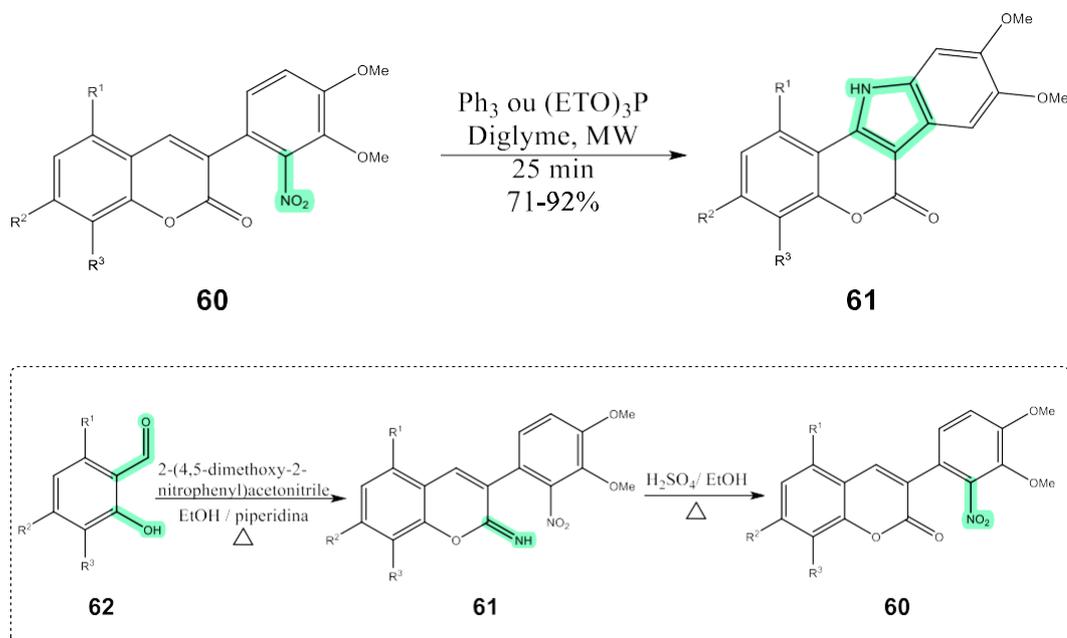
como intermediário. Para a substituição do grupo hidroxila pelo cloro, foi realizada uma reação de 1 h utilizando POCl_3 , que por ser precursor de armas químicas é um reagente de difícil aquisição devido ao controle do exército brasileiro. [54] O azacumestano foi obtido com rendimento de 88%, este sendo o único exemplo descrito no artigo. Com isso, não é possível avaliar o sucesso da reação com outros substituintes. [55]



Chem. Mon., 1991, 122 (10), 853-861

Esquema 11: Ligação C-N via ciclização intramolecular com azida para formação do indol

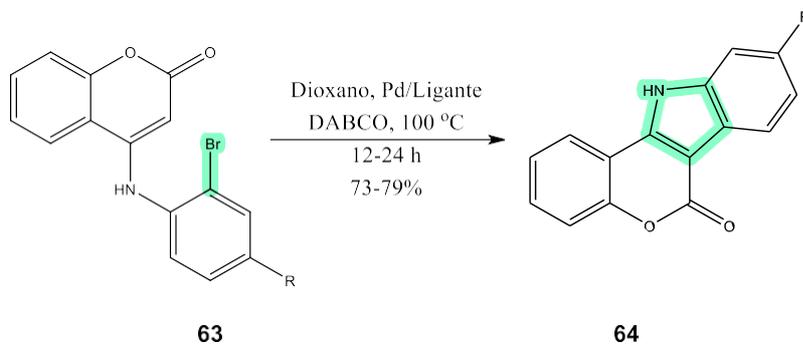
Outra estratégia para a síntese do núcleo indólico é através da ciclização de Cadogan, onde ocorre a desoxigenação do grupo nitro na presença de compostos trivalentes de fósforo. Foi testado a Ph_3P e não houve sucesso em 3 de 8 exemplos (**Esquema 12**). Os produtos **61** foram obtidos em 7 de 8 exemplos e com maiores rendimentos ao utilizar $(\text{EtO})_3\text{P}$. Contudo, essa fosfina também é um dos reagentes controlados pelo exército e dificulta o seu uso aqui no Brasil. O material de partida **60** foi obtido através de uma condensação de Perkin seguida de uma hidrólise da imina **61** com rendimentos de 83 - 98 %. [56]



Tetrahedron Lett., **2013**, 54 (42), 5734-5738

Esquema 12: Ligação C-N via Cadogan para formação do indol

Além da formação de ligação C-N partindo de cumarinas, também existem metodologias com acoplamento cruzado C-C partindo de aminocumarinas. Um dos exemplos é via Heck intramolecular empregando aminocumarinas bromadas **63** e um catalisador de Pd com cobalto. Este catalisador é sintetizado com duas etapas e os reagentes são caros. A reação foi publicada com 2 exemplos, R = H e R = Me, com uma duração de 12 e 24 h, respectivamente (**Esquema 13**).^[57]

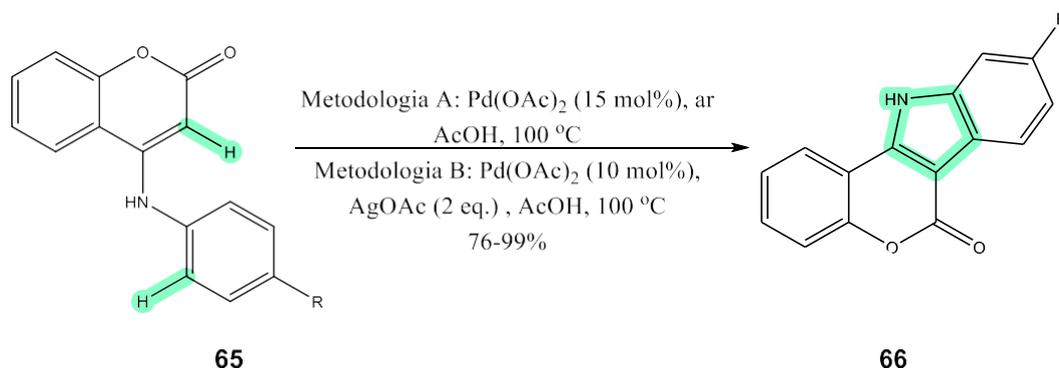


Inorg. Chem. Commun., **2009**, 12 (7), 596-598

Esquema 13: Reação de Heck intramolecular para formação de núcleo indólico

Em 2016, Cheng e colaboradores publicaram a síntese de azacumestano via acoplamento cruzado intramolecular desidrogenativo, conforme o **Esquema 14**. Foram reportados 20 exemplos, 8 deles funcionaram apenas com a metodologia A

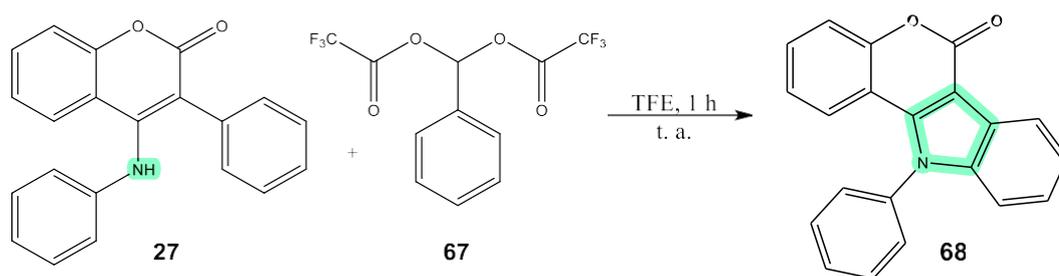
e 7 apenas com a metodologia B. Uma das limitações desta reação é a presença de substituintes R na posição meta do anel, devido a mistura dos dois produtos possíveis. Ademais, as as reações possuiram tempos reacionais variados de 12 – 50 horas. [58]



J. Org. Chem., 2016, 81 (22), 11501-11507

Esquema 14: Síntese do azacumestano via acoplamento cruzado intramolecular desidrogenativo

Todavia, como o projeto também tem interesse nos intermediários aminocumarinas **27** precursoras dos azacumestanos, a estratégia de formação da ligação C-N adotada foi através de uma aminação oxidativa empregando PIFA (**67**) (**Esquema 15**). [59]



Esquema 15: Síntese do azacumestano **68** via aminação oxidativa com PIFA

Esta reação foi desenvolvida pelo grupo, mas foi realizada em apenas uma molécula **27**. A reação é realizada em temperatura ambiente para não haver a degradação do PIFA, e em 2,2,2-trifluoroetanol (TFE) visto que em solventes fluorados, iodios hipervalentes possuem uma melhor reatividade. [60]

1.5 Adição de Michael

Através do estudo de metodologias para as cumarinas de interesse do trabalho, nota-se uma oportunidade de desenvolver uma nova metodologia de aza-Michael oxidativo empregando anilinas e 3-ácido cumarina carboxílico.

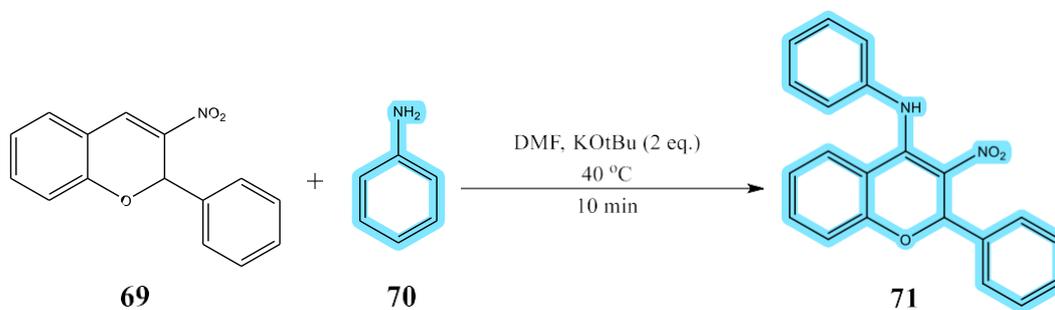
A adição de Michael é uma reação de adição 1,4 de nucleófilos (doadores de Michael) a olefinas ativadas (aceptoras de Michael). Ela foi desenvolvida em 1887, quando Michael publicou uma série de artigos de adição de malonatos a enonas. [61]

Normalmente é uma reação envolvendo compostos carbonilados α,β -insaturados catalisada por base, mas também há adições por catálise ácida com ácidos de Lewis.

1.5.1 Aza-Michael empregando anilinas

Aza-Michael é uma das reações mais populares para a formação de ligação C-N. Na literatura encontram-se muitas metodologias com aminas nucleofílicas, porém, há poucos exemplos com aminas aromáticas como as anilinas. Posto que possuem um baixo carácter nucleofílico, necessitam de condições mais intensas para reagirem. Conseqüentemente, foram reportados vários procedimentos envolvendo ácidos de Lewis e metais de transição para promover a adição conjugada. [61-65]

Um exemplo de reação de Aza-Michael envolvendo anilinas foi publicada em 2018 com o composto 3-nitro-2-fenil-2H-cromeno (**69**). Os fatores mais importantes na otimização da reação foram o solvente e a base (**Esquema 16**). [66]



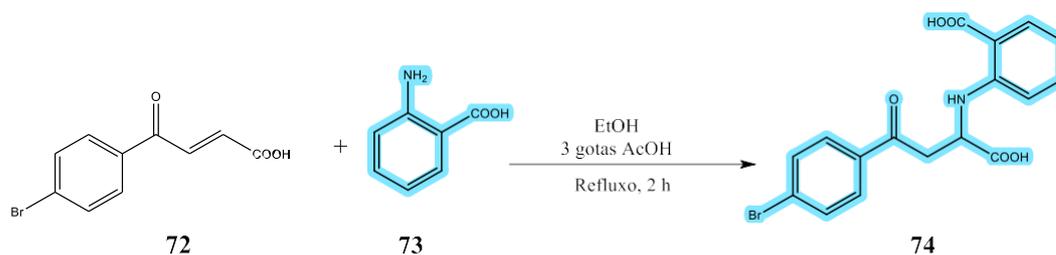
Eur. J. Org. Chem., 2018, 3454-3463

Esquema 16: Aza-Michael entre anilina (**70**) e 3-nitro-2-fenil-2H-cromeno (**69**)

A reação foi testada com 11 bases e 9 solventes diferentes. As reações com K_2CO_3 , CS_2CO_3 , Et_3N , Et_2NH e piperidina não funcionaram, NaOH e KOH

obtiveram rendimentos em torno de 30% e os melhores resultados foram com KO t Bu como base. A equivalência da base demonstrou ser importante, foi observado 0.5, 1.0 e 1.5 equivalente com rendimentos de 39, 64 e 72% respectivamente, com mais de 20 h de reação sem conversão completa. Contudo, com 2 equivalentes o produto foi obtido com 82% de rendimento em 10 minutos. Ainda sobre a otimização da reação, os solventes, diclorometano, clorofórmio e etanol não foram adequados para a formação do produto. A melhor condição foi 2 eq. de KO t Bu em DMF a 40 °C por 10 minutos.

Além da reação em meio básico, foi reportada a adição de anilina **73** em **72** em etanol e gotas de ácido acético por 2h em refluxo (**Esquema 17**).^[67]



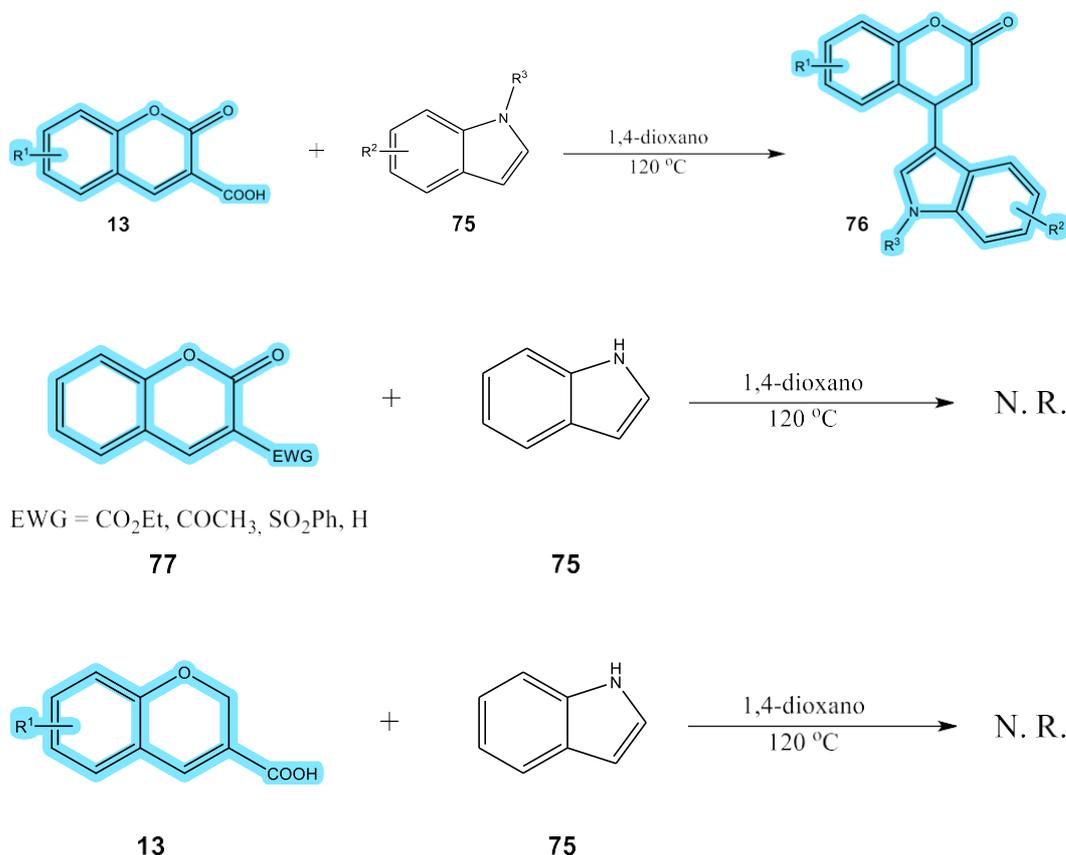
J. of Heteroc. Chem., 2015, 52 (3), 732-743

Esquema 17: Aza-Michael catalisada por ácido acético

A metodologia apresentada no esquema acima também foi testada com a 1,2-benzodiamina, porém houve a ciclização do produto. Devido a falta de exemplos no escopo das anilinas utilizadas, não é possível avaliar a metodologia com outros grupos funcionais.

1.5.2 Adição de Michael empregando 3-ácido cumarina carboxílicos

O ácido cumarino-3-carboxílico é um aceptor de Michael em algumas adições, contudo, em virtude da quebra da conjugação, condições mais intensas são adotadas, levando a descarboxilação do produto ou a abertura da lactona. No **Esquema 18** abaixo há um exemplo de uma publicação de 2014 com a adição de indols na cumarina sem catalisador com 48h de reação.^[68]

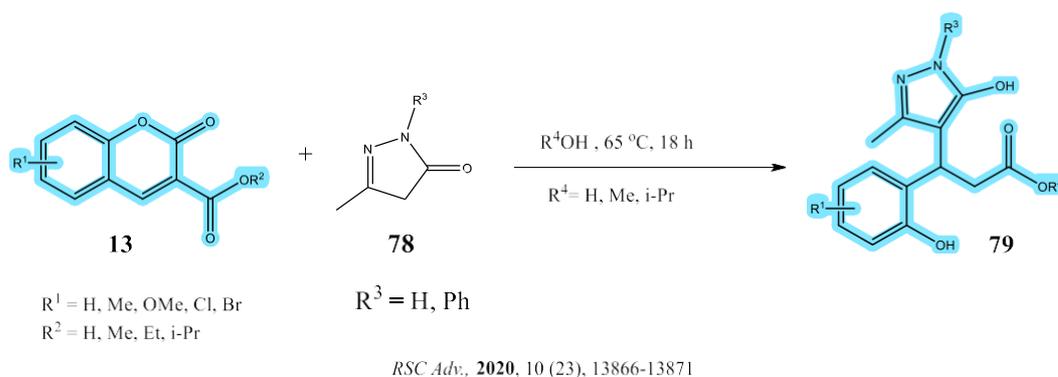


Org. e Biom. Chem., 2014, 12 (14), 2185

Esquema 18: Adição do indol (**75**) em 3-ácido cumarina carboxílicos

O artigo reporta 16 exemplos de produtos **76** com rendimentos de 30 – 98%. Os substituintes no indol foram os mais significantes na reatividade, com preferência aos grupos doadores. Os autores também mencionam a importância da lactona (**77**) e do grupo EWG = COOH (**13**) para que a reação ocorra.

Outro exemplo consiste na síntese de ácidos pirazol fenil propiônicos **79** via tandem adição de Michael, descarboxilação e esterificação/amidação *one pot*. Os melhores solventes foram água, metanol, álcool isopropílico e 2-metiltetraidrofurano com rendimentos de 87, 92, 96 e 92 % respectivamente. Neste caso há a abertura da lactona da cumarina e também ocorre a reação com ésteres (**Esquema 19**).^[69]



Esquema 19: Adição de Michael, descarboxilação e esterificação/amidação *one pot*

Também há exemplos de adição de Michael em ácido cumarino-3-carboxílico catalisadas por metais. Em 2019, Hu e colaboradores publicaram a adição conjugada descarboxilativa de ácido cumarino-3-carboxílico com 2 aril piridinas catalisada por Rh (III) [70] e outro grupo estudou a atividade catalítica de CuFe_2O_4 estabilizada em MCC (celulose microcristalina). O artigo reporta 16 exemplos com grupos doadores e retirados em rendimentos de 76 – 86%. A melhor condição reacional foi a 60 °C por 7h em água e DMSO (1:1), e a metodologia também funcionou com cumarinas 3 ésteres carboxílicos com rendimentos similares. [71]

1.6 Rigidez molecular

Os produtos naturais e seus análogos são uma forte inspiração para a busca de novos fármacos. Historicamente os primeiros medicamentos eram extraídos de plantas e ervas, mas como normalmente são isolados em pequenas quantidades, a síntese orgânica apresentou um papel essencial para a obtenção desses produtos mais eficientemente, além de buscar novas moléculas mais ativas, menos tóxicas e com rotas mais verdes. [72]

Na estrutura dos produtos naturais, normalmente é encontrado um grande número de carbono sp^3 , oxigênios e nitrogênios em menores quantidades. [73] Os anéis aromáticos também são encontrados, porém em apenas 38% dos produtos naturais e 20% em fármacos comerciais. [74]

Esse cuidado estrutural junto ao planejamento sintético, é devido a relação entre estrutura e atividade biológica. Um dos maiores desafios da química medicinal é compreender essa interação entre o princípio ativo e receptor biológico.

A afinidade entre os dois depende da estrutura química, então assim como determinados grupos funcionais em posições específicas são fatores importantes para a atividade biológica, é também a flexibilidade/ rigidez conformacional da molécula.

Um exemplo conhecido na literatura são os peptídios cíclicos que possuem uma melhor atividade biológica em comparação aos lineares. Esse fato é explicado pela sua maior permeabilidade a células e menor flexibilidade conformacional. [75]

A comparação entre cadeia aberta e fechada na atividade biológica não é muito encontrada na literatura. Mas um estudo de 2018 de interação proteína-proteína indica que moléculas pequenas e rígidas, possuem uma melhor inibição alostérica.

Um sítio alostérico é um segundo sítio de uma enzima, importante para as vias metabólicas e é capaz de fazer ligações para ativação ou inibição enzimática. Esse sítio é conformacionalmente ligado ao sítio ativo, e por conta disso, é possível inibir seu funcionamento por meio de ligações.

Na **Figura 13** abaixo, está representada a importância da rigidez conformacional no design de moléculas, visando apenas a conformação inativa da proteína.

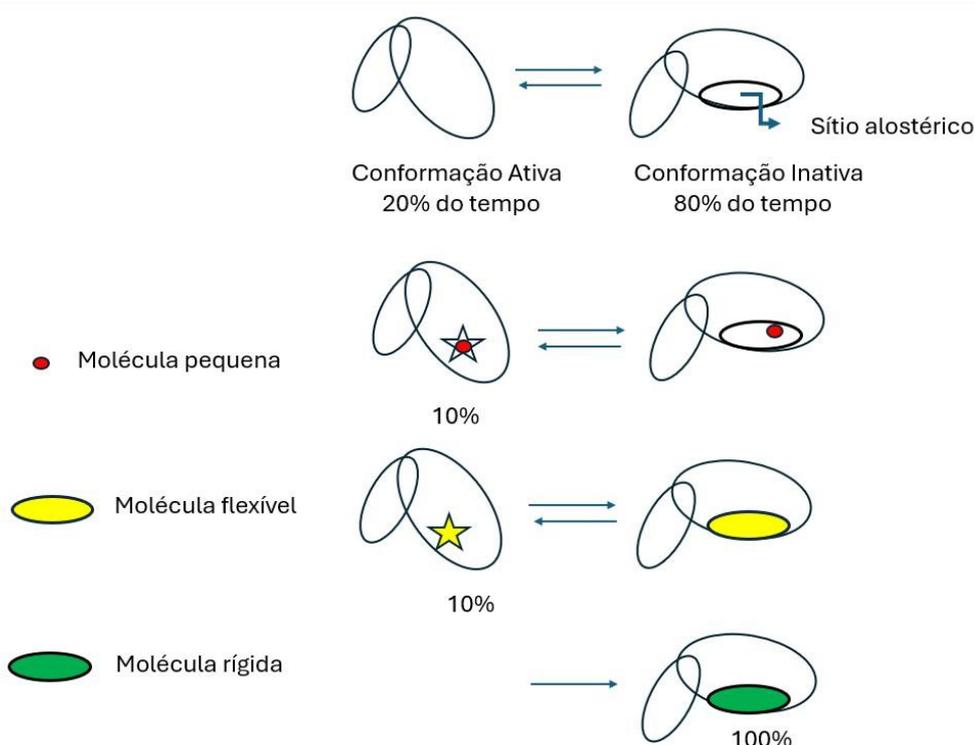


Figura 13: Molécula vs Conformação Ativa (Imagem adaptada de Alastair)

Uma molécula pequena capaz de se ligar ao sítio alostérico, porém que não preenche todo o sítio, não é o suficiente para bloquear a conformação ativa da proteína. As moléculas flexíveis, da mesma forma que as pequenas, tende a manter o equilíbrio existente entre os confôrmeros, uma vez que conseguem rotacionar, transladar e torcionar. Apesar disso, as moléculas flexíveis possuem uma maior probabilidade de achar um sítio alostérico para se ligar. E por último temos as moléculas rígidas, que uma vez ligadas, não possuem uma flexibilidade para uma mudança de conformação.

2. Objetivos Gerais

A partir dos resultados promissores citados anteriormente e a necessidade de medicamentos menos tóxicos e mais eficientes, o objetivo deste trabalho consiste em dar continuidade na síntese de novas cumarinas com potencial ação antileishmanial e anticâncer. Além de investigar o desenvolvimento de novas metodologias, relacionar a estrutura com sua bioatividade e realizar as caracterizações estruturais.

2.1 Objetivos Específicos

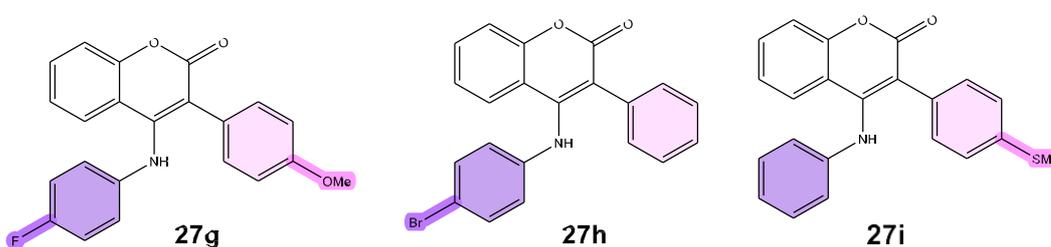
- Promover a ciclização via aminação oxidativa intramolecular de 3-aril-4-*N*-arilcumarinas que apresentaram os resultados farmacológicos mais promissores contra leishmaniose (células *L. amasonensis*) e células *MCF-7* de câncer de mama, obtendo os azacumestanos.
- Estudar a relação entre estrutura e atividade biológica, analisando a influência da rigidez conformacional.
- Sintetizar 3-aril-4-*N*-arilcumarinas com padrões de oxigenação no anel A e promover a ciclização para obtenção dos respectivos azacumestanos.
- Desenvolver uma nova metodologia via adição de Michael oxidativa e arilação descarboxilativa que permitirá obter os produtos oxigenados desejados.

3. Justificativa

Tendo em vista a potencial ação biológica das 3-aril e aminocumarinas, o

nosso grupo de pesquisa desenvolveu uma metodologia para síntese de 3-aryl-4-*N*-arilcumarinas **27**. Dentre todas as sintetizadas, **27b**, **27c** e **27f** apresentaram uma notória atividade biológica para leishmaniose e foram inativas para células *MCF-7* de câncer de mama. Os resultados para atividade antileishmanial foram comparados com a miltefosina, um dos atuais fármacos utilizados no tratamento de leishmaniose, sendo o único oral disponível, enquanto que os resultado anticâncer com a doxorrubicina. Na **Tabela 1** abaixo temos a comparação dos três melhores resultados para leishmaniose com a miltefosina:

Tabela 1: 3-aryl-4-*N*-arilcumarinas previamente sintetizadas no LabSint com melhor ação antileishmanial



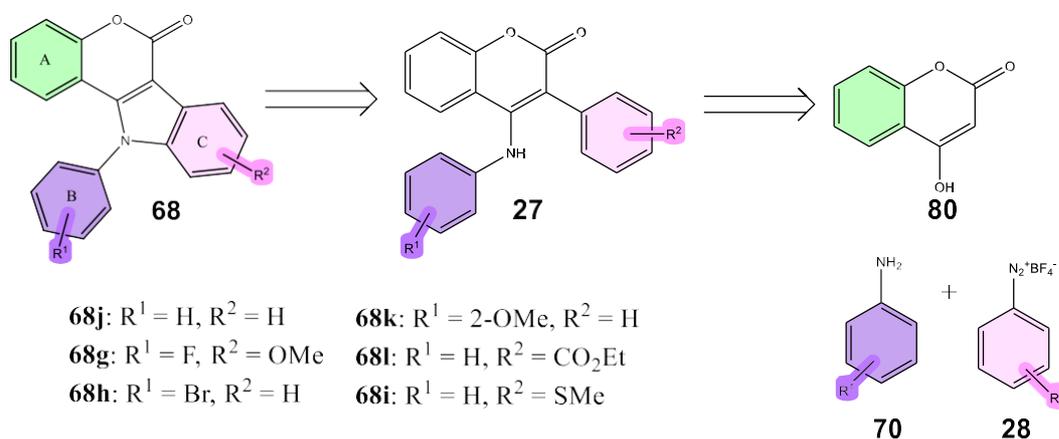
Compostos	<i>L. amazonensis</i> Promastigota IC ₅₀ (μ M)	<i>L. amazonensis</i> Amastigota IC ₅₀ (μ M)	Índice de seletividade (IS)
27b	5.65 +/- 2.078	9.64 +/- 1.148	>62.2
27c	9.05 +/- 2.855	24.55 +/- 1.109	>24.4
27f	5.96 +/- 3.210	32.15 +/- 1.216	>18.6
Miltefosina	8.56 +/- 0.695	12.71 +/- 1.099	>23.6

Os resultados foram muito próximos ao de referência, além de um índice de seletividade iguais a 62.2, 24.4 e 18.6. Os compostos **27b** e **27f** apresentaram um IC₅₀ melhor em comparação a miltefosina na forma promastigota, entretanto apenas o **27b** em sua forma amastigota. O que torna o resultado mais surpreendente, é que além disso, o índice de seletividade do composto **27b** é quase 3x superior ao de referência.

Um dos objetivos é realizar a ciclização destas moléculas **27** e avaliar a influência desta mudança estrutural nas atividades antileishmaniais e anti-câncer. Devido a perda de liberdade de rotação ao redor da ligação sigma, obtem-se

moléculas mais rígidas, as quais podem ter uma melhor atividade biológica e/ou índice de seletividade. [75]

Os azacumestanos **68** de interesse são moléculas não descritas anteriormente e com potencial ação antileishmanial e anticâncer. A rota sintética proposta consistiu em três etapas otimizadas previamente pelo grupo (**Esquema 20**).

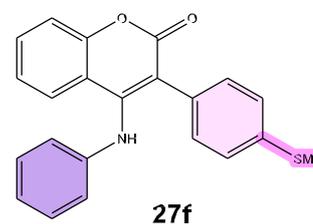
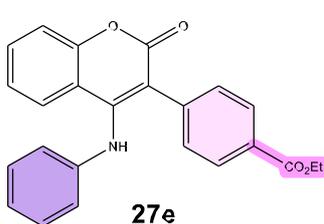
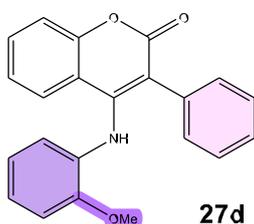
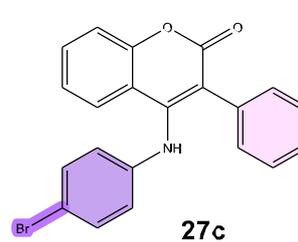
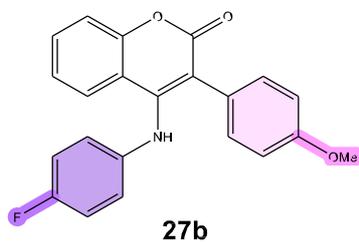
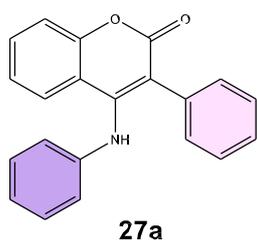


Esquema 20: Análise retrossintética para obtenção dos azacumestanos **68**

Para a compreensão das escolhas dos R^1 e R^2 dos azacumestanos de interesse, está apresentado na **Tabela 2** os resultados farmacológicos das 3-aryl-4-N-aryl-cumarinas **27**. As moléculas **27g-l** obtiveram os resultados farmacológicos mais promissores para leishmaniose e linhagens de câncer de mama (células *MCF-7*), dessa forma, os substituintes dos anéis B e C foram mantidos no planejamento de novas moléculas. Em vista disso, a primeira etapa consistiu na síntese de 4-N-aryl-cumarinas através de uma reação de condensação utilizando anilinas comerciais **70**.

Tabela 2: Ação antileishmanial e anti-câncer das 3-aryl-4-N-aryl-cumarinas previamente

sintetizadas no LabSint.



Composto	Promastigota <i>L.</i> <i>Amasonensis</i> IC ₅₀ (μM)	Amastigota <i>L.</i> <i>Amasonensis</i> IC ₅₀ (μM)	<i>MCF-7</i> CC ₅₀ (μM)
27j	>300	-	492.08 +- 4.368
27g	5.65 ± 2.078	9.64 ± 1.148	267.86 +/- 3.588
27h	9.05 ± 2.855	24.55 ± 1.109	538.17/- 3.475
27k	>300	-	>600
27l	>300	-	193.24 +/- 3.671
27i	5.96 ± 3.210	32.15 ± 1.216	178.05 +/- 3.351
Miltefosina	8.56 ± 0.695	12.71 ± 1.099	-
Doxoburricina	-	-	3.03 ± 1.138

Os resultados para câncer de mama, demonstraram que essas cumarinas **27** são inativas. Contudo, os azacumestanos **68** que fazem parte do objetivo do trabalho, possuem um esqueleto mais rígido e tetracíclico que se assemelham aos azapterocarpanos **82** e **83**, também sintetizados previamente pelo grupo, cujo resultado biológico para câncer de mama foi promissor.

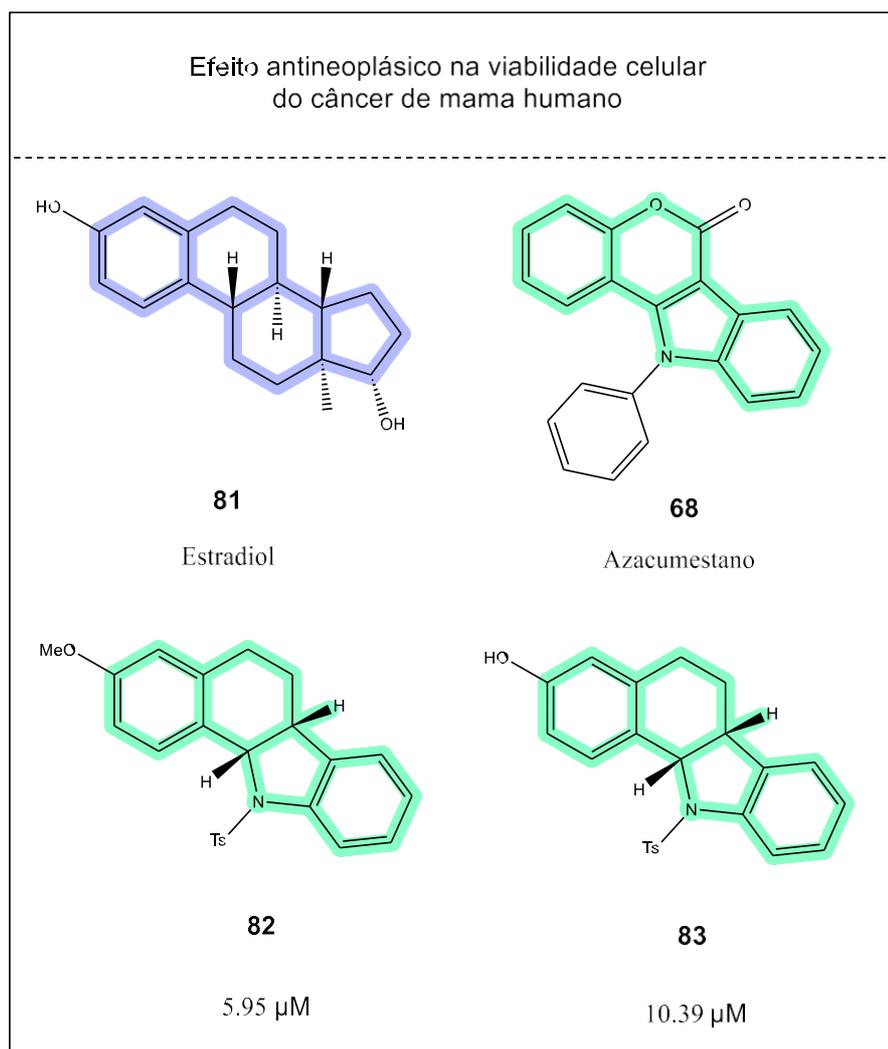
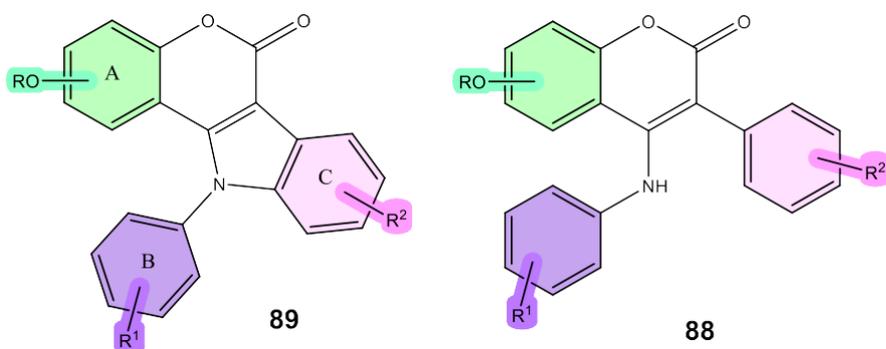


Figura 14: Compostos com esqueleto tetracíclico: azacumestano, azapterocarpanos e estradiol

As moléculas **82** e **83** são similares ao estradiol (**81**), que é o tipo mais ativo de estrogênio predominante na vida reprodutiva de uma mulher. Essa similaridade é importante pois uma das terapias para o câncer de mama utiliza antiestrogênios que se ligam aos receptores de estrogênio. ^[76]

Um segundo objetivo do trabalho trata-se de sintetizar as cumarinas **88** e azacumestanos **89** e avaliar a influência de padrões de oxigenação que estão presentes em muitos produtos naturais e em cumarinas com ação antileishmanial e anticâncer citadas anteriormente.



Esquema 21: Cumarinas **88** e azacumestanos **89** oxigenados no anel A

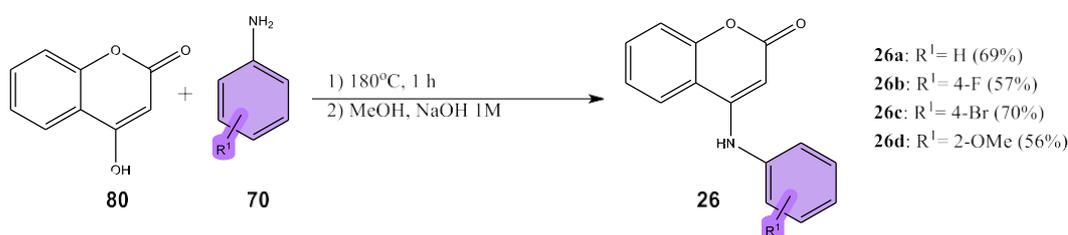
A catálise fotorredox é uma das etapas chaves deste trabalho para a obtenção das cumarinas de interesse, que emprega sais de diazônio como fonte de radical arila e uma luz azul de 440 nm para excitar o catalisador de Ru. A metodologia já foi previamente otimizada pelo grupo mas ainda não foram realizadas em cumarinas oxigenadas. Dessa forma, o estudo de outras metodologias para a obtenção dessas moléculas também se faz presente no trabalho.

Como foi visto, não foi reportado na literatura o aza-Michael oxidativo em 3-ácido cumarinas carboxílico envolvendo anilinas sem a descarboxilação ou abertura da lactona da cumarina. Desta forma, também é de interesse sintético, não somente farmacológico, o desenvolvimento de uma nova metodologia.

4. Resultados e Discussões

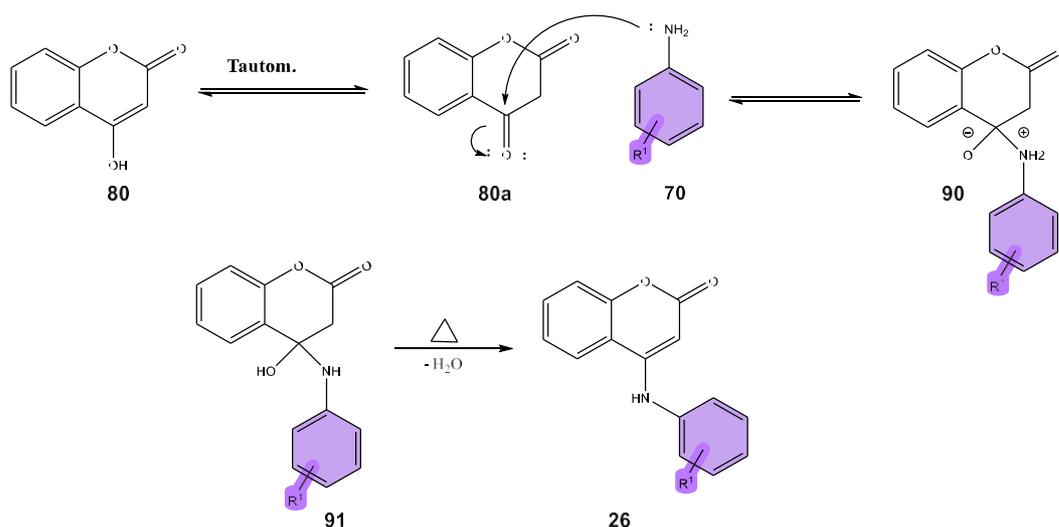
4.1 Síntese dos Azacumestanos

A primeira etapa da rota para síntese dos Azacumestanos **68** consiste em uma reação de condensação partindo da 4-hidroxycumarina **80** e anilinas **70**, ambos comerciais (**Esquema 22**).



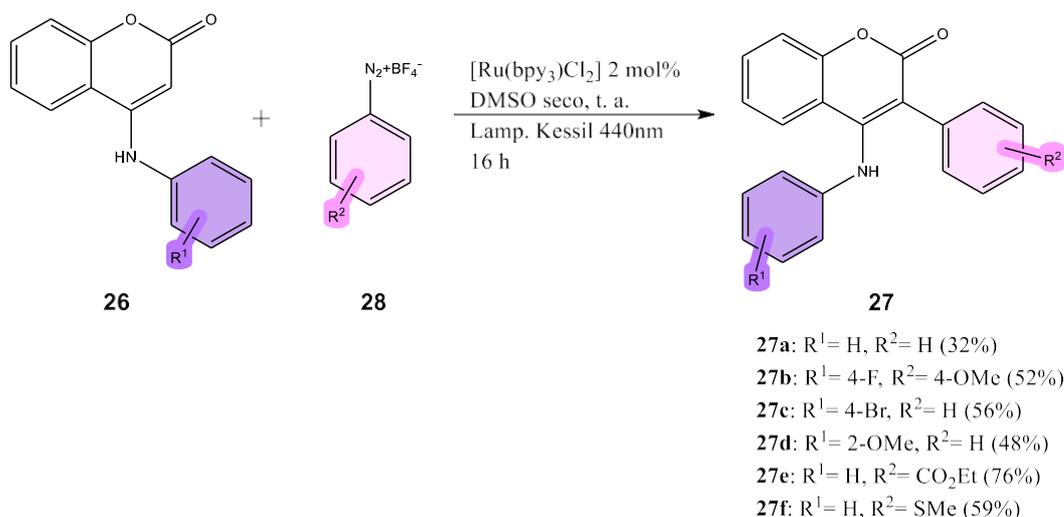
Esquema 22: Reação de *N*-Arlação e resultados farmacológicos para leishmaniose (promastigota e amastigota) e células MCF-7 (câncer de mama)

O mecanismo da reação ocorre conforme o **Esquema 23**, de forma que há a tautomeria da 4-hidroxycumarina **80**, e o ataque do nitrogênio da anilina à carbonila. Esta é uma reação rápida com duas etapas experimentais, cujo produto **26** é isolado através de uma filtração sem a necessidade de outra purificação. Os compostos **26a-d** foram obtidos em rendimentos de, 69, 57, 70 e 56% respectivamente. Esses compostos apresentam elevada estabilidade térmica, possibilitando sua secagem na estufa à 120 °C. A formação desses compostos foi confirmada via RMN ¹H através do aumento do número de hidrogênios aromáticos e desaparecimento do sinal do hidrogênio característico do grupo 4-OH.



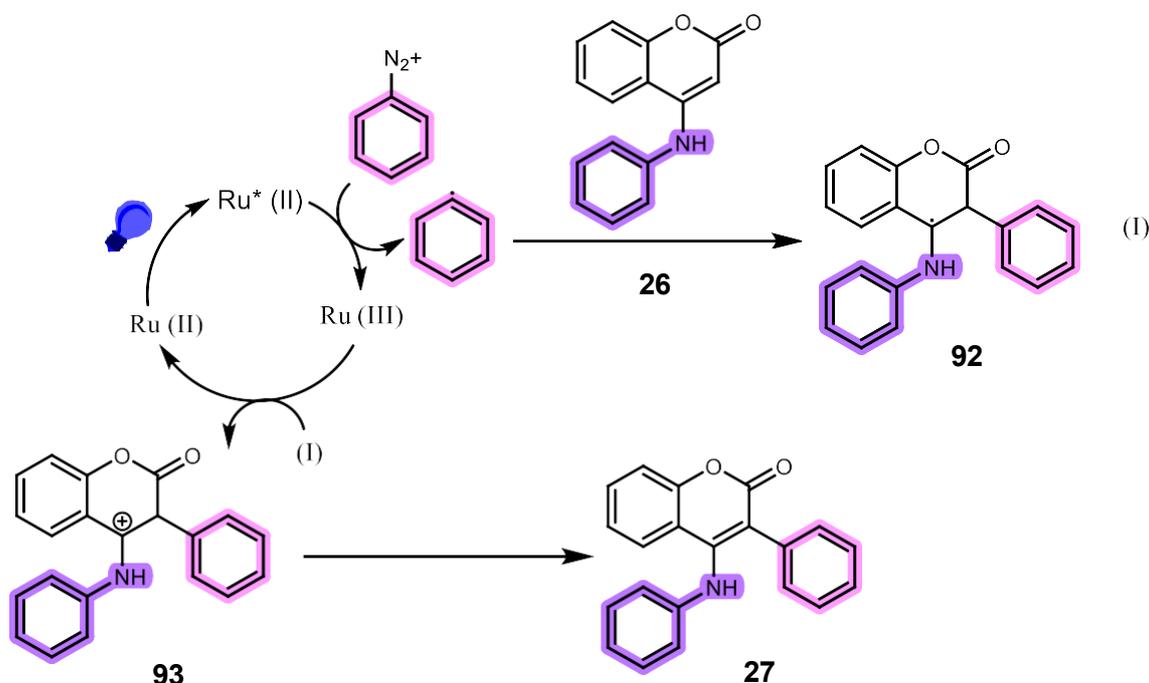
Esquema 23: Proposta mecanística de N-Arilação de 4-hidróxicumarinas

A próxima etapa consistiu na arilação da posição C3 via catálise fotorredox (**Esquema 24**). Para isso, diferentes sais de diazônio **28** foram sintetizados via reação de diazotação de anilinas com HBF₄. Esses compostos foram escolhidos como fontes de radicais arila, tendo em vista o potencial redox favorável para redução (em torno de 0 V).^[78] Do ponto de vista sintético, haletos de arila seriam mais indicados devido à disponibilidade comercial e não haver a necessidade de funcionalizações, entretanto, em comparação aos sais de diazônio, costumam ser mais caros e possuem um menor potencial redox devido a sua maior força de ligação C-Halogênio.^[77-78] Como a reação se baseia em reações de oxi-redução, um maior potencial redox é fundamental para que a reação ocorra com o catalisador de rutênio empregado.



Esquema 24: Catálise Fotorredox para arilação de *N*-arilcumarinas

Os compostos **27a-27f** foram obtidos em rendimentos de 32 a 72% e sua caracterização via RMN ¹H, de forma que é possível verificar o desaparecimento do hidrogênio vinílico encontrado em aproximadamente 5 ppm e o aparecimento de mais sinais aromáticos. O mecanismo proposto para a reação descrito no **Esquema 25**, começa com a excitação do catalisador pela luz azul (Ru(II) → Ru*(II)), e uma vez no estado excitado, o elétron é doado via SET (transferência de um elétron, do inglês *single electron transfer*) formando o radical arila pela redução do sal de diazônio. Em seguida o radical é adicionado a cumarina e novamente via SET, o Ru(III) se reduz a Ru(II) e o catalisador é regenerado.



Esquema 25: Proposta mecanística da catálise fotorredox

O artigo reporta a reação em até 95% de rendimento, entretanto, não foram obtidos os mesmos rendimentos relatados no artigo, com quedas de rendimentos em até 20%.^[36] O maior rendimento obtido foi referente a molécula **27e**, com grupo CO₂Et, retirador de elétrons no anel do sal de diazônio (C) e o menor, a molécula **27a**, sem nenhum substituinte. Esta etapa apresentou algumas complicações na tentativa de aumentar a escala e na etapa de purificação, que possivelmente justificam os rendimentos reduzidos.

A instabilidade dos produtos para a purificação via coluna cromatográfica em sílica já era conhecido, necessitando ser empacotada em uma solução de hexano e trietilamina. Nas primeiras reações foi difícil achar a proporção ideal de trietilamina/hexano a qual não havia sido relatada. Dado que muitos produtos ainda estavam degradando e o gasto de trietilamina estava muito alto, buscou-se também outras formas de purificação.

As solubilidades das aminocumarinas **26** e os produto de arilação **27** são diferentes, com a inserção de um anel aromático a molécula torna-se mais apolar. Isto é perceptível na preparação das amostras para a realização dos espectros de RMN, cujo compostos **26** são realizados em DMSO-d₆ (insolúveis em clorofórmio deuterado) enquanto que os compostos **27** em CDCl₃. Então, com o intuito de separar-los sem a necessidade de uma coluna cromatográfica, testou-se a

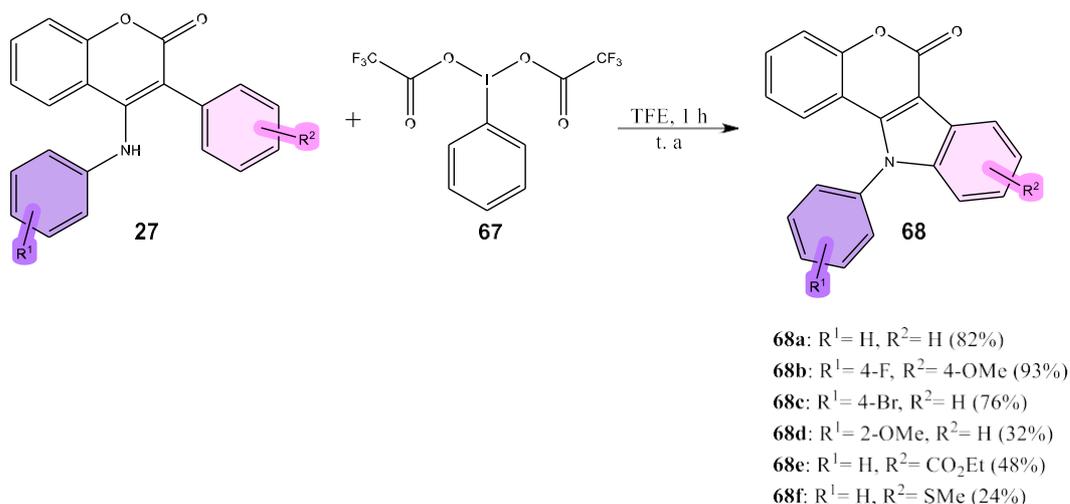
solubilidade dos compostos **26a** e **27a** em oito solventes: Diclorometano, clorofórmio, hexano, tolueno, etanol, éter, éter de petróleo e metanol. Assim, o objetivo foi encontrar um solvente capaz de purificar o produto através de uma recristalização do produto ou material de partida.

O solvente com uma melhor separação foi o hexano, cuja cumarina de partida **26a** é praticamente insolúvel e o produto **27a** permanece em solução. Contudo, ao modificar os substituintes dos anéis, o hexano começou a não ser muito seletivo, mas ainda assim, este solvente foi utilizado para retirar parte do excesso da aminocumarina **26**.

Na tentativa de purificar os compostos por cromatografia, foram testadas alumina neutra e alumina básica ao invés de Sílica gel com mesh de 230-400. A sílica é levemente ácida e a alumina é encontrada na forma neutra, básica e ácida. Ademais, o tamanho das partículas do adsorvente, dado através do valor de mesh, é variável e afeta o fluxo de solvente da coluna, de forma que partículas maiores (menor *mesh*) é indicado para colunas a gravidade, e menores partículas (maior *mesh*) podem ser realizadas com uma pressão externa. Ao colunar o composto **26a** utilizando a alumina neutra disponível, foi perceptível a mistura imediata do reagente com o produto logo no primeiro tubo. Posteriormente percebeu-se que seria necessário um adsorvente de menores partículas para a realização da coluna com pressão. Já a coluna com alumina básica, foi eficiente para verificar que não há a degradação dos compostos utilizando este adsorvente, comprovando que a acidez da sílica é responsável pela degradação dos produtos. Contudo, a alumina básica disponível possui um tamanho de partícula ainda muito grande (70-230 mesh) para ser realizada com pressão, o que levou a mistura do produto com o reagente nos últimos tubos.

Dessa forma, os compostos foram purificados por coluna cromatográfica com alumina básica, com perda residual do produto. Além disso, foi possível purificar os compostos com a coluna automática – Biotage Isolera, e também pela cromatografia com sílica flash, com a sílica pré-tratada com uma solução de 20% de trietilamina em hexano.

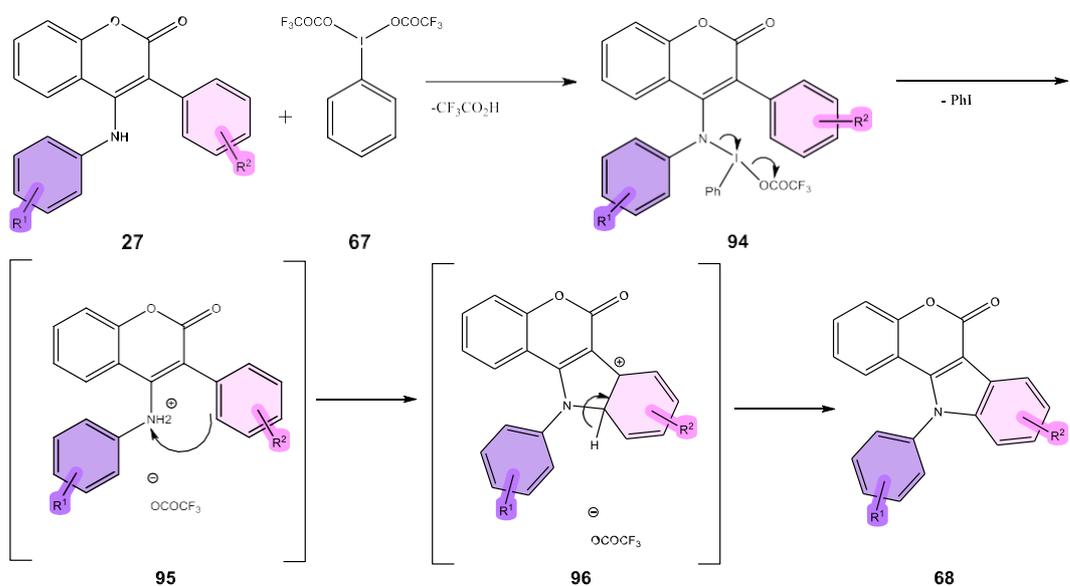
A última etapa consistiu em uma aminação oxidativa, uma reação de ciclização empregando iodo hipervalente (PIFA) e trifluoroetanol (TFE) (**Esquema 26**). Essa reação foi previamente otimizada pelo grupo. ^[79]



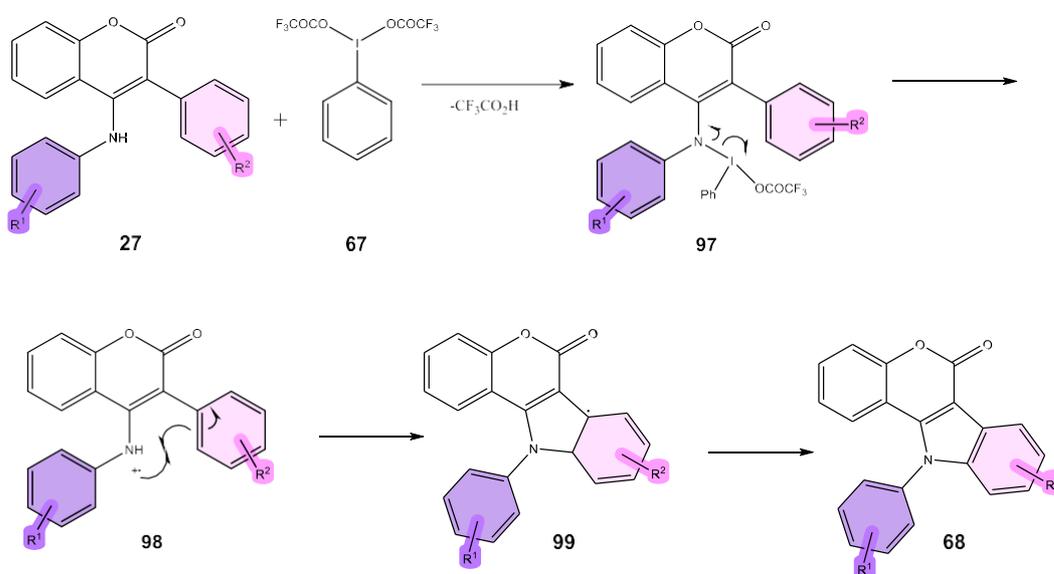
Esquema 26: Reação de aminação oxidativa de 3-aryl-4-aminocumarinas **27**

O rendimento do composto **68a** foi de 82%, quando houve a inserção de Br em *para* no anel B, houve uma pequena queda para 76%. Ao adicionar um grupo doador de elétrons (Metoxila) na posição *orto*, o rendimento reduziu-se em mais da metade para 32%. Enquanto que no anel C, com grupo retirador CO₂Et foi obtido um rendimento de 48% e doador SMe 24%. Já a molécula **68b**, com R¹ = F e R² = 4-OMe foi obtida com o maior rendimento de 93%.

Baseado na literatura [80-81], foi possível propor dois mecanismos, um com intermediário radicalar catiônico e outro como carbocátion. Independente da via, o mecanismo inicia-se com o iodo ligando-se ao nitrogênio, sendo assim, substituintes em *orto* nos anéis B e C tendem a reduzir o rendimento devido ao efeito estérico.



Esquema 27: Proposta mecanística para ciclização com intermediário carbocátion



Esquema 28: Proposta mecanística para ciclização com intermediário radicalar catiônico

Para melhor elucidação do mecanismo, é necessário como um dos primeiros passos sintetizar mais compostos, variando apenas os substituintes no anel B e C individualmente, para depois avaliar moléculas substituídas nos dois anéis. De acordo com o mecanismo proposto 1, grupos doadores no anel C conseguem estabilizar o intermediário **96**, o que justificaria um alto rendimento para a molécula **68b**, e por sua vez retiradores, seria obtido em menores rendimentos como **68e**. Contudo, a molécula **68f**, apesar de apresentar um grupo doador, apresentou o menor rendimento de 24%.

Quanto as caracterizações dos azacumestanos **68** foi realizado RMN ¹H e RMN ¹³C. Nos espectros de RMN ¹H abaixo, é possível verificar o desaparecimento do singlete referente ao NH, e também de um hidrogênio aromático, confirmando a ciclização.

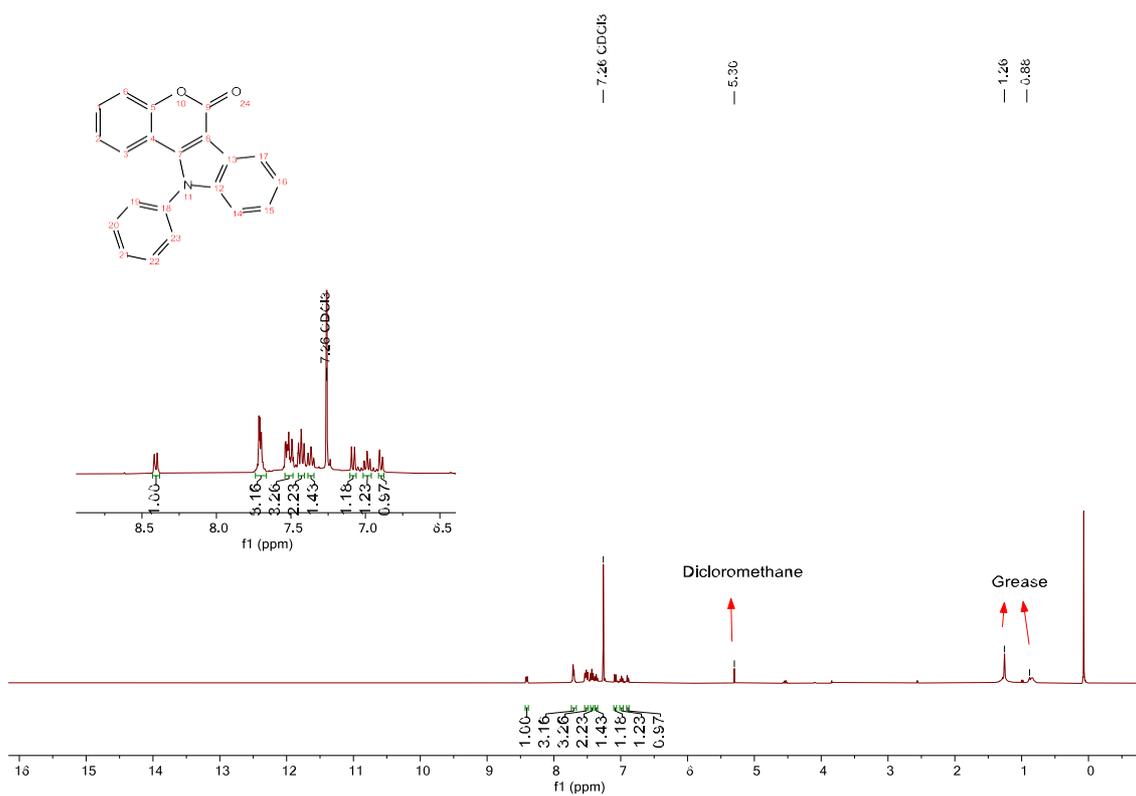


Figura 15: RMN ^1H do composto **68a** (CDCl₃, 400 MHz)

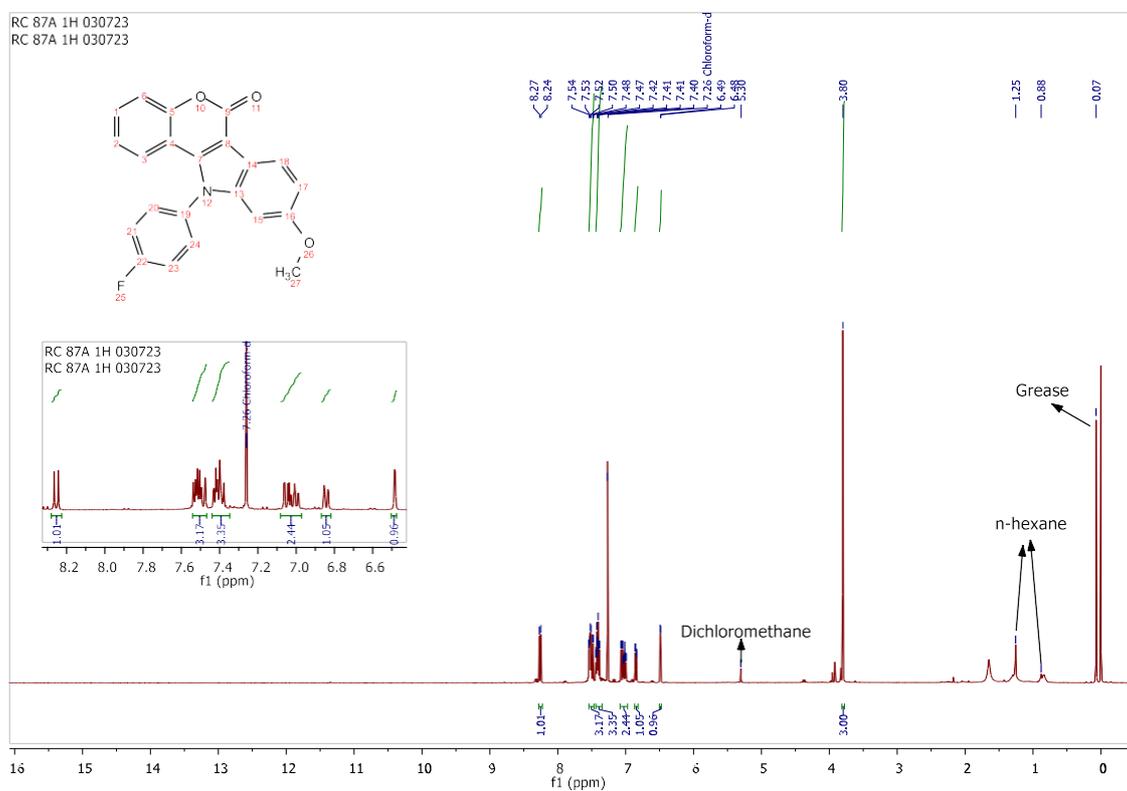


Figura 16: RMN ^1H do composto **68b** (CDCl₃, 400 MHz)

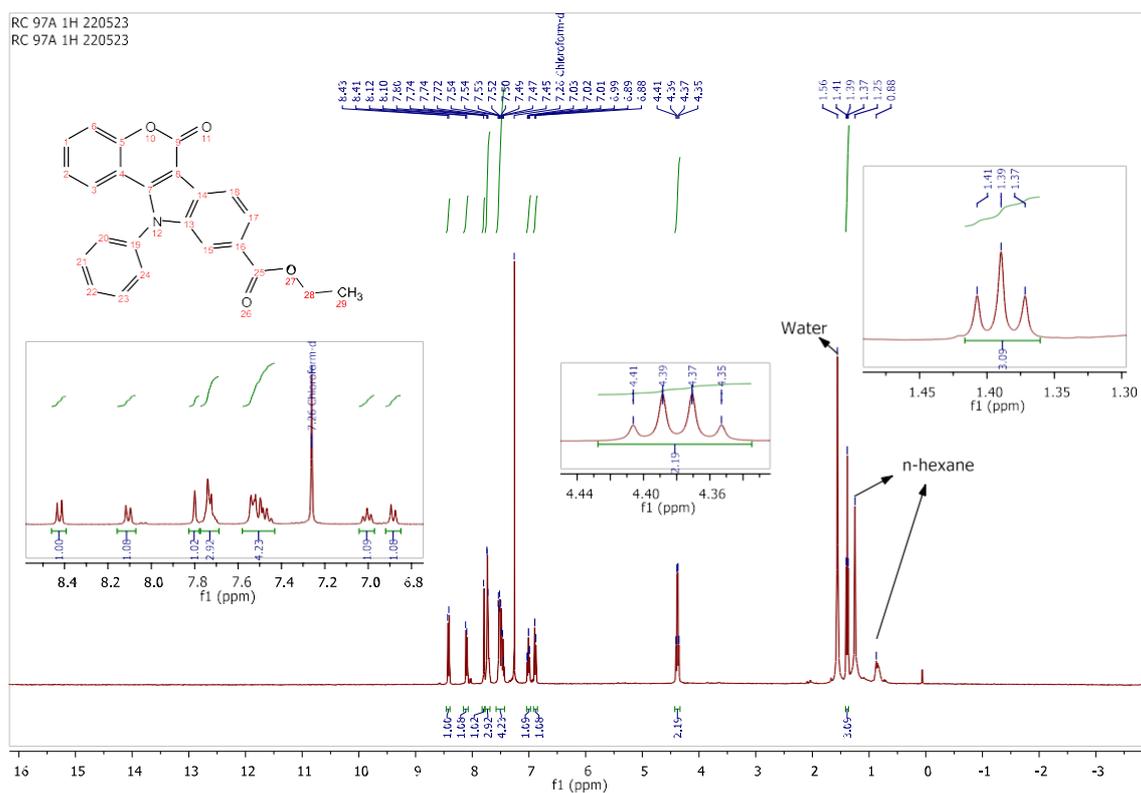


Figura 19: RMN ^1H do composto **68e** (CDCl_3 , 400 MHz)

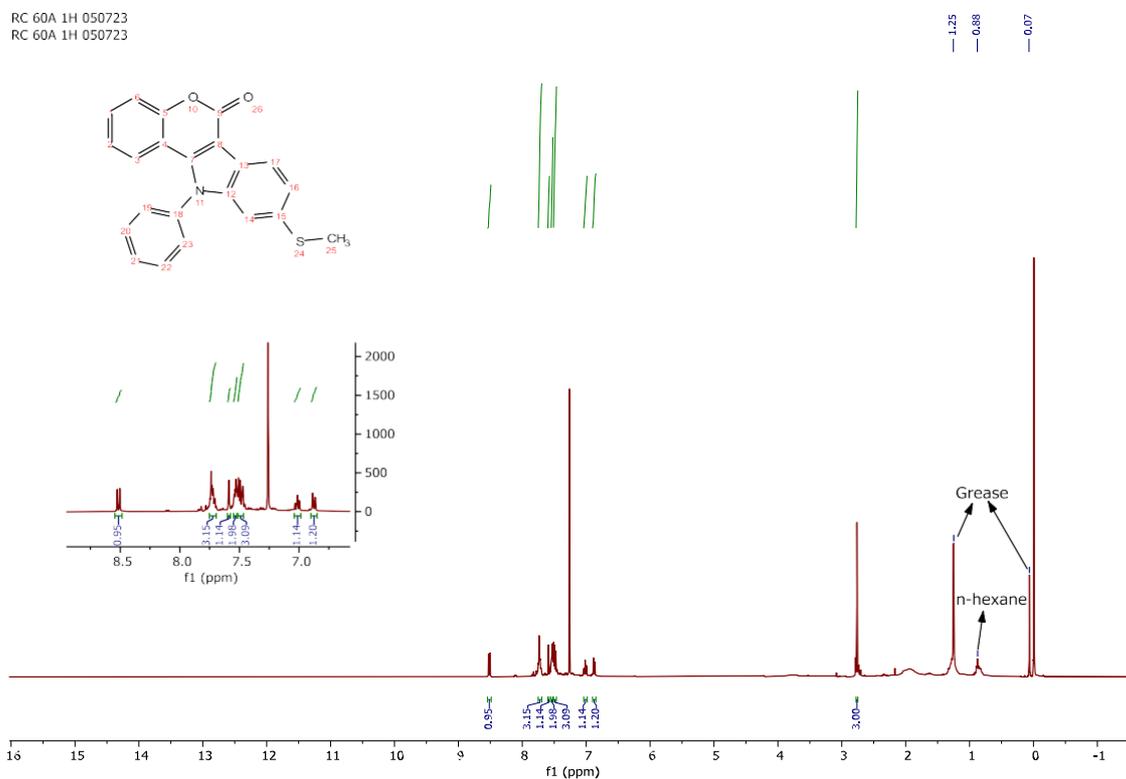


Figura 20: RMN ^1H do composto **68f** (CDCl_3 , 400 MHz)

4.2 Atividade Biológica

Para verificar a influência da rigidez conformacional sobre a ação antileishmanial, as moléculas **68a**, **68b** e **68c** foram enviadas para a FioCruz e foram realizados os testes biológicos *in vitro* em células promastigotas de *L. amazonensis* e células MCF-7. Os resultados antileishmaniais estão expressos nos valores de IC₅₀, isto é, a concentração do composto em μM capaz de inibir 50% da ação do protozoário. Enquanto que os resultados anticancer estão expressos em CC₅₀, concentração citotóxica capaz de matar 50% das células. Este valor de CC₅₀ também é utilizado para calcular o índice seletividade quando testado em células saudáveis.

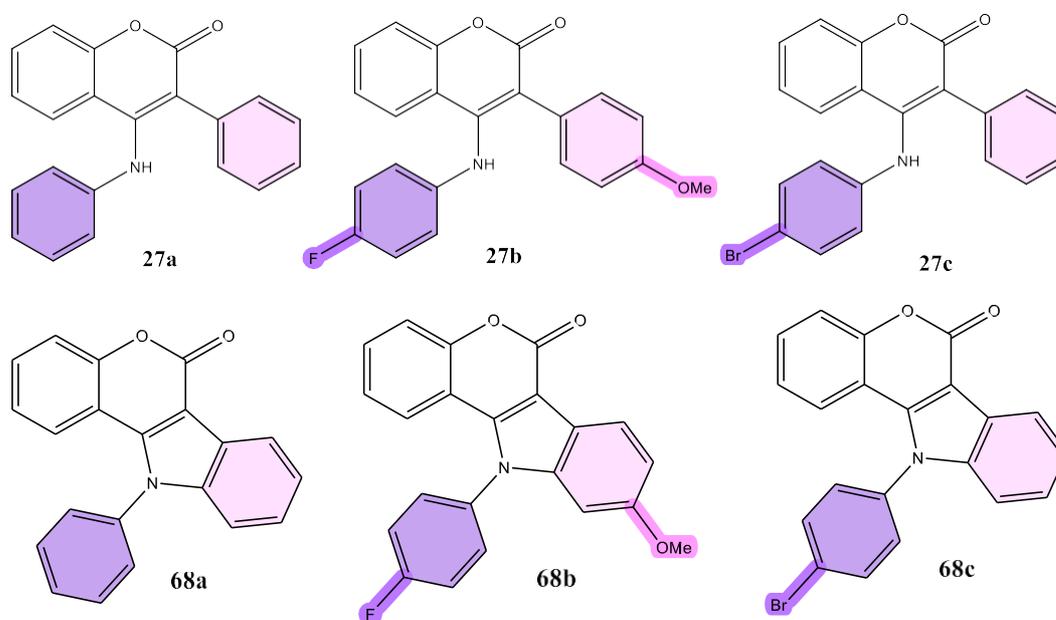


Figura 21: Cumarinas e Azacumestanos testados *in vitro*

Tabela 3: Resultados Farmacológicos dos Azacumestanos

Composto	Promastigota <i>L. amazonensis</i> IC ₅₀ (μM)	Amastigota <i>L. amazonensis</i> IC ₅₀ (μM)	<i>MCF-7</i> CC ₅₀ (μM)
27a	>300	-	492.08 +/- 4.368
68a	>100	-	>200
27b	5.65 ± 2.078	9.64 ± 1.148	267.86 +/- 3.588

68b	>100	-	>200
27c	9.05 ± 2.855	24.55 ± 1.109	4.2 /- 3.475
68c	>100	-	>200
Miltefosina	8.56 ± 0.695	12.71 ± 1.099	-
Doxoburricina	-	-	5.1 ± 1.037

Em comparação com as aminocumarinas **27a**, **27b** e **27c**, os resultados dos testes *in vitro* em células promastigotas contra leishmaniose estão presentes na **Tabela 3** e não foram positivos. As moléculas tornaram-se inativas, o que sugere uma interação prejudicada devido a esta rigidez conformacional. Dada a inatividade na forma promastigota, não foram realizados os testes na forma amastigota.

Em contrapartida, a rigidez molecular não apresentou o impacto esperado na atividade biológica para o câncer de mama, mesmo após a formação do núcleo indólico, as moléculas permaneceram inativas. Os testes também foram realizados em células de outra linhagem tumoral de câncer de mama (MDA-MB-231), porém os resultados foram os mesmos ($CC_{50} > 200 \mu\text{M}$, Doxoburricina $CC_{50} = 152,3 \pm 1,979$).

Desta forma, conclui-se que a rigidez molecular desempenha um papel crucial na atividade biológica. No entanto, como é uma interação entre a molécula e o alvo biológico, este fator dependerá não somente da molécula, mas também do alvo, podendo ser prejudicial, benéfico ou indiferente. Para a atividade antileishmanial, foi observado que as aminocumarinas menos rígidas apresentaram-se mais vantajosas, enquanto que no caso da atividade anti-câncer, não houveram mudanças significativas.

4.3 Síntese das Cumarinas e Azacumestanos Oxigenados

Baseado nos produtos naturais, que comumente apresentam padrões de oxigenação em seu esqueleto, ^[73] e de resultados prévios do nosso grupo de pesquisa que indica a importância do padrão tetracíclico oxigenado para o câncer de mama, é de interesse do grupo sintetizar aminocumarinas **88** e azacumestanos oxigenados **89**.

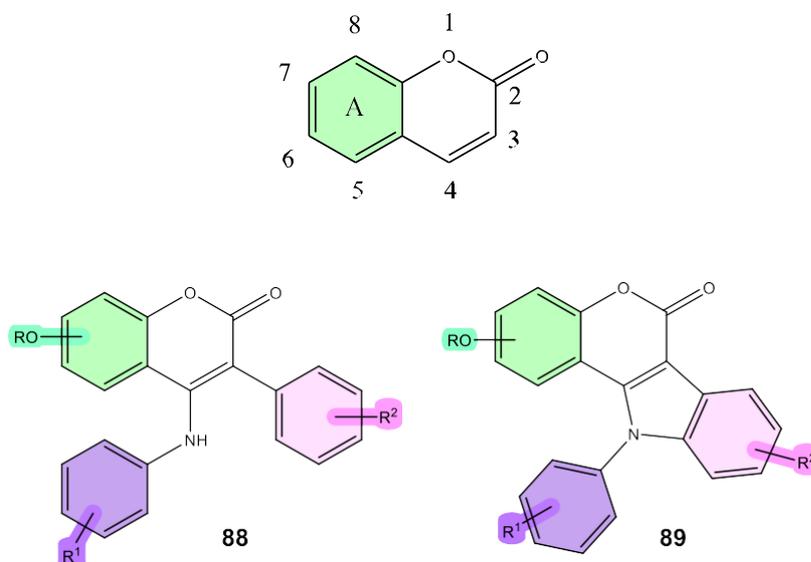


Figura 22: Cumarinas e Azacumestanos oxigenados

A síntese das cumarinas oxigenadas **88** parte de diferentes fenóis **2**. Dessa forma, obtem-se cumarinas com padrões de oxigenação em diferentes posições (5, 6 e 7) no anel A (**figura 20**) com o objetivo de avaliar o impacto dessas mudanças na atividade biológica.

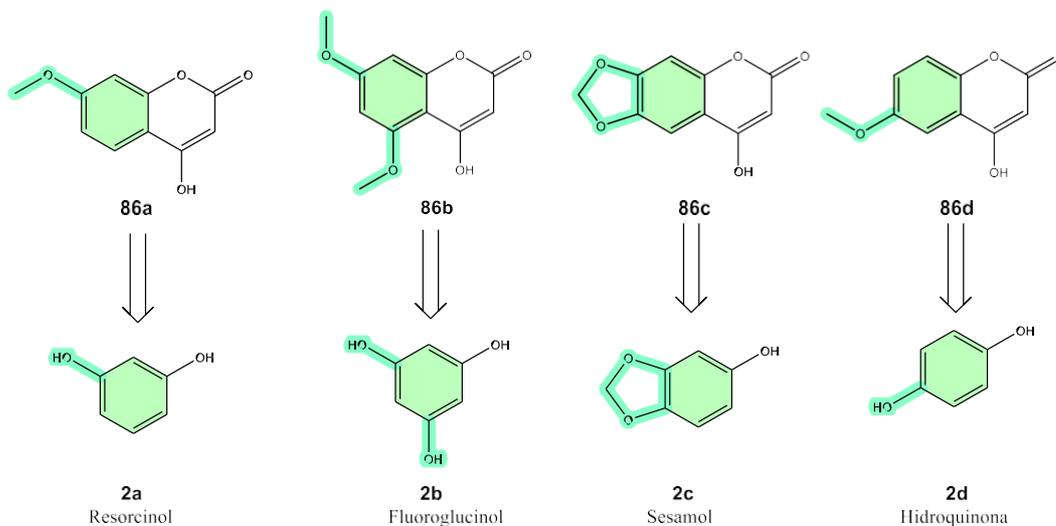
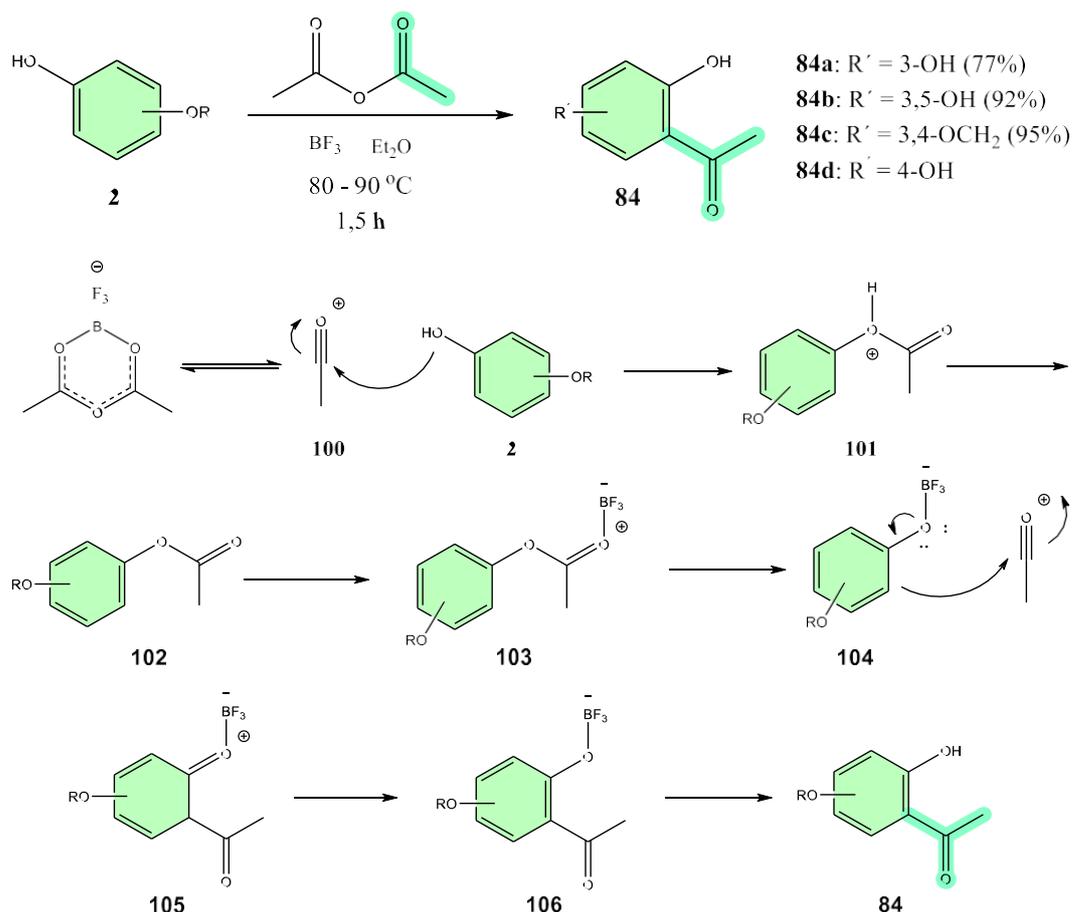


Figura 23: Planejamento sintético para as 4-hidroxicumarinas oxigenadas

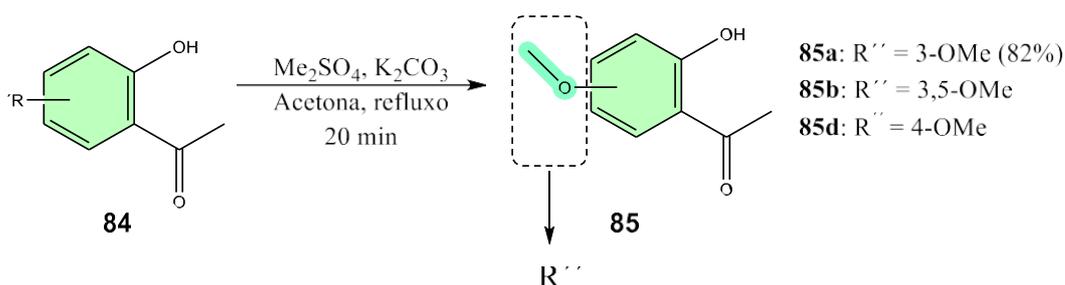
A primeira etapa para a síntese das cumarinas oxigenadas consistiu na acilação de uma hidroxila seguida de rearranjo de Fries, utilizando o eterato de trifluoreto de boro (BF_3) como ácido de Lewis (**Esquema 11**). A acilação do resorcinol **2a**, sesamol **2c** e fluoroglucinol **2b** foram realizadas com sucesso com 77, 95 e 92% de

rendimento respectivamente. Em contrapartida, não houve a conversão completa da hidroquinona. Foi realizada recristalização em metanol, mas não foi possível purificar este composto desta maneira.



Esquema 29: Proposta de intermediários da reação de acilação e rearranjo de Fries

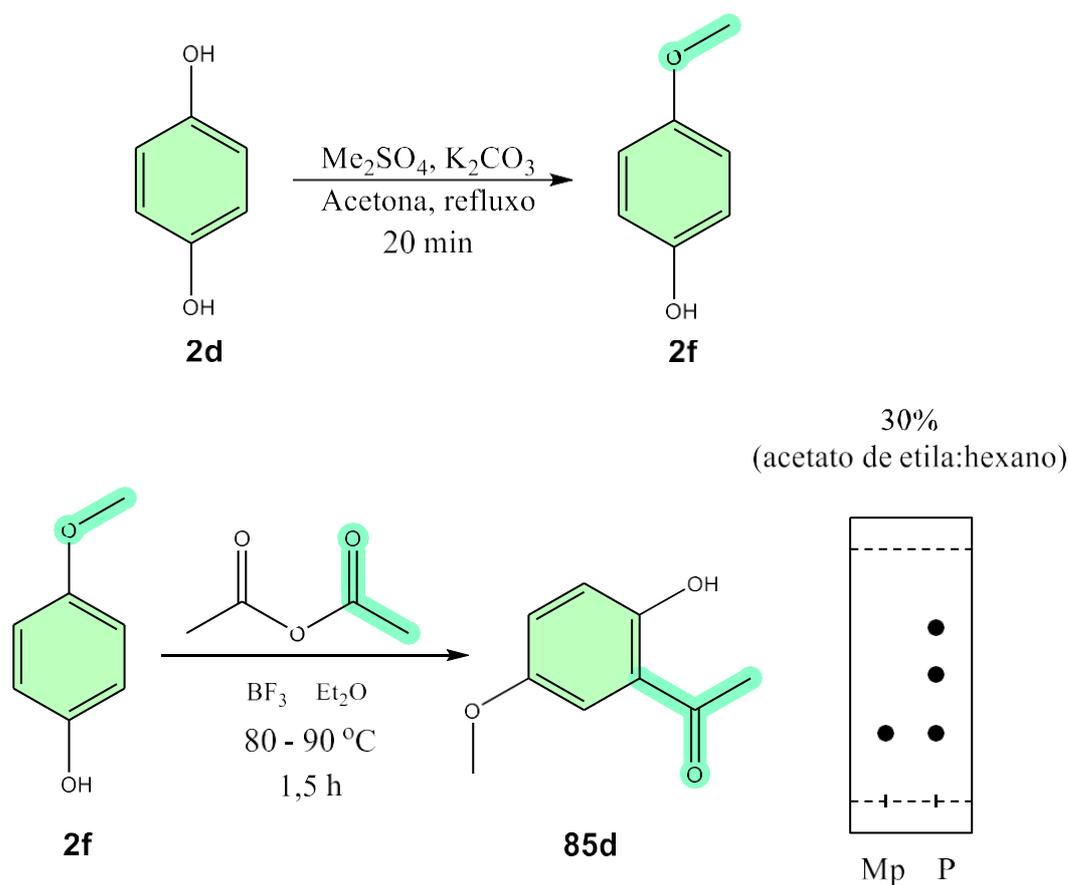
Na primeira linha do **Esquema 26** tem-se o mecanismo da acilação da hidroxila (**102**), onde ocorre o ataque do oxigênio ao cátion acílio (**100**) e em seguida o rearranjo do grupo acila. Após isso, para a formação de **84**, o BF_3 coordena ao oxigênio mais rico em densidade eletrônica (oxigênio carbonílico - **103**) e em seguida há um rearranjo para o oxigênio fenólico, formando um cátion acílio livre no meio (**104**). Posteriormente, tem-se uma reação via substituição eletrofílica aromática clássica. A segunda etapa foi a metilação das hidroxilas que não estão em *orto* ao grupo acila.



Esquema 30: Metilação da acetofenona

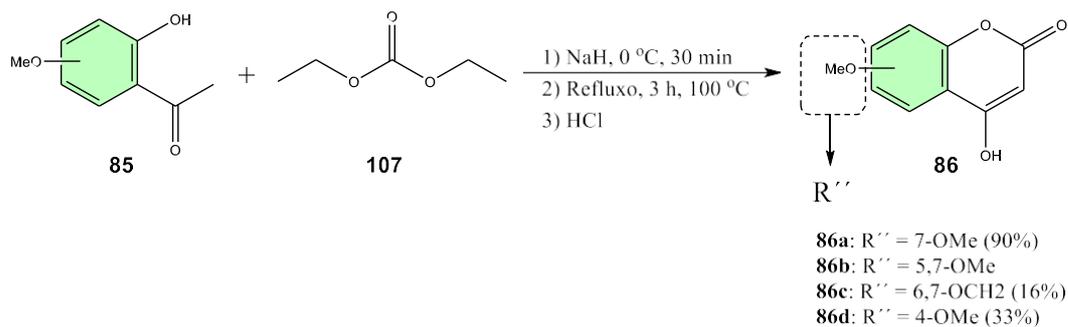
O composto **85a** foi obtido em 82% de rendimento. O sesamol apresenta apenas uma hidroxila (*orto* ao grupo acila), então não possui esta etapa em sua rota. A metilação do composto **84b** se apresentou problemática, houve a formação de subprodutos, provavelmente a mistura do material de partida monometilado e dimetilado em diferentes hidroxilas, de cor vinho com consistência caramelo de difícil de manuseio. Contudo, visto que a próxima etapa há a necessidade da hidroxila em *orto* livre para a reação ocorrer e o produto precipita puro, a rota foi seguida com este composto sem purificações mesmo com a presença de subprodutos. Desta forma, os subprodutos poderiam não reagir e ficar em solução, sem a necessidade de uma purificação após a etapa de metilação.

Tendo em vista que a hidroquinona apresentou problemas na primeira etapa de acilação, então testou-se a inversão na ordem das reações, primeiro metilando e depois acilando. A metilação de **2d** não apresentou problemas, mas não houve conversão completa. Na acilação de **2f** não houve a precipitação do produto puro, a CCD apresentava 3 manchas, sendo uma delas o material de partida. De acordo com o mecanismo do **Esquema 26**, espera-se que as outras duas manchas sejam do produto desejado e do produto de O-acilação (**102**).



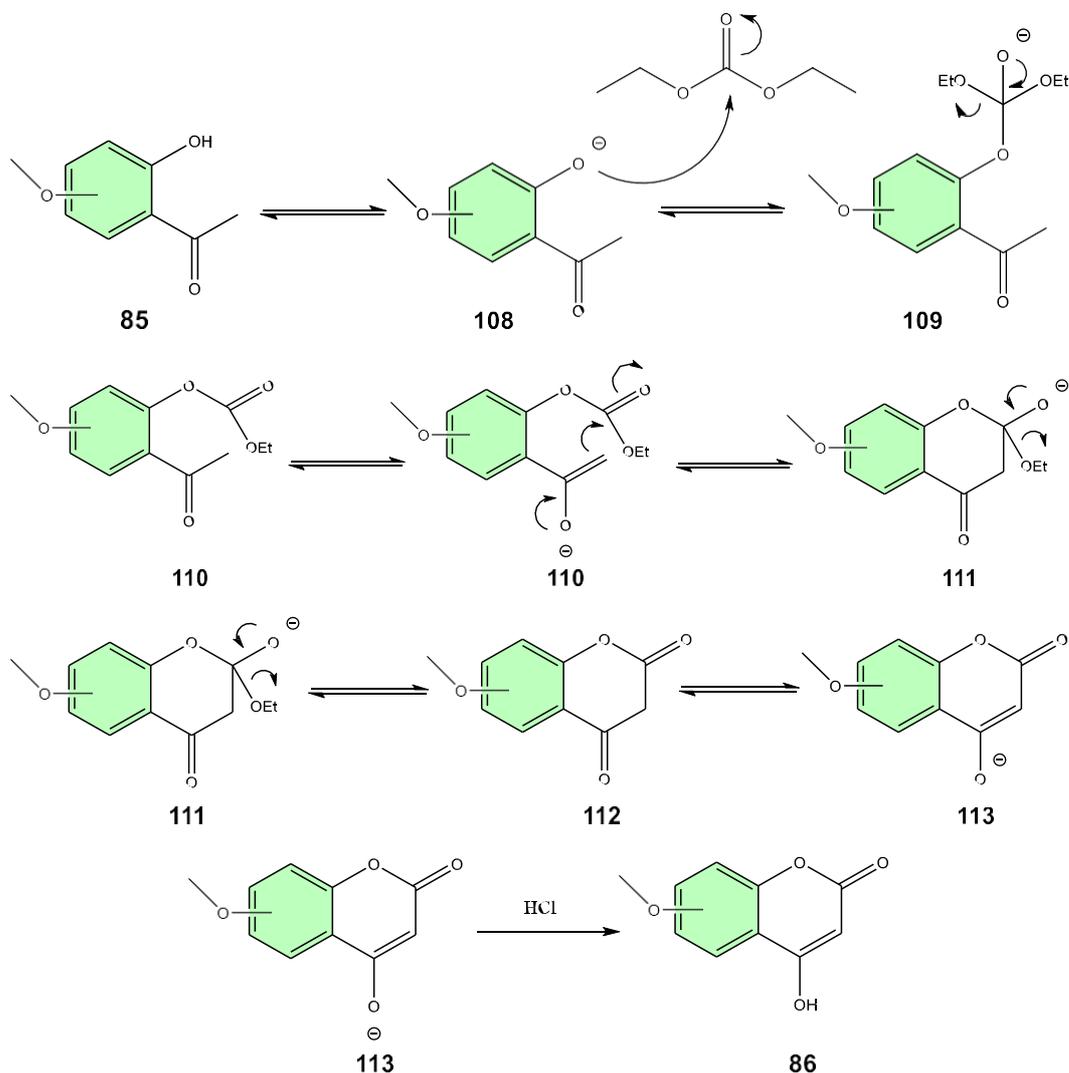
Esquema 31: Metilação da hidroquinona seguida de acilação

A etapa seguinte para a síntese das 4-hidróxicumarina oxigenadas **86**, descrita no **Esquema 32**, através do emprego de NaH, dietilcarbonato em meio ácido. As cumarinas **86a** e **86c** foram obtidas com rendimentos de 90 e 16% respectivamente após a precipitação dos produtos puros. Por outro lado, a presença dos subprodutos em **85b** e **85d** demonstraram atrapalhar a reação para a formação dos compostos **86b** e **86d**. Dessa forma, foi utilizada a hidroquinona acilada **2d** comercial, que após metilação foi submetida a reação abaixo, e a cumarina **86d** pode ser obtida com 33%.



Esquema 32: Síntese de 4-hidroxycumarinas oxigenadas

A partir do mecanismo descrito no **Esquema 33** abaixo, compreende-se a necessidade da hidroxila em *orto* ao grupo acila e também a etapa de metilação das demais hidroxilas.

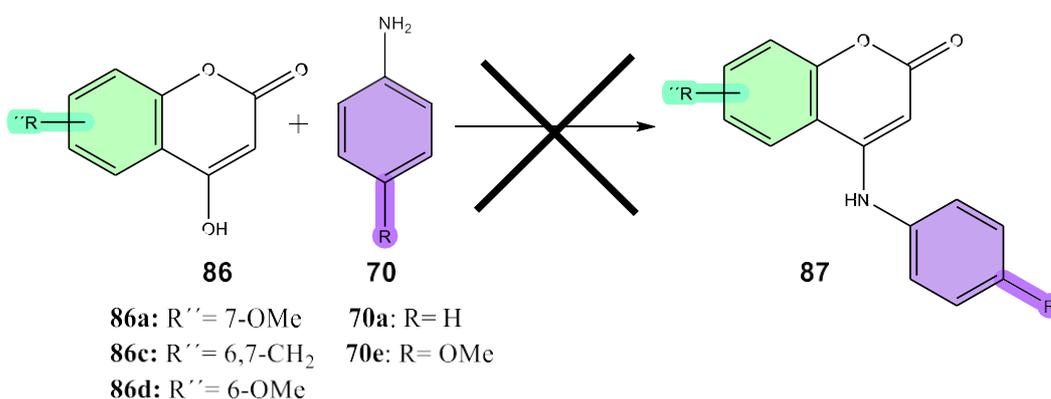


Esquema 33: Mecanismo 4-hidroxycumarina oxigenada

O NaH é utilizado para desprotonar o hidrogênio fenólico de **85** e o **108**

ataca o carbonato de dietila. Caso não houvesse a etapa de metilação, as outras hidroxilas também seriam desprotonadas e haveriam reações paralelas. Em seguida a carbonila é restabelecida e sai como grupo abandonador uma etoxila (**109**). O hidreto desprotona o grupo acila formando o enolato **110** responsável pelo ataque a carbonila, saindo novamente uma etoxila (**111**). Após isso tem-se a tautomerização ceto-enólica mais deslocada para o enol **113**, uma vez que há a formação de um anel aromático. Como o meio está básico, a molécula está em sua forma de enolato, e após a acidificação do meio com HCl, temos a precipitação do produto puro **86**.

Após a síntese da 4-hidróxicumarina **86**, as demais etapas seguiram as mesmas condições presentes nas sínteses dos azacumestanos **89** : N-arilação, catálise fotorredox e aminação oxidativa. A rota foi prosseguida com o composto **86a**, **86c** e **86d**, mas não foi possível realizar a etapa seguinte de N-arilação.



Esquema 34: N-arilação das cumarinas oxigenadas **86a**, **86c**, **86d**

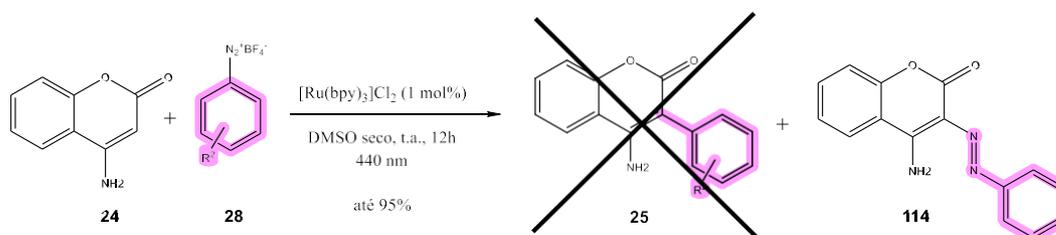
Visto que a anilina com R=H não é nucleofílica o suficiente, a reação foi realizada com a *p*-anisidina, que possui um grupo doador de elétrons. Entretanto, o produto ainda não foi obtido. O composto **87a** não foi precipitado e também não foi visto pela CCD, enquanto que o composto **87c** ficou viscoso e escuro, foi extraído mas nada foi visto na CCD e no RMN ¹H. Desta forma, não foi possível continuar a rota e obter as cumarinas e azacumestanos oxigenados de interesse.



Figura 24: Tentativa da síntese dos compostos **87a** e **87c**

4.4 Desenvolvimento de nova metodologia

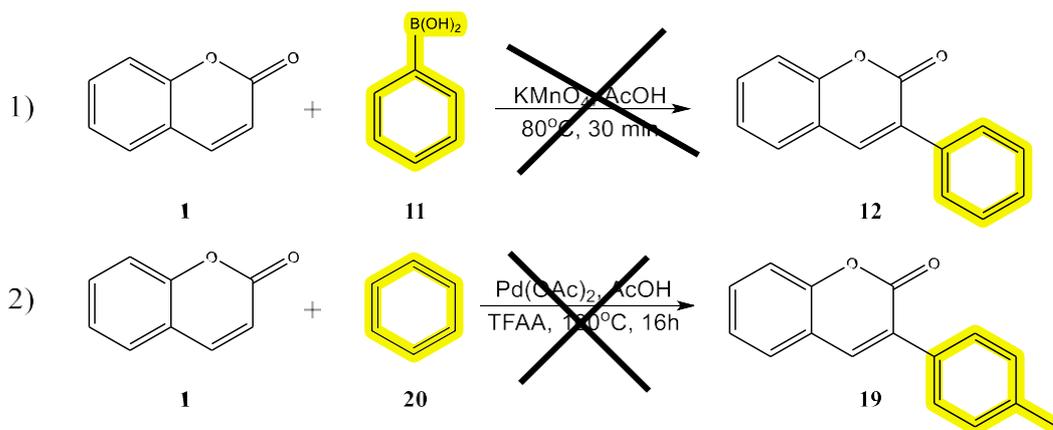
Através da metodologia desenvolvida pelo grupo, não foi possível obter as cumarinas **88** e os azacumestanos **89** oxigenados de interesse. Além dessas moléculas, outra limitação da metodologia é a síntese de 3-aminocumarinas não substituídas **25**, com o objetivo de encontrar novos candidatos a fármacos para a leishmaniose e câncer de mama, a princípio. Porém, já foi demonstrado pelo grupo que devido a formação de um produto lateral **114**, não foi possível sintetizar o produto desejado **25** pela catálise fotorredox (**Esquema 13**). Ademais, esta metodologia de arilação possui algumas desvantagens como: utilização de solvente seco, lâmpada de comprimento de onda específico, preparo prévio de catalisador e sais de diazônio, necessidade de 5 equivalentes de cumarina.



Esquema 35: Limitação da catálise fotorredox

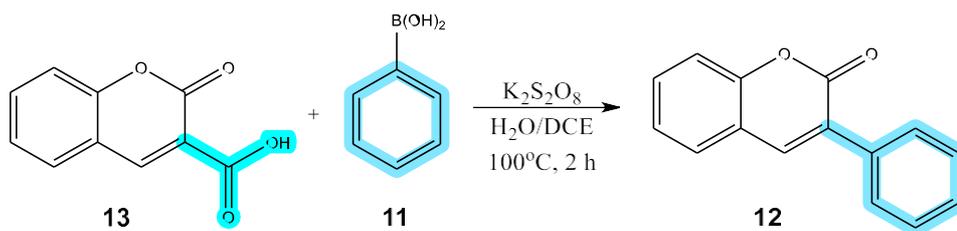
Com base nisso, novas estratégias foram exploradas para a obtenção das aminocumarinas **88** e azacumestanos oxigenados **89**. Primeiramente foram testadas novas reações, presentes na introdução, para a arilação da posição 3 da cumarina

por desidrogenação. A primeira utilizou-se diferentes ácidos borônicos, permanganato de potássio ^[34] e ácido acético por 20 minutos, e a segunda, acetato de paládio e TFAA por 16h (**Esquema 36**). ^[33] Por CCD, foi visto que as reações não foram reprodutíveis e os materiais de partida foram recuperados.



Esquema 36: Tentativa de reações arilação por desidrogenação

Outra metodologia testada foi de arilação descarboxilativa de 3-ácido cumarinas carboxílicas utilizando ácido borônico e persulfato de potássio, conforme o **Esquema 37** abaixo. ^[31] A CCD da reação demonstrou a formação do produto que foi confirmado via CG-MS, e RMN ¹H.



Esquema 37: Reação de Arilação descarboxilativa

A massa molar do produto **12** é 222,24 g/mol e é encontrada no cromatograma abaixo em um tempo de retenção de 19,3 minutos, e o material de partida em 17,4 minutos. A caracterização via RMN de ¹H após a purificação por coluna cromatográfica com 16% de rendimento também confirma a formação do produto. O espectro não foi realizado com o produto puro, então é possível verificar a presença de alguns sinais menos intensos antes do clorofórmio em 7.26 ppm referentes ao material de partida **13**. Ademais, encontram-se nove sinais aromáticos e o singlete referente ao carbono C4 da cumarina.

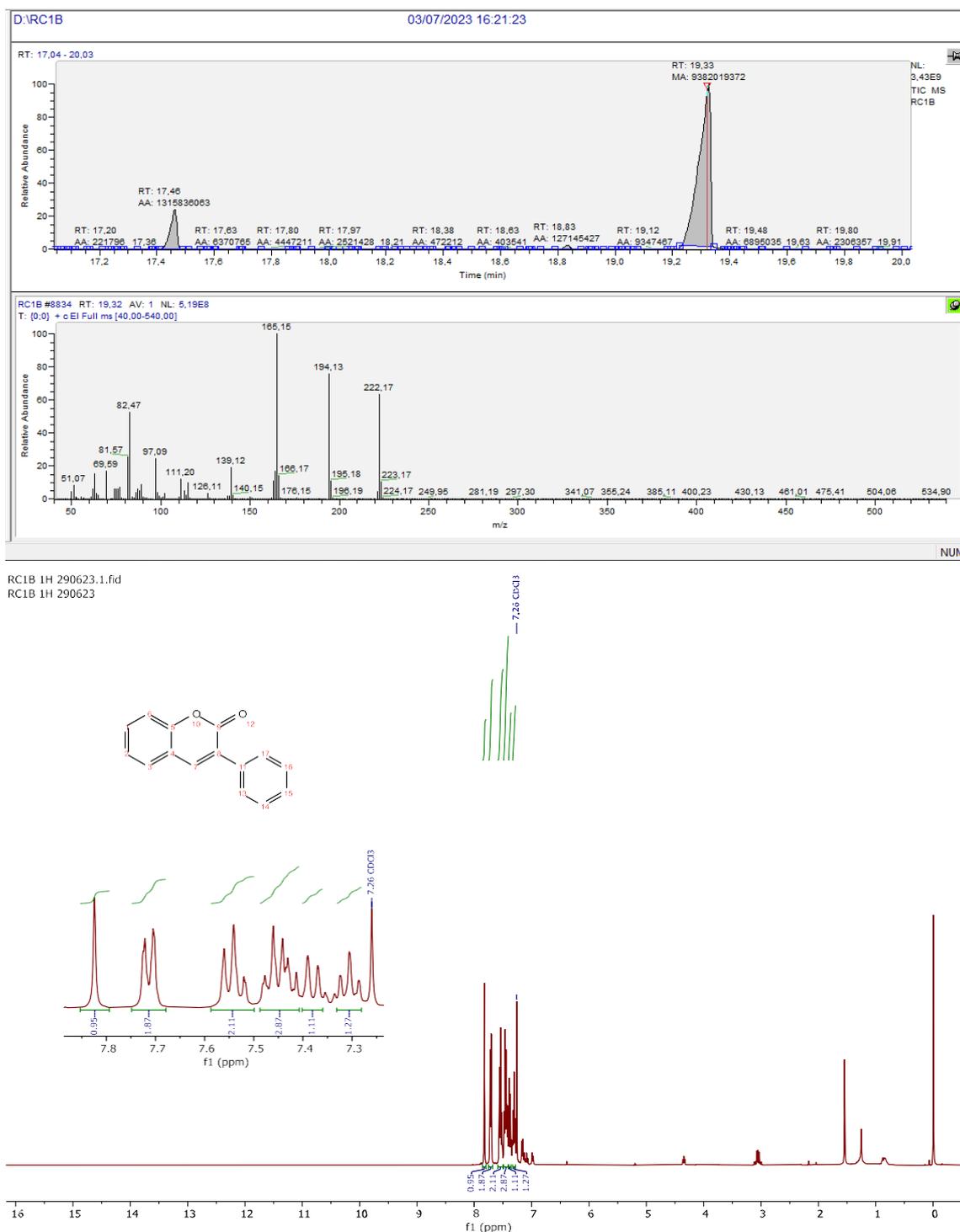
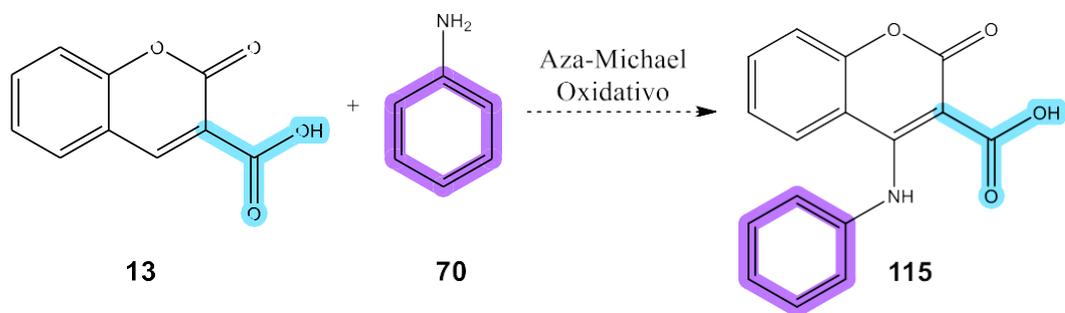


Figura 25: Caracterizações da reação de arilação descarboxilativa (CG-MS e RMN ¹H - CDCl₃, 400 MHz)

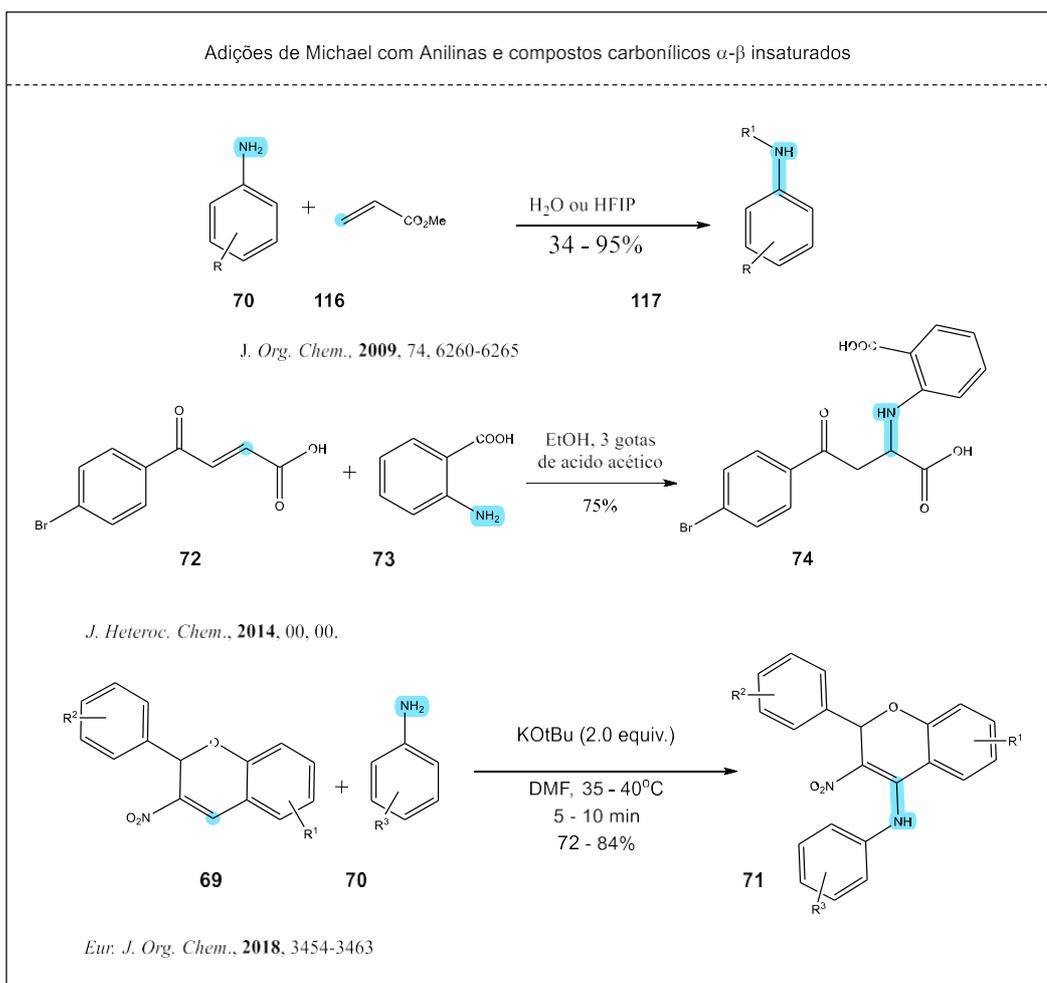
Visto que a arilação descarboxilativa é uma metodologia promissora, começou a ser estudada formas de sintetizar 3-ácido-4-*N*-aril-cumarinas carboxílicas para posterior arilação. Com a presença do ácido carboxílico e da lactona da coumarina, a adição 1,4 aparentou ser uma possibilidade e foi iniciado os testes para a reação

de aza-Michael oxidativo na 3-ácido-cumarina-carboxílico **13** (**Esquema 38**).



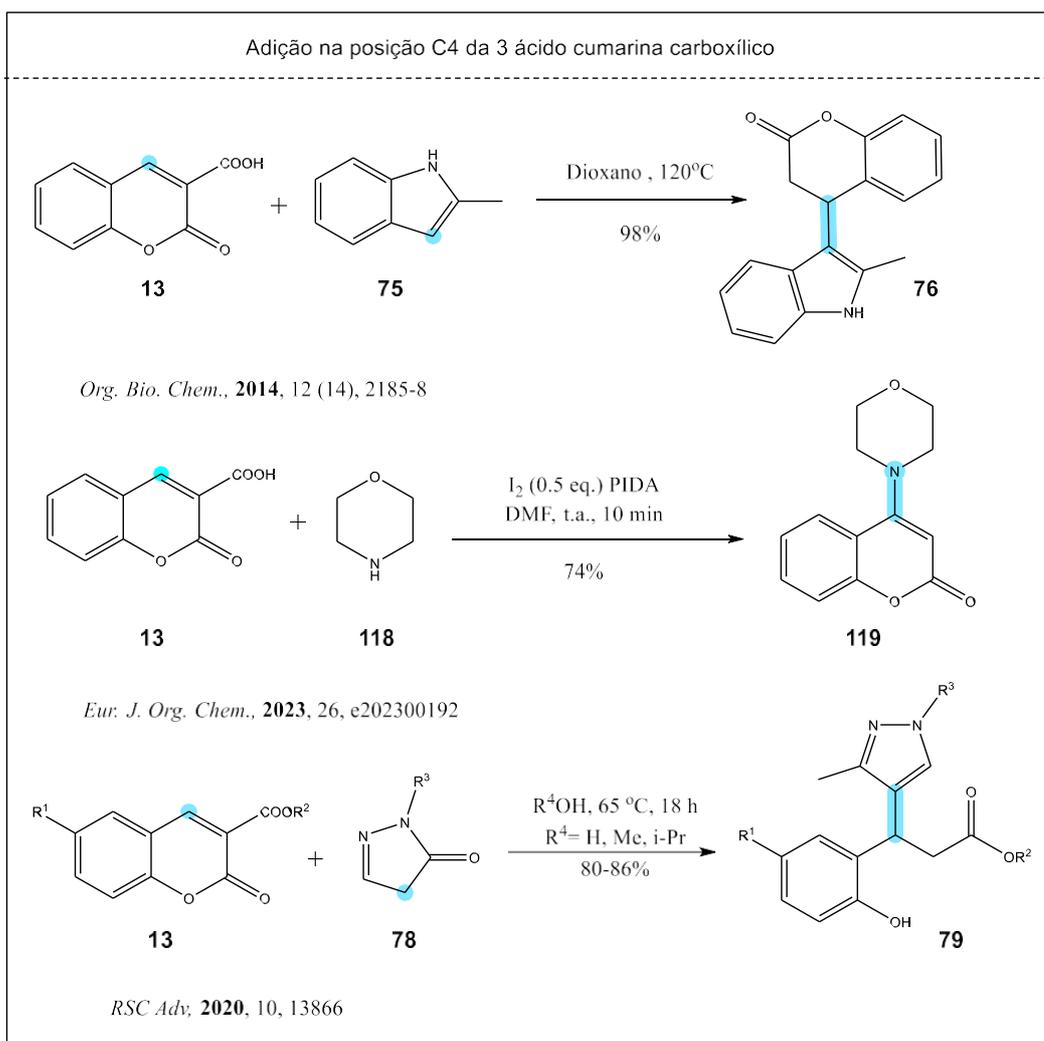
Esquema 38: Reação de Aza-Michael oxidativo

Preliminarmente foi buscado adições de aza-Michael utilizando anilinas como doadoras de Michael, que devido ao seu baixo caráter nucleofílico, é necessário condições mais intensas como o uso de catalisadores, pressão, altas temperaturas ou longos tempos reacionais. ^[61-67] Alguns estudos apresentaram a influência do solvente na nucleofilicidade da anilina e a água demonstrou ser um dos mais efetivos para as reações ocorrerem mais rapidamente. Os solventes mais utilizados nessas reações de Aza-Michael com anilinas são água, HFIP, MeOH, THF, EtOH, TFE e DMF, e dentre eles destacam-se a água e o HFIP. No **Esquema 39** abaixo podemos observar algumas adições de aza-Michael empregando anilinas:



Esquema 39: Adições de Michael com anilinas e compostos carbonílicos α - β -insaturados

Também foi buscado adições de Michael em 3-ácido cumarino carboxílico, e encontrou-se poucos exemplos. Em virtude da quebra da alta conjugação da cumarina, na maioria dos exemplos ocorre a descarboxilação ou abertura da lactona da cumarina. Ademais, não há nenhum relato de aza-Michael em 3-ácido-cumarino-carboxílico **13**, mas existem adições nesta cumarina na posição C4 desejada (**Esquema 40**).



Esquema 40: Adição em ácido 3-cumarino-carboxílico

O primeiro exemplo do esquema acima, é uma adição de Michael na posição de interesse, contudo, o produto final é descarboxilado, assim como na segunda reação. Este segundo exemplo foi o único encontrado de formação de ligação C-N entre uma cumarina e uma amina, mas não é uma adição de Michael. E na terceira reação, tem-se um exemplo de adição de Michael, porém, o produto não é mais uma cumarina após a abertura da lactona.

Então, o objetivo é adaptar estas metodologias para obter o aza-Michael oxidativo entre o 3-ácido cumarino-carboxílico **13** e anilinas **70**, de forma a obter o produto **115** com o grupo COOH ainda presente na posição C3.

Na leitura dos artigos é perceptível a influência da temperatura e dos solventes empregados, tendo como melhor resultado solventes polares próticos nas adições de Michael e polares apróticos com temperaturas moderadas para altas nas adições C4 no 3-ácido-cumarino-carboxílico.

Com base nas adições de Michael, a reação do **Esquema 38** foi realizada em metanol (M), água (H) e 2,2,2-trifluoroetanol (T) a 65°C e temperatura ambiente por 3 h. As reações em temperatura ambiente e em TFE não ocorreram, porém foi possível verificar a formação de produto por CCD e a mudança na coloração de branco para amarelo (**Figura 26**) nas reações em água (RCB3) e metanol (RCB1) que foram aquecidas



Figura 26: Influência da temperatura no Aza-Michael oxidativo

Em seguida, essas reações foram enviadas ao CG-MS , verificando a formação do produto **115** de massa molar igual a 281,27 g/mol. Nos espectros abaixo, é possível observar a anilina **70** em um tempo de retenção de 4,94 minutos, 3-ácido cumarino-carboxílico **13** em 11,23 minutos e o produto **16** em 16,01 minutos.

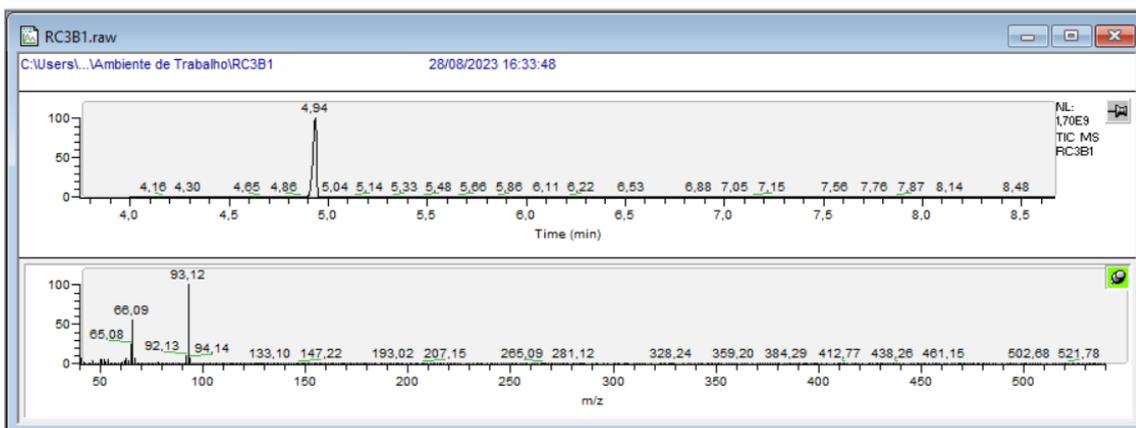


Figura 27: Espectro de massas do aza-michael oxidativo em metanol. Anilina (Massa molar: 93,13 g/mol)

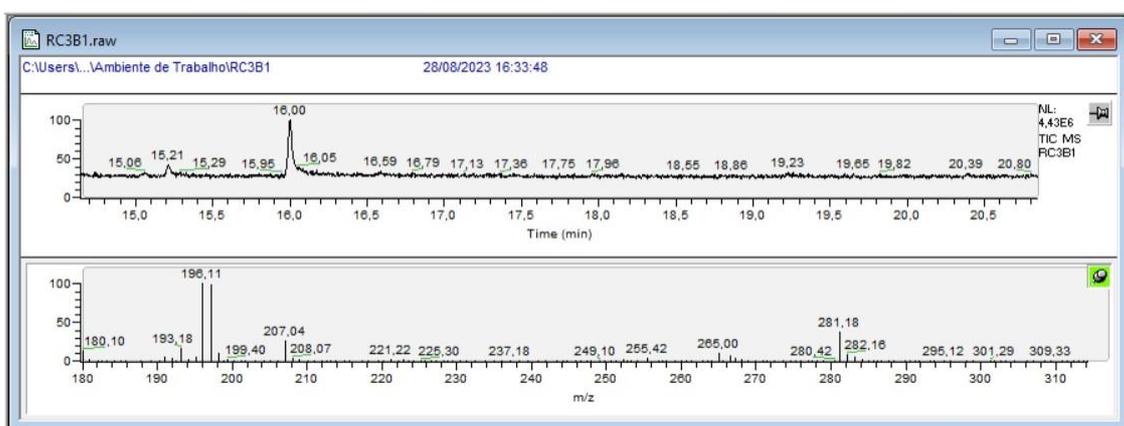


Figura 28: Espectro de massas do aza-Michael oxidativo em metanol. Produto (Massa molar: 281,27 g/mol)

Como pode ser observado, a reação em metanol apresentou um baixo sinal em 16 minutos referente ao produto. Contudo, nos espectros abaixo nota-se que o aza-Michael oxidativo em água obteve um sinal mais notório. A cumarina **13** de partida (em 11 minutos) ainda está presente em quantidades significativas, não havendo a conversão completa da reação, entretanto, a água foi o solvente mais favorável para a formação do produto.

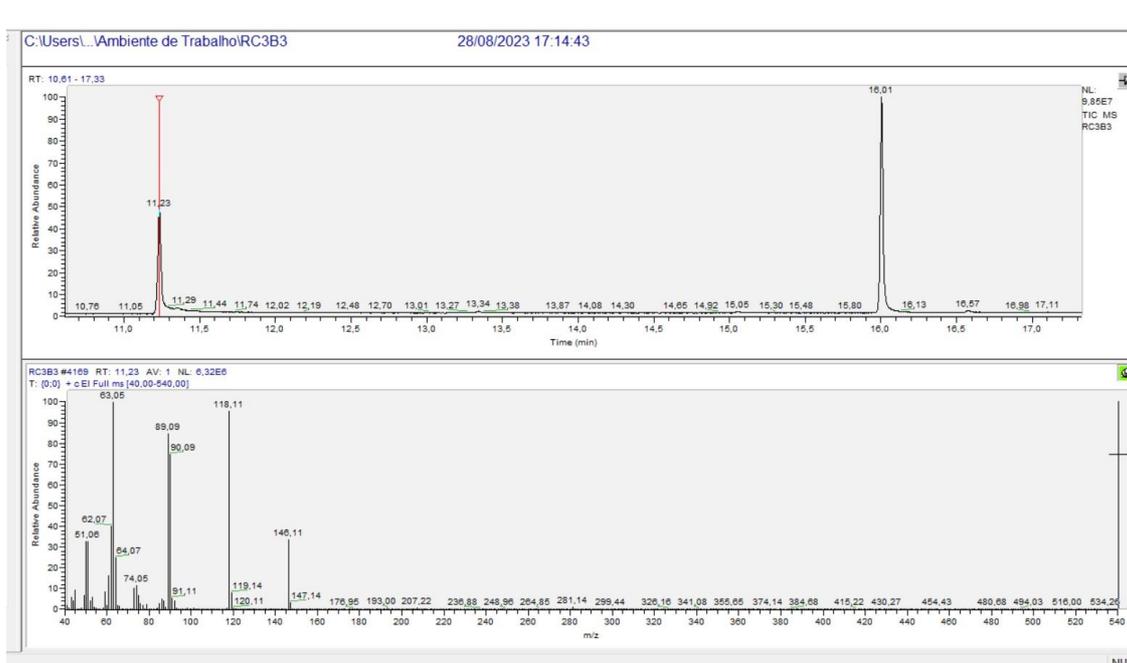


Figura 29: Espectro de massas do aza-Michael oxidativo em metanol. 3-Ácido cumarino carboxílico (Massa Molar: 190,15 g/mol)

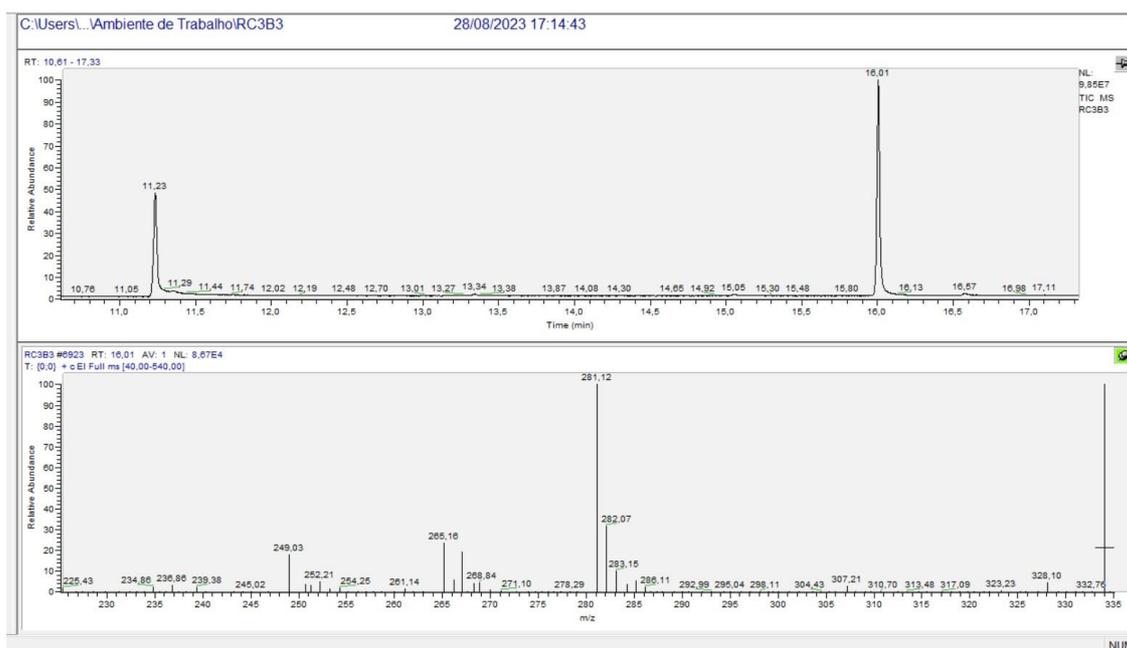


Figura 24: Espectro de massas do aza-Michael oxidativo em água.

Além da espectrometria de massas, a reação foi isolada por coluna cromatográfica com rendimento de 22% (reação RCB3 – água), e foi realizado um RMN- H^1 (**Figura 30**) para a confirmação do produto. Pode-se verificar a presença de 9 H aromáticos entre 6.95 e 7.47 ppm, do NH em 8.63 ppm e OH em 13.26 ppm.

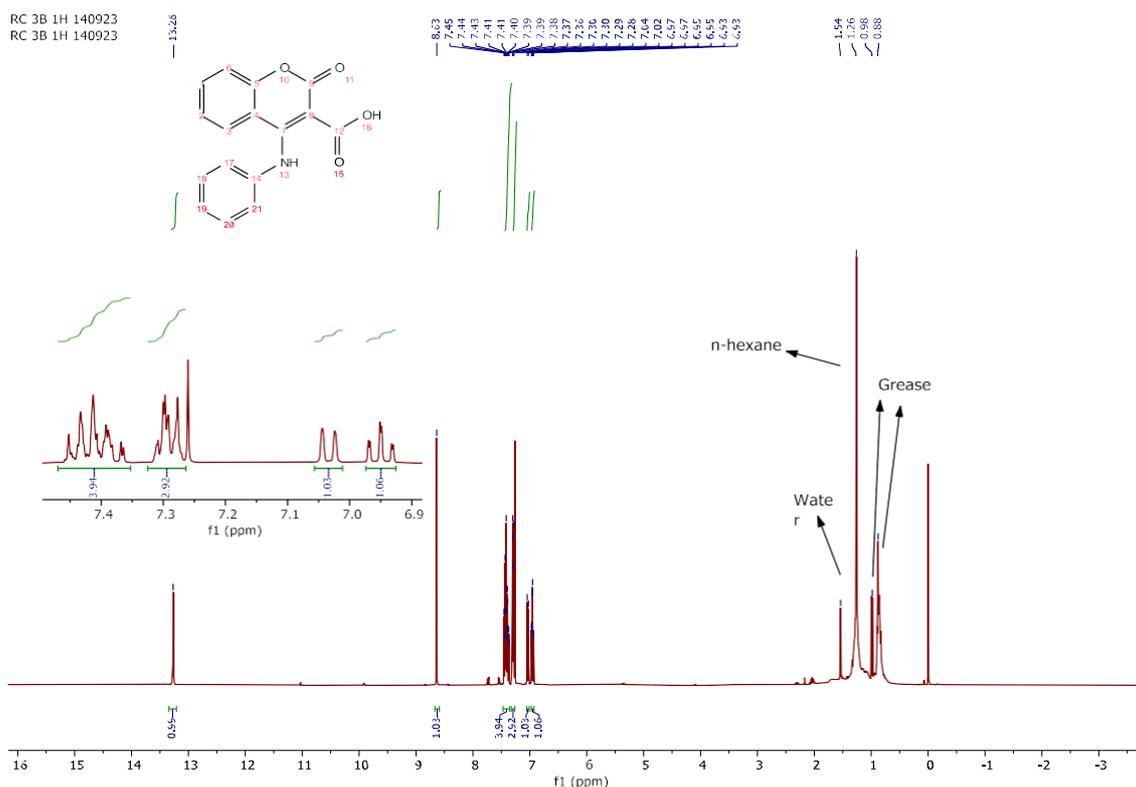


Figura 30: RMN de ^1H do produto do aza-Michael oxidativo (**115**) (CDCl_3 , 400 MHz)

Com o intuito de aumentar este rendimento, foram testados AlCl_3 , EuF_3 , DyF_3 , ErF_3 , YbF_3 , YF_3 , HoF_3 em 5 mol% como ácidos de Lewis nas mesmas condições anteriores. Essas espécies sãoceptoras de elétrons e podem se coordenar as carbonilas da lactona ou do ácido carboxílico, tornando o carbono C4 mais eletrofílico. Entretanto, os ácidos de Lewis reduziram os rendimentos variando de 1 a 15%.

Tabela 4: Ácido de Lewis e rendimentos do aza-Michael oxidativo em água a 65 °C

Ácido de Lewis	AlCl_3	EuF_3	DyF_3	ErF_3	YbF_3	YF_3	HoF_3
Rendimento	15%	8%	7%	10%	6%	1%	1%

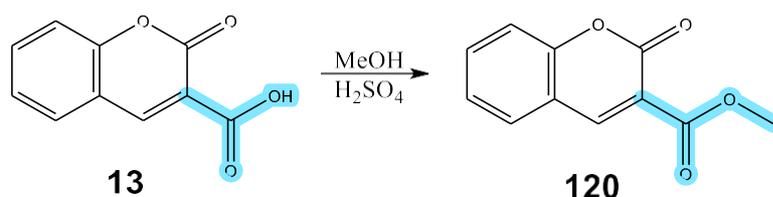
A partir deste resultado, retornou-se a otimização utilizando diferentes solventes, encontrados em adições a cumarinas na posição desejada, como: Dioxana, THF, DMSO, DMF, Tolueno, Acetonitrila, DCE, NaOH 5%, 2 gotas de HCl e sem solvente. Ademais, foi visto que a temperatura é um fator crucial, então foram testadas a 80, 100 e 120 °C. A melhor condição de cada solvente consta na **Tabela 5**. A melhor condição testada foi a reação sem solvente a 80 °C com 16% de rendimento, mas ainda assim, não foi possível obter um rendimento maior que

22% encontrado anteriormente em água.

Tabela 5: Condições reacionais e rendimentos do aza-Michael oxidativo

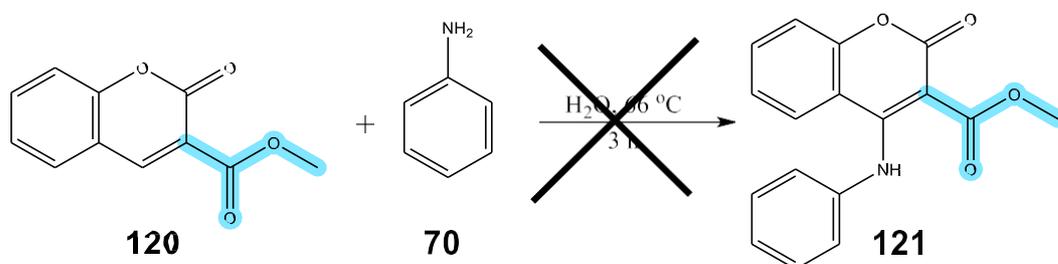
Solvente	Temperatura	Rendimento
Dioxana	80, 100, 120 °C	-
THF	100 °C	4%
DMSO	80 °C	3%
Acetonitrila	100 °C	5%
DCE	100 °C	6%
Sem solvente	80 °C	16%
NaOH (5%)	100 °C	7%
2 gotas HCl	80, 100, 120 °C	-
DMF	80, 100, 120 °C	-
Tolueno	80, 100, 120 °C	-

Com o intuito de compreender melhor a reação, foram realizadas algumas reações teste. Para isso, foi realizada uma esterificação de Fisher na 3-ácido-cumarina-carboxílico **13** (**Esquema 41**).



Esquema 41: Esterificação de Fisher

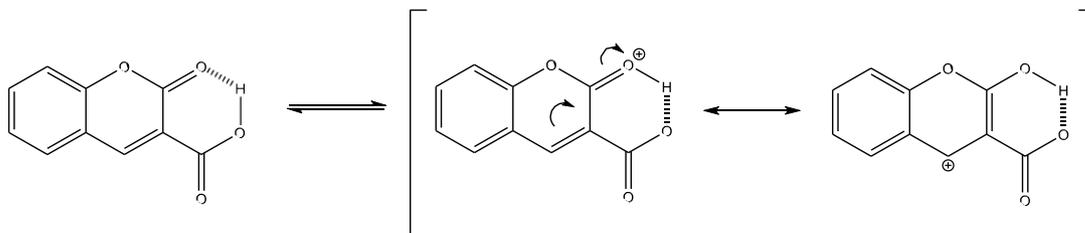
O produto **120** foi obtido com sucesso com 65% de rendimento e em seguida foi reagido conforme o **Esquema 42** abaixo, nas mesmas condições da melhor otimização do aza-Michael até o momento.



Esquema 42: Teste de Aza-Michael oxidativo em outro substrato

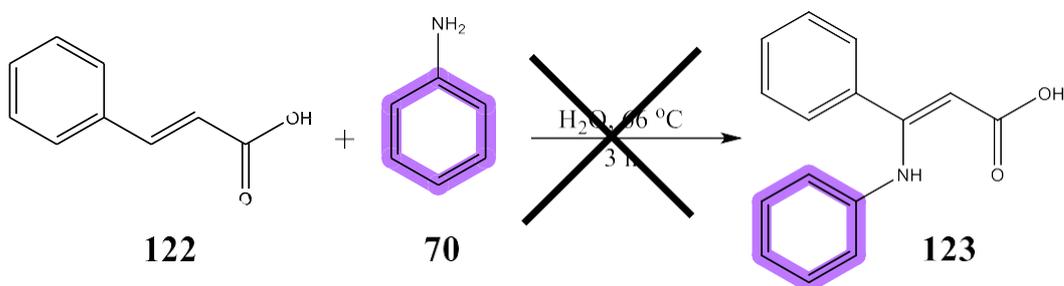
Como resultado, a maior parte da cumarina e anilina não foram consumidas e não foi possível obter o produto **121**. Isso demonstra a importância do grupo OH do ácido carboxílico. Como pode-se observar no **Esquema 43** abaixo, o

hidrogênio ácido faz uma ligação de hidrogênio com a carbonila da lactona e isto torna o carbono C4 da cumarina mais eletrofílico. Como o anel da lactona é aromático e a anilina não é um nucleófilo forte, a reação sem esta interação não é promissora.



Esquema 43: Ligação de hidrogênio intramolecular

Por fim, para analisar a importância da lactona, foi investigada a reação do **Esquema 44** abaixo, empregando anilina **70** e ácido cinâmico **122**. A reação foi testada a 65 °C por 3h e novamente por mais 3 h a 120 °C, mas não houve a formação do produto **123**. Isto indica a importância da lactona e da ligação de hidrogênio intramolecular comentada anteriormente.



Esquema 44: Aza-michael oxidativo com ácido cinâmico e anilina

Dessa forma, a reação de aza-Michael oxidativa desejada continuará em otimização, com diferentes condições reacionais. De acordo com a literatura, as condições mais promissoras que ainda não puderam ser realizadas, são com o solvente HFIP, base t-BuOK, ácido (HOAc), em diferentes equivalências e temperatura. Além de possíveis misturas de diversos solventes em diferentes proporções.

5. Conclusão

A partir da metodologia desenvolvida pelo grupo, foi possível obter os azacumestanos de interesse através de três etapas: *N*-arilação, arilação via catálise fotorredox e ciclização via aminação oxidativa utilizando PIFA. Na primeira etapa foram obtidas 4-*N*-arilcumarinas **26a-d** com rendimentos de 69, 57, 70 e 56 %. Os produtos 3-aril-4-*N*-arilcumarinas **27a-f** da catálise fotorredox tiveram sua etapa de purificação otimizada e foram obtidos em rendimentos de 32 a 76%. Na última etapa foram sintetizadas moléculas inéditas **68a-f** com rendimentos satisfatórios de 82, 93, 76, 32, 48 e 24 %. Os intermediários foram caracterizados via RMN ¹H e os produtos via RMN ¹H e RMN ¹³C.

Dentre os azacumestanos sintetizados, foram testados os **68a-c** contra *L. amazonensis* na forma promastigota e comparados as cumarinas sintetizadas previamente pelo grupo. Os resultados não foram promissores, demonstrando que a rigidez molecular dos produtos teve um impacto negativo considerável na atividade biológica, tornando-as inativas. Para linhagens de câncer de mama (MCF-7 e MDA-MB-231), a rigidez molecular não apresentou impactos significativos na atividade anticancer.

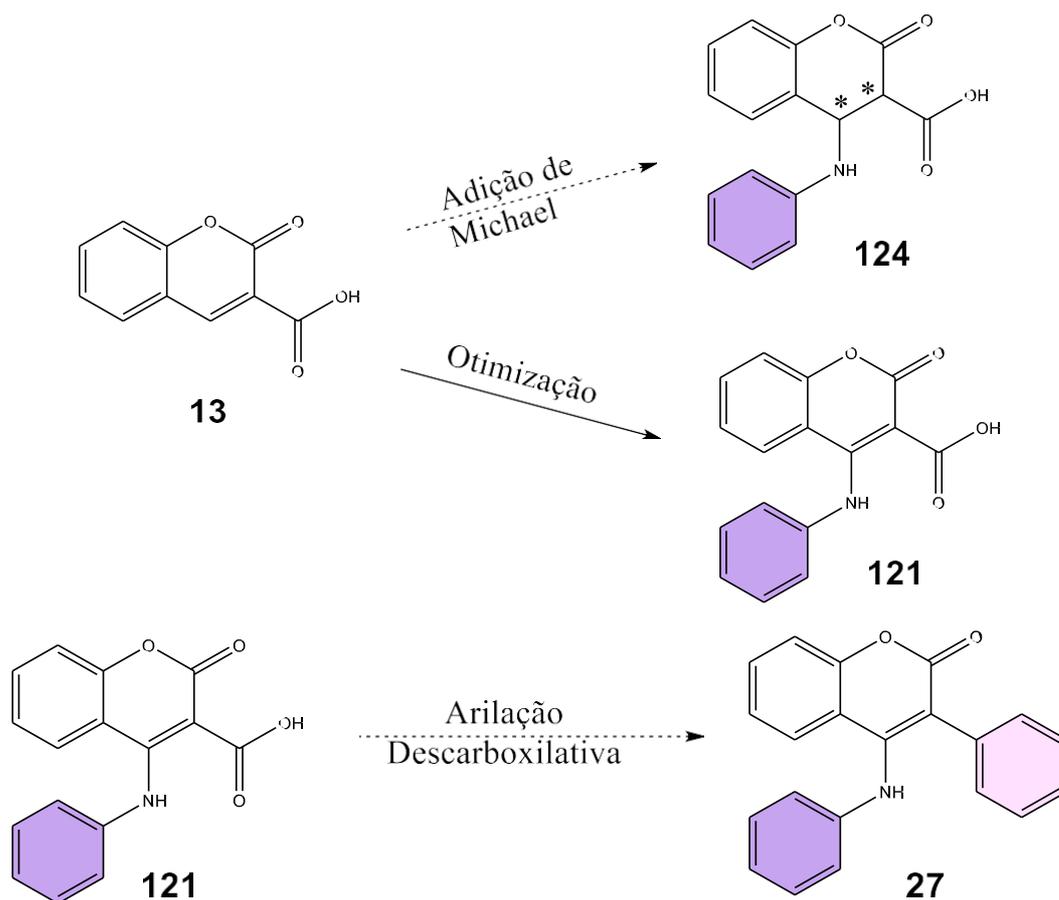
As cumarinas **88** e os azacumestanos **89** com padrões de oxigenação nas posições C5, 6 e 7 da cumarina, não foram obtidos. A primeira etapa consistiu em uma acilação que foi realizada nos fenóis de partida **2a-c** com rendimentos de 77, 92 e 95%. A etapa seguinte foi uma metilação das hidroxilas que não se encontravam em *orto* ao grupo acil. Os compostos **84c** e **84d** não foram totalmente consumidos, **84b** obteve 3 subprodutos e **84a** foi obtido puro com 82 % de rendimento. Seguidamente foram sintetizadas as 4-hidroxycumarinas **86a**, **86c** e **86d**. A cumarina **86b** não foi possível de ser obtida devido a presença de subprodutos no material de partida. A próxima reação de *N*-arilação foi testada com a anilina e *p*-anisidina, porém não houve a formação de produtos.

Desta forma, não foi possível obter as cumarinas **88** e azacumestanos **89** oxigenados desejados. Somando-se a outras limitações e desvantagens da metodologia desenvolvida pelo grupo, iniciou-se uma otimização de aza-Michael oxidativo envolvendo 3-ácido cumarinas carboxílicos **13** e anilina **70** utilizando, cuja melhor condição fora em água a 65 °C com 22% de rendimento. Esta reação

não aparentou ser catalisável e não houve a formação do produto com éster no lugar do ácido carboxílico da cumarina e nem com ácidos cinâmicos como substratos.

6. Perspectivas

Devido a falta de tempo para as otimizações, a perspectiva do trabalho consiste em dar continuidade nas otimizações para a adição de Michael oxidativa e tentar controlar a presença da dupla ligação, para a síntese de compostos quirais **124**. Após isso, verificar se a metodologia de arilação descarboxilativa também funciona em substratos 3-*N*-arilados **87**, além de estudar outras metodologias de arilação descarboxilativa.

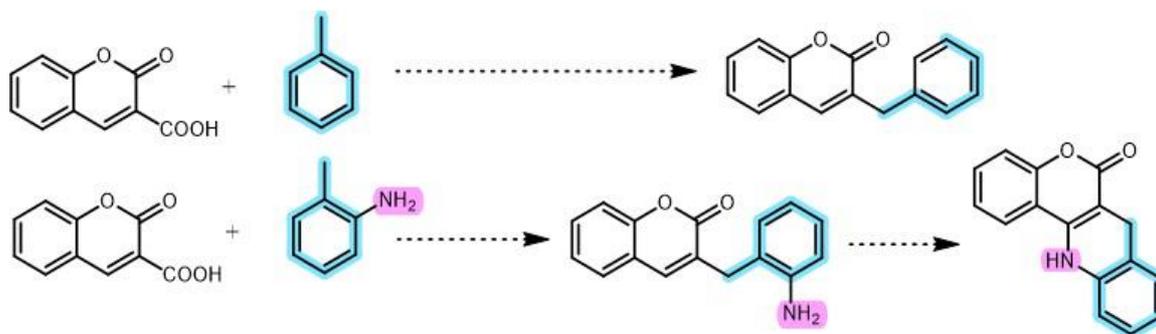


Esquema 45: Perspectivas para reações envolvendo ácidos 3-cumarino-carboxílicos **13**

No caso do composto quiral, a arilação por descarboxilação é de um carbono sp^3 . A funcionalização direta de ligação C-H não ativada de carbono sp^3 é desafiadora e de grande interesse para a química orgânica. Diversos metais de transição são utilizados para ativar ligações C-H de carbono sp^3 para possibilitar estas reações. A catálise por ferro é uma estratégia que vem sendo pesquisada no

LabSint.^[82]

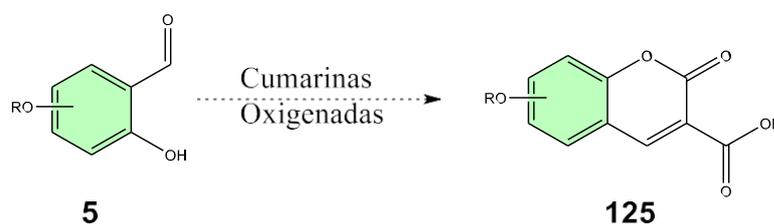
Para a síntese dos compostos derivados dos *N*-aril-azacumestanos sem substituição no nitrogênio, será necessário explorar a reação de descarboxilação oxidativa entre o 3-ácido-cumarino-carboxílico e a *orto*-toluidina para posterior aminação oxidativa, conforme o **Esquema 46**.



Esquema 46: Síntese dos compostos derivados dos *N*-aril-azacumestanos sem substituição no nitrogênio

O Labsint reportou uma descarboxilação oxidativa entre ácidos cinâmicos e derivados do tolueno, com $\text{FeCl}_3@TAPB\text{-DMTA-COF}$, DTBT, 120 °C por 5h.^[82] Primeiramente será testada estas condições mudando o ácido cinâmico pelo 3-ácido-cumarino-carboxílico e posteriormente com a *orto*-toluidina. A etapa de aminação oxidativa a princípio será realizada a partir da mesma metodologia utilizada na rota anterior,^[36] utilizando iodo hipervalente (PIFA) e Trifluoroetanol a temperatura ambiente por 1h.

Em seguida, com as reações acima definidas e otimizadas, sintetizar 3-ácido cumarino carboxílicos oxigenado **125** para a obtenção das cumarinas e azacumestanos oxigenados de interesse. (**Esquema 47**).



Esquema 47: Síntese de ácidos 3-cumarino-carboxílicos oxigenados (**125**)

7. Materiais e Métodos

Os reagentes e solventes foram obtidos da Sigma-Aldrich, Proquimios, Oakwood e foram empregados sem purificação prévia. Apenas os solventes secos empregados na catálise fotorredox e na síntese da 4-hidroxicumarina oxigenada foram secos previamente.

As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada fina utilizando placas de alumínio com sílica 60-F254 da marca Merck. As colunas cromatográficas foram realizadas em sílica gel 60 Å (tamanho da partícula : 0,040-0,063 mm, 230-400 mesh ASTM).

Foram utilizados da Central Analítica do Departamento de Química da PUC-Rio o espectrômetro Bruker Avance III HD-400 MHz com 9,4 T de campo magnético, para as caracterizações por RMN ^1H e RMN ^{13}C , e o Thermo Scientific TRACE 1300 ISQ para a cromatografia a gás – espectrometria de massas (CG-MS).

7.1 Secagem Tolueno

O tolueno seco foi o solvente utilizado na síntese das 4-hidróxicumarinas oxigenadas. Sua secagem foi realizada apenas com a adição de uma peneira molecular ativada, e utilizado após pelo menos 24 h.

7.2 Secagem DMSO

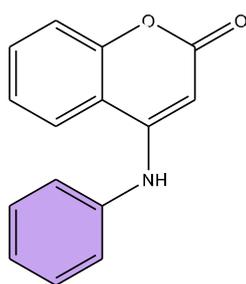
O DMSO seco foi o solvente utilizado na catálise fotorredox, para a arilação da posição C3 da cumarina. Anteriormente o solvente era secado utilizando 4% (m/m) de CaH_2 sob agitação por pelo menos 12 horas, seguido de uma destilação, cujo os primeiros 5% eram descartados e o restante era coletado em um balão com peneira molecular. Entretanto, foi verificado que preenchendo metade do volume do balão com uma peneira molecular bem ativada (24 h na estufa a 240 °C e a outra metade com DMSO, as etapas anteriores não eram necessárias.

7.3 Síntese 4-*N*-Arilcumarinas

Em um becher foi pesado (1 eq., 10 mmol) da 4-hidróxicumarina **80** e anilina (1,1 eq., 11 mmol) **70**. Depois de 1 h, foi adicionado 52 mL de uma solução 1 mol/L

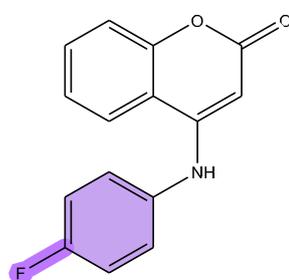
de NaOH e 25 mL de metanol. O bequer ficou em agitação por 30 minutos e o produto **26** foi filtrado a vácuo e seco na estufa.

Composto **26a**: Sólido amarelo (69 %)



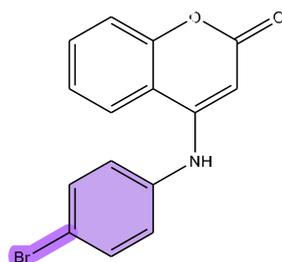
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.33 (s, 1H), 8.25 (dd, J = 7.0, 1.2 Hz, 1H), 7.66 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.49 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.39 (m, J = 8.5, 7.8 Hz, 4H), 7.29 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 5.29 (s, 1H).

Composto **26b**: Sólido cinza (57 %)



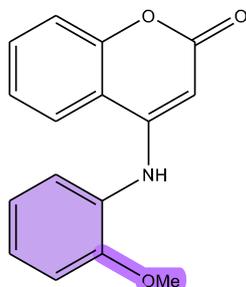
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.30 (s, 1H), 8.22 (dd, J = 6.0, 1.0 Hz, 1H), 7.66 (td, J = 7.2, 1.1 Hz, 1H), 7.41 (m, J = 17.6, 6.3 Hz, 4H), 7.32 (m, J = 12.1, 5.4 Hz, 2H), 5.19 (s, 1H).

Composto **26c**: Sólido amarelo claro (70 %)



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.32 (s, 1H), 8.21 (d, 1H), 7.67 (m, J = 7.5 Hz, 3H), 7.43 – 7.34 (m, 5H), 5.37 (s, 1H).

Composto **26d**: Sólido amarelo claro (56 %)



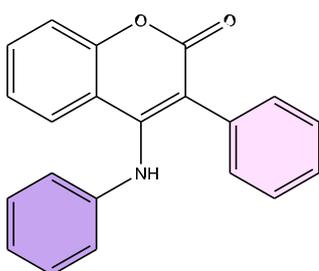
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.05 (s, 1H), 8.25 (dd, J = 6.8, 1.2 Hz, 1H), 7.65 (td, J = 7.0, 1.3 Hz, 1H), 7.38 (m, J = 8.3, 5.9, 0.8 Hz, 3H), 7.31 (dd, J = 7.3, 1.6 Hz, 1H), 7.21 (dd, J = 7.2, 1.0 Hz, 1H), 7.07 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 4.72 (s, 1H), 3.80 (s, 3H).

7.4 Síntese 3-Aril-4-N-Arilcumarinas

Em vials flambados foi pesado 1 mmol da N-Aril-cumarina, 0,2 mmol do sal de diazônio e 0,004 mmol do catalisador. Após isso, a atmosfera é trocada por argônio e então é adicionado 2,5 mL de DMSO seco. Os vials são colocados a 7 cm de uma lâmpada Kessil de 440 nm, 45 W, sob agitação vigorosa por 16 horas. O produto era purificado por coluna cromatográfica, cuja sílica flash era empacotada com uma solução de hexano com trietilamina.

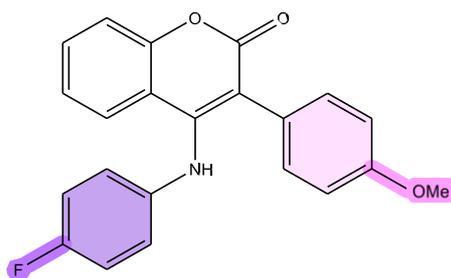


Composto **27a**: Sólido amarelo (32 %)



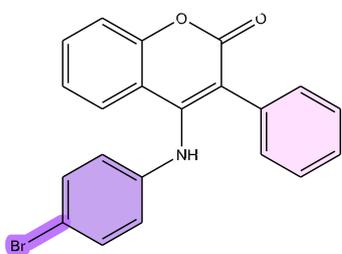
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.50 – 7.35 (m, 7H),
 7.32 (dd, $J=8.2, 1.4$, 1H), 7.26 (dd, $J=10.3, 5.5$, 1H),
 7.10 (t, $J=7.4$, 1H), 7.03 (td, $J = ,1\text{H}$), 6.93 (d, $J=7.7$,
 2H), 6.19 (s, 1H)

Composto **27b**: Sólido laranja (52 %)



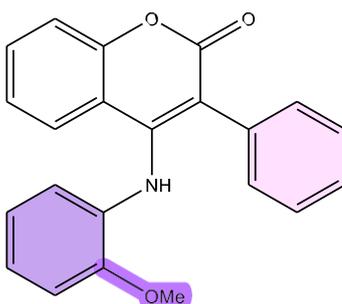
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (ddd, $J = 8.5, 7.2, 1.5$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J = 8.3, 1.0$ Hz, 1H), 7.34 – 7.30 (m, 2H), 7.26 (s, 2H), 7.03 (ddd, $J = 8.3, 7.2, 1.3$ Hz, 1H), 7.00 – 6.95 (m, 3H), 6.92 (ddt, $J = 9.0, 6.7, 2.3$ Hz, 2H), 6.13 (s, 1H), 3.82 (s, 3H).

Composto **27c**: Sólido amarelo (56 %)



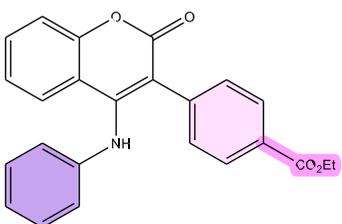
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.53 – 7.45 (m, 2H), 7.43 (ddd, $J = 7.1, 4.6, 1.3$ Hz, 2H), 7.37 (ddd, $J = 12.8, 6.8, 1.5$ Hz, 5H), 7.32 (dd, $J = 8.1, 1.4$ Hz, 1H), 7.11 – 7.05 (m, 1H), 6.81 – 6.75 (m, 2H), 6.06 (s, 1H).

Composto **27d**: Sólido amarelo (48 %)



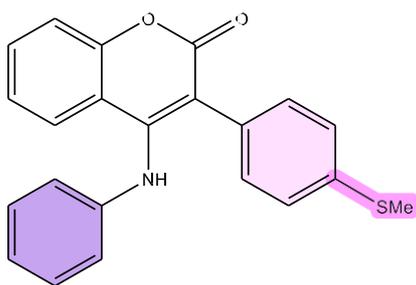
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.51 – 7.42 (m, 3H), 7.40 – 7.36 (m, 5H), 7.11 – 7.05 (m, 1H), 7.02 – 6.95 (m, 2H), 6.85 (d, 8.0 Hz, 1H), 6.75 – 6.72 (m, 1H), 6.27 (br, 1H), 3.79 (s, 3H).

Composto **27e**: Sólido amarelo (76 %)



RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.53 – 7.47 (m, 1H), 7.42 – 7.34 (m, 1H), 7.23 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.07 (ddd, $J = 12.2, 9.4, 4.3$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.16 (s, 1H), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H), 1.38 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H).

Composto **27f**: Sólido laranja (59 %)

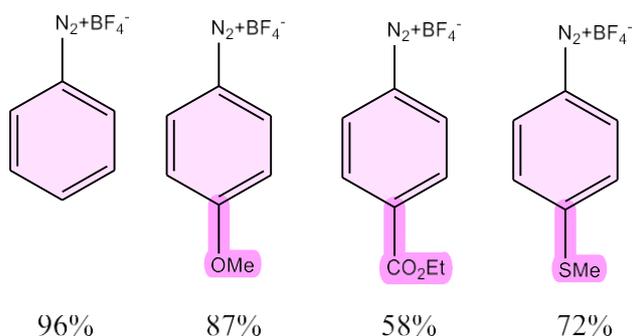


RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.50 – 7.43 (m, 1H), 7.38 (dd, $J = 8.3, 1.1$ Hz, 1H), 7.34 – 7.29 (m, 4H), 7.28 (dd, $J = 3.9, 2.2$ Hz, 1H), 7.10 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.03 (ddd, $J = 8.3, 5.7, 1.3$ Hz, 1H), 6.91 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 6.19 (s, 1H), 2.49 (d, $J = 2.8$ Hz, 2H).

7.5 Síntese dos sais de diazônio

Em um erlenmeyer de 50 mL foi adicionado 11,9 mmol de anilina, 10 mL de água e 10 mL de HBF_4 50%. A reação foi colocada em banho de gelo sob agitação e adicionou-se gota a gota uma solução de 1,4g de NaNO_2 em 10 mL de água. Após 30 minutos, foi observada a formação de um sólido. Este sólido foi dissolvido na menor quantidade necessária de acetona e precipitado adicionando-se éter etílico. O sólido foi filtrado, lavado com éter, bem seco no auto vácuo e guardado no freezer.

Compostos **28**:



7.6 Síntese $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$

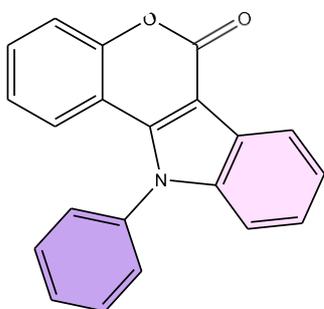
Em um balão de 25 mL foi adicionado 0,5 mmol de $\text{RuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 1,5 mmol de biperina. Em seguida adicionou-se 10 mL de água e 0,55 mL de uma solução 6,0 mol/L de NaH_2PO_4 . A mistura foi refluxada por 30 minutos e observou-se que a coloração muda de preto para um tom avermelhado. A reação é resfriada a

temperatura ambiente e filtrada. Em seguida adiciona-se KCl, a solução é novamente aquecida, resfriada em banho de gelo e o sólido é filtrado em um funil de Buchner de vidro e lavado com água gelada.

7.7 Síntese dos *N*-aril-Azacumestanos

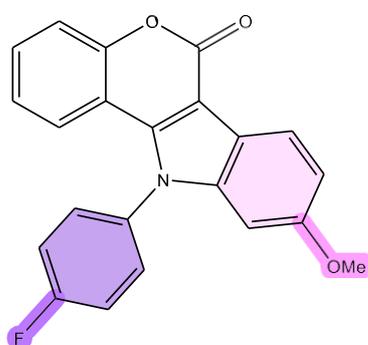
Em um balão de 5 mL foi adicionado 0,17 mmol da cumarina **27** (1,0 eq.), 0,21 mmol do PIFA (2,0 eq.) e 2,55 mL de TFE. A reação ficou sob agitação a temperatura ambiente por 1 h e o produto foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: 15% - acetato de etila : hexano).

Composto **68a**: Sólido amarelo (82 %)



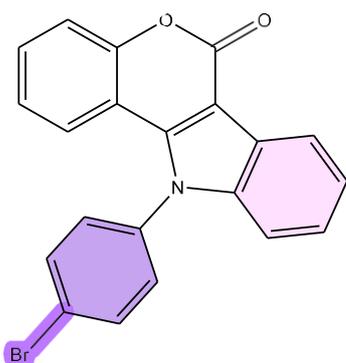
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.44 – 8.37 (m, 1H), 7.71 (dd, $J=5.1, 1.8$, 3H), 7.55 – 7.48 (m, 3H), 7.46 – 7.40 (m, 2H), 7.39 – 7.34 (m, 1H), 7.11 – 7.06 (m, 1H), 6.99 (ddd, $J=8.4, 7.1, 1.3$, 1H), 6.89 (dd, $J=8.2, 1.5$, 1H). RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 161.95, 153.64, 148.79, 142.48, 136.41, 132.32, 131.57, 130.37, 130.04, 129.56, 129.39, 128.73, 126.38, 124.41, 123.27, 121.93, 118.27, 117.80, 117.47, 115.64, 112.24.

Composto **68b**: Sólido amarelo (93 %)



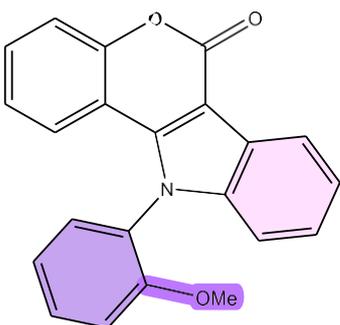
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.27 – 8.23 (m, 1H), 7.54 – 7.47 (m, 3H), 7.44 – 7.37 (m, 3H), 7.05 (dd, $J=8.7, 2.3$, 1H), 7.01 (ddd, $J=8.3, 7.1, 1.3$, 1H), 6.84 (dd, $J=8.2, 1.5$, 1H), 6.48 (d, $J=2.2$, 1H), 3.80 (s, 3H). RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 164.62, 162.12, 158.97, 158.93, 153.34, 142.31, 140.60, 133.27, 133.24, 130.75, 130.66, 129.85, 123.74, 122.51, 121.97, 118.25, 117.99, 117.76, 113.73, 112.66, 103.07, 94.66, 55.86.

Composto **68c**: Sólido branco (76%)



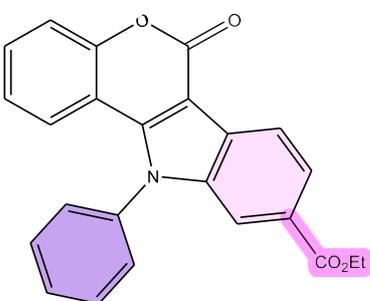
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.38 (d, $J=7.5$, 1H), 7.84 (d, $J=8.5$, 3H), 7.49 (t, $J=1.5$, 1H), 7.42 (t, $J=7.3$, 6.0, 7H), 7.39 – 7.34 (t, 2H), 7.08 – 7.03 (t, 3H), 6.96 (d, $J=1.5$, 1H). RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 158.83, 153.73, 141.00, 140.93, 136.32, 133.99, 130.50, 130.42, 125.63, 124.46, 124.30, 123.85, 123.74, 122.44, 121.84, 118.39, 113.46, 110.67, 103.14.

Composto **68d**: Sólido marrom (32 %)



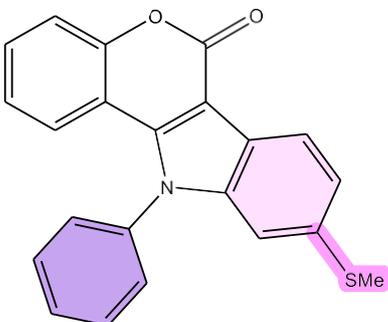
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8.25 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.54 – 7.47 (m, 3H), 7.44 – 7.37 (m, 3H), 7.05 (dd, $J=8.7, 2.2$ Hz, 1H), 7.01 (ddd, $J=7.2, 5.4, 1.3$ Hz, 1H), 6.84 (dd, $J=8.1, 1.3$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), 3.80 (s, 3H).

Composto **68e**: Sólido branco (48 %)



RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8.42 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 8.11 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.75 – 7.72 (m, 2H), 7.50 (ddd, $J=19.8, 11.1, 4.3$ Hz, 4H), 7.01 (dd, $J=10.8, 4.1$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 4.38 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.39 (t, $J=7.1$ Hz, 4H). RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 166.95, 158.67, 154.03, 143.24, 140.72, 136.68, 131.05, 130.87, 130.71, 128.72, 127.89, 127.54, 124.50, 123.91, 122.99, 121.29, 118.37, 113.30, 112.95, 102.65, 61.32, 29.84, 14.51.

Composto **68f**: Sólido laranja (24%)

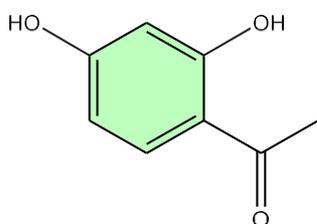


RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.50 – 7.43 (m, 1H), 7.38 (dd, $J=8.3, 1.1$ Hz, 1H), 7.34 – 7.29 (m, 4H), 7.28 (dd, $J=3.9, 2.2$ Hz, 1H), 7.10 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.03 (ddd, $J=8.3, 5.7, 1.3$ Hz, 1H), 6.91 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 6.19 (s, 1H), 2.49 (d, $J=2.8$ Hz, 2H).

7.8 Síntese de acetofenonas

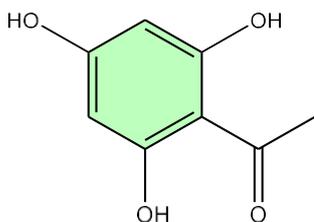
Em um balão foi adicionado 10 mmol do fenol e 1,0 mL de anidrido acético com atmosfera modificada (argônio). O balão foi posto em banho de gelo e adicionou-se lentamente 1,3 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Após isso, a reação ficou em aquecimento entre 80-90 °C por 1,5h. Em seguida, o balão foi colocado novamente em banho de gelo e adicionou-se 15 mL de uma solução saturada de acetato de sódio (30 min agitando). Após isso a reação ficou em repouso na geladeira por 1 h e filtrado a vácuo.

Composto **84a**: Sólido branco (77%)



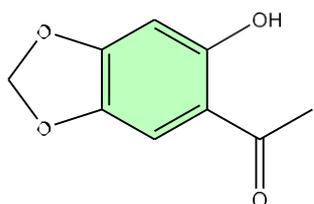
RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ = 12.60 (s, 1H), 7.74 (d, $J=8.9$, 1H), 6.36 (dd, $J=8.8$, 2.4, 1H), 6.23 (d, $J=2.4$, 1H).

Composto **84b**: Sólido vinho (92%)



RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ = 12.24 (s, 1H), 10.39 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 2.54 (s, 1H).

Composto **84c**: Sólido marrom (95%)



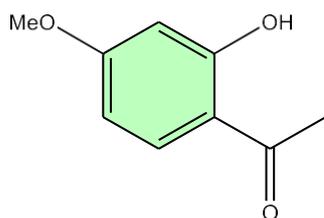
RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ = 7.39 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.08 (s, 2H), 2.54 (s, 3H).

7.9 Metilação de acetofenonas

Primeiramente foi feita uma solução de 3,7 mmol da acetofenona (ou fenol) em 7,5 mL de acetona com 11 mmol de carbonato de potássio. Em seguida foi

adicionado 3,7 mmol de sulfato de dimetila (Me_2SO_4), esta mistura foi refluxada por 20 minutos. O sal inorgânico (K_2CO_3) é removido através de uma filtração e lavado com 12 mL de acetona.

Composto **85a**: Sólido branco (82%)

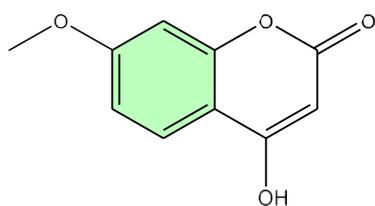


RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ = 12.69 (s, 1H), 7.57 (d, $J=8.8$, 1H), 6.45 – 6.27 (m, 2H), 3.78 (s, 4H).

7.10 Síntese de 4-hidróxicumarinas oxigenadas

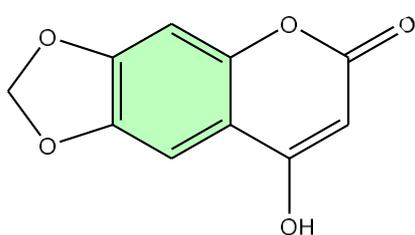
Em um balão flambado, foi preparada uma solução contendo 2,67 mmol de acetofenona em 2,5 mL de tolueno anidro e 1,5 mL de carbonato de dietila. Em um outro frasco também flambado, foi preparado uma suspensão contendo 0,5g de NaH (dispersão 60% em óleo mineral) em 1,25 mL de tolueno anidro. Essa suspensão foi para o banho de gelo, e foi adicionado gota a gota a outra suspensão e ficou em agitação por 30 minutos. Após isso, a reação ficou em refluxo por 3 h a 100 °C. A reação foi monitorada por TLC (30% - acetato de etila : hexano). Ao fim da reação, o balão foi resfriado à temperatura ambiente e o meio reacional foi vertido em água gelada. A fase aquosa foi lavada com éter para retirar o excesso de carbonato de dietila. Esta fase foi acidificada com HCl até um pH de 3 levando a precipitação do produto puro, que foi filtrado e lavado com água.

Composto **86a**: Sólido branco (90%)



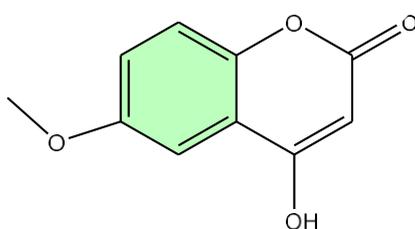
RMN ^1H (400 MHz, dmsO) δ = 7.71 (dd, $J=8.5$, 0.6, 1H), 7.00 – 6.83 (m, 2H), 5.44 (s, 1H), 3.85 (s, 3H).

Composto **86c**: Sólido marrom (16%)



RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ = 12.97 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.08 (s, 2H), 2.54 (s, 3H).

Composto **86d**: Sólido (33%)

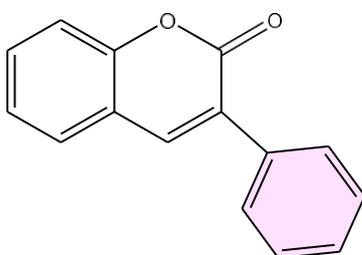


RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ = 12.52 (s, 0H), 7.35 – 7.29 (m, 0H), 7.25 – 7.19 (m, 1H), 5.60 (s, 0H), 3.81 (s, 1H).

7.11 Síntese de 12 via arilação descarboxilativa

Em um balão foi adicionado 0,5 mmol de cumarina, 0,5 mmol de ácido borônico, 1,0 mmol de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ e 3,0 mL de DCE : H_2O . Esta reação ficou a 100 °C por 16h e foi extraída em água e dicloro metano, seguida da sua purificação por coluna cromatográfica (eluente: 10% - acetato de etila : hexano).

Composto **12**: Sólido branco (16%)



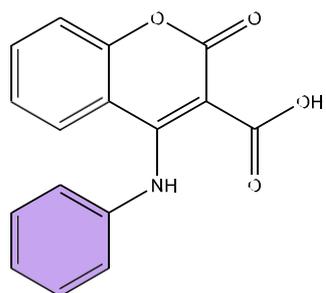
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.82 (s, 1H), 7.71 (dt, $J=6.2, 1.5, 2\text{H}$), 7.59 – 7.51 (m, 2H), 7.49 – 7.41 (m, 3H), 7.38 (d, $J=8.2, 1\text{H}$), 7.30 (td, $J=7.5, 1.1, 1\text{H}$).

7.12 Adição de Michael oxidativa

Em um vial, pesou-se 1 mmol de 3 ácido cumarino carboxílico, 2 mmol de anilina e 1 mL de água. Após isso, a reação ficou sob agitação a 65 °C por 3 horas. Com o intuito de retirar o excesso de anilina, a extração foi realizada com uma

solução ácida e acetato de etila. A fase orgânica foi seca com sulfato de dimetila e evaporada para posterior purificação por coluna cromatográfica (eluente: 10% - acetato de etila : hexano).

Composto **121**: Óleo amarelo (22%)



RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ = 13.26 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 7.47 – 7.35 (m, 4H), 7.32 – 7.27 (m, 3H), 7.03 (dd, $J=8.2, 1.1, 1\text{H}$), 6.95 (td, $J=7.5, 1.1, 1\text{H}$).

8. Caracterizações

8.1 Espectros de Ressonância magnética nuclear de H^1

A caracterização destes compostos identificados previamente qualitativamente por cromatografia em camada delgada (CCD) – 30% (acetato de etila/hexano).

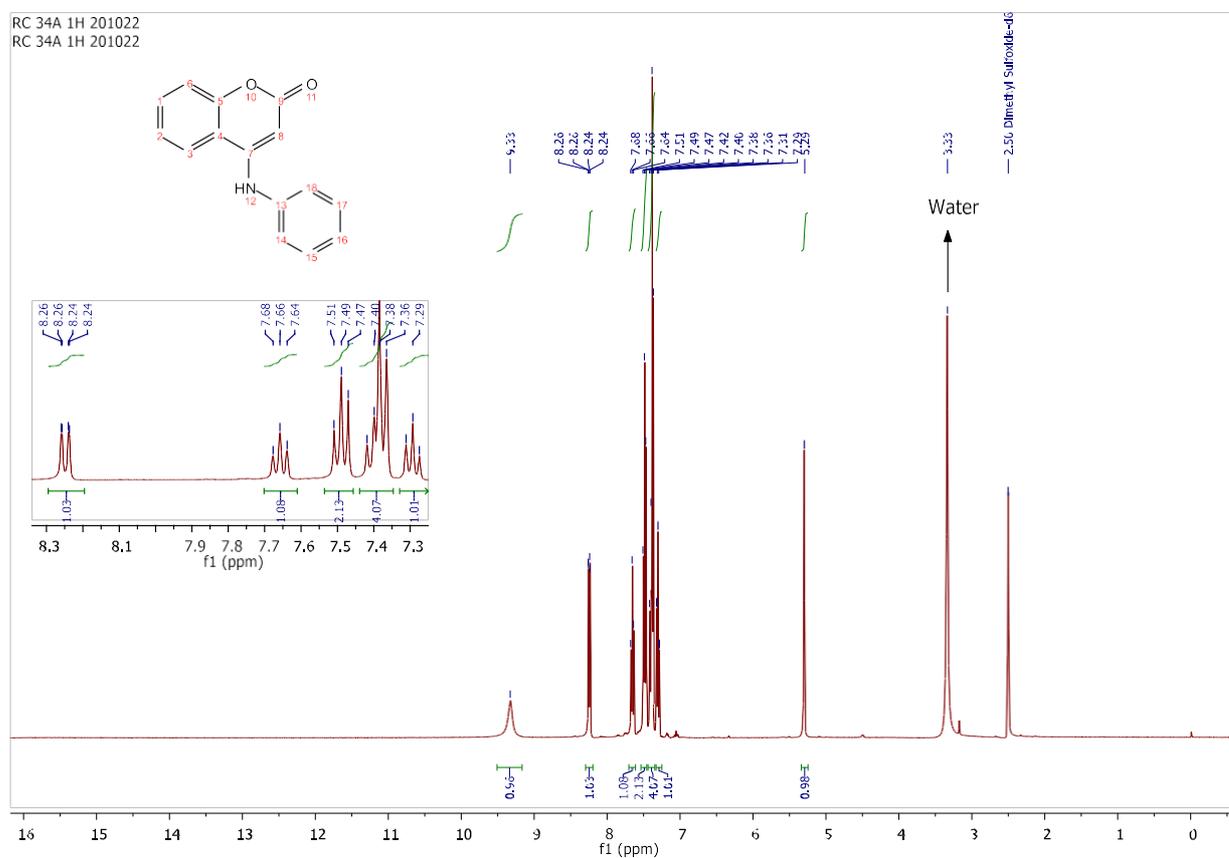


Figura 31: Espectro de RMN 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 26a

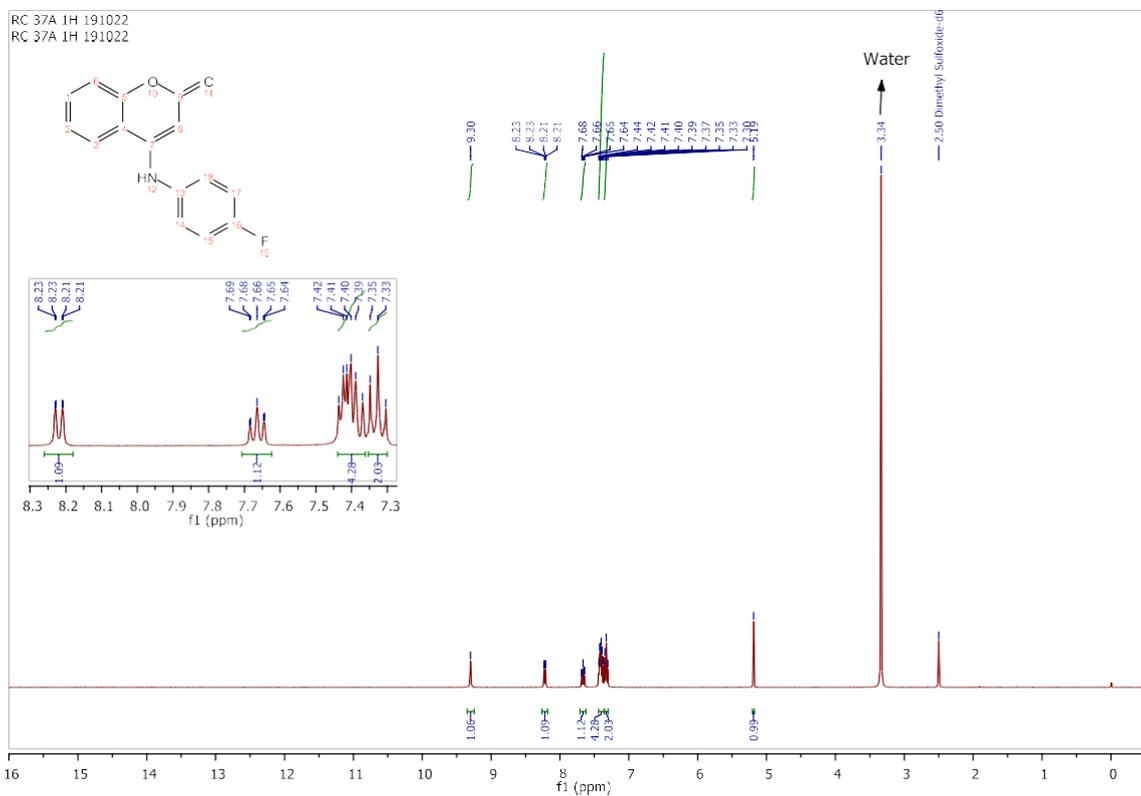


Figura 32: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 26b

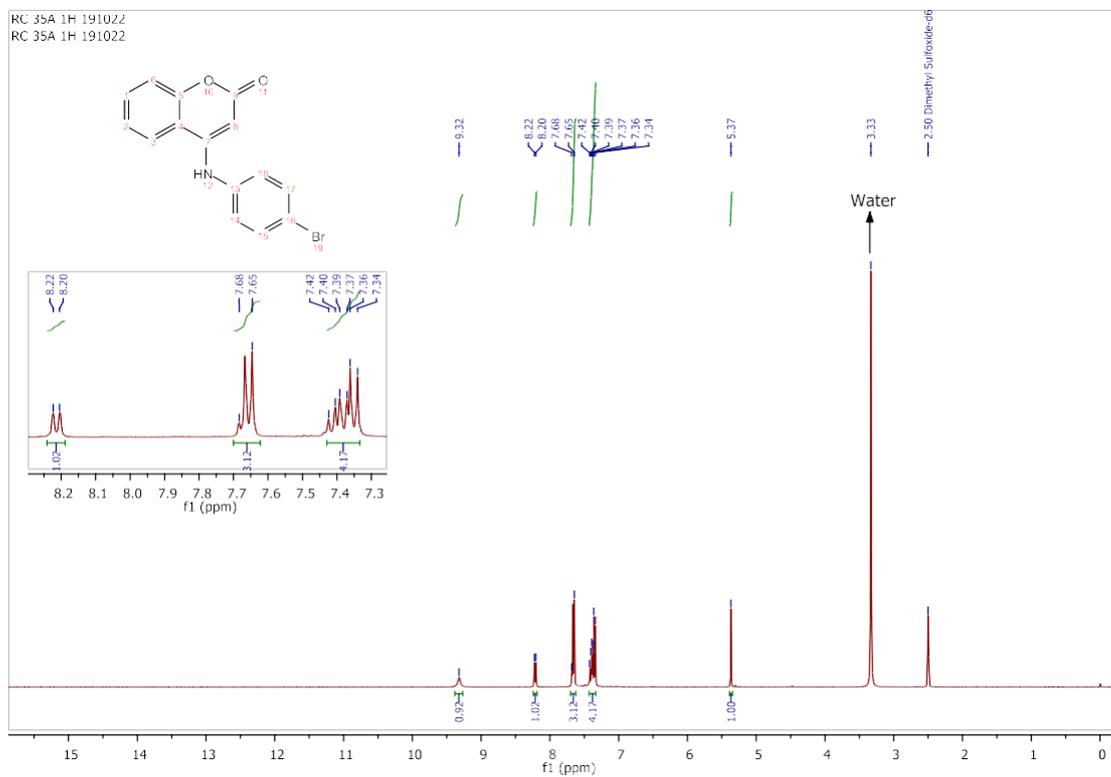


Figura 33: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 26c

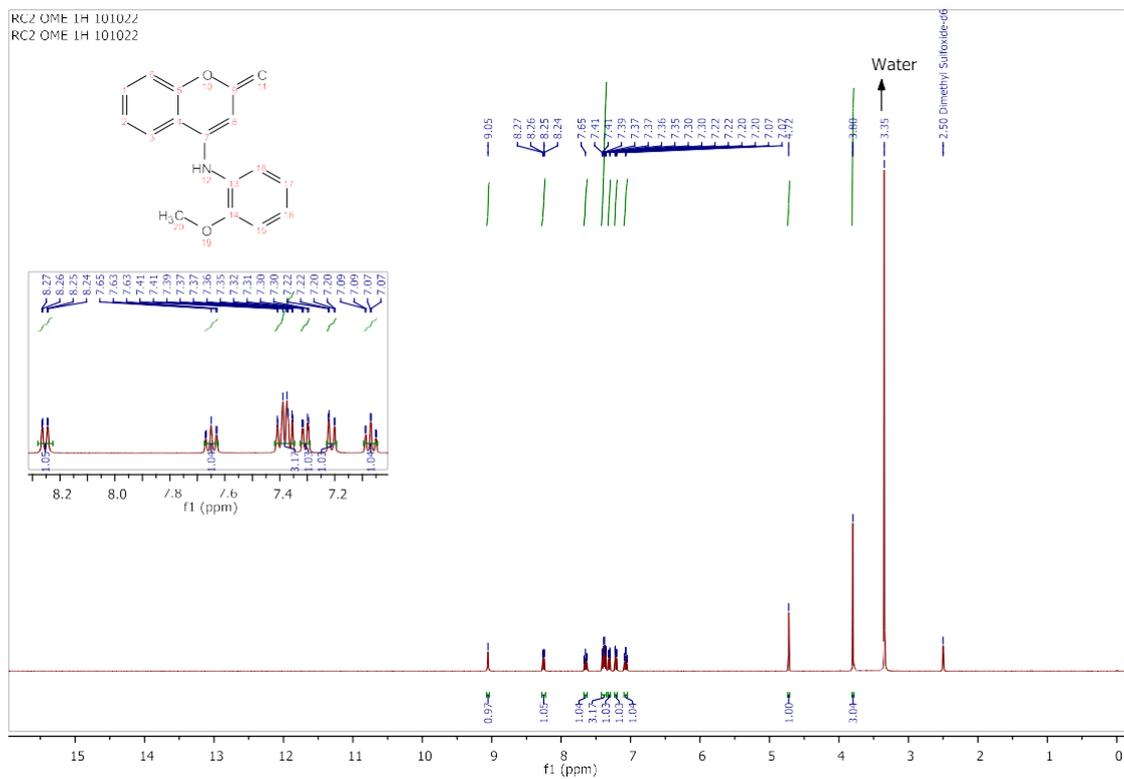


Figura 34: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 26d

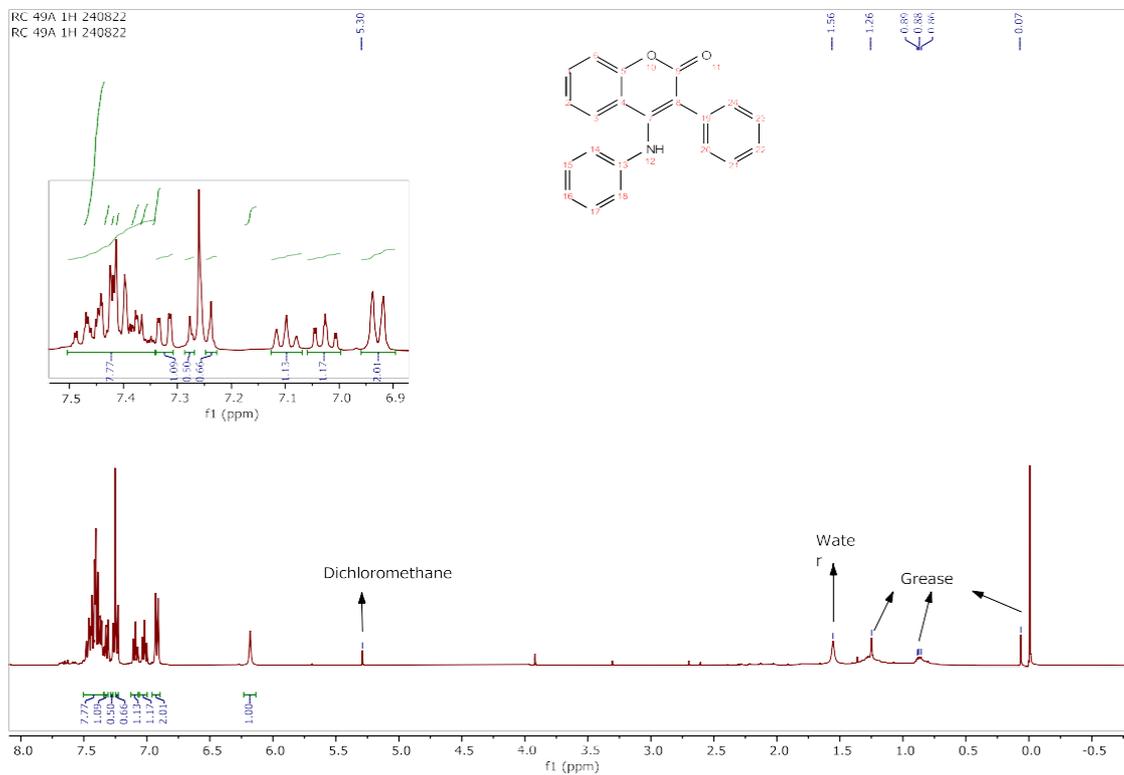


Figura 35: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27a

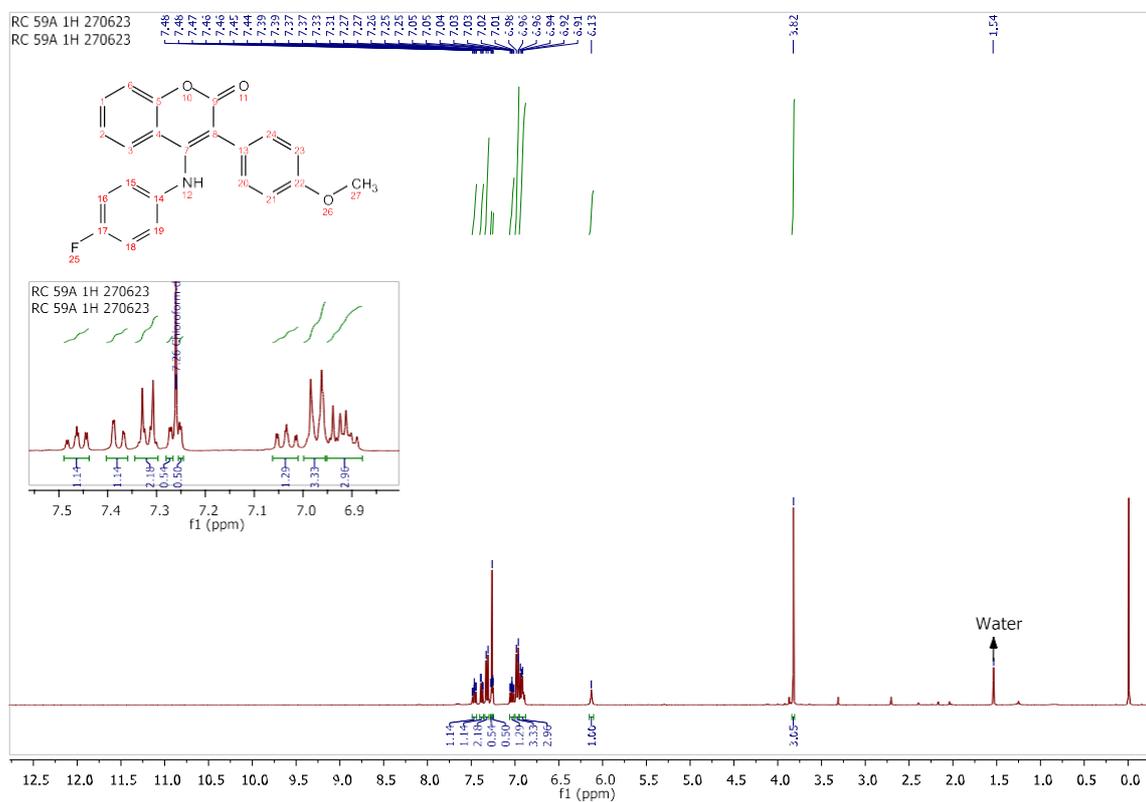


Figura 36: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27b

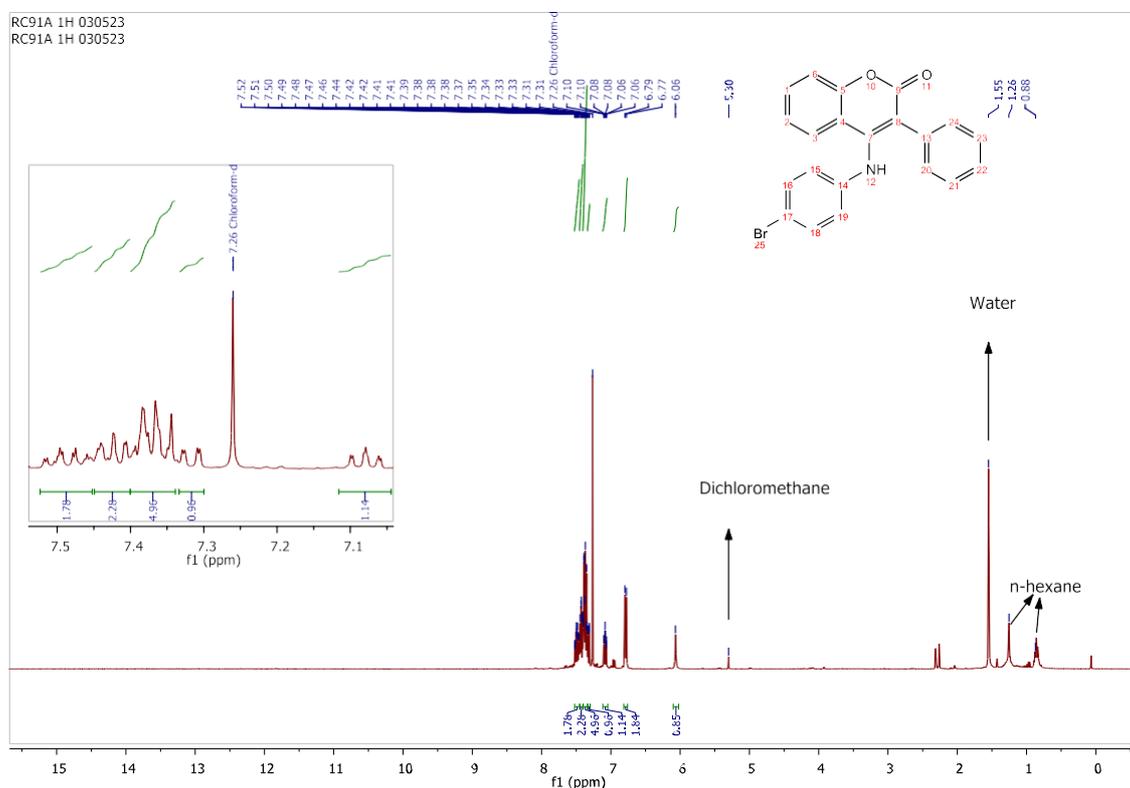


Figura 37: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27c

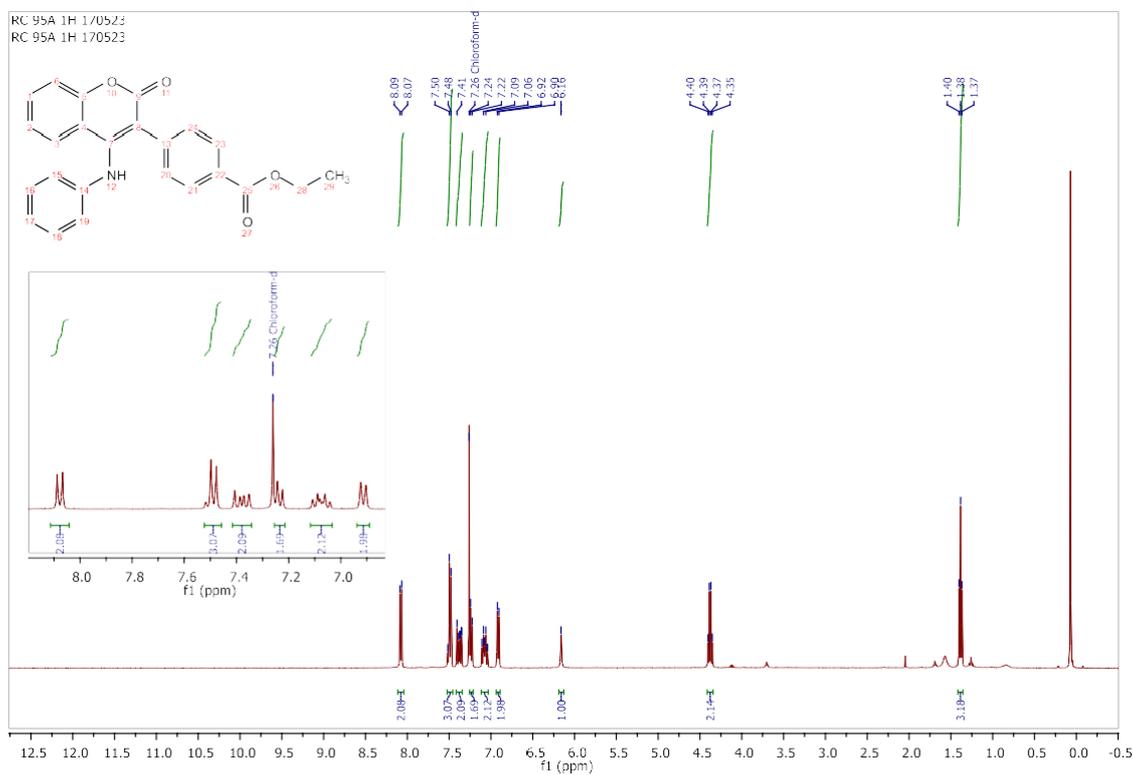


Figura 38: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27d

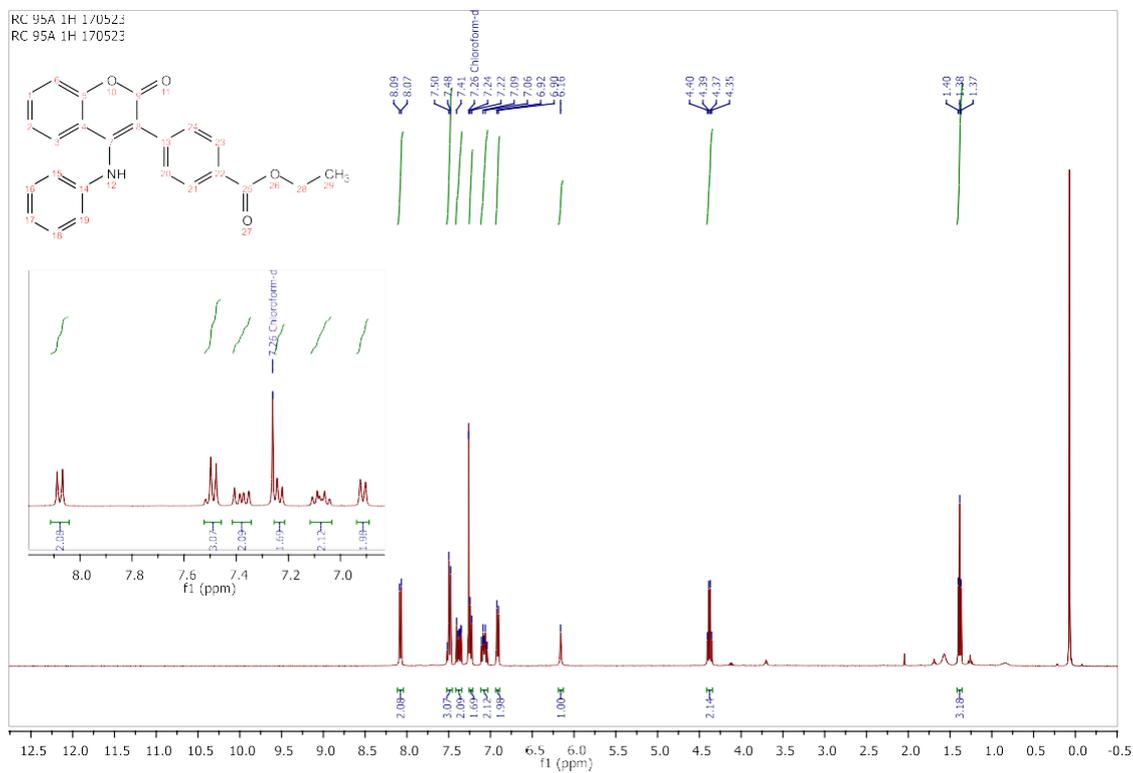


Figura 39: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 27e

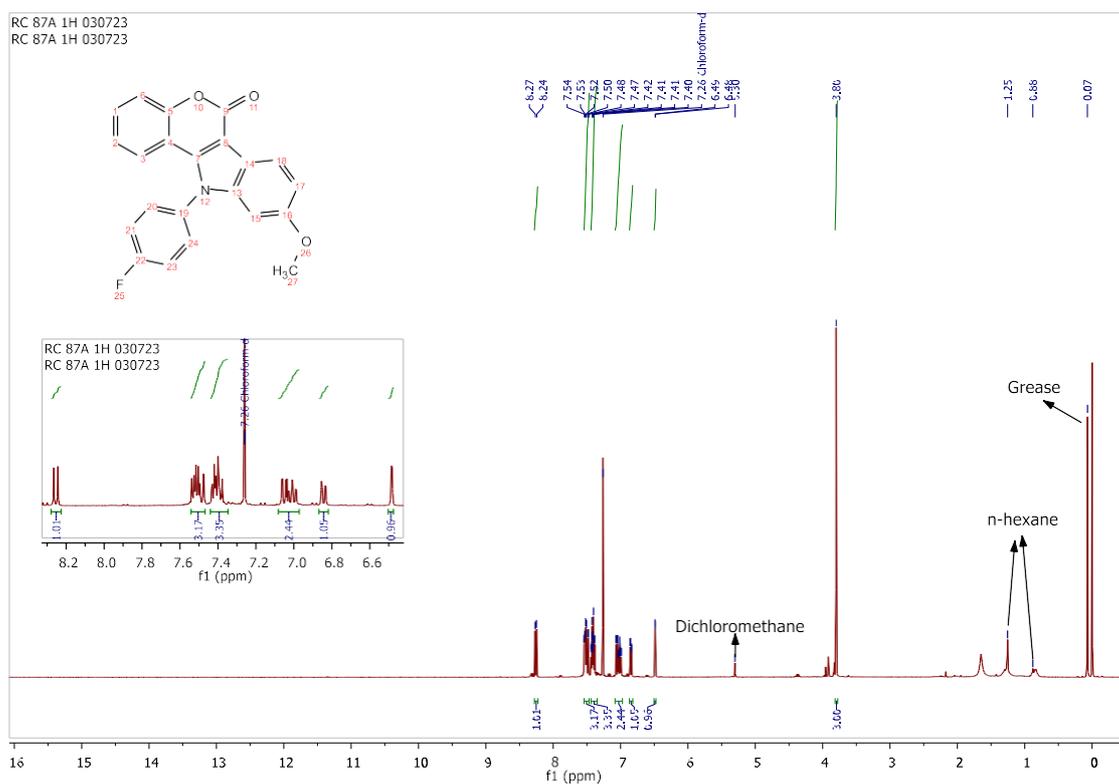


Figura 42: Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 68b

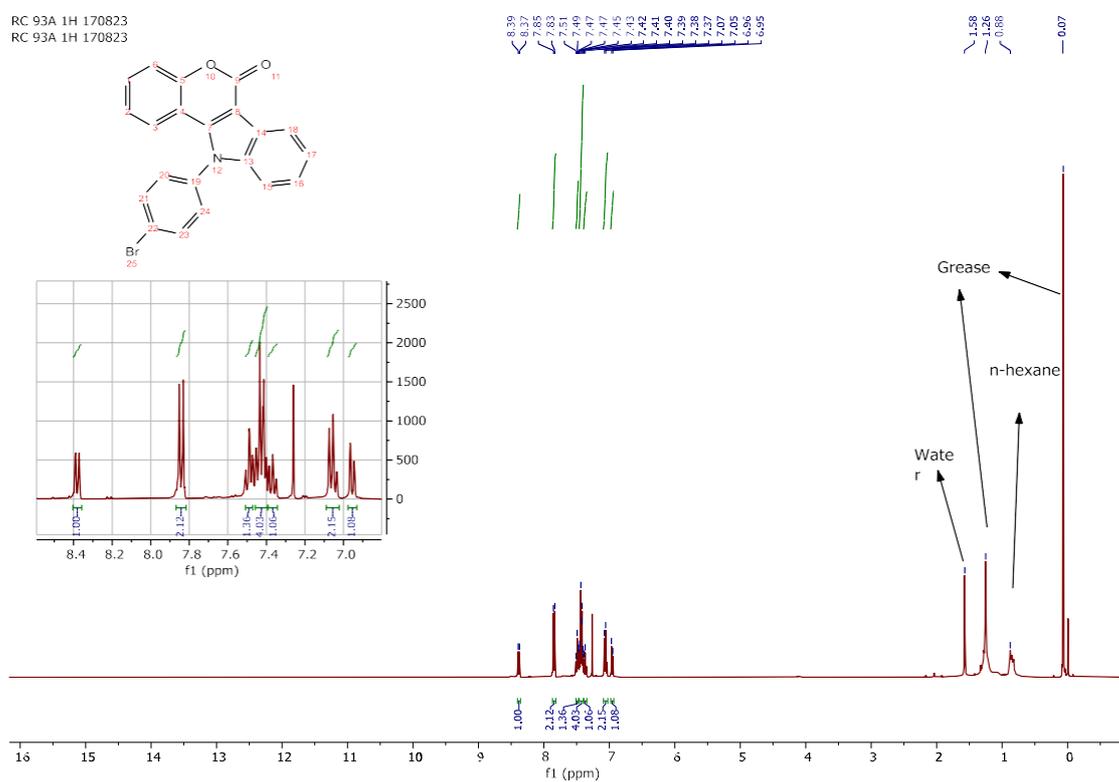


Figura 43: Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 68c

RC 92 A2 1H 270623
RC 92 A2 1H 270623

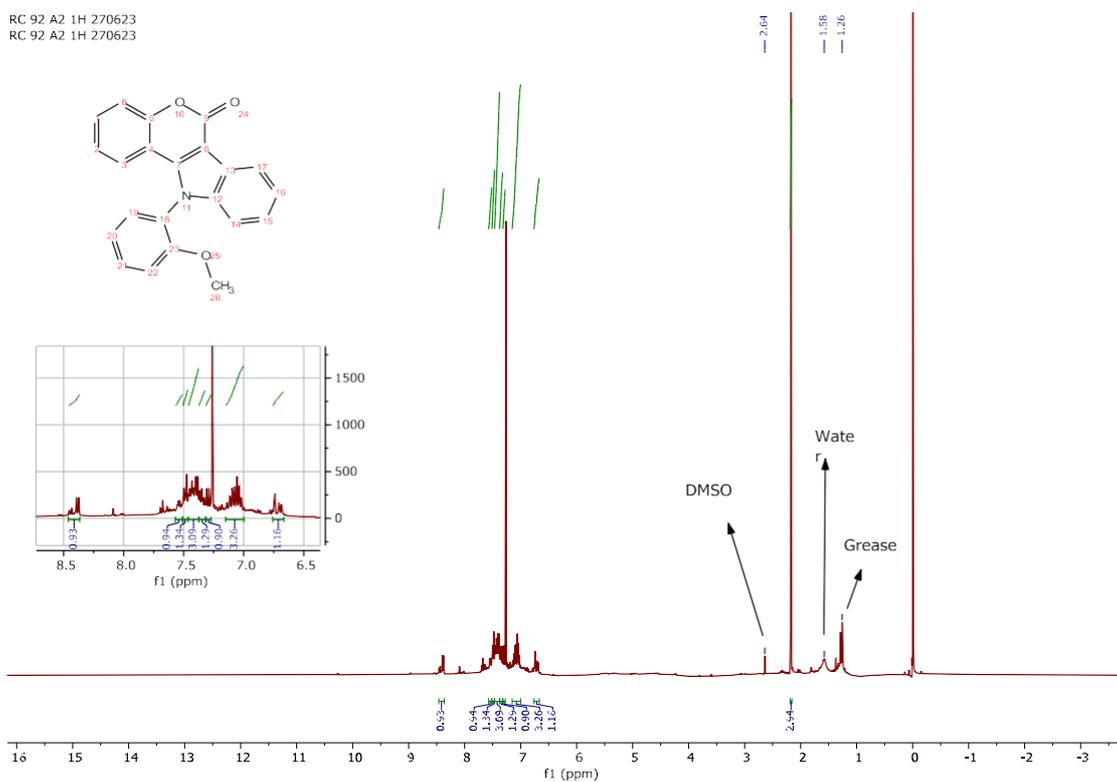


Figura 44: Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 68d

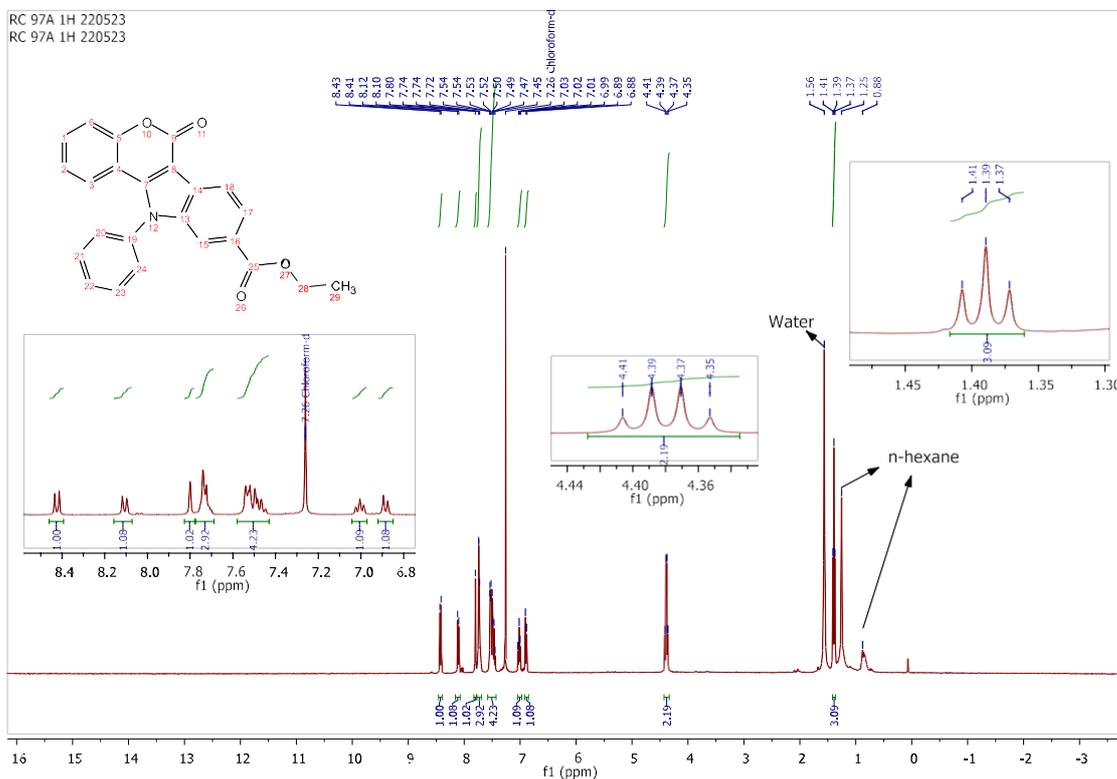


Figura 45: Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 68e

RC 60A 1H 050723
RC 60A 1H 050723

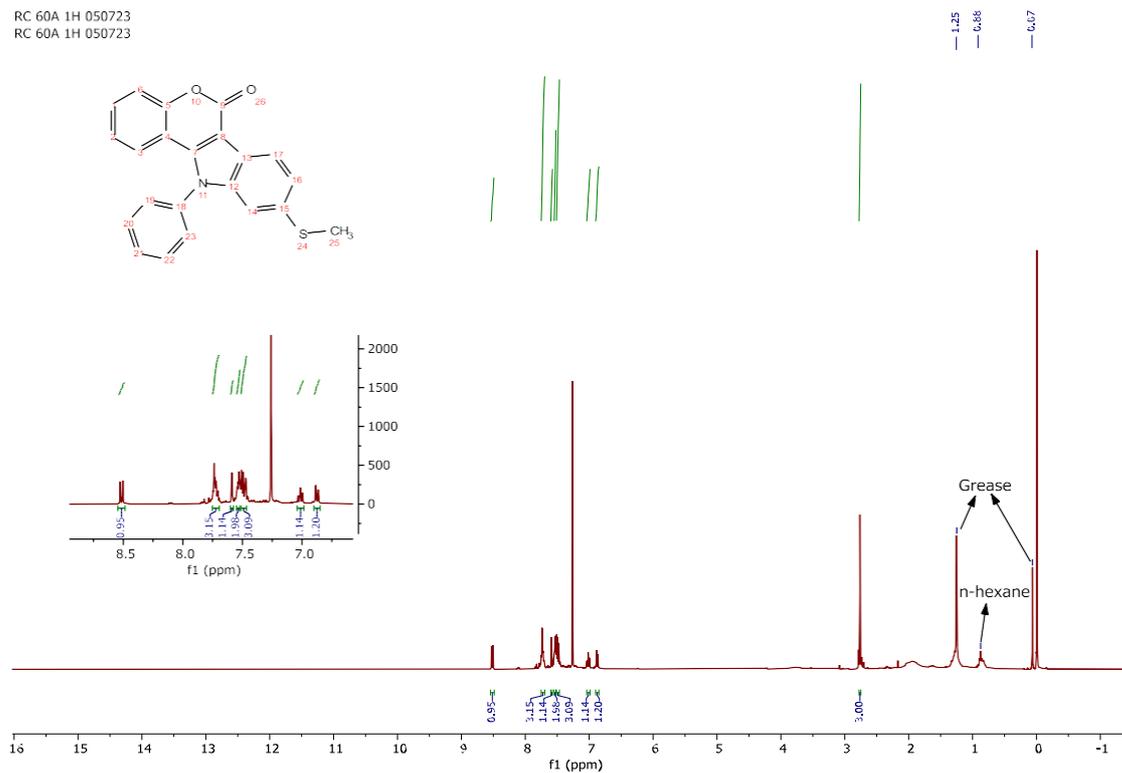


Figura 46: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **68f**

RC1A 1H 110422
RC1A 1H 110422

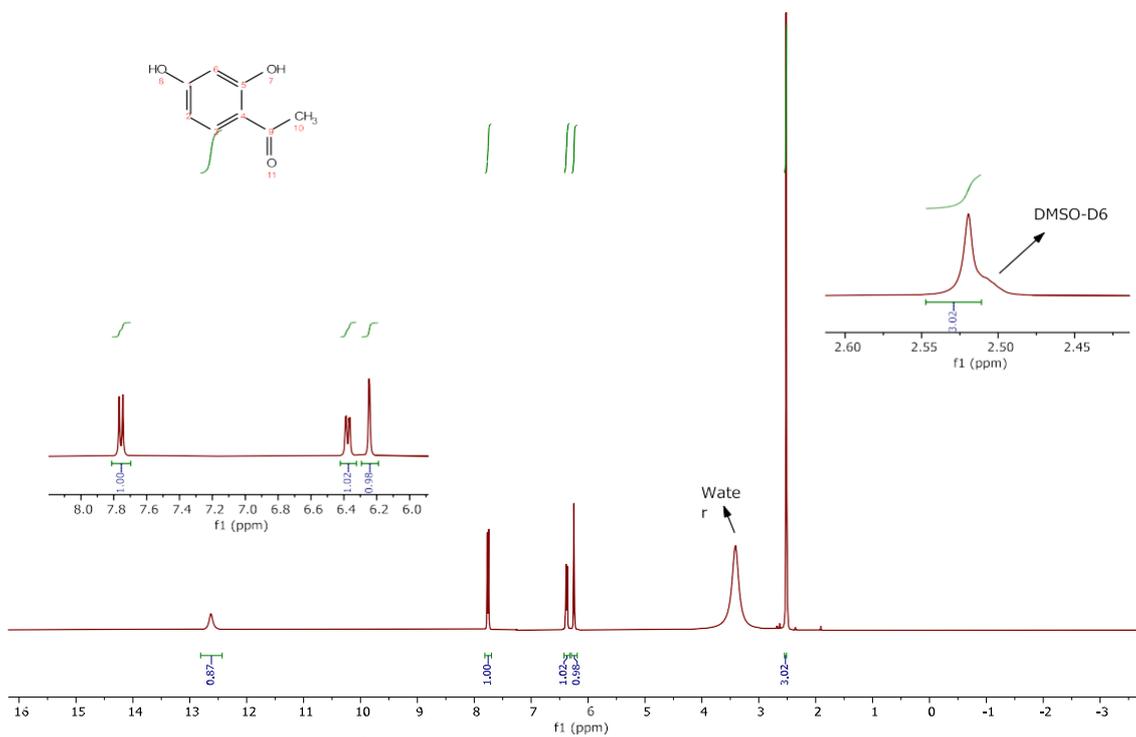


Figura 47: Espectro de RMN ^1H (DMSO-d_6 , 400 MHz) do composto **84a**

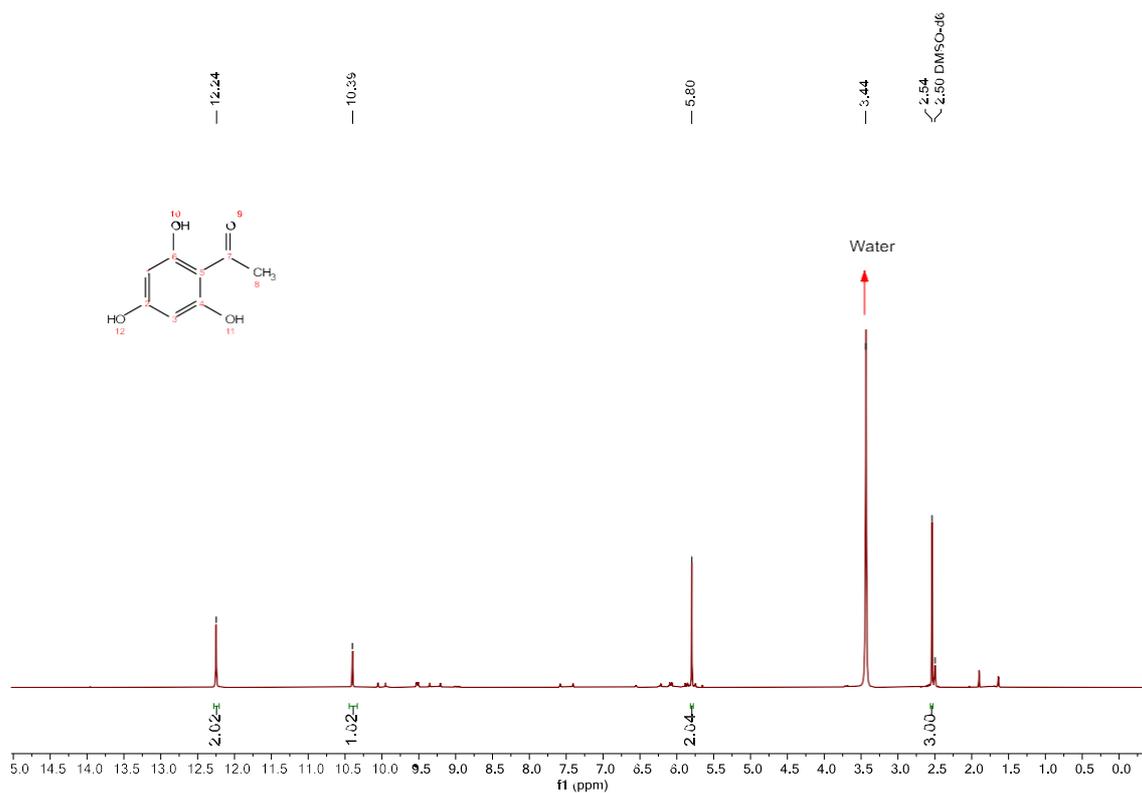


Figura 48: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **84b**

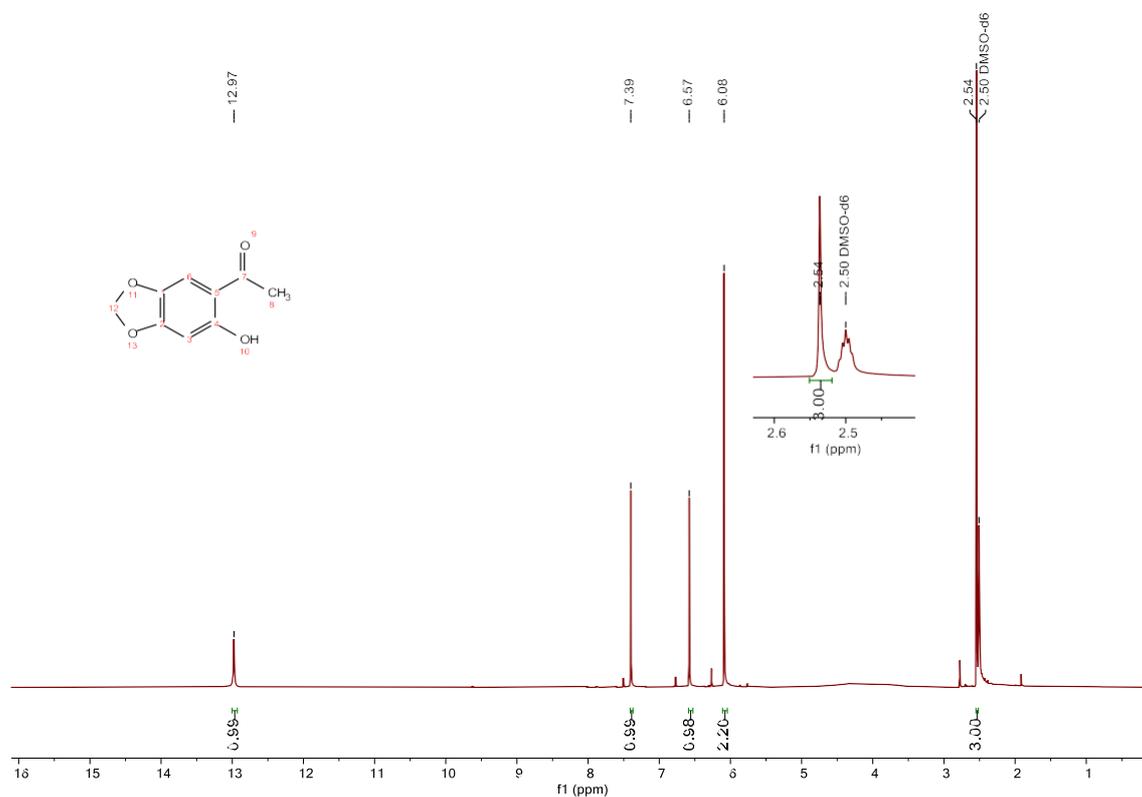


Figura 49: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **84c**

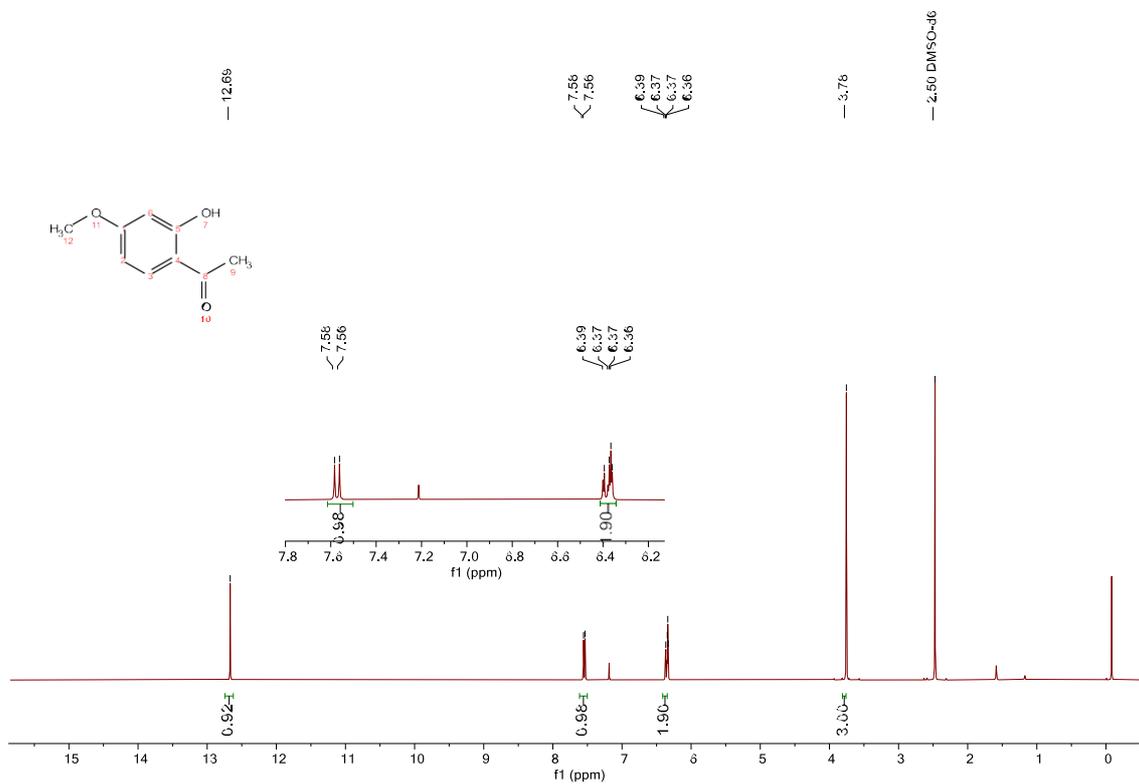


Figura 50: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 85a

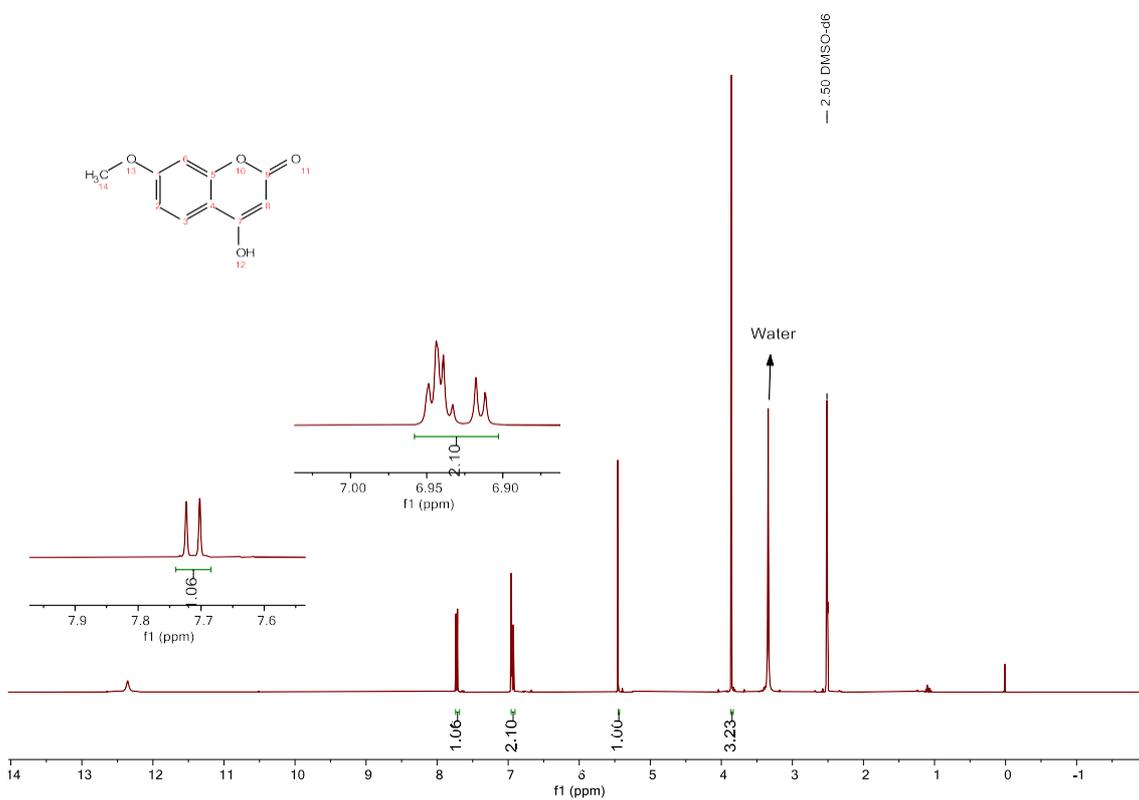
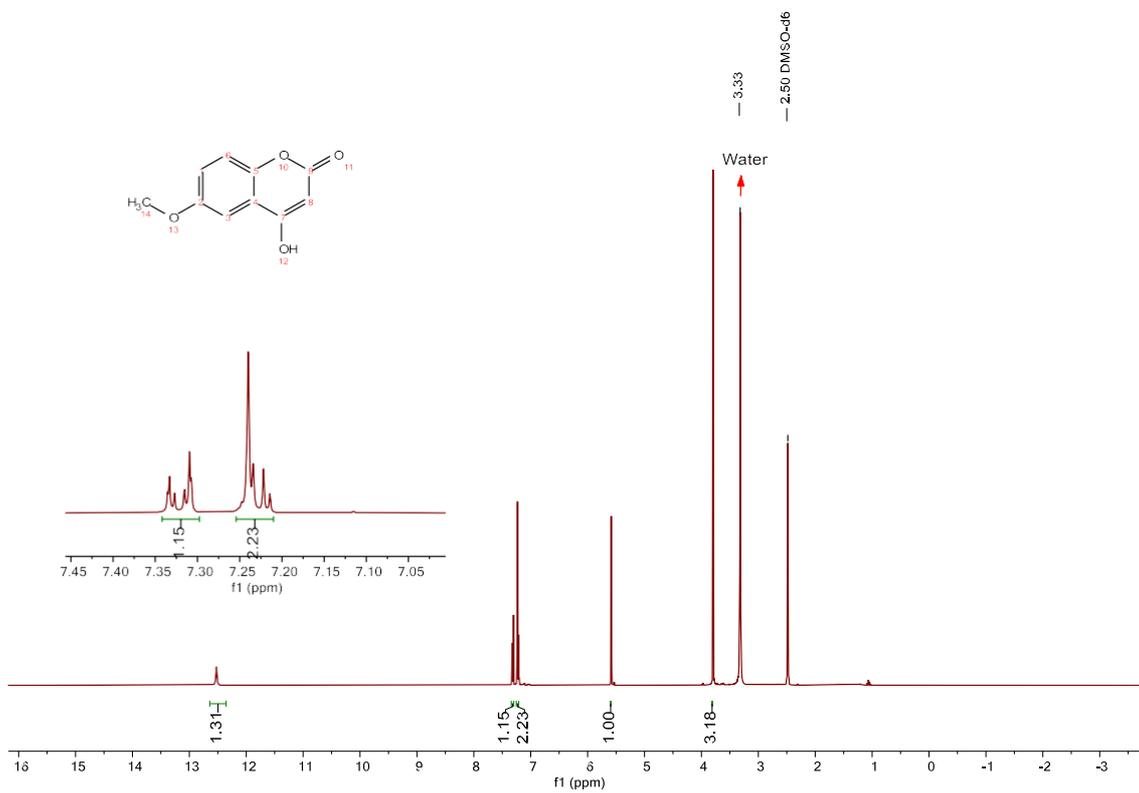
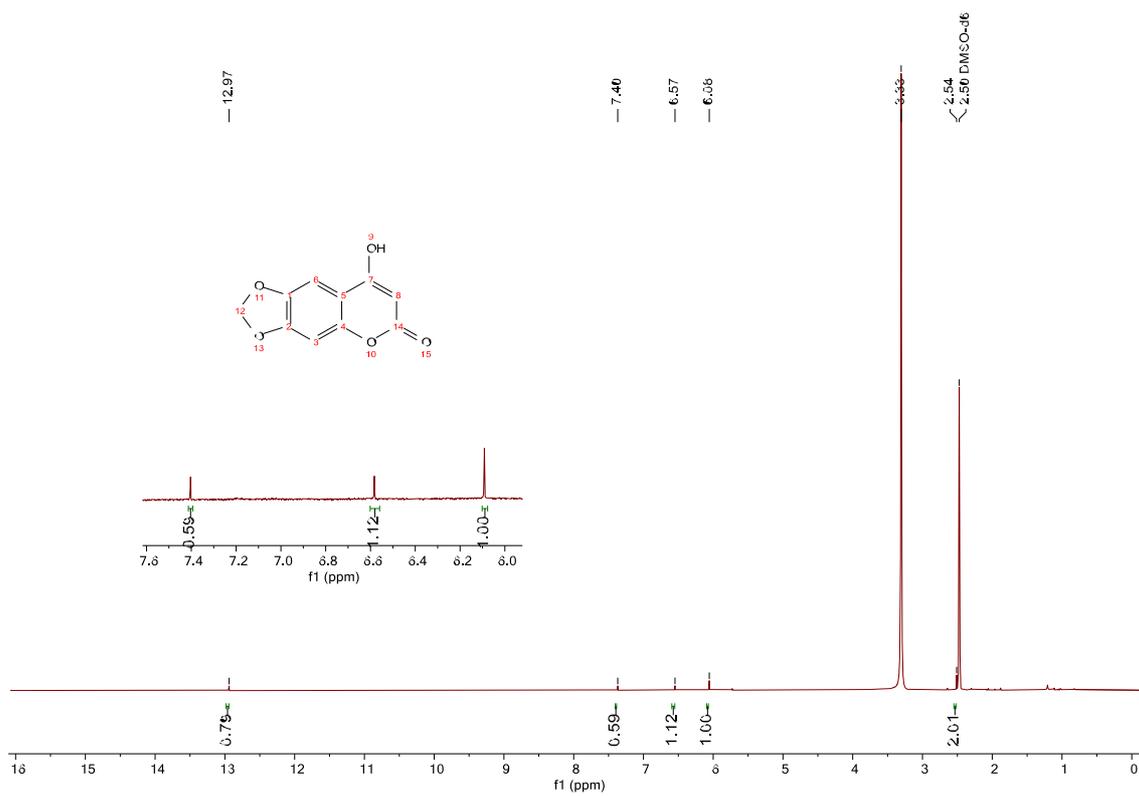


Figura 51: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 86a



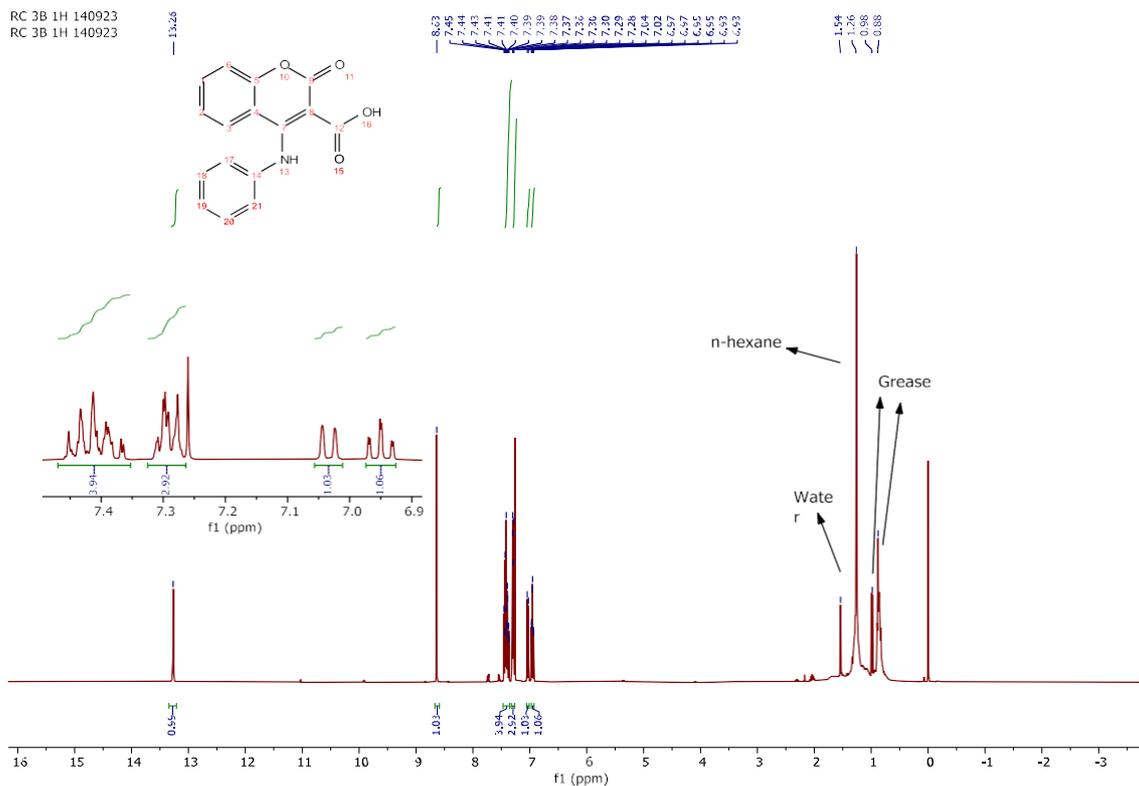


Figura 54: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **121**

8.2 RMN de ^{13}C

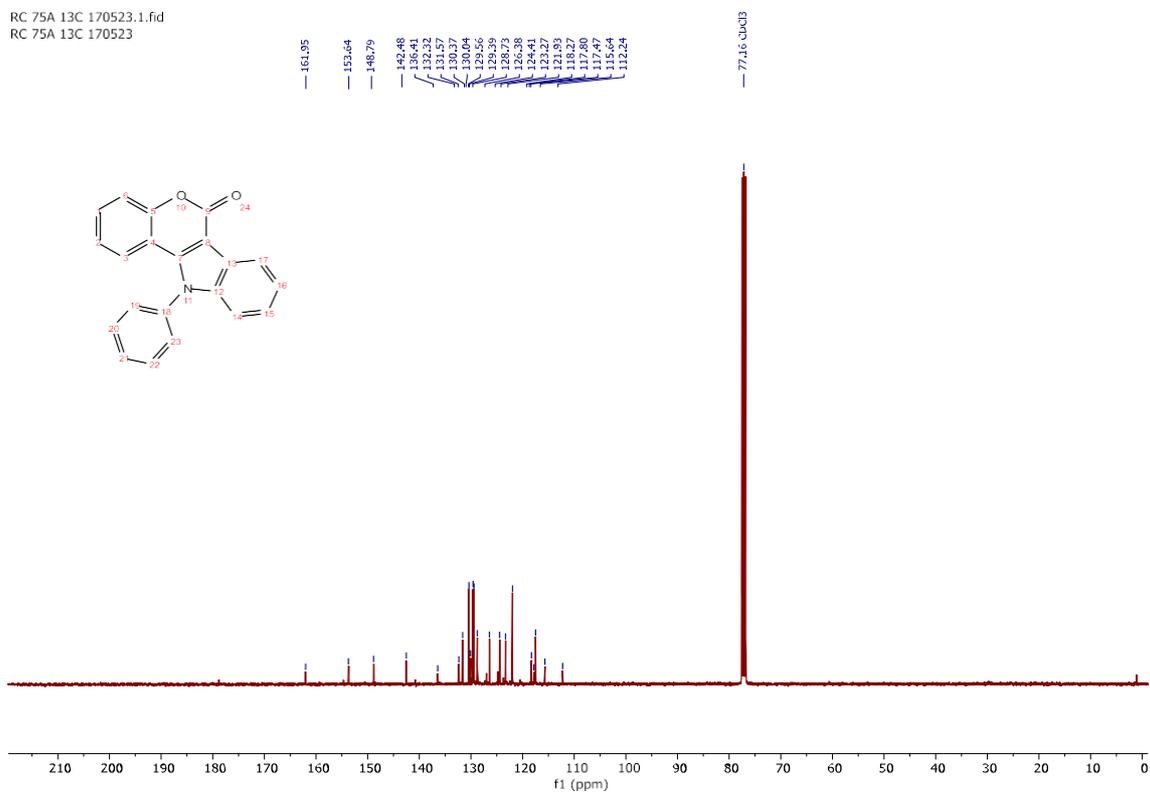


Figura 55: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **68a**

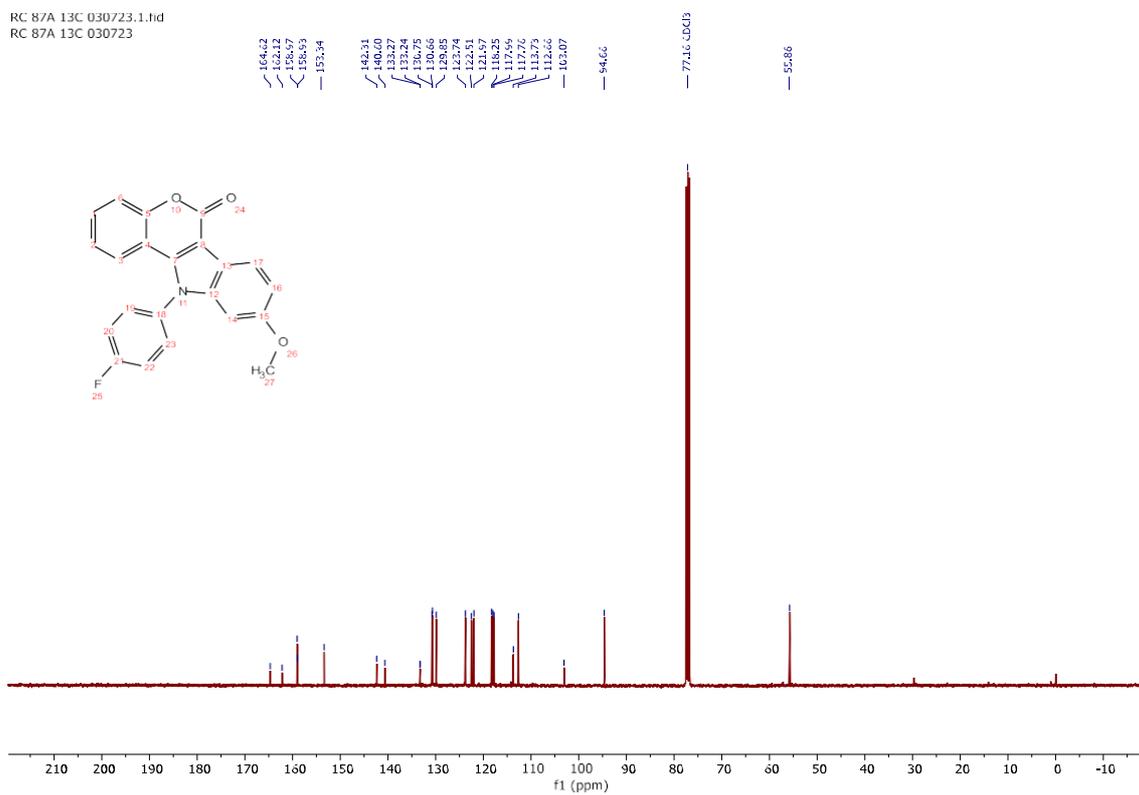


Figura 56: Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) do composto **68b**

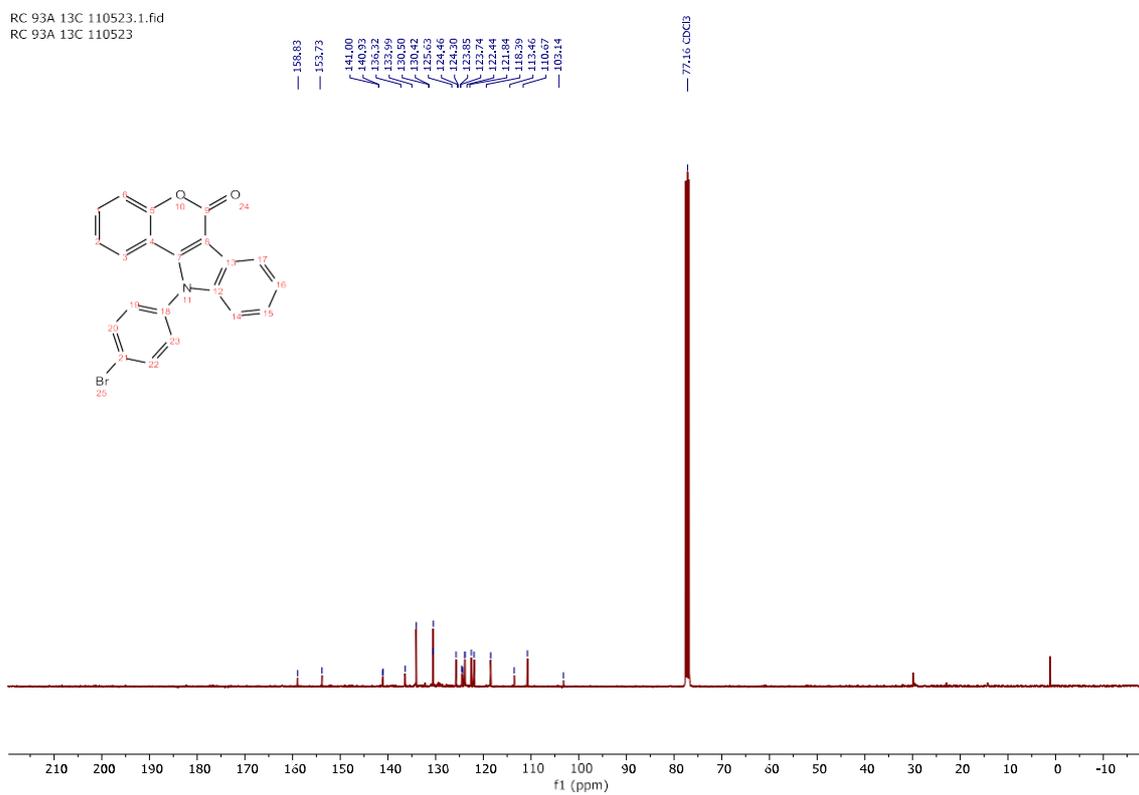


Figura 57: Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) do composto **68c**

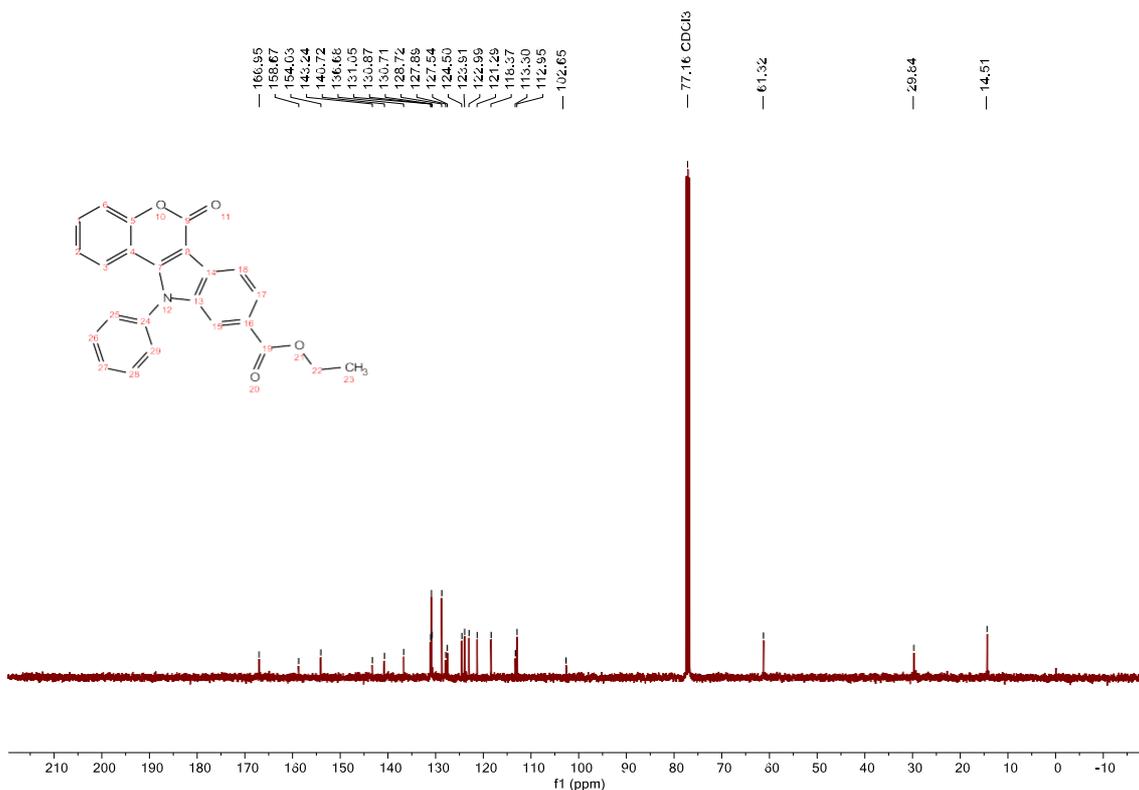
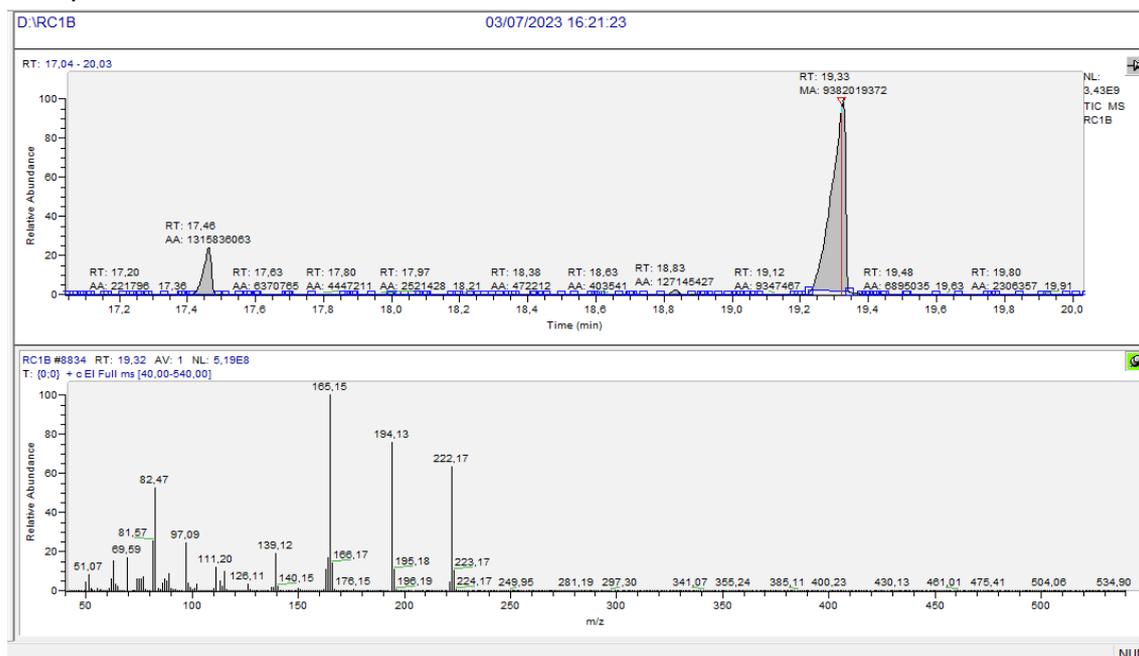


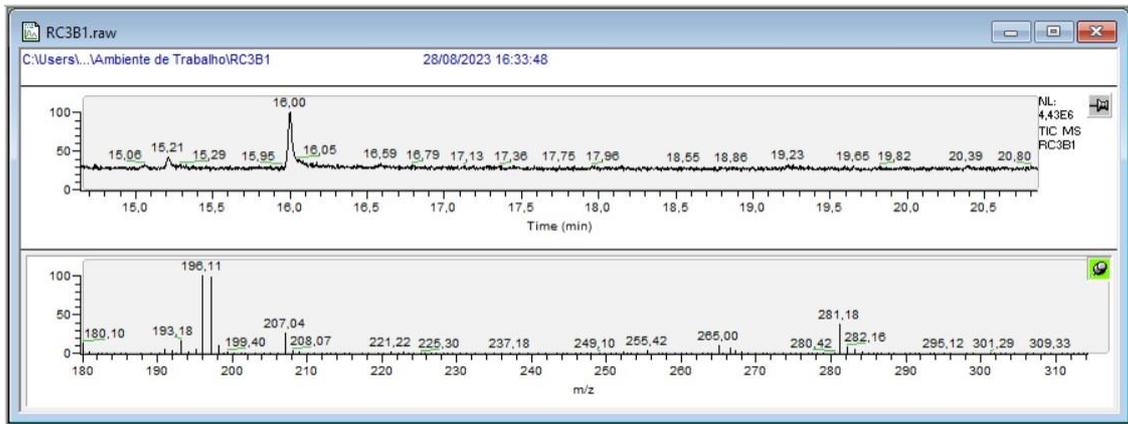
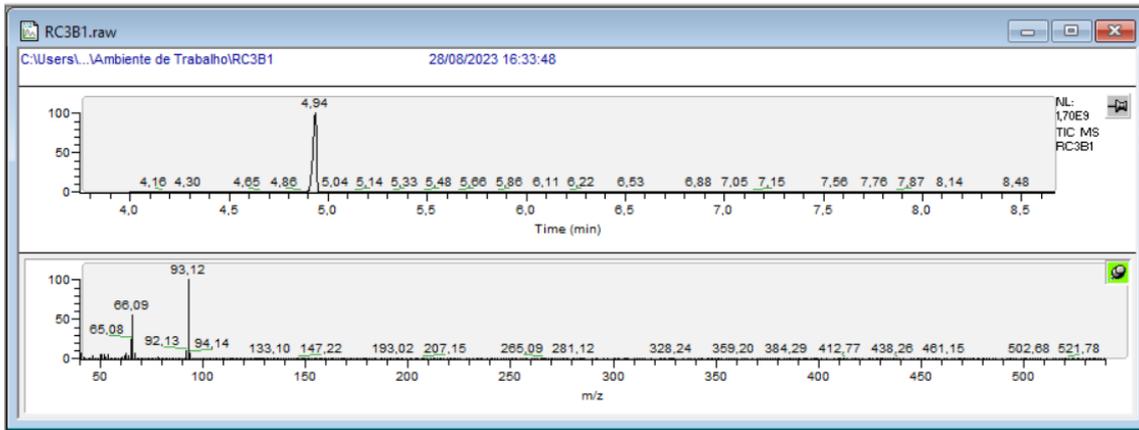
Figura 58: Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) do composto 68e

8.3 Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-MS)

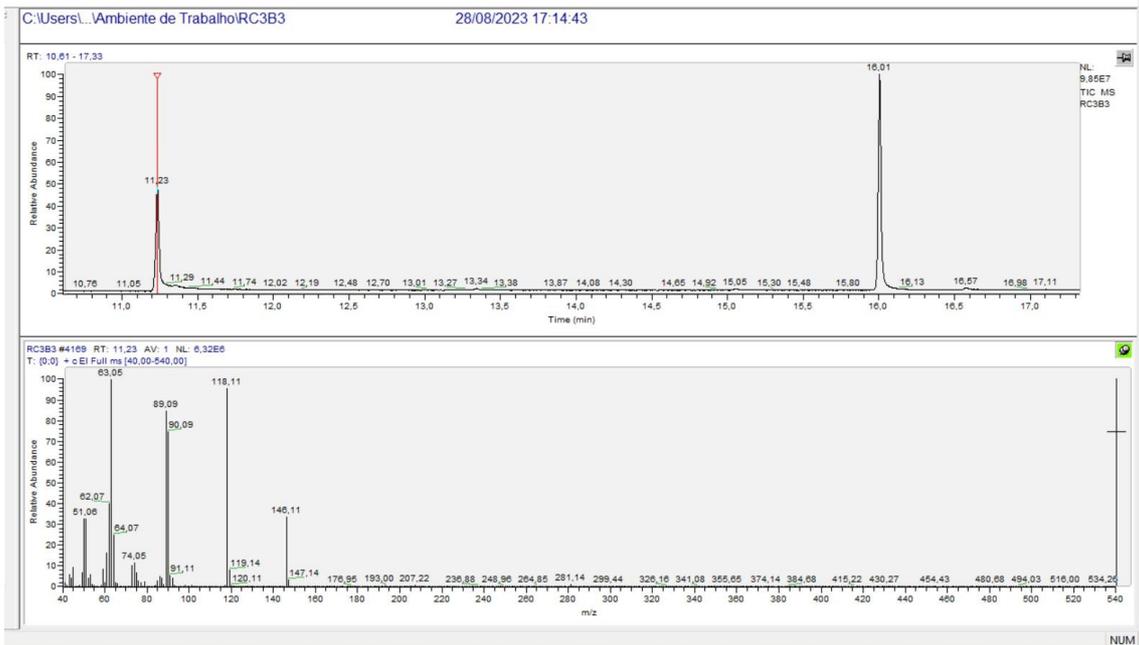
Composto 12 – CG-MS

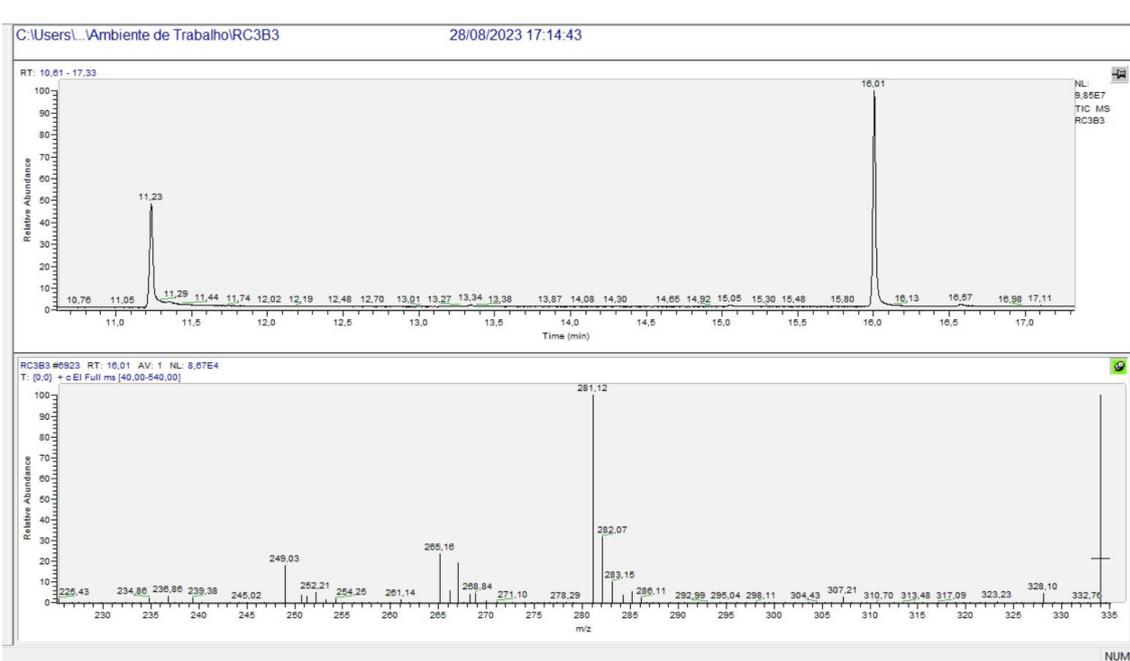


Reação RCB1 – CG-MS



Reação RCB3 – CG-MS





9. Referencias:

- 1: MOREIRA, Vânia M. What is medicinal chemistry? Demystifying a rapidly evolving discipline! *MedChemComm*, n. 9, 2017. <https://doi.org/10.1039/c7md90030a>.
- 2: BRASIL. Governo Federal. Disponível em: <https://www.gov.br/>. Acessado em fevereiro 2024.
- 3: BRASIL. Ministério da saúde. Secretária de Vigilância em Saúde e Ambiente (SVSA),
- 4: OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/brasil> . Acessado em fevereiro de 2024.
- 5: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Leishmaniose nas Américas: recomendações para o tratamento. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/leishmaniose/3-leishmaniose-nas-americas-recomendacoes-para-o-tratamento>. Acessado em: Fevereiro de 2024.
- 6: TRACY, J.B.; WEBSTER JUNIOR, L.T. Drugs used in the chemotherapy of protozoal infections: Trypanosomiasis, Leishmaniasis, Amebiasis, Giardiasis, Trichomoniasis and other protozoal infection. In: HARDMAN, J.G.; GILMAN A.G.; LIMBIRD L.E., eds. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9^o ed. McGraw-Hill Companies, 1996. p. 987-1008.
- 7: CHAKRABORTY, A.K.; MAJUMDER, H.K. Mode of action of pentavalent antimonials: specific inhibition of type I DNA topoisomerase of *Leishmania donovani* *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 152, p. 605-612, 1988.
- 8: J.D.; WADDELL, D.; HANSON, B.D. Biochemical mechanisms of the leishmanial activity of sodium stibogluconate. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 27, p.916-920, 1985.
- 9: BEZERRA, Rômulo; LEON, Leonor; GENESTRA, Marcelo. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos . *Brazilian Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 40, n. 2, abr/jun., 2004.
- 10: COSTA, Jackson Maurício L. Clinical Use of the Pentamidines with Special Reference to the Leishmaniasis. *Acta Amazonica*, v. 23, p. 163-172, 1993. <https://doi.org/10.1590/1809-43921993233172>
- 11: BVS ATENÇÃO PRIMÁRIA EM SAÚDE. Manual do Usuário do Portal. 2015. Disponível em: <http://aps.bvs.br/portal/manual-usuario/>. Acessado em: fevereiro de 2024.

- 12: DE LIMA, Edson Borges et al. Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana Treatment of American cutaneous leishmaniasis. *An Bras Dermatol*, v. 82, n. 2, p. 111-24, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962007000200002>
- 13: BRASIL. Governo Federal. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br>. Acessado em fevereiro 2024.
- 14: FERLAY, Jacques et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International journal of cancer*, v. 149, n. 4, p. 778-789, 2021. <https://doi.org/10.1002/ijc.33588>
- 15: BRASIL. Governo Federal. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes>. Acessado em fevereiro 2024.
- 16: GUARDIANI, Thas; AWADA, Jazz; PAIVA, Thiago Vila Nova; et al. Guia Oncologia Einstein 2013. Disponível em: chrome-extension://efaidnbmninnibpcajpcgclclefindmkaj/https://medicalsuite.einstein.br/pratica-medica/guias-e-protocolos/Documents/Guia_Oncologia_Einstein_2013.pdf. Acessado em: fevereiro de 2024.
- 17: CÂNCER DE MAMA BRASIL. Site Câncer de Mama Brasil. Disponível em: <https://www.cancerdemamabrasil.com.br/>. Acessado em: fevereiro de 2024.
- 18: MARTINS, Wolner; SOUZA, Vinícius; ROCHA, Luis; JUNIOR, Humberto, *Rev Bras Cardiol.* **2011**, 24 (3) : 196-198.
- 19: NERIS, Rhyquelle; MAGNABOSCO, Patrícia; AMARAL, Pedro; RIBEIRO, Maria; ANJOS, Anna; *Acta Paul Enferm.* **2016**, 29 (4) : 397-404 .
- 20: GRUPO REDE DOR. Disponível em: <https://gruporededor.com.br>. Acessado em fevereiro de 2024.
- 21: VASCONCELLOS, Vitor F. et al. Cisplatin versus carboplatin in combination with third-generation drugs for advanced non-small cell lung cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 1, 2020. doi: 10.1002/14651858.CD009256.pub3
- 22: BRITO, Ana Lúcia. OMS prevê aumento de casos de câncer em 2050. *Metrópoles*, 06 maio 2021. Disponível em: <https://www.metropoles.com/saude/oms-aumento-cancer-2050>. Acessado em: fevereiro de 2024.
- 23: MURRAY, Robert DH; MURRAY, Robert DH. The naturally occurring coumarins. *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, p. 1-619, **2002**.
- 24: MOLNAR, Maja; LONČARIĆ, Melita; KOVAČ, Marija. Green chemistry approaches to the synthesis of coumarin derivatives. *Current Organic Chemistry*, v. 24, n. 1, p. 4-43, **2020**.

- 25: VON PECHMANN, H.; WELSH, W. II. Ueber einige neue Coumarine. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, v. 17, n. 2, p. 1646-1652, **1884**.
- 26: ROSEN, TERRY. The perkin reaction. *Comprehensive Organic Synthesis; Trost, BM, Fleming, I., Eds*, p. 395-408, **1992**. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-052349-1.00034-2>
- 27: SALEM, M. A. et al. An overview on synthetic strategies to coumarins. *Synthetic Communications*, v. 48, n. 13, p. 1534-1550, **2018**. <https://doi.org/10.1080/00397911.2018.1455873>
- 28: MOAZZAM, Ali; JAFARPOUR, Farnaz. Chlorophyll-catalyzed photochemical regioselective coumarin C–H arylation with diazonium salts. *New Journal of Chemistry*, v. 44, n. 39, p. 16692-16696, **2020**.
- 29: MATOS, Maria Joao et al. Synthesis of 3-aryl coumarins via Suzuki-cross-coupling reactions of 3-chlorocoumarin. *Tetrahedron Letters*, v. 52, n. 11, p. 1225-1227, **2011**. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.01.048>
- 30: JAFARPOUR, Farnaz et al. Palladium-catalyzed decarboxylative cross-coupling reactions: A route for regioselective functionalization of coumarins. *The Journal of Organic Chemistry*, v. 78, n. 7, p. 2957-2964, **2013**. <https://doi.org/10.1021/jo302778d>
- 31: GOLSHANI, Mostafa et al. A transition-metal-free fast track to flavones and 3-aryl coumarins. *Chemical Communications*, v. 53, n. 77, p. 10676-10679, **2017**. <https://doi.org/10.1039/C7CC02107K>
- 32: JAFARPOUR, Farnaz; OLIA, Mina Barzegar Amiri; HAZRATI, Hamideh. Highly Regioselective α -Arylation of Coumarins via Palladium-Catalyzed CH Activation/Desulfurative Coupling. *Advanced Synthesis & Catalysis*, v. 355, n. 17, p. 3407-3412, **2013**. <https://doi.org/10.1002/adsc.201300707>
- 33: JAFARPOUR, Farnaz et al. Palladium catalyzed dehydrogenative arylation of coumarins: An unexpected switch in regioselectivity. *Chemical Communications*, v. 49, n. 93, p. 10935-10937, **2013**. <https://doi.org/10.1039/c3cc46959j>
- 34: YUAN, Jin-Wei et al. KMnO₄/AcOH-mediated C3-selective direct arylation of coumarins with arylboronic acids. *RSC advances*, v. 6, n. 42, p. 35936-35944, **2016**. <https://doi.org/10.1039/C6RA04787D>
- 35: SHARMA, Abhilash; GOGOI, Pranjal. Transition-metal free C(sp²)–C(sp²) bond formation: arylation of 4-aminocoumarins using arynes as an aryl source. *Organic & Biomolecular Chemistry*, v. 17, n. 40, p. 9014-9025, **2019**. <https://doi.org/10.1039/C9OB01919G>
- 36: CARNEIRO, Leonardo SA et al. Synthesis of 3-aryl-4-(N-aryl) aminocoumarins via photoredox arylation and the evaluation of their biological

activity. *Bioorganic Chemistry*, v. 114, p. 105141, **2021**.
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105141>

37: BRENZAN, Mislaine Adriana et al. Structure–activity relationship of (–) mammea A/BB derivatives against *Leishmania amazonensis*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 62, n. 9, p. 651-658, **2008**.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2008.08.024>

38: NAPOLITANO, Hamilton Barbosa et al. Aurapten, a coumarin with growth inhibition against *Leishmania major* promastigotes. *Brazilian journal of medical and biological research*, v. 37, p. 1847-1852, **2004**. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2004001200010>

39: KOLEY, Manankar et al. Latest developments in coumarin-based anticancer agents: mechanism of action and structure–activity relationship studies. *RSC Medicinal Chemistry*, v. 15, n. 1, p. 10, **2024**. <https://doi.org/10.1039/d3md00511a>

40: IBRAR, Aliya et al. Unraveling the alkaline phosphatase inhibition, anticancer, and antileishmanial potential of coumarin–triazolothiadiazine hybrids: design, synthesis, and molecular docking analysis. *Archiv der Pharmazie*, v. 349, n. 7, p. 553-565, **2016**. <https://doi.org/10.1002/ardp.201500392>

41: FU, Dong-Jun et al. Molecular diversity of trimethoxyphenyl-1, 2, 3-triazole hybrids as novel colchicine site tubulin polymerization inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 165, p. 309-322, **2019**.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.033>

42: KUMAR, T. Uday et al. Fused Chromeno-Thieno/Furo-Pyridines as Potential Analogs of Lamellarin D and their Anticancer Activity Evaluation. *ChemistrySelect*, v. 4, n. 36, p. 10726-10730, **2019**
<https://doi.org/10.1002/slct.201902946>

43: a) (eur. J. Of Med. Chem., 105, 2015, 171-181) e b) KAMATH, Pooja R. et al. Some new indole–coumarin hybrids; Synthesis, anticancer and Bcl-2 docking studies. *Bioorganic Chemistry*, v. 63, p. 101-109, **2015**.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2015.10.001>

44: a) CAO, Dong et al. Design, synthesis, and evaluation of in vitro and in vivo anticancer activity of 4-substituted coumarins: a novel class of potent tubulin polymerization inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, v. 59, n. 12, p. 5721-5739, **2016**. [10.1021/acs.jmedchem.6b00158](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00158)); b) LUO, Guoshun et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel 3-substituted 4-anilino-coumarin derivatives as antitumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 27, n. 4, p. 867-874, **2017**. (DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.01.013>)

45: KAUSHIK-BASU, Neerja et al. Identification and characterization of coumestans as novel HCV NS5B polymerase inhibitors. *Nucleic acids research*, v. 36, n. 5, p. 1482-1496, **2008**. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm1178>

46: XI, Gao-Lei; LIU, Zai-Qun. Coumestan inhibits radical-induced oxidation of DNA: is hydroxyl a necessary functional group? *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 62, n. 24, p. 5636-5642, **2014**. <https://doi.org/10.1021/jf500013v>

47: TU, Yanbei et al. Naturally occurring coumestans from plants, their biological activities and therapeutic effects on human diseases. *Pharmacological Research*, v. 169, p. 105615, **2021**. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105615>

48: Eliezer J. Barreiro, Química medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos , 3ª edição, São Paulo, 2015.

49: CHO, Seung Hwan et al. Recent advances in the transition metal-catalyzed twofold oxidative C–H bond activation strategy for C–C and C–N bond formation. *Chemical Society Reviews*, v. 40, n. 10, p. 5068-5083, **2011**. <https://doi.org/10.1039/C1CS15082K>

50: a) ULLMANN, Fritz. Ueber eine neue Bildungsweise von Diphenylaminderivaten. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, v. 36, n. 2, p. 2382-2384, **1903**. b) GOLDBERG, Iram. Ueber phenylirungen bei gegenwart von kupfer als katalysator. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, v. 39, n. 2, p. 1691-1692, **1906**.

51: a) HARTWIG, John F. Evolution of a fourth generation catalyst for the amination and thioetherification of aryl halides. *Accounts of chemical research*, v. 41, n. 11, p. 1534-1544, **2008**. b) SURRY, D. S. ja Buchwald, SL Chem. **2011**.

52: a) MURTHY, S. Narayana et al. A New, Efficient and Recyclable Lanthanum (III) Oxide-Catalyzed C N Cross-Coupling. *Advanced Synthesis & Catalysis*, v. 352, n. 18, p. 3241-3245, **2010**. b) XIA, Qinqin; CHEN, Wanzhi; QIU, Huayu. Direct C–N coupling of imidazoles and benzylic compounds via iron-catalyzed oxidative activation of C–H bonds. *The Journal of Organic Chemistry*, v. 76, n. 18, p. 7577-7582, **2011**.

53: a) THOME, Isabelle; BOLM, Carsten. Transition-metal-free intramolecular N-arylations. *Organic letters*, v. 14, n. 7, p. 1892-1895, **2012**. b) JIANG, Bo et al. Allylic amination and N-arylation-based domino reactions providing rapid three-component strategies to fused pyrroles with different substituted patterns. *The Journal of organic chemistry*, v. 77, n. 17, p. 7497-7505, **2012**.

54: FERNANDES, F.; BULHÕES Pedreira, J.G., *Rev. Virtual Quim.*, **2016**, 8 (5), 1757-1763.

55: STADLBAUER, Wolfgang; LASCHOBBER, Rita; KAPPE, Thomas. Potential non-steroidal estrogens and antiestrogens, IV Organic azides in heterocyclic synthesis, part: Synthesis of aza-and diazacoumestrols via azido derivatives. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*, v. 122, n. 10, p. 853-861, **1991**. <https://doi.org/10.1007/bf00815924>

56: IRGASHEV, Roman A. et al. A convenient approach to the design and synthesis of indolo [3, 2-c] coumarins via the microwave-assisted Cadogan

reaction. *Tetrahedron Letters*, v. 54, n. 42, p. 5734-5738, **2013**. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.08.030>

57: CHANG, Chin-Pei; PRADIULDI, Santhanakrishnan V.; HONG, Fung-E. Synthesis of coumarin derivatives by palladium complex catalyzed intramolecular Heck reaction: Preparation of a 1, 2-cyclobutadiene-substituted CpCoCb diphosphine chelated palladium complex. *Inorganic Chemistry Communications*, v. 12, n. 7, p. 596-598, **2009**. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2009.04.031>

58: CHENG, Chao et al. Access to indole-fused polyheterocycles via Pd-catalyzed base-free intramolecular cross dehydrogenative coupling. *The Journal of Organic Chemistry*, v. 81, n. 22, p. 11501-11507, **2016**. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b02160>

59: RIBAS, Felipe. Biodiversidade, desigualdade social, câncer, fitoestrogênios e a otimização da síntese do *N*-aril-azacumestano. 2020. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em química) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio).

60: COLOMER, Ignacio et al. Hydrogen bonding to hexafluoroisopropanol controls the oxidative strength of hypervalent iodine reagents. *Journal of the American Chemical Society*, v. 138, n. 28, p. 8855-8861, **2016**. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b04057>

61: a) MICHAEL, Arthur. Ueber die Addition von Natriumacetessig-und Natriummalonsäureäthern zu den Aethern ungesättigter Säuren. *Journal für Praktische Chemie*, v. 35, n. 1, p. 349-356, **1887**. b) MICHAEL, Am. On the addition of sodium acetacetic ether and analogous sodium compounds to unsaturated organic ethers. *Am Chem J*, v. 9, p. 115, **1887**.

62: COLLIN, Jacqueline et al. Samarium iodides: catalysts for the formation of carbon-nitrogen bonds. *Synlett*, v. 2009, n. 13, p. 2051-2067, **2009**. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1217511>

63: REBOULE, Irena et al. Samarium Diiodide Catalyzed Aza-Michael Reactions for the Formation of β -Amino Amides. *Letters in Organic Chemistry*, v. 7, n. 2, p. 94-97, **2010**. <https://doi.org/10.2174/157017810790796255>

64: BHANUSHALI, Mayur J. et al. Cation exchange resin catalyzed hydroamination of vinylpyridines with aliphatic/aromatic amines. *Catalysis Communications*, v. 9, n. 3, p. 425-430, **2008**. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2007.07.025>

65: BROTZEL, Frank; CHU, Ying Cheung; MAYR, Herbert. Nucleophilicities of primary and secondary amines in water. *The Journal of organic chemistry*, v. 72, n. 10, p. 3679-3688, **2007**. <https://doi.org/10.1021/jo062586z>

66: ALSHARIF, Meshari A. et al. KOTBu-Mediated Aza-Michael Addition of Aromatic Amines or *N*-Phenylurea to 3-Nitro-2-phenyl-2H-chromenes and

Sequential Aerobic Dehydrogenation. *European Journal of Organic Chemistry*, v. **2018**, n. 26, p. 3454-3463, 2018. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201800431>

67: EL-HASHASH, Maher A. et al. Synthesis of Novel Heterocyclic Compounds with Expected Antibacterial Activities from 4-(4-Bromophenyl)-4-oxobut-2-enoic Acid. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, v. 52, n. 3, p. 732-743, **2015**. <https://doi.org/10.1002/jhet.2182>

68: SHAO, Zhuzhou et al. Catalyst-free tandem Michael addition/decarboxylation of (thio) coumarin-3-carboxylic acids with indoles: Facile synthesis of indole-3-substituted 3, 4-dihydro (thio) coumarins. *Organic & Biomolecular Chemistry*, v. 12, n. 14, p. 2185-2188, **2014**. <https://doi.org/10.1039/C3OB42582G>

69: LAKSHMI, Shanta Raj; SINGH, Vipin; CHOWHAN, L. Raju. Highly efficient catalyst-free domino conjugate addition, decarboxylation and esterification/amidation of coumarin carboxylic acid/esters with pyrazolones: a green chemistry approach. *RSC advances*, v. 10, n. 23, p. 13866-13871, **2020**. <https://doi.org/10.1039/D0RA01906B>

70: HAN, Fuzhong et al. Traceless-Activation Strategy for Rh-Catalyzed Csp²-H Arylation of Coumarins. *Organic letters*, v. 21, n. 15, p. 5907-5911, **2019**. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b02040>

71: KUMAR, Bhupender et al. Direct Michael addition/decarboxylation reaction catalyzed by a composite of copper ferrite nanoparticles immobilized on microcrystalline cellulose: an eco-friendly approach for constructing 3, 4-dihydrocoumarin frameworks. *RSC advances*, v. 12, n. 47, p. 30704-30711, **2022**. <https://doi.org/10.1039/D2RA05994K>

72: EFANGE, S. Mbua Ngale. Natural products: a continuing source of inspiration for the medicinal chemist. In: *Advances in phytomedicine*. Elsevier, **2002**. p. 61-69. [https://doi.org/10.1016/S1572-557X\(02\)80014-9](https://doi.org/10.1016/S1572-557X(02)80014-9)

73: ATANASOV, Atanas G. et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature reviews Drug discovery*, v. 20, n. 3, p. 200-216, **2021**. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>

74: RODRIGUES, Tiago et al. Counting on natural products for drug design. *Nature chemistry*, v. 8, n. 6, p. 531-541, **2016**. <https://doi.org/doi:10.1038/nchem.2479>

75: ABDALLA, Muna Ali; MCGAW, Lyndy J. Natural cyclic peptides as an attractive modality for therapeutics: A mini review. *Molecules*, v. 23, n. 8, p. 2080, **2018** <https://doi.org/10.3390/molecules23082080>

76: KOMM, Barry S. A new approach to menopausal therapy: the tissue selective estrogen complex. *Reproductive Sciences*, v. 15, p. 984-992, **2008**. <https://doi.org/10.1177/1933719108325759>

77: GHOSH, Indrajit et al. Visible light mediated photoredox catalytic arylation reactions. *Accounts of Chemical Research*, v. 49, n. 8, p. 1566-1577, **2016**. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00229>

78: WANG, Chang-Sheng; DIXNEUF, Pierre H.; SOULÉ, Jean-François. Photoredox catalysis for building C–C bonds from C (sp²)–H bonds. *Chemical reviews*, v. 118, n. 16, p. 7532-7585, **2018**. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00077>

79: ZHAO, Feng et al. Hypervalent iodine mediated oxidative radical amination of heteroarenes under metal-free conditions. *Tetrahedron Letters*, v. 58, n. 32, p. 3132-3135, **2017**. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.06.081>

80: ZHANG, Zhiguo et al. PIFA-Mediated oxidative cyclization of 1-aryloxy-N-arylcyclopropane-1-carboxamides and their application in the synthesis of pyrrolo [3, 2-c] quinolinones. *Organic Chemistry Frontiers*, v. 4, n. 3, p. 404-408, **2017**. <https://doi.org/10.1039/c6qo00598e>

81: GU, Chang-Xue et al. Synthesis of indolo [2, 3-c] coumarins and indolo [2, 3-c] quinolinones via microwave-assisted base-free intramolecular cross dehydrogenative coupling. *Tetrahedron*, v. 75, n. 12, p. 1605-1611, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2018.11.066>

82: CIFUENTES, Jhonny MC et al. Decarboxylative cross-coupling of cinnamic acids catalyzed by iron-based covalent organic frameworks. *Topics in Catalysis*, v. 61, p. 689-698, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11244-018-0910-9>