

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

**Síntese e estudo de ancoragem molecular de novos
híbridos contendo os núcleos 1,4-naftoquinônico,
quinolínico e 1,3,5-triazínico com potencial atividade
antineoplásica**

Rodolfo Goetze Fiorot

Dissertação de Mestrado em Química

**Vitória
2015**

Rodolfo Goetze Fiorot

Síntese e estudo de ancoragem molecular de novos híbridos contendo os núcleos 1,4-naftoquinônico, quinolínico e 1,3,5-triazínico com potencial atividade antineoplásica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química, na área de Síntese Orgânica e Medicinal.

Orientador: Prof. Dr. Sandro José Greco

**VITÓRIA
2015**

Síntese e estudo de ancoragem molecular de novos híbridos contendo os núcleos 1,4-naftoquinônico, quinolínico e 1,3,5-triazínico com potencial atividade antineoplásica

Rodolfo Goetze Fiorot

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Aprovado em 04/09/2015
por:

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

Prof. Dr. Reginaldo Bezerra dos Santos
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Sérgio Pinheiro
Universidade Federal Fluminense

Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, Setembro de 2015

**A todos os professores que já tive
na mais ampla acepção da palavra**

AGRADECIMENTOS

Eu seria incapaz de elaborar este trabalho sem a presença – ainda que distante – de muitas pessoas em minha vida. Sou profundamente grato a todos aqueles que contribuíram positivamente para minha formação, de maneira direta ou indireta.

Primeiramente, agradeço incondicionalmente aos meus familiares consanguíneos, sobretudo ao meu pai, minha mãe e meus avós por toda base sólida construída ao longo de anos. Gratidão eterna.

Ao prof. Dr. Sérgio Pinheiro pela participação na banca avaliadora e pelo intermédio com o Laboratório Multiusuário de RMN da UFF (LaReMN), para realização de algumas análises.

Ao prof. Dr. Reginaldo Bezerra pela participação na banca avaliadora e por todo conhecimento transmitido.

Obrigado à Christiane Feijó de Castro Porto pelas análises de RMN realizadas na UFES; à Lilian Valadares e Heloá Santos pelas análises de espectrometria de Massas; à Samantha Ribeiro pelas análises de cromatografia gasosa; e à Laiza Bruzadelle pelas análises de Infravermelho.

Aos colegas que já passaram pelo antigo LPQO e agora LSO&M, Aldo, Artur, Deborah, João, Maicon, Larissa, Mariana, Vitor, Enia e Leandro que sem dúvidas colaboraram para minha formação e, como consequência, confecção deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFES pelo apoio institucional e à CAPES pela bolsa.

Sobre amigos, ou família não-consanguínea, tão (ou mais) importante que o apoio profissional.

Gratidão ao Sandro, que além de professor e orientador, foi amigo, irmão e pai durante quase cinco anos. Tive sorte de poder conviver e crescer ao lado deste que é, para mim, o melhor professor de Química que já tive em toda vida. Agradeço a confiança depositada em mim e paciência despendida.

Às minhas amigas, Bárbara, Regina e Laiza, pela convivência diária no Laboratório. Muito do apresentado aqui tem influência direta dessas meninas.

Tornaram-se irmãs e fizeram destes anos de trabalho mais prazerosos. Além delas, gostaria de agradecer também ao André e Tainara pelas passadas no laboratório que nos arrancavam gargalhadas.

Aos meus amigos feitos aqui em Vitória e aos de Linhares. Obrigado sempre e por tudo. Em especial a Getúlio e Diego que dividiram apartamento comigo nestes dois anos. À Larissa Perez, pelo reencontro, conversas, devaneios, discussões e risadas essenciais para minha estabilidade instável.

Gratidão ao Universo. Gratidão a Deus.

“A Química nos mostra as moléculas dos corpos inorgânicos unindo-se para formar cristais de uma pluralidade constante, segundo cada espécie, desde que estejam nas condições necessárias. A menor perturbação destas condições é suficiente para impedir a reunião dos elementos, ou pelo menos a disposição regular que constitui o cristal. Por que não ocorreria o mesmo com os compostos que são orgânicos? Conservamos durante anos os germes de plantas e de animais que não se desenvolvem a não ser numa dada temperatura e num meio apropriado; viram-se grãos de trigo germinar depois de muitos séculos. Há, portanto, nesses germes, um princípio latente de vitalidade, que só espera uma circunstância favorável para desenvolver-se. O que se passa diariamente sob os nossos olhos não pode ter existido desde a origem do globo? Esta formação dos seres vivos, saindo do caos pela própria força da Natureza, tira alguma coisa à grandeza de Deus? Longe disso, corresponde melhor à ideia que fazemos do seu poder, exercendo-se sobre os mundos infinitos através de leis eternas. Esta teoria não resolve, é verdade, a questão da origem dos elementos vitais; mas Deus tem os seus mistérios e estabeleceu limites às nossas investigações.”

(Em Questão 45 de O Livro dos Espíritos, 1857).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Desenvolvimento celular de tumores sólidos. (<i>Fonte: INCA</i>)	13
Figura 2. Estimativa para os cânceres mais incidentes por sexo. (<i>Fonte: INCA</i>)	14
Figura 3. Estrutura química de antineoplásicos citotóxicos.	18
Figura 4. Quimioterápicos do Câncer anti-hormonais.	19
Figura 5. Habilidades adquiridas pelas células cancerosas.	20
Figura 6. Número de citações no período de 1990 a 2015 relacionada a "Cancer" e "Signaling Pathway" – base de dados Scopus.	21
Figura 7. Mecanismo simplificado da transdução de sinais de um receptor de superfície celular (EGFR) desencadeando uma cascata de sinalização intracelular (via de sinalização).	23
Figura 8. Ativação do PIP₂ em PIP₃ através da PI3K.	24
Figura 9. Inibidores de tirosina quinases (TKIs): -tinibes.	26
Figura 10. Esquema representativo das interações do inibidor PD166326 com sítio ativo da ABL1, uma PTK. À esquerda, molécula de ATP.	28
Figura 11. À esquerda, estrutura tridimensional da proteína MEK1 (obtida no <i>Protein Data Bank</i> PDB ID 1S9I) contendo o ATP 16 no sítio ativo e um análogo da CI-1040 na região alostérica. À direita, estrutura química do inibidor alostérico CI-1040.	29
Figura 12. Estrutura química da Cisteína 18 e seu sítio nucleofílico e de dois inibidores covalentes de quinase.	30
Figura 13. Representação de troca bioistérica clássica de anel: uma maneira de desenvolver novas substâncias para contornar o problema da resistência a inibidores de atividade cinásica.	31
Figura 14. Exemplos de Quimioterápicos frequentemente envolvidos ao fenômeno de MDR.	32
Figura 15. À esquerda, estrutura tridimensional cristalográfica da PI3K γ com análogo da PIK-39 27 no sítio ativo da enzima (PDB ID 1E7U). À direita, estrutura química da PIK-39 27	33
Figura 16. Inibidores de tirosina quinase multialvo.	34
Figura 17. Utilização do conceito de Hibridação Molecular para preparação de substâncias com atividade antineoplásica a partir do GDM 33 e estradiol 32 ...	35

Figura 18. Processo de hibridação molecular para síntese de chalconas-isatinas com potencial atividade antineoplásica em células de linhagem de câncer de mama tipo MDA-MB468.	36
Figura 19. Derivados 1,4-naftoquinônicos com atividade antineoplásica por diferentes alvos citotóxicos.	37
Figura 20. Esquema geral para redução de quinonas.	38
Figura 21. Síntese de derivados naftoquinônicos com atividade antitumoral...	39
Figura 22. Derivados quinolínicos em fase de teste clínico como antitumorais.	40
Figura 23. Derivados quinolínicos com atividade antitumoral e seus alvos de ação.....	41
Figura 24. Inibidores de PI3K seletivos para a isoforma α	42
Figura 25. Derivados 4-amino- quinolínicos e quinazolínicos com potente atividade inibidora de EGFR.	43
Figura 26. Isômeros da triazina.	44
Figura 27. Substituições nucleofílicas aromáticas em TCT controladas por temperatura.....	44
Figura 28. Melaminas utilizadas como antineoplásicos reconhecidos pela FDA.	45
Figura 29. Derivados 1,3,5-triazínicos com seus alvos em quimioterapia antitumoral.	45
Figura 30. Síntese de derivados híbridos triazino-benzimidazóis com atividade anticâncer, interação de DNA e inibidor de diidrofolato redutase.	46
Figura 31. Processo de hibridação molecular previsto por Wurz e colaboradores.....	47
Figura 32. Modelo de hibridização molecular para racionalização das moléculas-alvo.....	49
Figura 33. Materiais de partida selecionados para síntese das moléculas-alvo finais.	69
Figura 34. Estrutura cristalina das enzimas PI3K (1E7U) e AMPK (2UV4).....	70
Figura 35. Ligantes cristalográficos de amarelo e estruturas reancoradas de cinza. À esquerda, Wortmannin (PI3K: 1E7U, PDB) e à direita, fenformina (AMPK: 2UV4, PDB).....	71
Figura 36. Conformação farmacofórica do LY294002 (verde) com o sítio ativo	

da enzima PI3K.....	72
Figura 37. Conformação farmacofórica do Wortmannin (verde) com o sítio ativo da PI3K.....	73
Figura 38. Interações do complexo PI3K e o ligante 120	74
Figura 39. Interações do complexo PI3K e o ligante 128	74
Figura 40. Interações do complexo PI3K e os ligantes 121, 122, 123, 124 e 125	76
Figura 41. Interações do complexo PI3K e os ligantes 134 e 140	77
Figura 42. Conformação farmacofórica dos controles Fenformina e HL010183 (verde) com o sítio ativo da enzima AMPK.....	78
Figura 43. Interações do complexo AMPK e o ligante 120	79
Figura 44. Interações do complexo AMPK e o ligante 128	79
Figura 45. Interações do complexo AMPK com os ligantes 121, 122, 123, 124 e 125	81
Figura 46. Interações do complexo AMPK com os ligantes 126 e 127	83
Figura 47. Análise retrossintética para preparação da substância 121	84
Figura 48. Preparação da 2-metoxilausona.	84
Figura 49. Espectro de IV da 2-metoxilausona 131	85
Figura 50. Espectro de RMN de ¹ H da 2-metoxilausona 131	86
Figura 51. Preparação do composto 134	86
Figura 52. Espectro de IV do composto 134	87
Figura 53. Espectro de RMN de ¹ H do composto 134	88
Figura 54. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ¹ H do composto 134	88
Figura 55. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ¹ H do composto 134	89
Figura 56. Síntese da molécula-alvo 121 contendo os núcleos naftoquinônico e quinolínic.....	90
Figura 57. Espectro de IV do composto 120	91
Figura 58. Espectro de RMN de ¹ H do composto 120	92
Figura 59. Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 120	93
Figura 60. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ¹ H do composto 120	94
Figura 61. Espectro de RMN de ¹³ C do composto 120	95

Figura 62. Expansão da região aromática do mapa de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C HSQC do composto 120	96
Figura 63. Possível mecanismo para formação da molécula-alvo 132	97
Figura 64. Estruturas racionalizadas inicialmente para hibridação dos núcleos triazínicos e naftoquinônico.....	97
Figura 65. Possíveis estratégias sintéticas para alcançar a molécula-alvo 121	98
Figura 66. Estratégia sintética para preparação dos ésteres contendo as estruturas naftoquinônicas e triazínicas 122 , 123 e 124	98
Figura 67. Reação da 2-metoxilausona com 2-aminoetanol.	99
Figura 68. Espectro de IV do composto 132	100
Figura 69. Espectro de RMN de ^1H do composto 132	101
Figura 70. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H composto 132	101
Figura 71. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 132	102
Figura 72. Esquema reacional para síntese do composto 133	103
Figura 73. Espectro de Infravermelho do composto 133	103
Figura 74. Espectro de RMN de ^1H obtido para o composto 133	104
Figura 75. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 133	105
Figura 76. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 133	105
Figura 77. Rota selecionada para incorporar o núcleo triazínico ao naftoquinônico.	106
Figura 78. Primeira substituição nucleofílica aromática no núcleo 1,3,5-triazínico: efeitos eletrônicos e mecanismo geral.	108
Figura 79. Decréscimo na velocidade da reação à medida que substitui-se o átomo de cloro por nucleófilos com par de elétrons n	109
Figura 80. Efeito <i>umpolung</i> aumentando a eletrofilicidade da triazina após substituição do átomo de cloro por amins terciárias.	109
Figura 81. Tentativa de isolamento da triazina monossubstituída com a aminonaftoquinona 133	110
Figura 82. Tentativas de obtenção do composto 121 a partir da reação da	

aminonaftoquinona 133 e cloreto cianúrico 104 em diferentes condições reacionais.....	111
Figura 83. Rota alternativa para obtenção do produto 121	111
Figura 84. Possível produto formado através da reação do cloreto cianúrico 104 com 1,3-diaminopropano.	112
Figura 85. Esquema reacional para formação da diamina monoprotetida 135 derivada da 1,3-propanodiamina.....	113
Figura 86. Cromatograma obtido após análise de cromatografia gasosa do composto 135	113
Figura 87. Espectro de infravermelho referente à 1,3-propanodiamina monoprotetida com grupo Boc 135	114
Figura 88. Espectro de RMN ¹ H do composto 135	115
Figura 89. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ¹ H do composto 135	115
Figura 90. Esquema reacional para síntese do composto 136	116
Figura 91. Espectro de infravermelho do composto 136	117
Figura 92. Espectro de RMN de ¹ H do composto 136	118
Figura 93. Espectro de massas do composto 136 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).	119
Figura 94. Esquema reacional para desproteção da substância 136	120
Figura 95. Espectro de infravermelho do produto 137	120
Figura 96. Possível explicação para maior solubilidade do produto de desproteção 137 em relação ao 136	121
Figura 97. Expansão da região alifático do espectro de RMN de ¹ H do composto 137	122
Figura 98. Espectro de massas do composto 137 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).	123
Figura 99. Tentativas experimentais para obtenção do produto 121	124
Figura 100. Tentativa de obtenção da molécula-alvo 135 utilizando a 1,4-naftoquinona como eletrófilo.	124
Figura 101. Preparação dos ácidos tricarbóxicos 138 , 139 e 140 derivados do cloreto cianúrico.	125
Figura 102. Espectro de infravermelho do composto 138	126
Figura 103. Espectro de infravermelho do composto 139	127

Figura 104. Espectro de infravermelho do composto 140 .	127
Figura 105. Formação dos sais sódicos dos compostos 138 e 139 .	128
Figura 106. Espectro de RMN de ^1H para o sal do composto 138 .	129
Figura 107. Espectro de RMN de ^1H do sal do composto 139 .	129
Figura 108. Espectro de RMN de ^1H para o composto 140 .	130
Figura 109. Espectro de RMN de ^{13}C para o sal do composto 138 .	131
Figura 110. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 140 .	131
Figura 111. Espectro de RMN de ^{13}C para o sal do composto 139 .	132
Figura 112. Espectro de massas para o sal trissódico do composto 138 (ESI (-) FT-ICR MS, 9,4T).	133
Figura 113. Espectro de massas para o sal trissódico do composto 140 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).	134
Figura 114. Espectro de massas para o sal trissódico do composto 139 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).	135
Figura 115. Tentativa de esterificação do ácido 138 com o aminoálcool naftoquinônico 132 sob catálise ácida.	136
Figura 116. Tentativa de obtenção do éster 122 por meio da esterificação de Steglich.	137
Figura 117. Estratégia alternativa para síntese de híbrido molecular entre naftoquinona e triazina 125 .	138
Figura 118. Preparação do intermediário 141 .	138
Figura 119. Espectro de infravermelho do composto 141 .	139
Figura 120. Espectro de RMN de ^1H do composto 140 .	140
Figura 121. Mapa de contorno da correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY do composto 141 .	140
Figura 122. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 141 .	141
Figura 123. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 141 .	141
Figura 124. Esquema para obtenção do híbrido triazino-naftoquinônico 125 .	142
Figura 125. Espectro de infravermelho da substância 125 .	142
Figura 126. Espectro de RMN de ^1H do composto 125 .	143
Figura 127. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 125 .	144
Figura 128. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do	

composto 125	145
Figura 129. Mapa de contorno da correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY do composto 125	145
Figura 130. Espectro de massas para o 125 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).....	147
Figura 131. Primeiro híbrido molecular vislubrado contendo os núcleos quinolínico triazínico 126	148
Figura 132. Tentativas iniciais para obtenção da molécula-alvo 126	148
Figura 133. Tentativa de obtenção de um híbrido triazino-quinolínico através da monossustituição no cloreto cianúrico 104	149
Figura 134. Impossibilidade em se formar a molécula-alvo 128 por estas estratégias sintéticas.	150
Figura 135. Rota alternativa para síntese do híbrido 126	150
Figura 136. Síntese do híbrido molecular contendo os núcleos quinolínico e triazínico 127	151
Figura 137. Espectro de infravermelho do composto 127	152
Figura 138. Espectro de RMN de ^1H do composto 127	152
Figura 139. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 127	153
Figura 140. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 127	154
Figura 141. Mapa de contorno de correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY do composto 127	154
Figura 142. Espectro de massas para o 127 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).....	156

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Energias de interação ligante/receptor entre os compostos 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, Wortmannin, LY294002, fenformina e HL010183 e as proteínas PI3K γ e AMPK.....	71
Tabela 2. Valores de Constante Dielétrica (ϵ) e Polaridade para os solventes utilizados na síntese do composto 120. (111).....	90

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H da 2-metoxilausona 131	171
Anexo 2. Espectro de IV da 2-metoxilausona 131	172
Anexo 3. Espectro de RMN de ^1H do composto 132	173
Anexo 4. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 132	174
Anexo 5. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 132	175
Anexo 6. Espectro de IV do composto 132	176
Anexo 7. Espectro de RMN de ^1H do composto 133	177
Anexo 8. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 133	178
Anexo 9. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 133	179
Anexo 10. Espectro de IV do composto 133	180
Anexo 11. Espectro de RMN de ^1H do composto 134	181
Anexo 12. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 134	182
Anexo 13. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 134	183
Anexo 14. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 134	184
Anexo 15. Espectro de IV do composto 134	185
Anexo 16. Espectro de RMN de ^1H do composto 120	186
Anexo 17. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 120	187
Anexo 18. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 120	188
Anexo 19. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 120	189
Anexo 20. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^{13}C do composto 120	190
Anexo 21. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 120	191
Anexo 22. Expansão da região aromática do mapa de contorno da correlação	

heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 120 .	192
Anexo 23. Espectro de IV do composto 120 .	193
Anexo 24. Espectro de RMN de ^1H do composto 135 .	194
Anexo 25. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 135 .	195
Anexo 26. Espectro de IV do composto 135 .	196
Anexo 27. Cromatograma gasoso e espectro de massas obtido para o produto 135 .	197
Anexo 28. Espectro de RMN de ^1H do composto 136 .	198
Anexo 29. Espectro de IV do composto 136 .	199
Anexo 30. Espectro de massas do composto 136 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).	200
Anexo 31. Espectro de RMN de ^1H do composto 137 .	201
Anexo 32. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 137 .	202
Anexo 33. Espectro de IV do composto 137 .	203
Anexo 34. Espectro de massas do composto 137 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).	204
Anexo 35. Espectro de RMN de ^1H do sal sódico do composto 138 .	205
Anexo 36. Espectro de RMN de ^{13}C do sal sódico do composto 138 .	206
Anexo 37. Espectro de IV do composto 138 .	207
Anexo 38. Espectro de massas do composto 138 (ESI (-) FT-ICR MS, 9,4T).	208
Anexo 39. Espectro de RMN de ^1H do composto 140 .	209
Anexo 40. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 140 .	210
Anexo 41. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 140 .	211
Anexo 42. Espectro de IV do composto 140 .	212
Anexo 43. Espectro de massas para o sal trissódico do composto 140 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).	213
Anexo 44. Espectro de RMN de ^1H do sal sódico do composto 139 .	214
Anexo 45. Espectro de RMN de ^{13}C do sal sódico do composto 139 .	215
Anexo 46. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 139 .	216

Anexo 47. Espectro de IV do composto 139	217
Anexo 48. Espectro de massas para o sal trissódico do composto 139 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).....	218
Anexo 49. Espectro de RMN de ^1H do composto 141	219
Anexo 50. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 141	220
Anexo 51. Mapa de contorno da correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY do composto 141	221
Anexo 52. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 141	222
Anexo 53. Espectro de IV do composto 141	223
Anexo 54. Espectro de RMN de ^1H do composto 125	224
Anexo 55. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 125	225
Anexo 56. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 125	226
Anexo 57. Mapa de contorno da correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY do composto 125	227
Anexo 58. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 125	228
Anexo 59. Espectro de IV do composto 125	229
Anexo 60. Espectro de massas para composto 126 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).	230
Anexo 61. Espectro de RMN de ^1H do composto 127	231
Anexo 62. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 127	232
Anexo 63. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 127	233
Anexo 64 Mapa de contorno da correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY para o composto 127	234
Anexo 65. Espectro de IV do composto 127	235
Anexo 66. Espectro de massas para composto 127 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).	236

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA – Ácido desoxirribonucleico

d – Dupleto

dd – Duplo-dupleto

FTMS – Fourier transform mass spectrometry

INCA – Instituto Nacional do Câncer

I.V. - Infravermelho

m - Multiplete

MHz – Megahertz

PDB – Protein Data Bank

PI3K - Fosfatidilinositol-3-kinase

p.f. – Ponto de fusão

q - Quarteto

RMN ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

RMN ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

ROS – Espécies reativas de oxigênio

s - Singleto

t.a. – Temperatura ambiente

t – Tripleto

td – Triplo-dupleto

WHO - World Health Organization

MTT - Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium

IC50 – Concentração inibitória mínima

CML – Chronic Myeloid Leukemia

LISTA DE SÍMBOLOS

h – horas

Hz – Hertz

mL – mililitro (10^{-3} L)

mM – milimolar (10^{-3} M)

Δ – aquecimento

δ – deslocamento químico

ν – deformação axial

$^{\circ}\text{C}$ – graus Celsius

RESUMO

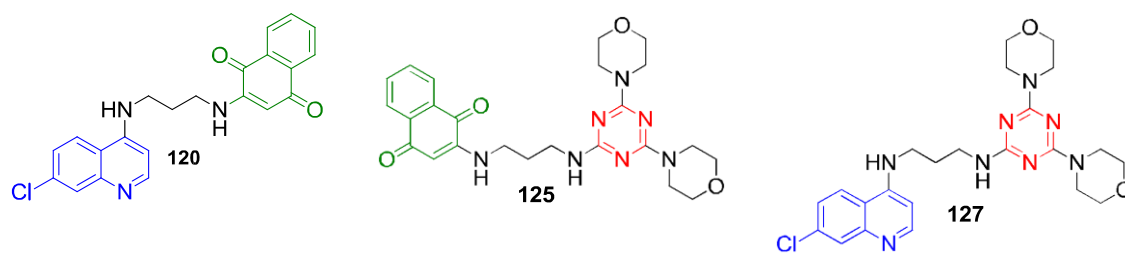
O câncer é uma das doenças mais temidas pela sociedade, sendo uma das principais causas de morte em todo o mundo. Desta maneira, estudos contínuos buscando compreender seus mecanismos de evolução são imprescindíveis para que se possa erradicá-lo do organismo. Embora a quimioterapia seja amplamente empregada em praticamente todos os casos de câncer, a resistência a múltiplas drogas tende a diminuir a eficiência deste tratamento. Para contornar esta problemática, o conceito de hibridação molecular vem sendo explorado entre os químicos orgânicos sintéticos, a fim obter fármacos variados que explorem diferentes mecanismos de ação.

Nas últimas décadas, a descoberta de vias de sinalização superexpressas em células cancerosas permitiu uma nova abordagem na terapêutica com efeitos colaterais diminuídos nos pacientes e eficiência elevada. Dentre elas, as enzimas PI3K e AMPK merecem destaque por constituírem vias de sinalização que desencadeiam uma grande quantidade de outras enzimas envolvidas no progresso do câncer, como Akt, mTOR e ERK 1/2.

Neste contexto, o presente trabalho está baseado na síntese e estudo de ancoragem molecular utilizando as enzimas PI3K e AMPK como proteínas-alvo de híbridos contendo os núcleos naftoquinonas, quinolinas e triazinas - com reconhecida atividade antitumoral. Os resultados de ancoragem mostraram que a maioria dos híbridos propostos possui energia de interação receptor/ligante superiores aos fármacos controle para suas respectivas enzimas, sugerindo a inibição dessas vias de sinalização como possível forma de ataque ao câncer. Além disso, a natureza das interações e os resíduos de aminoácidos envolvidos na formação do complexo receptor/ligante são semelhantes para os fármacos controle e os candidatos propostos, corroborando com a assertiva feita acerca do mecanismo de ação baseada na análise da magnitude da energia de interação.

Resultados satisfatórios também foram alcançados na síntese dos candidatos a fármaco: um híbrido quinolínic-naftoquinônico **120**, um triazino-

naftoquinônico **125** (ambos inéditos) e um triazino-quinolínico **127** foram sintetizados.



Palavras-chave: Câncer, híbridos moleculares, 1,4-naftoquinona, triazina, quinolina, PI3K, AMPK, ancoragem molecular.

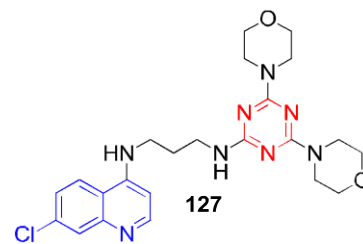
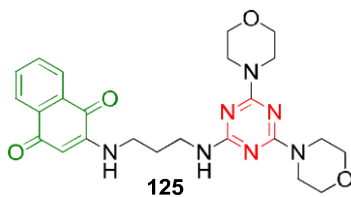
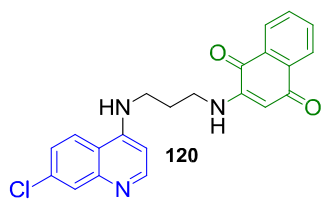
ABSTRACT

Cancer is one of the most feared diseases in society, one of the leading causes of death worldwide. Thus, continuous studies seeking to understand their mechanisms of evolution are essential in order to eradicate it from the body. Although chemotherapy is widely used in virtually all cases of cancer, multidrug resistance tends to decrease the efficiency of the treatment. To solve this problem, the concept of molecular hybridization has been extensively explored between synthetic organic chemicals, in favor of obtaining various drugs that exploit different mechanisms of action.

In recent decades, the discovery of signaling pathways overexpressed in cancer cells led to a new approach to therapy with reduced side effects in patients and high efficiency. Among them, the PI3K and AMPK enzymes are noteworthy because they constitute signaling pathways that trigger a lot of other enzymes involved in cancer progress as Akt, mTOR and ERK 1/2.

In this context, the present work is based on the synthesis and study of docking using the PI3K and AMPK enzymes as target of molecular hybrids containing the naphthoquinones, quinolines and triazinas cores, with recognized antitumor activity. The docking results showed that most of the proposed hybrids have the receptor/ligand binding interactions greater than the control drugs for their respective enzymes, suggesting inhibition of these signaling pathways as possible target against cancer. In addition, the nature of the interactions and the amino acid residues involved in the formation of the receptor/ligand complex are similar for the drugs control and the proposed candidates, supporting the statement made about the mechanism of action based on the analysis of the magnitude of the interaction energy.

Satisfactory results were also achieved in the synthesis of drug candidates: one quinoline-naftoquinonic hybrid **120**, one triazine-naftoquinonic hybrid **125** (both unpublished) and one triazine-quinoline **127** hybrid were synthesized.



Keyword: Cancer, molecular hybrids, 1,4-naphthoquinones, quinoline, triazine, PI3K, AMPK and *docking*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Carcinogênese e Morte Celular.....	15
1.2. Tratamento do Câncer.....	16
1.3. Vias de Sinalização e Câncer.....	21
1.4. Resistência a Múltiplas Drogas e Inibidores Multidroga.....	32
1.5. Arcabouços de Reconhecida Atividade Biológica.....	37
1.5.1 1,4-Naftoquinonas.....	37
1.5.2. Quinolinas.....	40
1.5.3. Triazinas.....	44
2. OBJETIVOS.....	49
2.1. Objetivos Gerais.....	49
2.2. Objetivos Específicos.....	49
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	52
3.1. Materiais.....	52
3.2. Métodos.....	52
3.3. Procedimentos Experimentais.....	54
3.3.1. Preparação do composto 2-metoxilausona 131	54
3.3.2. Preparação do composto 2-((2-hidroxi- <i>etil</i>)amino)naftaleno-1,4-diona 132	55
3.3.3. Preparação do composto 2-((3-aminopropil)amino)naftaleno-1,4-diona 133	56
3.3.4. Preparação do composto N ¹ -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina 134	57
3.3.5. Preparação do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona 120	58
3.3.6. Preparação do composto <i>terc</i> -butil-(3-aminopropil)carbamato 135	59
3.3.7. Preparação do composto di- <i>terc</i> -butil-(((6-cloro-1,3,5-triazino-2,4-diil)bis(azanediil))bis(propano-3,1-diil))dicarbamato 136	60
3.3.8. Preparação do composto N ¹ ,N ^{1'} -(6-cloro-1,3,5-triazino-2,4-diil)bis(propano-1,3-diamina) 137	61
3.3.9. Preparação do composto Ácido 2,2',2''-((1,3,5-triazino-2,4,6-	

tril)tris(azanedil)triacético 138	62
3.3.10. Preparação do composto ácido 3,3',3''-((1,3,5-triazino-2,4,6-tril)tris(azanedil)tripropionico 139	63
3.3.10. Preparação do composto Ácido 4,4',4''-((1,3,5-triazino-2,4,6-tril)tris(azanedil)tribenzoico 140	64
3.3.12. Preparação do composto 4,4'-(6-cloro-1,3,5-triazino-2,4-diil)dimorfolina 141	65
3.3.13. Preparação do composto 2-((3-((4,6-dimorfolino-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naftaleno-1,4-diona 125	66
3.3.14. Preparação do composto N ¹ -(7-cloroquinolin-4-il)-N3-(4,6-dimorfolino-1,3,5-triazin-2-il)propano-1,3-diamina 127	68
3.3.15. Ancoragem Molecular.....	69
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
4.1. Estudos de Ancoragem Molecular.....	71
4.1.1. Ancoragem Molecular: enzima PI3K.....	73
4.1.2. Ancoragem Molecular: enzima AMPK.....	79
4.2. Síntese Orgânica.....	84
4.2.1. Síntese dos Híbridos Moleculares Derivados de Naftoquinona e Quinolina.....	85
4.2.2. Síntese dos Híbridos Moleculares Derivados da Triazina.....	98
4.2.2.1 Triazinas e Naftoquinonas.....	98
4.2.2.2. Triazinas e Quinolinas.....	148
5. CONCLUSÃO.....	157
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	158
7. ANEXOS.....	171

1. INTRODUÇÃO

Por ser motivo de temor, dor e sofrimento, estando entre as doenças que mais contribuem para o aumento da mortalidade e morbidade no quadro de enfermidades mundiais, o câncer é um assunto que precisa ser estudado profundamente no sentido de compreender os mecanismos de surgimento, desenvolvimento, tratamento e cura.

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que tem como principal sintoma a divisão celular descontrolada causada por processos mutagênicos em células saudáveis. Essa divisão celular anômala é iniciada por agentes carcinogênicos, os quais serão detalhados a posteriori. Ao se reproduzirem rapidamente e por perderem a capacidade de exercer as suas funções biológicas normais essas células, originam os tumores malignos que possuem a capacidade de se infiltrar, via corrente sanguínea, em outras regiões do corpo. Tal processo é denominado de metástase.¹ A Figura 1 abaixo ilustra o desenvolvimento de células cancerosas em tumores sólidos.

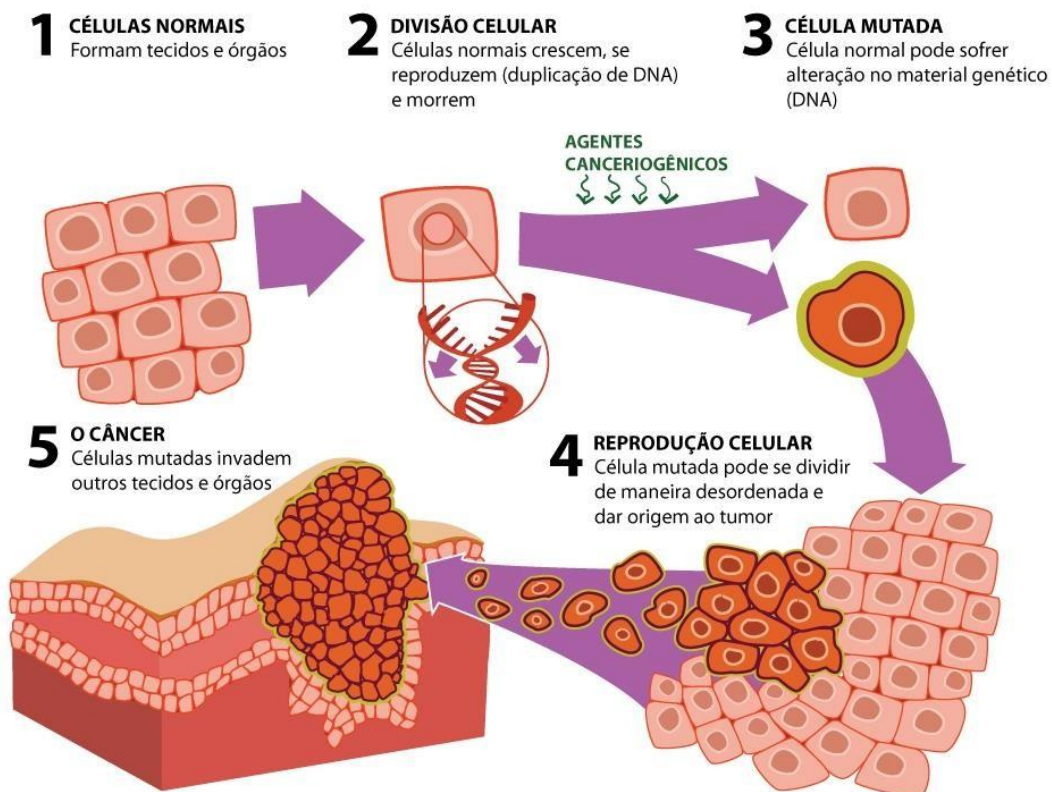


Figura 1. Desenvolvimento celular de tumores sólidos. (**Fonte:** INCA)

O panorama epidemiológico atual do câncer comprova a necessidade de estudos profundos e contínuos, uma vez que a doença contribui de maneira significativa para o aumento da morbimortalidade em todo o mundo. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) em um informativo publicado em Fevereiro de 2015, cerca de 14 milhões de novos casos e 8,2 milhões de mortes estão relacionados ao câncer em 2012. A previsão é de que nas próximas duas décadas, este número aumente em 70%, ou seja, cerca de 24 milhões de novos casos.²

Dentre as principais causas mundiais de morte por câncer, um terço está relacionado a fatores comportamentais e de alimentação, como falta de atividade física, obesidade, quantidades ínfimas de vegetais ingeridos diariamente, utilização de álcool e tabaco. De todas essas, o hábito de fumar constitui o fator de risco que mais colabora para desenvolvimento do câncer, causando cerca de 20% de todos os cânceres e 70% do câncer de pulmão.¹

Em países de baixo e médio índice de desenvolvimento humano, as infecções virais (por HPV, por exemplo) traduzem-se em aproximadamente 20% das causas de mortes por câncer, sendo um dos principais fatores de risco.³

No Brasil, em decorrência das mudanças de seu perfil demográfico (“envelhecimento” da população) e estilos de vida, associado aos processos de urbanização, industrialização e avanços tecnológicos e científicos, a população vem se expondo cada vez mais aos fatores de risco de câncer do mundo contemporâneo.

O Instituto Nacional do Câncer (INCA) apresenta em estudo de estimativas de 2014 que os casos de incidência de câncer para os próximos anos tendem a repetir o quadro atual. A Figura 2 ilustra uma previsão para os dez tipos de câncer mais incidentes por sexo, exceto pele não melanoma.⁴

Localização primária	casos novos	%			Localização primária	casos novos	%
			Homens	Mulheres	Mama Feminina	57.120	20,8%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	16.400	5,4%			Côlon e Reto	17.530	6,4%
Côlon e Reto	15.070	5,0%			Colo do Útero	15.590	5,7%
Estômago	12.870	4,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.930	4,0%
Cavidade Oral	11.280	3,7%			Glândula Tíreoide	8.050	2,9%
Esôfago	8.010	2,6%			Estômago	7.520	2,7%
Laringe	6.870	2,3%			Corpo do Útero	5.900	2,2%
Bexiga	6.750	2,2%			Ovário	5.680	2,1%
Leucemias	5.050	1,7%			Linfoma não Hodgkin	4.850	1,8%
Sistema Nervoso Central	4.960	1,6%			Leucemias	4.320	1,6%

Figura 2. Estimativa para os cânceres mais incidentes por sexo. (Fonte: INCA)

Em termos clínicos, para se combater e evitar o câncer, processos carcinogênicos (processos que originem o câncer) devem ser suprimidos e a morte das células cancerosas deve ser estimulada de maneira seletiva.

1.1. Carcinogênese e Morte Celular

O termo carcinogênese é empregado para designar o surgimento (gênese) do câncer. Existem vários fatores que contribuem para tal processo. Além da hereditariedade, a multicausalidade - associação de diversos fatores de risco - é o principal vilão para desencadear a carcinogênese. São exemplos de multicausalidade: combinação do uso contínuo de álcool, tabaco e residência na zona rural intimamente relacionada ao câncer de esôfago; associação de uso prolongado de álcool, tabaco, chimarrão, churrasco, cozimento de alimentos em fogão à lenha ligada ao surgimento do câncer de boca, dentre outros.⁵

Ademais aos fatores comportamentais, a carcinogênese pode ser classificada como química (exposição prolongada a substâncias carcinogênicas), física (exposição à radiação ultravioleta ou radiação ionizante) e biológica (geralmente infecção por vírus oncogênicos, como HPV).

A carcinogênese implica diretamente em mutações genéticas que alteraram o funcionamento normal e saudável das células afetadas. Os processos mutagênicos iniciados por carcinógenos são responsáveis por alterações do código genético celular. Tais modificações podem acarretar a superexpressão de vias de produção de proteínas, inibir os processos intrínsecos de morte celular e incentivar a reprodução descomedida das células.⁶ Com isso, formam-se os tumores os quais podem se desenvolver e se espalhar por todo o organismo em um fenômeno denominado metástase. Tumores em estados avançados – metastáticos - apresentam difícil tratamento.

Tem-se como principal exemplo a mutação dos *proto-oncogenes*: genes estimulantes do crescimento e inibidores da desdiferenciação celular, importantíssimos para garantir o processo saudável da divisão da célula. Entretanto, ao serem acometidos por mutações que aumentem seu nível de expressão ou atividade, podem passar por processos de malignização, originando os *oncogenes*. Esses últimos imprimem atividades nocivas ao

funcionamento do organismo, estimulando descontroladamente a produção de proteínas por meio de vias de transdução superexpressas, inibindo a morte e causando desdiferenciação das células.

Em nossa cultura atual, observa-se que é praticamente impossível fugir de todos os fatores que conduzam à carcinogênese. Além disso, o aumento da expectativa de vida traz maior susceptibilidade à incidência do câncer, visto que a mutação genética em células saudáveis se torna mais provável com o envelhecimento celular. Portanto, é essencial que os processos de morte celular estejam em equilíbrio com a taxa de divisão das células para que se evite e combata o câncer.

O equilíbrio mantido entre processos celulares de proliferação e morte celular é a chave para o funcionamento saudável do organismo. A desregulação desse balanço pode levar ao aumento da quantidade de células em um órgão ou tecido, fenômeno denominado **hiperplasia**. Desta maneira a **neoplasia**, surgimento de massa anormal de tecido, pode ser iniciada.⁶

A morte celular pode ocorrer por pelo menos dois mecanismos: necrose, que envolve a lise de um grupo de células de maneira simultânea; ou morte individual programada controlada por fatores genéticos e vias de sinalização. A apoptose é o tipo que melhor caracteriza esse gênero de morte, também conhecido como suicídio celular. Ocorre em resposta a estímulos fisiológicos, como, por exemplo, danos ao DNA causados por agentes antineoplásicos ou remoção de fatores de crescimento.⁶

Embora exista uma tendência a se chamar de apoptose toda e qualquer morte celular programada, outros processos distintos também são reconhecidos: autofagia, paroptose e necroptose. Para cura e tratamento do câncer, busca-se estimular o fenômeno de morte celular programada, por ser mais seletivo e menos agressivo que a necrose. Esta última, sendo acompanhada por lise celular, libera no organismo material intracelular que pode causar inflamações localizadas.⁶

1.2. Tratamento do Câncer

No intuito de reverter o quadro enfermo do paciente, três tipos de tratamento podem ser realizados em conjunto ou de maneira separada:

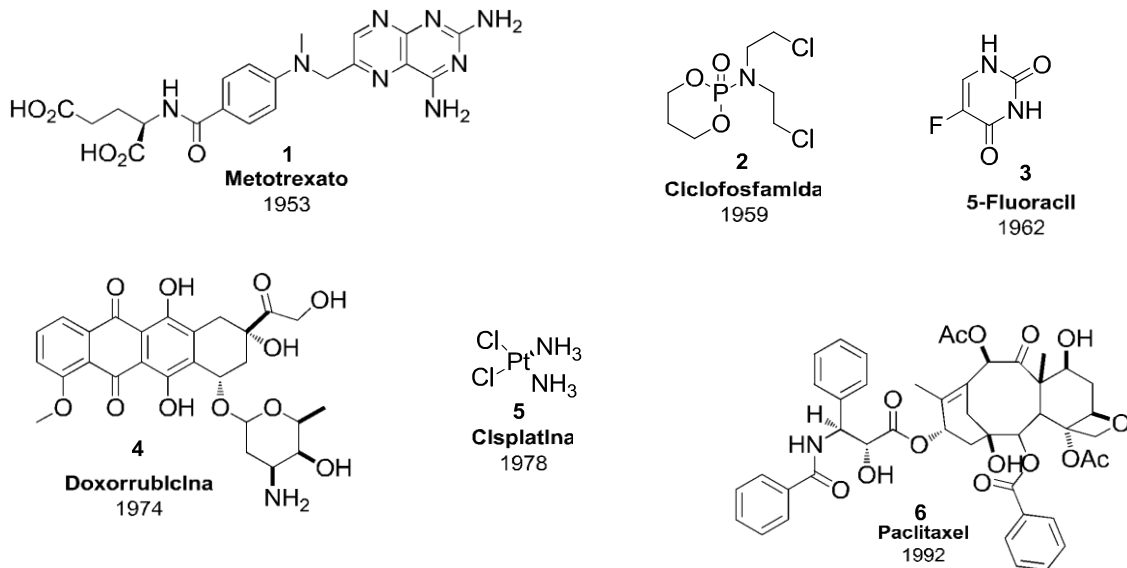
cirurgia, radioterapia e quimioterapia. Em geral, melhores resultados são obtidos quando se utiliza uma associação dos tratamentos.

O termo quimioterapia foi introduzido por Ehrlich no início do século passado para descrever o uso de substâncias químicas sintéticas capazes de destruir agentes infecciosos. Atualmente, a definição foi ampliada e engloba outros tipos de substâncias, como produtos naturais e antibióticos. Quando a quimioterapia é utilizada com a intenção de combater o câncer, é denominada quimioterapia antineoplásica ou antitumoral.

Registros históricos mostram que a quimioterapia antineoplásica pioneira foi desenvolvida a partir do gás mostarda amplamente utilizado nas Guerras Mundiais como arma química. Os soldados, após exposição a este agente, apresentaram hipoplasia modular e linfóide, o que possibilitou seu emprego no tratamento de linfomas malignos. Em 1946, quando houve publicação dos estudos clínicos realizados com o gás mostarda e das observações sobre efeitos do ácido fólico em crianças com leucemia, verificou-se avanço crescente da quimioterapia antitumoral.⁷

Com o progresso das pesquisas científicas, novos quimioterápicos antineoplásicos de maior atividade e menor toxicidade a células saudáveis vem sendo desenvolvidos. Estes podem ser utilizados em uma variedade de propósitos, cuja administração do fármaco pode estar ligada à cura de um câncer específico; à redução da dimensão do tumor para cirurgia; à sensibilização de tumores à radioterapia; ou para destruir metástases microscópicas após procedimento cirúrgico de retirada do tumor.

A Figura 3, mostrada a seguir, exibe a evolução das drogas citotóxicas após a utilização do gás mostarda e seu primeiro ano de aprovação pela FDA (*Food and Drugs Administration*), bem como sua utilidade clínica na quimioterapia do câncer e principal mecanismo de ação.⁷



Fármaco	Utilização Clínica	Principal mecanismo de ação
Metotrexato	Todos os tipos de câncer	Inibidor da síntese de precursores do DNA
Ciclofosfamida	Linfoma de Não-Hodgkin	Agente alçullante de DNA
5-Fluoracil	Colorretal, gástrico	Inibidor da síntese de precursores do DNA
Doxorrubicina	Sarcoma osteogênico, doença de Hodgkin	Inibidor da replicação, transcrição e reparo do DNA,
Cisplatina	Ovariano, cabeça e pesçoço, pulmão, testicular	Agente coordenador do DNA
Paclitaxel	Ovariano, mama, pulmão	Inibidor da síntese de microtúbulos

Figura 3. Estrutura química de antineoplásicos citotóxicos.

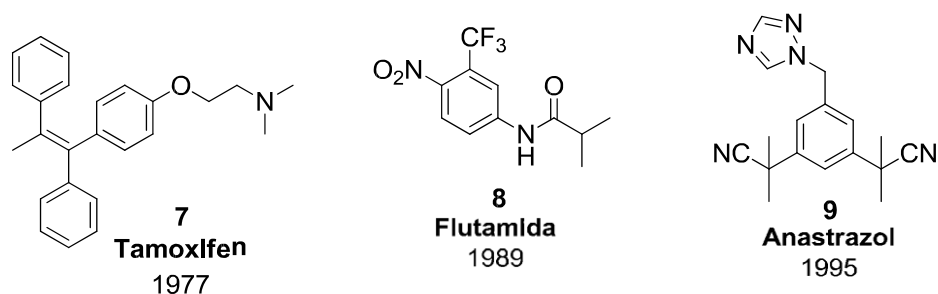
Embora os antitumorais citotóxicos ataquem preferencialmente as células cancerosas, as saudáveis também são danificadas e este é o motivo dos efeitos colaterais observados na quimioterapia. Sabe-se que o uso prolongado de citotóxicos pode ser extremamente prejudicial ao pulmão, coração, rins e órgãos reprodutivos. Assim, é necessário buscar novas substâncias para combater o câncer que não atuem apenas danificando diretamente as células (citotóxicos). Uma alternativa é o emprego de compostos anti-hormonais.

Os fármacos anti-hormonais são substâncias que regulam a atividade hormonal no organismo, podendo prevenir a incidência, interromper a evolução e provocar regressões de alguns tipos de câncer.⁸ Sabe-se que o surgimento de tumores em mamas e próstatas, por exemplo, está sujeito à regulação

hormonal. Desta maneira, tais doenças permitem uma abordagem anti-hormonal para a quimioterapia do câncer. O primeiro fármaco anti-hormonal reconhecido é o tamoxifen **7** (Figura 4), descoberto em pesquisas de fertilidade na década de 60, utilizado como forma de prevenção do câncer.⁹ Os estudos em células tumorais de mama comprovam que o tamoxifen **7** interage diretamente com os receptores de estrogênio. Corroborando com essa assertiva, na década de 80, desenvolveram-se novas substâncias que atuavam indiretamente nos receptores de estrogênio como, por exemplo, o anastrozol **9** – inibidor de aromatase – um inibidor seletivo da biossíntese de estrogênio.¹⁰

No caso do câncer de próstata, foi demonstrado que fármacos antagonistas de androgênio não-esteroidais como a flutamida **8** bloqueiam a interação do ligante endógeno diidrotestosterona ao receptor andrógênio.¹¹

A Figura 4 traz alguns dos fármacos com princípios anti-hormonais, em ordem cronológica, bem como sua utilidade clínica e principais mecanismos de ação.



Fármaco	Utilização Clínica	Principal mecanismo de ação
Tamoxifen	Mama	Antagonista de Estrogênio
Flutamida	Próstata	Antagonista de Androgênio
Anastrozol	Mama	Inibidor de Aromatase

Figura 4. Quimioterápicos do Câncer anti-hormonais.

Apesar dos anti-hormonais acarretarem menos efeitos colaterais e serem mais eficientes em tumores de mama e próstata que os citotóxicos por agirem apenas em vias hormonais, o espectro de aplicação dessas substâncias é restrito.

Ao final da década de 80, avanços em biologia molecular evidenciaram que os processos de vascularização, proliferação e crescimento se relacionam

diretamente às vias de sinalização e regulação em linhagens de células normais. Em linhagens de células cancerosas, tais vias encontram-se superexpressas em resposta a fatores genéticos modificados, idade e exposição a carcinógenos.⁷

Em 2000, Weinberg e Hanahan¹² destacaram o papel complexo das vias de sinalização no processo de malignização de células normais em cancerosas. Como mostrado na Figura 5, é proposto que as células tumorais humanas adquirem diversas habilidades essenciais para o crescimento coletivo de tumores malignos. Cada uma dessas habilidades adquiridas representa empecilho para mecanismos de defesa anticâncer.

Figura 5. Habilidades adquiridas pelas células cancerosas.

Essas habilidades adquiridas pelas células cancerosas estão intimamente relacionadas às vias de sinalização superexpressas. Em termos de tratamento de câncer, a exploração das vias de sinalização para suprimir o desenvolvimento das neoplasias constitui uma das maneiras mais modernas e menos agressivas disponíveis em termos de quimioterapia. Possivelmente, isso se deve à atividade aberrante dessas vias em células cancerosas se comparada às das saudáveis, minimizando os efeitos colaterais dos quimioterápicos.

Uma pesquisa na base de dados Scopus no período 1990 a 2015

utilizando "cancer" e "signaling pathway" como descritores na ferramenta de busca mostra crescente interesse no estudo do câncer relacionado às vias de sinalização.

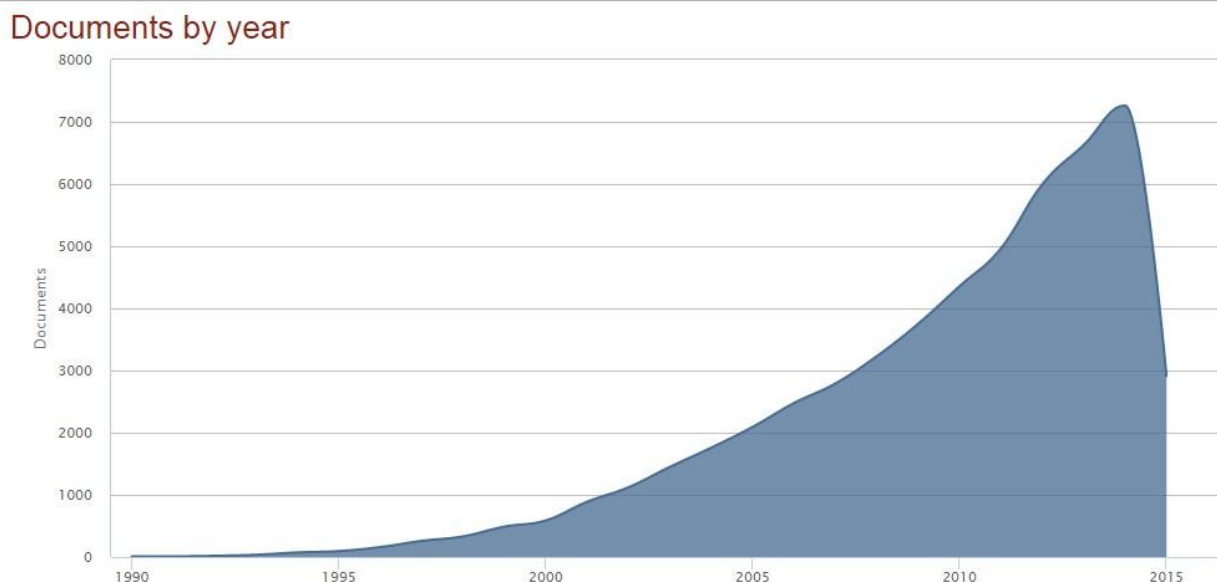


Figura 6. Número de citações no período de 1990 a 2015 relacionada a "Cancer" e "Signaling Pathway" – base de dados Scopus.

1.3. Vias de Sinalização e Câncer

A anomalia observada em processos neoplásicos está fortemente associada a alterações no material genético das células, prejudicando a transdução de sinal e síntese proteica. A transdução ocorre por meio das vias de sinalização que estão modificadas e intensamente ativas em células cancerosas. A maior parte das informações transmitidas por transdução ocorre por meio de proteínas com atividade enzimática: biocatalisadores que aceleram e permitem as reações bioquímicas intracelulares.¹³

Dentre as enzimas envolvidas nas vias de sinalização, destacam-se as quinases, responsáveis pela catálise da transferência de grupos γ -fosfato do trifosfato de adenosina (ATP) para outras moléculas. Segundo revisão publicada por Zhang e colaboradores¹⁴ em 2009, estão codificados no genoma humano cerca de 518 quinases. Praticamente todos os processos de transdução de sinal estão interligados por meio de uma cascata de transferência de fosfato, indicando que a inibição da atividade quinásicas pode

provocar respostas fisiológicas reais.

Vale ressaltar, em meio às quinases, as proteínas tirosinas quinases (PTKs, do inglês *Protein Tyrosine Kinases*), que tem por finalidade a fosforilação da hidroxila de resíduos de tirosina em grupos e substratos proteicos, modulando a atividade enzimática.¹⁵ Como consequência, são criados pontos de ligação para recrutamento de proteínas sinalizadoras e deflagração de diversos eventos fisiológicos importantes.¹⁶

Desta maneira, as principais PTKs estão desreguladas em células tumorais e perpetuam a fosforilação, conduzindo os sinais de transdução a uma configuração permanentemente ativada.¹⁷ A amplificação genética contribui para um fenômeno denominado **sinalização constitutiva**, provocando o crescimento celular descomedido e câncer.^{18,19}

A exemplos de PTKs, tem-se os grupos das proteínas quinases receptores (RTKs, do inglês *Receptor Tyrosine Kinases*) e as proteínas quinases não-receptores (NRTKs, *Non-Receptor Tyrosine Kinases*). Os principais exemplos das RTKs são o receptor de insulina e receptores do fator de crescimento (GFRs), o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR, *Epidermal Growth Factor Receptor*); receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR, *Fibroblast Growth Factor Receptor*); receptor do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGFR, *Platelet-Derived Growth Factor Receptor*); e o receptor do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGFR, *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*).²⁰ No caso das NRTKs, localizadas apenas no domínio citoplasmático, tem-se os componentes intracelulares: proteínas Src, Jak, Abl, Fak, Fps, Syk e Btk.²¹

Estruturalmente, as tirosina quinases receptores apresentam pelo menos três domínios: um extracelular, um intramembranar e um intracelular. A Figura 7 ilustra um esquema simplificado de transdução de sinal contendo uma RTK com seus domínios.

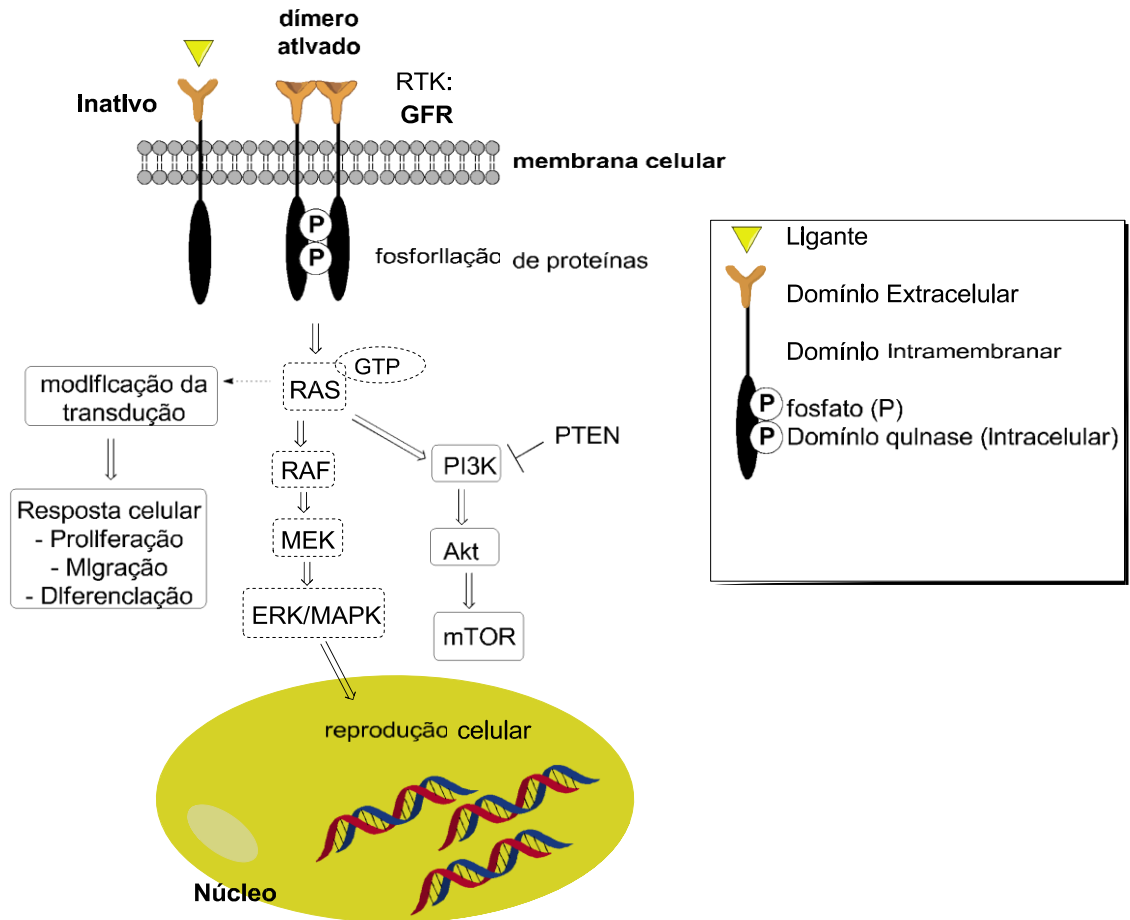


Figura 7. Mecanismo simplificado da transdução de sinais de um receptor de superfície celular (EGFR) desencadeando uma cascata de sinalização intracelular (via de sinalização).

Ainda na Figura 7 acima é possível observar um exemplo de cascata de vias de sinalização conduzidas por diferentes proteínas. Um fator de crescimento receptor com porção extracelular é ativado por uma molécula-sinal, provocando a dimerização com sua outra porção receptora. A partir daí, a autofosforilação da parte intracelular ativa a complexa rede de proteínas que se intercomunicam por meio de transferência de grupamentos fosfatos (P).

Vale destacar neste ponto as proteínas da família das GTPases, hidrolases com grande importância nas diversas vias de sinalização. Estas atuam na conversão da guanosina trifosfato (GTP) em fosfato inorgânico e GDP (guanosina difosfato), alternando entre o estado ativo ligado à GTP e inativo ligado à GDP. Como exemplo, têm-se os membros da superfamília Ras, agindo na ativação de várias vias de sinalização, como aquelas relacionadas às proteínas MEK, ERK 1/2, PI3K, MAPKs, finalizando na ativação de proteínas

(i.e. ciclinas) no núcleo e à divisão celular.^{22,23}

É importante salientar que as modificações e a ativação desregulada dessas vias originam respostas celulares anômalas, como desdiferenciação, migração e proliferação exacerbada, caracterizando as neoplasias.¹³

Estudos no âmbito de câncer e vias de sinalização revelam que a via da PI3K (fosfatidilinositol-3 quinase) que ativa a Akt e a proteína alvo da rapamicina em mamíferos mTOR (do inglês, *mammalian target of rapamycin*) compreendem a três das principais vias de sinalização de tirosinas quinases que estão aberrantes em células cancerosas.²⁴ Em condições normais, tais vias são de extrema importância na reprodução, sobrevivência (por inibição de mortes programadas, como a apoptose) e crescimento celular. Desta maneira, é imprescindível que os estudos sobre a PI3K tornem-se cada vez mais aprofundados.

A PI3K constitui uma família de quinase lipídica que tem por função fosforilar o grupo 3'-hidroxil do fosfatidilinositol das membranas celulares, ativando o fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP₂) em fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP₃) (Figura 8).

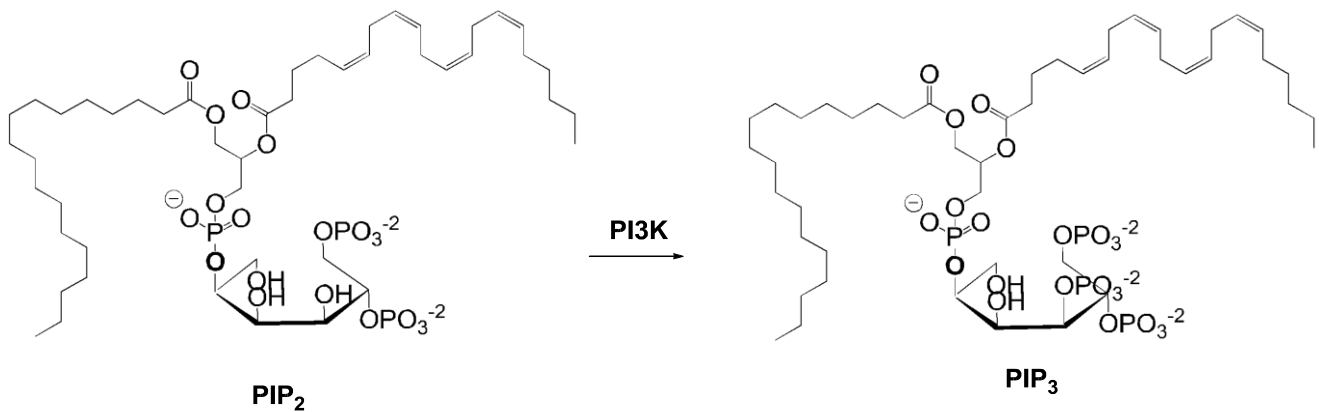


Figura 8. Ativação do PIP₂ em PIP₃ através da PI3K.

A partir desta conversão, ocorre o recrutamento da Akt, serina-treonina quinase (também conhecida como PKB), proteína efetora central do PIP₃. A ativação da Akt se dá pela fosforilação dos resíduos de aminoácidos treonina 308 e serina 473 pelas quinases, proteína dependente de 3-fosfoinosídeo quinase-1 (PDK-1) e proteína reguladora de mamífero para rapamicina C2 (mTORC2).²⁴

São reconhecidas quatro classes de PI3K.²⁵ A primeira delas e mais estudada é PI3K classe I, ativada na presença de RTKs e receptores de membranas acoplados a proteína G (GPCRs, do inglês *G-protein-coupled receptors*). A classe I pode ainda ser subdividida em IA e IB, diferenciando-se apenas em suas subunidades reguladoras: p85 α , p85 β e p55 para IA e p101, p84 e p87PIKAP para IB. A principal função da primeira classe é gerar PIP₃.²⁶

A segunda classe, PI3K classe II, ao contrário da Classe I, não requer uma subunidade reguladora para exercer sua função e compreende três diferentes isoformas: α , β e γ , divergindo apenas nos grupamentos ligados ao átomo de nitrogênio terminal da função e apresentam diferentes domínios no terminal carboxílico C2. *In vitro*, tais enzimas preferem utilizar fosfatidilinositol (PI) e fosfatidilinositol-4-monofosfato (PIP) como substratos lipídicos membranares. Esta classe está envolvida no trânsito membranar (processo de distribuição de macromoléculas na célula, sendo liberados ou incorporados do espaço extracelular) e na internalização de receptores, podendo ser ativadas em resposta à RTKs e receptores de citocina.^{25,27}

A PI3K classe III, por sua vez, identificada primeiramente em 1990²⁸ está também relacionada ao trânsito vesicular de macromoléculas por endocitose ou exocitose (assim como na Classe II), além da comunicação cruzada com a PI3K Classe I pela regulação da via de sinalização de mTORC1.²⁹

Recentemente, descobriu-se uma classe IV de PI3K, a qual está relacionada intimamente ao domínio da mTOR e trata-se de serina/treonina proteína quinases. Por serem recentes os estudos com esta classe, pouco se sabe ainda dos mecanismos de ação e particularidade. Apesar disso, é conhecida sua relação com terapias baseadas em pequenas moléculas.³⁰

Nas vias que passam pela transdução da PI3K, a PTEN (fosfatase homóloga à tensina deletada no cromossomo 10, representada na Figura 7) atua na desfosforilação de PIP₃, regulando de maneira negativa a ação da PI3K – supressor tumoral. Assim, os níveis de PIP₃ são mantidos baixos na presença do PTEN e elevados em sua ausência, potencializando a atividade da Akt. Fica evidente que a ativação de PI3K possui sinalização dependente de fatores de crescimento que aumenta a concentração de PIP₃, podendo ser desfosforilado a PIP₂ pela PTEN. Com a PTEN ausente, a Akt torna-se invariavelmente fosforilada e, por conseguinte, mais ativa, intercedendo na

ativação de várias proteínas que gerem a sobrevivência e crescimento tumoral.¹³

Além da inibição endógena pela fosfatase homóloga à tensina deletada no cromossomo 10, PTEN, a literatura está repleta de moléculas sintéticas com função semelhante: inibidores de tirosinas quinases (TKIs). Essa classe de inibidores é de suma importância para a quimioterapia do câncer, visto que muitas das vias de sinalização são iniciadas pela RTKs.

Tais inibidores são amplamente utilizados no tratamento quimioterápico do câncer. Dentre eles, ressalta-se a era dos “-tinibes”, inaugurada pelo lançamento no mercado do imatinibe **10** (Gleevec[®]), com grande destaque no tratamento da leucemia mieloide crônica (CML, do inglês *Chronic Myeloid Leukemia*).³¹ A partir de então, diversos -tinibes foram desenvolvidos para contornar o problema da resistência associada ao tratamento deste fármaco, chamados de inibidores de TKIs de segunda geração.¹⁵ Estas substâncias, em geral, possuem a característica de serem inibidores multi-quinases. Tem-se como exemplos o lapatinibe **11** (GW-572016)³², canertinibe **12** (CI-1033)³³, nilotinibe **13** (AMN107, Tasigna[®])^{34,35}, dasatinibe **14** (BMS-354825, Sprycel[®]).³⁶ A Figura 9 exibe a estrutura química desses TKIs e suas atividades inibitórias.

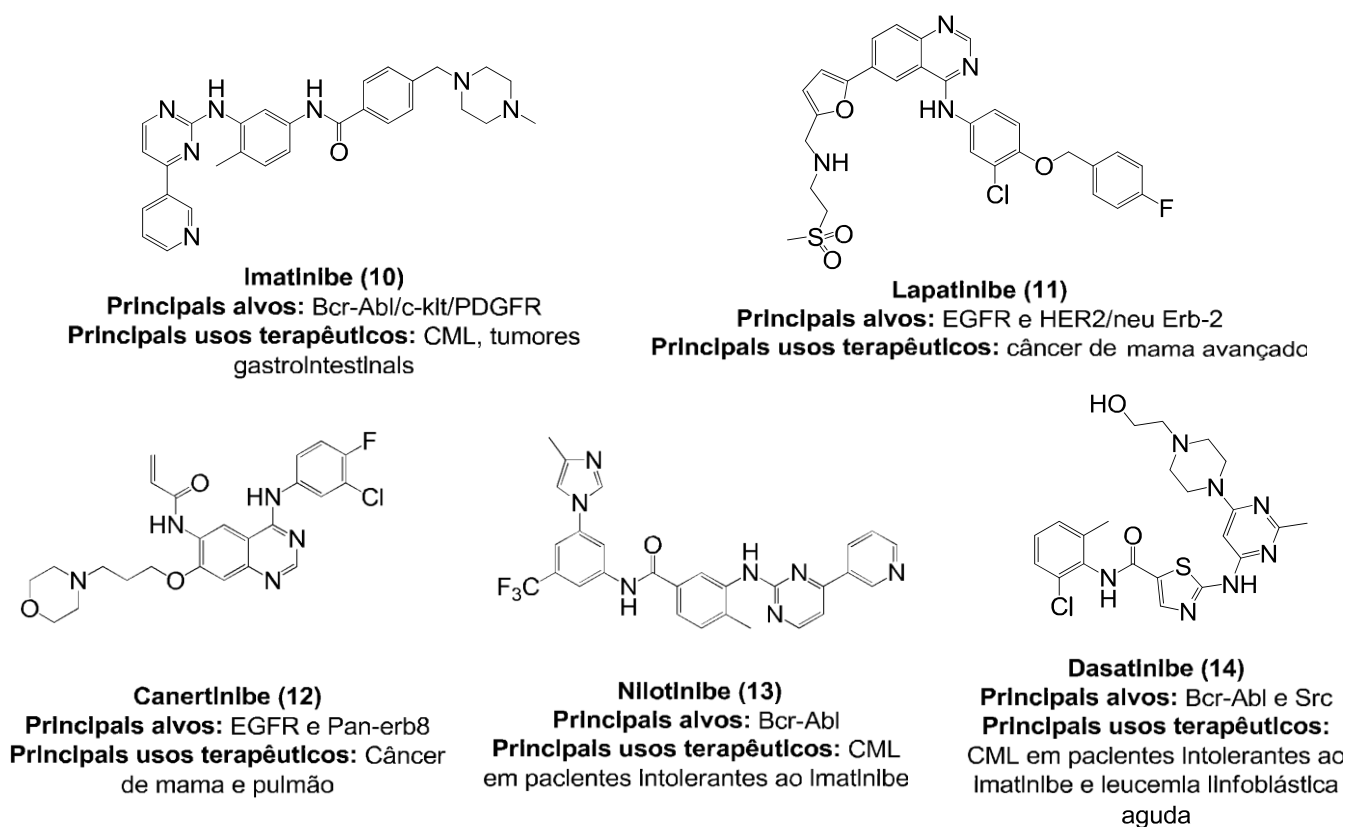


Figura 9. Inibidores de tirosina quinases (TKIs): -tinibes.

A análise da estrutura das substâncias exibidas na Figura 9 possibilita observar uma característica farmacofórica em comum: presença de muitos sítios nitrogenados seja em anéis quinazolínicos (lapatinibe **11**, canertinibe **12**) ou em anéis pirimidínicos (imatinibe **10**, nilotinibe **13**).¹⁵

Segundo Ávila e colaboradores¹⁵, a inserção desses grupos farmacofóricos foi feita a fim de mimetizar o anel adenina do ATP **16** de modo a facilitar a ligação na região *hinge* (dobradura, ligando os domínios N- e C-terminal) do sítio catalítico aos inibidores.³⁷ Além disso, o autor também ressalta a importância de grupos amino terciários, possibilitando a administração na forma de sal para melhor absorção via oral.

Usualmente, o mecanismo de inibição das RTKs oncogênicas se dá pela competição do sítio ativo da ligação do ATP **16** e tal tratamento pode ser associado a outros fármacos e ainda radiação.³⁸

A síntese orgânica tem sido uma importante ferramenta para descoberta e produção de novas substâncias com potencial atividade quimioterápica do câncer. De maneira mais ampla, além das PTKs, a inibição de outras quinases é fundamental para o avanço de estudos antineoplásicos. Segundo revisão publicada por Zhang e colaboradores¹⁴, até sua publicação em 2009, cerca de 80 inibidores avançaram a algum estágio de avaliação clínica.

Como possuem finalidades e mecanismos de ação parecidos, todas as quinases exibem semelhanças estruturais marcantes: tipicamente compartilham de um arranjo de estruturas secundárias organizados em 12 subdomínios com mobilidade para dobrarem-se em estrutura com atividade catalítica (sítio ativo) contendo uma fenda localizada entre dois lobos.¹⁴

A maneira com a qual as quinases se conectam ao ATP **16** segue certa regularidade. O anel purínico da adenina participa formando ligações de hidrogênio com a região *hinge* supracitada, ligando o terminal carboxi- e amino-dos domínios quinásicos. Já a porção da ribose e do trifosfato do ATP **16** estabelecem interações hidrofílicas com resíduos adjacentes, conservando a atividade catalítica adequada. A Figura 10 exemplifica tais interações.¹⁴

Os inibidores de quinases em geral podem ser sistematizados em quatro tipos diferentes: tipo I e tipo II, inibidores alostéricos e inibidores covalentes.

Os inibidores tipo I são caracterizados por competirem pelo sítio de

ligação direto da quinase com o ATP, sendo maioria frente aos outros tipos. Ao reconhecerem a “conformação ativa da quinase” – arranjo tridimensional adequado para efetuar a transferência de fosfato do ATP para um resíduo de aminoácido – o inibidor interage com o sítio ativo, bloqueando-o sua atividade natural. Muitos desses compostos foram descobertos utilizando ensaios enzimáticos nos quais as quinases são introduzidas em suas conformações ativas, além da pela síntese de análogos do ATP e avaliação de sua interação com a enzima. Desta forma, os inibidores do tipo I consistem, normalmente, em um sistema aza-heterocíclico para mimetizar o anel purínico e os substituintes adjacentes atuam na interação hidrofóbica com as cadeias vizinhas ao sítio ativo. A Figura 10 ilustra a molécula de ATP e um análogo, o inibidor PD166326 bem como seus sítios de interação com ABL1 – uma proteína Tirosina quinase (PTK).

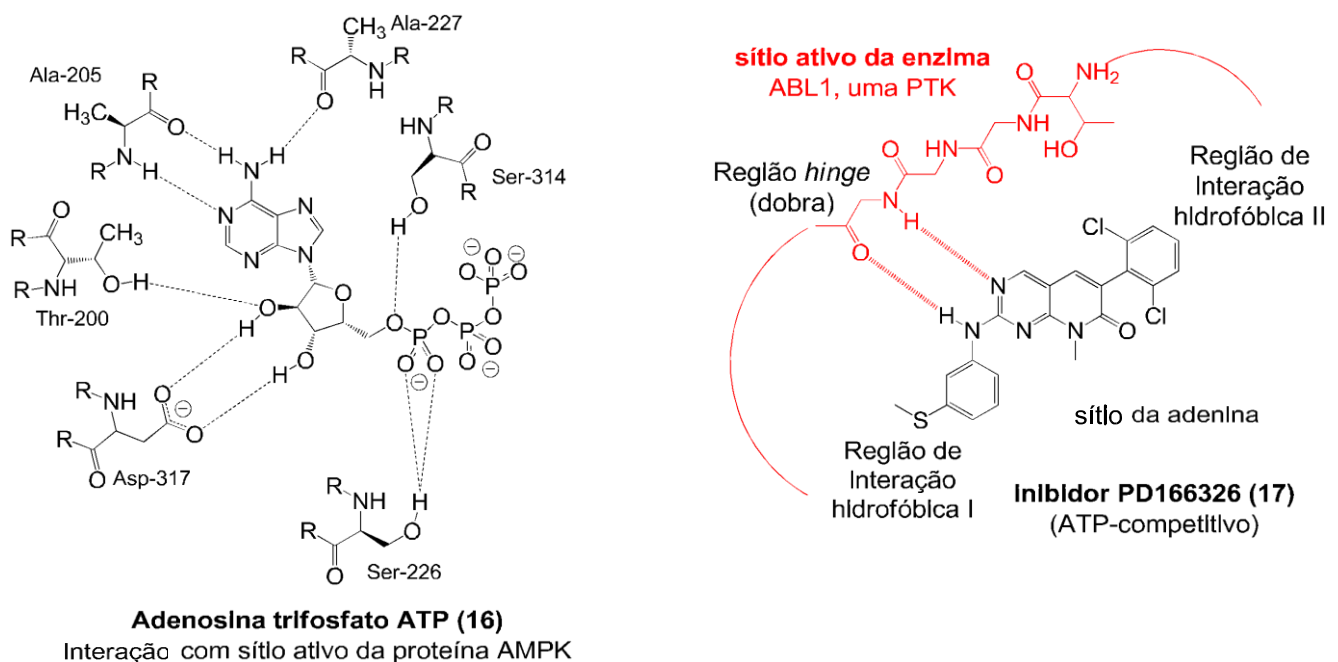


Figura 10. Esquema representativo das interações do inibidor PD166326 **17** com sítio ativo da ABL1, uma PTK. À esquerda, molécula de ATP.

Os inibidores de quinases tipo II, ao contrário daqueles descritos como tipo I, reconhecem a conformação inativa da quinase (normalmente referida por conformação *DFG-out*, devido ao arranjo do mesmo). Em decorrência dessa conformação, um sítio de interação hidrofóbico adicional é exposto ao ligante, de maneira adjacente ao sítio de ligação com o ATP **16**. Como exemplos de

inibidores do tipo II tem-se o imatinibe **10** (representado na Figura 9 vide página 27). Estudos demonstram que o rearranjo conformacional adquirido após interação do inibidor tipo II com o receptor sugerem que o sítio ativo da quinase é altamente móvel e capaz de se remodelar para acomodar uma grande variedade de inibidores.³⁹

Essa habilidade em provocar mudanças conformacionais apreciáveis nos receptores não é exclusiva aos inibidores tipo II. O inibidor PIK-39 **27**, do tipo 1, inibe seletivamente a PI3K γ no sítio de ligação do ATP **16** (Figura 11) e, ainda assim, pode alterar a conformação das outras isoformas da PI3K (α , β e δ), atuando em sua inibição.⁴⁰

Os inibidores alostéricos, por sua vez, são substâncias que interagem com a enzima em uma região diferente do sítio de ligação do ATP **16**, chamada de região alostérica, modulando sua atividade catalítica. Ou seja, são também denominados como inibidores de quinase não-competitivos. Tais compostos apresentam o tipo de inibição mais seletiva, uma vez que interagem com pontos de ligação de maneira particular de uma quinase específica. O mais famigerado exemplo desse tipo de inibidor é o CI-1040 (Figura 11), que inibe MEK1 e MEK2, ao interagir em um sítio vizinho ao local de ligação quinase-ATP **16**.⁴¹

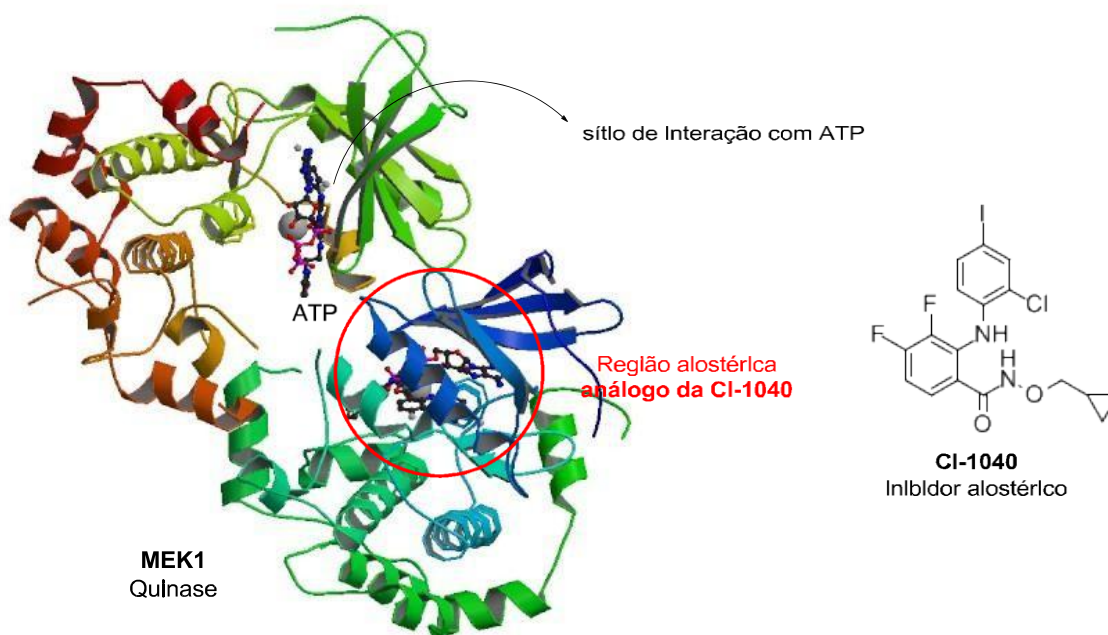


Figura 11. À esquerda, estrutura tridimensional da proteína MEK1 (obtida no *Protein Data Bank* PDB ID 1S9I) contendo o ATP **16** no sítio ativo e um análogo da CI-1040 na região alostérica. À direita, estrutura química do inibidor alostérico CI-1040.

Por fim, os inibidores covalentes são caracterizados pela formação de uma ligação covalente irreversível ao sítio ativo de ligação ao ATP da quinase, por meio do ataque nucleofílico do resíduo de cisteína **18** em algum ponto do inibidor (i.e.: ligação dupla C=C de uma enona ou de um composto α -cloro carbonilado, por exemplo). A Figura 12 apresenta a estrutura química da cisteína **18** e de dois inibidores covalentes.^{42,43}

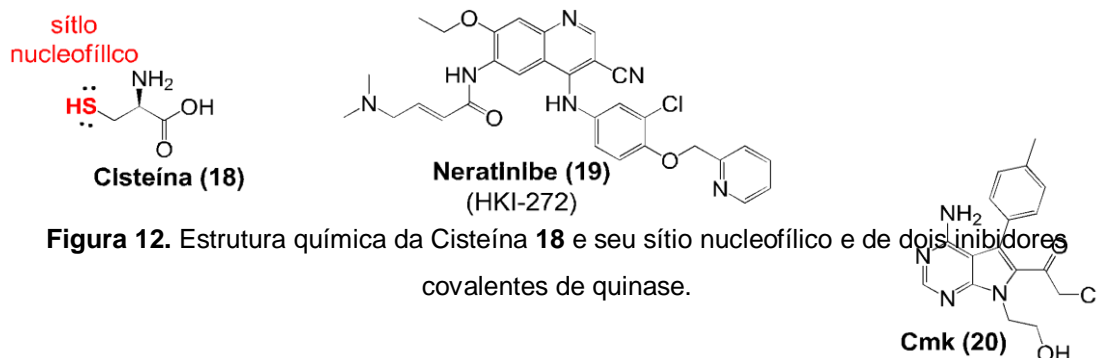


Figura 12. Estrutura química da Cisteína **18** e seu sítio nucleofílico e de dois inibidores covalentes de quinase.

Embora já exista crescente interesse na utilização das vias de sinalização para o combate ao câncer como mostrado na Figura 6 (vide página 21), sobretudo para os químicos orgânicos sintéticos, é imprescindível que a pesquisa na produção de novas substâncias com atividade inibitória de quinases ocorra continuamente. As células cancerosas se adaptam e criam subterfúgios para sobrevivência frente aos inibidores, que tenderiam a desacelerar a reprodução e desdiferenciação das células. Observa-se, portanto, em tratamentos quimioterápicos, o desenvolvimento de resistência por meio de mutações genéticas nas quinases que revogam a ligação do inibidor com o receptor.

Estas mutações provocam alterações estruturais (tamanho das cadeias de aminoácidos adjacentes) e impedem o acesso do inibidor ao sítio ativo.¹⁴ Isso prejudica várias interações essenciais para que o inibidor exerça sua função, seja ela competitiva ou não competitiva frente à quinase receptora. Desta maneira, a enzima continua atuando de maneira aberrante, elevando o nível de reprodução e desdiferenciação celular e freando a apoptose.

Além do mecanismo de resistência aos inibidores *via* mutação, existem ainda outros tipos reportados na literatura, como modificação de vias de sinalização alternativas para atingir o mesmo resultado: crescimento,

multiplicação e desdiferenciação celular desordenada. Um exemplo disso é a amplificação de BCR-ABL1 em pacientes com CML.⁴⁴

Muitas estratégias vêm sendo desenvolvidas para contornar o problema da resistência aos inibidores de quinases, como desenvolvimento contínuo de novas substâncias com a mesma função por planejamento racional de fármacos utilizando métodos computacionais ou por síntese mimética com vistas a inibidores previamente conhecidos. No caso do mimetismo sintético, um artifício bastante empregado pelos pesquisadores é a substituição bioisostérica: modificação estrutural de apenas um grupo químico com tamanho e propriedades eletrônicas similares (isósteres) na substância com atividade inibidora reconhecida.¹⁴ A Figura 13 ilustra um caso de bioisosterismo clássico de anel.⁴⁵

Bioisosterismo de anel em anti-inflamatórios

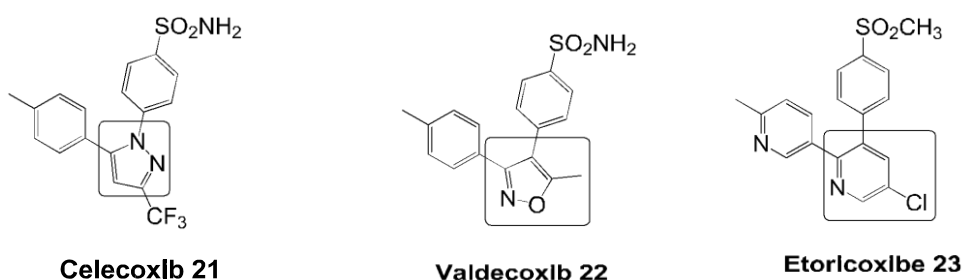


Figura 13. Representação de troca bioisostérica clássica de anel: uma maneira de desenvolver novas substâncias para contornar o problema da resistência a inibidores de atividade cinásica.

Sumariamente, pode-se contornar o problema de resistência aos inibidores de algumas formas sistemáticas: desenvolvimento de inibidores que são capazes de perpassar pela cadeia de aminoácidos após mutação; apostar na promiscuidade de alvos dos inibidores (inibidores com mais de um sítio enzimático alvo e sítios alternativos); e fármacos multialvos que atuem em diferentes vias de sinalização as quais podem estar superexpressas.¹⁴

1.4. Resistência a múltiplas drogas e inibidores multialvo

Indubitavelmente, quando se refere à quimioterapia do câncer, a resistência aos fármacos é uma das principais causas do insucesso do tratamento. Cerca de 90% dos casos de cânceres metastáticos, em estado avançado, exibem o quadro de resistência a múltiplas drogas (do inglês

Multiple Drug Resistance) MDR e não mostram resposta ao tratamento.⁴⁶

Dois tipos de resistência são identificados. Quando não se observa resposta no tratamento mesmo no primeiro ciclo de utilização do fármaco, a resistência é denominada intrínseca. Nos casos em que a resistência surge no segundo ciclo ou após (pós-terapia), diz-se que o paciente apresenta resistência adquirida.^{47,48}

A MDR, fenômeno caracterizado pela capacidade de células cancerosas apresentarem resistência simultânea a diferentes agentes quimioterápicos estruturalmente e funcionalmente não relacionados, se enquadra no caso de resistência adquirida.⁴⁹ A Figura 14 ilustra quimioterápicos de estruturas químicas distintas utilizados no tratamento do câncer que estão frequentemente relacionados à MDR.⁵⁰

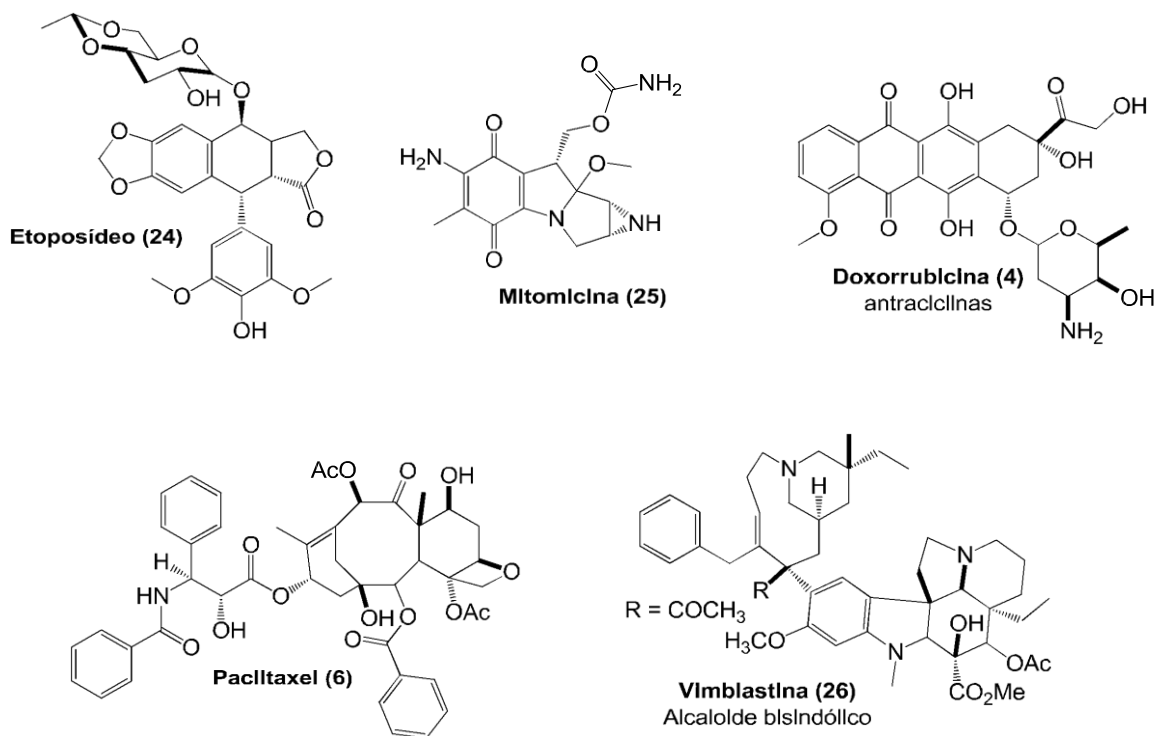


Figura 14. Exemplos de Quimioterápicos frequentemente envolvidos ao fenômeno de MDR.

Uma série de fatores pode estar relacionada ao desenvolvimento da resistência a múltiplas drogas⁵⁰: transporte do fármaco através da membrana plasmática⁵¹, modificações estruturais na enzima-alvo⁵², alteração no metabolismo do fármaco⁵³, aumento na reparação do DNA⁵⁴, inaptidão celular para apoptose⁵⁵. De todos os citados, o primeiro é o principal causador da MDR e está ligado à presença de, no mínimo, três bombas que transportam

ativamente o quimioterápico para o meio extracelular (bombas de efluxo).⁵⁶

Para contornar o problema da MDR, é necessária a pesquisa incessante de novos fármacos como alternativa aos tratamentos quimioterápicos já existentes. Substâncias que atuem por diferentes mecanismos de ataque seletivo às células tumorais estão entre os holofotes de muitos pesquisadores.

Como citado para o caso da resistência aos inibidores de quinase, é ideal que a substância aja por mais de um mecanismo a fim de se evitar o cancelamento total de sua atividade. Com vistas à seletividade da quimioterapia antitumorais, as vias de sinalização, sobretudo as que envolvem quinases, são bons alvos terapêuticos por estarem aberrantes em células cancerosas em detrimento às normais. Ao se almejar fugir do problema da MDR, é importante que uma mesma substância tenha diferentes alvos. Assim, uma vez que a célula exiba determinada alteração para resistência de um mecanismo de ação, a mesma substância seria capaz de atuar por outra rota.

Um exemplo já citado no texto é o PIK-39 **27**, o qual exibe seletividade frente a PI3K γ (inibidor Tipo I), mas também induz a conformação das outras isoformas de PI3K a fim de formar um novo sítio de interação, atuando como inibidor do Tipo II. A Figura 15 apresenta a estrutura química do PIK-39 **27** e a estrutura tridimensional cristalográfica da subunidade γ da PI3K (PDB ID 1E7U).

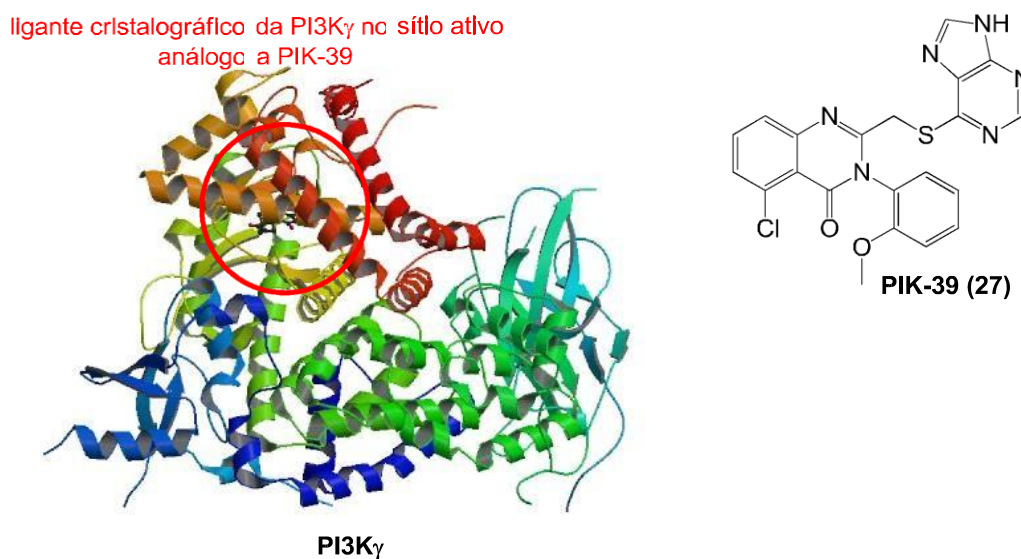


Figura 15. À esquerda, estrutura tridimensional cristalográfica da PI3K γ com análogo da PIK-39 **27** no sítio ativo da enzima (PDB ID 1E7U). À direita, estrutura química da PIK-39 **27**.

Em pesquisa publicada por Zhou em 2012⁵⁷, são reportados inibidores de tirosina quinase multialvo (TKIs multialvo) no tratamento de câncer de pulmão NSCLC (do inglês, *non-small cell lung cancer*). Muitos deles estão na fase 3 de ensaios clínicos e mostraram grande eficiência. A Figura 16 exibe a fórmula estrutural de alguns desses inibidores de tirosina quinase multialvo: Vandetanib **28**⁵⁸, Sorafenib **29**⁵⁹, Motesanib **30**⁵⁷, Axitinib **31**.⁶⁰

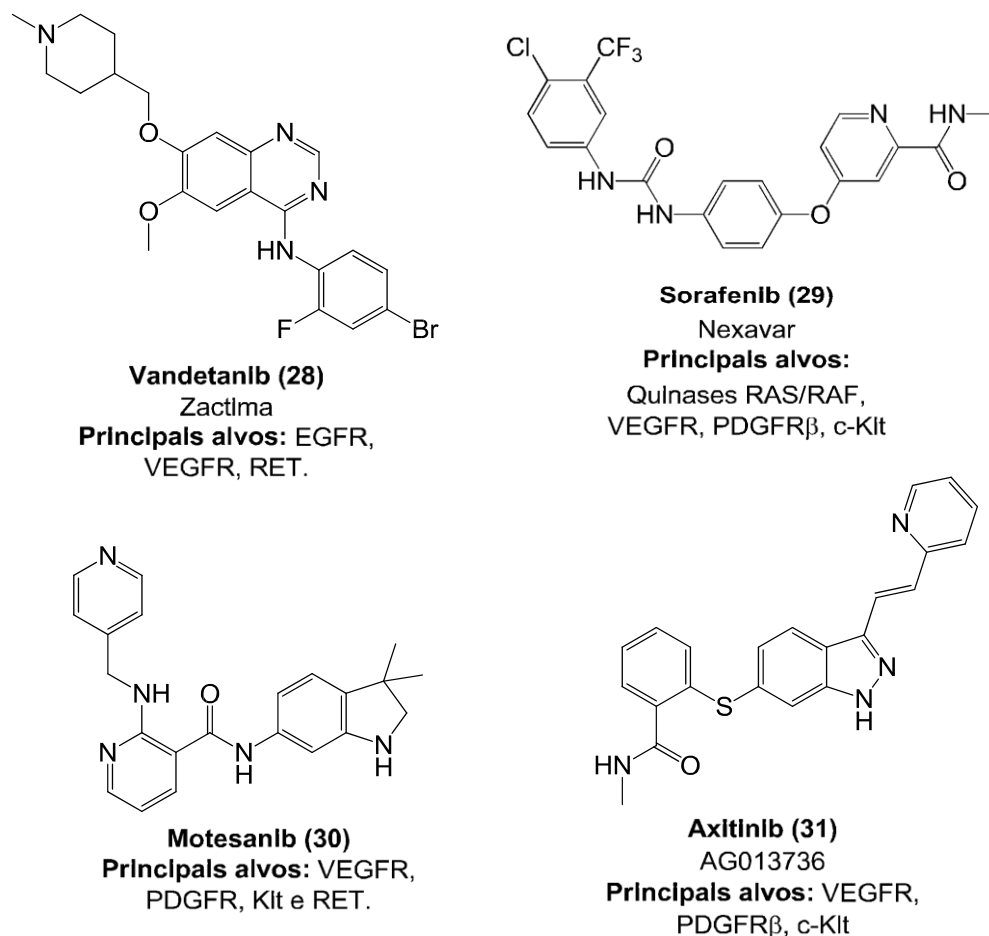


Figura 16. Inibidores de tirosina quinase multialvo.

Recentemente, uma estratégia sintética que vem sendo bastante utilizada para evitar a MDR é o conceito de hibridação molecular (MH, do inglês *molecular hybridization*). Neste, reúnem-se duas ou mais estruturas com reconhecida atividade biológica a fim de potencializar as propriedades biológicas já apreciadas e diversificar o escopo dos alvos de inibição e interação. Com a combinação dos grupos farmacofóricos de diferentes substâncias bioativas, produz-se uma nova substância (denominado híbrido),

com propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas modificadas e, por conseguinte aumentando a afinidade com determinada enzima alvo em relação aos materiais de partida.⁶¹ Além disso, é possível elevar a seletividade a certo alvo e, assim, diminuir os efeitos colaterais.

Em termos sintéticos, podem-se criar e estender bibliotecas de compostos com variadas substâncias de homólogos híbridos.

Um exemplo de hibridação molecular para síntese de agentes antineoplásicos foi publicado em 1999 por Kuduk e colaboradores⁶² no qual o objetivo era hibridizar a geldanamicina (GDM **33**) - um antibiótico macrocíclico isolado da *Streptomyces hygroscopicus* com atividade inibidora de quinases devido à interação com a cavidade ativa de Hsp90 - e estradiol **32**, um hormônio sexual (Figura 17). Com isso, os autores visaram degradar proteínas específicas, como receptores ligantes de estradiol **32** (ER) e de transaminase da membrana da HER2, altamente expressas em câncer de mama. Desta maneira, previu-se o atraso do crescimento celular e indução da apoptose.

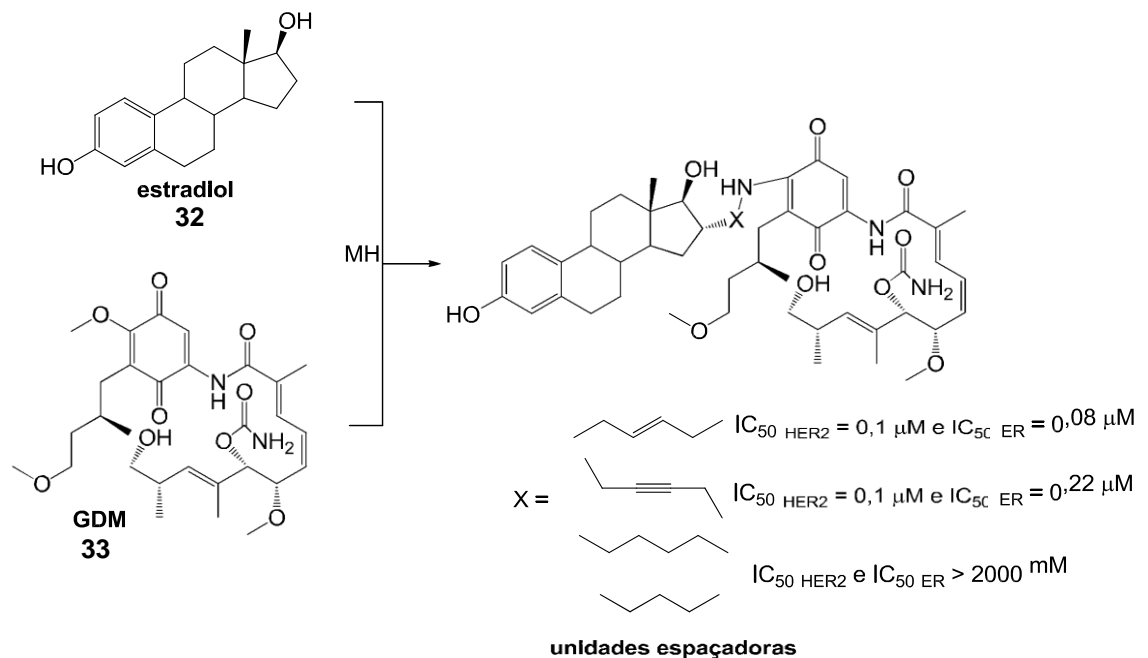


Figura 17. Utilização do conceito de Hibridação Molecular para preparação de substâncias com atividade antineoplásica a partir do GDM **33** e estradiol **32**.

Em trabalho recente publicado por Karthikeyan⁶³, a hibridação molecular foi utilizada para unir chalconas e isatinas com reconhecida atividade antineoplásica em linhagens de células cancerígenas de mama, como de inibidor quinases.⁶⁴ A Figura 18 apresenta o processo de hibridação e seus

respectivos resultados químicos de rendimento e biológicos de IC_{50} (concentração necessária para inibir 50% de crescimento) em linhagens de célula de câncer de mama tipo MDA-MB468.

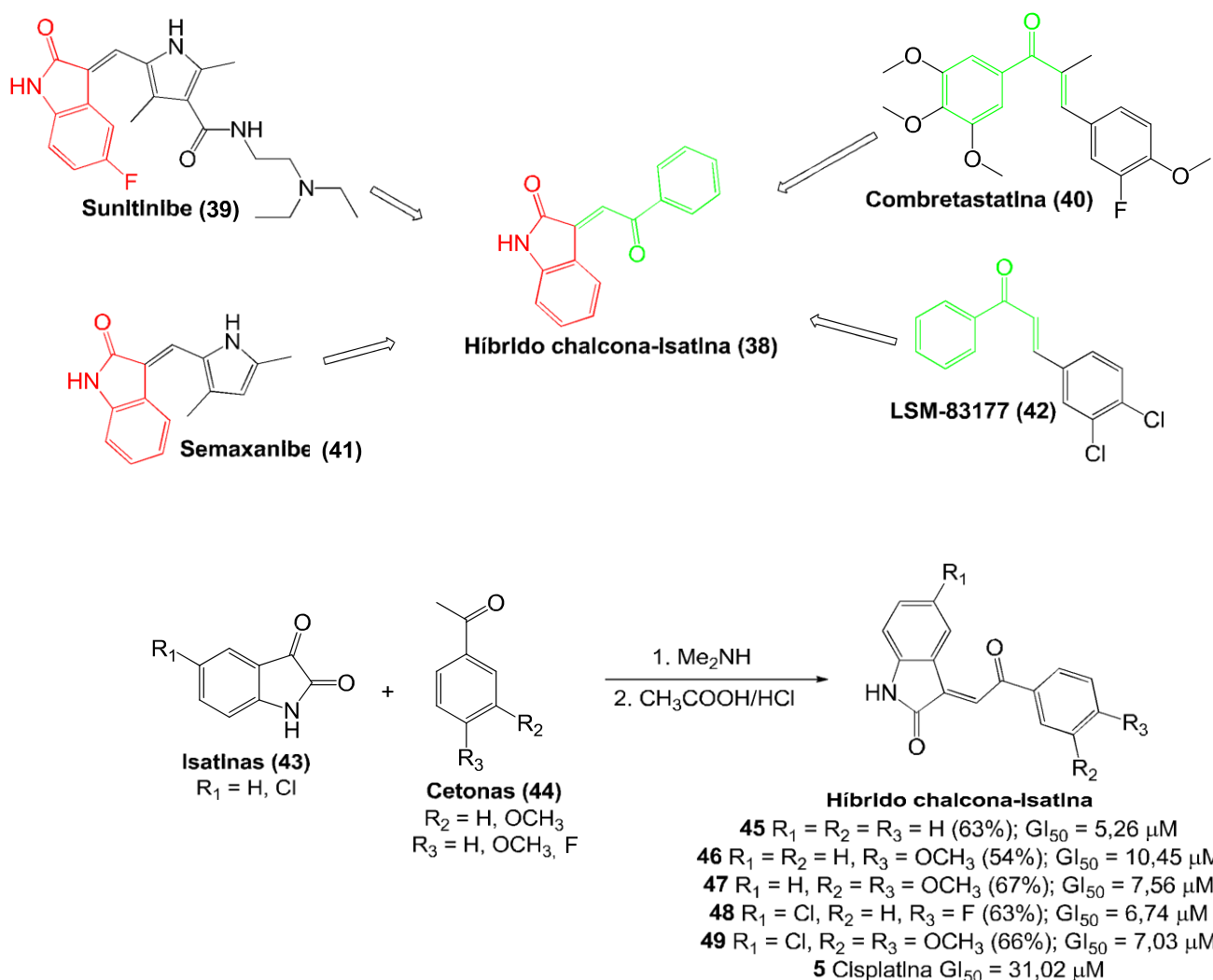


Figura 18. Processo de hibridação molecular para síntese de chalconas-isatinas com potencial atividade antineoplásica em células de linhagem de câncer de mama tipo MDA-MB468.

1.5. Arcabouços de reconhecida atividade biológica

1.5.1. 1,4-Naftoquinona

As 1,4-naftoquinonas constituem um grupo farmacofórico presente em diversas substâncias com atividades biológicas conhecidas, como antibiótica, bactericida, moluscicida, anti-inflamatória, antialérgica, antiviral, antifúngica, antineoplásica e antileishmaniose.⁶⁵⁻⁷⁰ Estruturalmente, são compostas por um anel benzênico fundido a uma *p*-quinona ou 1,4-naftoquinona.

Em termos de atividade antineoplásica, as quinonas exibem atividade citotóxica contra várias linhagens de células cancerosas, incluindo carcinoma de pulmão, de mama, adenocarcinoma de colon, melanoma, linfoma, entre outros. Alguns de seus mecanismos citotóxicos também estão bem estabelecidos, como inibidores de arilamina N-acetiltransferase humana 1 (hNAT1) **50** e **51**, topoisomerase II **52** e **53**, Hsp90 **54** e **55**, p53 **56** e **57**, PI3K **58** e **59** e Cdc25 fosfatase **60**, **61** e **62**. A Figura 19 mostra algumas quinonas e seus alvos de ação citotóxica.^{71,72}

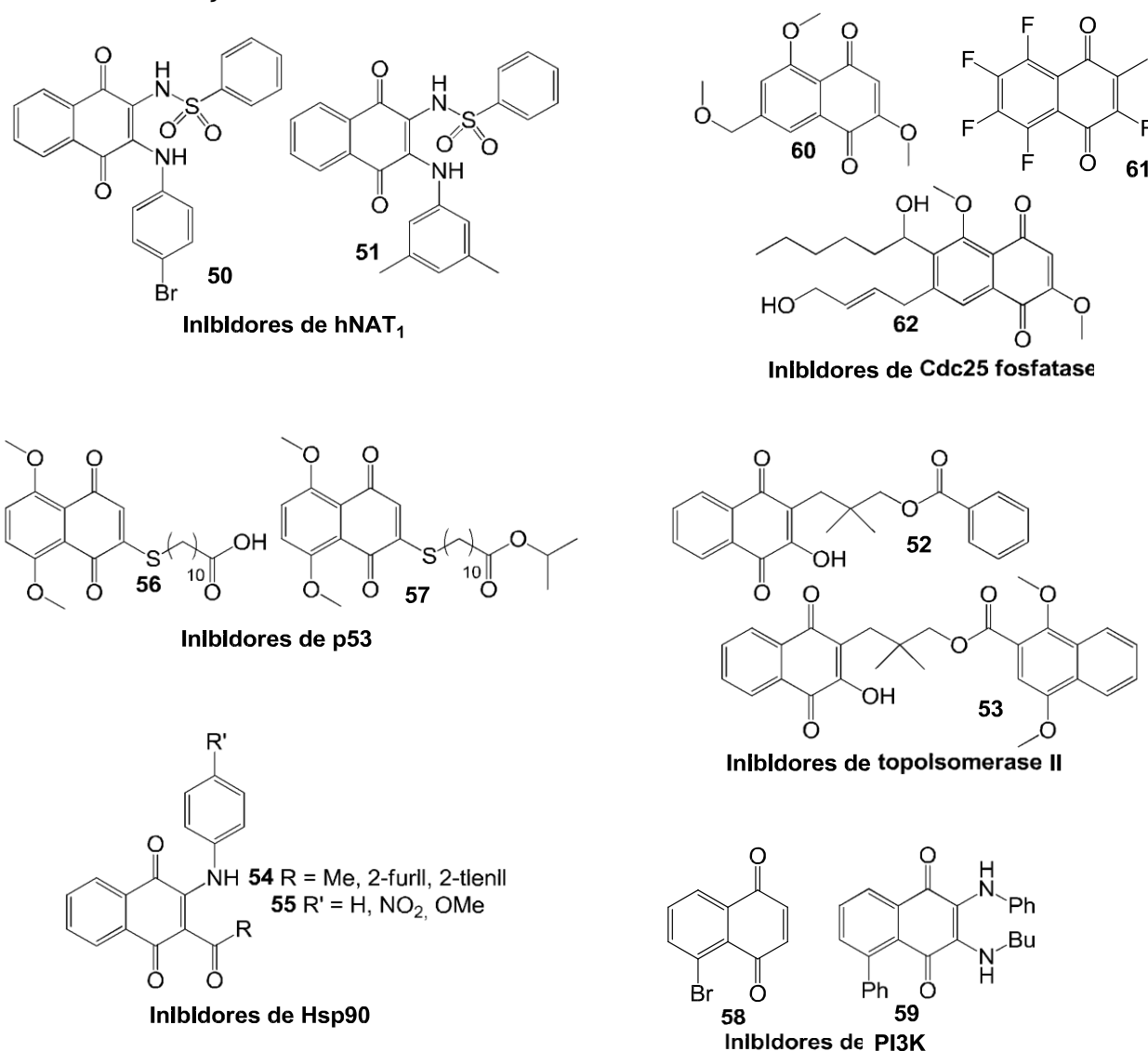


Figura 19. Derivados 1,4-naftoquinônicos com atividade antineoplásica por diferentes alvos citotóxicos.

Outro mecanismo de ação citotóxica das naftoquinonas já bem estudado

é por meio do estresse oxidativo. Espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *Reactive Oxygen Species*) são geradas em processos mitocondriais em células eucariontes.⁷³ São exemplos de ROS: radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical superóxido aniônico ($\text{O}_2^{\cdot-}$), ânion superóxido (O_2^-), oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e ozônio (O_3).⁷⁴ Essas espécies são necessárias para o funcionamento saudável da célula e de seus processos normais. Contudo, em células cancerosas, essas espécies são encontradas em alta concentração a fim de manter a alta taxa de multiplicação celular.

As quinonas são passíveis de sofrer ativação biorredutiva principalmente por duas enzimas: citocromo p450s e redutase do citocromo 450. Adicionalmente, células em hipóxia (condição de baixas concentrações de oxigênio) também podem ativar alguns agentes anticâncer. A Figura 20 ilustra dois mecanismos de redução das quinonas: o primeiro, redução por um único elétron, conduz à formação de semiquinonas **63** e a segunda, com dois elétrons, produz hidroquinona **64** por meio da ação da enzima NAD(P)H:quinona oxirredutase 1 (NQO1).

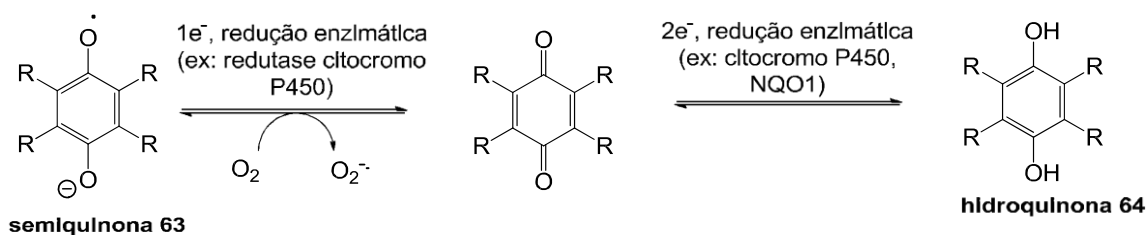


Figura 20. Esquema geral para redução de quinonas.

Em condições de normóxia (quantidades normais de oxigênio), as quinonas geralmente passam pelo mecanismo de redução por $1e^-$, gerando radicais livres oxigenados e ROS. Os ROS gerados pelos intermediários semiquinonas **63** e radicais hidroxilados provocam a ruptura dos filamentos de DNA, podendo levar a apoptose.⁷⁵

Em condições anaeróbicas (hipóxia), entretanto, as quinonas passam pelo mecanismo $2e^-$. É relatado na literatura que os produtos gerados nesse mecanismo produzem intermediários conjugados, poderosos agentes alquilantes.⁷⁵

Em recente trabalho publicado por Greco e colaboradores, derivados naftoquinônicos com atividade antineoplásica foram descritos. As substâncias

da Figura 21 foram sintetizadas a partir da substituição da metoxila da 2-metoxi-1,4-naftoquinona e dos átomos de cloro da 2,3-dicloro-1,4-naftoquinona. Foram utilizadas substâncias com átomos de nitrogênio e enxofre como sítios nucleofílicos.⁷⁶

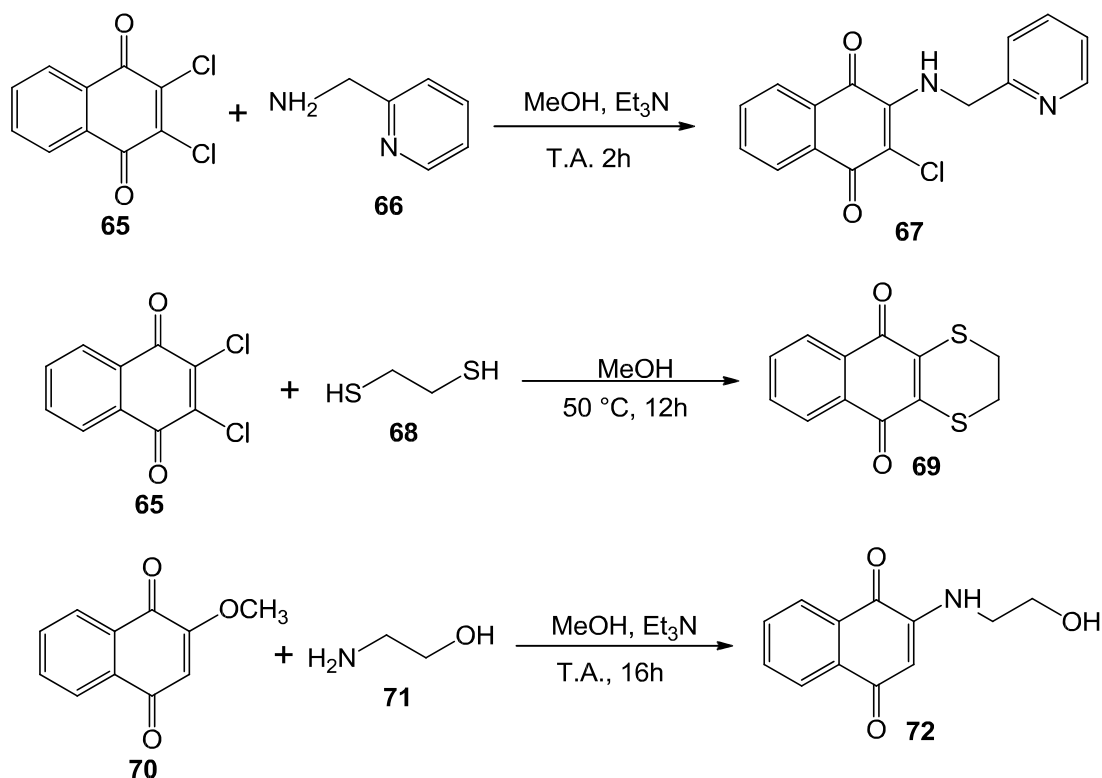


Figura 21. Síntese de derivados naftoquinônicos com atividade antitumoral.

1.5.2. Quinolinas

As substâncias derivadas da quinolina **73** estão sempre em voga entre os pesquisadores na área de síntese orgânica que visam obter moléculas com atividade antitumoral. Recentemente, quatro derivados quinolínicos adentraram a fase de teste clínico, três atuando como inibidores de proteínas quinases (Bosutinibe **74**, Lenvatinibe **75** e Cabozantinibe **76**) e um como inibidor de farnesiltransferase (Tipifarnibe **77**)⁷⁷ (Figura 22).

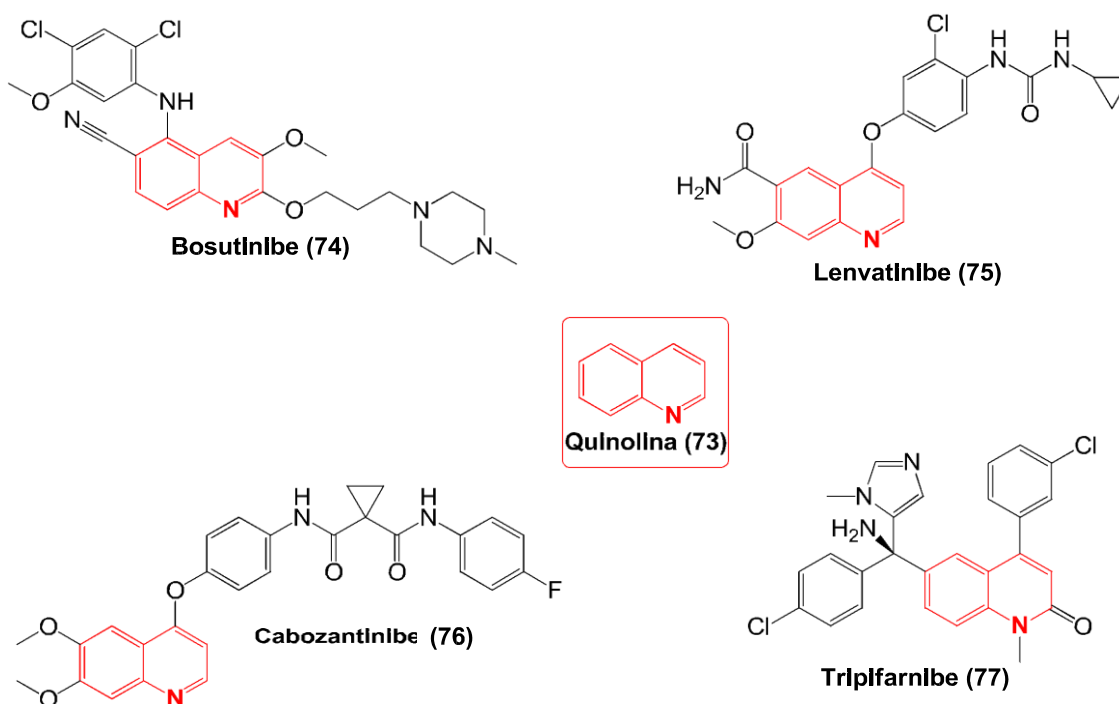


Figura 22. Derivados quinolínicos em fase de teste clínico como antitumorais.

O núcleo quinolínico é um ótimo ponto de partida para preparação de diferentes substâncias com potencial atividade antineoplásica devido à sua versatilidade frente a células cancerosas, atuando por diferentes mecanismos de ação. Inibição de crescimento celular por interrupção do ciclo celular, indução à apoptose, inibição de angiogênese, interrupção de migração celular e modulação da capacidade de resposta do receptor nuclear são exemplos das formas que o núcleo quinolínico encontra para deter a proliferação cancerígena.⁷⁷

A Figura 23 compila algumas substâncias derivadas da quinolina com seus possíveis alvos de ação anticâncer: agentes antimetabólics **78**,⁷⁸ intercaladores de DNA **79**, **80**,⁷⁹ inibidores de Topoisomerasas I e II **81**, **82**,⁸⁰ de polimerização de tubulina **83**, **84**,⁸¹ de EGFR **85**,⁸² PI3K **86**, **87**,⁸³ MAPK **88**,⁸⁴ Hsp90 **89**, **90**,⁸⁵ telomerase **91**, **92**⁸⁶ e VEGFR **93**.^{87, 77}

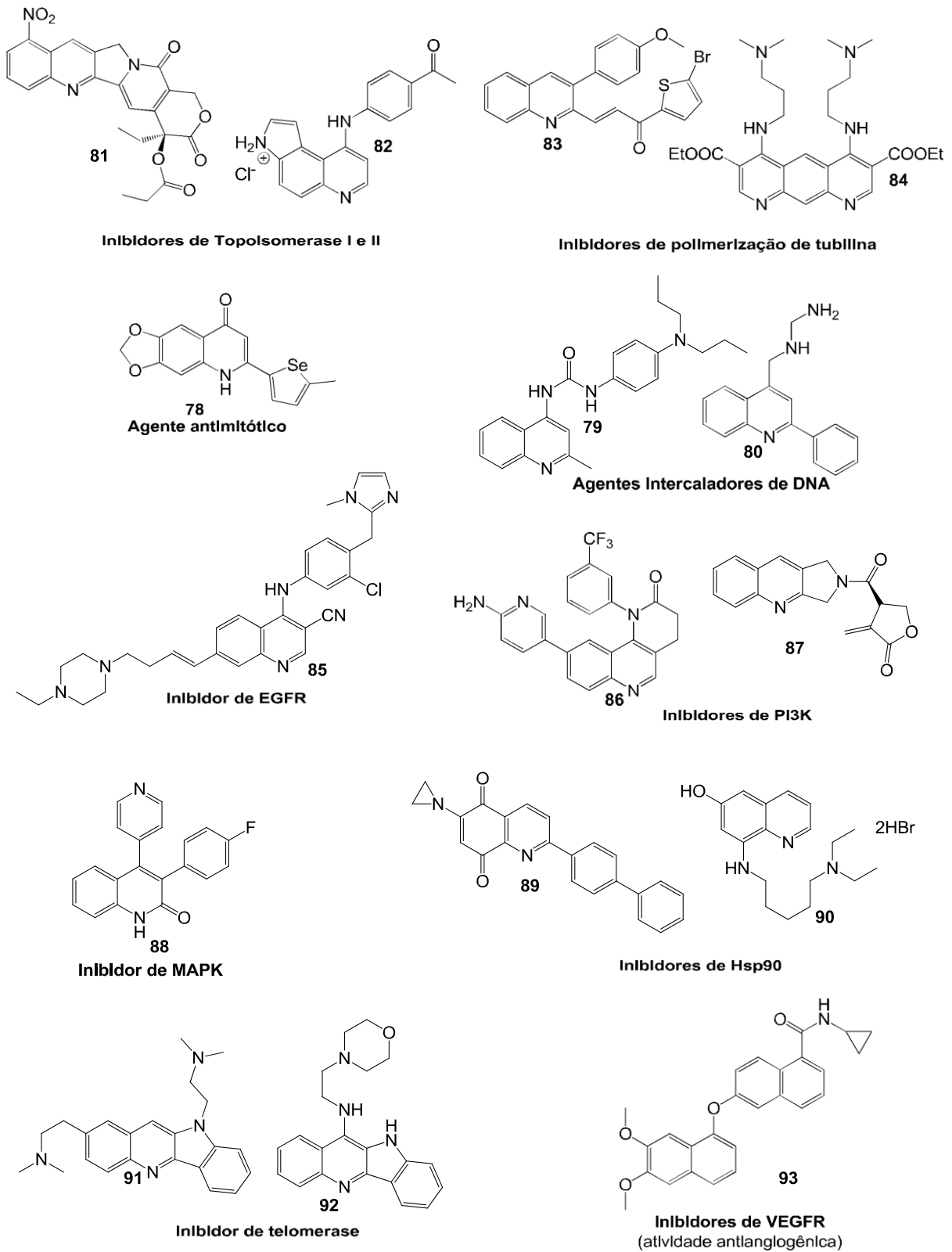


Figura 23. Derivados quinolínicos com atividade antitumoral e seus alvos de ação.

Dentre os alvos supracitados, a PI3K é um dos que merece mais atenção por estar extremamente ativa em células cancerosas. Auger e

colaboradores⁸⁸ desenvolveram um inibidor quinolínico de PI3K (**94**) utilizando design racional de fármaco baseado nas possíveis interações com o sítio ativo da enzima. Estudos de cristalografia por raios-X exibiram que o anel tiazolidinediona (TZD) interage com o resíduo de lisina (Lys-833) dentro do sítio de ligação com ATP **16** da PI3K α .

Com base nesses estudos, Knight e colaboradores⁸⁹ sugeriram que o preenchimento total dos espaços vazios do sítio ativo da enzima poderia levar ao aumento de atividade e seletividade contra a PI3K. Desta forma, foram sintetizados diversos compostos contendo o núcleo quinolínico para avaliar a veracidade da hipótese feita. De fato, uma das substâncias (**95**) sintetizadas por seu grupo de pesquisas mostrou atividade inibitória de PI3K α (p110 α /p85 α) em concentrações baixíssimas ($IC_{50} = 0,04$ nM), muito mais potente que o sintetizado pelo grupo de Auger ($IC_{50} = 2$ nM). Estudos de mecanismos de ação revelaram que houve redução significativa da fosforilação de Akt no resíduo 473 da serina, sendo um dos principais fatores para desativação da via de PI3K. A Figura 24 ilustra a estrutura dos derivados quinolínicos com atividade inibidora de PI3K.

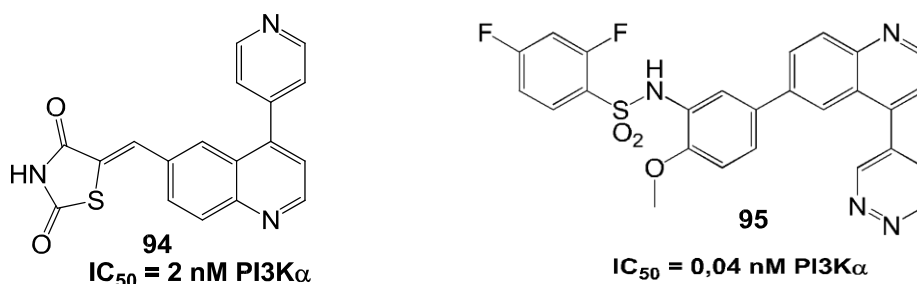
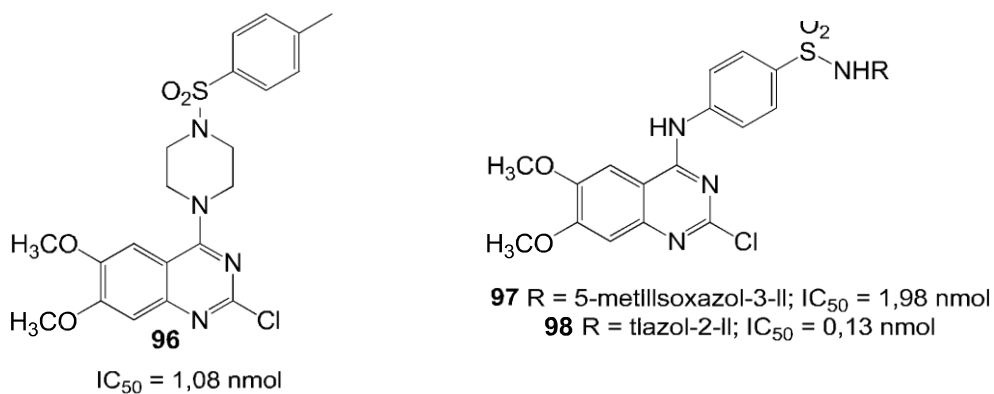
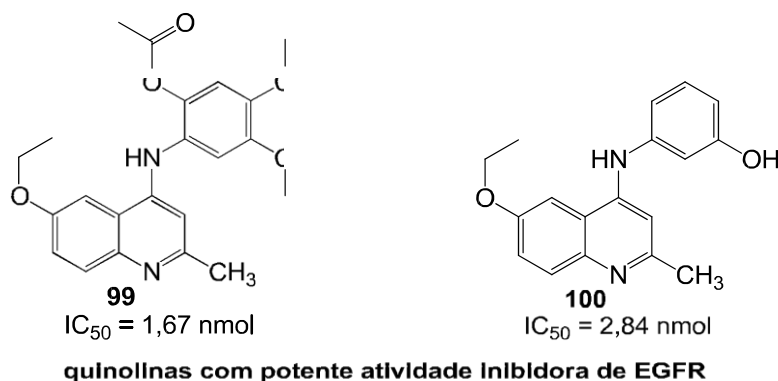


Figura 24. Inibidores de PI3K seletivos para a isoforma α .

Outra via de grande importância para tratamento de câncer que está geralmente superexpressa é a EGFR, parte das RTKs. Abouzid e Shouman⁹⁰ realizaram um estudo contendo design racional em modelagem molecular, síntese e avaliação da atividade antitumoral de derivados 4-aminoquinolínicos e 4-aminoquinazolínicos tendo EGFR como alvo. As substâncias com maiores atividades citotóxicas estão exibidas na Figura 25.



quinazolininas com potente atividade Inibidora de EGFR



quinolininas com potente atividade Inibidora de EGFR

Figura 25. Derivados 4-amino-quinolínicos e quinazolínicos com potente atividade inibidora de EGFR.

A literatura está repleta de trabalhos e revisões contendo estudos com o núcleo quinolínico relacionado à atividade biológica, sobretudo antineoplásica, comprovando a grande importância deste núcleo para a síntese orgânica medicinal.^{77,91,92}

1.5.3. Triazinas

As triazinas são heterociclos aromáticos tri-nitrogenados encontrados em muitos fármacos e desempenham importante papel em termos farmacofóricos da substância bioativa.⁹³ Podem apresentar-se em três isômeros constitucionais de posição: 1,2,3-triazina (**101**), 1,2,4-triazina (**102**) e 1,3,5-triazina ou s-triazina (**103**) (Figura 26).

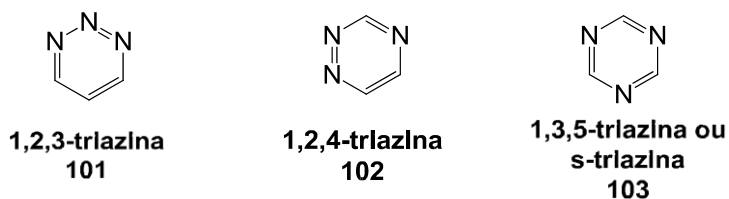


Figura 26. Isômeros da triazina.

Dentre os compostos triazínicos, a 1,3,5-triazina, completamente simétrica, atrai muitos pesquisadores em síntese orgânica. Isto se deve ao fato de que seus derivados são obtidos a partir de reações de substituições nucleofílicas aromáticas a partir de um material de partida comercial de baixo custo: a 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina (TCT) ou cloreto cianúrico (**104**). Esta substância é obtida industrialmente através do cianeto de hidrogênio aquoso ou cianeto de sódio e gás clorídrico ou mediante trimerização com diferentes nitrilas sob catálise ácida.^{94,95}

Uma forma extremamente usual de obtenção de derivados 1,3,5-triazínicos a partir do cloreto cianúrico (**104**) ocorre via substituição nucleofílica aromática (S_NAr) com nucleófilos. Esta metodologia, além de possibilitar a obtenção de uma enorme gama de produtos oriundos de substituição com C-, N-, O- e S- nucleófilos, é altamente seletiva mediante controle de temperatura.⁹⁶ A Figura 27 mostra a possibilidade de substituição do cloro controlado pela temperatura etapa por etapa.

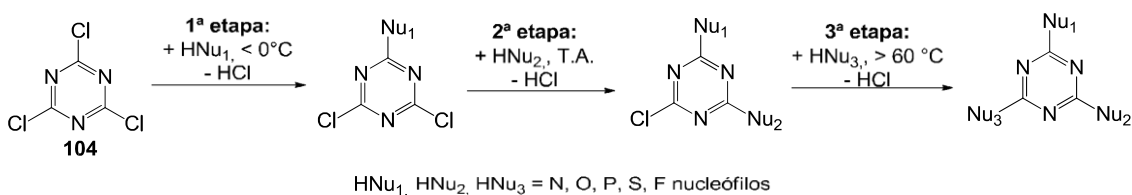


Figura 27. Substituições nucleofílicas aromáticas em TCT controladas por temperatura.

Os derivados 1,3,5-triazínicos com maior destaque em atividades biológicas são as melaminas ou cianuramidas, formadas pela substituição dos átomos de cloro por nucleófilos nitrogenados. Basedia e colaboradores relataram em 2011 uma revisão na literatura sobre triazinas com atividade antineoplásica.⁹⁷ A Figura 28 mostra duas dessas melaminas utilizadas na quimioterapia antilblástica: altretamina **105** e trietilenomelamina **106**. A altretamina é um agente antineoplásico aprovado pela *Food and Drugs Administration* (FDA) utilizado no tratamento de câncer de ovário refratário por

meio da produção de agentes alquilantes de DNA no organismo.⁹⁷

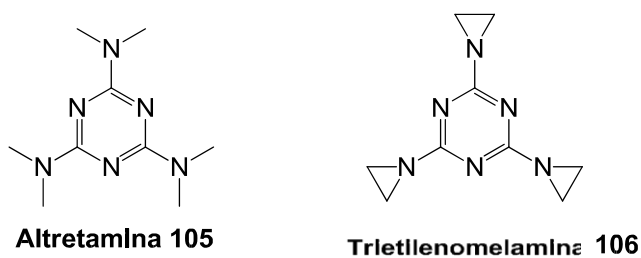


Figura 28. Melaminas utilizadas como antineoplásicos reconhecidos pela FDA.

Os alvos de ataque possíveis para os derivados 1,3,5-triazínicos na quimioterapia antineoplásica são os mais diversos.^{98,99} A Figura 29 mostra algumas substâncias com seus respectivos alvos.

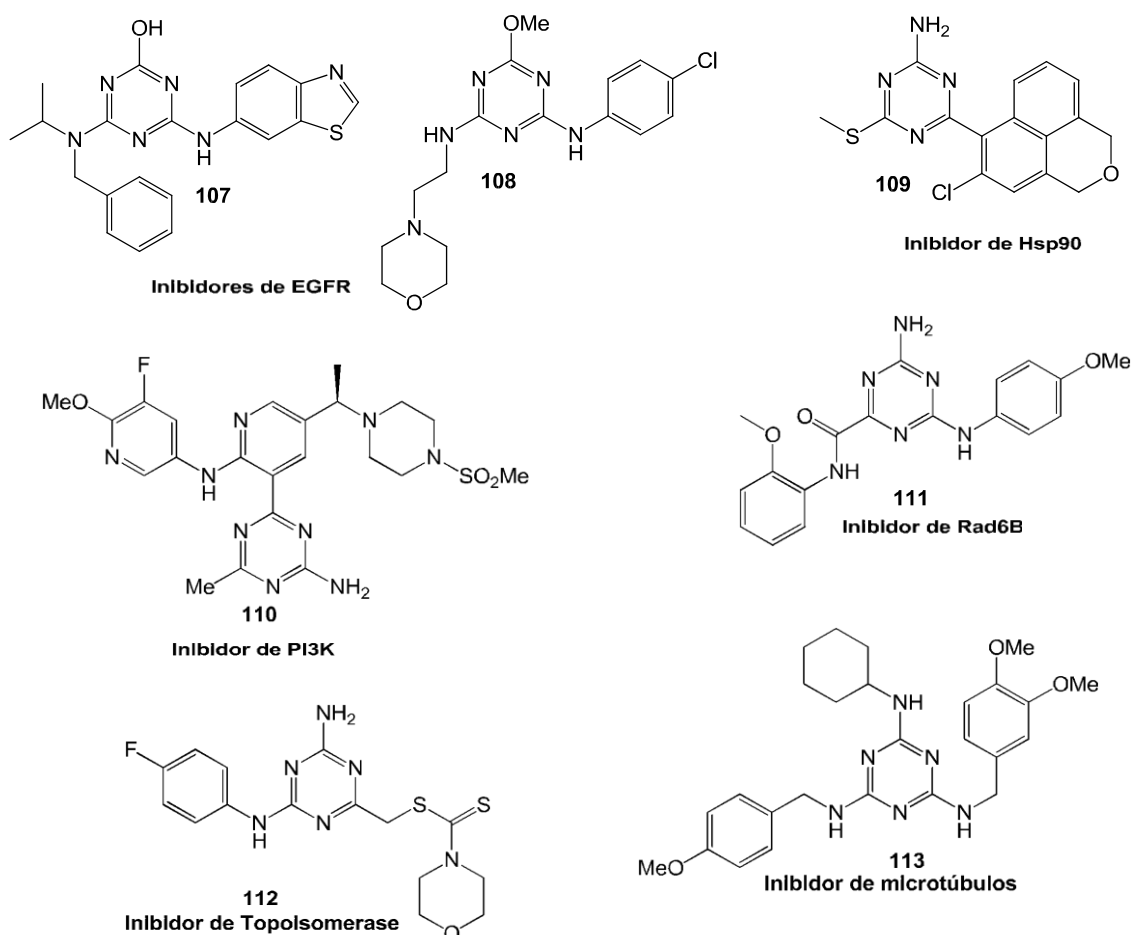


Figura 29. Derivados 1,3,5-triazínicos com seus alvos em quimioterapia antitumoral.

Diversos derivados de s-triazinas não-simétricos vem sendo estudados no intuito de descobrir novas substâncias antineoplásicas que atuem por diferentes meios para contornar o problema da resistência a múltiplas drogas já

estabelecido. Singla e colaboradores¹⁰⁰ publicaram em 2015 um trabalho de síntese e avaliação da atividade anticâncer, interação com o DNA e inibição da diidrofolato redutase de novos híbridos triazino-benzimidazóis **116** e **117** (Figura 30).

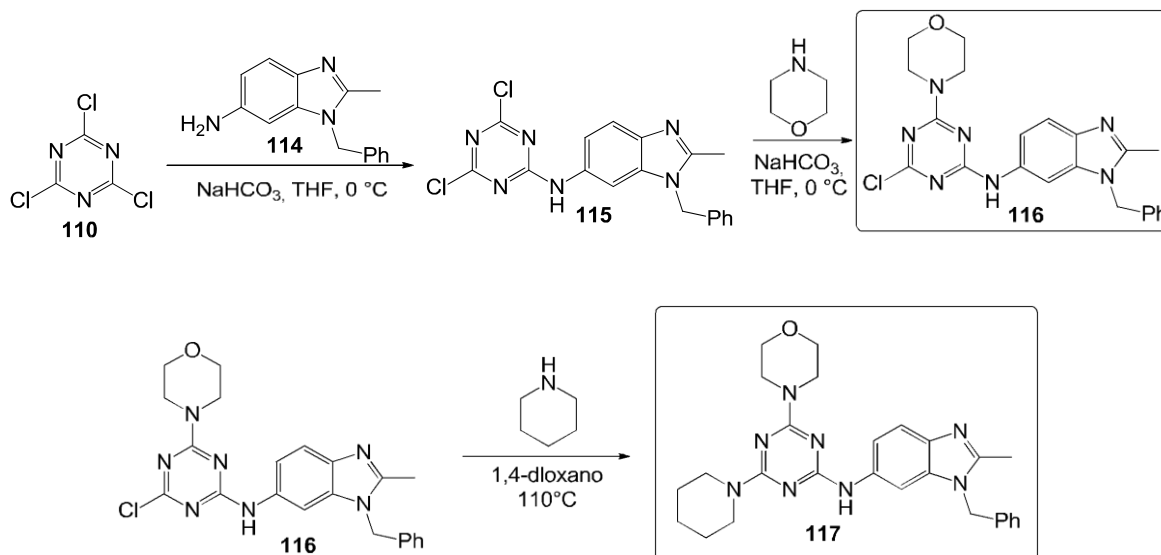


Figura 30. Síntese de derivados híbridos triazino-benzimidazóis com atividade anticâncer, interação de DNA e inibidor de diidrofolato redutase.

Ressaltando ainda a atividade anticâncer e a importância da atuação em vias de sinalização, sobretudo em PI3K, Wurz e colaboradores¹⁰¹ publicaram trabalho contendo síntese e relação estrutura-atividade de triazinas-sulfonamidas como inibidores de PI3K/mTOR. No trabalho, os autores utilizaram o conceito de hibridação molecular para síntese das moléculas finais partindo da observação da atividade da sulfonamida **118** e da 1,3,5-triazina **119** (Figura 31).

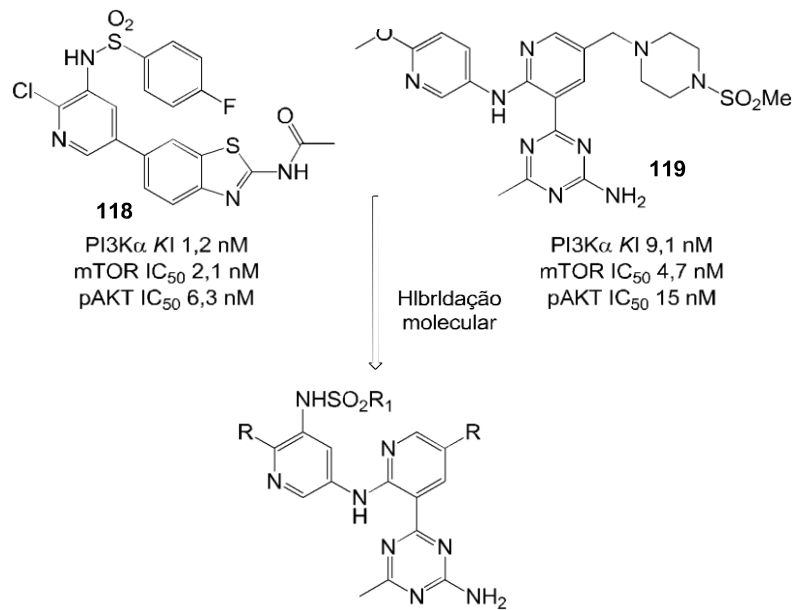


Figura 31. Processo de hibridação molecular previsto por Wurz e colaboradores.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

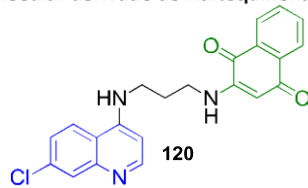
A MDR é o principal motivo pelo qual células cancerosas desenvolvem resistência a quimioterápicos, consistindo no principal fator que conduz o tratamento à ineficácia.¹⁰² Desta maneira, a busca incessante por novas substâncias com potencial atividade anticâncer que aja por diferentes mecanismos aliada ao conceito de hibridização molecular é imprescindível.

Neste contexto, a síntese de substâncias contendo os núcleos naftoquinônico, quinolínico e triazínico conectados por poliaminas ou ésteres constitui o objetivo principal do presente trabalho, uma vez que, individualmente, possuem reconhecida atividade anticâncer. Em um próximo momento, pretende-se avaliar o sinergismo das estruturas supracitadas através do método *in vitro* MTT em linhagens de células de câncer humano de melanoma e leucemia. Inclui-se também a caracterização espectroscópica das substâncias nos objetivos gerais do trabalho.

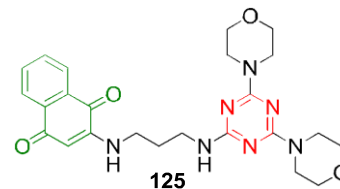
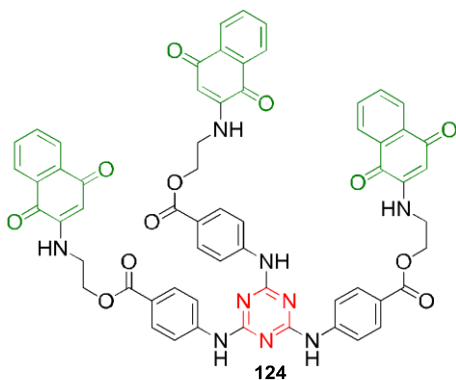
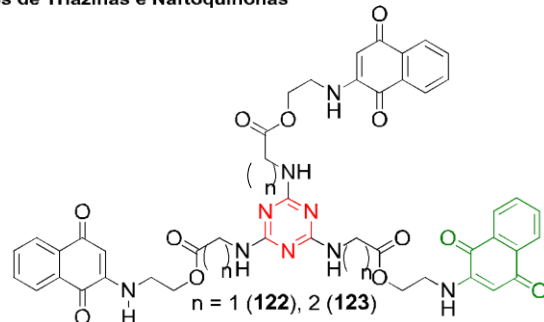
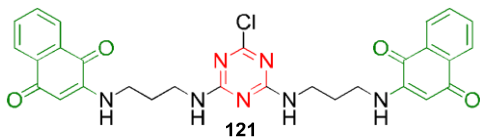
2.2 Objetivos Específicos

- i. Utilização do conceito de hibridização molecular para racionalização e síntese de substâncias contendo pelo menos dois dos três núcleos (naftoquinônico, quinolínico e triazínico) a fim de avaliar suas influências na efetividade e seletividade antineoplásica.

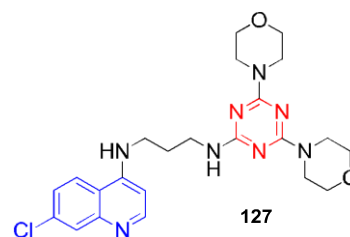
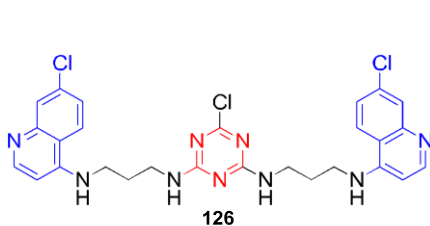
Híbrido Molecular derivado de Naftoquinona e Quinolina



Híbridos Moleculares derivados de Triazinas e Naftoquinonas



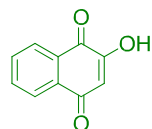
Híbridos Moleculares derivados de Triazinas e Quinolina



Híbridos Moleculares derivados de Triazina, Quinolina e Naftoquinona

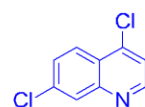


hibridização molecular



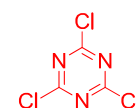
Lausona 129

estresse oxidativo (ROS)
ativação redutiva das quinonas
Inibidor de Topoisomerases
Inibidor de PI3K
Inibidor de Telomerase
agentes Intercaladores e
agentes alquilantes de DNA
Inibidor da Hsp90
Inibidor de Cdc25 fosfatase
Inibidor de p53



4,7-dicloroquinolina 130

Inibidor de Topoisomerases
Inibidor de polimerização de tubulina
agentes anti-mitóticos
agentes Intercaladores de DNA
Inibidor de EGFR
Inibidor de MAPK
Inibidor de PI3K
Inibidor de Hsp90
Inibidor de Telomerase
atividade antilangiogênica



2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina 104

Inibidor de EGFR
Inibidor de Hsp90
Inibidor de PI3K
Inibidor de Rad6B
Inibidor de microtubulos
Inibidor de Topoisomerase

Figura 32. Modelo de hibridização molecular para racionalização das moléculas-alvo.

- ii.* Caracterização estrutural de todos os intermediários isoláveis e moléculas finais através das técnicas espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C e Infravermelho em laboratórios do Núcleo de Competências em Química de Petróleo (NCQP) – LabPetro, no campus de Goiabeiras da Universidade Federal do Espírito Santo.

3. Parte Experimental

3.1. Materiais

Os reagentes utilizados no presente trabalho foram: lausona (Sigma-Aldrich, 97%), 4,7-dicloroquinolina (97%, Aldrich), cloreto cianúrico (99%, Aldrich), ácido clorídrico P. A. (Alphatec, 37%), 1,3-diaminopropano (Aldrich, 99%), 2-aminoetanol (Vetec, 99%), trietilamina (Vetec, 99%), dicarbonato de di-tert-butila (TCI, 95%), DIPEA (Sigma-Aldrich, 99,5%), ácido aminoacético P. A. (Nuclear, 99%), β -alanina (TCI, >99%), ácido *p*-aminobenzoico (RioSynth, 99%), ácido trifluoroacético (Sigma-Aldrich, 99%), dicitcloexilcarbodiimida (Fluka, 99%), morfolina (Vetec, 99%), 4-dimetilaminopiridina (Aldrich, 99%), ácido *p*-toluenossulfônico (Vetec, 98,5%), hidróxido de sódio micropérolas P. A. (Vetec, 99%), sulfato de sódio anidro P. A. (Fmaia, 99,0%), bicarbonato de sódio P.A. (Vetec, 99,7%), Todos os reagentes foram utilizados sem tratamento prévio, exceto pelo 2-aminotanol e trietilamina, os quais foram destilados e cloreto cianúrico que foi purificado por filtração em sílica-gel utilizando como eluente uma mistura de 30% de acetato de etila em hexano.

Os solventes utilizados foram: água destilada, metanol P. A. (Vetec, 99.9%), etanol absoluto P. A. (Vetec, 99,8%), hexano P. A. (Vetec, 98.5%), acetato de etila P. A. (Vetec, 99.5%), diclorometano (Vetec, 99,5%), acetonitrila P. A. (Vetec, 99,9%), dimetilformamida (Vetec, 99,8%), N,N-dimetilformamida (Vetec, 99,8 %), N-Metilpirrolidona (Vetec, >99%)

3.2. Métodos

3.2.1. Cromatografia em Camada Fina (CCF)

As análises de cromatografia em camada fina foram realizadas utilizando cromatofolhas de alumínio recobertas com sílica gel UV254 (250 μ m, 20x20 cm). As amostras foram diluídas em um solvente de escolha e aplicadas sobre a placa com auxílio de um capilar de vidro. Sua revelação foi efetuada por exposição à luz ultravioleta (250 e 300 nm) ou com uso de um relevador como

solução ácida de vanilina sob aquecimento.

3.2.2. Pontos de Fusão

Para determinação do ponto de fusão dos materiais de partida, intermediários e produtos finais foi utilizado um equipamento digital Fisatom 430D e estão apresentados sem correção.

3.2.3. Espectroscopia de Infravermelho (IV)

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectroscópio Perkin Elmer *Spectrum 400* utilizando como parâmetros 16 scans (varreduras) e resolução de comprimento de 4 cm^{-1} . Os espectros foram obtidos em uma das duas configurações: a primeira em pastilhas de KBr ou em modo de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal horizontal de seleneto de zinco (ZnSe).

3.2.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN de ^1H e ^{13}C)

Os espectros de RMN de hidrogênio e carbono dos materiais de partida, intermediários e produtos finais foram obtidos em um espectrômetro Varian 400 MHz com sonda Broadband $^1\text{H}/\text{X}/\text{D}$ de 5 mm. Os deslocamentos químicos (δ) são reportados em partes por milhão (ppm) referentes ao padrão interno (TMS) ou ao sinal do próprio solvente. Foram utilizados como solventes CDCl_3 (CIL, 99,8%), MeOD (Aldrich, 99,8%), DMSO- d_6 (Sigma-Aldrich, 99,9%), CD_3COOD (Sigma-Aldrich, 99,8%), D_2O (Aldrich, 99,9%).

3.2.5. Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS)

Para verificação da pureza da amostra, foi realizado um ensaio cromatográfico com o cromatógrafo gasoso da Shimadzu, modelo QP-5050A, acoplado ao espectrômetro de massas com analisador quadrupolo. A coluna utilizada foi a DB-5 (5% fenil – 95% dimetilsiloxano), 30 m, 0,25 mm, 0,25 μm

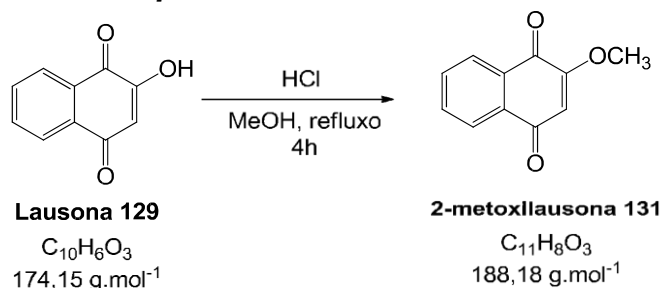
(Agilent) e Hélio como gás de arraste. O fluxo foi mantido constante com vazão de $1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, e temperatura de injeção à $150,00 \text{ }^\circ\text{C}$ e de interface à $250,00 \text{ }^\circ\text{C}$. A rampa de aquecimento utilizada teve início em $70 \text{ }^\circ\text{C}$, mantida em isoterma por 4 minutos, com incremento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até a temperatura final de $350 \text{ }^\circ\text{C}$. Os espectros obtidos foram gerados por impacto de elétrons (EI) e o intervalo de massas analisado foi de m/z de 20 a 600.

3.2.6. Espectrometria de Massas

Os espectros de Massa foram obtidos no espectrômetro de alta resolução (modelo 9,4 T Solarix, Bruker Daltonics, Bremen, Germany), operado em modos de ionização positivo e negativo com eletrospray ionizante, ESI(+) e ESI(-)-FT-ICR (MS). A aquisição dos espectros de FT-ICR MS foi realizada com poder de resolução de $m/\Delta m_{50\%} \approx 500000$, onde $\Delta m_{50\%}$ é o pico inteiro com m/z 400 sendo metade da altura máxima e acurácia de massa $< 1 \text{ ppm}$.

3.3 Procedimentos Experimentais

3.3.1. Preparação do composto 2-metoxilausona 131

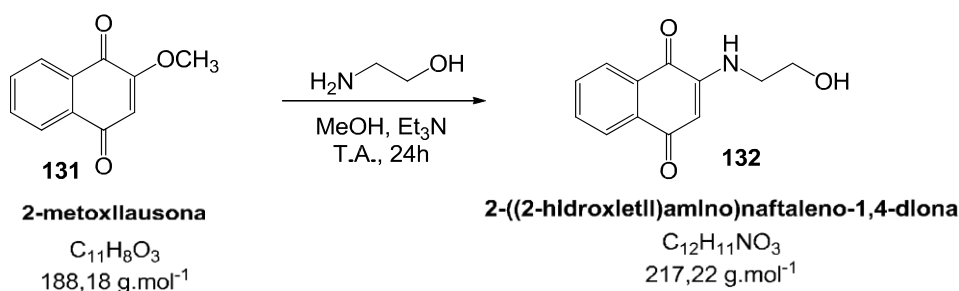


Em um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionou-se a Lausona **129** (1,000 g, 5,7 mmol) em 50 mL de metanol absoluto com ácido clorídrico concentrado (0,8 mL) sob agitação magnética. A mistura reacional foi mantida sob refluxo até consumo total da lausona, indicado por cromatografia em camada fina. Em seguida, deixou-se atingir a temperatura ambiente e o produto foi filtrado e recristalizado em etanol a quente para se obter um sólido amarelo claro com rendimento de 90% e ponto de fusão de $179\text{-}180 \text{ }^\circ\text{C}$ (lit.: $182\text{-}183 \text{ }^\circ\text{C}$).

IV $\nu_{\text{máx}}$ (**cm⁻¹**, **ATR**): 3049,8 (ν CH aromático); 2991 (ν CH₃), 1680 (ν C=O); 1643 (ν C=C conjugado); 1603 (ν C=C); 1214 (ν_{as} C-O-C); 1044 (ν_{s} C-O-C).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8,16 – 8,07 (m, 2H, *H_B*), 7,76 (m, 2H, *H_C*), 6,19 (s, 1H, *H_A*), 3,92 (s, 3H, OCH₃).

3.3.2. Preparação do composto 2-((2-hidroxiethyl)amino)naftaleno-1,4-diona **132**

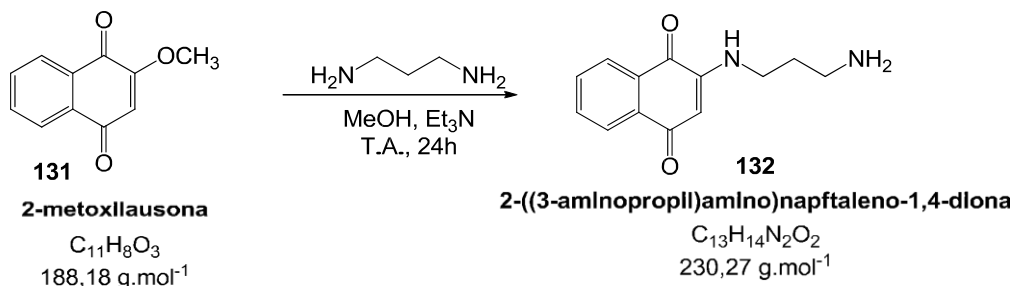


Em um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionou-se a 2-metoxilausona **131** (0,5643 g, 3 mmol) em 30 mL de metanol absoluto e 2-aminoetanol (0,18 mL, 3 mmol). Em seguida, adicionou-se 0,462 mL de trietilamina (3,3 mmol). Após o término da reação indicado por cromatografia em camada fina, o conteúdo reacional foi resfriado em um banho de gelo e, em seguida, o produto formado foi filtrado a vácuo e lavado com metanol gelado, fornecendo um sólido vermelho em 81 % de rendimento e ponto de fusão de 161-162 °C (lit.: 156-157 °C).

IV $\nu_{\text{máx}}$ (**cm⁻¹**, **ATR**): 3338 (ν NH); 3057 (ν CHaromático); 2934 (ν CH₂); 1673 (ν C=O); 1550 (δ NH); 1219 (ν C-N); 1070 (ν C-OH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8,10 (dd, $J = 7,6$ e $1,0$ Hz, 1H, *H_A* ou *H_B*); 8,05 (dd, $J = 7,6$ e $1,0$ Hz, *H_A* ou *H_B*); 7,73 (td, $J = 7,6$ e $1,0$ Hz, 1H, *H_C* ou *H_D*); 7,62 (td, $J = 7,6$ e $1,0$ Hz, 1H, *H_C* ou *H_D*); 6,22 (s, 1H, NH); 5,77 (s, 1H, *H_E*); 3,93 (dd, $J = 10,5$ e $5,3$ Hz, 2H, CH₂OH); 3,37 (dd, $J = 10,5$ e $5,3$ Hz, 2H, CH₂NH); 1,79 (t, $J = 5,3$ Hz, 1H, OH).

3.3.3. Preparação do composto 2-((3-aminopropil)amino)naftaleno-1,4-diona **133**

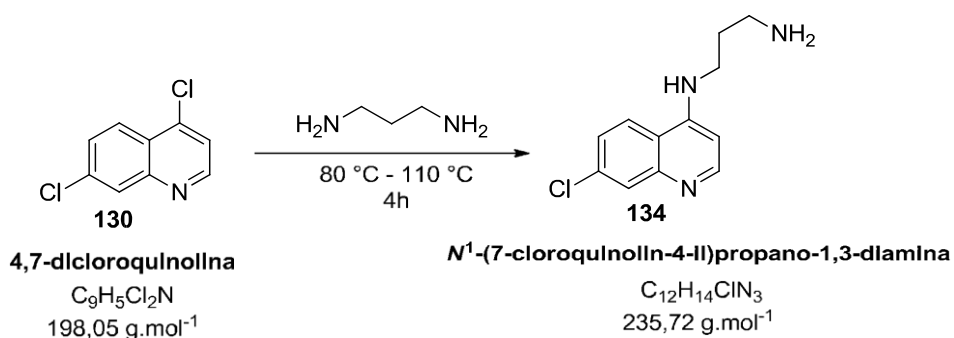


Uma suspensão de 2-metoxilausona **131** (0,0941 g, 0,5 mmol) em 10 mL de metanol absoluto, 1,3-diaminopropano (84 μL , 0,07472 g, 1,0 mmol) e 0,084 mL de trietilamina (0,6 mmol) foi adicionada em um balão de fundo redondo de 25 mL e agitada por 24 h a temperatura ambiente. Lentamente, adicionou-se 15 mL de água destilada, filtrou-se o conteúdo reacional e o sólido obtido foi lavado com metanol gelado para obtenção do produto puro (sólido laranja) em rendimento de 61 % com ponto de fusão de 124-126 °C (lit.: 124-126 °C).

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , **ATR**): 3355 (ν NH); 2933 (ν_{as} CH_2); 1682 e 1670 (ν C=O); 1642 (ν C=C conjugado); 1566 (δ N-H); 1243 (ν C-N).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 8,08 (dd, $J = 7,6, 0,9$ Hz, 1H, H_B ou H_E), 8,02 (dd, $J = 7,6, 0,9$ Hz, 1H, H_B ou H_E), 7,70 (td, $J = 7,6, 1,3$ Hz, 1H, H_C ou H_D), 7,59 (td, $J = 7,6, 1,3$ Hz, 1H, H_C ou H_D), 6,83 (sl, 1H, NH), 3,27 (dd, $J = 12,3, 6,4$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{NH}-$), 2,89 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$), 1,81 (q, $J = 6,4$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-$).

3.3.4. Preparação do composto *N*¹-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina **134**



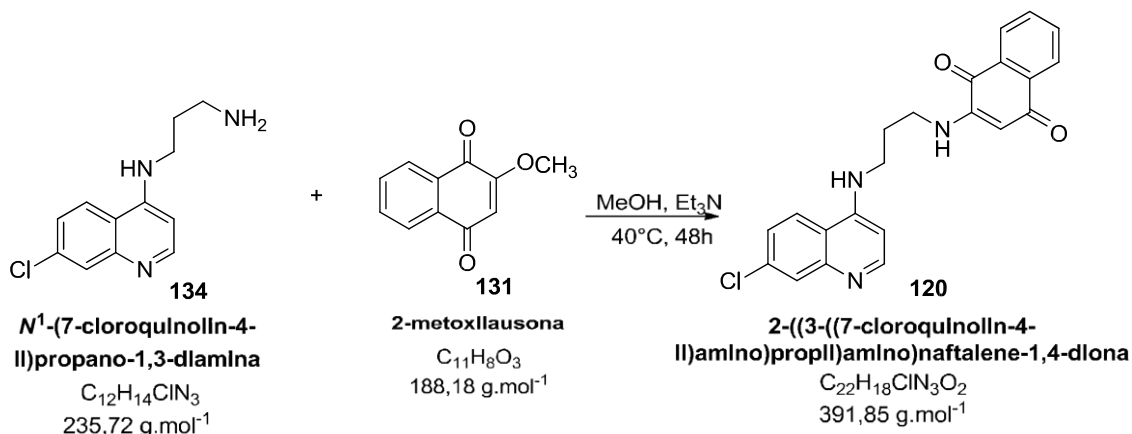
A um balão de fundo redondo de 25 mL adicionou-se 2,0 g (10,1 mmol) de 4,7-dicloroquinolina **130** e 4,2 mL de 1,3-diaminopropano. Sem agitação, a mistura foi aquecida até 80 °C. Após 1h, a solução foi agitada por 4h a 120 °C até o consumo da 4,7-dicloroquinolina. Ao fim da reação, acompanhada por cromatografia em camada fina, transferiu-se o conteúdo reacional a um béquer e adicionou-se 20 mL de água gelada com gelo triturado. O precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com mais 20 mL de água gelada. Em seguida, o sólido foi colocado sob agitação magnética com 15 mL de acetato de etila e novamente filtrado sob pressão reduzida, fornecendo um sólido branco com rendimento de 87 % e intervalo de fusão de 146-148 °C (lit.: 145-147 °C).

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹, ATR): 3264 (ν NH); 2936 (ν_{as} CH₂); 2865 (ν_{s} CH₂); 1586 (δ N-H); 1541; 1478; 1316; 1221; 1080; 800.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO/MeOD) δ ppm: 8,40 (d, J = 5,4 Hz, 1H, *H*2 quinolina), 8,18 (d, J = 9,0 Hz, 1H, *H*5), 7,80 (d, J = 2,2 Hz, 1H, *H*8 quinolina), 7,46 (dd, J = 9,0, 2,2 Hz, 1H, *H*6 quinolina), 6,59 (d, J = 5,4 Hz, 1H, *H*3 quinolina), 3,44 (t, J = 7,0 Hz, 2H, CH₂NH-), 2,81 (t, J = 7,0 Hz, 2H, CH₂NH₂), 1,95 – 1,86 (m, 2H, C-CH₂-C).

RMN ¹³C (101 MHz, DMSO) δ ppm: 152,3; 150,5; 149,4; 133,7; 127,9; 124,4; 124,4; 117,91; 99,0; 30,9.

3.3.5. Preparação do composto 2-((3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)propil)amino)-naftaleno-1,4-diona **120**



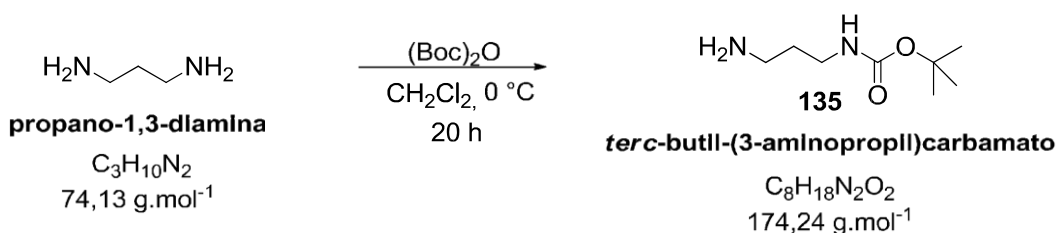
A um balão de fundo redondo de 50 mL, solubilizou-se a aminoquinolina **134** (1 mmol, 0,236 g) em 20 mL de metanol a 70 °C sob agitação magnética. Em seguida, a temperatura foi reduzida a 40 °C e adicionou-se a 2-metoxilausona **131** (1 mmol, 0,184 g) e trietilamina (140 μL). A agitação magnética foi mantida por 48h e ao término da reação, indicada por cromatografia em camada fina, o conteúdo reacional foi filtrado a vácuo e o sólido lavado com metanol gelado. Foi obtido um sólido alaranjado com rendimento de 84 % e intervalo de fusão de 210-212 °C.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3371 (ν NH); 3066 (ν CH aromático); 2916 (ν_{as} CH₂); 2865 (ν_{s} CH₂); 1676 (ν C=O); 1614 (ν C=C conjugado); 1584 (δ N-H); 1279 (ν C-N); 1118; 800; 761; 726.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 8,33 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H, H_2), 8,20 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H_5), 7,93 (dd, $J = 7,6, 0,9$ Hz, 1H, H_B ou H_E), 7,89 (dd, $J = 7,6, 0,9$ Hz, 1H, H_B ou H_E), 7,78 (td, $J = 7,5, 1,3$ Hz, 1H, H_C ou H_D), 7,73 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, H_8), 7,68 (td, $J = 7,5, 1,3$ Hz, 1H, H_C ou H_D), 7,61 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H, NH), 7,40 (dd, $J = 9,0, 2,2$ Hz, 1H, H_6), 7,29 (t, $J = 5,3$ Hz, 1H, NH), 6,47 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H, H_3), 5,70 (s, 1H, H_A), 1,94 (q, $J = 6,7$ Hz, 2H, C-CH₂-C).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 181,9, 181,7, 152,2, 150,4, 149,4, 148,9, 135,2, 133,8, 133,5, 132,5, 130,8, 127,8, 126,3, 125,7, 125,4, 124,4, 124,4, 117,8, 99,8, 99,1, 26,3.

3.3.6. Preparação do composto *terc-butil*-(3-aminopropil)carbamato **135**

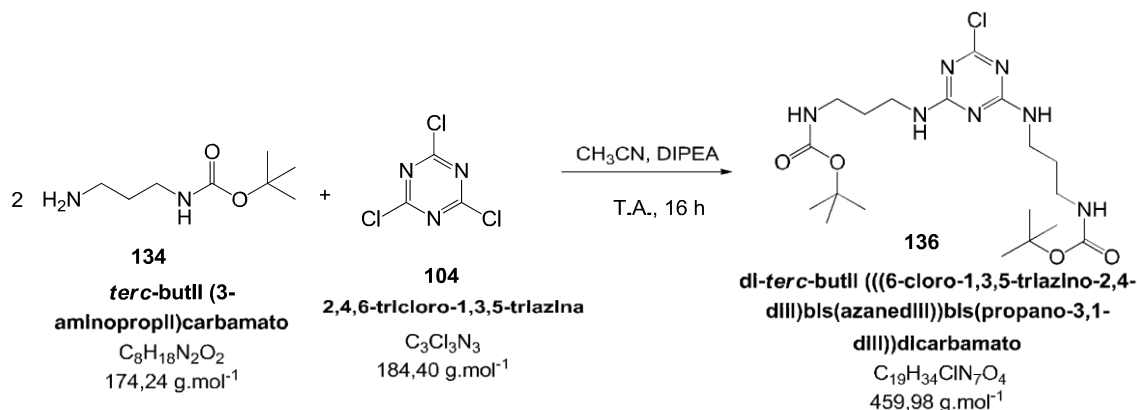


Inicialmente, preparou-se uma solução de 1,3-diaminopropano (10 mL, 118,20 mmol) em 50 mL de diclorometano a 0 °C. Sob agitação magnética, adicionou-se lentamente, durante 6 horas, uma solução de dicarbonato de *terc*-butila (5,23 g, 23,96 mmol) em 30 mL de diclorometano sob a solução da amina. Ao término da adição, elevou-se a temperatura a temperatura ambiente e deixou-se agitando por mais 12h. Após este tempo, o solvente foi removido em evaporador rotatório e ao resíduo foi adicionada água destilada (30 mL). Filtrou-se para retirar o sólido formado (subproduto – diamino di-protégida) e a água-mãe foi extraída com 3x15 mL de diclorometano, seco com sulfato de sódio anidro e concentrado à pressão reduzida. Foi obtido um óleo levemente amarelado em um rendimento de 63 %.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3345,4 (ν NH); 2975,8 (ν_{as} CH_3); 2933,2 (ν_{as} CH_2); 2869,2 (ν_{s} CH_3); 1690,0 (ν C=O); 1520,6; 1365,3 (δ CH_3); 1250,7 (ν C-N); 1167,2.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 4,90 (sl, 1H, *NH*Boc), 3,20 – 3,13 (m, 2H, CH_2NH Boc), 2,72 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2NH_2), 1,63 – 1,51 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$), 1.40 [s, 9H, $\text{O}(\text{CH}_3)_3$].

3.3.7. Preparação do composto di-terc-butil-(((6-cloro-1,3,5-triazino-2,4-diil)bis(azanedii))bis(propano-3,1-diil))dicarbamato **136**



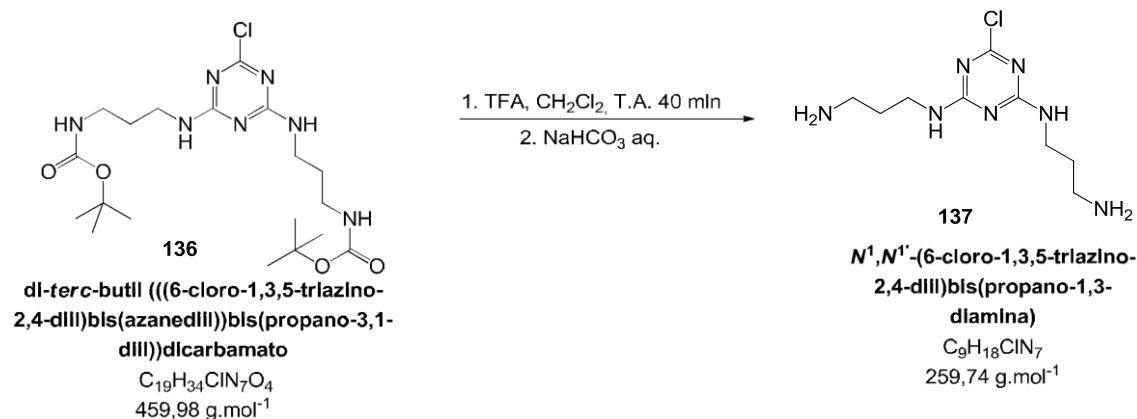
Uma solução da N-Boc-1,3-propanodiamina monoprotetida **135** (0,9235 g, 5,3 mmol) em 10 mL de acetonitrila foi colocada em um balão de fundo redondo de 50 mL sob agitação magnética. A esta, adicionou-se uma suspensão de 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina (0,3940 g, 2,1 mmol) em 5 mL de acetonitrila. Então 4 mL de DIPEA foi adicionada e a agitação manteve-se por 16 h. Após este tempo, filtrou-se o produto, lavou-se exaustivamente com água e acetonitrila geladas e secou-se o produto à temperatura ambiente sob pressão reduzida. Foi obtido um sólido branco como produto puro da reação com 95 % de rendimento e ponto de fusão de 153-155 °C.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3343 (ν NH); 2969 (ν_{as} CH_3); 2936 (ν_{as} CH_2); 2872 (ν_{s} CH_3); 1688 (ν C=O); 1638; 1553; 1360; 1248 (ν C-N); 986; 800.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 6,19 – 5,95 (m, 2H, NH/Boc), 5,12 – 4,88 (m, 2H, NH), 3,52 – 3,38 (m, 4H, $-\text{CH}_2\text{NH/Boc}$), 3,23 – 3,15 (m, 4H, $-\text{CH}_2\text{NH}-$), 1,76 – 1,67 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 1,44 [sl, 18H, $\text{O}(\text{CH}_3)_3$].

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{ClN}_7\text{O}_4]^+$ exp = 460,24301 m/z , calc = 460,24336 m/z (err = 0,75 ppm); $[\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{ClN}_7\text{NaO}_4]^+$ exp = 482,22491 m/z , calc = 482,22530 m/z (err = 0,80 ppm); dímero $[\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{Cl}_2\text{N}_{14}\text{NaO}_8]^+$ exp = 941,45972 m/z , calc = 941,46138 m/z (err = 1,77 ppm).

3.3.8 Preparação do composto $N^1,N^{1'}-(6\text{-cloro-1,3,5-triazino-2,4-dii})\text{bis}(\text{propano-1,3-diamina})$ 137



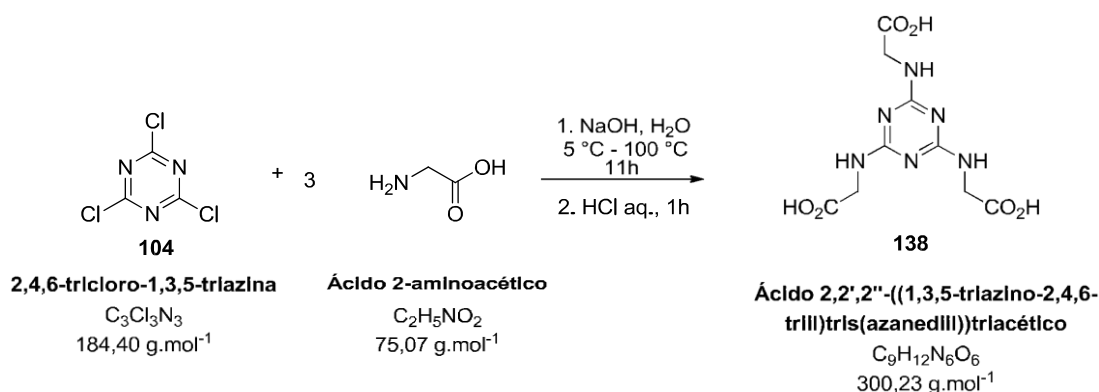
A um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se a 0,4599 g (1 mmol) diamina protegida com grupamentos Boc acima (**136**), 5 mL de diclorometano e 3 mL de ácido trifluoroacético. Após 40 minutos, o solvente e o excesso de ácido foram removidos em um evaporador rotatório. O conteúdo reacional então foi neutralizado com uma solução aquosa saturada de $NaHCO_3$ e o produto foi filtrado a vácuo e lavado exaustivamente com água gelada. O produto bruto foi lavado com hexano a 45 °C e filtrado novamente a vácuo e seco, fornecendo um sólido branco em um rendimento de 62 %. O produto apresentou ponto de fusão acima dos 280 °C.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3335 e 3255 (ν NH); 2946 (ν CH_2); 1642 (ν C=N); 1560; 1410; 796.

RMN 1H (400 MHz, AcOD) δ ppm: 3,58 – 3,43 (m, 4H, $-CH_2NH-$), 3,19 – 3,05 (m, 4H, $-CH_2NH_2$).

ESI (+) FT-ICR MS: $[C_9H_{19}ClN_7]^+$ exp = 260,13836 m/z , calc = 260,13850 m/z (err = 0,54 ppm); dímero $[C_{18}H_{37}Cl_2N_{14}]^+$ exp = 519,26932 m/z , calc = 519,26972 m/z (err = 0,77 ppm).

3.3.9. Preparação do composto **Ácido 2,2',2''-((1,3,5-triazino-2,4,6-triil)tris(azanedii))triacético 138**



A um balão de fundo redondo, adicionou-se uma solução de 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina **104** (1,000 g, 5,42 mmol) em 10 mL de água destilada em um banho de gelo. Em seguida, adicionou-se ácido 2-aminoacético (0,427 g, 5,69 mmol) e agitou-se por 10 minutos. Lentamente, uma solução de hidróxido de sódio foi adicionada de modo que o pH foi elevado até aproximadamente 11. Colocou-se, então, outra solução de 0,833 g de ácido 2-aminoacético (11,1 mmol) em 20 mL de água destilada. A temperatura foi elevada a 25 °C, agitando-se por mais 5h mantendo o pH entre 10 e 11. Em seguida, elevou-se a temperatura a 100 °C. Após 6h, a temperatura foi reduzida a 25 °C e 30 mL de água foram adicionados. Agitou-se por 30 minutos, HCl concentrado foi adicionado lentamente até pH 3 e deixou-se agitando por mais 30 minutos. O produto foi filtrado, lavado com 10,0 mL de uma mistura de AcOH/H₂O (1/30 v/v) e 50 mL de água gelada e seco a temperatura ambiente sob pressão reduzida para fornecer um sólido branco com rendimento de 85 %. Para análise de Ressonância Magnética Nuclear, o composto foi convertido ao seu sal trissódico ao reagir em meio aquoso com 3 equivalentes de NaOH e seco a 60 °C sob pressão reduzida. O composto não fundiu até 280 °C.

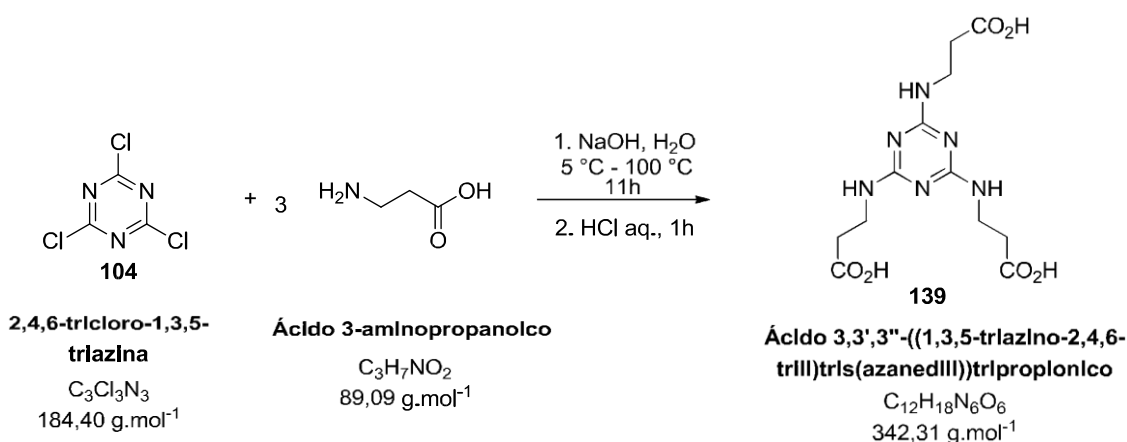
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3366; 3252; 2954; 1731 (C=O ácido); 1654; 1619; 1430; 1314; 1234; 967; 781.

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ ppm: 3,73 (d, $J = 7,9$ Hz, 6H, 3 CH₂)

RMN ¹³C (101 MHz, D₂O) δ ppm: 177,8; 177,5; 44,2.

ESI (-) FT-ICR MS: $[C_9H_{11}N_6O_6]^-$ exp = 299,07453 m/z , calc = 299,07456 m/z (err = 0,08 ppm); $[C_9H_{10}N_6O_6 + Na]^-$ exp = 321,05652 m/z , calc = 321,05650 m/z (err = - 0,06 ppm); $[C_9H_9N_6O_6 + 2Na]^-$ exp = 343,03847 m/z , calc = 343,03844 m/z .

3.3.10. Preparação do composto ácido 3,3',3''-((1,3,5-triazino-2,4,6-triil)tris(azanediiil))tripropiônico 139



A um balão de fundo redondo, adicionou-se uma solução de 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina **104** (1,000 g, 5,42 mmol) em 10 mL de água destilada em um banho de gelo. Em seguida, adicionou-se ácido 2-aminoacético (0,507 g, 5,69 mmol) e agitou-se por 10 minutos. Lentamente, uma solução de hidróxido de sódio foi adicionada de modo que o pH foi elevado até aproximadamente 11. Colocou-se, então, outra solução de 0,989 g de ácido 2-aminoacético (11,1 mmol) em 20 mL de água destilada. A temperatura foi elevada a 25 °C, agitando-se por mais 5h mantendo o pH entre 10 e 11. Em seguida, elevou-se a temperatura a 100 °C. Após 6h, a temperatura foi reduzida a 25 °C e 30 mL de água foram adicionados. Agitou-se por 30 minutos, HCl concentrado foi adicionado lentamente até pH 3 e deixou-se agitando por mais 30 minutos. O produto foi filtrado, lavado com 10,0 mL de uma mistura de AcOH/H₂O (1/30 v/v) e 50 mL de água gelada e seco a temperatura ambiente sob pressão reduzida para fornecer um sólido branco com rendimento de 64 %. Para análise de ressonância magnética nuclear, o composto foi convertido ao seu

sal trissódico ao reagir em meio aquoso com 3 equivalentes de NaOH e seco a 60 °C sob pressão reduzida. O composto não fundiu até 280 °C.

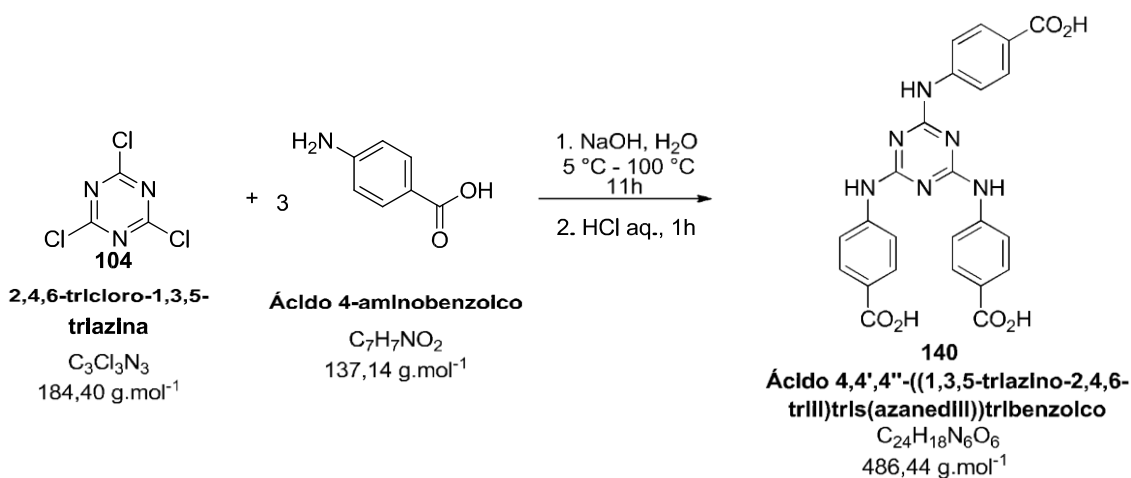
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3254; 3099; 2960; 1637; 1554; 1387; 1363; 1224; 1113; 986; 794.

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ ppm: 3,50 – 3,31 (m, 6H, CH_2N), 2,38 – 2,26 (m, 6H, CH_2COONa).

RMN ^{13}C (101 MHz, D_2O) δ ppm: 180,7; 164,5; 37,8; 36,7.

ESI (+) FT-ICR MS: $[\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_6 + \text{H}]^+$ exp = 343,13610 m/z , calc = 343,13606 m/z (err = -0,13 ppm). Dímero $[\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_{12}\text{O}_{12} + \text{H}]^+$ exp = 685,26506 m/z , calc = 685,26484 m/z (err = -0,31 ppm).

3.3.11. Preparação do ácido **Ácido 4,4',4''-((1,3,5-triazino-2,4,6-triil)tris(azanediiil))tribenzoico 140**



A um balão de fundo redondo, adicionou-se uma solução de 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina **104** (1,000 g, 5,42 mmol) em 10 mL de água destilada em um banho de gelo. Em seguida, adicionou-se ácido 2-aminobenzoico (0,780 g, 5,69 mmol) e agitou-se por 10 minutos. Lentamente, uma solução de hidróxido de sódio foi adicionada de modo que o pH foi elevado até aproximadamente 11. Colocou-se, então, outra solução de 1,522 g de ácido 2-aminobenzoico (11,1 mmol) em 20 mL de água destilada. A temperatura foi elevada a 25 °C, agitando-se por mais 5h mantendo o pH entre 10 e 11. Em seguida, elevou-se a temperatura a 100 °C. Após 6h, a temperatura foi reduzida a 25 °C e 30 mL

de água foram adicionados. Agitou-se por 30 minutos, HCl concentrado foi adicionado lentamente até pH 3 e deixou-se agitando por mais 30 minutos. O produto foi filtrado, lavado com 10,0 mL de uma mistura de AcOH/H₂O (1/30 v/v) e 50 mL de água gelada e seco a temperatura ambiente sob pressão reduzida para fornecer um sólido bege com rendimento de 91 %. O composto não fundiu até 280 °C.

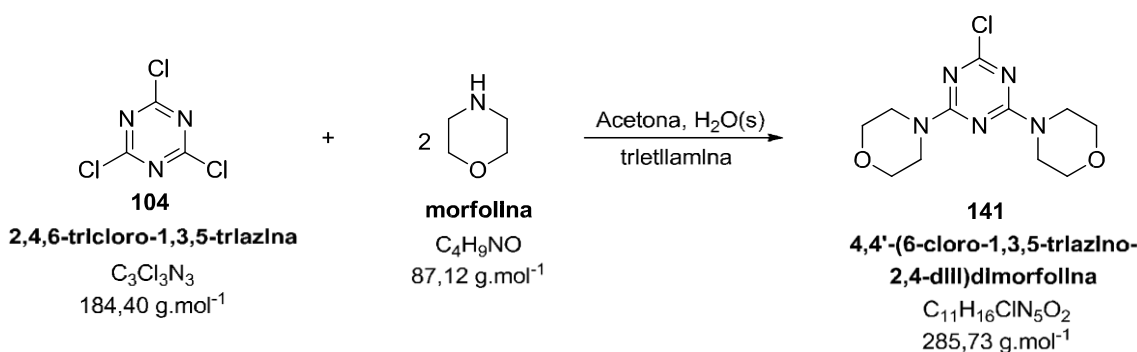
IV $\nu_{\text{máx}}$ (**cm⁻¹**, **ATR**): 3008; 1683; 1600; 1564; 1487; 1407; 1233; 1173; 1114; 767.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,78 (s, 3H, COOH), 7,95 (d, $J = 8,7$ Hz, 6H, H_A), 7,86 (d, $J = 8,7$ Hz, 6H, H_B).

RMN ¹³C (101 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 167,5; 164,3; 144,4; 130,4; 124,3; 119,7.

ESI (+) FT-ICR MS: [C₂₄H₁₅N₆Na₃O₆ + Na]⁺ exp = 575,06422 m/z , calc = 575,06384 m/z (err = - 0,67 ppm).

3.3.12. Preparação do composto 4,4'-(6-cloro-1,3,5-triazino-2,4-diil)dimorfolina 141



A um balão de fundo redondo de 500 mL, adicionou-se sob agitação magnética o cloreto cianúrico **104** (50 mmol, 9,22 g), a acetona (50 mL), o gelo triturado (250 g) e a trietilamina (15 g, 20 mL) e a morfolina (100 mmol, 8,7 g, 8,61 mL). Após o conteúdo reacional atingir a temperatura ambiente, a reação foi acompanhada por cromatografia em camada fina. Depois de duas horas, foram adicionados 100 mL de água destilada a temperatura ambiente e o

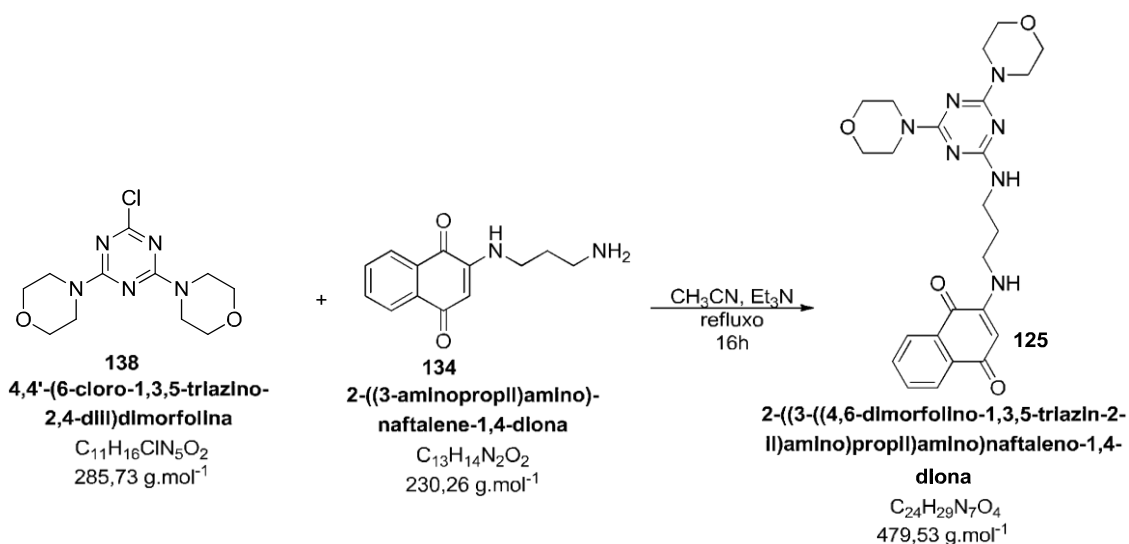
conteúdo reacional foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada. Obteve-se um sólido branco em 93 % de rendimento e intervalo de fusão de 171-172 °C (literatura 175-176 °C).

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 2852 (ν_{s} CH_2); 1566; 1486; 1448; 1243; 1113; 978; 797.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 3,62 (m, 4H, CH_2O), 3,56 (m, 4H, CH_2N).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO-d_6) δ ppm: 169,1; 164,2; 66,2; 43,9.

3.3.13. Preparação do composto 2-((3-((4,6-dimorfolino-1,3,5-triazin-2-il)amino)propil)amino)naftaleno-1,4-diona **125**



A um balão de fundo redondo de 50 mL, solubilizou-se a aminonaftoquinona **135** (0,5 mmol, 0,115 g) em 20 mL de acetonitrila sob agitação magnética e refluxo. Em seguida, adicionou-se a 4,4'-(6-cloro-1,3,5-triazino-2,4-diil)dimorfolina **138** (0,5 mmol, 0,143 g) e a trietilamina (70 μL). A reação foi acompanhada por cromatografia em camada fina e após 16h, consumo do material de partida, o conteúdo reacional foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada para obter um sólido branco. O produto foi purificado recristalização em etanol a quente. Foi obtido um sólido amarelo com

rendimento de 47 % e intervalo de fusão de 210-212 °C.

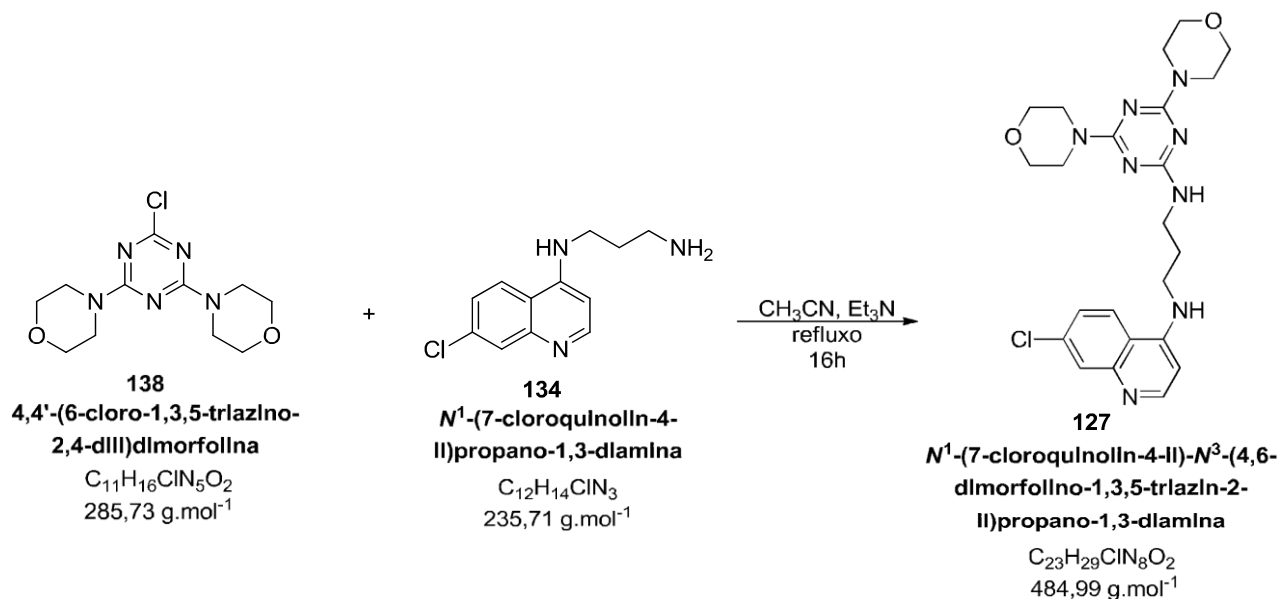
IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3337 (ν NH); 2979 (ν_{as} CH₂); 2855 (ν_{s} CH₂); 1679 (C=O); 1606 (C=C conjugado); 1547 (δ NH); 1446; 1252; 1106; 1006; 803.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7,97 (dd, $J = 7,4, 6,6$ Hz, 1H), 7,94 (m, 1H), 7,82 (td, $J = 7,4, 1,2$ Hz, 1H), 7,72 (td, $J = 7,4, 1,2$ Hz, 1H), 7,39 (sl, 1H), 6,73 (s, 1H), 5,65 (s, 1H), 3,57 (m, 8H), 3,53 (sl, 8H), 3,23 (m, 4H), 1,81 (m, 2H).

RMN ¹³C (101 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 181,5, 181,1, 165,7, 164,7, 148,4, 134,8, 133,2, 132,1, 130,3, 125,8, 125,3, 99,2, 65,9, 43,1, 37,6, 27,4.

ESI (+) FT-ICR MS: [C₂₄H₂₉N₇O₄ + H]⁺ exp = 480,23504 m/z , calc = 480,23538 m/z (err = 0,71 ppm); [C₂₄H₂₉N₇O₄ + Na]⁺ exp = 502,21705 m/z , calc = 502,21732 m/z (err = 0,54 ppm); Dímero [C₄₈H₅₈N₁₄O₈ + H]⁺ exp = 959,46281 m/z , calc = 959,46348 m/z (err = 0,70 ppm); [C₄₈H₅₈N₁₄O₈ + Na]⁺ exp = 981,44450 m/z , calc = 981,44543 m/z (err = 0,95 ppm).

3.3.14. Preparação do composto *N*¹-(7-cloroquinolin-4-il)-*N*³-(4,6-dimorfolino-1,3,5-triazin-2-il)propano-1,3-diamina **127**



A um balão de fundo redondo de 50 mL, solubilizou-se a aminoquinolina **134** (0,5 mmol, 0,118 g) em 20 mL de acetonitrila sob agitação magnética e refluxo. Em seguida, adicionou-se a 4,4'-(6-cloro-1,3,5-triazino-2,4-diil)dimorfolina **138** (0,5 mmol, 0,143 g) e a trietilamina (70 μ L). A reação foi acompanhada por cromatografia em camada fina e após 16h, consumo do material de partida, o conteúdo reacional foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada para obter um sólido branco. O produto foi purificado por cromatografia em coluna utilizando sílica-gel como fase estacionária e mistura de 10 % de MeOH em AcOEt como eluente. Foi obtido um sólido branco com rendimento de 43 % e intervalo de fusão de 230-231 °C.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1} , ATR): 3360 (ν NH); 2965 (ν_{as} CH₂); 2862 (ν_{s} 2862); 1546; 1477; 1446; 1259; 1108; 808.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 8,33 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 8,21 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7,41 (dd, $J = 9,1, 2,3$ Hz, 1H), 7,29 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H), 6,85 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,41 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 3,54 (m, 4H), 3,44 (m, 4H), 3,27 (m, 4H), 1,82 (m, 2H).

ESI (+) FT-ICR MS: $[C_{23}H_{29}ClN_8O_2 + H]^+$ exp = 485,21749 *m/z*, calc = 485,21802 *m/z* (err = 1,09 ppm). Dímero $[C_{46}H_{58}Cl_2N_{16}O_4 + H]^+$ exp = 969,42783 *m/z*, calc = 969,42822 *m/z* (err = 0,40 ppm).

3.3.15. Ancoragem Molecular

A ancoragem molecular dos ligantes foi realizada utilizando o *software* Autodock Vina com as proteínas PI3K e AMPK obtidas no *Protein Data Bank* (PDB) com os códigos 1E7U e 2UV4, respectivamente. As estruturas 3D das substâncias foram obtidas com o *software* Chem3D, do pacote ChemOffice. Inicialmente os ligantes cristalográficos da enzima PI3K, Wortmannin, e da enzima AMPK, adenosina monofosfato (AMP), e as respectivas proteínas foram preparados conforme descrito na literatura. (103) Em seguida, uma caixa (*grid box*) com dimensões 32x30x16 Å e coordenadas, x = 23,426, y = 62,986 e z = 20,716, para PI3K, e x = 14,517, y = 23,348 e z = 30,742, para AMPK, centradas nos respectivos ligantes, foi criada para cobrir o sítio ativo das enzimas. Assim, os ligantes cristalográficos de cada enzima foram reancorados nos respectivos receptores, a fim de validar a eficiência dos cálculos de ancoragem.

Na sequência, após design de todas as estruturas dos compostos sintetizados, dos fármacos controle e da validação da metodologia estudos de ancoragem foram realizados com as proteínas-alvos, obtendo como resultado as superposições dos ligantes nos sítios ativos e as respectivas energias de interação ligante/receptor.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visando avaliar o sinergismo dos núcleos naftoquinônico, quinolínic e triazínico, todos com reconhecida atividade antineoplásica, racionalizou-se a síntese das moléculas-alvo de modo que tais estruturas possuíssem pelo menos dois dos três arcaouços. Para tal, a lausona (**129**), a 4,7-dicloroquinolina (**130**) e a 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina (**104**) (cloreto cianúrico) (Figura 33), reagentes comercialmente disponíveis, foram selecionados como materiais de partida suscetíveis à derivatização estrutural afim de se chegar as moléculas finais.

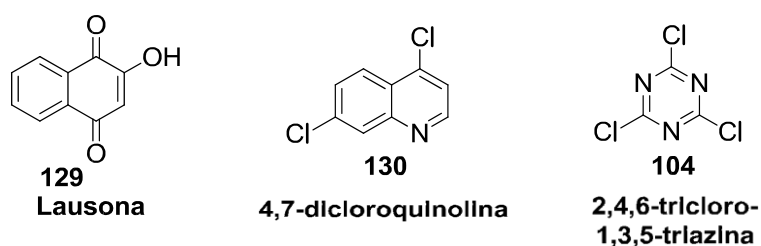


Figura 33. Materiais de partida selecionados para síntese das moléculas-alvo finais.

Desta maneira, preconcebeu-se a necessidade de alguma unidade inter-estrutural aos núcleos que fosse capaz de uni-los por meio de diferentes rotas reacionais. Em um primeiro momento, imaginou-se a conversão dos substratos em moléculas contendo hidroxilas e aminas terminais ou carboxilas, a fim de submetê-las à esterificação entre os diferentes núcleos ou utilizá-los diretamente como nucleófilos em substituições nucleofílicas ou eletrofílicas aromáticas.

No intuito de fornecer uma noção da eficiência acerca da atividade anticâncer dos compostos a serem sintetizados, realizou-se um estudo prévio de ancoragem molecular a fim de se determinar a energia de interação entre os compostos sintetizados e os possíveis receptores-alvo na quimioterapia do câncer. Os alvos escolhidos foram a PI3K e a AMPK, cujas vias de sinalização estão superexpressas em células cancerosas. Vale ressaltar que, embora essas vias estejam aberrantes, as substâncias racionalmente desenhadas podem atuar por outros mecanismos, conforme previamente descrito na introdução.

Portanto, os Resultados e Discussão estão divididos em duas sessões: estudo de ancoragem molecular e a síntese orgânica das moléculas-alvo.

4.1. Estudos de Ancoragem Molecular

Para avaliar a possível atividade antineoplásica dos compostos com potencial atividade citotóxica em linhagens de células de câncer humano, foram realizados estudos computacionais por meio de Ancoragem Molecular com o *software* gratuito AutoDock Vina.¹⁰³

As estruturas cristalinas da PI3K e AMPK foram obtidas no *Protein Data Bank* (PDB) com os respectivos códigos 1E7U e 2UV4, ambas elucidadas por difração de raios-X. A primeira com resolução de 2,00 Å e a segunda de 1,33 Å – Figura 34.

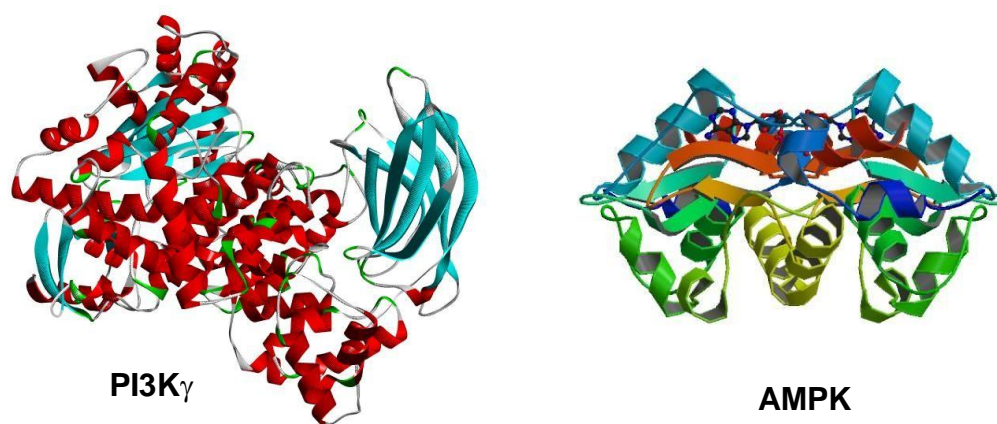


Figura 34. Estrutura cristalina das enzimas PI3K (1E7U) e AMPK (2UV4)

No primeiro momento, as enzimas PI3K e AMPK, com seus respectivos ligantes – Wortmannin e adenosina monofosfato (AMP) – foram preparados de acordo com o protocolo descrito na literatura, visando validar e verificar a eficiência do método de ancoragem escolhido.¹⁰³ Tendo em mente a dimensão das moléculas-alvo, conforme descritas nos objetivos deste trabalho, criou-se uma caixa com as dimensões 32x30x16 Å para ambas enzimas e centradas nas coordenadas $x = 23,426$, $y = 62,986$ e $z = 20,716$ para PI3K e $x = 14,517$, $y = 23,348$ e $z = 30,742$, com seus respectivos ligantes.

As dimensões selecionadas garantem a cobertura total dos ligantes cristalográficos no sítio ativo de cada enzima, dos inibidores já reconhecidos pela literatura como inibidores destes alvos terapêuticos, também chamados de controle (LY294002¹⁰⁴ para PI3K e HL010183¹⁰⁵ e fenformina¹⁰⁶ para AMPK) e das substâncias-alvo supracitadas. Vale ressaltar que o ligante cristalográfico Wortmannin¹⁰⁷ também atua como inibidor da enzima PI3K.

Os resultados da reancoragem molecular para os ligantes

cristalográficos estão mostrados na Figura 35 e permitem inferir acerca da qualidade e eficiência do método escolhido. A seleção da dimensão e localização das caixas, portanto, foi considerada adequada.

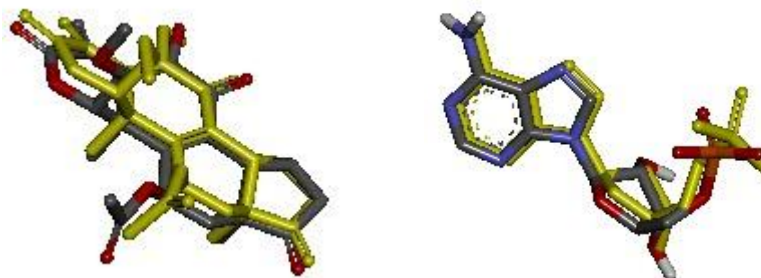


Figura 35. Ligantes cristalográficos de amarelo e estruturas reancoradas de cinza. À esquerda, Wortmannin (PI3K: 1E7U, PDB) e à direita, fenformina (AMPK: 2UV4, PDB)

Em seguida, o fármaco controle inibidor de PI3K, LY294002, e de AMPK, HL010183 e fenformina, foram sobrepostos aos sítios de ligação das respectivas enzimas usando o mesmo método descrito para os ligantes cristalográficos. Por fim, as nove moléculas-alvo **120**, **121**, **122**, **123**, **124**, **125**, **126**, **127** e **128** também foram submetidas ao mesmo procedimento computacional, após otimização por mecânica molecular utilizando o Chem3D. O resultado está exibido na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1. Energias de interação ligante/receptor entre os compostos **120**, **121**, **122**, **123**, **124**, **125**, **126**, **127**, **128**, Wortmannin, LY294002, fenformina e HL010183 e as proteínas PI3K γ e AMPK.

Ligante	Energia Ligante (Kcal.mol ⁻¹)	
	PI3K (1E7U)	AMPK (2UV4)
Wortmannin	-8,7	-
LY294002	-8,5	-
Fenformina	-	-6,2
HL010183	-	-6,1
120	-8,4	-6,4
121	-8,4	-7,2
122	-9,7	-9,6
123	-9	-5,7
124	-8,7	-6,4
125	-9,1	-7,6
126	-7,4	-6,1
127	-8,4	-7,3
128	-8,9	-7,1

Os valores apresentados na Tabela 1, para PI3K, informam que todas as

substâncias-alvo possuem energia de interação receptor/ligante maiores que os controles (Wortmannin e LY294002), exceto pelas substâncias **120**, **121** e **127**, que possuem apenas $0,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a menos em relação à LY294002. Tal diferença é considerada desprezível na análise dos resultados obtidos. Portanto, é possível inferir que todas as substâncias, exceto a **126** com energia de interação de $-7,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$, possuem o mesmo potencial de inibição da PI3K que os controles, ou até mesmo maiores.

Para AMPK, os resultados mostram-se semelhantes aos obtidos para PI3K: praticamente todas as substâncias possuem energia de interação receptor/ligante maiores que os controles, Fenformina e HL010183, exceto pela substância **123**, com diferença de $0,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ que não pode ser desprezada. Desta maneira, para os demais compostos-alvo, é possível concluir que o potencial de inibição da AMPK é semelhante ou maior que os controles.

É razoável afirmar que, caso as moléculas apresentem atividade antineoplásica, a inibição dessas enzimas são possíveis mecanismos para deter a evolução do câncer. Contudo, como o intuito do trabalho é sintetizar híbridos moleculares com diferentes núcleos para propiciar a estes compostos a capacidade de atuarem por diferentes mecanismos de ação, outras vias de inibição podem estar associados.

4.1.1. Ancoragem molecular: enzima PI3K

A confecção da Tabela 1 iniciou-se pela ancoragem do controle LY294002 com o sítio ativo da enzima PI3K. As interações, obtidas pelo *software* DS Visualizer 3.1. estão mostradas na Figura 36.

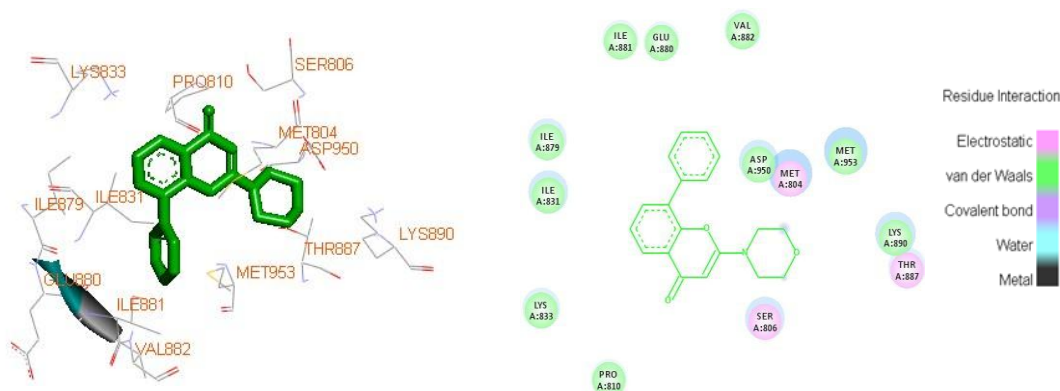


Figura 36. Conformação farmacofórica do LY294002 (verde) com o sítio ativo da enzima PI3K.

Nota-se a predominância das interações de van der Waals entre

LY294002 e o sítio ativo da PI3K, a exemplo dos resíduos de aminoácidos isoleucina-831 e 881, ácido aspártico-950, lisina-833 (verde), etc. Interações eletrostáticas também podem ser destacadas (rosa), como por exemplo, com os aminoácidos serina-806, treonina-887 e metionina-804 (Figura 39).

No caso do outro controle, Wortmannin, mostrado na Figura 37, observam-se interações dos resíduos de aminoácido predominantemente eletrostáticas, a exemplo das ligações de hidrogênio do oxigênio do anel furânico com a lisina-833 e da carbonila da lactona com a lisina-807.

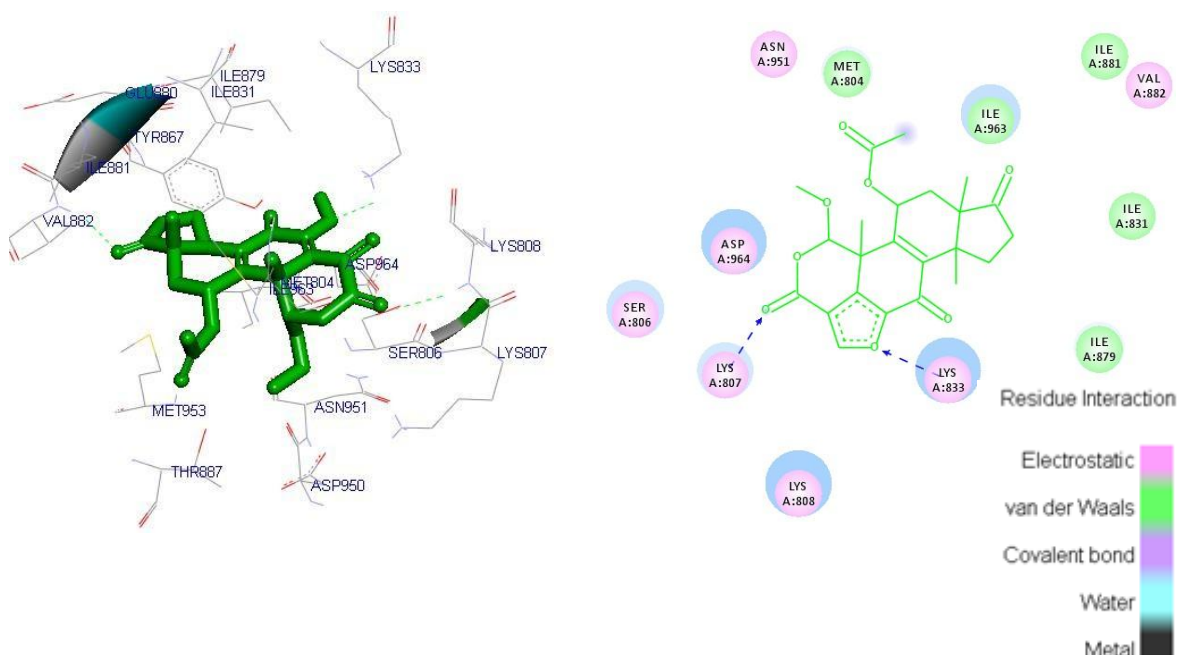


Figura 37. Conformação farmacofórica do Wortmannin (verde) com o sítio ativo da PI3K.

Para o composto híbrido contendo os núcleos naftoquinônico e quinolínicos **120**, ressalta-se a interação eletrostática da carbonila naftoquinônica com o resíduo de aminoácido ácido aspártico-964, além das diversas interações de van der Waals (Figura 38). Para o composto contendo os três núcleos simultaneamente **128**, observa-se a interação eletrostática tipo π do núcleo triazínico e quinolínicos com o resíduo de lisina-807, além da ligação de hidrogênio da carbonila naftoquinônica com o resíduo de ácido aspártico-964.

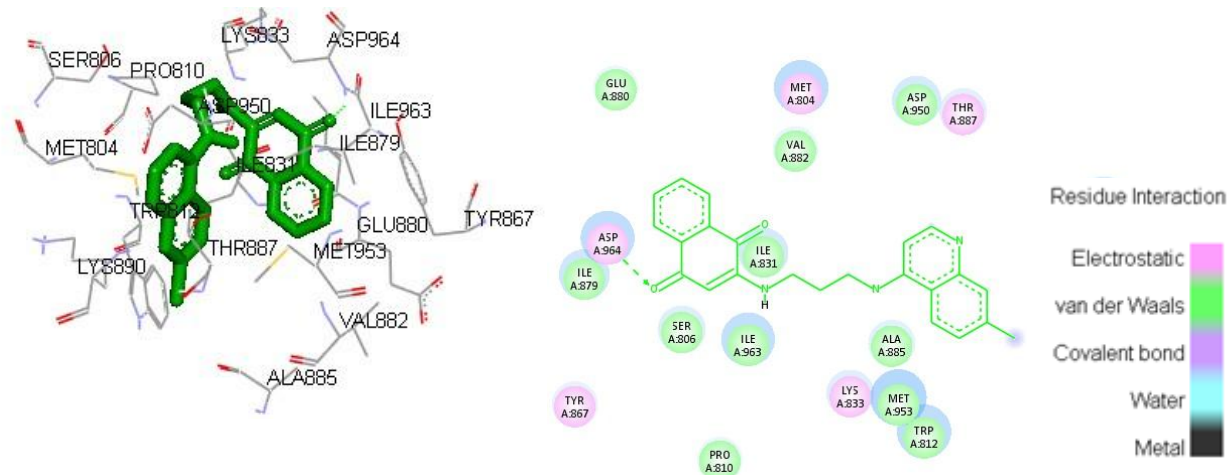


Figura 38. Interações do complexo PI3K e o ligante 120.

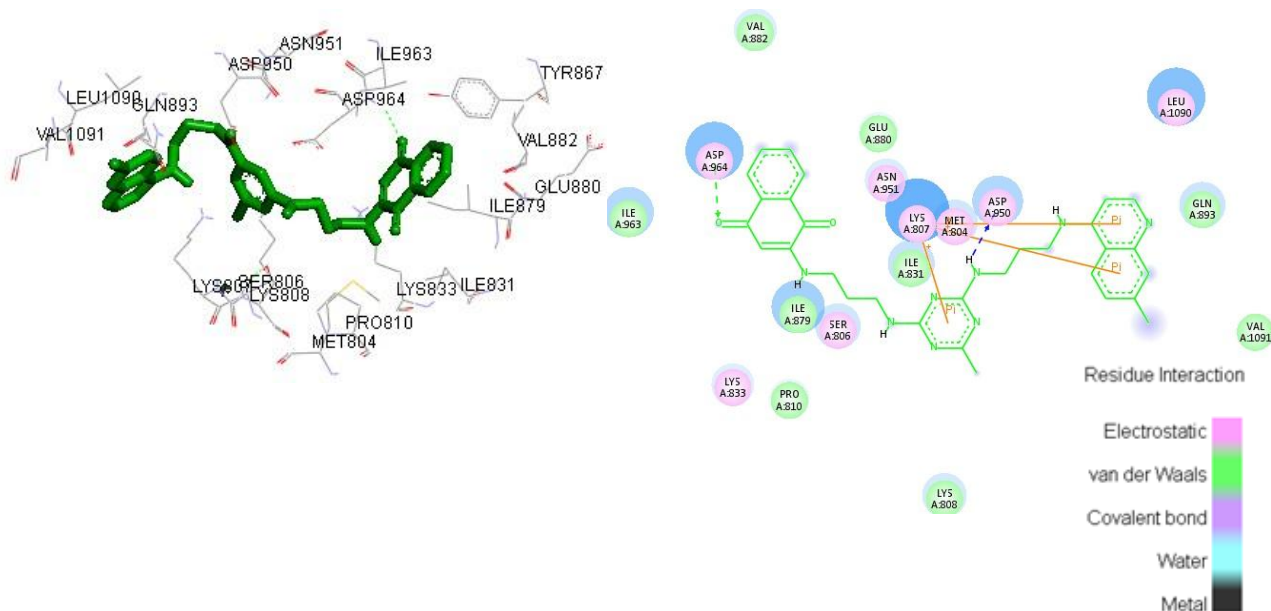
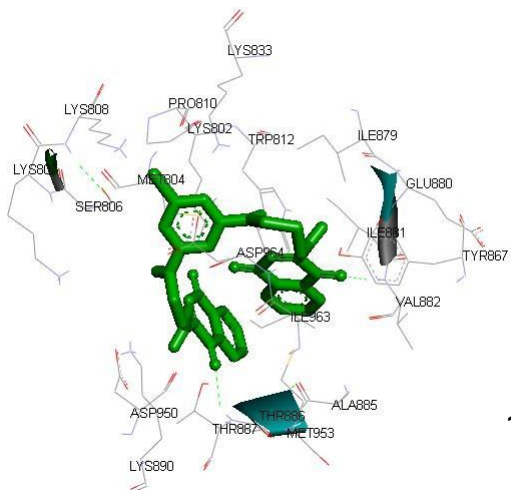
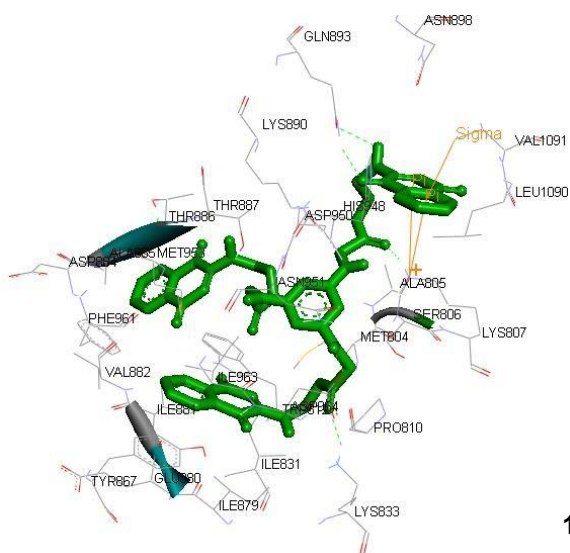
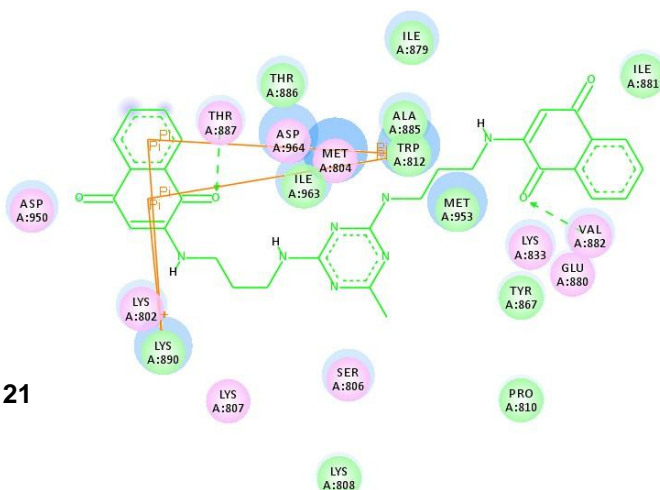


Figura 39. Interações do complexo PI3K e o ligante 128.

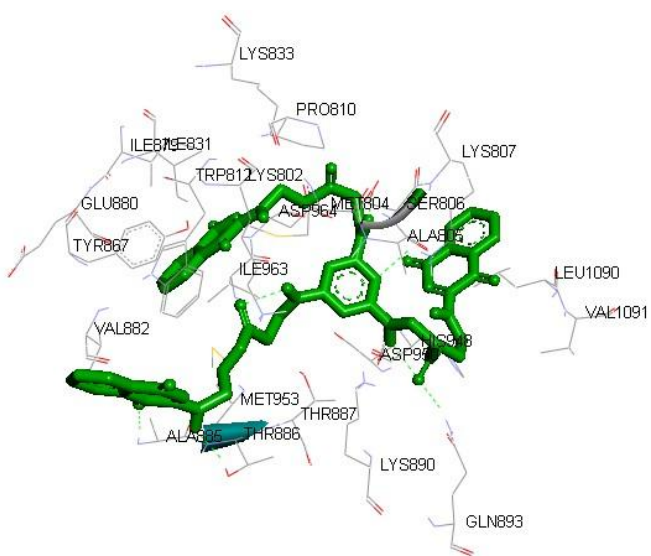
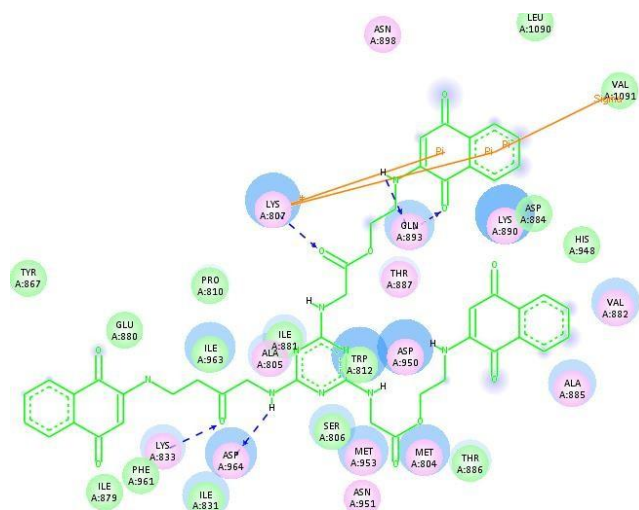
A Figura 40 contempla os compostos contendo apenas os núcleos naftoquinônicos e triazínicos (121, 122, 123, 124 e 125).



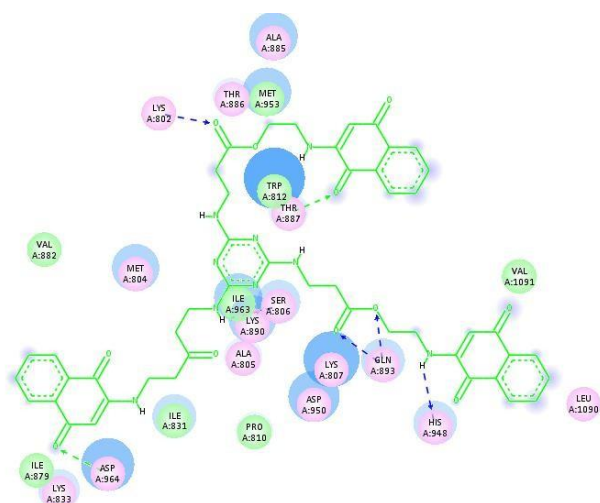
121



122



123



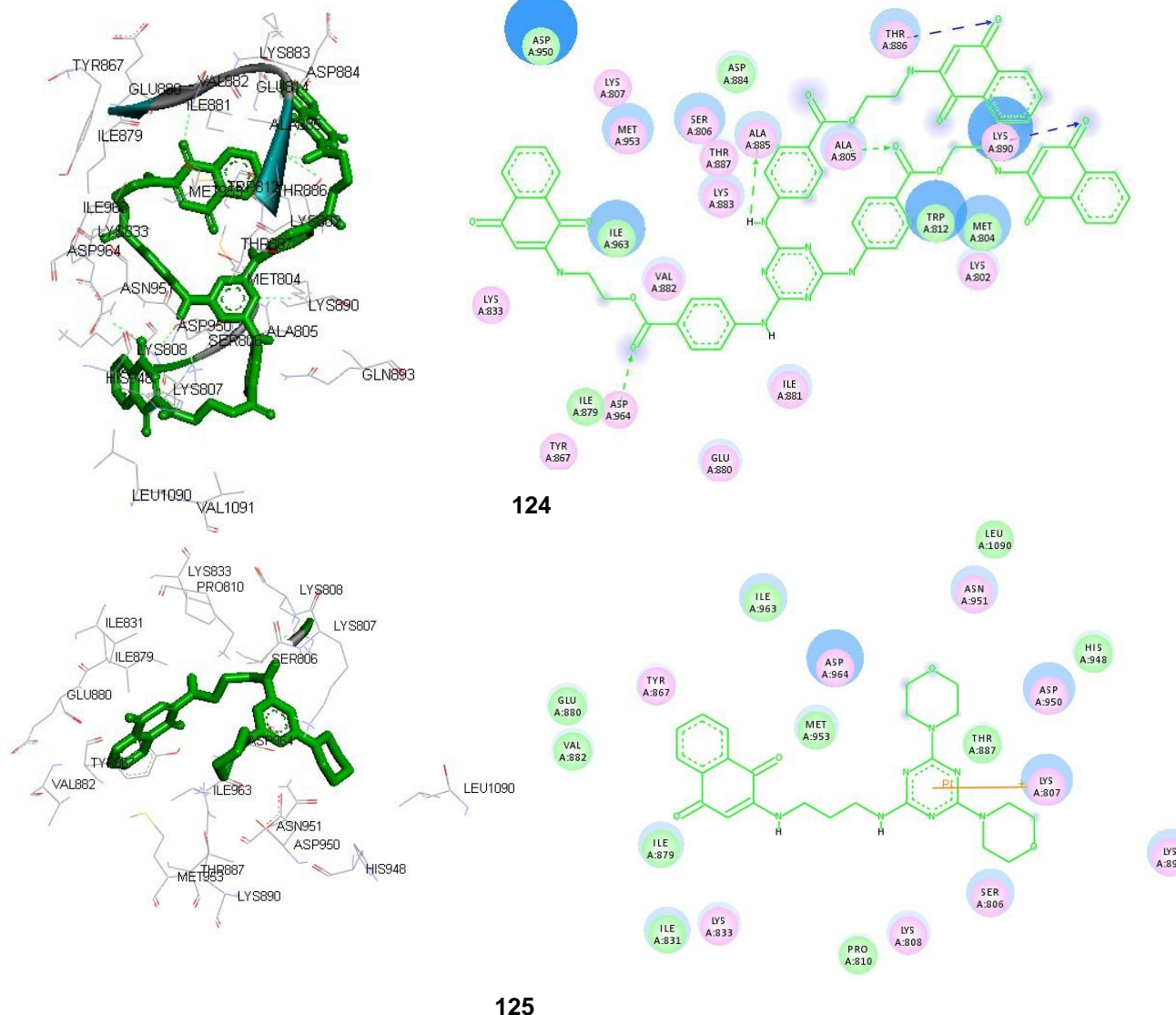


Figura 40. Interações do complexo PI3K e os ligantes **121**, **122**, **123**, **124** e **125**.

Conforme observado na Figura 40, descrita acima, a substância **121** apresenta interação eletrostática das carbonilas das diferentes naftoquinonas com os resíduos de aminoácidos treonina-887 e valina-882. Há ainda interação do tipo π com a lisina-890 e triptofano-812.

A substância **122** exibe interação eletrostática de uma carbonila naftoquinônica e N-H com glutamina-893; da lisina-807 realizando interação π com o núcleo naftoquinônico e ligação de hidrogênio com a carbonila deste núcleo. Além dessas interações, nota-se que o resíduo de ácido aspártico-964 estabelece ligação de hidrogênio com N-H e a lisina-833 com a carbonila.

O composto **123**, por sua vez, apresenta as interações eletrostáticas da carbonila de uma naftoquinona com o resíduo de ácido aspártico-964; de outra carbonila naftoquinônica com treonina-887, além das interações das carbonilas com a lisina-802, glutamina-893 e histidina-948.

Para a substância **124**, tem-se interação eletrostática das carbonilas de diferentes núcleos naftoquinônicos com os aminoácidos lisina-890 e treonina-886, respectivamente; ademais, observa-se interações entre a carbonila do ácido benzóico com o ácido aspártico-964 e alanina-805 e do grupamento amina (N-H) com a alanina-885. Finalmente, o composto **125** exibiu interação eletrostática tipo π com o resíduo de aminoácido lisina-807.

Em suma, a ancoragem molecular dos híbridos triazino-naftoquinônicos revelou que os resíduos do ácido aspártico-964 e lisina-807 aparentam contribuir diretamente para energia de estabilização do complexo formado entre receptor/ligante.

A ancoragem molecular em PI3K dos híbridos triazino-quinolínicos **126** e **127** está exibida na Figura 41.

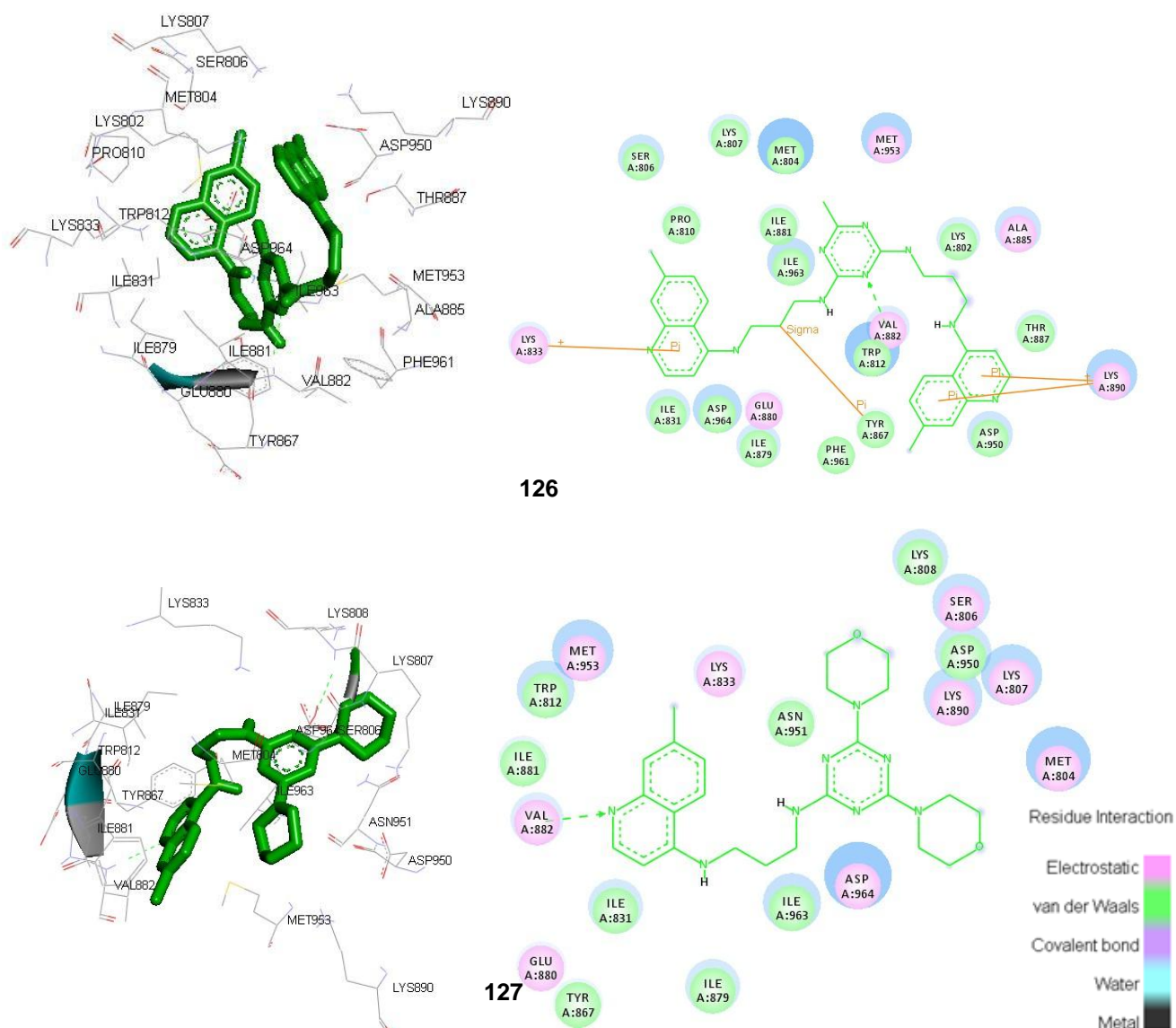


Figura 41. Interações do complexo PI3K e os ligantes **126** e **127**.

A substância **126** apresenta, dentre as várias interações de van der Waals, interações eletrostáticas do tipo π de ambos os núcleos quinolínicos com os resíduos de aminoácidos lisina-833 e lisina-890. Além disso, o resíduo de valina-882 interage com o núcleo triazínico, formando uma ligação de hidrogênio.

Para o composto **127**, observa-se a formação de uma ligação de hidrogênio do resíduo de aminoácido valina-882 com o nitrogênio quinolínico.

Desta forma, no que se refere aos híbridos triazino-quinolínicos **126** e **127**, a ancoragem molecular sugere participação importante do resíduo de aminoácido valina-882 na magnitude da energia de interação receptor/ligante.

4.1.2. Ancoragem molecular: enzima AMPK

A ancoragem dos controles para AMPK está mostrada na Figura 42.

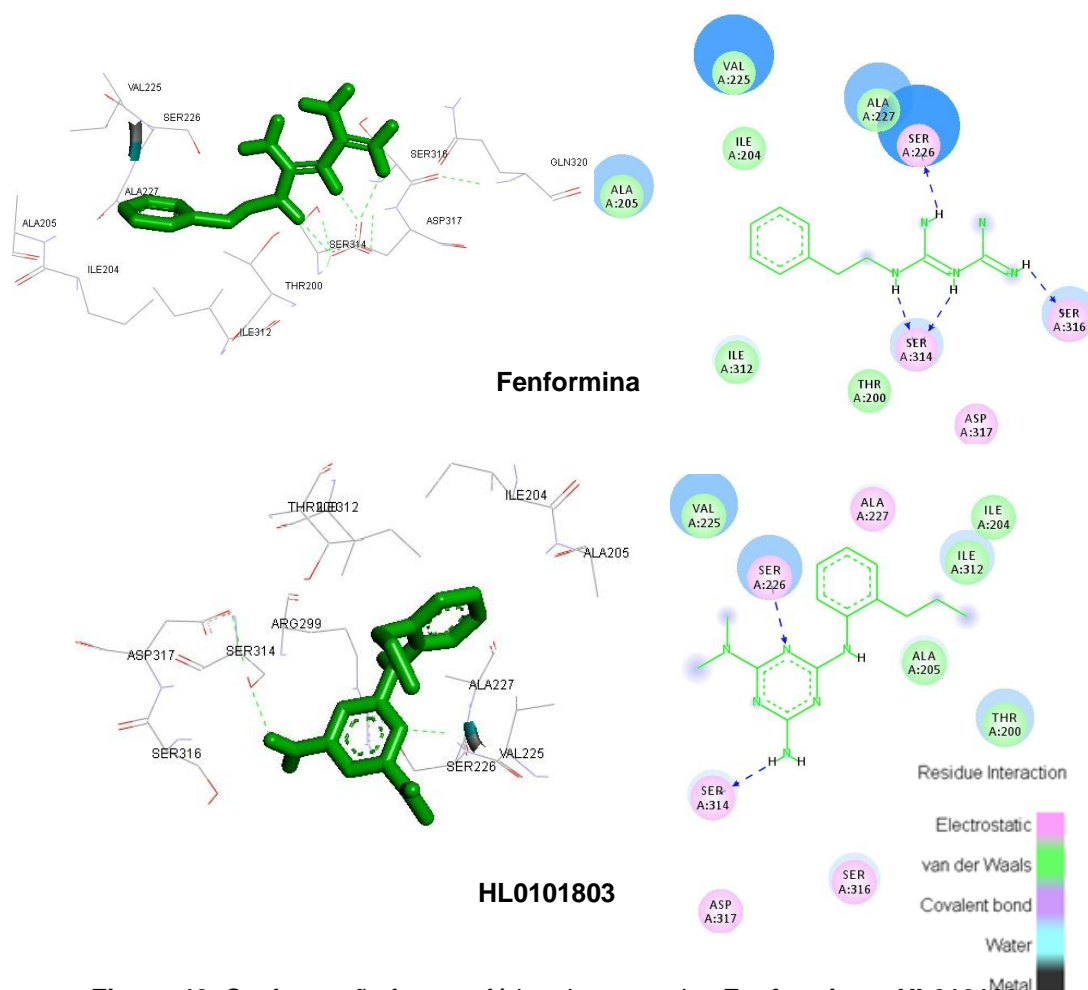


Figura 42. Conformação farmacofórica dos controles **Fenformina** e **HL0101803** (verde) com o sítio ativo da enzima AMPK.

A conformação farmacofórica de ambos os controles revela a participação de dois resíduos de aminoácidos em comum, serina-226 e serina-314, realizando ligações de hidrogênio com N-H da estrutura dos fármacos. Para a fenformina, existe ainda outra ligação de hidrogênio do resíduo de serina-316 com NH da imina terminal.

O híbrido contendo apenas os núcleos naftoquinônico e quinolínico (**120**) apresenta todas as três interações presentes na Fenformina, embora a serina-226 realize ligação de hidrogênio com a carbonila naftoquinônica. Além disso, o resíduo de alanina-227 também estabelece ligação de hidrogênio com a mesma carbonila (Figura 43).

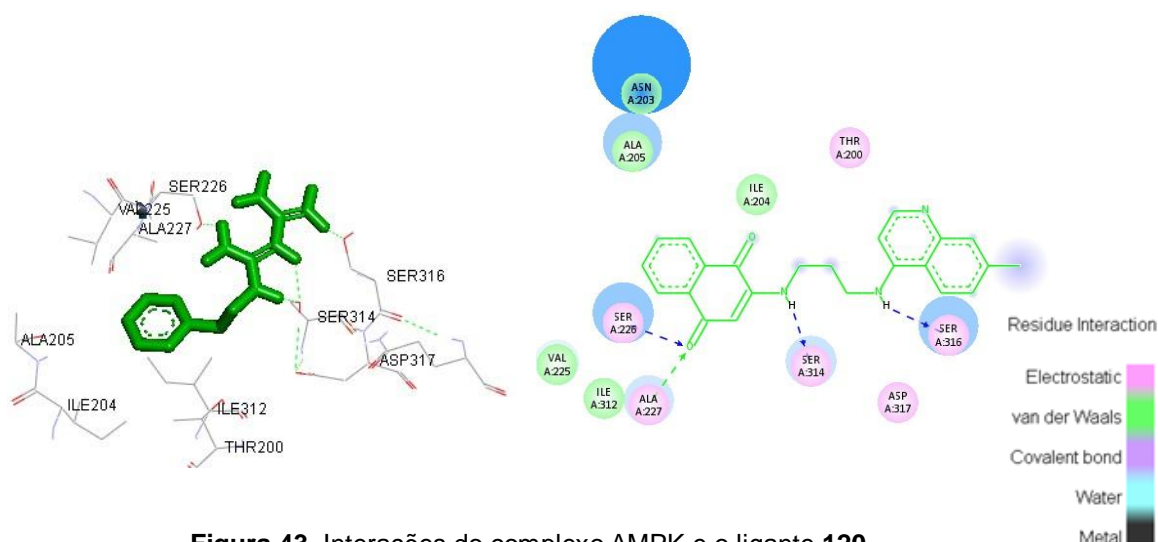


Figura 43. Interações do complexo AMPK e o ligante **120**.

Para o híbrido contendo os três núcleos (**128**), o resíduo de serina-314 participa fazendo duas ligações de hidrogênio com os nitrogênios da 1,3-propanodiamina que conecta a triazina à naftoquinona. Além disso, os resíduos serina-226, serina-316 e alanina-227 participam com interações eletrostáticas (Figura 44).

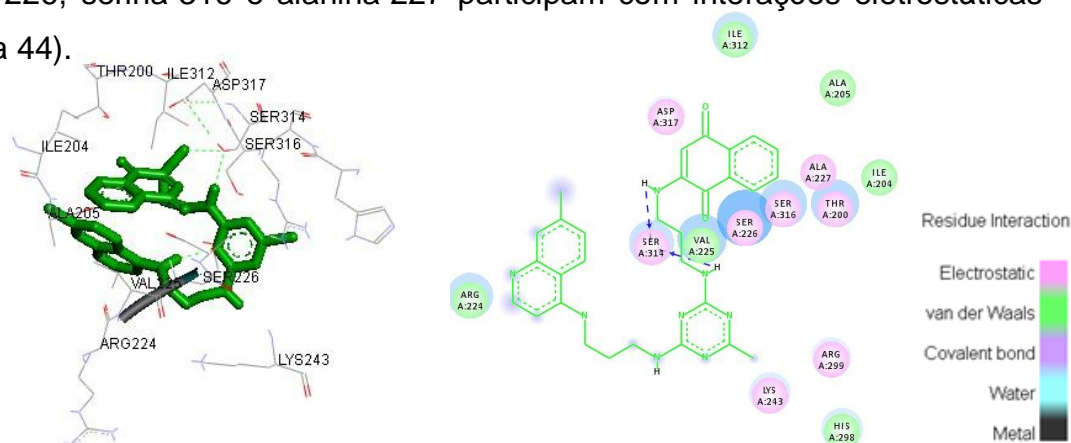
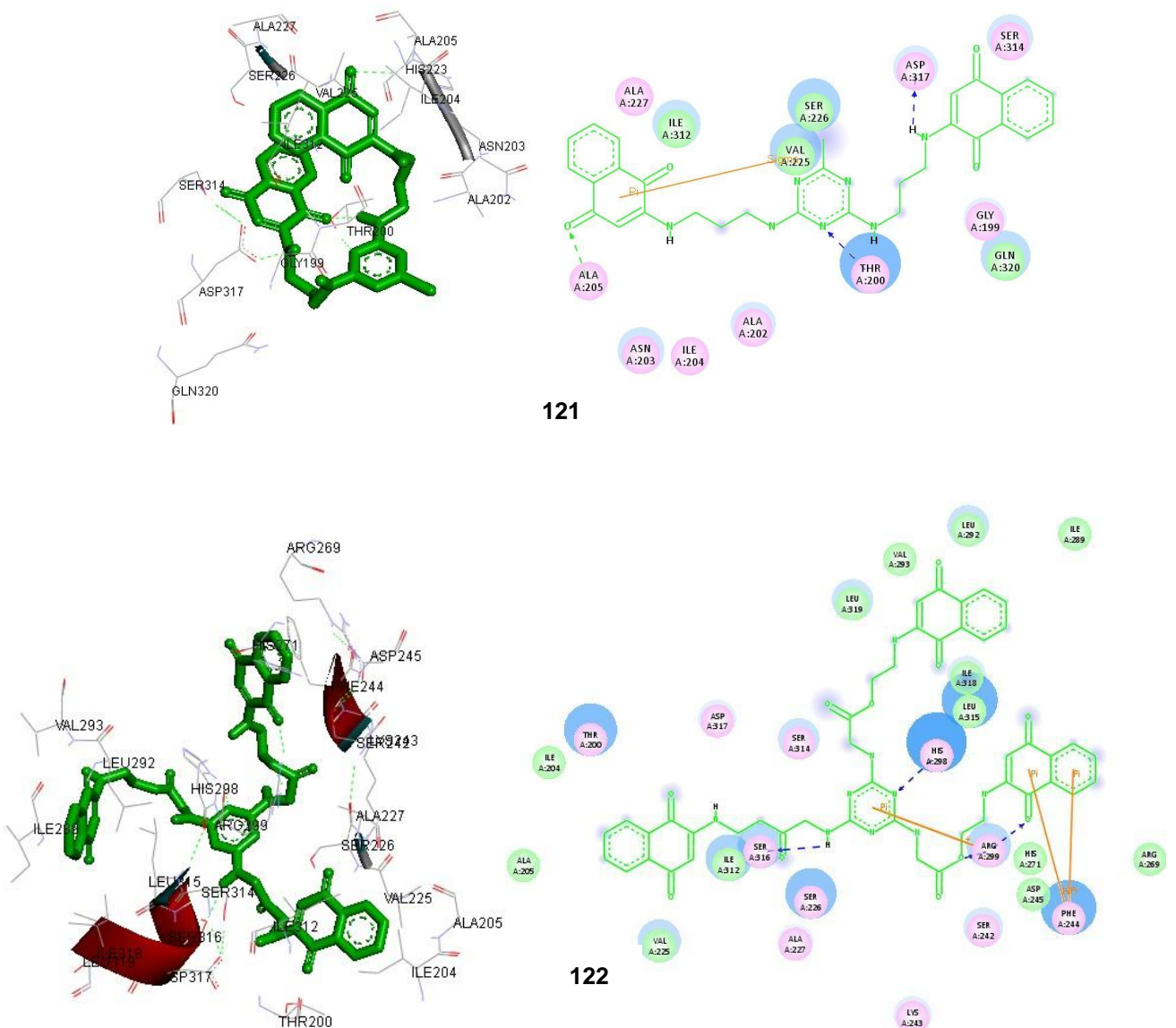
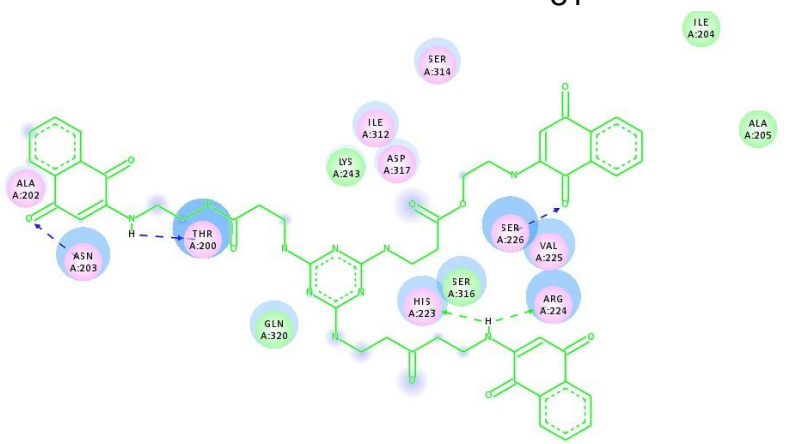
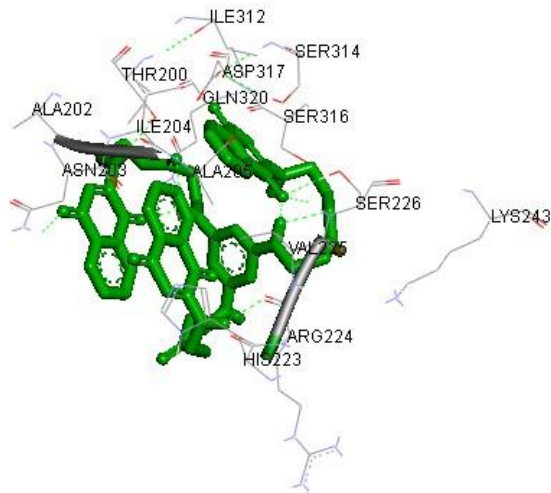


Figura 44. Interações do complexo AMPK e o ligante **128**.

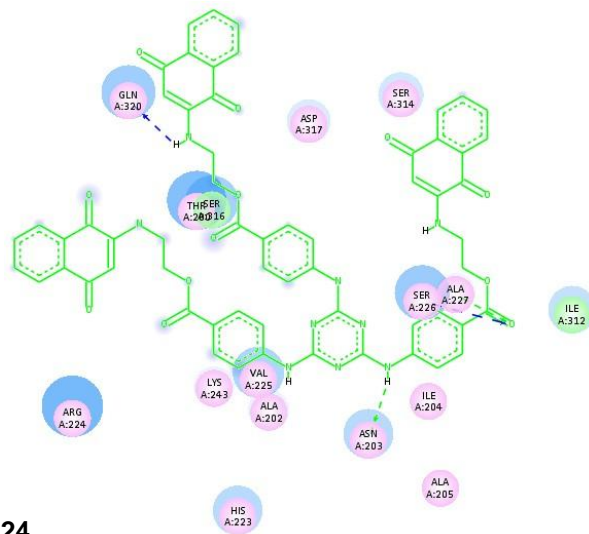
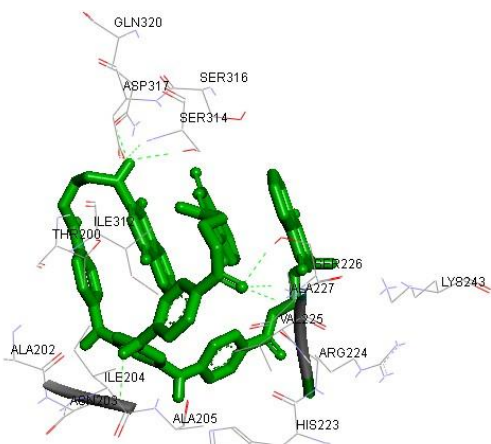
As interações dos híbridos moleculares contendo exclusivamente os núcleos naftoquinônico e triazínico **121**, **122**, **123**, **124** e **125** com a enzima AMPK estão exibidas na Figura 45.

Para o composto **121**, observa-se a interação eletrostática do ligante com o resíduo de aminoácido serina-314. Também há ligações de hidrogênio com o resíduo de ácido aspártico-317 e N-H naftoquinônico, alanina-205 com a carbonila naftoquinônica, treonina-200 com o nitrogênio triazínico. Além disso, percebe-se uma interação de van der Waals do anel triazínico com o resíduo de valina-225.

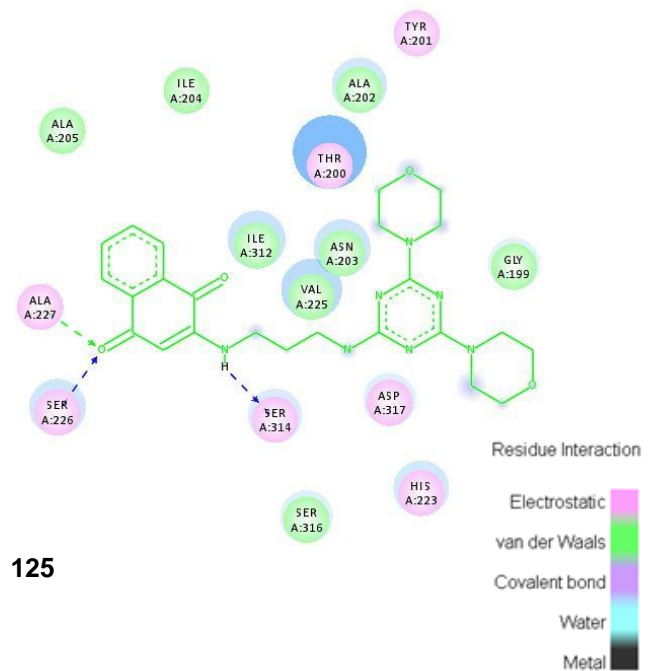
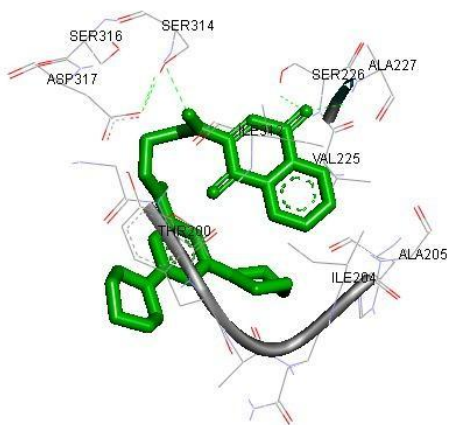




123



124



125

Residue Interaction

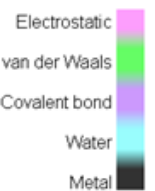


Figura 45. Interações do complexo AMPK com os ligantes 121, 122, 123, 124 e 125.

O híbrido-alvo **122** apresenta interações eletrostáticas com o resíduo de serina-314 e ácido aspártico-317, além de ligações de hidrogênio da histidina-298 com nitrogênio triazínico, serina-316 com N-H da triazina e arginina-299 com a carbonila naftoquinônica. O mesmo resíduo de aminoácido arginina-299 realiza interações do tipo π de natureza eletrostática com o núcleo triazínico. Por fim, observa-se a fenilalanina estabelecendo também interações π de mesma natureza com o núcleo naftoquinônico.

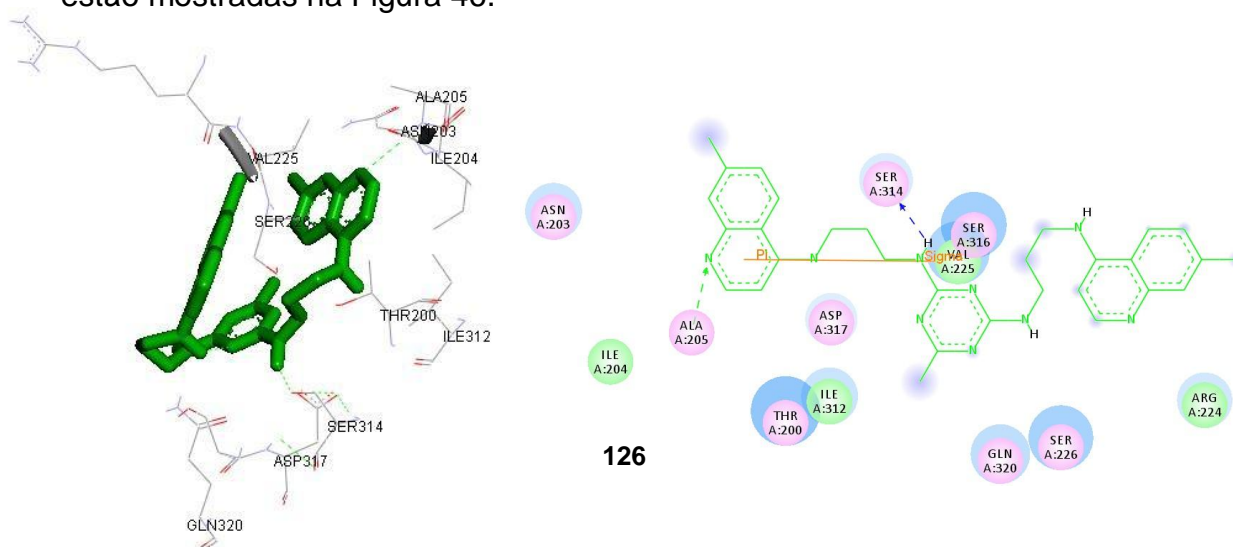
O último éster triazino-naftoquinônico, **123**, exibiu interações eletrostáticas com o resíduo de serina-314 e ácido aspártico-317. Notam-se ligações de hidrogênio da serina-226 com carbonila naftoquinônica, da asparagina-203 com carbonila do éster e da histidina-223 e arginina-224 com um mesmo N-H naftoquinônico.

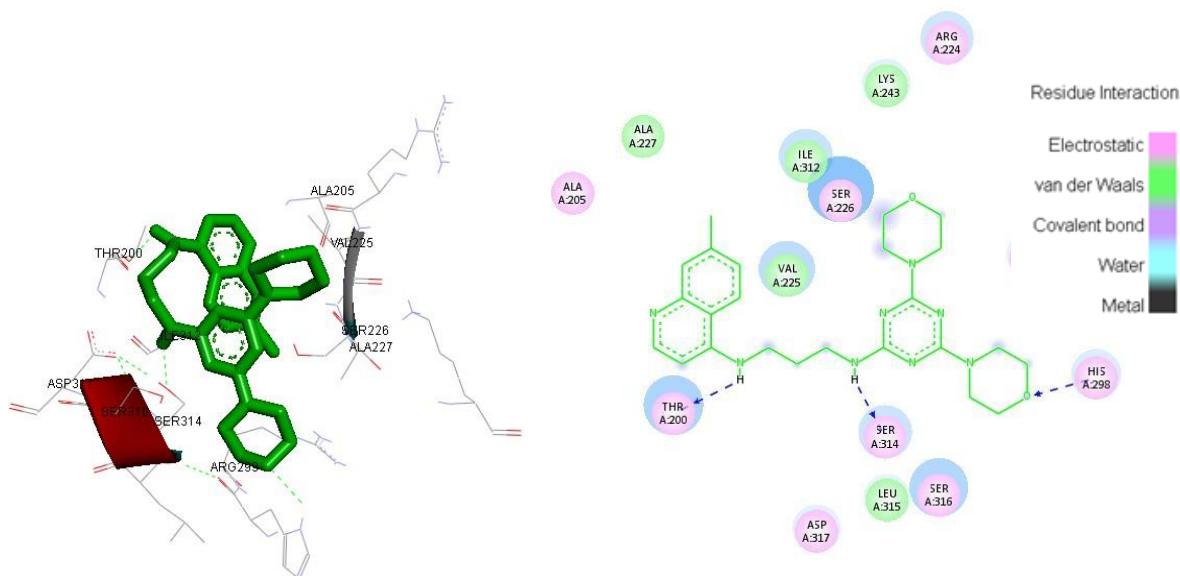
Para o composto **124**, percebem-se interações eletrostáticas com os resíduos de serina-314 e ácido aspártico-317; ligações de hidrogênio com serina-226 e alanina-227 com a carbonila de benzoato, asparagina-203 com N-H triazínico e glutamina-320 com N-H naftoquinônico.

Finalmente, o híbrido **125** apresenta interação eletrostática com resíduo de ácido aspártico-317 e ligações de hidrogênio da serina-314 com N-H naftoquinônico e serina-226 e alanina-227 com uma mesma carbonila naftoquinônica.

Em suma, os resíduos de serina-314, serina-226 e ácido aspártico-317 realizam interações eletrostáticas com os ligantes híbridos triazino-naftoquinônicos e tem grande contribuição para magnitude da energia de interação do complexo formado.

Por fim, as interações dos híbridos triazino-quinolínicos (**126** e **127**) estão mostradas na Figura 46.





127

Figura 46. Interações do complexo AMPK com os ligantes **126** e **127**.

Para ambos os complexos, observam-se as interações eletrostáticas em comum dos ligantes com os resíduos de ácido aspártico-317, serina-226 e serina-316. Para o ligante **126**, percebem-se as ligações de hidrogênio da serina-314 com N-H triazínico, da alanina-205 com o nitrogênio do núcleo quinolínico e da valina realizando interação π de natureza de van der Waals com o núcleo quinolínico.

No caso do composto **127**, também é vista a ligação de hidrogênio da serina-314 com N-H triazínico, além das ligações de hidrogênio da treonina-200 com N-H quinolínico e do resíduo de histidina-298 com o oxigênio morfolínico.

Como é possível notar, o controle HL010183 trata-se de uma 1,3,5-triazina-2,4,6-N-trissubstituída, ou melamina. A interação do N-H ligado ao núcleo triazínico encontrada para os ligantes **126** e **127** também está presente no complexo do controle HL010183 com AMPK. Além disso, em todas as substâncias, este resíduo realiza interação eletrostática com os ligantes, sugerindo que este é um ponto de ligação importante para estabilização do complexo.

4.2. Síntese Orgânica

Após análise prévia das energias de interação dos ligantes com as enzimas PI3K e AMPK por meio de ancoragem molecular, partiu-se para as tentativas de síntese das substâncias propostas.

4.2.1. Síntese dos híbridos moleculares derivados da naftoquinona e quinolina

Uma possível análise retrossintética para o composto contendo os núcleos naftoquinônico e quinolínico (**120**) está demonstrada na Figura 47.

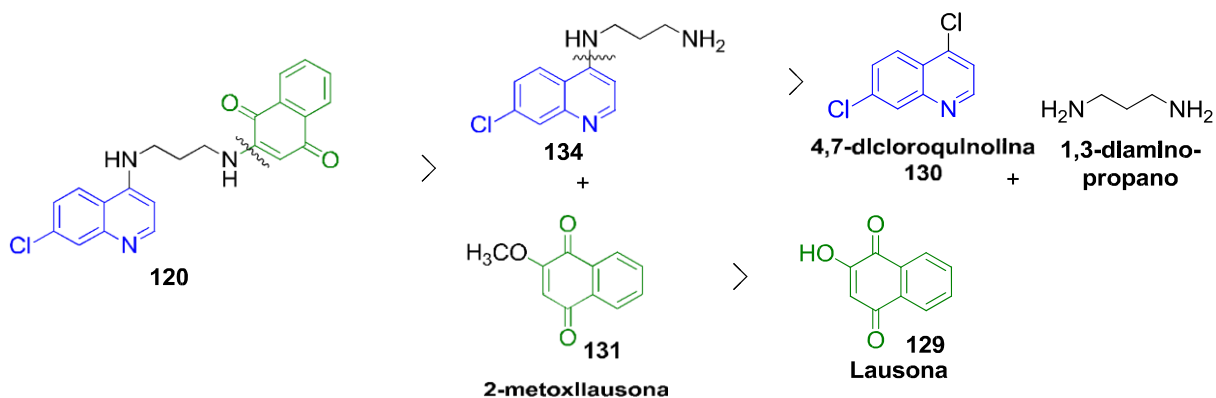


Figura 47. Análise retrossintética para preparação da substância **120**.

Essa rota sintética foi julgada como a mais adequada para tentativa inicial de obtenção do produto alvo **120** por precisar de condições reacionais mais brandas, uma vez que a substituição da metoxila no composto **131** por aminas foi descrito por nosso grupo de pesquisas previamente.⁷⁶

Deste modo, iniciou-se a síntese da substância **120** pela preparação da 2-metoxilausona **131**. Assim, seguindo a metodologia de Panichayupakaranant e Reanmongko (2002),¹⁰⁸ reagiu-se a Lausona **129** com metanol e ácido clorídrico sob refluxo (Figura 48). A 2-metoxilausona (**131**) foi obtida após 4h de reação como um sólido cristalino amarelo claro, recristalizado em etanol, com rendimento de 90% e ponto de fusão de 179-180 °C (lit.: 182-183 °C).

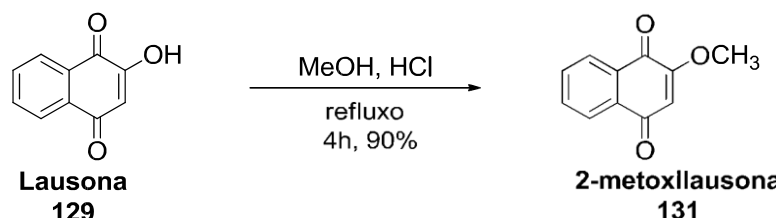


Figura 48. Preparação da 2-metoxilausona.

O espectro de IV do produto obtido não exibe banda larga em 3500-3200

cm^{-1} , característica de deformação axial de OH, presente apenas no material de partida. Contudo, observam-se as bandas em 1214 cm^{-1} e 1044 cm^{-1} , indicando deformações axiais assimétrica e simétrica, respectivamente, de C-O-C proveniente da metoxila (Figura 49).

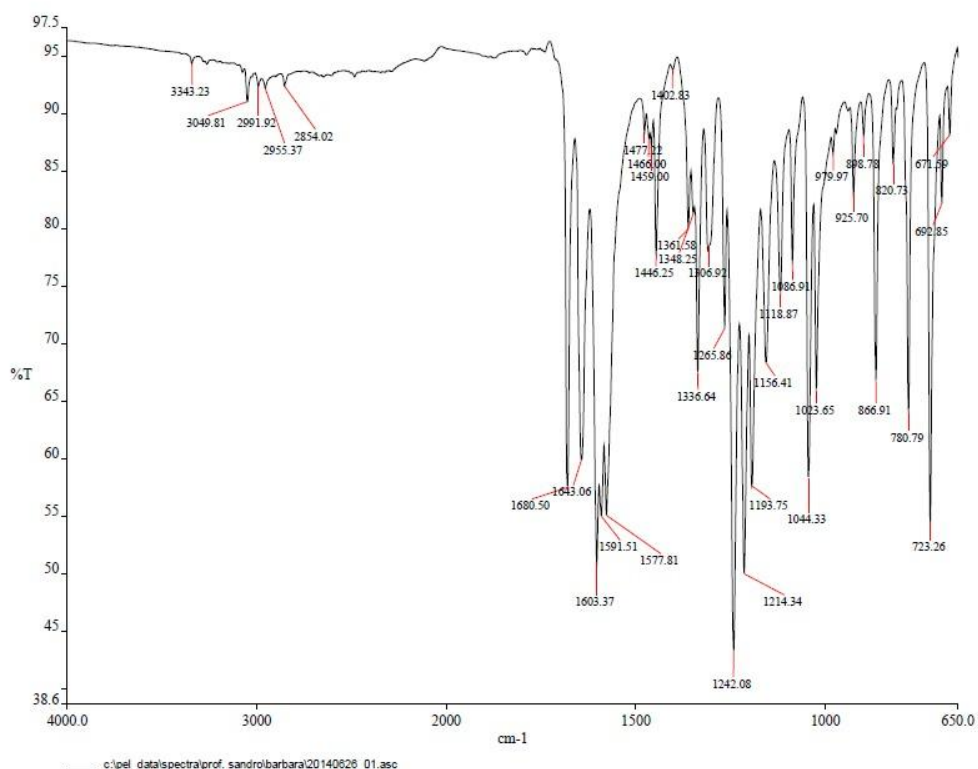


Figura 49. Espectro de IV da 2-metoxilausona **131**.

O espectro de RMN de ^1H da 2-metoxilausona exibiu sinais condizentes com os descritos na literatura¹⁰⁸, evidenciando o aparecimento de um singlete em 3,92 ppm, típico de hidrogênios metílicos da metoxila. Além disso, observaram-se um singlete em 6,19 ppm (referente ao H_A) e dois multipletos integrando para dois hidrogênios cada, um centrado em 8,12 ppm (H_B) e outro em 7,76 ppm (H_C) – Figura 50.

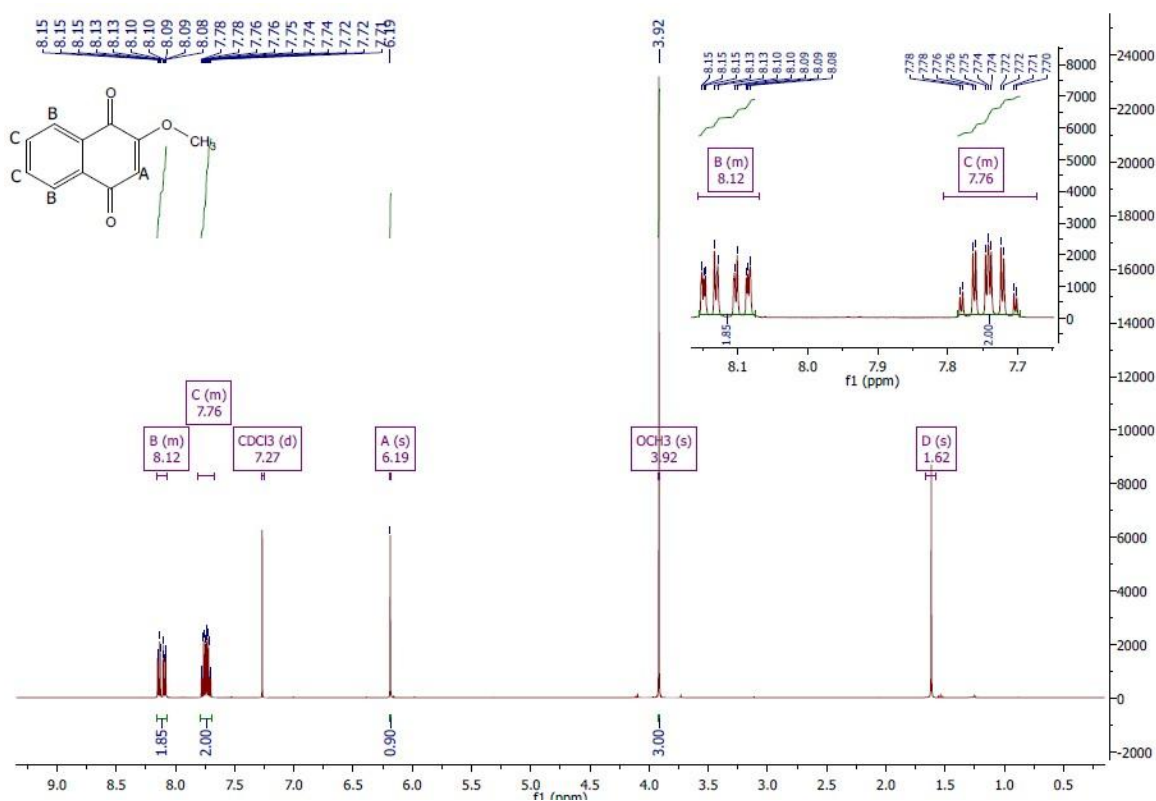


Figura 50. Espectro de RMN de ¹H da 2-metoxilausona **131**.

Em seguida, após a preparação da 2-metoxilausona **131**, eletrófilo na síntese da molécula-alvo **121**, preparou-se a diamina **134** seguindo procedimento experimental descrito por Carmo e colaboradores¹⁰⁹, como demonstrado na Figura 51.

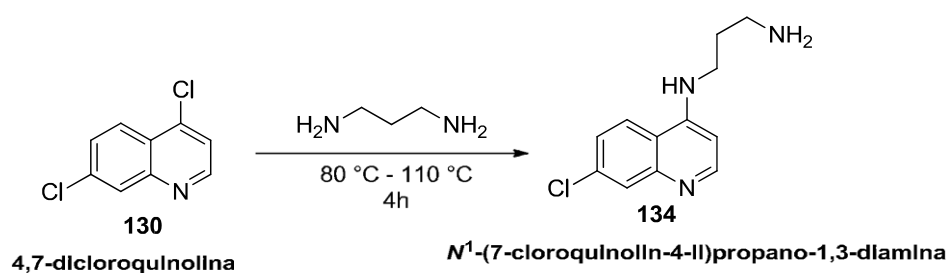


Figura 51. Preparação do composto **134**.

A diaminoquinolina **134** foi sintetizada com rendimento de 87% após 4h sob aquecimento. Foi obtida como um sólido branco e intervalo de fusão de 146-148 °C, condizente com o da literatura, 145-147 °C.¹⁰⁹ A análise do espectro de infravermelho do composto revela as bandas em 3264 cm⁻¹ (deformação axial de NH), 2937 cm⁻¹ (deformação axial assimétrica de

metileno), 2866 cm^{-1} (deformação axial simétrica de metileno), além das bandas de deformação angular de NH em 1587 cm^{-1} , conforme mostrado na Figura 52.

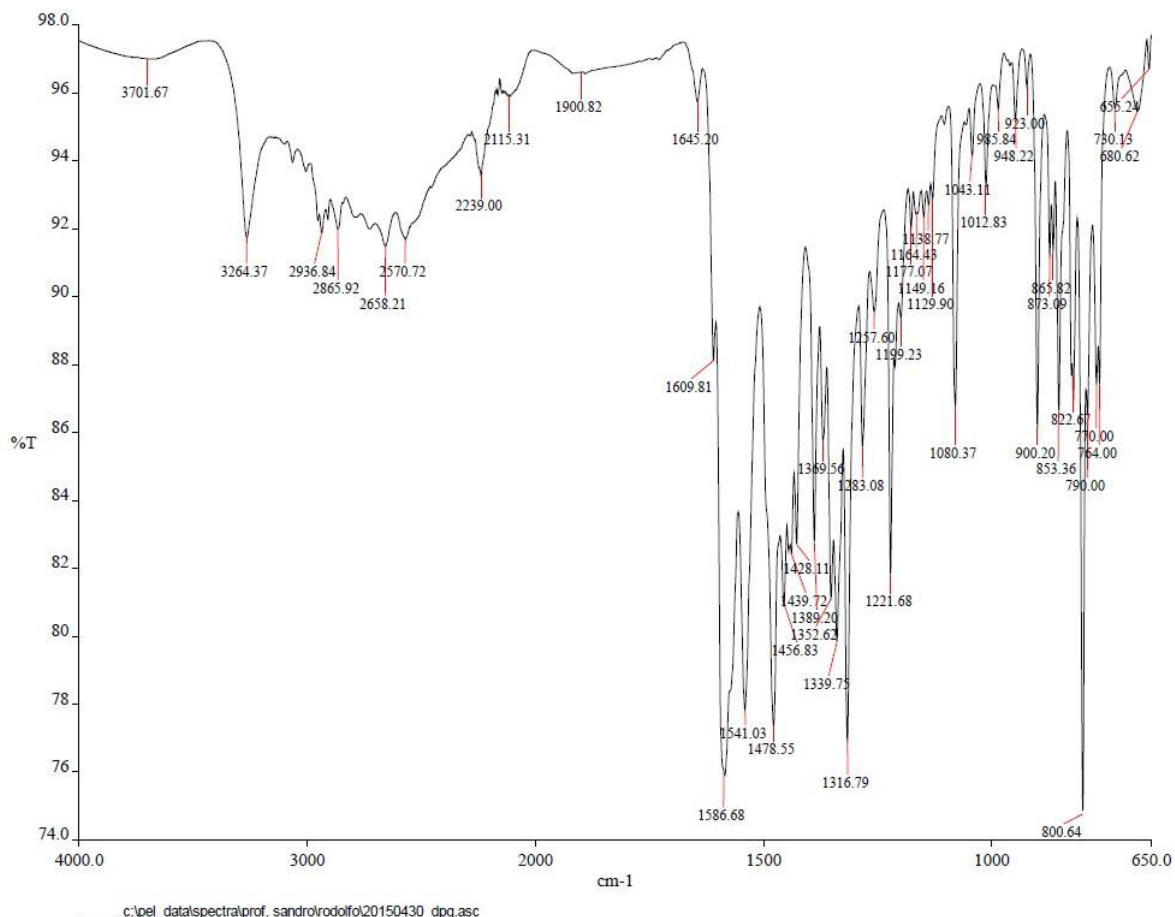


Figura 52. Espectro de IV do composto **134**.

A análise do espectro de RMN de ^1H confirma a formação do produto esperado **134** (Figura 53). Devido à baixa solubilidade do composto nos solventes disponíveis para análise de ressonância, foi necessário fazer a dissolução do mesmo em uma mistura 1:1 (v/v) de MeOD/DMSO- d_6 .

Observa-se na expansão da região aromática (Figura 54) um dubleto com $J = 5,4\text{ Hz}$ em 8,40 ppm referente ao hidrogênio 2, acoplado com o hidrogênio 3 que aparece como um dubleto em 6,89 ppm. Nota-se também um dubleto em 8,18 ppm referente ao hidrogênio 5 que acopla com o hidrogênio 6 em 7,46 ppm com constante de acoplamento de 9,0 Hz. O mesmo hidrogênio 6 (duplo dubleto) ainda acopla com constante de 2,2 Hz com o hidrogênio 8 em 7,80 ppm.

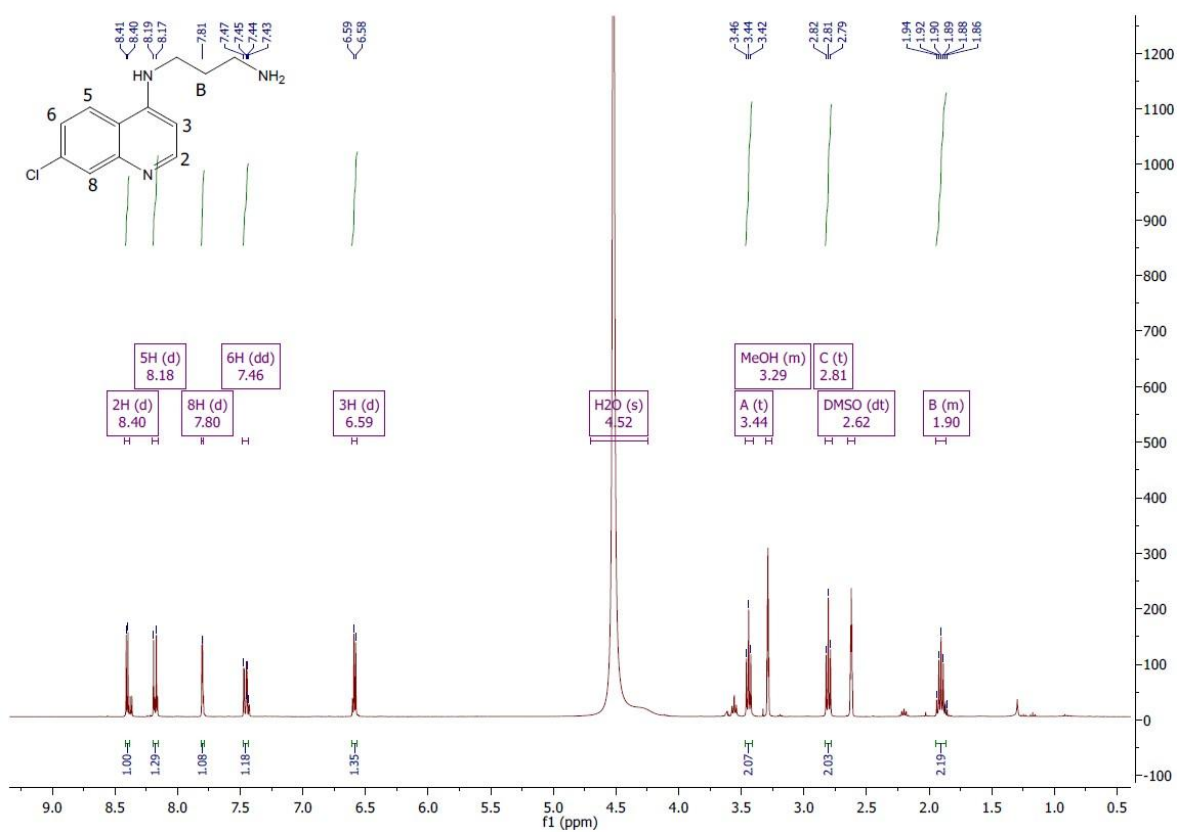


Figura 53. Espectro de RMN de ¹H do composto 134.

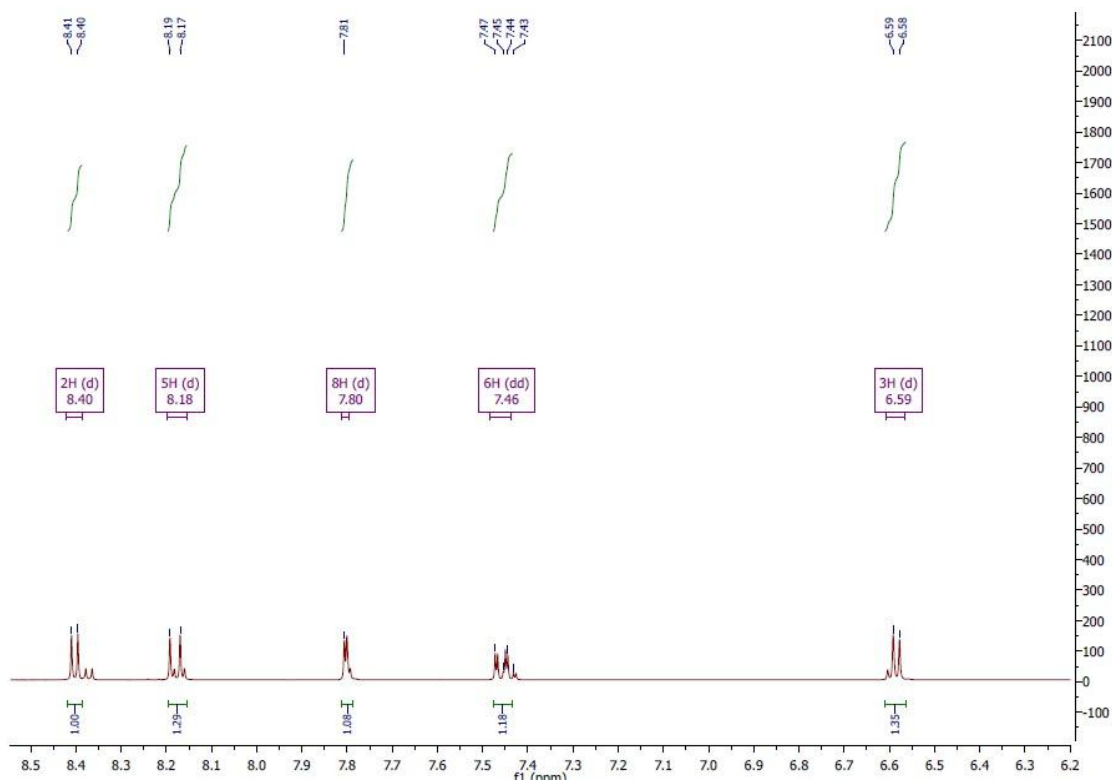


Figura 54. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ¹H do composto 134.

A expansão da região alifática exibida na Figura 55 revela ainda três sinais que comprovam a inserção da 1,3-propanodiamina na estrutura da 7-cloroquinolina. Observam-se dois tripletos, um em 3,44 ppm e outro em 2,81 ppm com $J = 7,0$ Hz, referentes aos metilenos vizinhos aos átomos de nitrogênio. Por fim, observa-se um multipletto centrado em 1,90 ppm referente ao metileno central da cadeia da 1,3-propanodiamina.

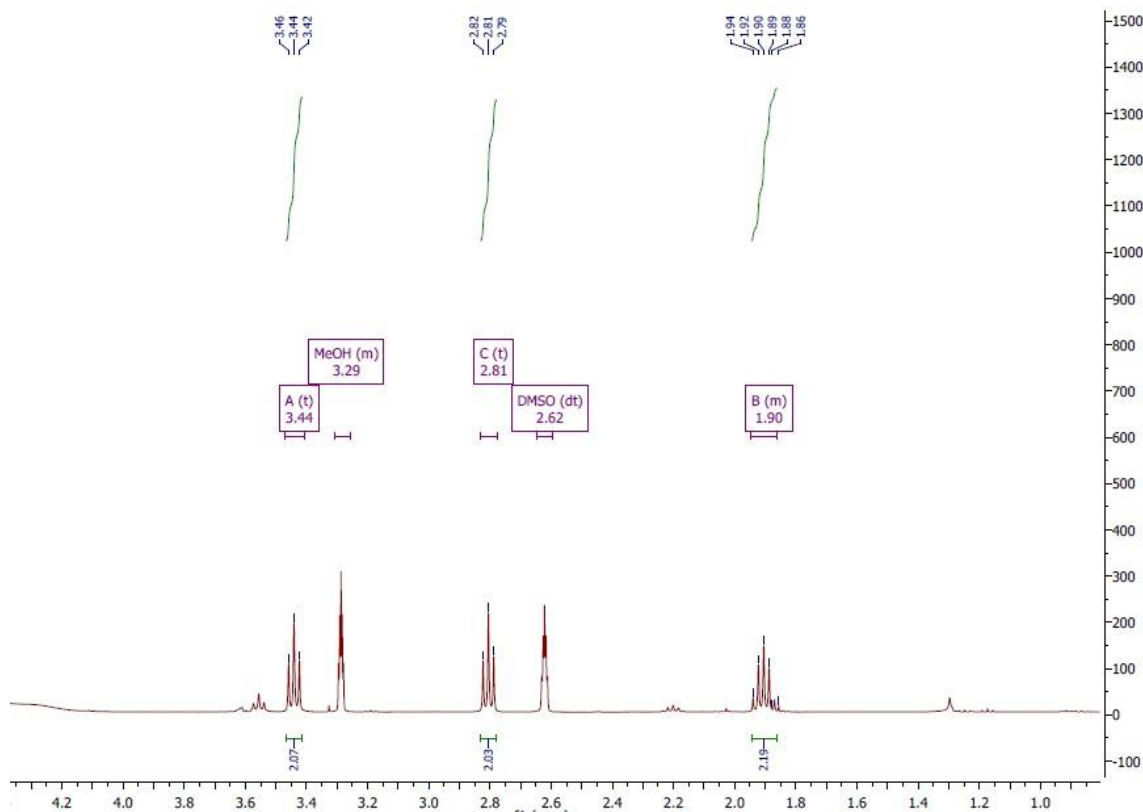


Figura 55. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto **134**.

De posse dos intermediários necessários para a síntese da molécula-alvo **120** contendo ambos os núcleos naftoquinônico e quinolínico, reagiram-se o nucleófilo **134** com a 2-metoxilausona **131** (eletrófilo da reação), em diferentes solventes e bases (Figura 60). Vale ressaltar que, independente da condição reacional empregada, a temperatura do sistema precisou ser mantida entre 40 °C e 50 °C de modo a manter solubilizados os materiais de partida.

Observou-se que os melhores resultados em termos de rendimento (84 %) foram obtidos em metanol utilizando um equivalente de Et_3N , Entrada 3 da Figura 56. Um resultado interessante é observado na Entrada 2: o tempo reacional diminui drasticamente quando se utiliza água como solvente. Nosso grupo de pesquisas publicou recentemente um trabalho de síntese de

derivados naftoquinônicos em água, mostrando a influência do efeito hidrofóbico no tempo reacional e rendimento.¹¹⁰ No caso deste sistema estudado percebeu-se forte influência do efeito apenas no tempo reacional. Uma explicação plausível para isso é que, por se tratarem de compostos hidrofóbicos, a frequência de colisões efetivas entre si tende a aumentar ao se repelirem das moléculas de água, implicando no decréscimo do tempo reacional por razões estatísticas.

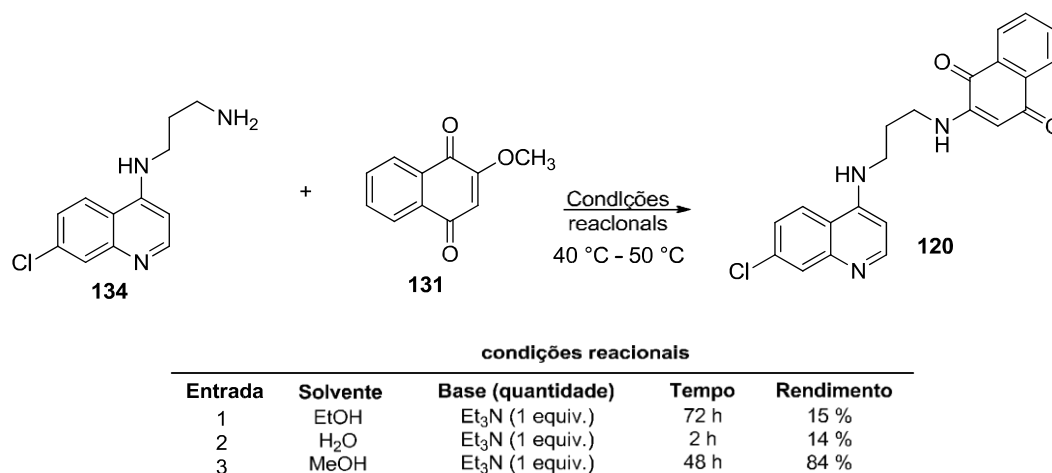


Figura 56. Síntese da molécula-alvo **120** contendo os núcleos naftoquinônico e quinolinico.

O metanol, solvente utilizado na Entrada 3 da Figura 56, possui polaridade e constante dielétrica intermediárias entre a água e o etanol (Tabela 2). Além disso, constatou-se que os materiais de partida foram mais solúveis em metanol a quente do que nos demais solventes. Possivelmente a maior solubilidade dos materiais de partida garantiu contato suficiente entre os reagentes para que se diminuísse o tempo reacional em relação ao etanol (Entrada 1) e maior rendimento em relação à água (entrada 3).

Tabela 2. Valores de Constante Dielétrica (ϵ) e Polaridade para os solventes utilizados na síntese do composto **120**.¹¹¹

Solvente	Constante Dielétrica (ϵ)	Polaridade (Debye)
Etanol	24,55	1,69 D
Água	33	1,70 D
Metanol	80	1,85 D

O produto foi obtido como um sólido alaranjado com ponto de fusão de

210-212 °C e rendimento de 84%. A análise de infravermelho do composto revela as bandas em 3371 cm^{-1} (deformação axial de NH), 3066 cm^{-1} (deformação axial dos hidrogênios ligados diretamente ao núcleo quinolínico), 2916 cm^{-1} (deformação axial assimétrica dos metilenos), 2866 cm^{-1} (deformação axial simétrica dos metilenos), 1677 cm^{-1} (deformação axial das carbonilas quinônicas), 1614 cm^{-1} (deformação axial da ligação dupla C=C conjugada), 1584 cm^{-1} (deformação angular N-H) e 1279 cm^{-1} (deformação axial C-N) – Figura 57.

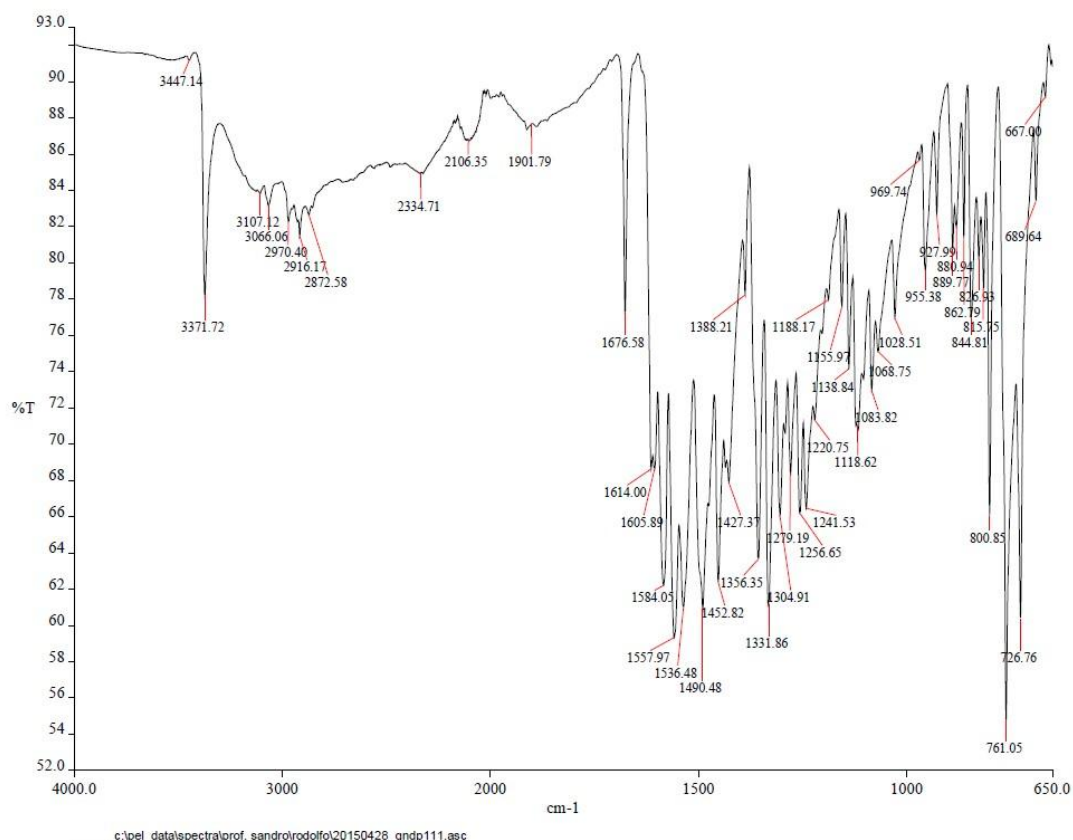


Figura 57. Espectro de IV do composto **120**.

A análise do espectro de RMN de ^1H corrobora com a assertiva de que o composto-alvo **120** foi sintetizado com sucesso utilizando esta metodologia – Figura 58.

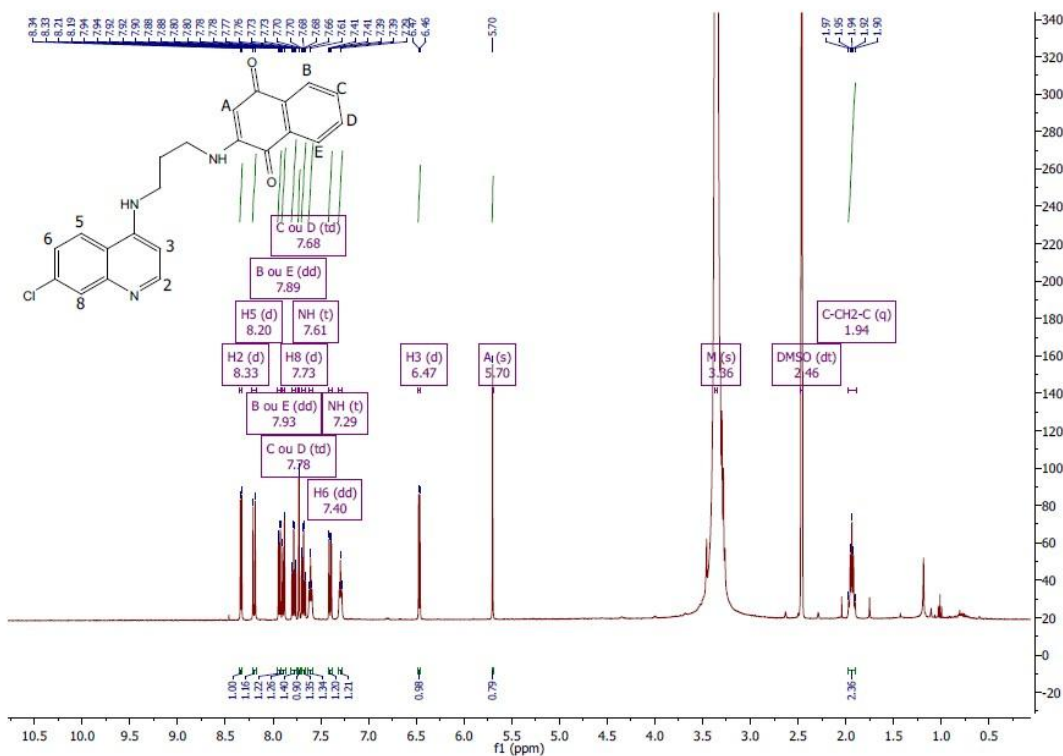


Figura 58. Espectro de RMN de ¹H do composto 120.

Nota-se que a atribuição inequívoca dos hidrogênios dos núcleos naftoquinônico e quinolínico da molécula foi possível utilizando apenas o espectro unidimensional de RMN de ¹H analisando os parâmetros: deslocamento químico, multiplicidade e constante de acoplamento. Além disso, a comparação de seu espectro com os espectros dos materiais de partida também foi bastante útil nessa atribuição.

Na região alifática, foi possível observar apenas um dos três sinais esperados com deslocamento químico de 1,94 ppm. Analisando-se sua multiplicidade (quintupeto, $J = 6,7$ Hz) e comparando-o com o espectro de RMN de ¹H da diaminoquinolina 134, conclui-se que se trata do metileno central entre dois outros metilenos. A ausência dos dois outros tripletos acontece, possivelmente, devido ao grande sinal de água em 3,36 ppm presente no solvente deuterado utilizado para a análise, DMSO-d₆. Isso encobriria os metilenos ausentes.

Na expansão da região alifática do espectro de RMN de ¹H, Figura 59, nota-se que uma série de picos emerge da linha de base, confundindo-se com o singleto alargado típico da água em DMSO-d₆. Além disso, outro fato que corrobora para essa hipótese é de os outros sinais estão desblindados em

relação ao metileno central por uma distância de aproximadamente 0,9 ppm, tanto no espectro da molécula-alvo **120** quanto na diamina **134** – Figura 57.

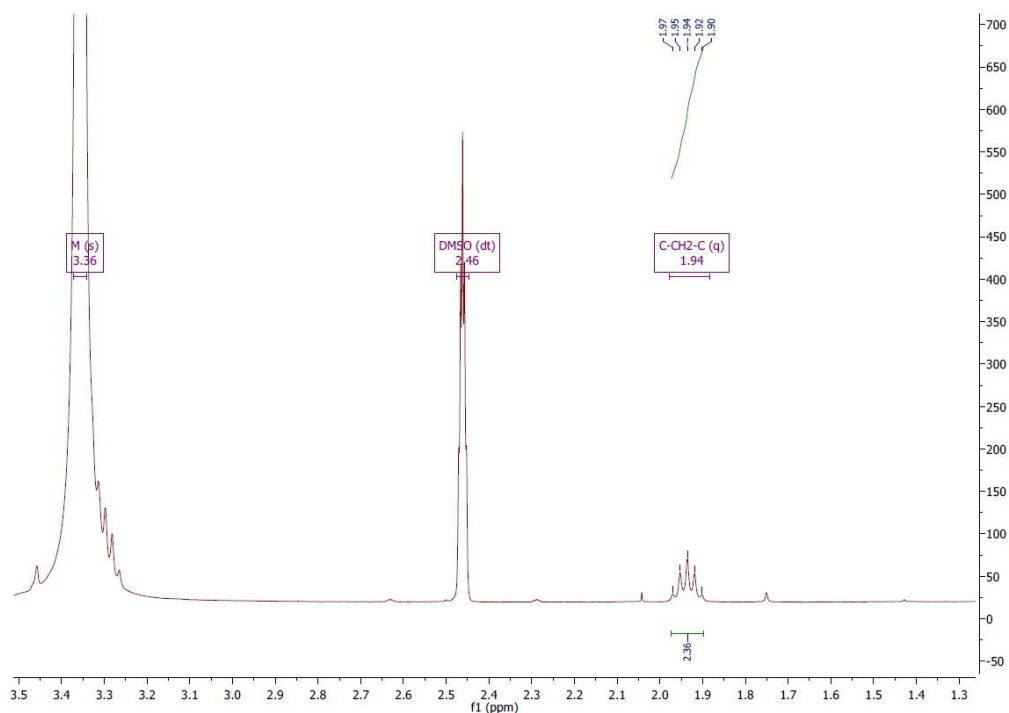


Figura 59. Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto **120**.

É importante destacar que, em virtude da baixa solubilidade deste composto nos demais solventes deuterados, não foi possível observar com clareza a presença dos outros sinais.

A região aromática mostrada na Figura 60 apresenta os hidrogênios do núcleo quinolínico e naftoquinônico. Os sinais do núcleo quinolínico assinalados são: dupletto 8,33 ppm referente ao hidrogênio 2 que acopla com o hidrogênio 3 em 6,47 ppm (dupletto) com constante $J = 5,4$ Hz; duplo dupletto em 7,40 ppm referente ao hidrogênio 6 que acopla com o hidrogênio 5 em 8,20 ppm com $J = 9,0$ Hz e com o hidrogênio 8 em 7,73 ppm com $J = 2,2$ Hz.

Os hidrogênios do núcleo naftoquinônicos foram assinalados como: os duplos dubletos em 7,93 ppm e 7,89 ppm com $J = 7,6$ Hz e 0,9 Hz referentes aos hidrogênios B e E; e os triplos dubletos em 7,78 ppm e 7,68 ppm referentes aos hidrogênios C e D.

Finalmente, ainda são observados dois tripletos, um em 7,61 ppm com $J = 6,1$ Hz e outro em 7,29 ppm com $J = 5,3$ Hz. Ambos se referem aos hidrogênios lábeis ligados aos átomos de nitrogênio.

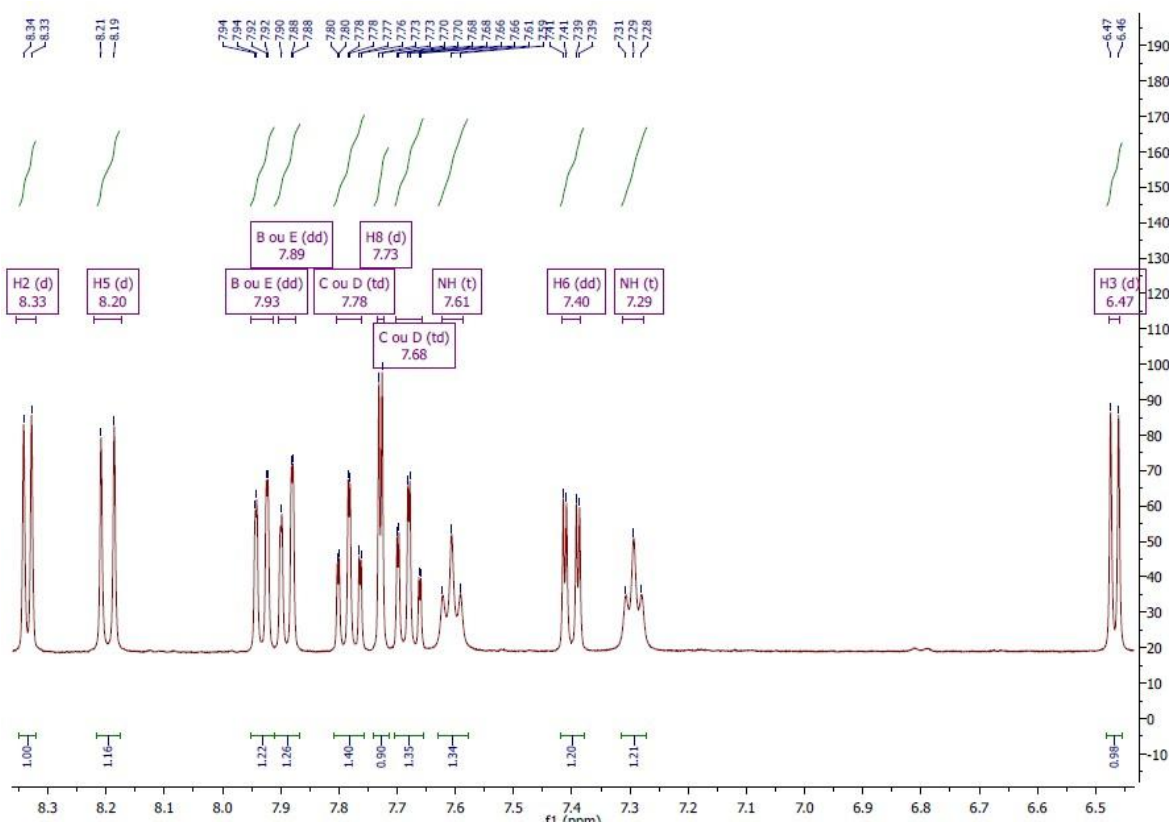


Figura 60. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 120.

O RMN de ^{13}C ainda mostra a presença de 19 sinais na região aromática, condizente com o número total de carbonos dos núcleos naftoquinônico e quinolínico (Figura 61).

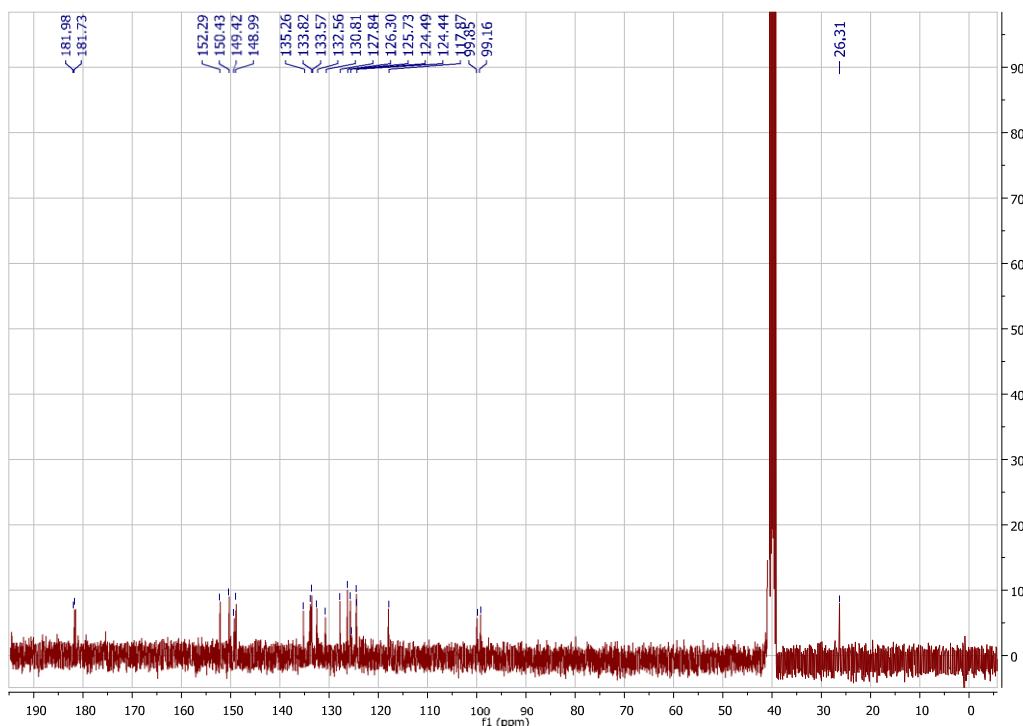


Figura 61. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **120**.

Observa-se também na região alifática apenas um dos três carbonos esperados, em 26,3 ppm. Ao se comparar ao espectro de RMN de ^{13}C da diamina **146**, somente um dos três carbonos é visível. Possivelmente, os demais carbonos estariam superpostos ao sinal do DMSO- d_6 . Além disso, as duas carbonilas da naftoquinona são perceptíveis em 181,9 ppm e 181,7 ppm.

Para atribuição dos carbonos, realizou-se o experimento de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C HSQC. Desta maneira, de posse do espectro de RMN de ^{13}C e do mapa de correlação HSQC, foi possível determinar os deslocamentos químicos específicos de cada um dos carbonos ligados aos hidrogênios. A Figura 62 mostra a expansão do mapa de correlação e a estrutura com os deslocamentos químicos assinalados. Os valores em vermelhos referem-se aos deslocamentos dos carbonos.

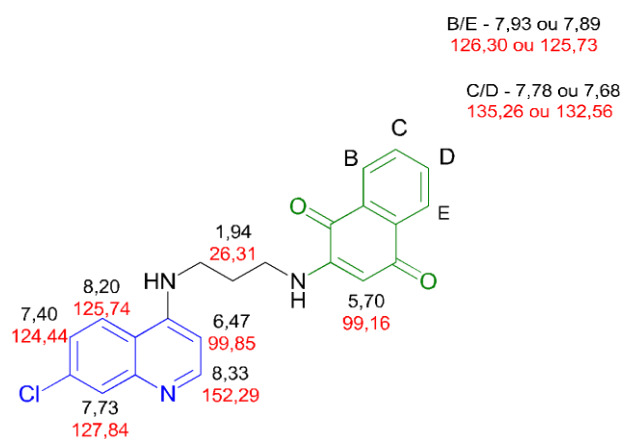
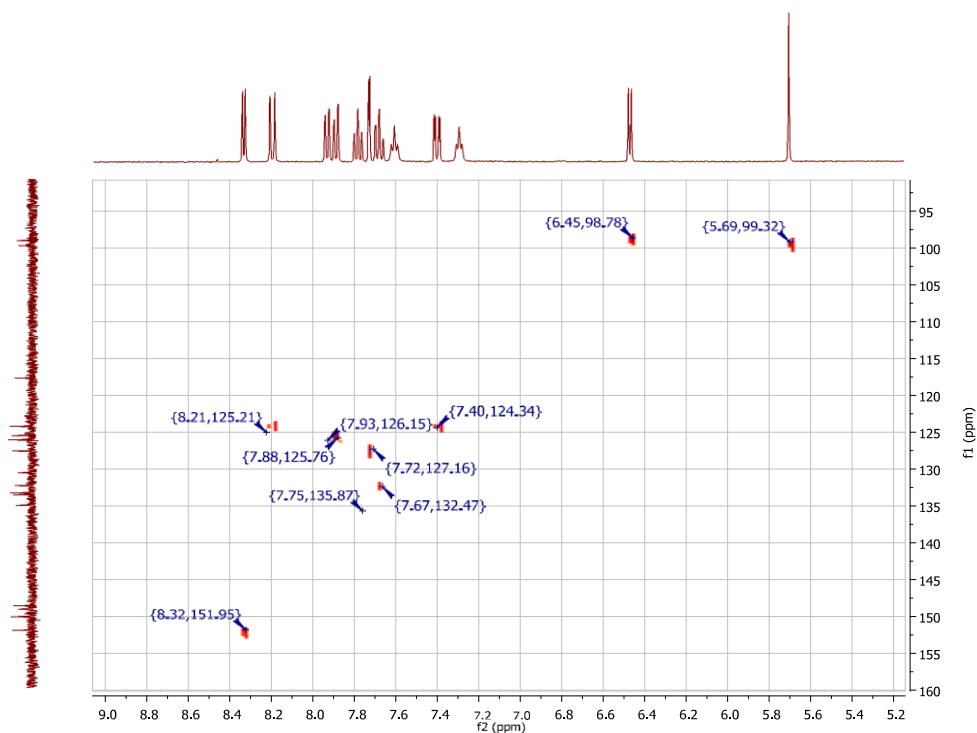


Figura 62. Expansão da região aromática do mapa de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C HSQC do composto **120**.

Um mecanismo provável para formação de **120** é uma substituição da metoxila da 2-metoxilausona **131** pela amina primária da diaminoquinolina **134** por meio de uma adição-eliminação (Figura 63). Embora o ânion metóxido (MeO^-) seja um mau grupo abandonador, propõe-se que, após o ataque da amina, o mecanismo passe por um intermediário **A** estabilizado por deslocalização eletrônica, seguido por um prototropismo que protona a metoxila, convertendo-a em um bom grupo de saída.

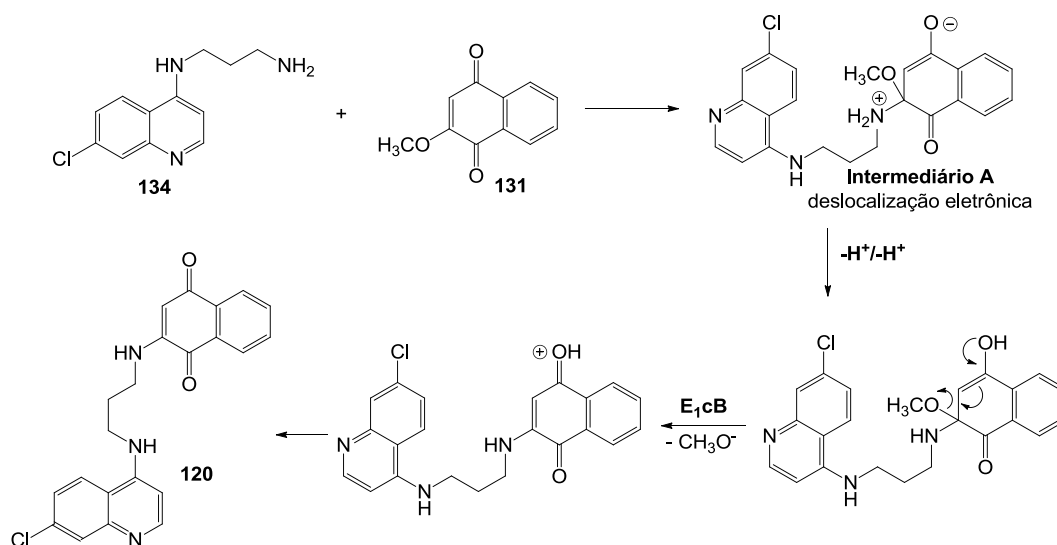


Figura 63. Possível mecanismo para formação da molécula-alvo **120**.

4.2.2. Síntese dos híbridos moleculares derivados da triazina

4.2.2.1. Triazinas e naftoquinonas

As primeiras moléculas racionalizadas contendo os núcleos triazínicos e naftoquinônicos, **121**, **122**, **123** e **124**, estão apresentadas na Figura 64, a seguir.

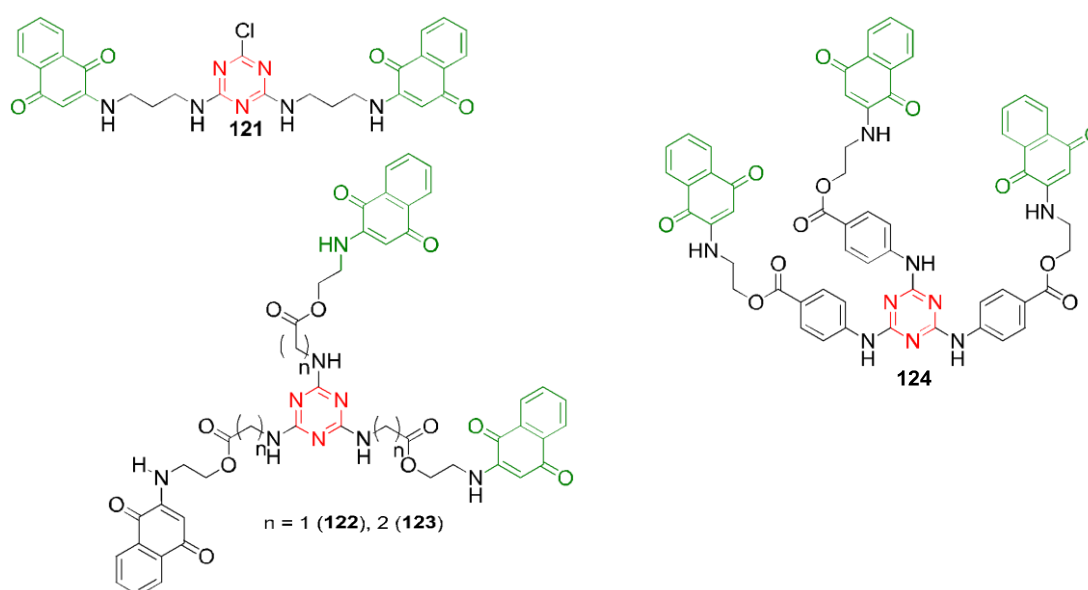


Figura 64. Estruturas racionalizadas inicialmente para hibridação dos núcleos triazínicos e naftoquinônico.

Para a síntese da substância **121**, imaginaram-se duas rotas sintéticas distintas: a primeira seria converter a 2-metoxilausona **131** na aminonaftoquinona **133** para então realizar substituições aromáticas nucleofílicas no cloreto cianúrico **104** (Rota A, Figura 65); ou converter a triazina na diamina **137** para posterior substituição nucleofílica na metoxila da 2-metoxilausona **131** (Rota B, figura 69).

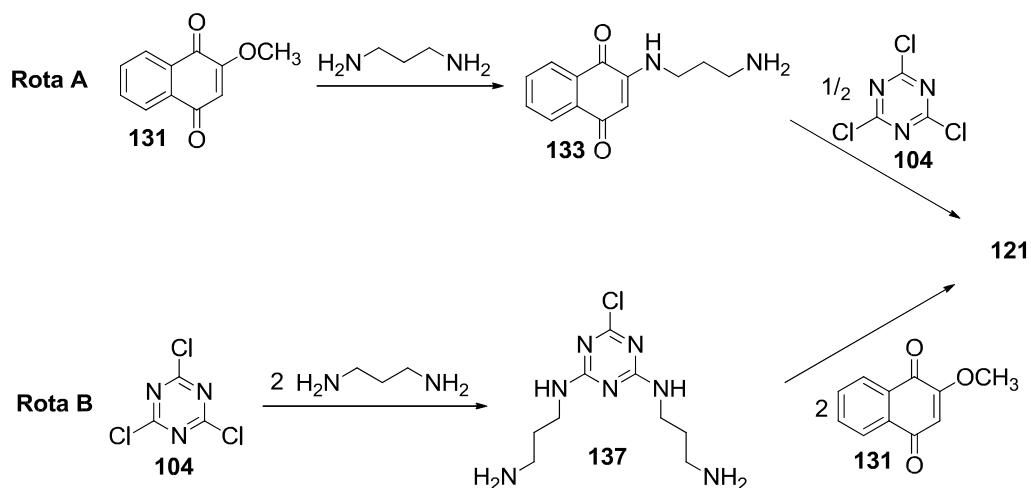


Figura 65. Possíveis estratégias sintéticas para alcançar a molécula-alvo **121**.

Já para as substâncias **122**, **123** e **124**, imaginou-se realizar uma reação de esterificação entre diferentes derivados de aminoácidos e cloreto cianúrico previamente descritos na literatura¹¹² com a naftoquinona **132**, obtida através da reação da 2-metoxilausona **131** com 2-aminoetanol, conforme já realizado por nosso grupo de pesquisas⁷⁶ (Figura 66).

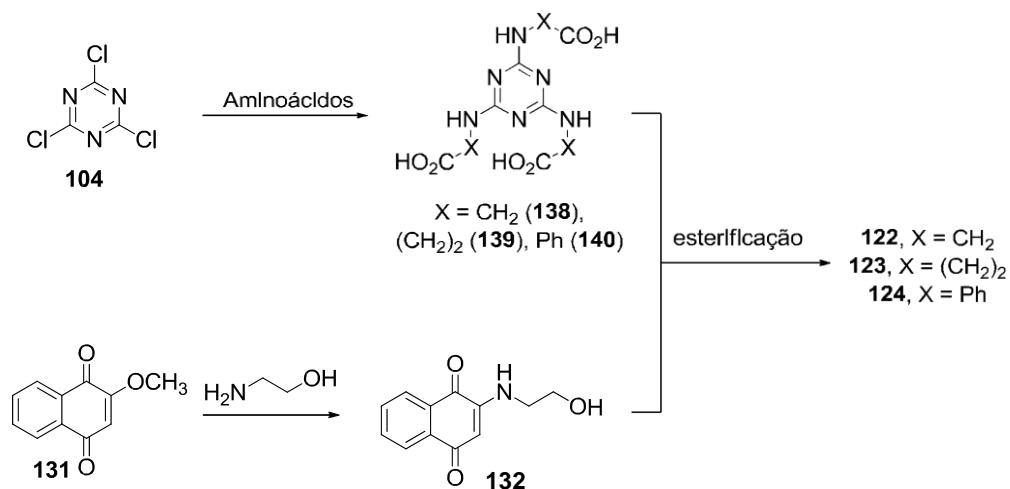


Figura 66. Estratégia sintética para preparação dos ésteres contendo as estruturas naftoquinônicas e triazínicas **122**, **123** e **124**.

Para tal finalidade, iniciou-se com a conversão da 2-metoxilausona **131** (previamente sintetizada conforme Figura 48, vide página 85) no aminoálcool **132** e diamina **133** por meio de substituições nucleofílicas da metoxila.

A priori, reagiu-se a 2-metoxilausona **131** com 2-aminoetanol em metanol e trietilamina durante 24h à temperatura ambiente (Figura 67), seguindo a metodologia desenvolvida em nosso laboratório por Delarmelina⁷⁶. Foi obtido um sólido vermelho com rendimento de 81% e intervalo de fusão de 161-162 °C (lit.: 156-157 °C).

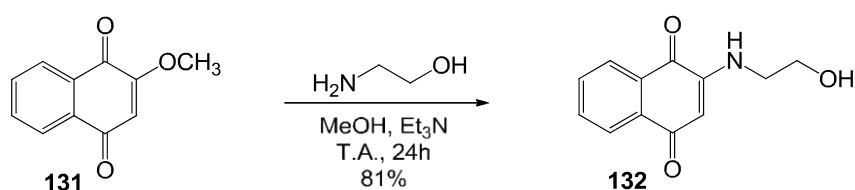


Figura 67. Reação da 2-metoxilausona com 2-aminoetanol.

A caracterização por espectroscopia de infravermelho em ATR revela aparecimento de uma banda estreita em 3339 cm^{-1} e em 1550 cm^{-1} , atribuído possivelmente à deformação axial e deformação angular de NH, respectivamente. É possível que a banda em 3339 cm^{-1} refira-se à deformação axial de OH. Ainda, observam-se as bandas em 3058 cm^{-1} (deformação axial de C-H aromático), 2934 cm^{-1} (deformação axial simétrica de metileno), 1673 cm^{-1} (deformação axial das carbonilas da naftoquinona), 1219 cm^{-1} (deformação axial de C-N) e 1071 cm^{-1} (deformação axial de C-OH) (Figura 68).

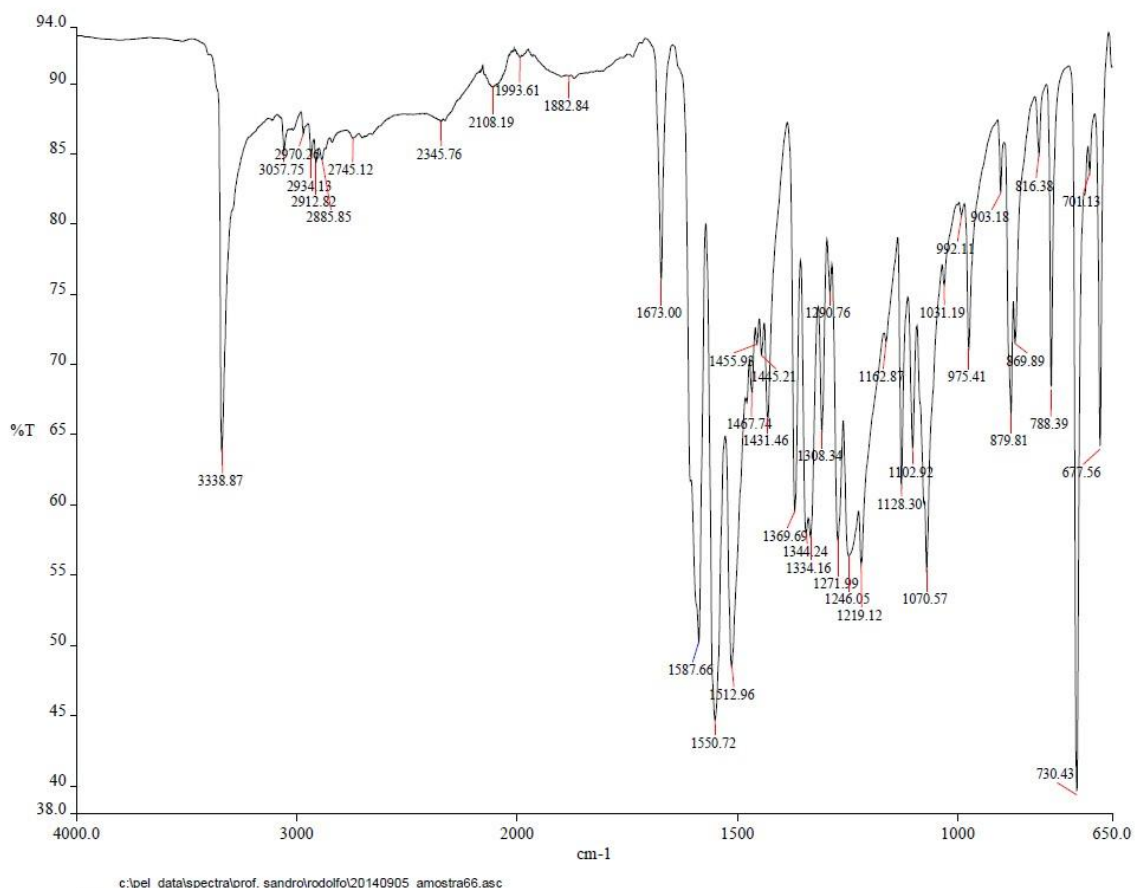


Figura 68. Espectro de IV do composto **132**.

No espectro de RMN de ^1H , mostrado na Figura 69, ficou evidente o desaparecimento do singlete em 3,92 ppm relativo à metoxila do material de partida e o surgimento de dois novos sinais referentes aos CH_2 do 2-aminoetanol: um duplo dubleto em 3,93 ppm e outro em 3,37 ppm relativos aos metilenos que acoplam entre si com $J = 10,5$ Hz. Ambos os sinais integram para dois hidrogênios, corroborando com a assertiva de que se tratam dos metilenos.

Além disso, observa-se que o duplo dubleto em 3,93 ppm, referente ao CH_2O acopla ainda com o H lábil do OH (triplete em 1,79 ppm com $J = 5,3$ Hz). A Figura 69 apresenta a expansão da região alifática.

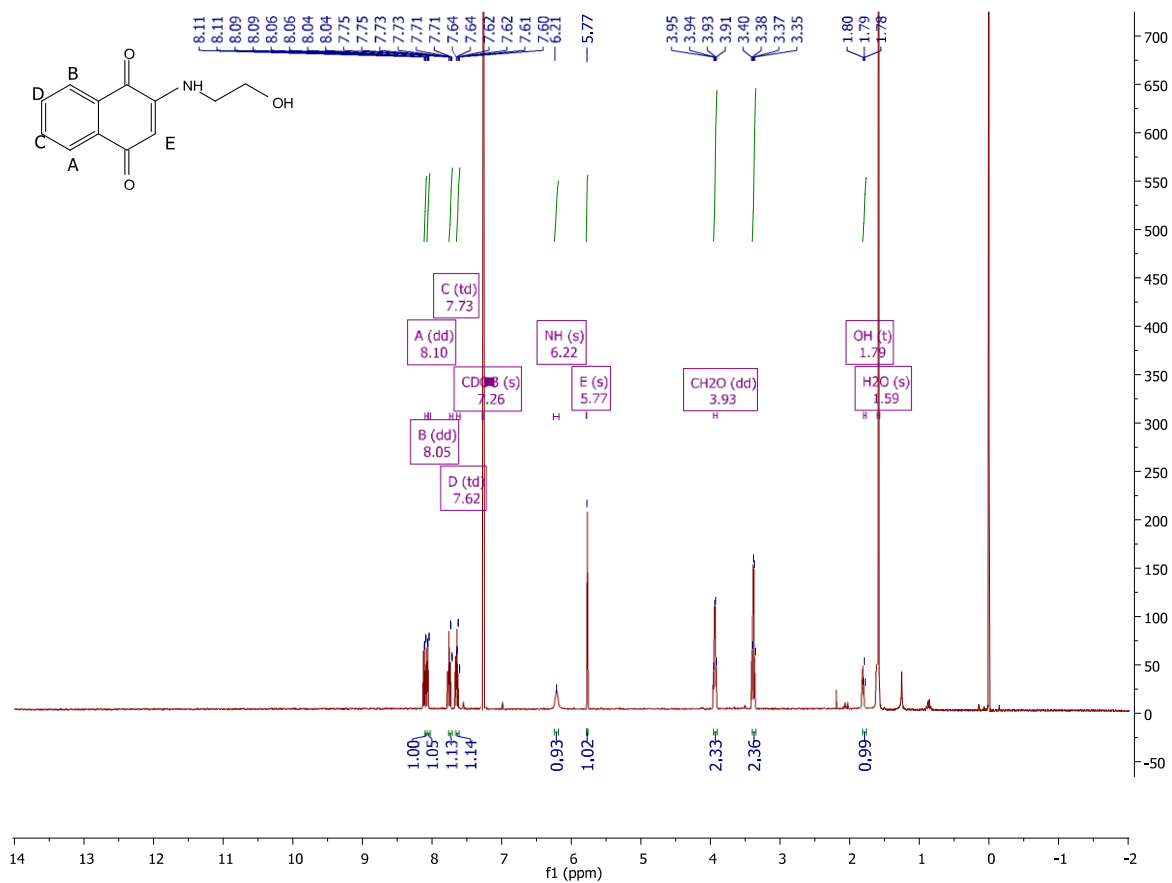


Figura 69. Espectro de RMN de ^1H do composto 132.

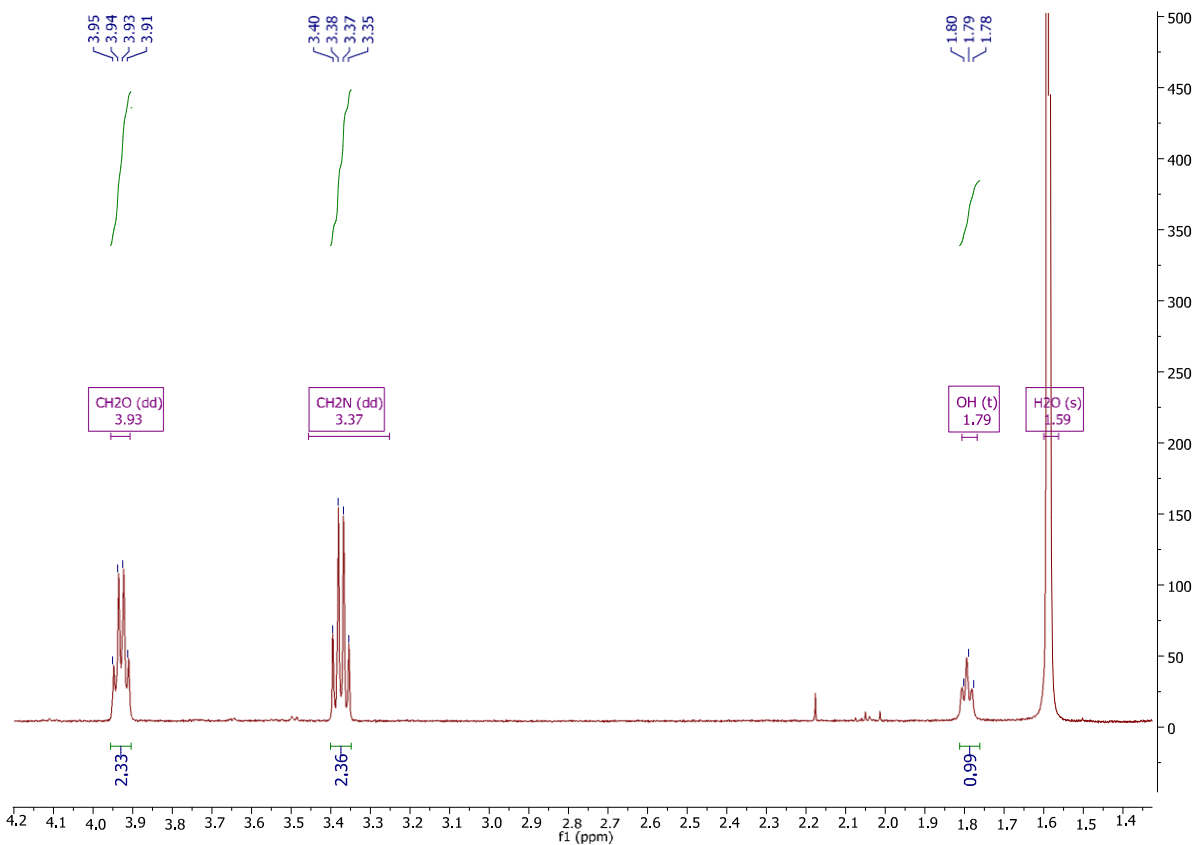


Figura 70. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H composto 132.

Na região aromática mostrada na Figura 71 observam-se os sinais característicos da 1,4- naftoquinona. Em 8,10 ppm e 8,05 ppm encontram-se os duplos dubletos referentes aos hidrogênios A e B com $J = 7,6$ e $1,0$ Hz integrando para 1 hidrogênio cada. Em 7,73 ppm e 7,62 ppm estão os sinais referentes aos hidrogênios C e D apresentando-se como triplos dubletos com $J = 7,6$ e $1,0$ Hz. Ainda, percebe-se o hidrogênio E, característico pelo seu deslocamento químico em 5,77 ppm e multiplicidade (singleto). Por fim, o hidrogênio ligado ao átomo do nitrogênio aparece em 6,22 ppm como singleto alargado.

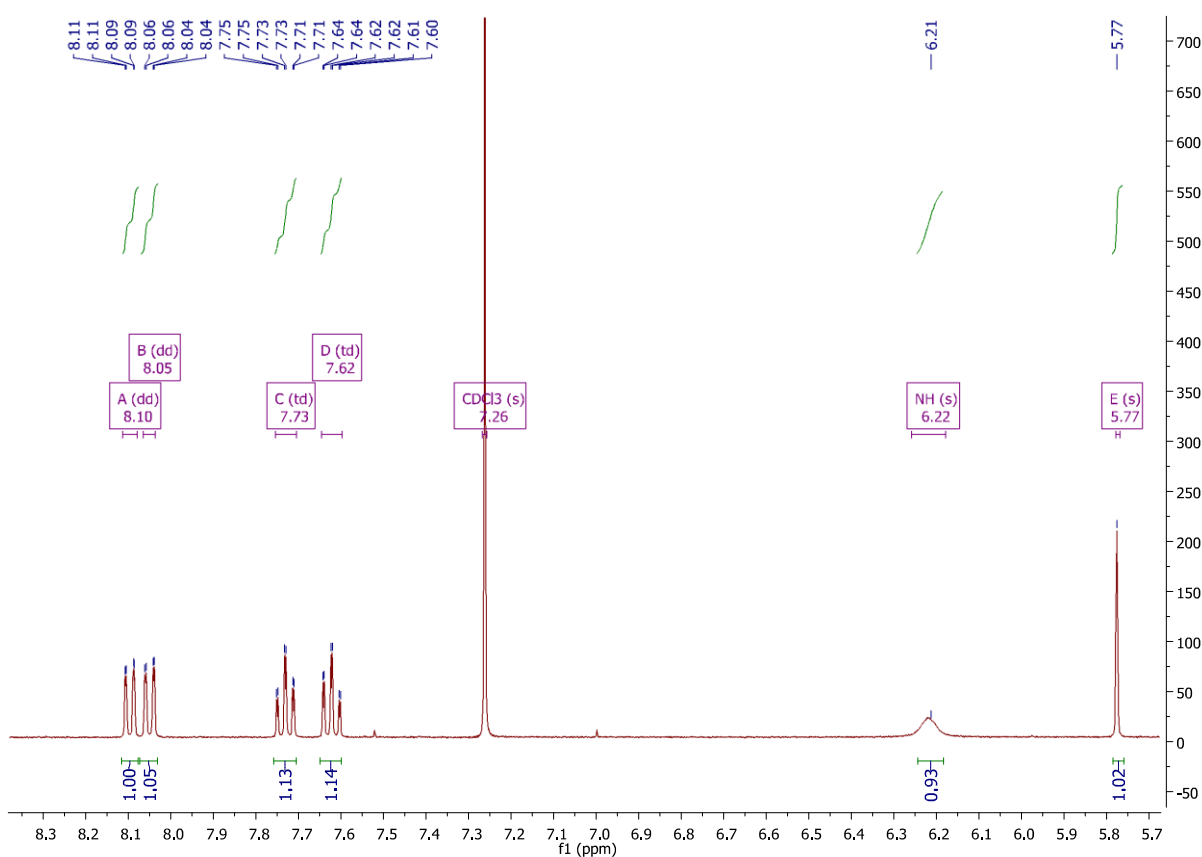


Figura 71. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **132**.

Por se tratar de uma substância já sintetizada em nosso laboratório e devido à atribuição dos sinais de hidrogênio observada no espectro de RMN de ^1H julgou-se desnecessária a caracterização por RMN de ^{13}C e pelas correlações homo e heteronucleares bidimensionais.

Em seguida, partiu-se para a síntese do derivado diaminado da 1,4-

naftoquinona **133**, conforme mostrado na Figura 72. Para isso, reagiu-se a 2-metoxilausona **131** com 1,3-diaminopropano em metanol em presença de trietilamina por 24h a fim de obter um sólido alaranjado com rendimento de 61 % e intervalo de fusão de 124-126 °C.⁷⁶

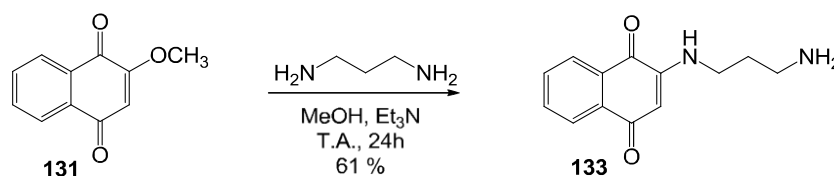


Figura 72. Esquema reacional para síntese do composto **133**.

A análise de espectroscopia no infravermelho permite inferir acerca das bandas de amina características em 3355 cm^{-1} e 1566 cm^{-1} (deformação axial e angular, respectivamente), a banda de deformação axial assimétrica de metileno em 2933 cm^{-1} , banda de deformação axial das carbonilas naftoquinônicas em 1682 cm^{-1} e 1670 cm^{-1} , banda de deformação de C=C conjugada da naftoquinona em 1642 cm^{-1} e, por fim, deformação axial de C-N em 1243 cm^{-1} (Figura 73).

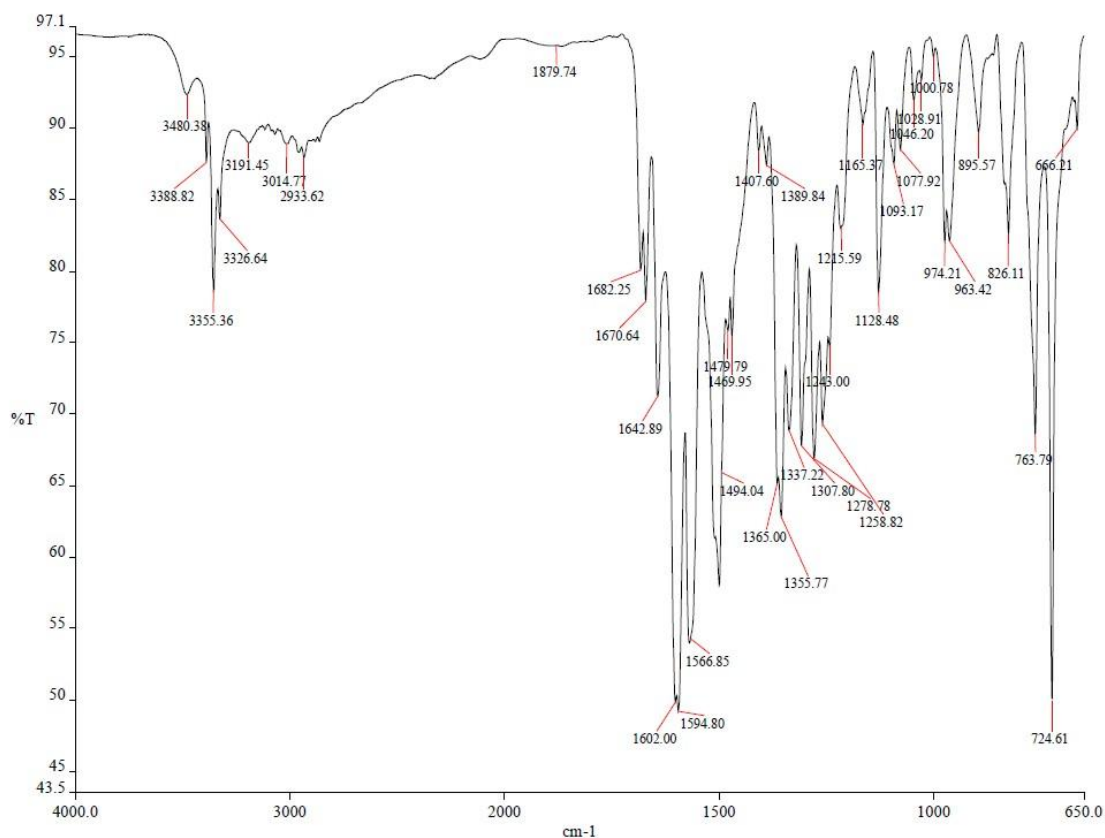


Figura 73. Espectro de Infravermelho do composto **133**.

Para confirmação da estrutura do composto obtido, realizou-se também análise de ressonância magnética nuclear de ^1H . A Figura 74 mostra o espectro obtido como resultado de tal análise.

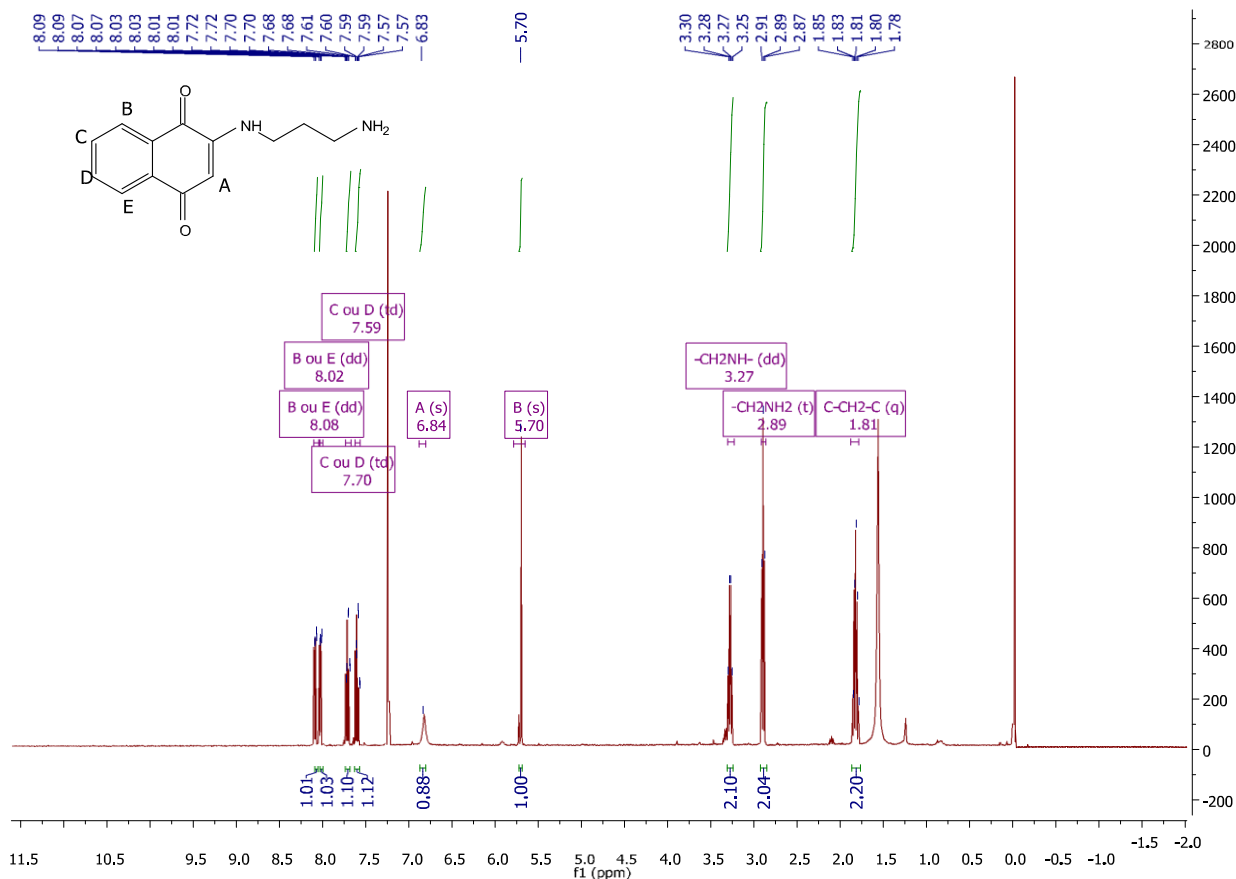


Figura 74. Espectro de RMN de ^1H obtido para o composto 133.

A expansão da região aromática (Figura 75) permite observar de maneira mais clara os sinais típicos da naftoquinona. Observam-se em 8,08 ppm e 8,02 ppm os duplos dubletos referentes aos hidrogênios B e E com $J = 7,6$ Hz e 0,9 Hz. Em 7,70 ppm e 7,59 ppm podem ser vistos os triplos dubletos com $J = 7,3$ Hz e 1,3 Hz referentes aos hidrogênios C e D. Por fim, ainda percebe-se um singlete em 5,70 ppm típico do hidrogênio naftoquinônico A e um singlete alargado em 6,84 ppm referente ao hidrogênio da amina secundária ligada à naftoquinona.

Na região alifática (Figura 75), observam-se os sinais dos metilenos da cadeia da 1,3-propanodiamina. Em 3,27 ppm tem-se o duplo dubleto com $J = 12,3$ Hz e 6,4 Hz integrando para 2 hidrogênios referentes ao metileno ligado ao nitrogênio da amina secundária. Este hidrogênio, por sua vez, acopla

com o hidrogênio em 1,81 ppm (quintupeto, $J = 6,4$ Hz), correspondendo ao CH_2 central da cadeia. Por fim, observa-se um triplete em 2,89 ppm ($J = 2,4$ Hz).

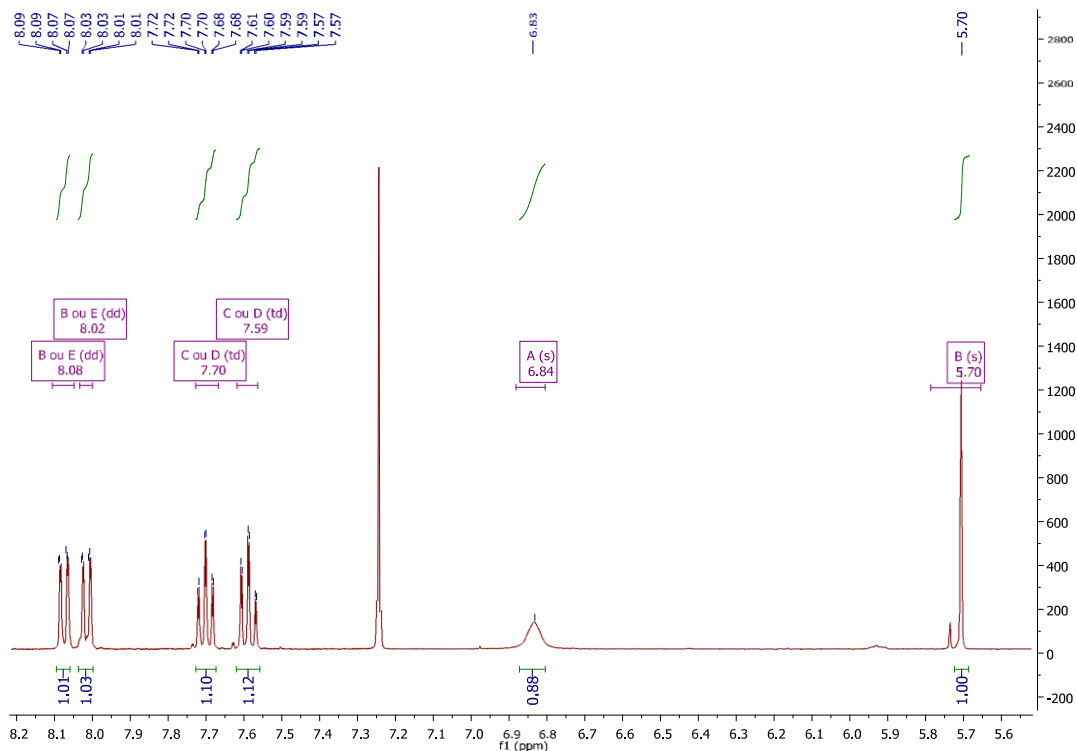


Figura 75. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **133**.

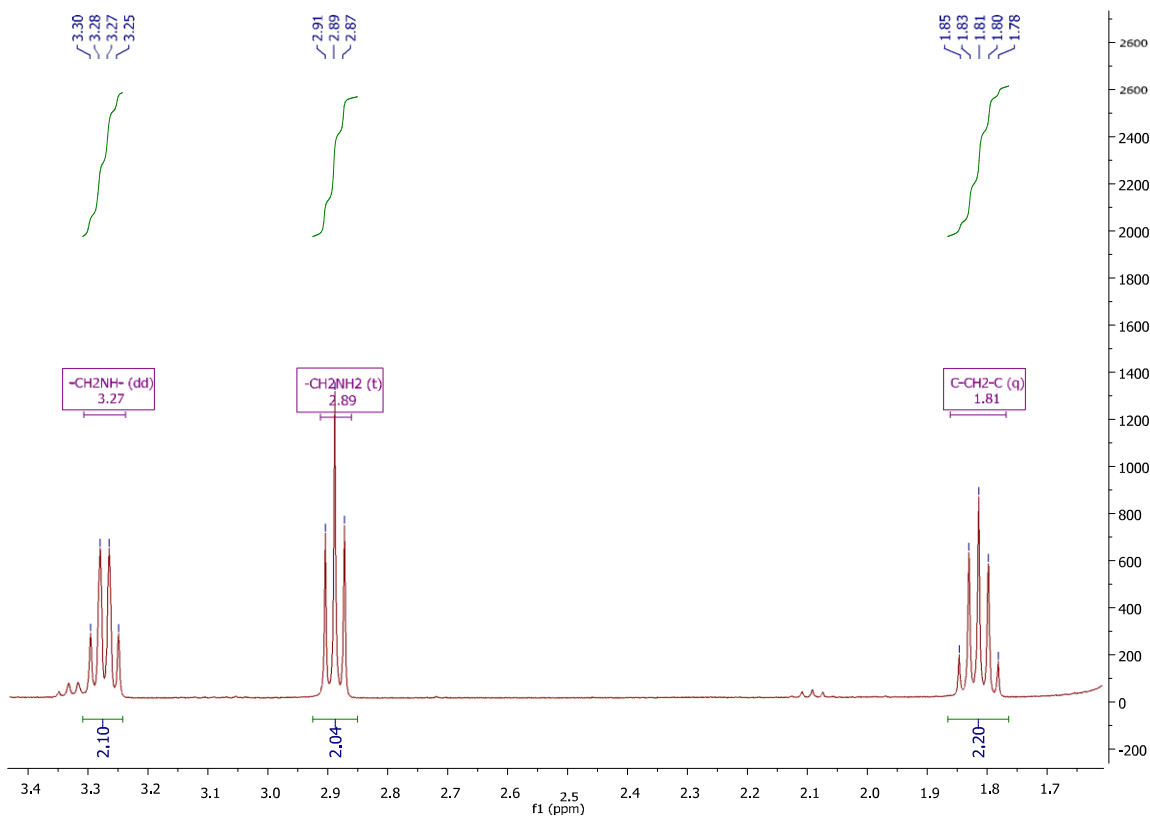


Figura 76. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto **133**.

De maneira análoga a análise feita para a naftoquinona **132**, não foi necessário realizar outros experimentos espectroscópicos para comprovar a estrutura do composto **133** obtido. A determinação inequívoca dos hidrogênios por meio da ressonância magnética nuclear de ^1H e infravermelho foram suficientes para tal.

Acredita-se que, da mesma forma que ocorre para formação do composto **120** (Figura 63, vide página 98), o mecanismo para obtenção de **132** e **133** inicia-se pela adição do nucleófilo, passando por um intermediário com deslocalização eletrônica, seguido por prototropismo a fim de protonar a metoxila e convertê-la em um bom grupo abandonador. Só então ocorre a eliminação da metoxila na forma de metanol e o produto de substituição é formado.

Com intuito de finalmente unir os núcleos triazínicos e naftoquinônicos, tentou-se realizar as substituições aromáticas nucleofílicas utilizando o composto **133** como nucleófilo e o cloreto cianúrico **104** como eletrófilo, conforme mostrado na Figura 77.

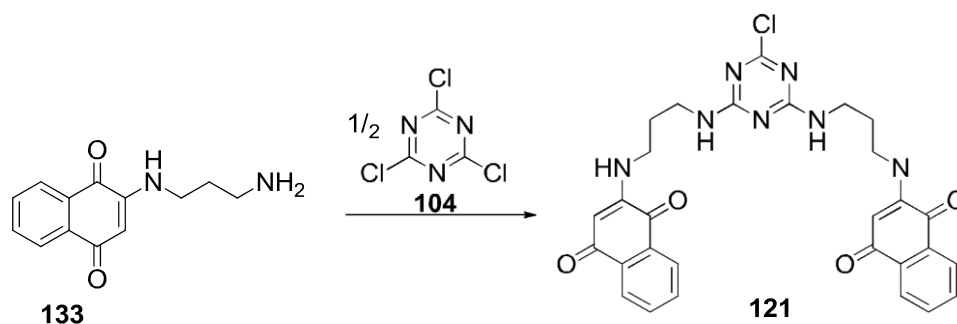


Figura 77. Rota selecionada para incorporar o núcleo triazínico ao naftoquinônico.

A literatura está repleta de discussões acerca de substituições no cloreto cianúrico com diferentes tipos de nucleófilos. O *Journal of the American Chemical Society* publicou em Julho de 1951 uma série de estudos tratando da obtenção de derivados 1,3,5-triazínicos. Nestes estudos, ficou evidente a versatilidade sintética do cloreto cianúrico.¹¹³⁻¹²¹ Dentre os trabalhos mais recentes, destaca-se a revisão publicada por Blotny em 2006,⁹⁶ além dos inúmeros trabalhos experimentais.^{98,122,123}

O cloreto cianúrico **104** é, indubitavelmente, um dos reagentes mais utilizados quando se deseja inserir o núcleo triazínico em alguma estrutura. Isso se deve ao fato de ser um ótimo reagente para reações de substituição

aromática nucleofílica (S_NAr) por possuir três sítios eletrofílicos, possibilitando substituições múltiplas e diversificadas.

Devido a sua estrutura particular, as substituições ainda são altamente seletivas, dependendo apenas da temperatura do sistema. O primeiro átomo de cloro pode ser substituído a temperaturas abaixo de 0 °C.

Embora pareçam estranhas condições reacionais tão brandas para uma reação como substituições nucleofílica aromática, conhecida por solicitar condições extremas como bases fortes (amideto, por exemplo) ou altas temperaturas, a capacidade eletrofílica do cloreto cianúrico permite trabalhar em meios menos vigorosos.

Isso se deve possivelmente ao fato de possuir três átomos de nitrogênio (mais eletronegativo do que o carbono) em posição 1,3,5 compondo o sistema aromático do núcleo triazínico. Uma análise meramente qualitativa permite inferir que os átomos de nitrogênio do núcleo aromático, unido à presença de átomos de cloro (também eletronegativos) ligados aos sítios eletrofílicos da triazina, tendem a reduzir os níveis energéticos dos orbitais de fronteira aceptores de elétrons, LUMO, e assim aumentar sua eletrofilicidade. Além disso, a diferença de eletronegatividade contribui para aumentar o poder eletrofílico por meio do efeito polar indutivo atrator de elétrons (Figura 78). Desta maneira, a primeira substituição ocorre prontamente mesmo a temperaturas baixas.

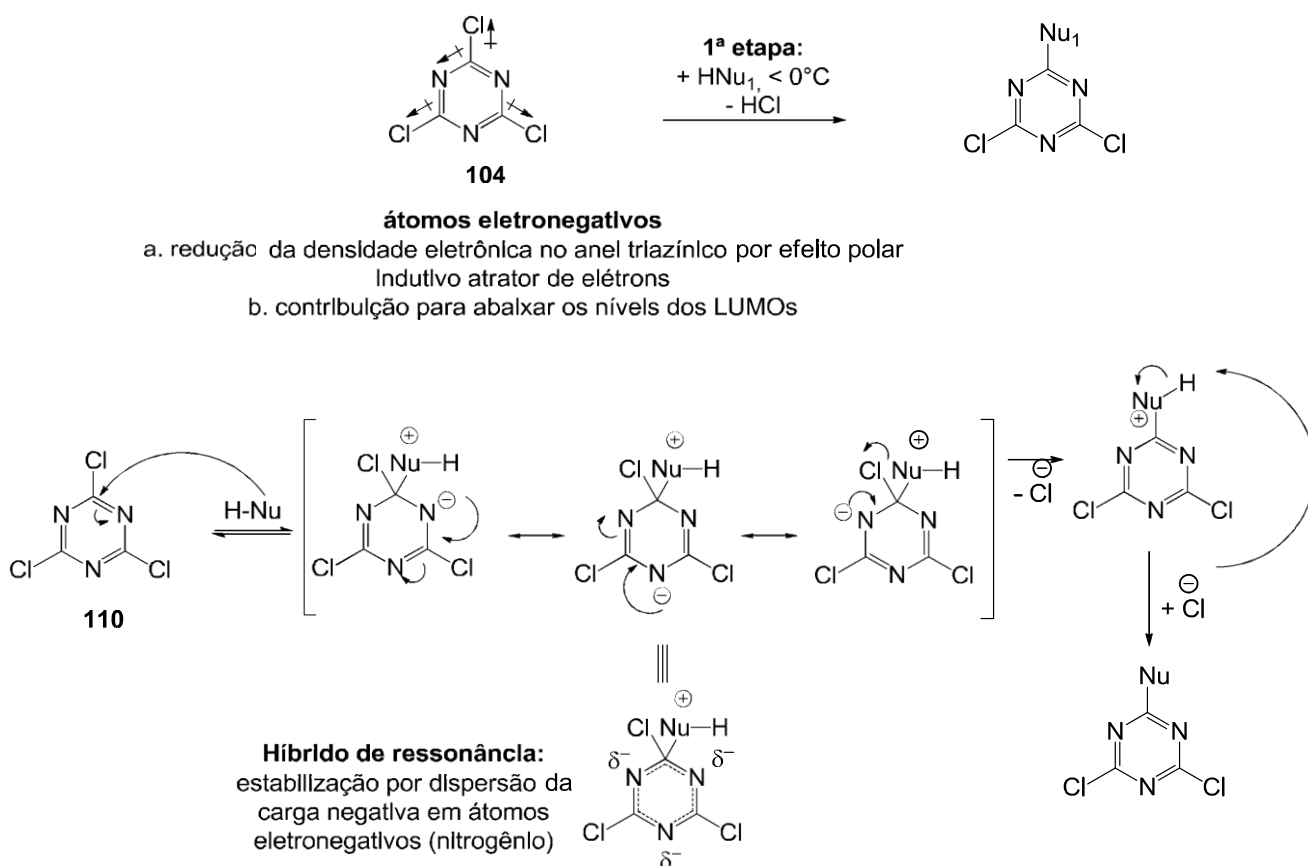


Figura 78. Primeira substituição nucleofílica aromática no núcleo 1,3,5-triazínico: efeitos eletrônicos e mecanismo geral.

A primeira substituição, bem como as seguintes, se comparadas a S_NAr no benzeno, são mais fáceis devido à passagem pelo intermediário de adição-eliminação ilustrado na Figura 78 como híbrido de ressonância. O mesmo estabiliza a carga negativa formada no núcleo aromático através dos átomos eletronegativos – nitrogênio – nas posições 1,3,5.

À medida que os átomos de cloro são substituídos por diferentes nucleófilos (oxigenados, nitrogenados, sulfurados e fosforados), a substituição subsequente requer condições mais energéticas. A segunda substituição, por exemplo, necessita de temperaturas mais elevadas: 25 a 50 °C. Por fim, a última substituição, exige temperaturas acima de 67 °C.⁹⁶

Uma explicação razoável para tal fato observado é, além da retirada de átomos eletronegativos (cloro), há a inserção de átomos que aumentam a densidade eletrônica no núcleo triazínico por efeito mesomérico dos pares de elétrons não ligantes do átomo nucleofílico. Isso diminui a capacidade do núcleo triazínico em sofrer reações de S_NAr (Figura 70).

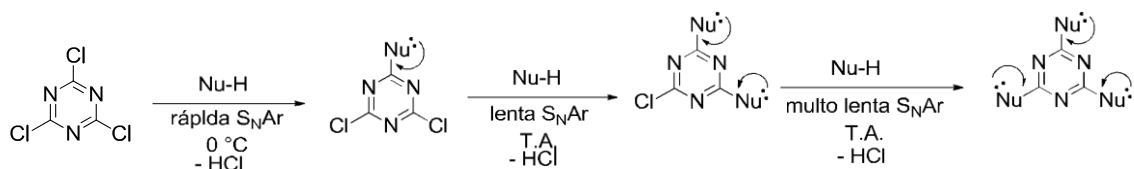


Figura 79. Decréscimo na velocidade da reação à medida que substitui-se o átomo de cloro por nucleófilos com par de elétrons n .

Para comprovar essa hipótese, Kolesinska e Kaminski¹²⁴ publicaram um trabalho em que aminas terciárias foram empregadas para substituir os átomos de cloro utilizando o conceito de *umpolung*. Com isso o intermediário formado, sal de amônio, diminui ainda mais a densidade eletrônica do núcleo triazínico, aumentando a velocidade das reações consecutivas (Figura 80).

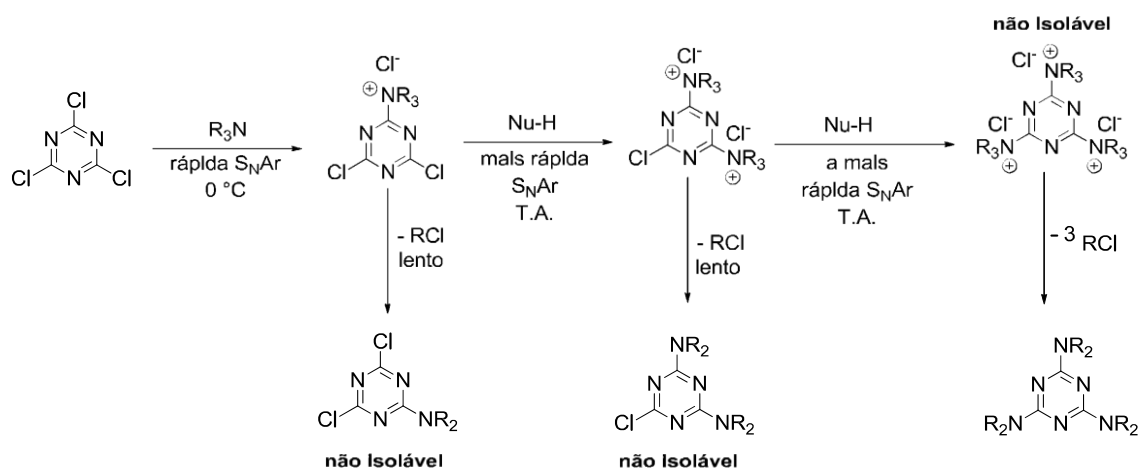


Figura 80. Efeito *umpolung* aumentando a eletrofilicidade da triazina após substituição do átomo de cloro por aminas terciárias.

Dentre os nucleófilos passíveis a S_NAr com o cloreto cianúrico, sobressaem-se os nitrogenados por formarem ligações mais fortes com o anel triazínico. Além disso, os produtos formados pela substituição do átomo de cloro por nucleófilos nitrogenados, também chamados de melaminas, recebem destaque na comunidade científica no que diz respeito à síntese de substâncias bioativas.¹²⁵ Por isso, diante dos nucleófilos naftoquinônicos preparados **132** e **133**, escolheu-se tentar substituir, pelo menos inicialmente, os átomos de cloro pelo composto nitrogenado **133** (Figura 77, vide página 107).

Desta maneira, tentou-se reagir inicialmente um equivalente da aminonaftoquinona **133** com um equivalente do cloreto cianúrico **104** a 0 °C em

acetona por 1h (tempo suficiente para consumo completo de **104**), de modo a tentar isolar a triazina monossubstituída (Figura 81). Entretanto, uma mistura intratável de produtos, acusada por ensaios de cromatografia em camada fina, foi obtida. Tentou-se purificação por recristalização e coluna cromatográfica, entretanto, os procedimentos só aumentavam a quantidade de compostos existentes na mistura (observados na ccf).

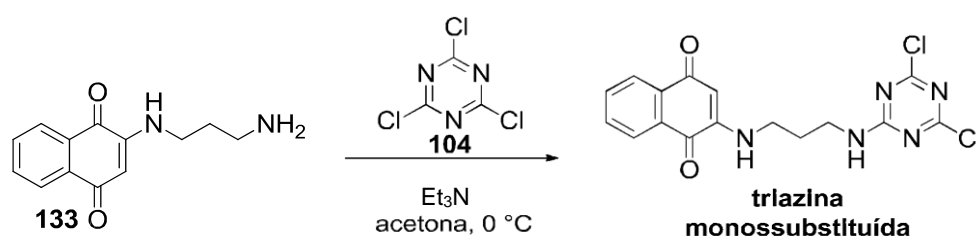


Figura 81. Tentativa de isolamento da triazina monossubstituída com a aminonaftoquinona **133**.

Possivelmente o difícil isolamento da triazina monossubstituída é decorrente de sua reatividade à temperatura ambiente com diferentes nucleófilos, fornecendo o produto de dissustituição. Mesmo utilizando solventes não nucleofílicos para tentativa de recristalização (como tolueno, hexano e acetato de etila, por exemplo), não foi possível obter o produto puro.

Seguiu-se então para a tentativa de obtenção direta do produto dissustituído com a aminonaftoquinona **133**. Para isso, reagiu-se um equivalente de cloreto cianúrico **104** com dois equivalentes da aminonaftoquinona **133** e inicialmente a 0°C em diferentes condições reacionais, segundo experimentais descritos na literatura.¹²⁶⁻¹²⁸

Após o consumo total da triazina, 1h, aumentou-se a temperatura para 25°C (Figura 82). A trietilamina (Et_3N) e a diisopropiletilamina (DIPEA) empregadas na reação tem como papel trapear o ácido clorídrico formado e assim, manter o pH do meio constante. Desta forma, o ácido formado não teria a possibilidade de protonar o nucleófilo da reação, **133**, e por conseguinte, inativa-lo para o processo.

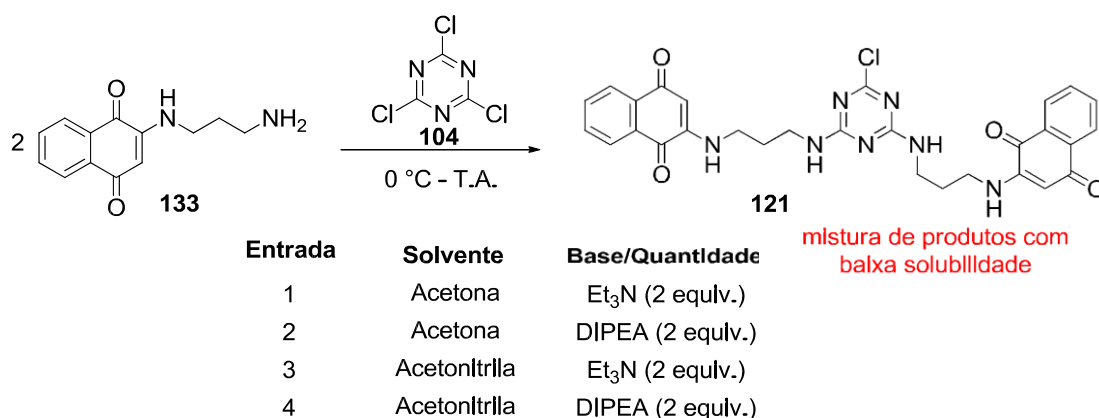


Figura 82. Tentativas de obtenção do composto **121** a partir da reação da aminonaftoquinona **133** e cloreto cianúrico **104** em diferentes condições reacionais.

Ao final das reações, foram obtidos sólidos alaranjados cujas cromatografias indicavam mistura de produtos. As tentativas de purificação por recristalização e coluna cromatográfica não forneceram resultados positivos, possivelmente devido à baixa solubilidade em diversos solventes da mistura de produtos obtida, mesmo em altas temperaturas.

Decidiu-se, então, tentar obter o produto por meio da Rota B da Figura 65 na página 99. Inicialmente, tentou-se converter o cloreto cianúrico na poliamina **137** e, em seguida, realizar uma substituição na metoxila da 2-metoxilausona **131**.

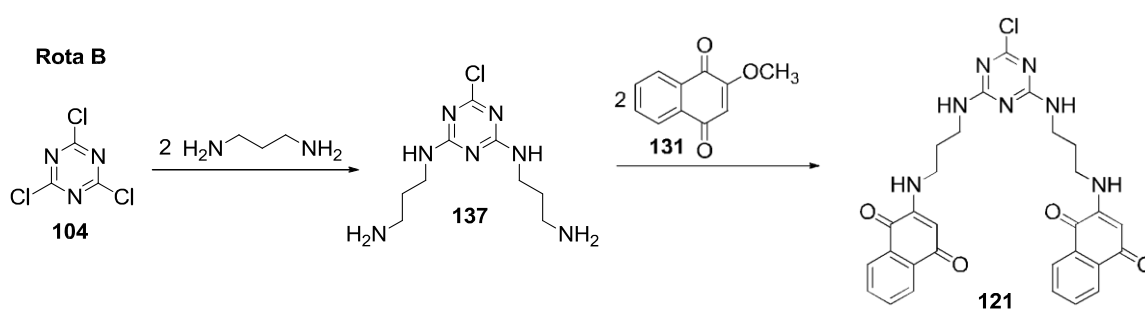


Figura 83. Rota alternativa para obtenção do produto **121**.

Para obtenção do composto **137**, reagiu-se um equivalente de cloreto cianúrico **104** com dois equivalentes de 1,3-propanodiamina em acetonitrila em presença de trietilamina (2 equivalentes). Após 30 minutos, a cromatografia em camada fina mostrou consumo completo do cloreto cianúrico. Após isolamento do produto, observou-se grande dificuldade em solubiliza-lo em todos os

solventes testados a frio ou na temperatura de ebulição (etanol, metanol, acetona, acetonitrila, acetato de etila, hexano, tolueno, DMSO, DMF e ácido acético). A cromatografia indicava que o produto não saía da origem, mesmo eluindo com ácido acético puro.

Frente aos resultados obtidos e diante da impossibilidade de realizar ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas em decorrência da baixa solubilidade, imaginou-se que o produto obtido se tratava de algo semelhante a um polímero. Possivelmente, como a 1,3-propanodiamina é composto por dois átomos de nitrogênios nucleofílicos, o produto obtido possuía uma repetição indeterminada das unidades triazínicas e propanodiamínicas (Figura 84).

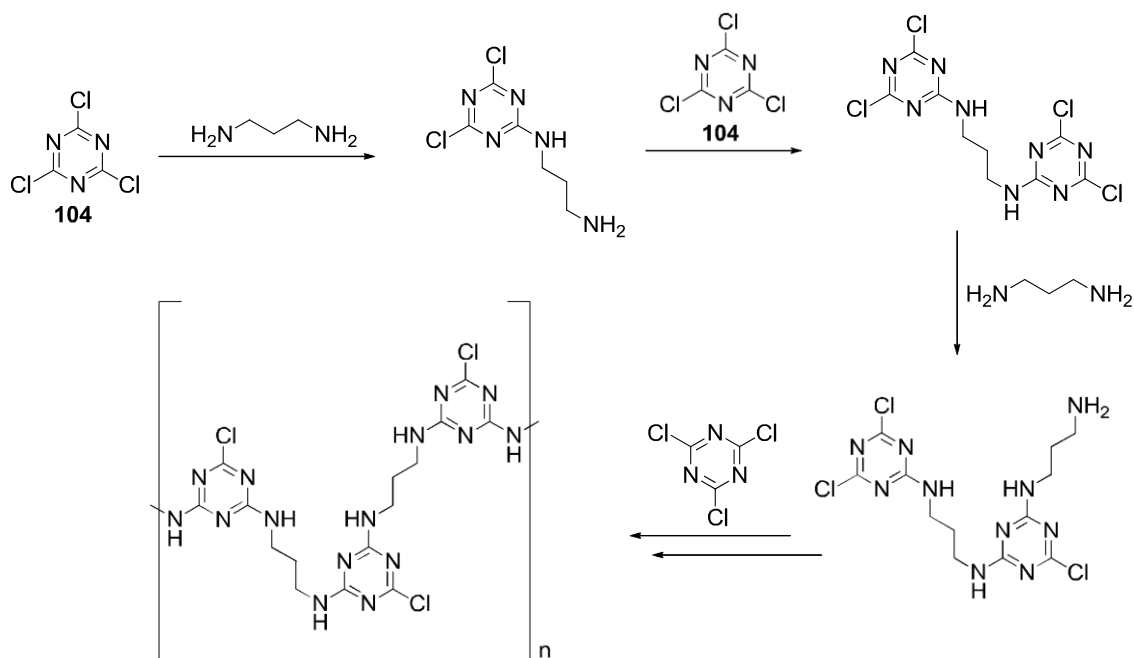


Figura 84. Possível produto formado através da reação do cloreto cianúrico **104** com 1,3-diaminopropano.

Para contornar este problema, decidiu-se por proteger um dos lados da 1,3-propanodiamina na forma de carbamato com o grupo Boc. Desta forma, com somente um sítio nucleofílico, seria possível mais de uma substituição em apenas um núcleo triazínico, impedindo o problema descrito anteriormente e apresentado na Figura 88. Após a reação de desproteção, esperar-se-ia obter o composto **137**.

Para isso, reagiu-se em diclorometano a 1,3-propanodiamina em excesso com dicarbonato de di-*tert*-butila [(Boc)₂O], adicionado lentamente a 0

°C, seguido por aumento da temperatura até atingir a temperatura ambiente (Figura 85).

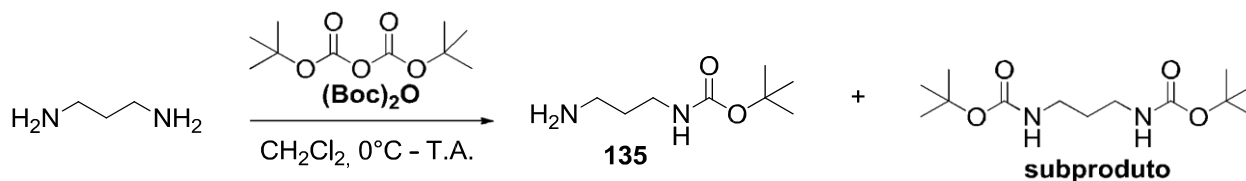


Figura 85. Esquema reacional para formação da diamina monoprottegida **135** derivada da 1,3-propanodiamina.

Foi obtido um óleo amarelo pálido como produto com pureza de 98,77 %, demonstrado pela análise de cromatografia gasosa. Tal resultado é obtido pela correlação da área abaixo dos picos com diferentes tempos de retenção. O primeiro pico, referente ao produto **135**, exibiu tempo de retenção médio de 10,892 minutos. A Figura 86 ilustra o cromatograma obtido na análise.

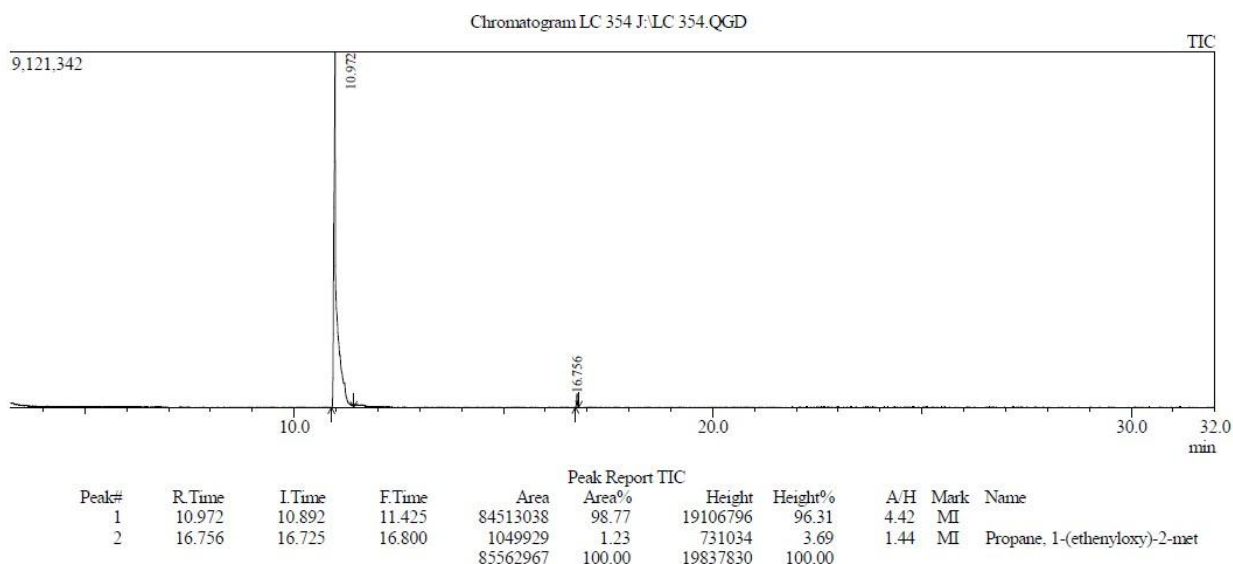


Figura 86. Cromatograma obtido após análise de cromatografia gasosa do composto **135**.

Possivelmente, o segundo pico observado, com tempo de retenção médio de 16,756 minutos (com área de 1,23 %), se trata da diamina diprottegida gerada como subproduto da reação. Como a coluna utilizada na cromatografia gasosa é apolar, o produto de maior polaridade (**135**) interage menos com a fase estacionária, possuindo menor tempo de retenção. O subproduto, por ser diprottegido, é menos polar e interage mais com a fase estacionária. Assim, permanece mais tempo em contato com a mesma, resultando em maior tempo de retenção.

De modo a comprovar a estrutura do produto obtido, realizaram-se as análises espectroscópicas de infravermelho e de RMN de ^1H . A Figura 87 exhibe o espectro de infravermelho, com a banda característica da carbonila do carbamato em 1690 cm^{-1} . Além disso, é possível observar as bandas em 2975 cm^{-1} e 2869 cm^{-1} referentes às deformações axiais assimétrica e simétrica das metilas, respectivamente; em 2933 cm^{-1} relativa à deformação axial assimétrica de metileno; 1365 cm^{-1} da deformação angular de metila do *terc*-butil; e 1250 cm^{-1} , deformação axial da ligação C-N.

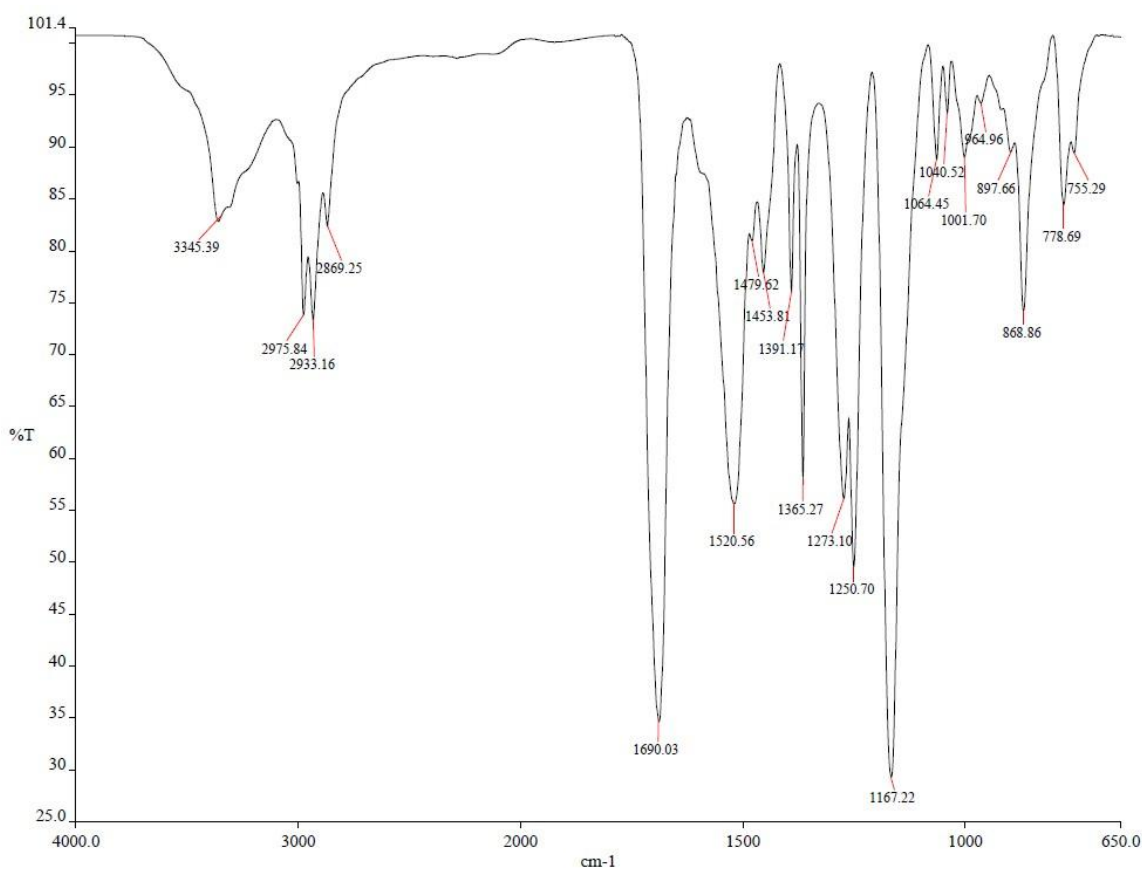


Figura 87. Espectro de infravermelho referente à 1,3-propanodiamina monoprotetida com grupo Boc **135**.

O espectro de RMN de ^1H mostrado na Figura 88 revela um singlete alargado em 4,90 ppm integrando para um hidrogênio e alude-se, possivelmente, ao hidrogênio da porção da amina no carbamato (NH Boc).

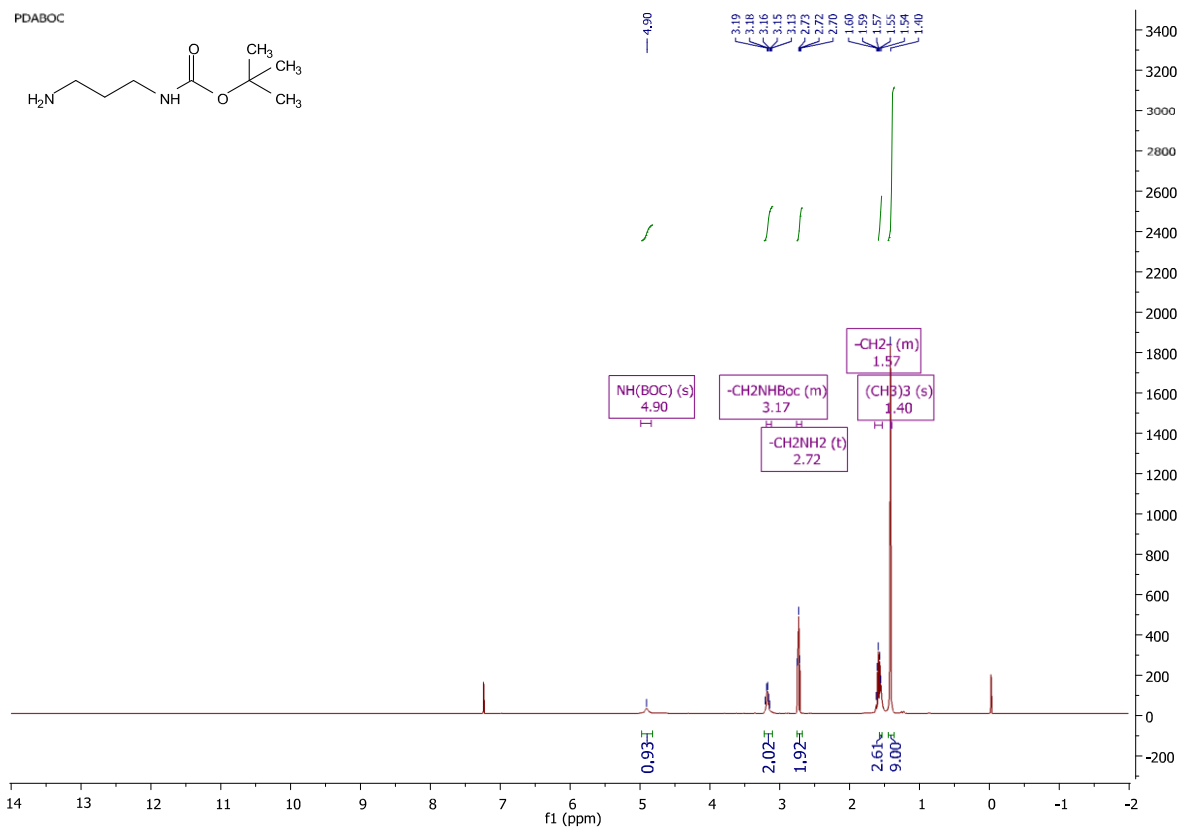


Figura 88. Espectro de RMN ^1H do composto 135.

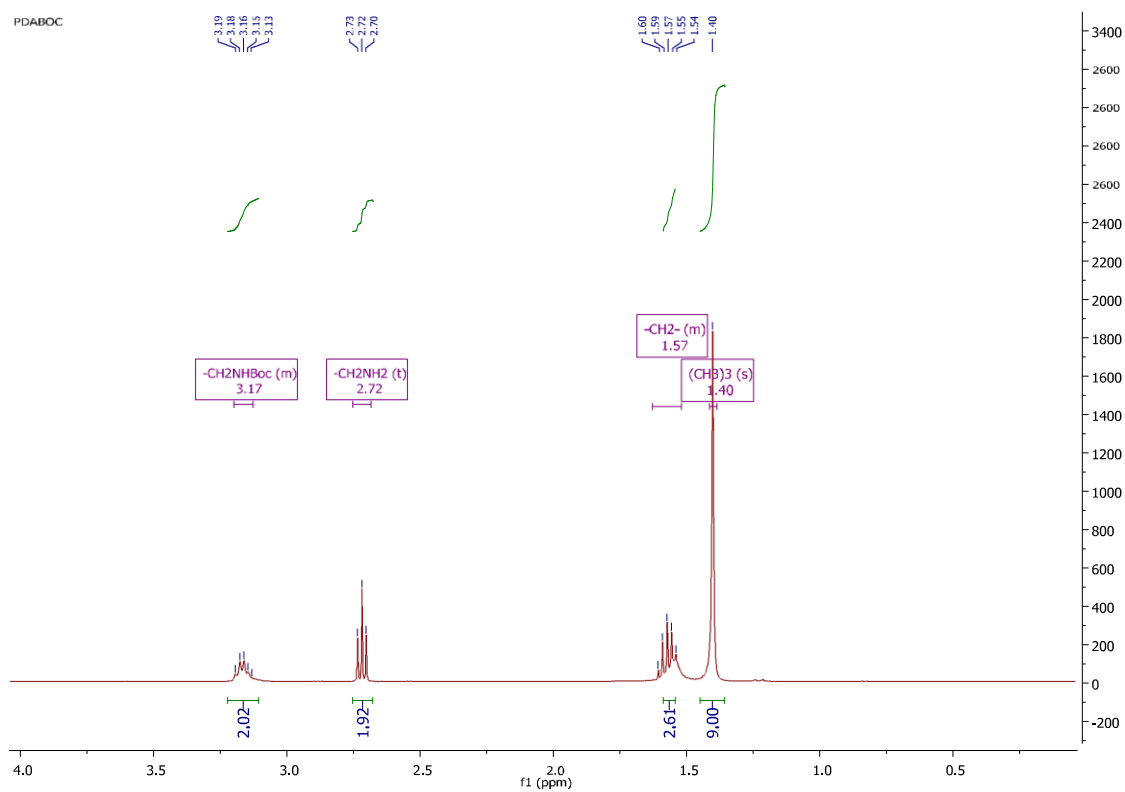
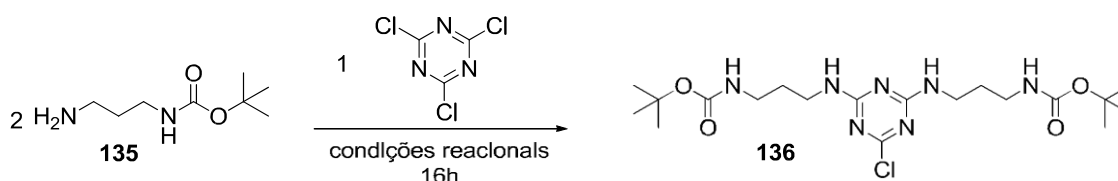


Figura 89. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 135.

Na expansão da região alifática, Figura 89, visualiza-se um multipletto centrado em 3,17 ppm integrando para dois hidrogênios, referentes aos hidrogênios do metileno vizinho ao NHBoc; em 2,72 ppm, tem-se um tripleto integrando para dois hidrogênios com constante de acoplamento $J = 6,6$ Hz, referentes aos metilenos vizinhos à amina primária; um multipletto centrado em 1,57 ppm integrando para 2 hidrogênios, relativos ao metileno central da cadeia carbônica da 1,3- propanodiamina. Por fim, observa-se em 1,40 ppm, um singletto integrando para 9 hidrogênios, correspondentes às metilas do grupo *tert*-butila.

Confirmada a estrutura do produto, seguiu-se para a substituição dos átomos de cloro no cloreto cianúrico **104**. A Figura 90 ilustra o esquema contendo as condições reacionais testadas para a síntese do composto **136**.



condições reacionais			
Entrada	Solvente	Base (quantidade)	Rendimento
1	Acetona	NaHCO ₃ (2 equivalentes)	39 %
2	Acetonitrila	DIPEA (1 equivalente)	95 %

Figura 90. Esquema reacional para síntese do composto **136**.

A condição que permitiu obter o produto com resultados mais satisfatórios em termos de rendimento do produto isolado foi a contida na Entrada 2 da Figura 90, que descreve um rendimento de 95% (produto isolado), na qual foi utilizada acetonitrila como solvente e DIPEA como base, conforme descrito na literatura.¹²⁷ Em contrapartida, na Entrada 1, o produto foi obtido impuro e foi necessária uma recristalização em uma mistura de 1:1 (v/v) hexano:AcOEt. O rendimento do produto isolado foi de 39%. Em ambos os casos, o intervalo de fusão apresentado foi de 155-157 °C.

As análises de espectroscopia no infravermelho, ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas confirmaram a estrutura do composto esperado.

O espectro de infravermelho (Figura 91) revela a presença da banda de deformação axial de amina em 3343 cm⁻¹ e de carbonila do carbamato em

1688 cm^{-1} . Além disso, observam-se em 2969 cm^{-1} e 2872 cm^{-1} as bandas de deformação axial assimétrica e simétrica, respectivamente, de metila. Em 2936 cm^{-1} está a deformação axial assimétrica de metileno e em 1248 cm^{-1} , deformação axial de C-N.

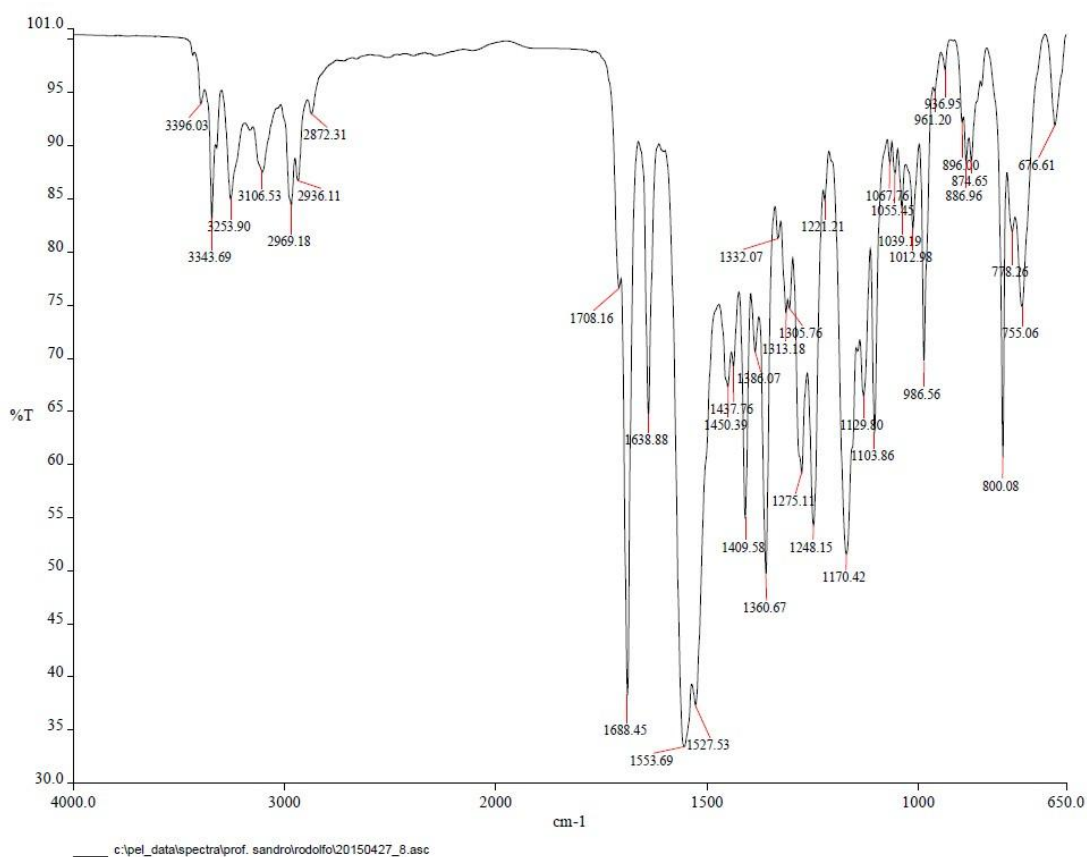


Figura 91. Espectro de infravermelho do composto **136**.

O espectro de RMN de ^1H , mostrado na Figura 92, evidencia dois multipletos integrando para dois hidrogênios centrados em 6,08 ppm e em 4,99 ppm, referentes aos hidrogênios ligados ao nitrogênio da amina secundária e do carbamato, respectivamente. Notam-se multipletos centrados em 3,44 ppm e 3,19 ppm integrando para quatro hidrogênios cada, correspondendo aos metilenos ligados aos átomos de nitrogênio. Centrado em 1,72 ppm, percebe-se outro multipletos relativo ao metileno central da cadeia carbônica da 1,3- propanodiamina, integrando para quatro hidrogênios. Finalmente, tem-se o singleto alargado em 1,44 ppm integrando para 18 hidrogênios, representando as 6 metilas da porção das *terc*-butilas.

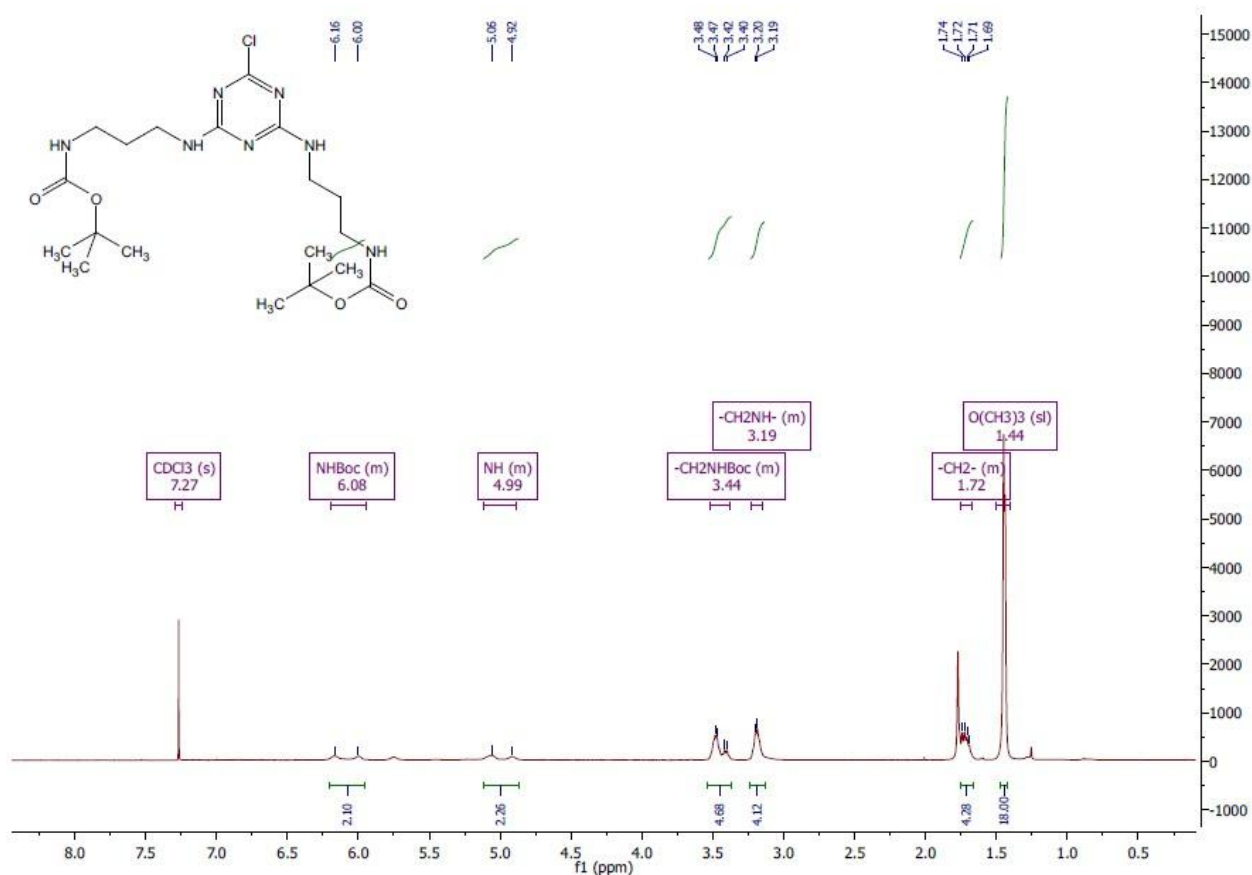


Figura 92. Espectro de RMN de ^1H do composto **136**.

As análises de infravermelho e RMN permitem concluir que, na estrutura obtida, há indubitavelmente a presença da 1,3-propanodiamina monoprotetida **135**. Entretanto, para confirmar que a mesma foi acoplada ao núcleo triazínico e que o produto obtido é oriundo de uma dissustituição, a análise de espectrometria de massas foi necessária.

O espectro de massas (Figura 93) foi obtido pelo método de ionização por elétron-spray em modo positivo [ESI (+)], e permitiu concluir de maneira inequívoca acerca da estrutura do produto **136**. Com relação massa/carga 460,24301 m/z , tem-se o pico do íon molecular de fórmula $\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{ClN}_7\text{O}_4$, referente ao composto **136** protonado, com erro de 0,75 ppm (valor calculado = 460,24336 m/z). Já o pico em 482,22491 m/z trata-se do composto de fórmula iônica $[\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{ClN}_7\text{NaO}_4]^+$, formado através da associação de **136** com um íon sódio com erro relativo de 0,80 ppm (valor calculado = 482,22530 m/z). Por fim, o pico em 941,45972 m/z é referente ao dímero iônico $[\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{Cl}_2\text{N}_{14}\text{NaO}_8]^+$, obtido pela combinação de duas moléculas de **136** e um íon sódio (erro de 1,77 ppm; valor calculado = 941,46138 m/z). Vale ressaltar que todos estes picos

mostraram o padrão isotópico típico de substâncias contendo cloro.

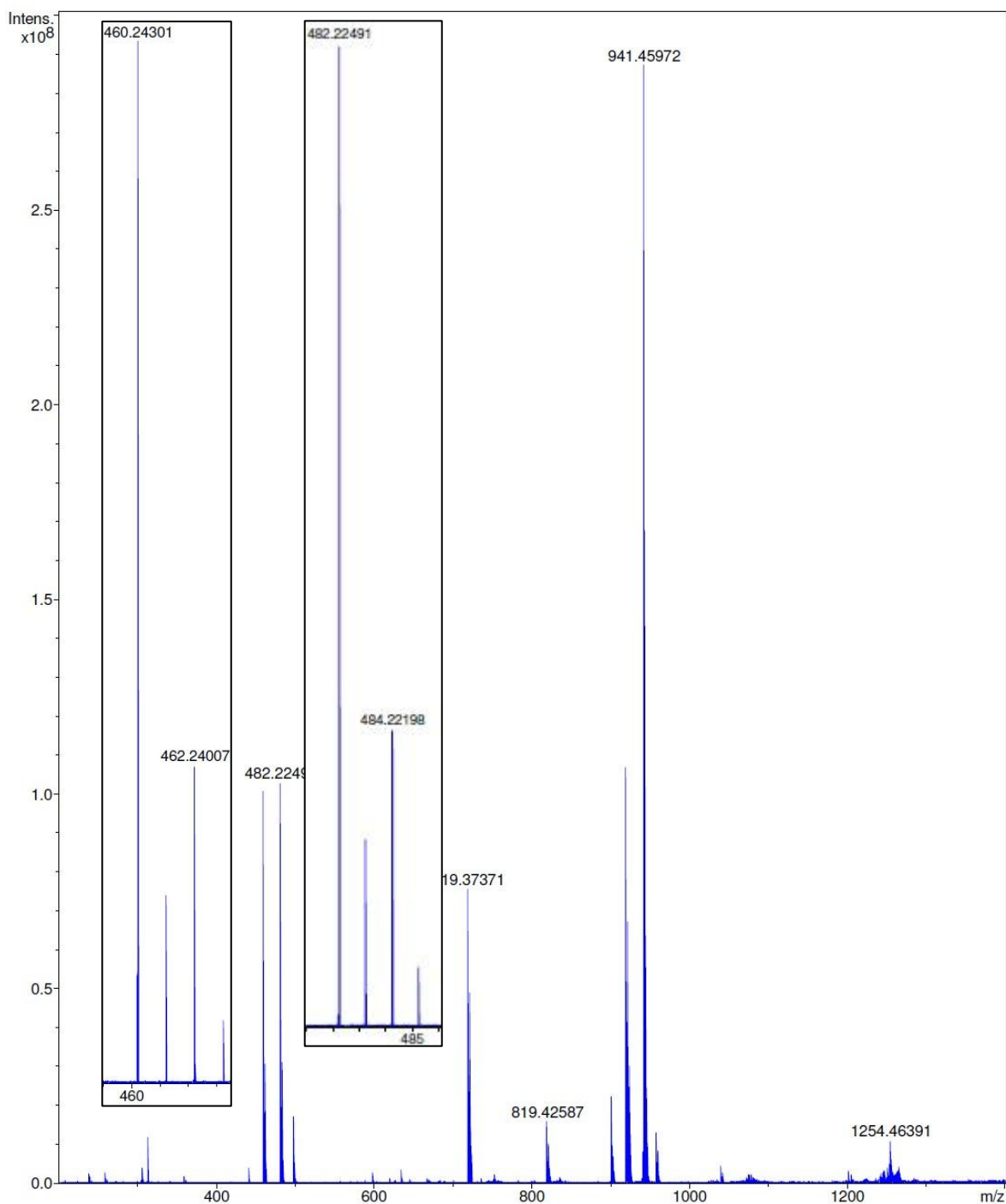


Figura 93. Espectro de massas do composto **136** (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).

A fim de tornar a substância **136** nucleofílica para substituição da metoxila naftoquinônica da 2-metoxilausona **131**, foi necessária desproteção dos grupamentos Boc de modo a regenerar as aminas primárias. Para isso, reagiu-se o composto **136** com ácido trifluoroacético em diclorometano durante

uma hora (Figura 94). O produto isolado foi obtido como um sólido branco com rendimento de 62 %. O ensaio de ponto de fusão revelou que a substância não fundiu até 280 °C.

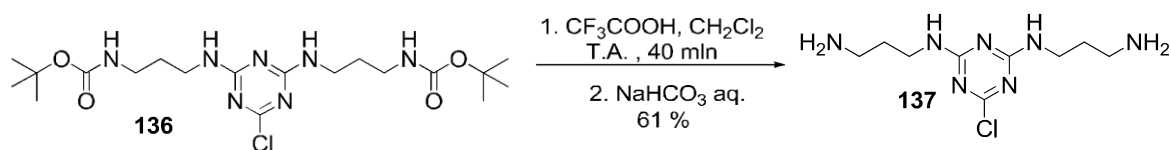


Figura 94. Esquema reacional para desproteção da substância **136**.

O espectro de infravermelho (Figura 95) do produto **149** revela o desaparecimento da banda da carbonila do carbamato em 1690 cm^{-1} , indício da desproteção. Ademais, observam-se as bandas em 3335 cm^{-1} e 3255 cm^{-1} (deformação axial de N-H); em 1642 cm^{-1} (deformação axial de C=N aromático).

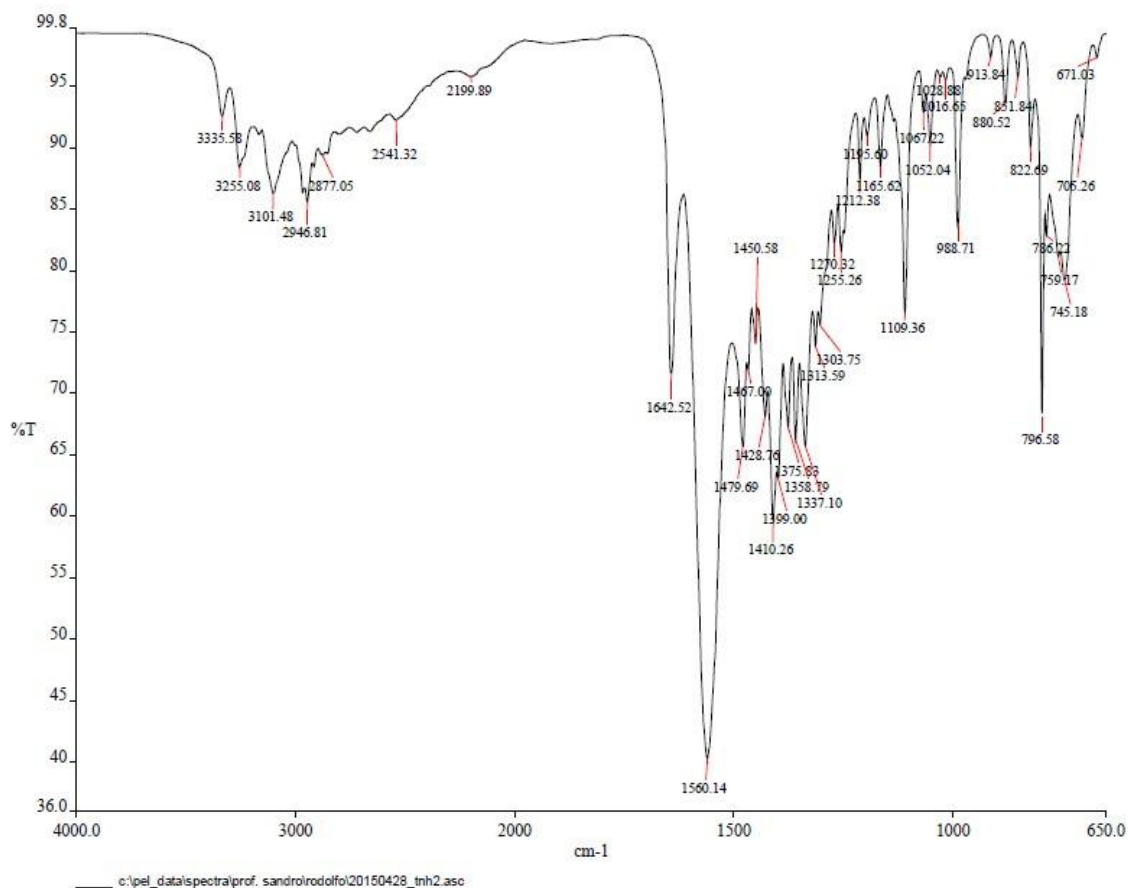


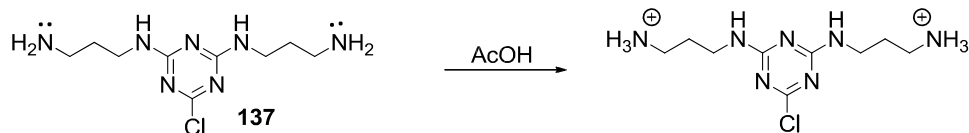
Figura 95. Espectro de infravermelho do produto **137**.

Para submeter o produto obtido à análise de RMN, observou-se

dificuldade da solubilização do composto **137** na maioria dos solventes comuns para tal fim, como DMSO, H₂O, tolueno e CHCl₃. Por fim, percebeu-se uma boa solubilidade do produto em ácido acético a temperatura ambiente. A solubilização em um solvente ácido corrobora com a expectativa do produto **137** ter sido formado. Embora a amina secundária e o nitrogênio do carbamato possam ser protonados e participar de ligações de hidrogênio, as aminas primárias obtidas na desproteção interagem de maneira mais efetiva com o solvente ácido. Possivelmente, isso ocorre devido à maior capacidade acceptora de prótons do nitrogênio da amina primária em detrimento da amina secundária (a qual possui seus elétrons *n* deslocalizados no núcleo triazínico) e do nitrogênio do carbamato (deslocalização dos elétrons *n* com a carbonila), presentes na estrutura do material de partida **136** (Figura 96).



Deslocalização eletrônica dos elétrons *n* dos átomos de nitrogênio
menor disponibilidade dos pares eletrônicos *n* do N
menor capacidade acceptora de prótons (menor interação com AcOH)



Pares de elétrons localizados nas aminas primárias
maior disponibilidade dos pares de elétrons *n* do N
maior capacidade acceptora de prótons (maior interação com AcOH)

Figura 96. Possível explicação para maior solubilidade do produto de desproteção **137** em relação ao **136**.

A expansão da região alifática do espectro de RMN de ¹H para o composto **137** mostrado na Figura 97 não permite extrair informações conclusivas sobre a sua estrutura. Apesar disso, observam-se os dois multipletos típicos de CH₂ vizinhos a NH centrados em 3,53 e 3,16 ppm. Possivelmente, o outro metileno está encoberto pelo sinal em aproximadamente 2,0 ppm (típico de água presente no DMSO-d₆).

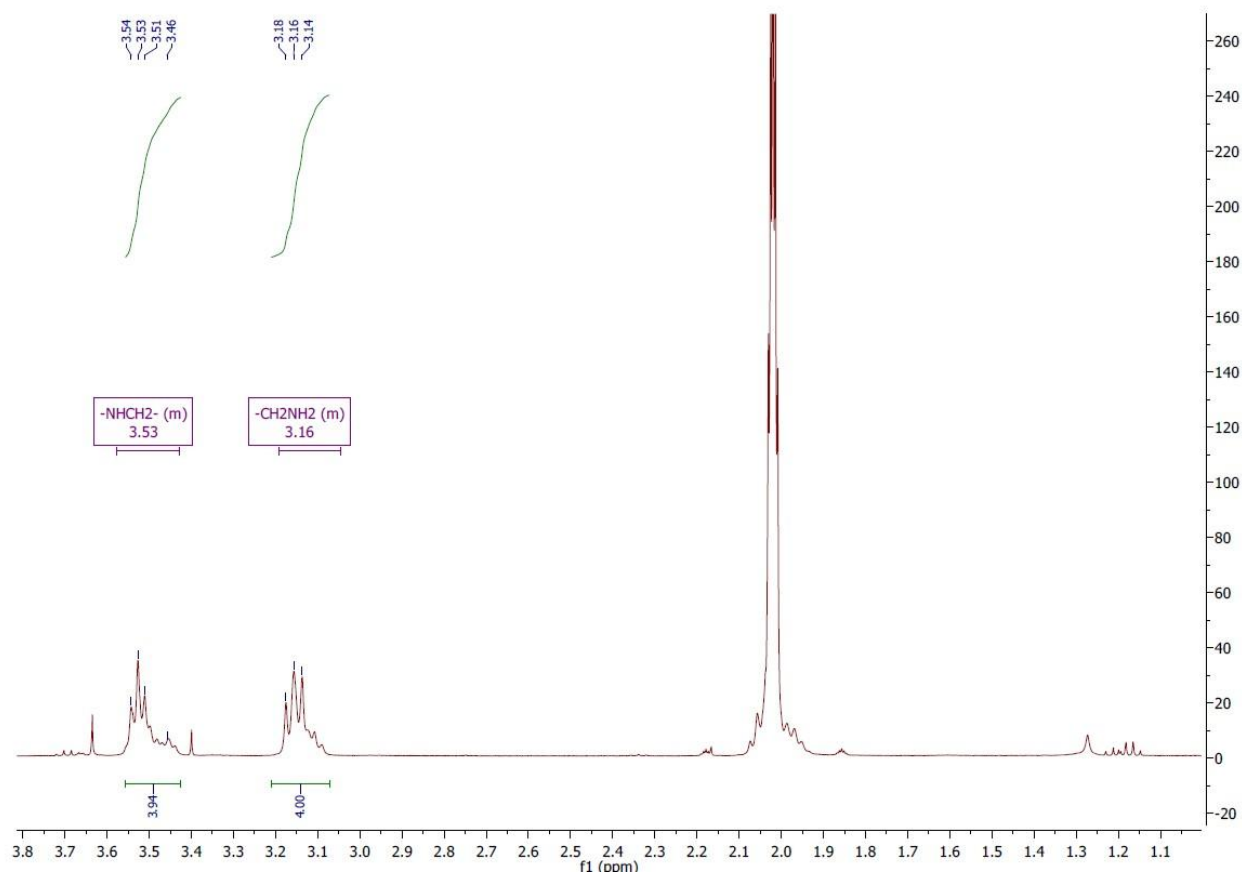


Figura 97. Expansão da região alifático espectro de RMN de ^1H do composto **137**.

Diante da falta de informações que permitissem comprovar a estrutura esperada para o composto **137**, foi necessário realizar análise espectrométrica de massas pelo método de elétron-spray no modo positivo.

A Figura 98 mostra a presença majoritária de dois picos: um com relação massa/carga de 260,13836 m/z e outro de 519,26932 m/z . O primeiro trata-se exatamente da massa obtida pela protonação do produto **137**, com fórmula iônica de $[\text{C}_9\text{H}_{19}\text{ClN}_7]^+$ (valor calculado = 260,13850 m/z com erro de 0,54 ppm). O segundo é referente ao dímero protonado do composto **137**, com fórmula iônica $[\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{Cl}_2\text{N}_{14}]^+$ no qual o valor calculado é de 519,26972 m/z (erro relativo de 0,77 ppm). Além disso, a expansão dos picos comprova a presença de átomo de cloro devido ao seu padrão isotópico específico.

Dessa maneira, com a análise de espectrometria de massas foi possível confirmar a estrutura do composto **137**, comprovando o sucesso da reação de desproteção do grupamento carbamato e regeneração das aminas primárias.

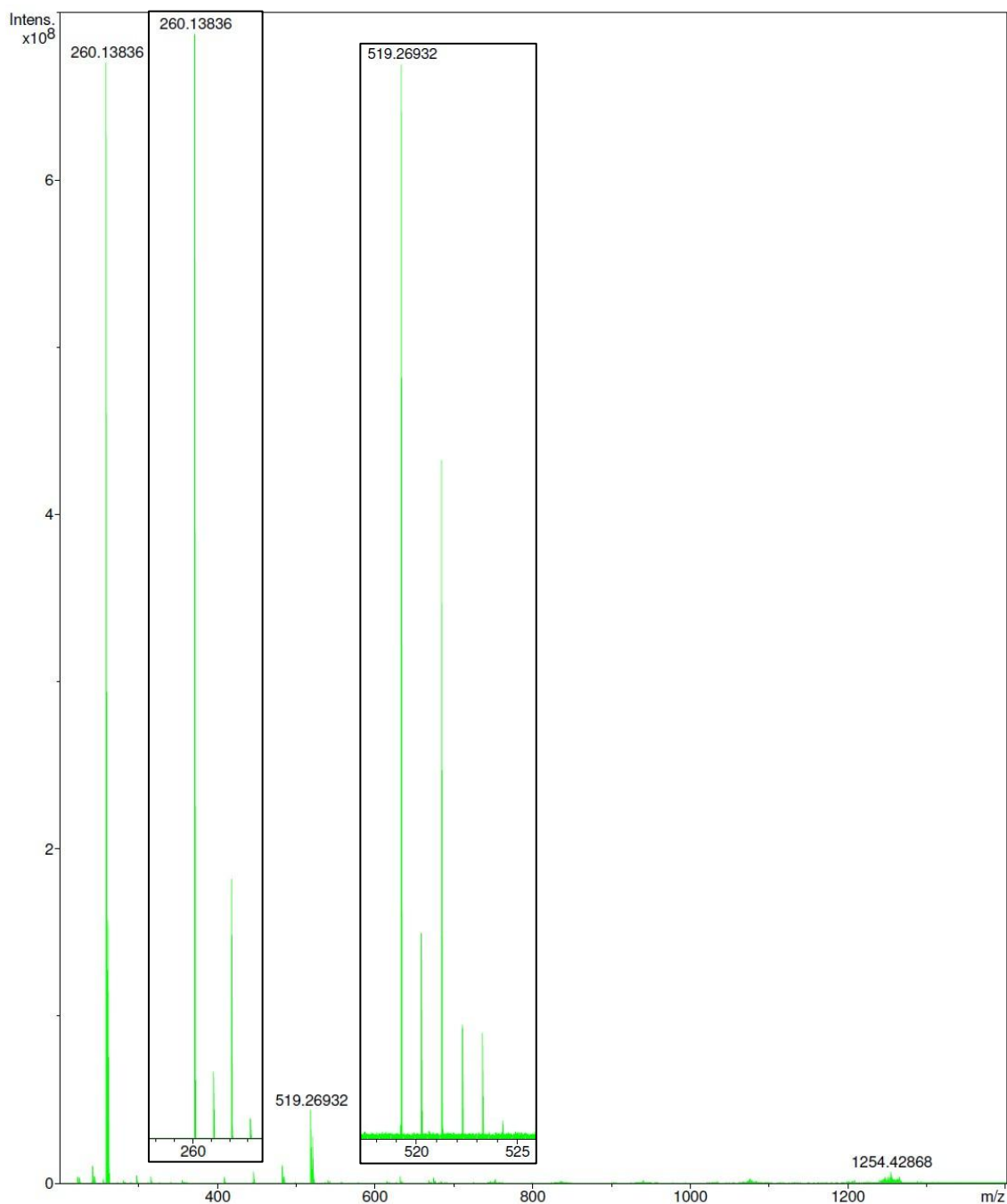


Figura 98. Espectro de massas do composto **137** (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).

De posse do composto **137**, tentou-se realizar a substituição da metoxila da 2-metoxilauona **131**. Como a substituição com nucleófilos nitrogenados já havia sido realizada para obtenção dos intermediários **132** e **133** e do produto final **120**, vislumbrou-se que a preparação do produto **121** pudesse seguir a mesma metodologia (Figura 99, Entrada 1). Entretanto, de forma semelhante à rota exibida na Figura 82 (vide página 108), foi obtida uma mistura de produtos intratável, mesmo utilizando outras condições reacionais na tentativa de

minimizar a quantidade de subproduto formado (Entradas 2, 3 e 4).

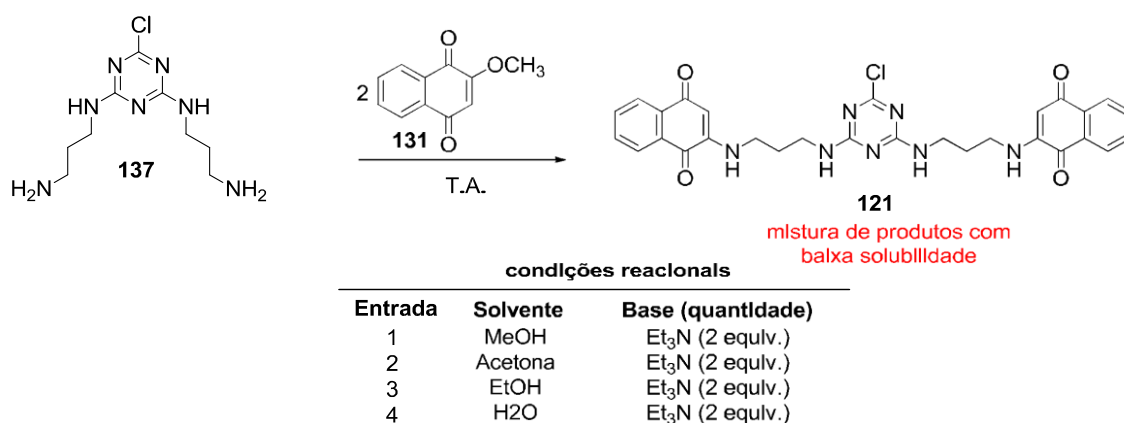


Figura 99. Tentativas experimentais para obtenção do produto **121**.

Tentou-se recristalizar os produtos brutos obtidos, mas, de maneira semelhante à rota da Figura 82, não foi possível purificar o produtor bruto o produto devido à baixa solubilidade mesmo em solventes nas temperaturas de ebulição. Além disso, o material de partida **137** só apresentou boa solubilidade em AcOH, conforme explanado na Figura 96.

Por fim, tentou-se substituir a 2-metoxilausona **131** pela 1,4-naftoquinona, a fim de submetê-la a uma adição oxidativa. Desta maneira, o mesmo produto seria alcançado (Figura 104).¹²⁹

Contudo, neste caso, obteve-se um produto oleoso com perfil cromatográfico indicando a presença de uma mistura complexa de produtos. Mesmo assim, tentou-se realizar uma coluna cromatográfica (sem sucesso) para obtenção de, pelo menos, um dos produtos.

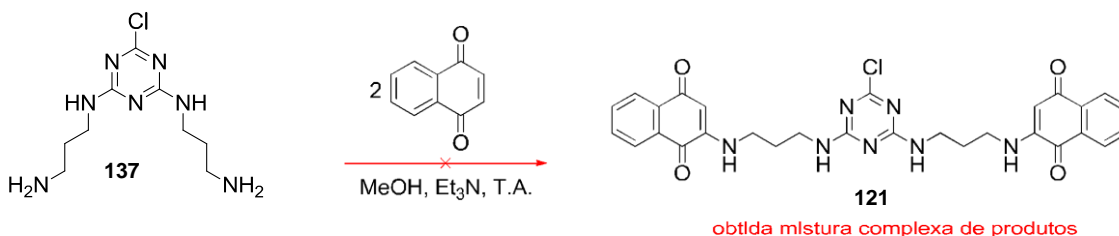


Figura 100. Tentativa de obtenção da molécula-alvo **121** utilizando a 1,4-naftoquinona como eletrófilo.

Como as rotas sintéticas apresentadas na Figura 65 para obtenção dos híbridos contendo os núcleos triazínicos e naftoquinônicos não produziram resultados satisfatórios, decidiu-se tentar a rota mostrada na Figura 66.

Para esta estratégia sintética, inicialmente os ácidos tricarbólicos triazínicos foram sintetizados a partir da reação do cloreto cianúrico **104** com aminoácidos (ácido α -aminoacético, *p*-aminobenzóico e β -aminopropiônico), ilustrado na Figura 105, a fim de serem esterificados com o intermediário naftoquinônico **132**.

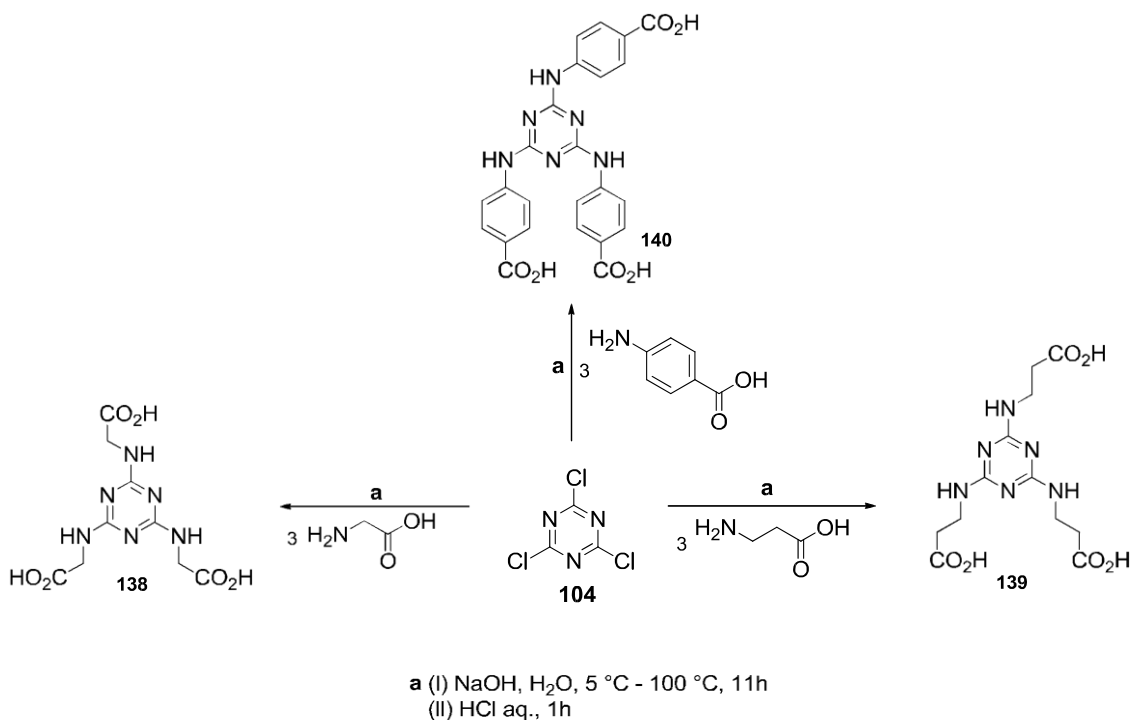


Figura 101. Preparação dos ácidos tricarbólicos **138**, **139** e **140** derivados do cloreto cianúrico.

Ao fim da primeira etapa das reações – condição reacional (i) – nenhum sólido foi observado no balão reacional. Como a solução reacional estava alcalina, o produto formado apresentava-se na forma de tricarboxilato e, por isso, permanecia solúvel no meio aquoso. Após acidificação até pH = 3 aproximadamente, as carboxilas foram protonadas e observou-se precipitação do produto. Os sólidos foram filtrados para obtenção dos ácidos puros **138**, **139** e **140** com rendimentos respectivos de 85 %, 64 % e 91 %.

As análises de cromatografia em camada fina e de ponto de fusão permitiram chegar a apenas uma conclusão importante: os materiais de partida haviam sido consumidos para formar produtos extremamente polares, uma vez que foi visualizada apenas uma mancha a qual não se deslocou da origem na ccf mesmo com AcOH como eluente. Para todas as substâncias obtidas, não se observou ponto de fusão até 280 °C.

As análises do espectro de infravermelho dos compostos obtidos revelam a banda larga da hidroxila das carboxilas entre 3200 cm^{-1} e 2500 cm^{-1} . Além disso, é possível observar a banda da carbonila em 1731 cm^{-1} para o composto **138**, em 1683 cm^{-1} para **140** (por se tratar de um ácido carboxílico aromático) e 1637 cm^{-1} para **139**. É importante ressaltar aqui que, para o composto **139**, é possível que o mesmo tenha sido isolado em uma mistura de ácido carboxílico e carboxilato, uma vez que a banda em 1637 cm^{-1} é típica de sal de ácido carboxílico. Ainda, nos três espectros, observa-se uma banda entre 1250 cm^{-1} e 1230 cm^{-1} , típica de deformação axial de C-O em carboxilas. As outras bandas importantes, como deformação axial de N-H (típica de regiões acima de 3100 cm^{-1}); deformação axial de C=N (entre 1700 cm^{-1} e 1615 cm^{-1}); e deformação axial de C-N (entre 1200 cm^{-1} e 1020 cm^{-1}) estão em regiões congestionadas e com presença de outras bandas, podendo ocorrer sobreposição de sinais.

Embora tenha ficado claro que os produtos obtidos não correspondiam aos materiais de partida, outras análises físicas foram necessárias para comprovar a estrutura obtida.

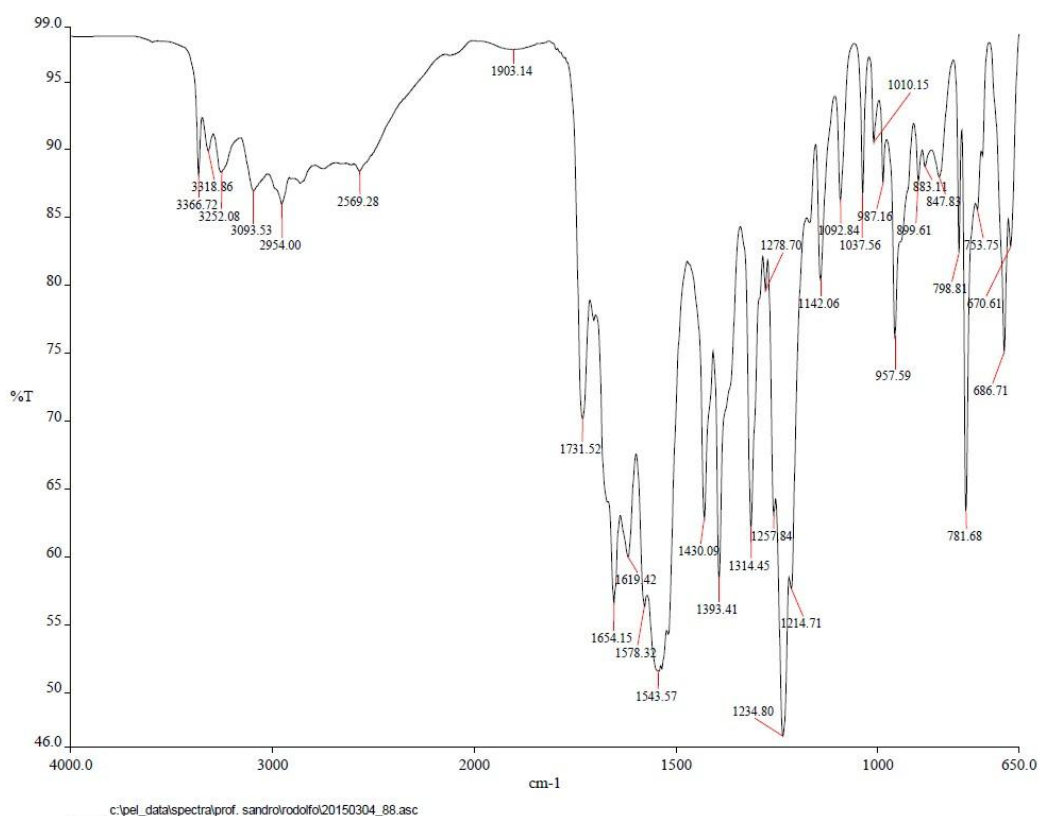


Figura 102. Espectro de infravermelho do composto **138**.

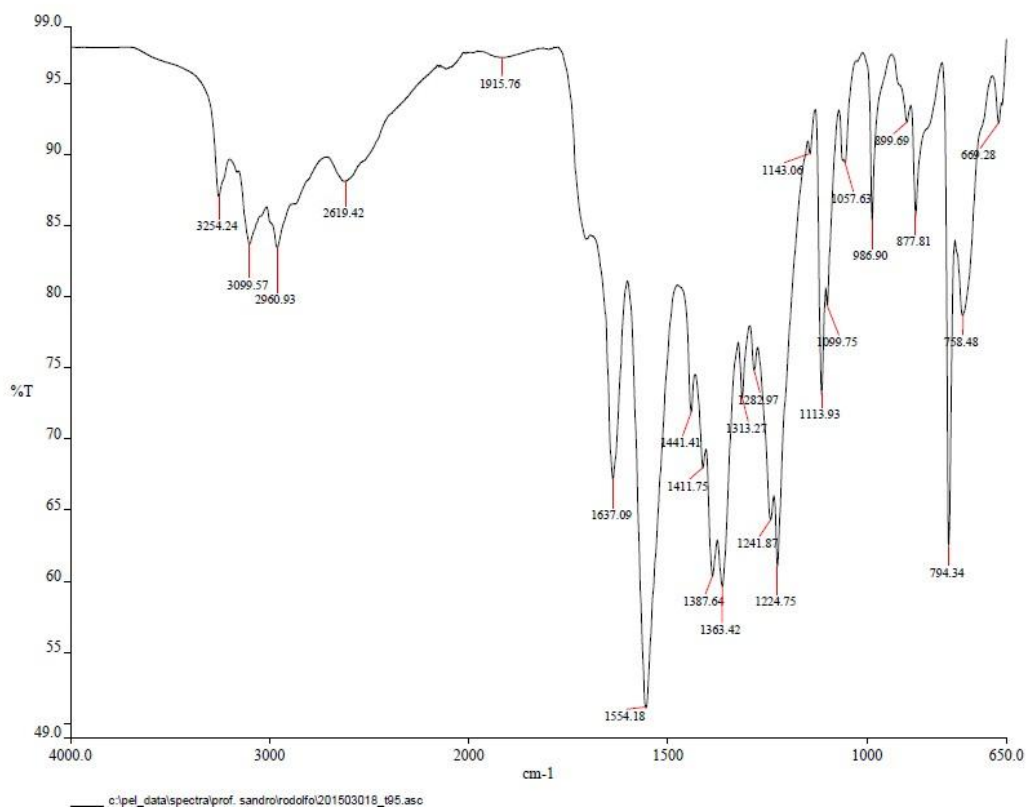


Figura 103. Espectro de infravermelho do composto 139.

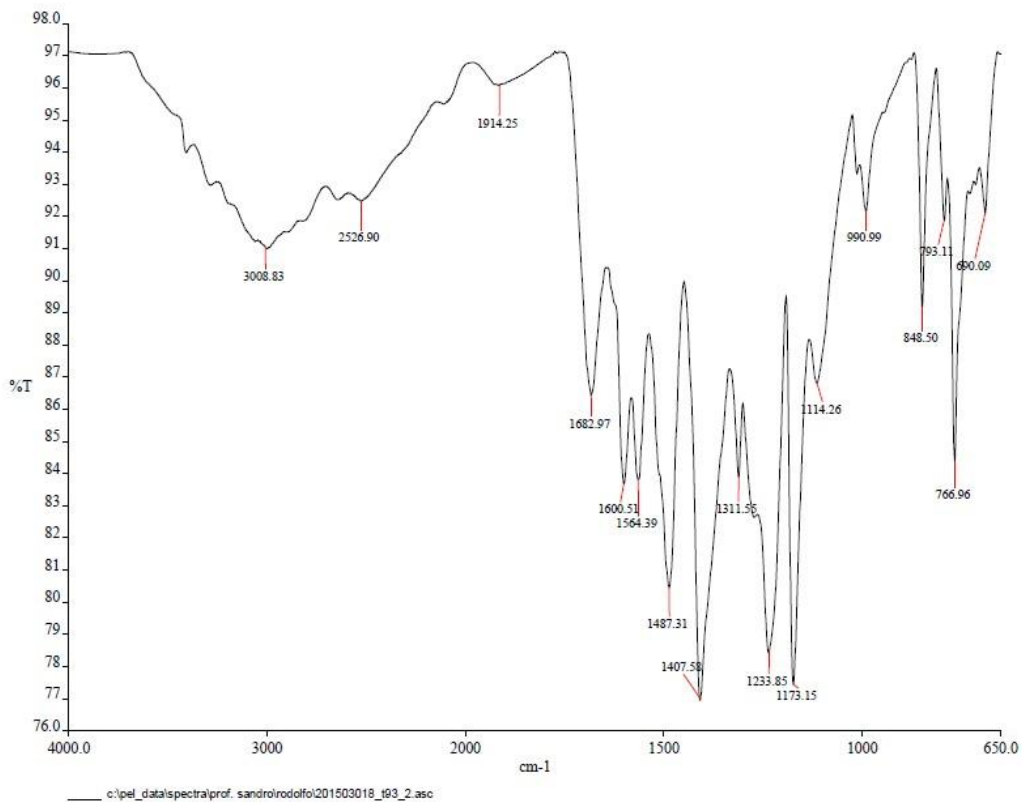


Figura 104. Espectro de infravermelho do composto 140.

As substâncias **138** e **139**, derivadas dos aminoácidos α -aminoacético e β -aminopropiônico, respectivamente, apresentaram comportamento peculiar quanto à solubilidade. O único sistema capaz de solubilizá-los de maneira satisfatória para submissão às análises de ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas foi uma solução alcalina. Sendo assim, inicialmente, converteram-se os produtos **138** e **139** em sais sódicos por meio de neutralização com hidróxido de sódio (Figura 105).

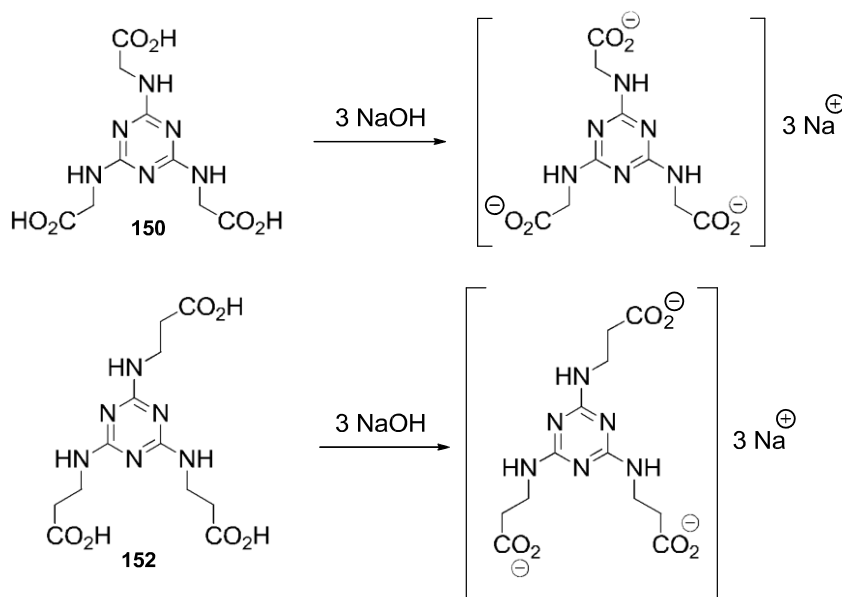


Figura 105. Formação dos sais sódicos dos compostos **138** e **139**.

Os compostos **138** e **139**, agora na forma de sal, foram solubilizados em D₂O para análise de RMN. O composto **140** foi submetido à análise sem conversão à forma aniônica por ser solúvel em DMSO.

O espectro de RMN de ¹H obtido para o sal sódico de **138**, como esperado, exibiu apenas um duplete em 3,73 ppm ($J = 7,9$ Hz) referente aos metilenos da porção do aminoácido – Figura 106. Para o composto **140** (Figura 108), foi observado um singlete em 9,78 ppm integrando para três hidrogênios, correlatos aos hidrogênios das carboxilas; um duplete em 7,95 ppm com constante de acoplamento de 8,7 Hz integrando para seis átomos de hidrogênios, referentes aos hidrogênios *orto* em relação à carboxila que acopla com o duplete em 7,86 ppm com integração de seis, relativos aos hidrogênios *meta* em relação à carboxila. Por fim, para o sal do composto **139** (Figura 107), são observados dois multipletos: um centrado em 3,42 ppm, referente ao metileno α -nitrogênio e em 2,33 ppm, relativo ao metileno α -carboxila.

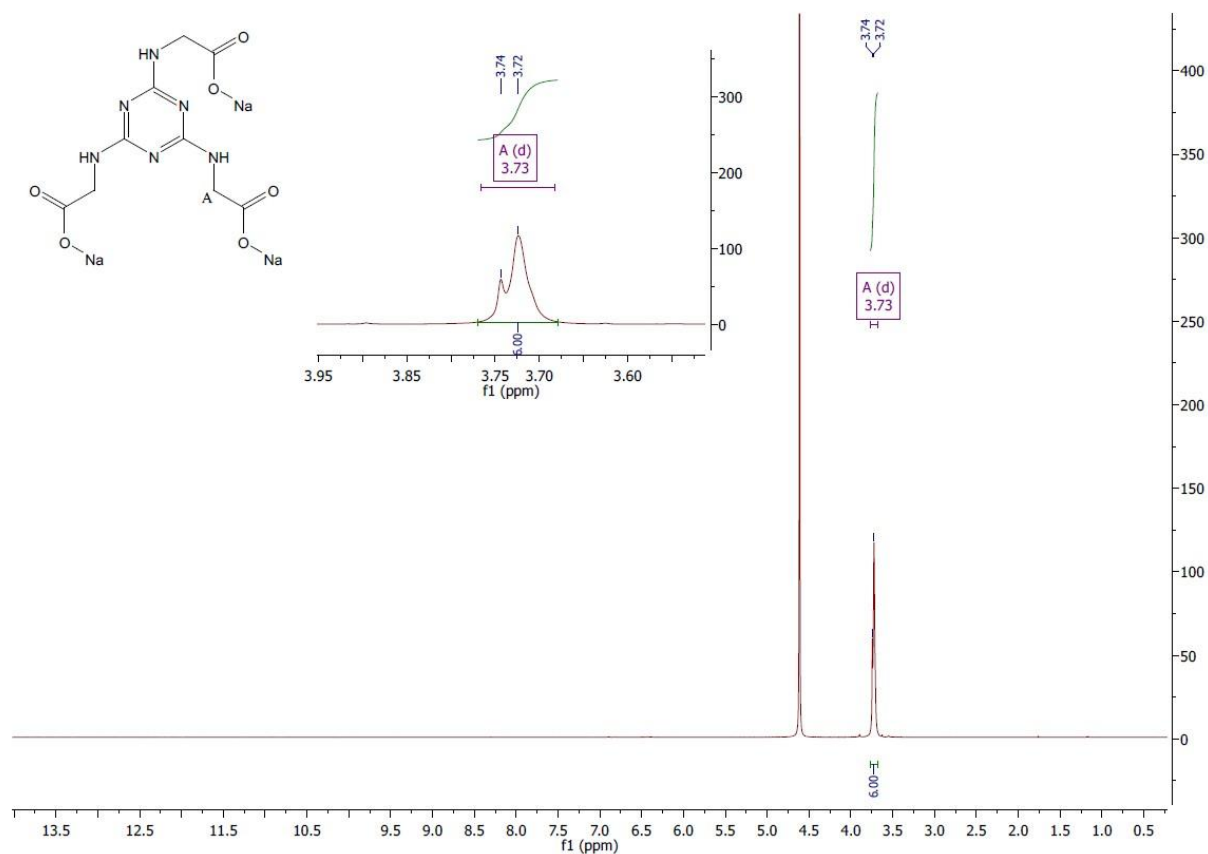


Figura 106. Espectro de RMN de ^1H para o sal do composto 138.

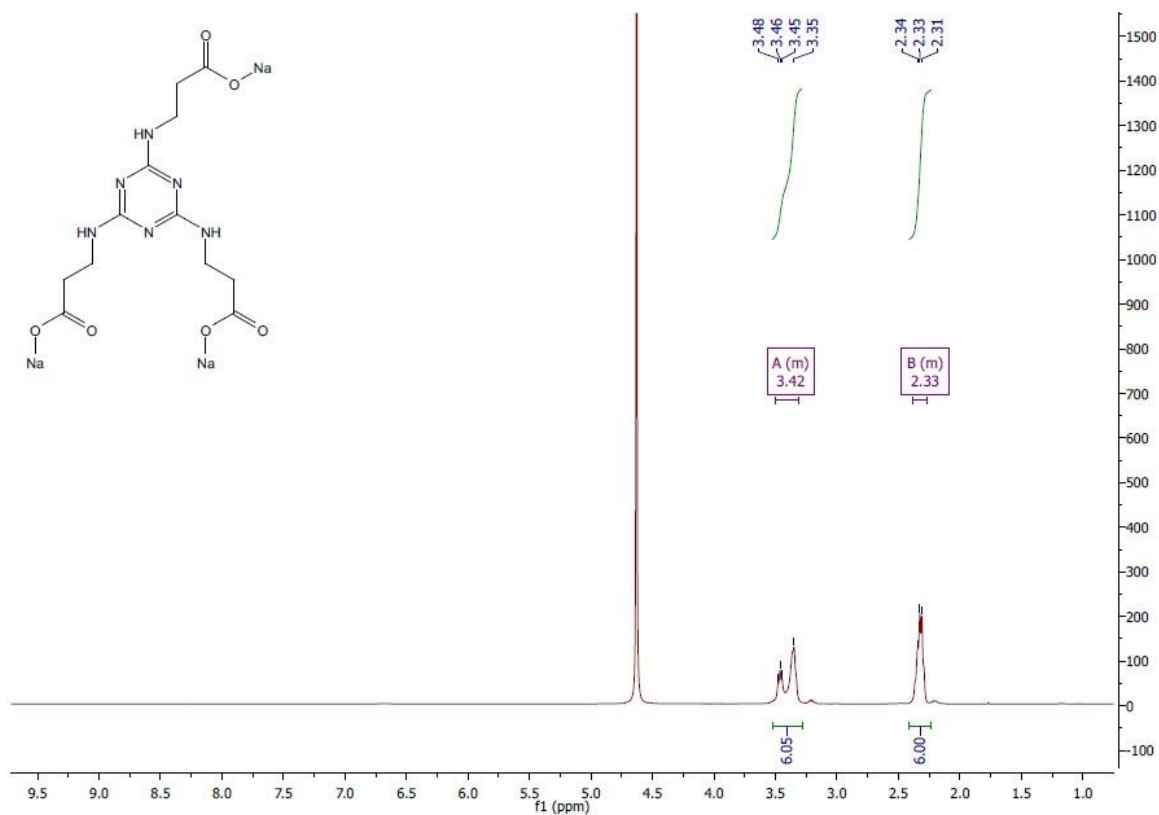


Figura 107. Espectro de RMN de ^1H do sal do composto 139.

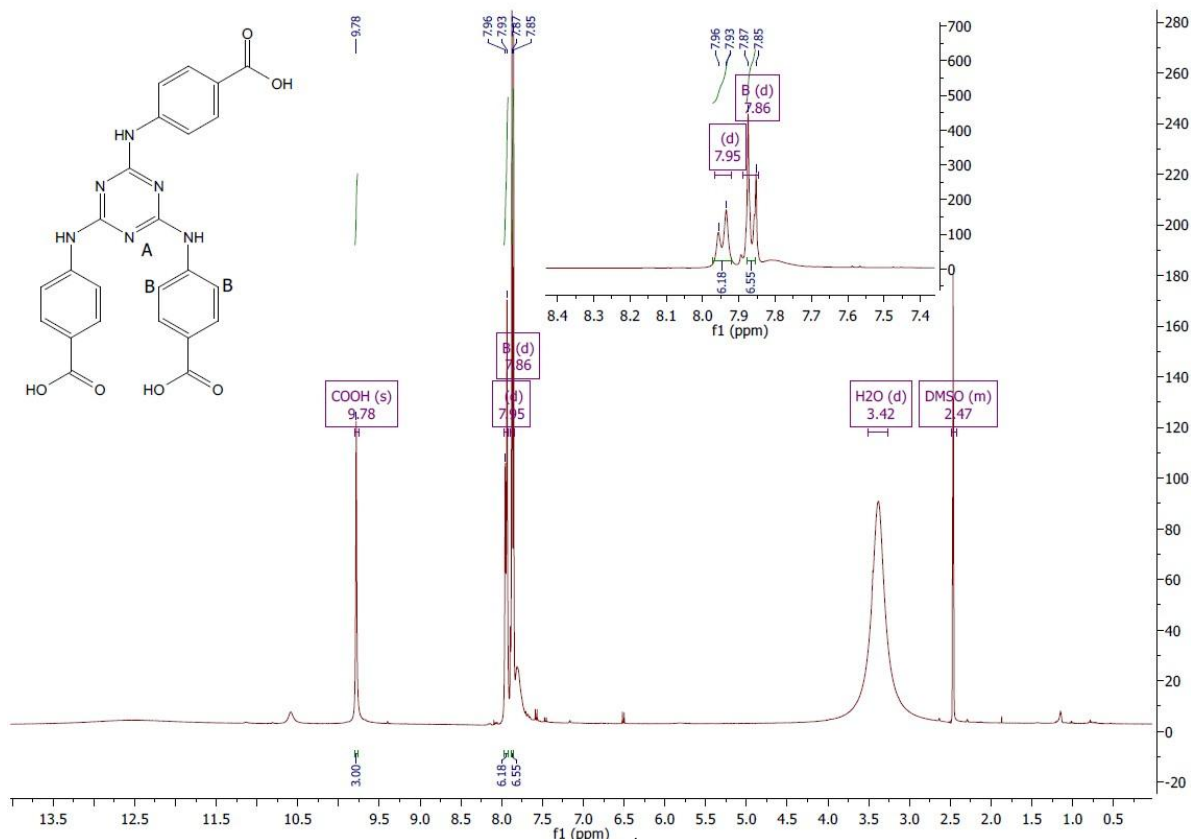


Figura 108. Espectro de RMN de ^1H para o composto **140**.

O espectro de RMN de ^{13}C revela para a substância **138** três sinais: dois na região mais desblindada referentes aos carbonos da triazina e da carboxila (177,8 ppm e 177,5 ppm) e um na região alifática em 44,2 ppm, relacionado ao metileno (Figura 109).

A Figura 110 traz o espectro de RMN de ^{13}C para o composto **140**. Neste, observam-se 6 sinais na região mais desblindada, referindo-se, possivelmente, aos carbonos dos anéis aromáticos. É possível que, de maneira esperada, os carbonos do núcleo triazínico e da carboxila tenham aparecidos com baixa intensidade e, assim tenham sido confundidos com ruído.

O espectro de RMN de ^{13}C para o sal do composto **139** mostrado na Figura 111 permite visualizar quatro sinais: dois na região mais desblindada referentes aos carbonos do núcleo triazínico e da carboxila (180,7 ppm e 164,5 ppm) e dois sinais na região mais blindada: um em 37,8 ppm (CH_2 vizinho ao nitrogênio) e em 36,7 ppm (CH_2 vizinho à carboxila).

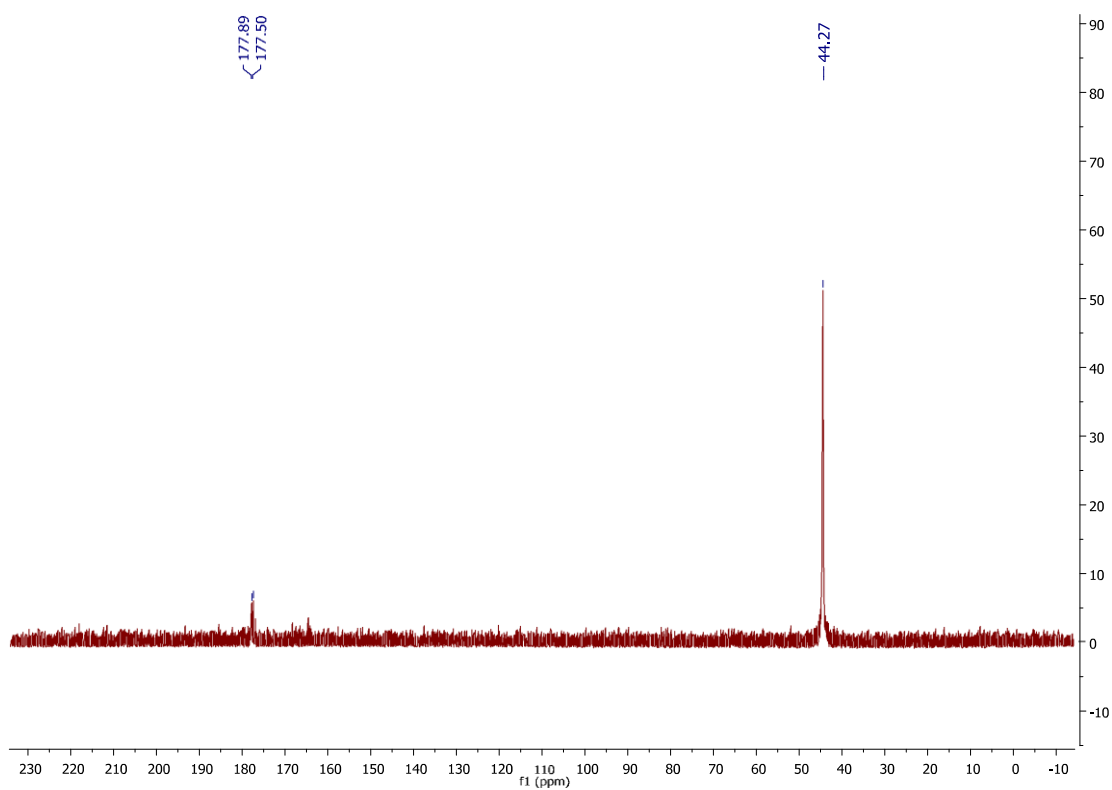


Figura 109. Espectro de RMN de ^{13}C para o sal do composto 138.

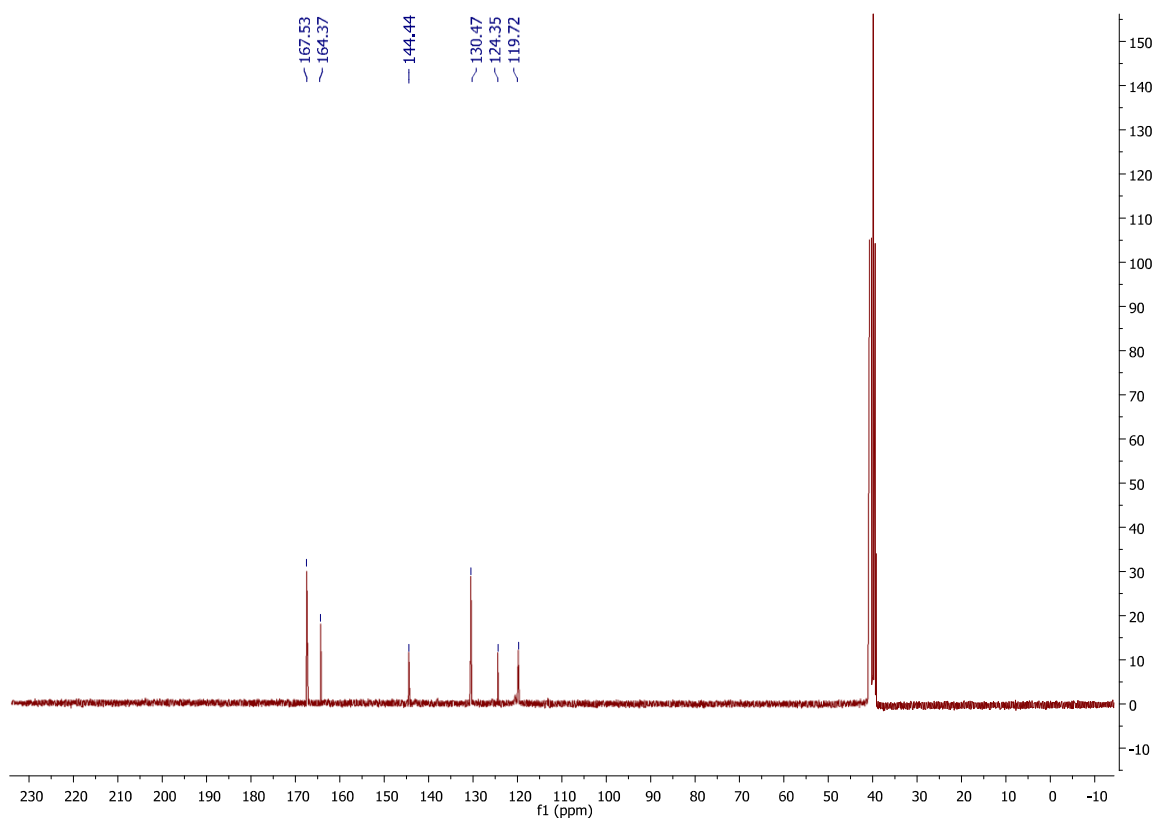


Figura 110. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 140.

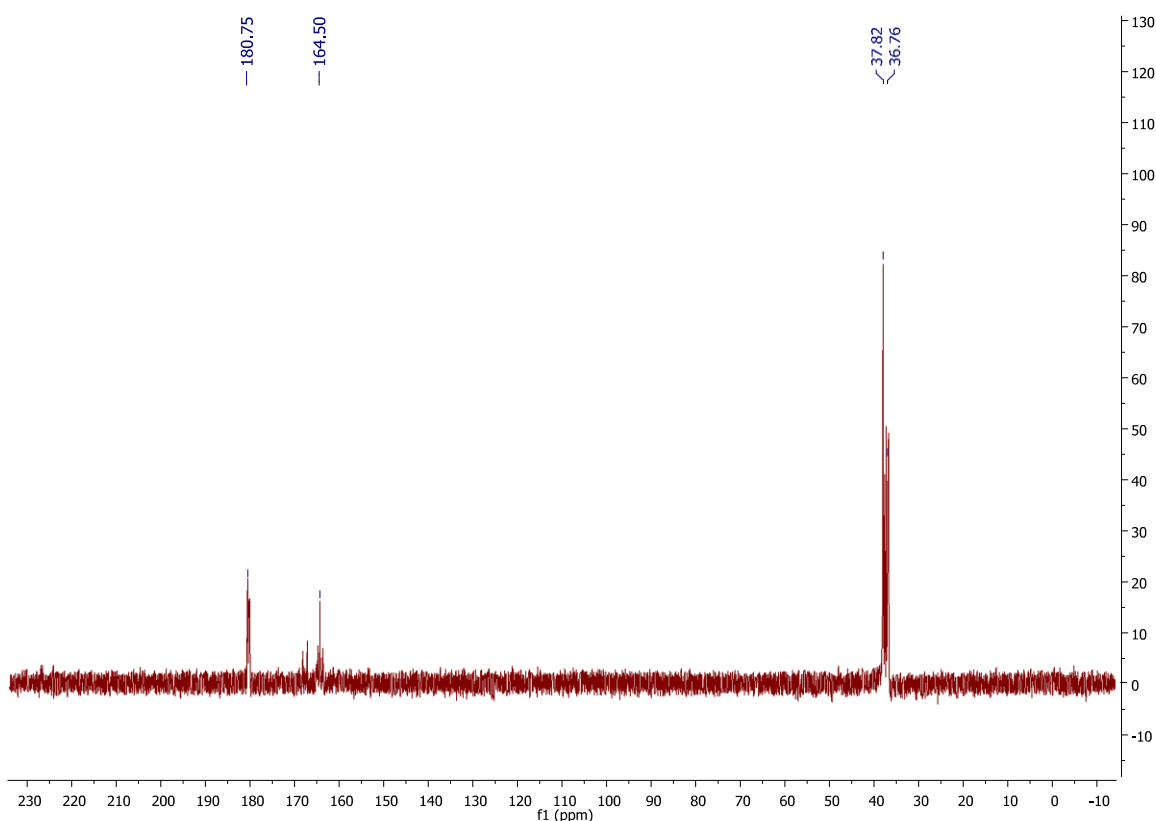


Figura 111. Espectro de RMN de ^{13}C para o sal do composto **139**.

Por fim realizou-se a análise de espectrometria de massas para os três compostos pelo método de elétron-spray. Para **138**, obtido no modo negativo (Figura 112), observaram-se três picos característicos: um em 299,07453 m/z , referente ao composto **138** deficiente de um próton - fórmula $[\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_6\text{O}_6]^-$ (valor calculado 299,07456 m/z com erro de 0,08 ppm); um em 321,05652 m/z , concernente ao composto de fórmula $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_6\text{O}_6 + \text{Na}]^-$ (valor calculado 321,05650 m/z com erro de -0,06 ppm) e; em 343,03847 m/z , correspondente ao composto de fórmula $[\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_6\text{O}_6 + 2\text{Na}]^-$ (valor calculado 343,03844 m/z com erro relativo de -0,06 ppm).

Diante da impossibilidade de realizar a análise de massas em DMSO (solvente que solubiliza bem o composto **140**), foi necessário convertê-lo em sal sódico para solubiliza-lo em água. O espectro de melhor resultado foi obtido no modo positivo (Figura 113) e, nele, observa-se apenas um pico em 575,06422 m/z referente ao composto de fórmula $[\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{N}_6\text{Na}_3\text{O}_6 + \text{Na}]^+$ (valor calculado 575,06384 m/z e erro de -0,67 ppm).

Para **139** (Figura 114), obtido no modo positivo, foi observado um pico

em 575,06422 m/z , condizente com a massa calculada para o sal trissódico do composto com um cátion sódio extra ($[C_{24}H_{15}N_6Na_3O_6 + Na]^+$) que possui relação massa/carga de 575,06384 m/z , traduzindo-se em um erro relativo de -0,67 ppm.

Em todos estes sinais destacados para os três compostos o padrão de abundância do cloro não apareceu, indicando que o produto foi obtido a partir da trissubstituição no cloreto cianúrico, corroborando com a estrutura esperada.

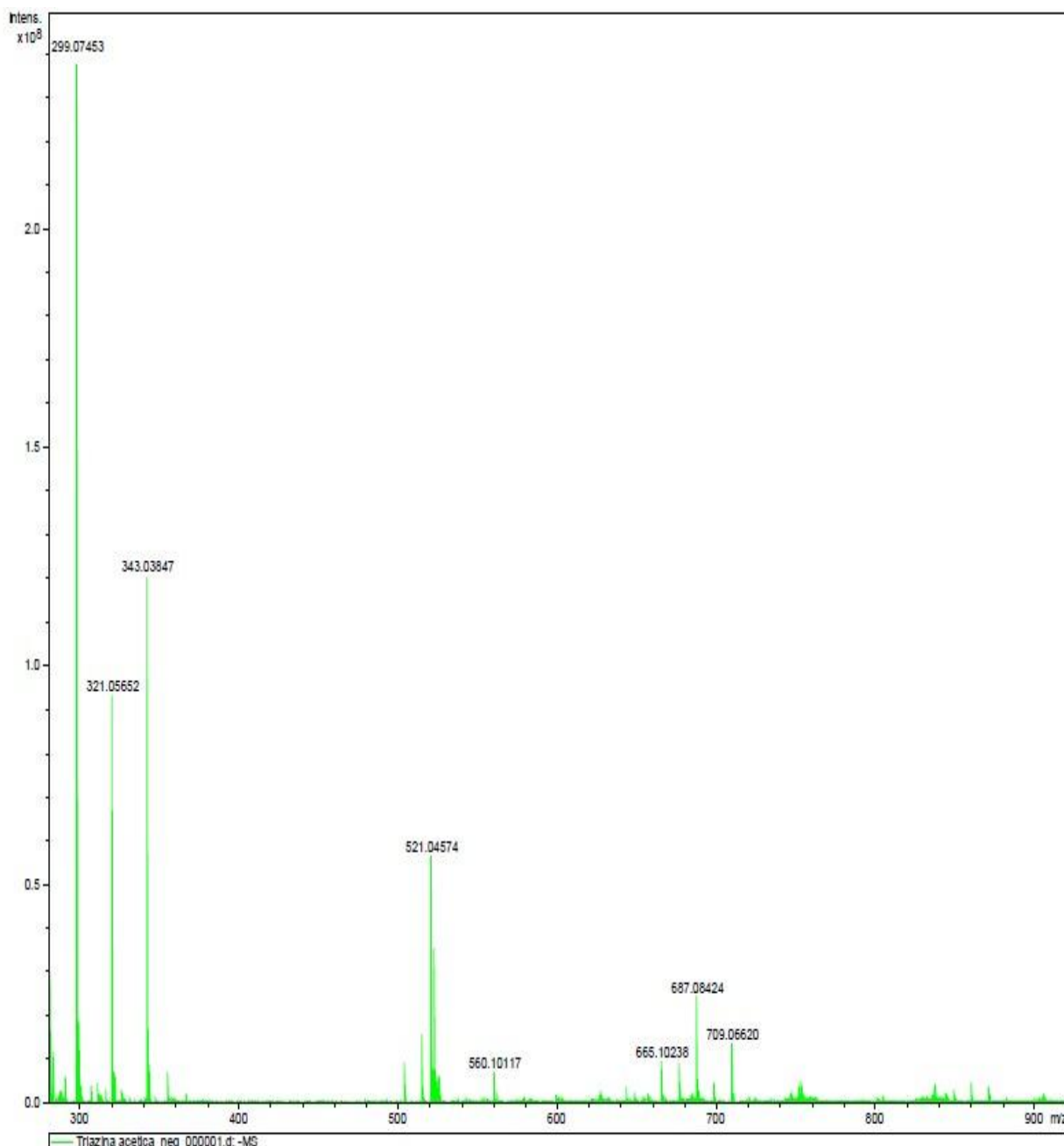


Figura 112. Espectro de massas para o sal trissódico do composto **138** (ESI (-) FT-ICR MS, 9,4T).

Window Display Report

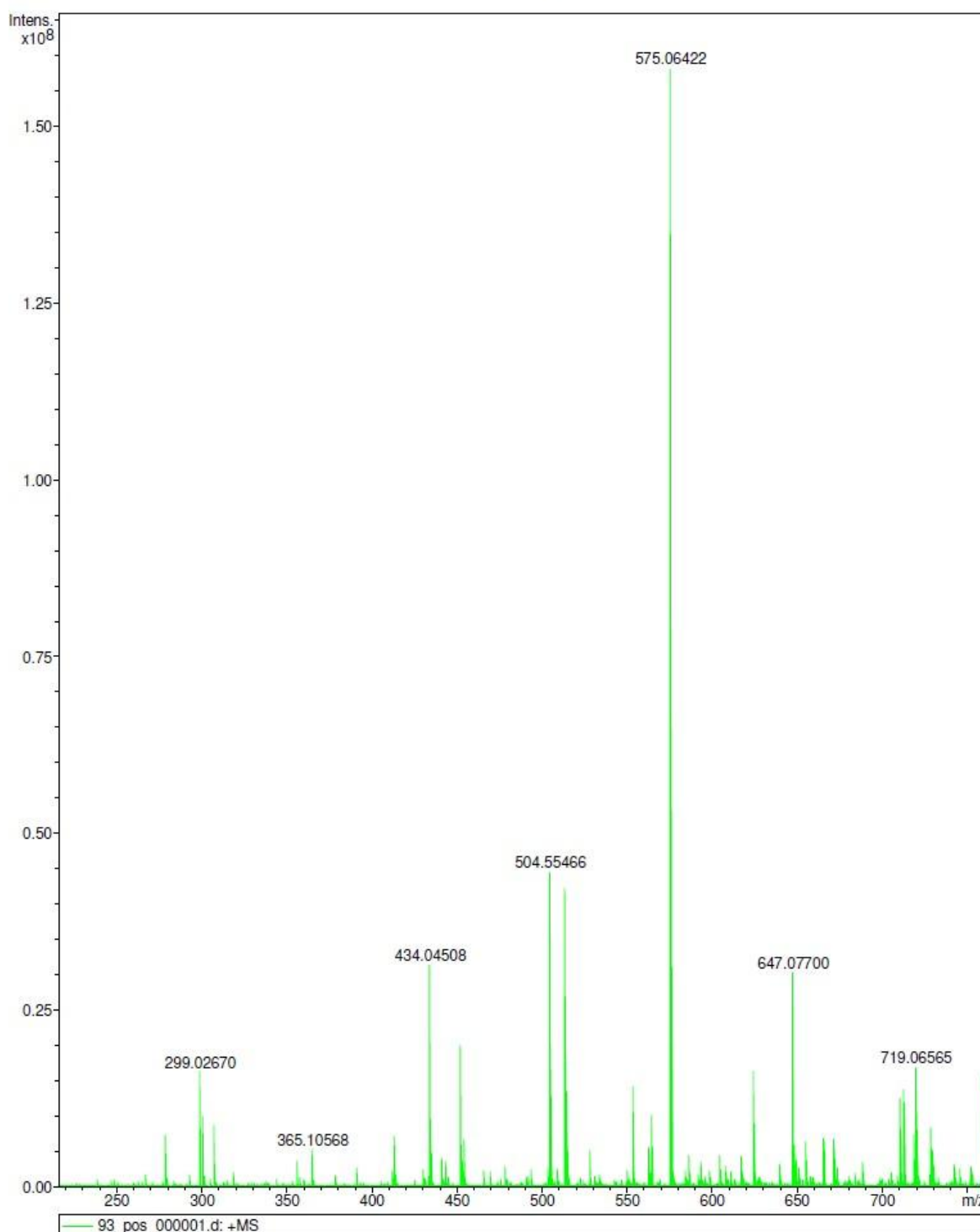


Figura 113. Espectro de massas para o sal trissódico do composto **140** (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).

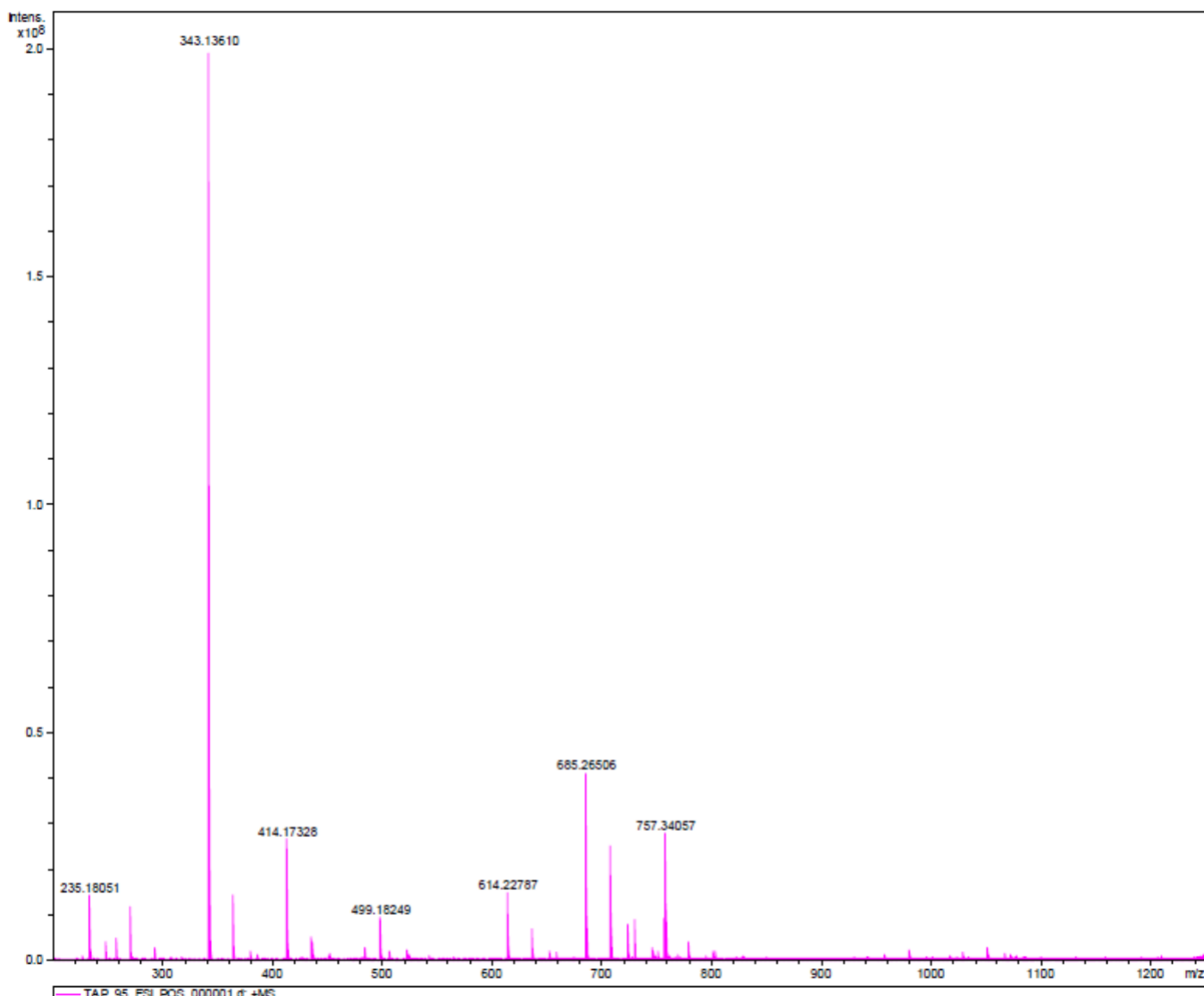


Figura 114. Espectro de massas para o sal trissódico do composto **139** (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).

De posse dos ácidos tricarbóxicos derivados da triazina **138**, **139** e **140** e do aminoálcool naftoquinônico **132**, tentou-se realizar as esterificações de modo a obter híbridos moleculares contendo os núcleos naftoquinônico e triazínico.

Desta maneira, a primeira tentativa foi realizar uma esterificação por catálise ácida em tolueno com 20 mol % de ácido *p*-toluenossulfônico (*p*-TsOH) sob refluxo, sob condições de destilação azeotrópica da água usando *Dean-Stark* (Figura 115). Assim, escolheu-se primeiramente o ácido **138**.

Como a reação de esterificação é constituída por uma sequência de etapas reacionais envolvendo equilíbrios químicos, a utilização do *Dean-Stark* é importante para garantir rendimentos mais altos. O aparato permite

destilação de água formada como subproduto por meio do refluxo em tolueno, deslocando o equilíbrio para formação dos produtos.

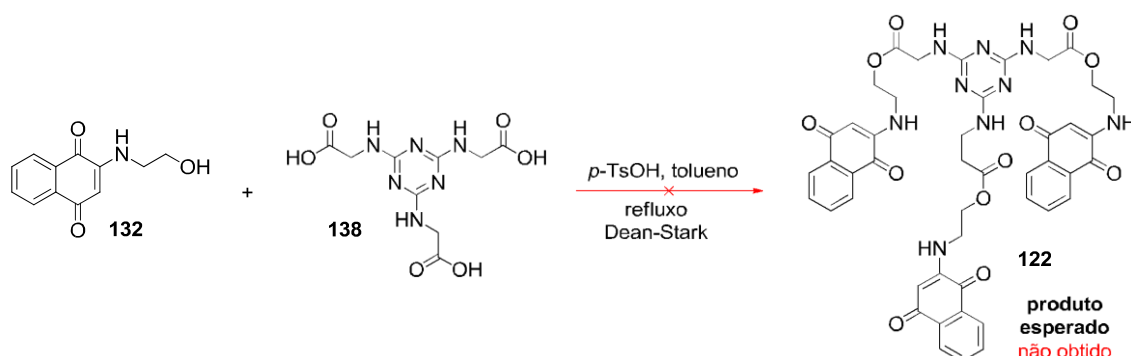


Figura 115. Tentativa de esterificação do ácido **138** com o aminoálcool naftoquinônico **132** sob catálise ácida.

Mesmo após 48 h de refluxo, não foi possível observar a formação de nenhum produto. Possivelmente, o ocorrido se deve ao fato de que o ácido **150** não se dissolve em tolueno formando um sistema heterogêneo que dificulta o processo reacional.

Para contornar este resultado negativo, mudou-se a metodologia de esterificação para a esterificação de Steglich, realizada em meio básico, já empregada em nosso laboratório.^{130,131} Nesta metodologia, reage-se inicialmente o ácido carboxílico com diciclohexilcarbodiimida (DCC) e 4-dimetilaminopiridina (DMAP) em um solvente como CH_2Cl_2 ou DMF para formar *in situ* o anidrido do ácido, o qual sofre uma substituição nucleofílica pelo álcool a fim de formar o éster esperado.

Neste contexto, também se decidiu reagir o ácido **150** (1 equivalente) com o aminoálcool naftoquinônico **144** (3 equivalentes) a fim de se chegar ao mesmo produto, **137**. Foram utilizados 1,2 equivalentes de DCC e 10 mol % de DMAP em três sistemas compostos por três solventes diferentes: CH_2Cl_2 , DMF e N-metilpirrolidona (NMP). Entretanto, como mostrado na Figura 116, o produto não foi obtido puro.

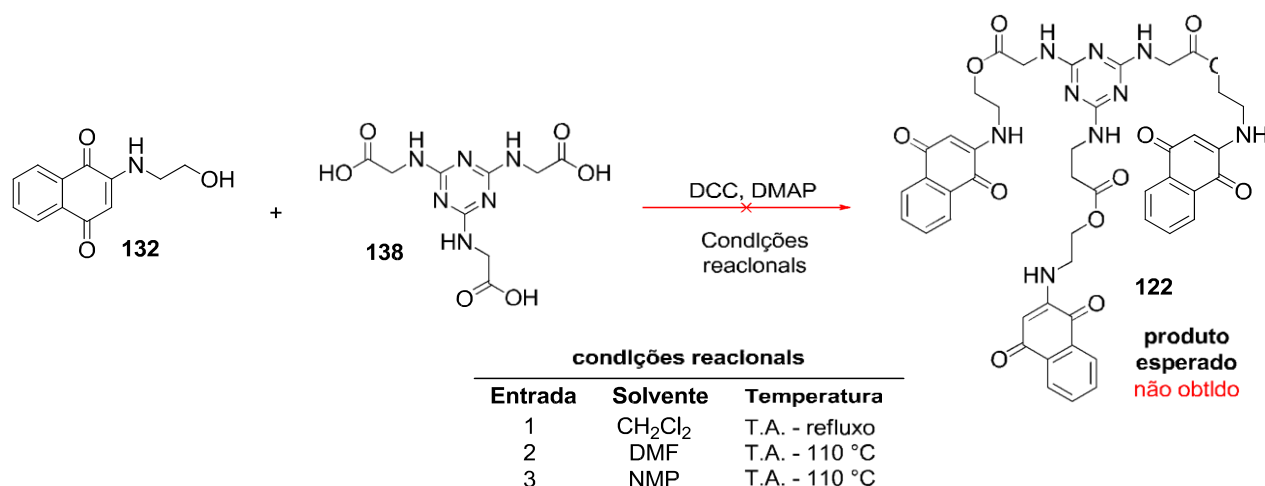


Figura 116. Tentativa de obtenção do éster **122** por meio da esterificação de Steglich.

Na Entrada 1, quando foi utilizado o diclorometano como solvente, não se observou solubilização dos materiais de partida, mesmo em temperaturas de refluxo (42 °C). Isso pode ter impossibilitado a colisão efetiva entre os substratos e, assim, inviabilizado a reação. Nos casos 2 e 3, notou-se que a solubilização dos materiais de partida só ocorreu em altas temperaturas (acima de 100 °C). Com isso, uma quantidade grande produtos foi formada, indicado pela cromatografia em camada fina. Efetuou-se cromatografia em coluna na tentativa de isolar o éster alvo. Entretanto, não foi possível obtê-lo puro.

Por fim, diante de todos os problemas de solubilidade e visando ainda obter o híbrido contendo os núcleos naftoquinônico e triazínico, alteraram-se as rotas iniciais. Racionalizou-se a síntese substituindo inicialmente dois átomos de cloro por grupamentos que tenderiam a aumentar a solubilidade do intermediário. Para isso, foi escolhida a morfolina – uma amina comercialmente disponível e com reconhecida atividade biológica,^{132,133} podendo aumentar a citotoxicidade para as células de câncer e seletividade terapêutica das substâncias finais. A Figura 117 ilustra a rota reacional visando a obtenção de tal produto.

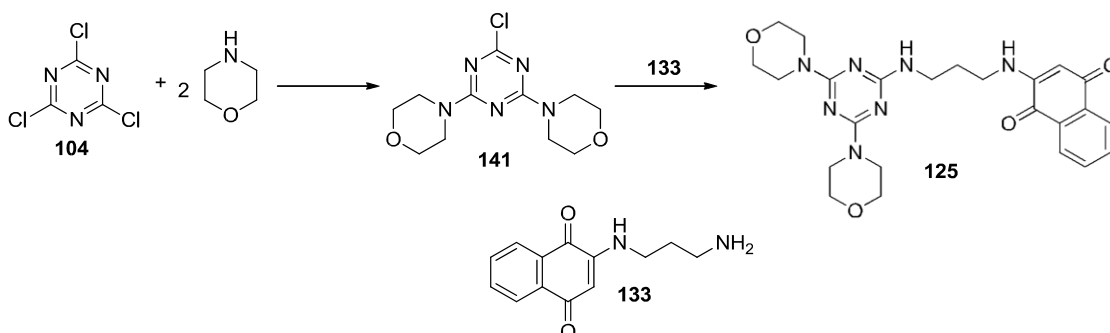


Figura 117. Estratégia alternativa para síntese de híbrido molecular entre naftoquinona e triazina **125**.

Para síntese do intermediário **141**, reagiram-se dois equivalentes de morfolina com um de cloreto cianúrico **104** em acetona, gelo triturado e trietilamina, conforme experimental descrito por Venkatesan e colaboradores.¹³⁴ A Figura 122 apresenta o esquema reacional para obtenção de **141**.

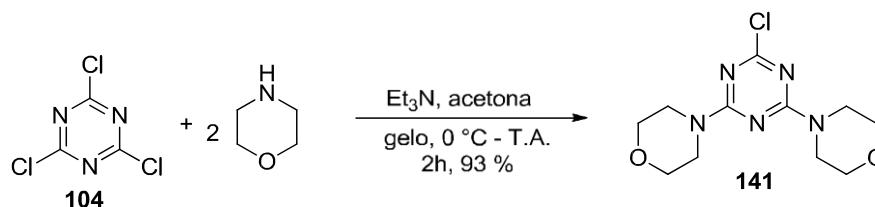


Figura 118. Preparação do intermediário **141**.

O conteúdo reacional foi filtrado a vácuo e o sólido branco obtido foi lavado com água, o qual foi seco à pressão reduzida. Obteve-se rendimento de 93 % apresentando intervalo de fusão de 171 °C - 172 °C. A caracterização do produto por infravermelho (Figura 119) revela o aparecimento das bandas de metileno das morfolinas em 2852 cm⁻¹.

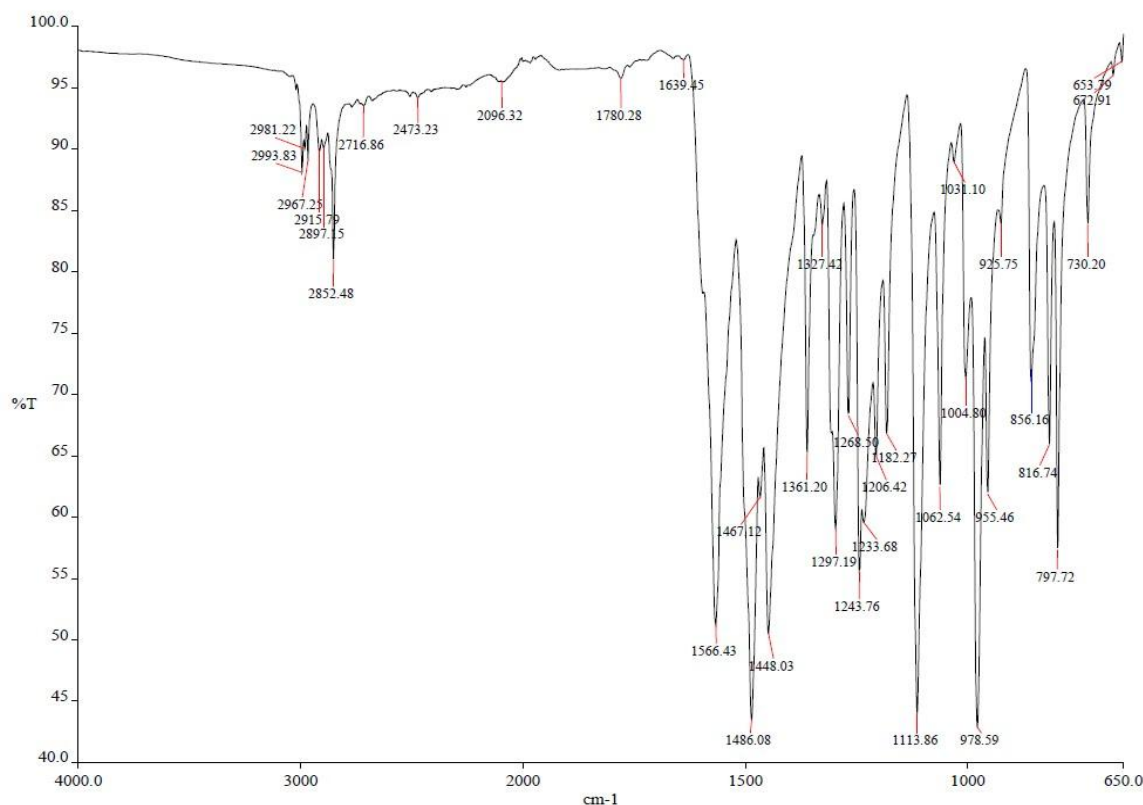


Figura 119. Espectro de infravermelho do composto **141**.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 120) evidencia dois sinais esperados, referentes aos metilênos quimicamente equivalentes das morfolinás. Um deles, mais desblindado, aparece como multipletto centrado em 3,62 ppm, relacionado aos metilênos vizinhos ao átomo de oxigênio. O outro multipletto centrado em 3,56 ppm, diz respeito aos metilênos vizinhos ao átomo de nitrogênio. Como os sinais aparecem como multiplettos, não é possível concluir se os metilênos estão acoplado entre si. Para verificar esta informação, solicitou-se um mapa de contorno de correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY, mostrado na Figura 121 e, como esperado, os metilênos estão acoplado.

Além dessas informações, o espectro de carbono-13 (Figura 122) exhibe quatro sinais correlacionados aos quatro tipos de carbonos existentes na estrutura do produto: os dois aromáticos triazínicos (um ligado ao átomo de cloro e os outros ligados às morfolinás) em 169,1 ppm e 164,2 ppm; e os dois alicíclicos da cadeia da morfolina em 66,2 ppm e 43,9 ppm. O HSQC, por sua vez, permite identificar que o sinal em 66,2 ppm acopla com o hidrogênio em 3,56 ppm, referente aos metilênos vizinhos ao átomo de oxigênio; e o sinal em 43,9 ppm acopla com o hidrogênio em 3,6 ppm

(metileno vizinho ao átomo de nitrogênio).

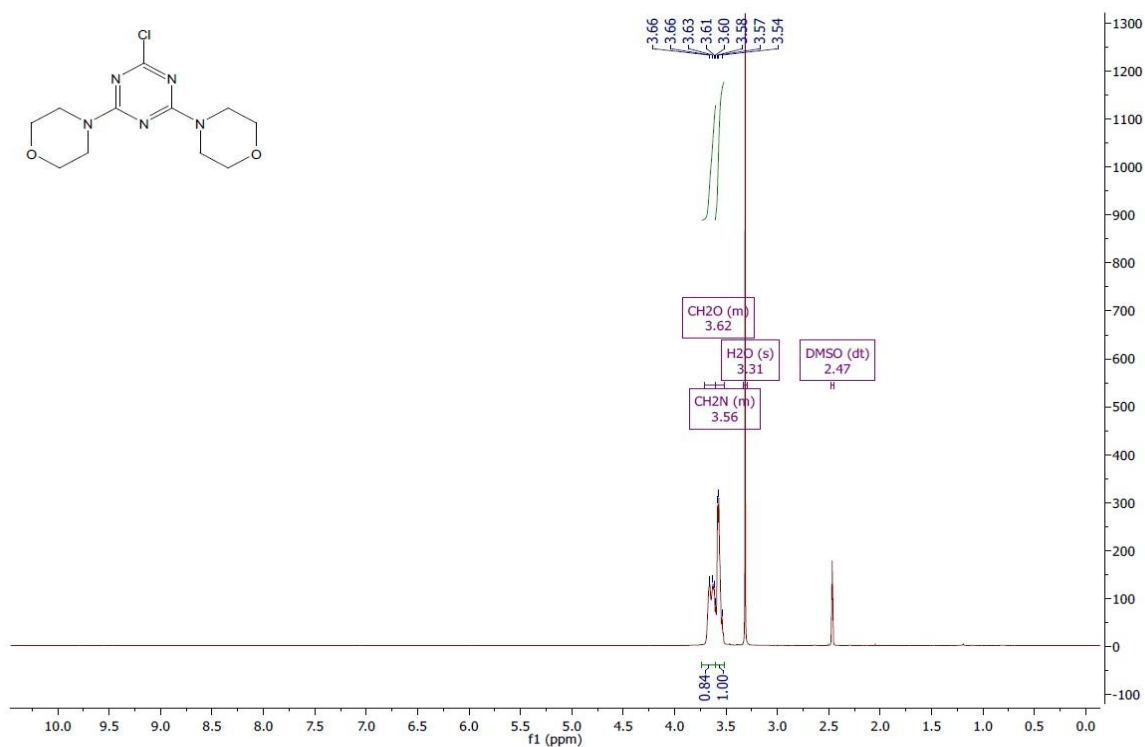


Figura 120. Espectro de RMN de ^1H do composto 140.

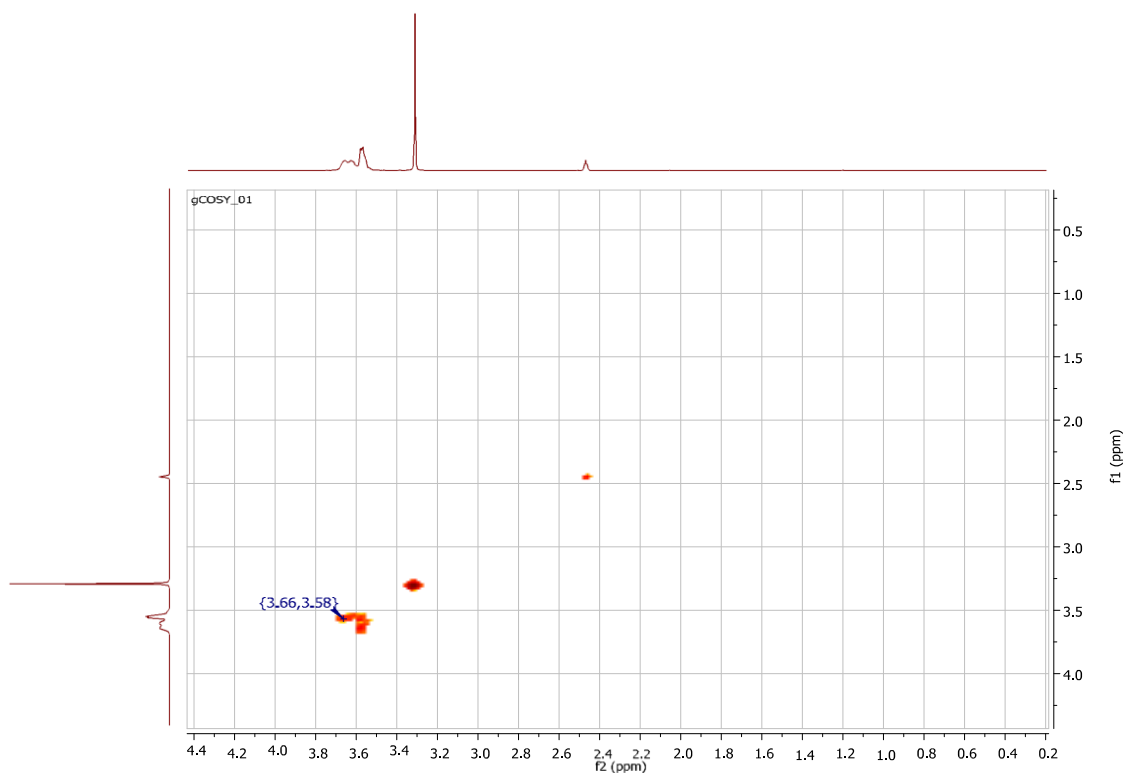


Figura 121. Mapa de contorno da correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY do composto 141.

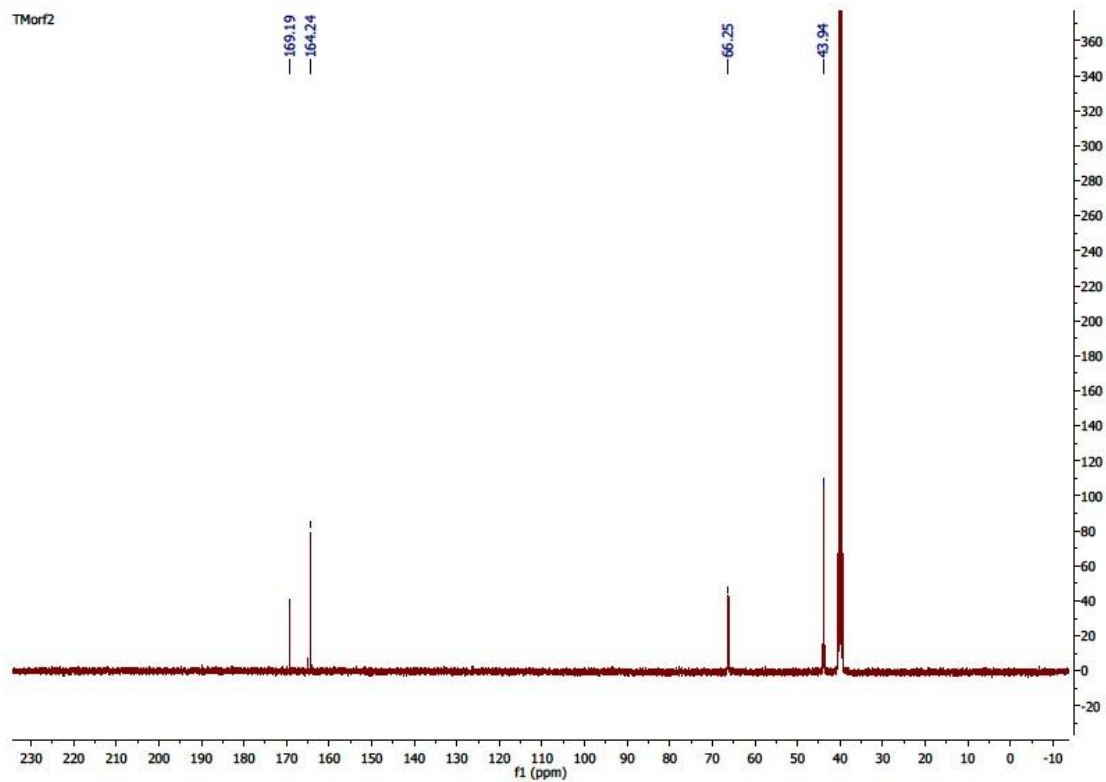


Figura 122. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 141.

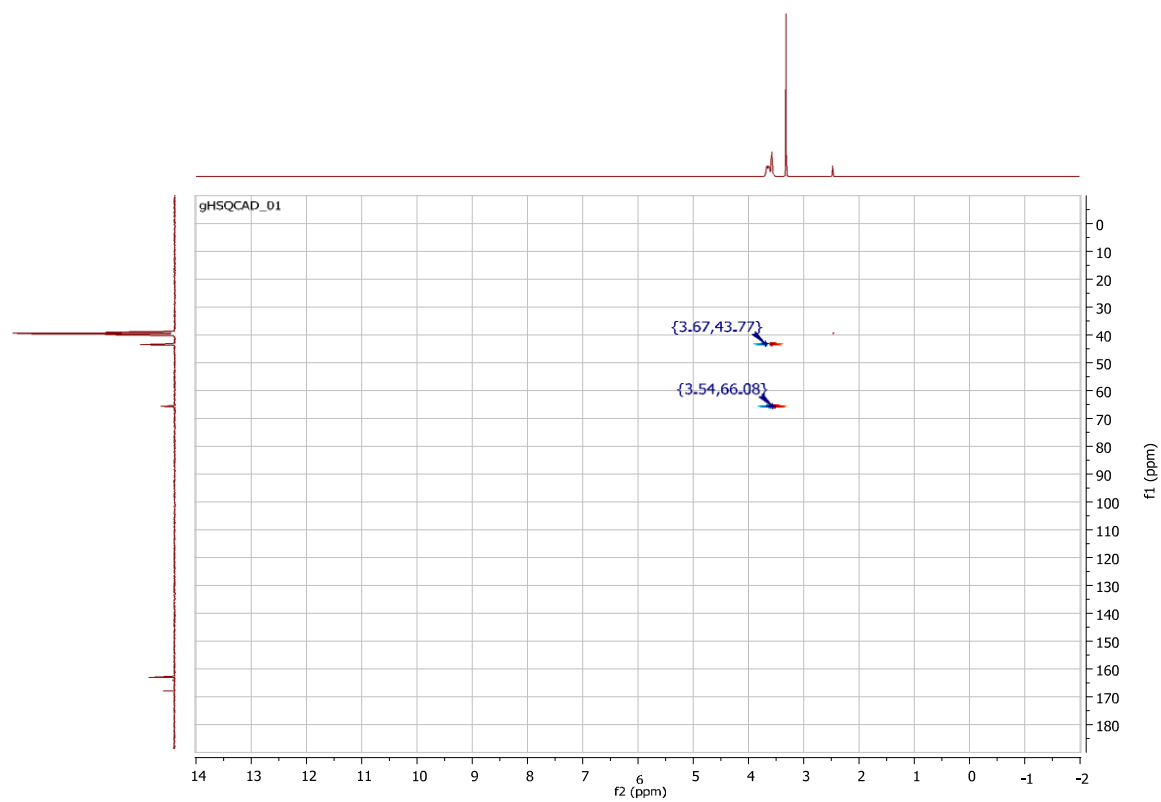


Figura 123. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 141.

Com a estrutura do intermediário **141** confirmada, realizou-se uma reação com a diamina naftoquinônica **133** em refluxo de acetonitrila para terceira substituição do átomo de cloro no núcleo triazínico (Figura 124).

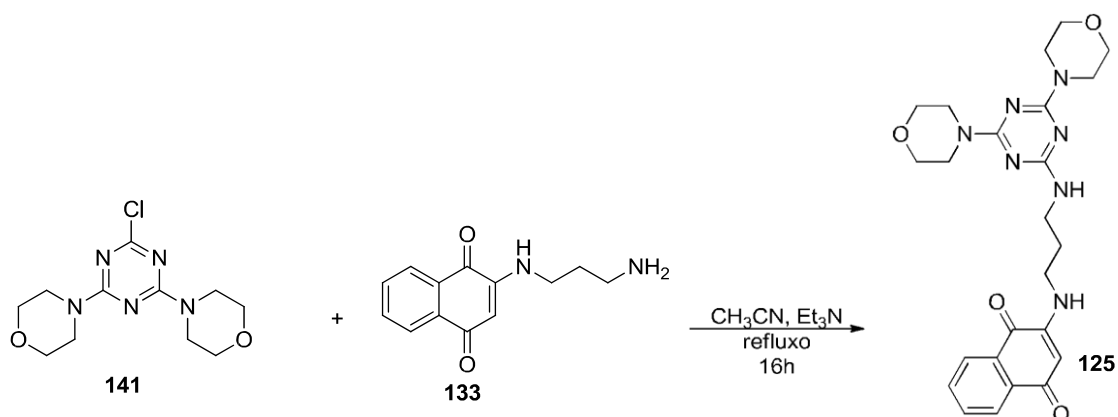


Figura 124. Esquema para obtenção do híbrido triazino-naftoquinônico **125**.

Observou-se a formação de um sólido alaranjado ao fim da reação (indicado por CCF) o qual foi filtrado, seco e recristalizado com etanol a quente, fornecendo um sólido amarelo em 47 % de rendimento e intervalo de fusão de 210-212 °C.

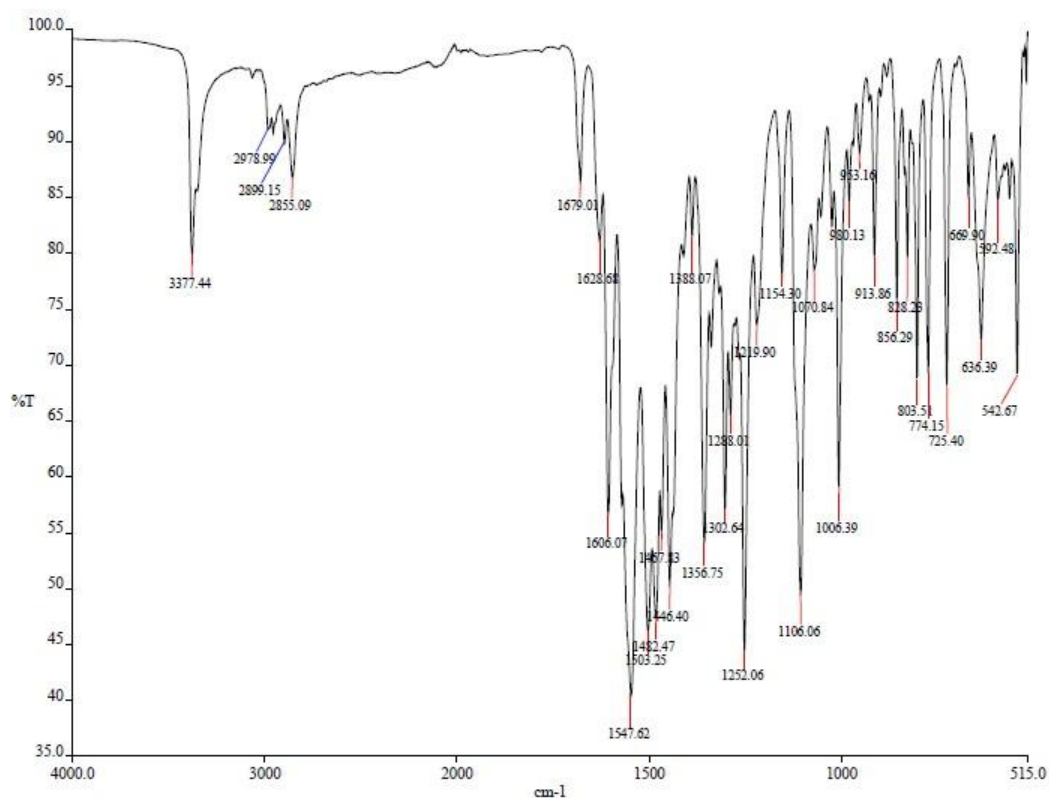


Figura 125. Espectro de infravermelho da substância **125**.

O espectro de infravermelho do produto **125** (Figura 125) revelou as bandas de absorção em 3377 cm^{-1} (deformação axial de NH), 2979 cm^{-1} (deformação axial assimétrica de CH_2), 2855 cm^{-1} (deformação axial simétrica de CH_2), 1679 cm^{-1} (deformação axial $\text{C}=\text{O}$), $1606,0\text{ cm}^{-1}$ (deformação axial $\text{C}=\text{C}$ conjugado à carbonila da naftoquinônica), 1547 cm^{-1} (deformação angular NH).

O espectro de RMN ^1H corrobora com a hipótese do híbrido triazino-naftoquinônico **139** ter sido obtido (Figura 126).

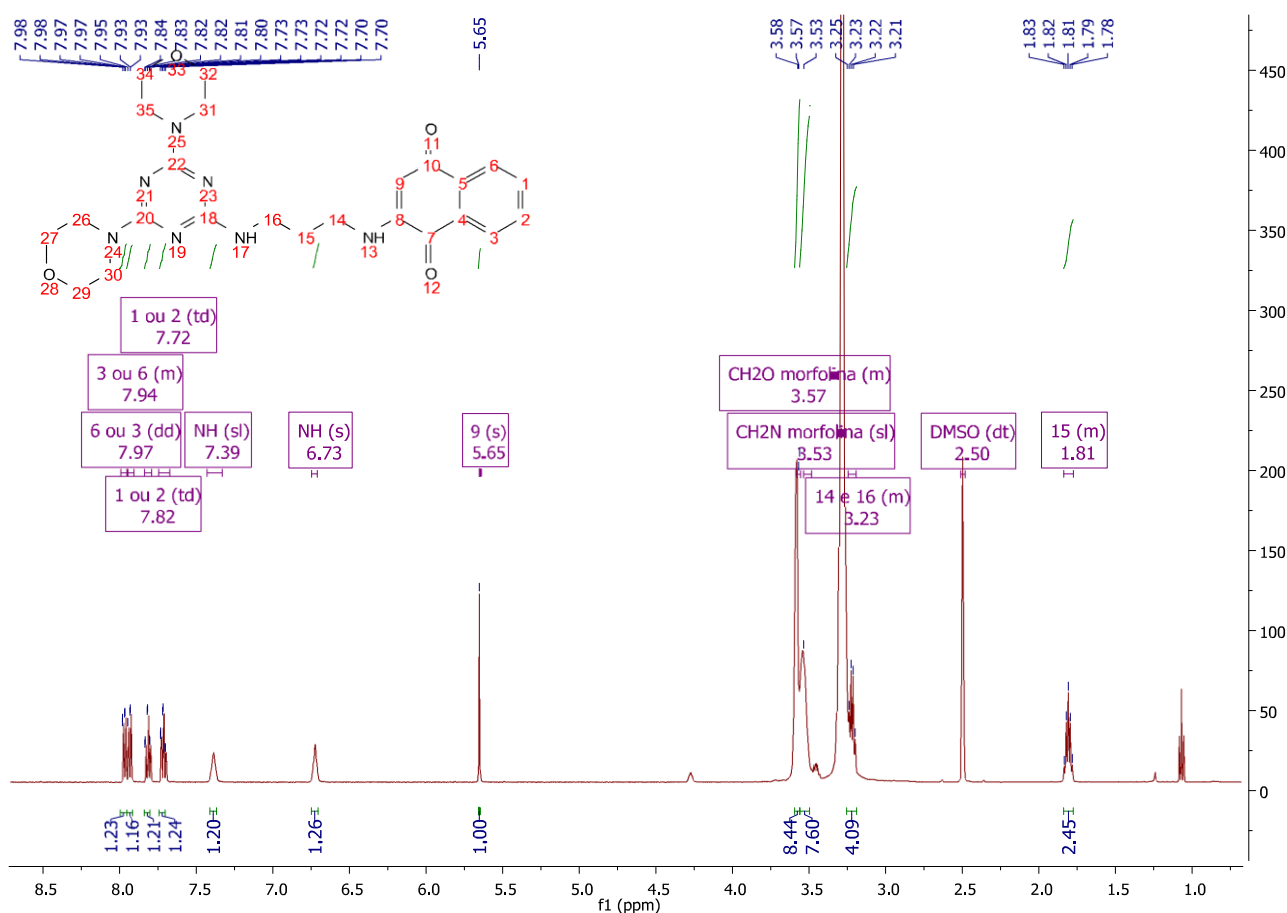


Figura 126. Espectro de RMN de ^1H do composto **125**.

A expansão da região aromática na Figura 127 evidencia a incorporação do núcleo naftoquinônico pelos seus sinais típicos: um duplo dubleto em 7,97 ppm com constantes de acoplamento $J = 7,4\text{ Hz}$ e $6,6\text{ Hz}$ e o multipletto centrado em 7,94 ppm, ambos integrando para um hidrogênio, referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos 3 e 6. Além disso, observam-se os triplo dubletos em 7,82 ppm e 7,72 ppm com $J = 7,4\text{ Hz}$ e $1,2\text{ Hz}$, integrando para um

hidrogênio cada, referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos 1 e 2. Em 7,39 ppm (singlete alargado) e 6,73 (singlete) referem-se, provavelmente, aos hidrogênios lábeis ligados ao nitrogênio e, por fim, o singlete em 5,65 ppm relacionado ao hidrogênio 9.

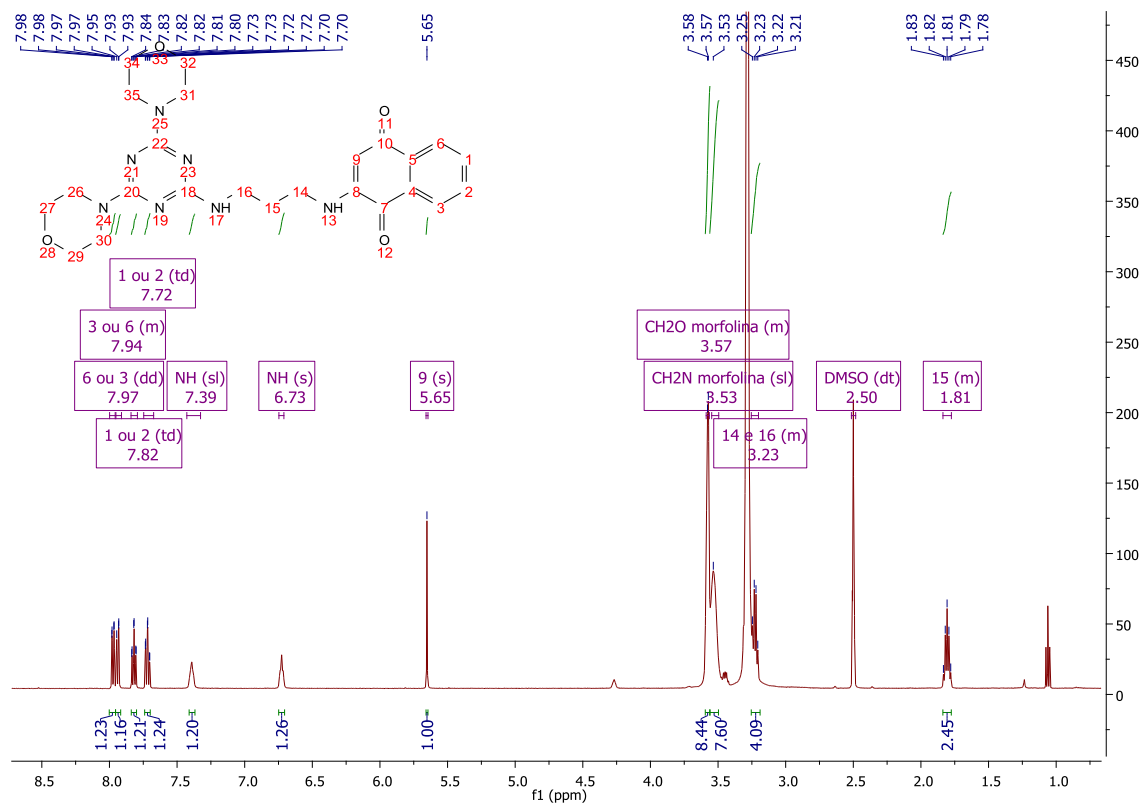


Figura 127. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **125**.

A expansão da região alifática ilustrado na Figura 128, por sua vez, exhibe os sinais dos metilenos morfolínicos centrado em 3,57 ppm (multipeto) e 3,53 ppm (singlete alargado). Além disso, observam-se o multipeto com centro em 3,23 ppm possivelmente relacionado dos metilenos vizinhos aos nitrogênios 14 e 16 e o multipeto centrado em 1,81 ppm (metileno 15). As integrações são condizentes com o esperado.

O mapa de contorno de correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY (Figura 129) exhibe alguns acoplamentos importantes previstos: os sinais da naftoquinona em 7,97 ppm com 7,72 ppm; ambos os hidrogênios de amina secundária em 7,39 ppm e 6,73 ppm acoplado com o sinal em 3,23 ppm, relativo aos metilenos vizinhos ao NH; os sinais morfolínicos 3,57 ppm e 3,53

ppm acoplando entre si; além do acoplamento dos sinais em 3,23 ppm com o metileno em 1,81 ppm.

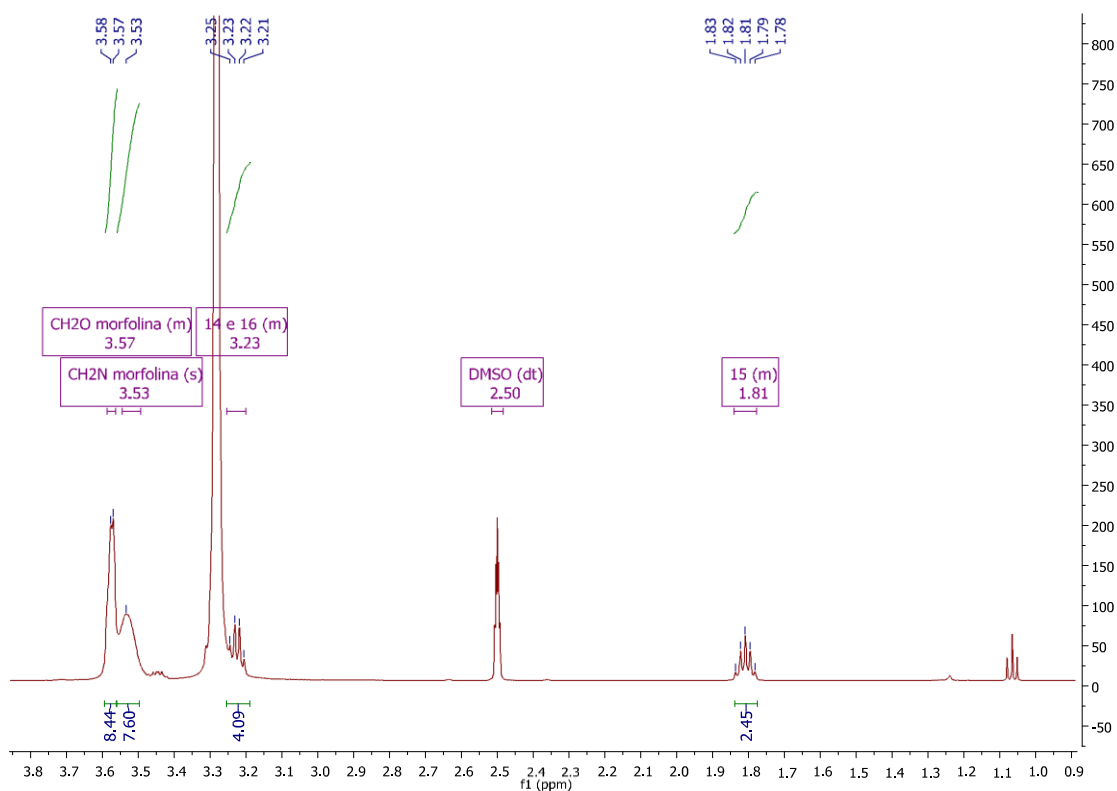


Figura 128. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto **125**.

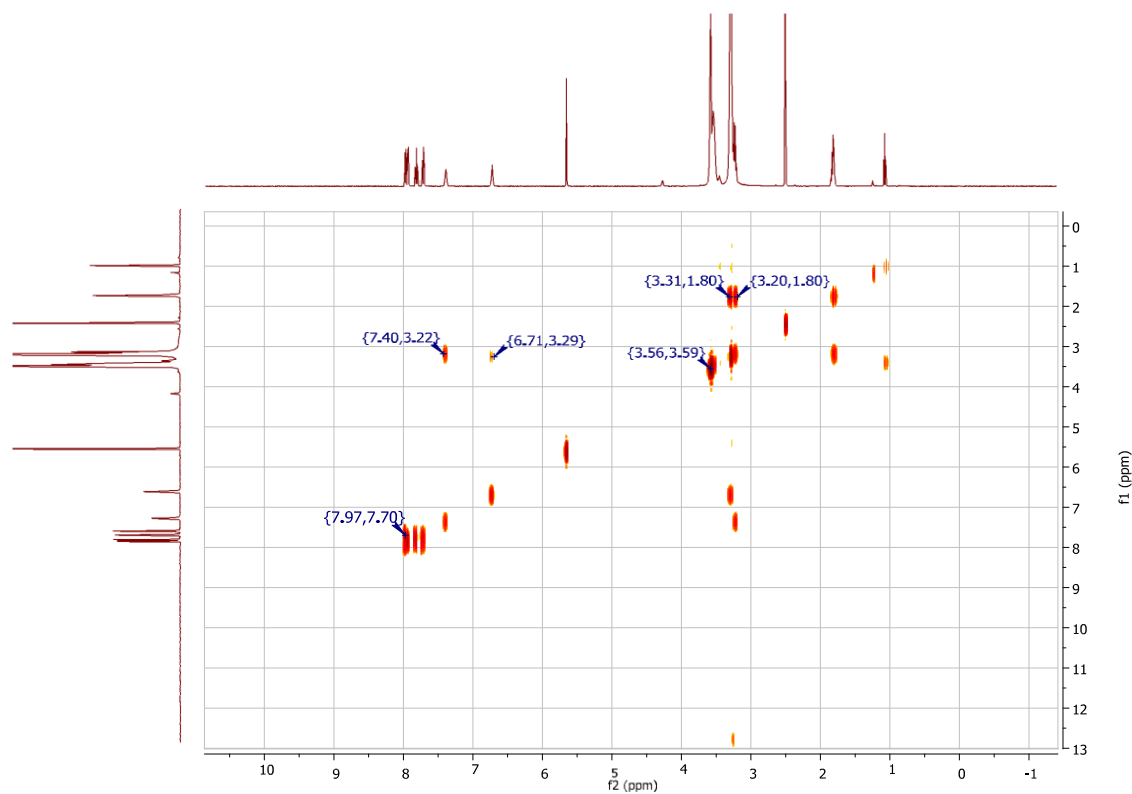


Figura 129. Mapa de contorno da correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY do composto **125**.

Por fim, o espectro de massas de alta resolução comprova a fórmula molecular e massa esperada. O ensaio foi realizado no modo positivo pelo método de elétron-spray. Observa-se, no espectro mostrado na Figura 130, um pico com relação massa/carga de 480,23504 m/z , referente ao composto **125** protonado, de fórmula $[C_{24}H_{29}N_7O_4 + H]^+$ (valor calculado 480,23538 m/z , erro = 0,71 ppm). Em 502,21705 m/z , ainda, visualiza-se um pico referente ao composto 139 unido a um íon sódio, fórmula $[C_{24}H_{29}N_7O_4 + Na]^+$ de massa/carga calculada de 502,21732 m/z (erro associado de 0,54 ppm).

Além desses dois, observam-se mais dois picos: um referente ao dímero protonado em 959,46281 m/z de fórmula $[C_{48}H_{58}N_{14}O_8 + H]^+$ (valor calculado de 959,46348 m/z e erro de 0,70 ppm); e outro em 981,44450 m/z relacionado ao dímero associado a um íon sódio, de fórmula $[C_{48}H_{58}N_{14}O_8 + Na]^+$ com massa/carga calculada de 981,44543 m/z e erro de 0,95 ppm.

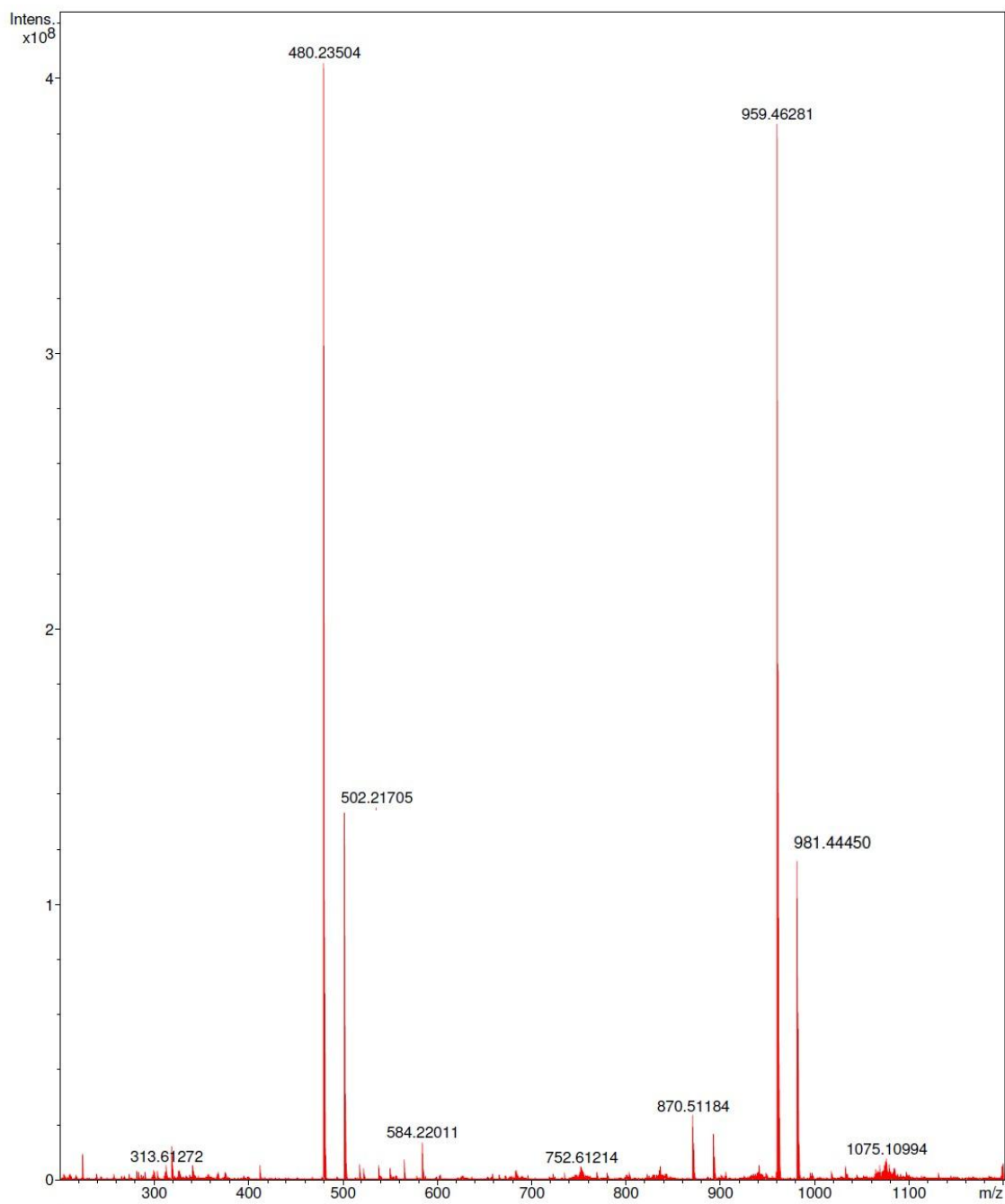


Figura 130. Espectro de massas para o **125** (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).

Desta forma, o objetivo de sintetizar o híbrido molecular contendo o núcleo triazínico e naftoquinônico foi alcançado na estrutura **125**.

4.2.2.2. Triazinas e Quinolinas

A molécula-alvo inicial vislumbrada como híbrido contendo os núcleos quinolínico e triazínico **126** está apresentada na Figura 131, bem como as

possíveis análises retrossintéticas para obtenção do mesmo.

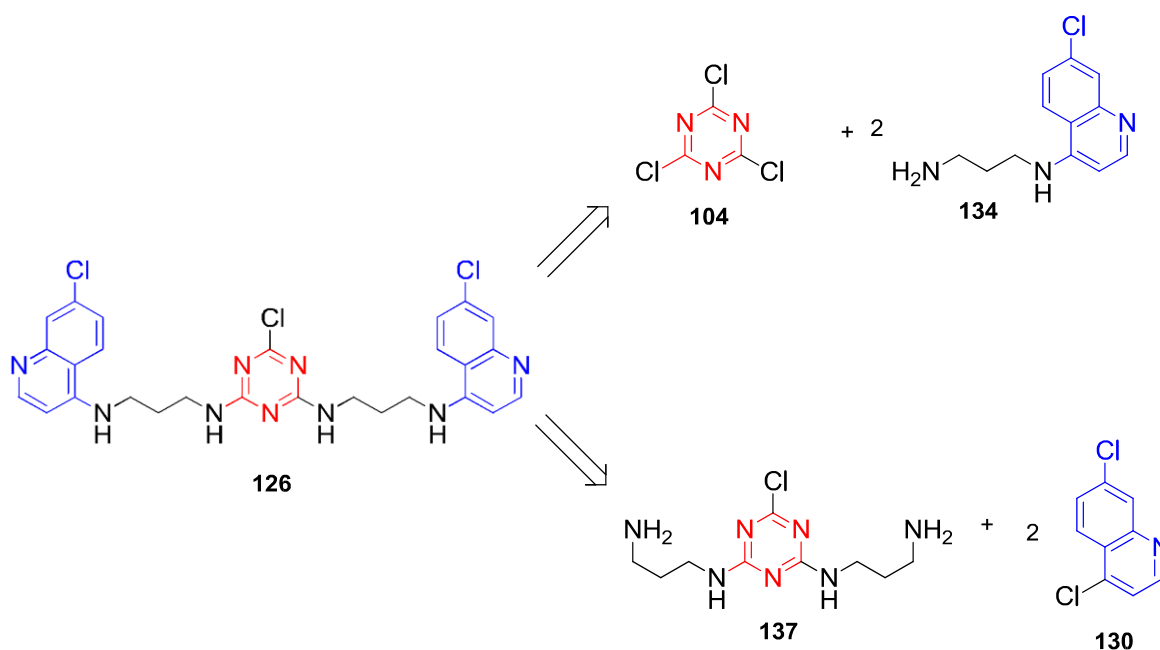
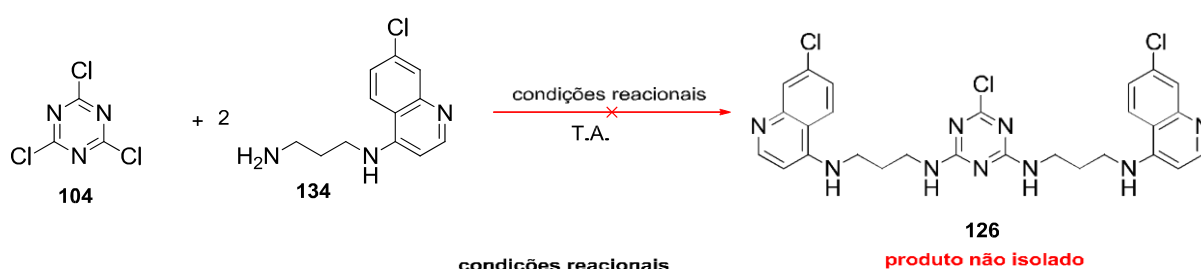


Figura 131. Primeiro híbrido molecular vislucrado contendo os núcleos quinolínico triazínico **126**.

Como primeira tentativa, decidiu-se iniciar pela rota contendo a reação entre o cloreto cianúrico **110** e a aminoquinolina **134**. Sabendo-se da facilidade em substituir os átomos de cloro do cloreto cianúrico e de como o controle de temperatura influencia para tal, reagiu-se dois equivalentes de **134** com um equivalente de **110** em diferentes condições reacionais, mostrada na Figura 132.



condições reacionais		
Entrada	Solvente	Base
1	CH ₃ CN	DIPEA (2 equiv.)
2	CH ₃ CN	Et ₃ N (2 equiv.)
3	Acetona	DIPEA (2 equiv.)
4	Acetona	NaHCO ₃ (2 equiv.)
5	Acetona	Et ₃ N (2 equiv.)

Figura 132. Tentativas iniciais para obtenção da molécula-alvo **126**.

As condições mostradas nas entradas 1, 2, 3, 4 e 5 da Figura 132 foram escolhidas de acordo com experimentais já descritos na literatura para diss substituição no núcleo triazínico.^{126,127,128}

Em todas as reações, após consumo total de cloreto cianúrico **104**, apenas uma mancha na origem da cromatofolha era observada, mesmo ao eluir com ácido acético puro. O conteúdo reacional foi filtrado de modo a obter um sólido amarelo pálido com baixa solubilidade nos solventes testados (tolueno, hexano, etanol, metanol, água, acetona, acetato de etila, DMSO e DMF). A baixa solubilidade pode estar associada à presença de duas porções aminoquinolínicas na estrutura do produto final **126** o qual dificultou a purificação do mesmo.

Portanto, diante do problema de solubilidade, reagir um equivalente de aminoquinolina **134** com um de cloreto cianúrico **104** a fim de preparar o híbrido monoss substituído apresentado na Figura 133.

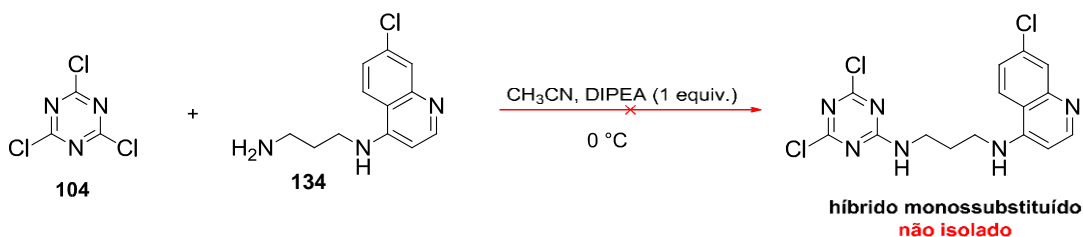


Figura 133. Tentativa de obtenção de um híbrido triazino-quinolínico através da monoss substituição no cloreto cianúrico **104**.

Contudo, de forma semelhante ao resultado obtido na Figura 81 (vide página 110), o produto não foi isolado. Processos de recristalização para purificação do mesmo foram dificultados devido à reatividade do núcleo triazínico monoss substituído a temperaturas acima de 40 °C. A coluna cromatográfica do produto bruto não conduziu a purificação do mesmo.

Vale ressaltar que, diante da dificuldade em isolar os produtos de monoss substituição entre o cloreto cianúrico **104** e a aminonaftoquinona **133** (Figura 81, página 111) ou aminoquinolina **134** (Figura 133), impossibilitou-se a síntese da substância-alvo **128** descrita nos objetivos, contendo simultaneamente os núcleos triazínico, naftoquinônico e quinolínico.

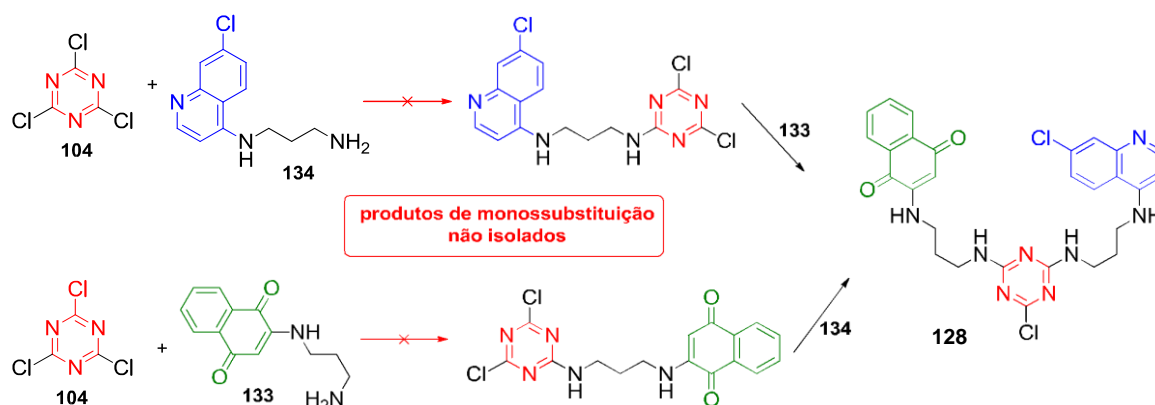


Figura 134. Impossibilidade em se formar a molécula-alvo **128** por estas estratégias sintéticas.

Seguindo na tentativa de obtenção de um híbrido contendo os núcleos quinolínico e triazínico, partiu-se para a reação do intermediário **137** com a 4,7-dicloroquinolina **130**. Ao contrário das substituições nucleofílicas aromáticas no cloreto cianúrico **104**, a substituição na 4,7-quinolina não é tão simples. Para realizar uma N-substituição a fim de formar a aminoquinolina **134**, por exemplo, foi necessário reagir a 4,7-dicloroquinolina com 1,3-propanodiamina em grande excesso a 110 °C por mais de 4h (conforme Figura 51, página 87).

Neste contexto, escolheu-se o tolueno como solvente que permitia atingir altas temperaturas e a trietilamina como base para trapear o ácido clorídrico formado no curso reacional. Todavia, não foi observada formação de produto algum ao passo que os materiais de partida não foram consumidos.

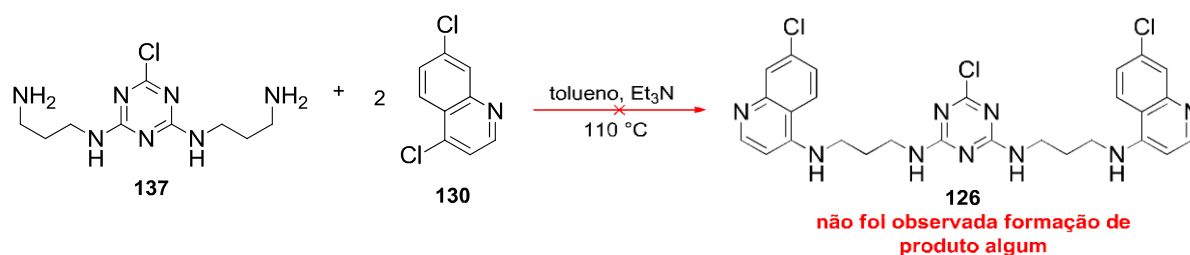


Figura 135. Rota alternativa para síntese do híbrido **126**.

Possivelmente, a baixa solubilidade do nucleófilo **137** também pode ter contribuído para o resultado negativo.

Diante a todos os resultados negativos para formar o híbrido contendo o núcleo triazínico e quinolínico, principalmente baseado na baixa solubilidade do produto formado, a mesma estratégia sintética utilizada para formação do híbrido **127** derivado do intermediário 2,4-dimorfolino-1,3,5-triazínico **141** foi

empregada.

Assim, reagiu-se o intermediário **141** com a aminoquinolina **134** em acetonitrila sob refluxo e trietilamina (Figura 136) como base, semelhante ao sistema utilizado na Figura 115. Novamente, a utilização da estrutura morfolínica foi feita com intuito de diminuir a polaridade do produto final e, assim, facilitar sua purificação.

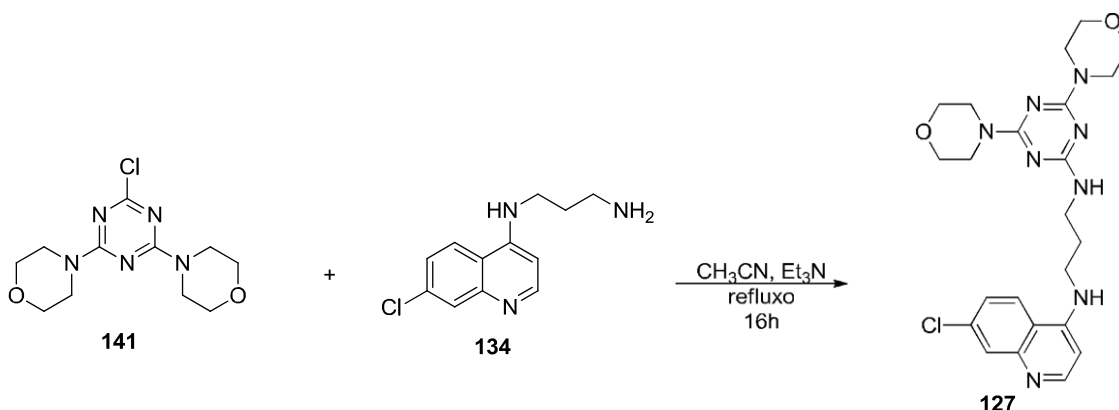


Figura 136. Síntese do híbrido molecular contendo os núcleos quinolínico e triazínico **127**.

Ao término da reação, foi obtido um sólido branco impuro. O mesmo foi submetido à cromatografia em coluna isocrática utilizando como eluente 20 % de metanol em acetato de etila. O produto **127** foi isolado com rendimento de 43 % e intervalo de fusão de 230-231 °C.

A caracterização por infravermelho evidencia as bandas em 3360 cm^{-1} relativa à deformação axial de NH, 2965 cm^{-1} referente à deformação axial assimétrica de metileno, 2862 cm^{-1} típica de deformação axial simétrica de metileno (Figura 137).

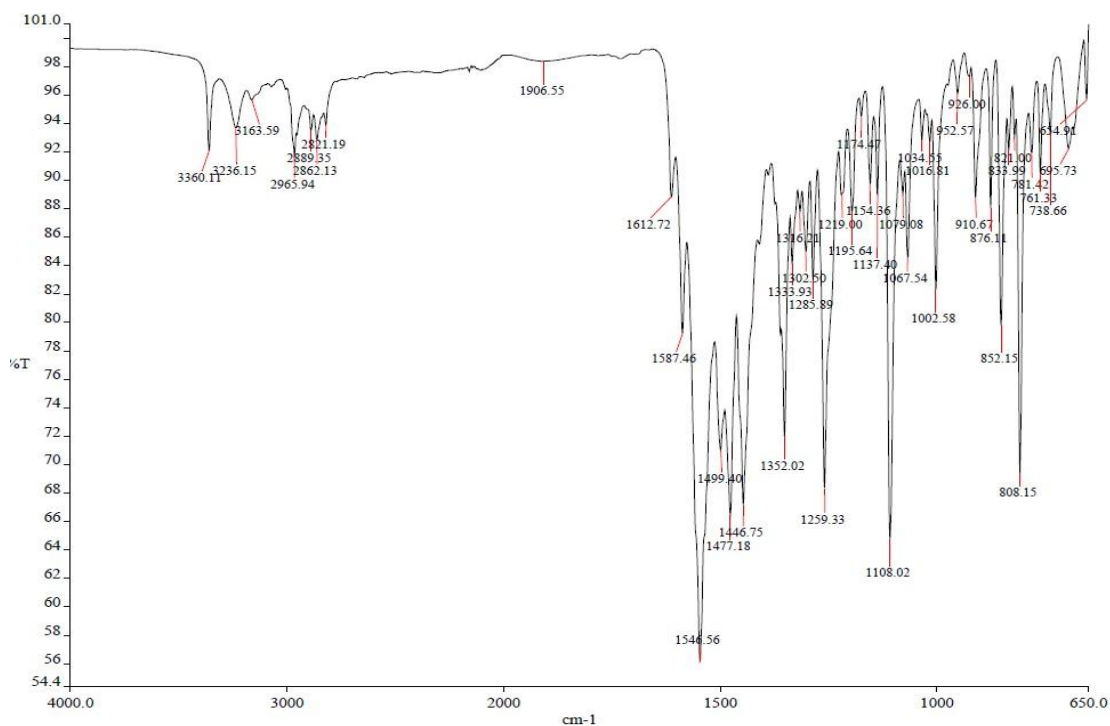


Figura 137. Espectro de infravermelho do composto 127.

O espectro de RMN de ¹H mostrado na Figura 138 mostra os sinais esperados para o composto 127.

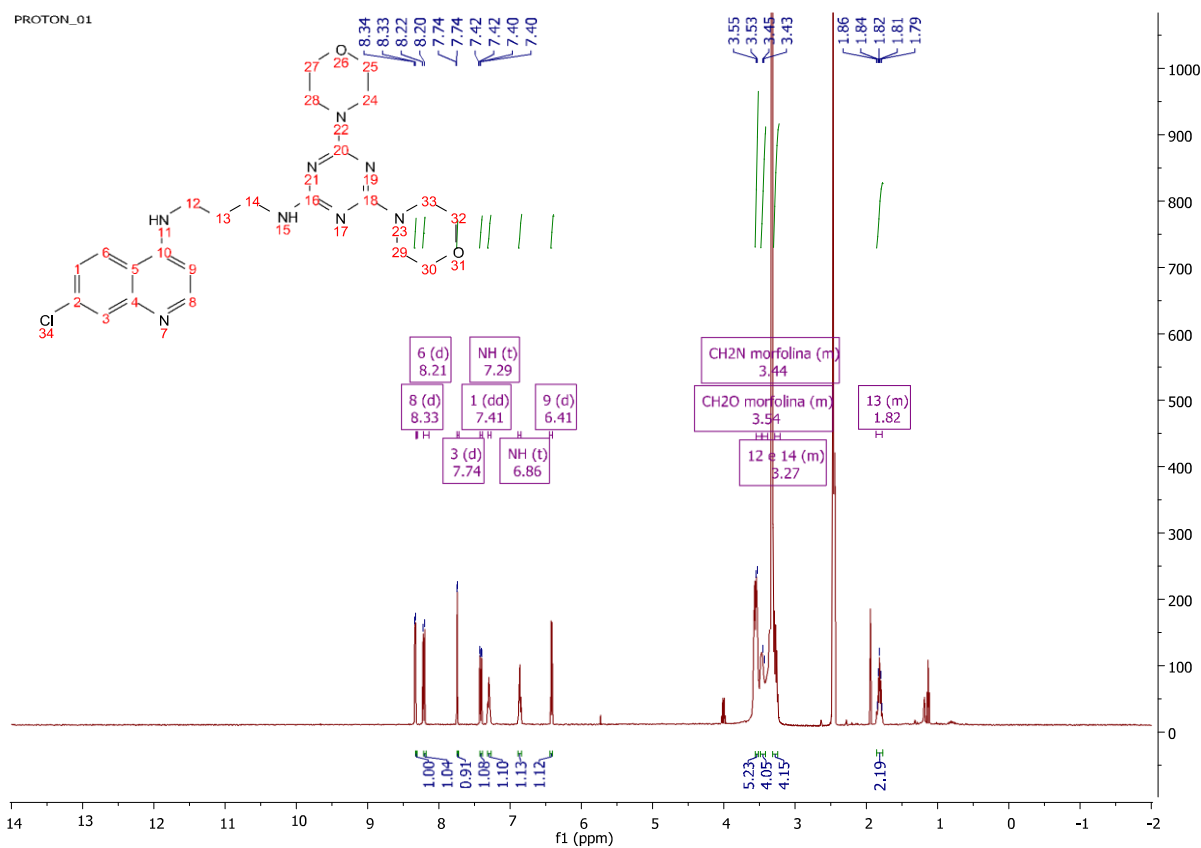


Figura 138. Espectro de RMN de ¹H do composto 127.

A expansão da região aromática revela a presença de todos os hidrogênios típicos do núcleo quinolínic (Figura 139). Em 8,33 ppm observa-se um dubleto com $J = 5,4$ Hz referente ao H_8 que acopla com o hidrogênio 9, em 6,41 ppm (também um dubleto). Em 8,21 ppm, tem-se um dubleto referente ao H_6 que acopla com o hidrogênio H_1 em 7,41 ppm (dubleto) com constante de 9,1 Hz. O mesmo hidrogênio em 7,41 ppm acopla ainda com H_3 ($J = 2,3$ Hz), que se apresenta como dubleto em 7,74 ppm. Por fim, ainda são observados os dois hidrogênios das aminas como tripletos em 7,29 ppm ($J = 5,5$ Hz) e 6,86 ppm ($J = 5,9$ Hz).

A expansão da região alifática (Figura 140) evidencia a presença das morfolinás e da cadeia do 1,3-diaminopropano. Centrados em 3,54 ppm e 3,44 ppm encontram-se os dois multipletos integrando para quatro hidrogênios cada referentes aos metilenos das morfolinás. Em 3,27 ppm há outro multiplete centrado integrando para quatro hidrogênios, referentes aos metilenos vizinhos aos átomos de nitrogênio. Finalmente, centrado em 1,82 ppm, observa-se o multiplete referente ao metileno H_{13} .

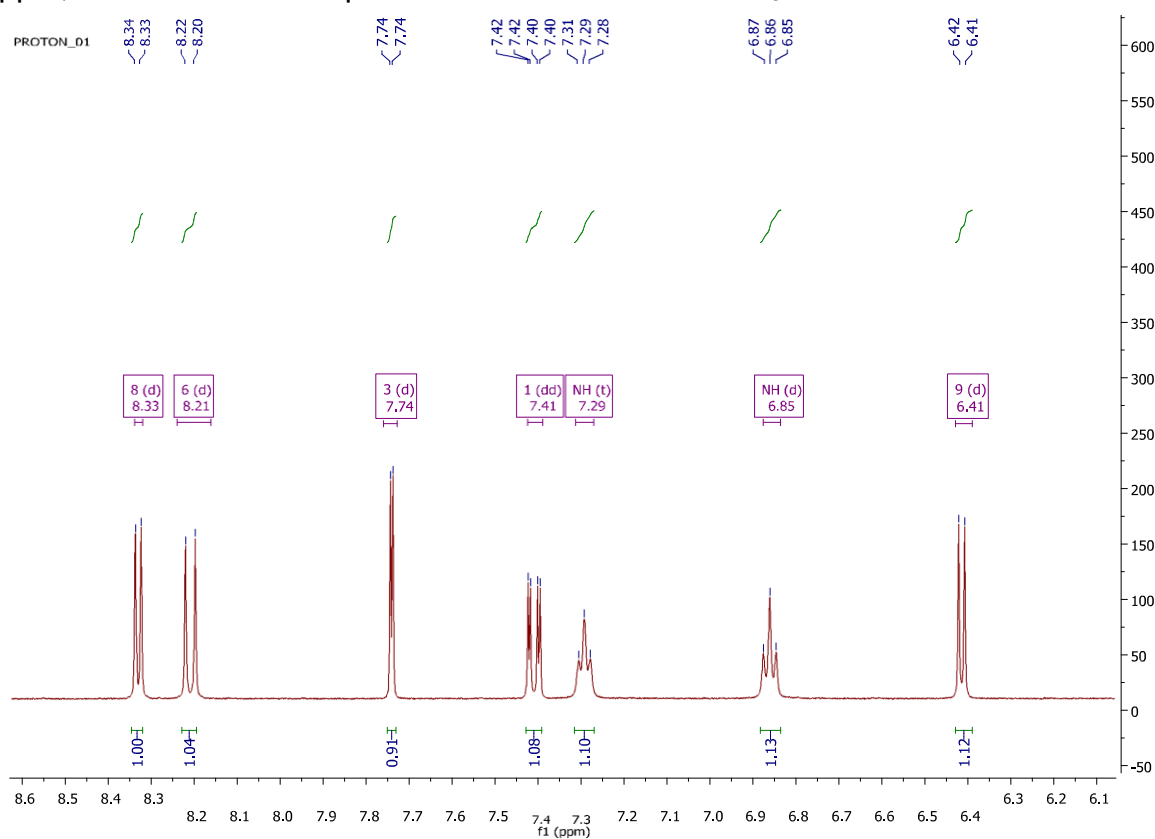


Figura 139. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 127.

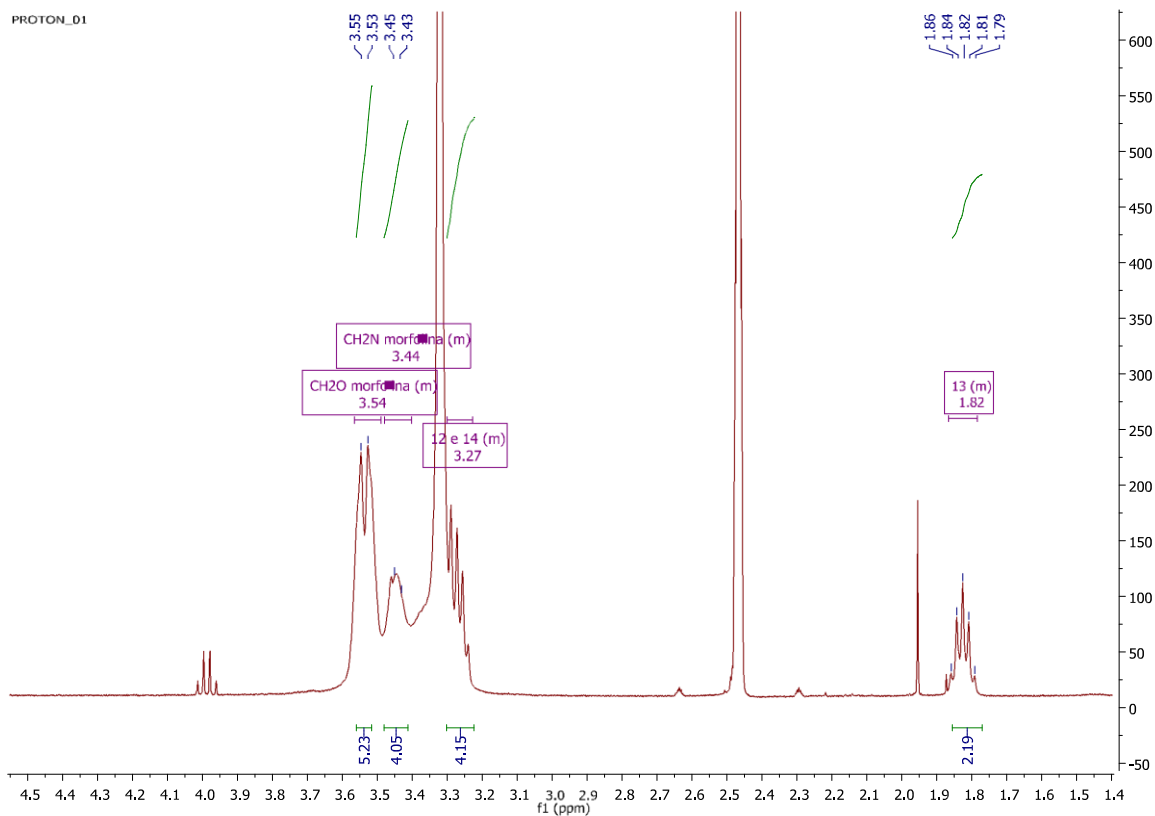


Figura 140. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto **127**.

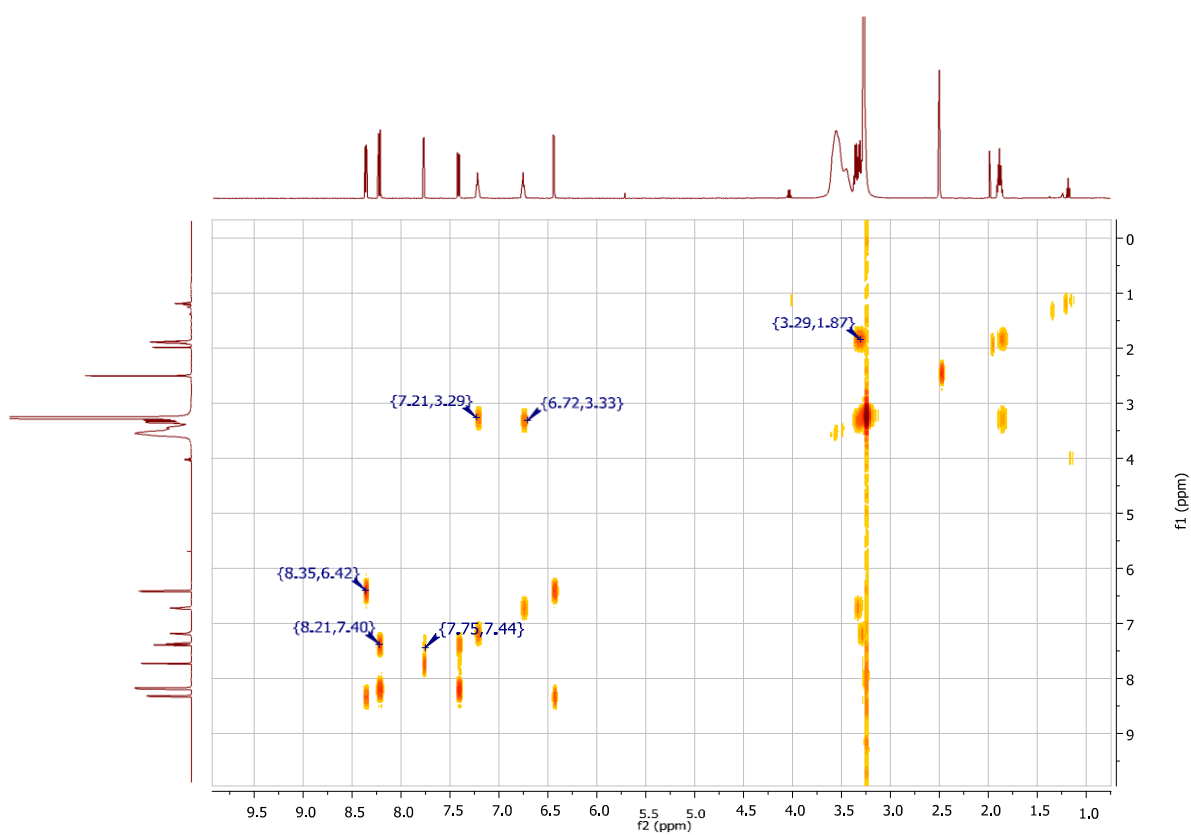


Figura 141. Mapa de contorno de correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY do composto **127**.

O mapa de contorno de correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY mostrado na Figura 141 comprova os acoplamentos observados no espectro de RMN de ^1H , ratificando os assinalamentos realizados, bem como sua atribuição inequívoca.

O espectro de massas permitiu identificação dos picos com relação massa/carga em 485,21749 m/z e 969,42783 m/z , relativo ao composto **127** protonado (de fórmula $[\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{ClN}_8\text{O}_2 + \text{H}]^+$, com valor calculado de 485,21802 m/z e erro de 1,09 ppm) e ao dímero protonado com fórmula $[\text{C}_{46}\text{H}_{58}\text{Cl}_2\text{N}_{16}\text{O}_4 + \text{H}]^+$, cujo valor calculado para a relação é de 969,42822 m/z e erro de 0,40 ppm (Figura 142). Tal resultado é prova cabal da incorporação de duas morfolinás e do núcleo aminoquinolínico na estrutura triazínica.

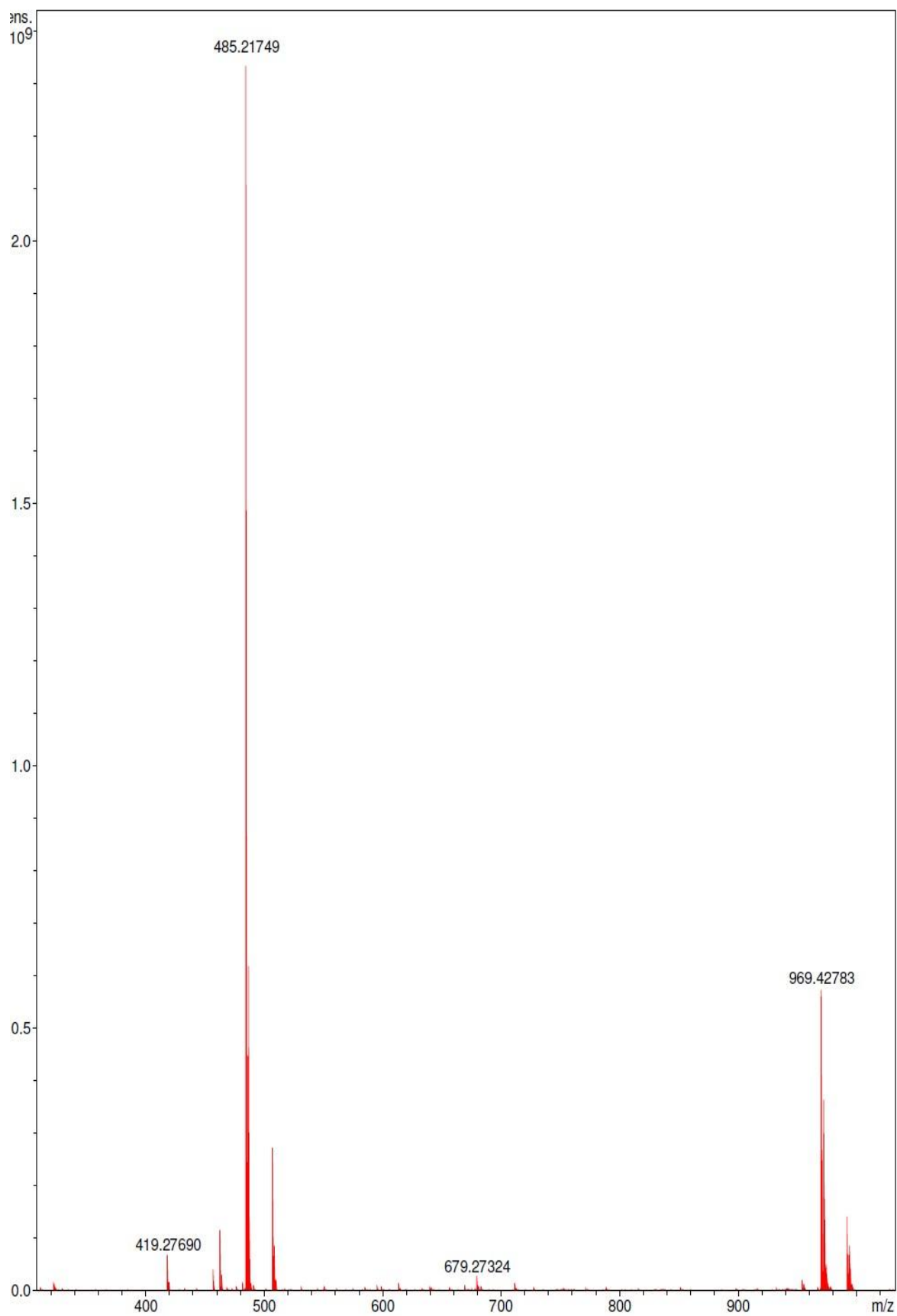
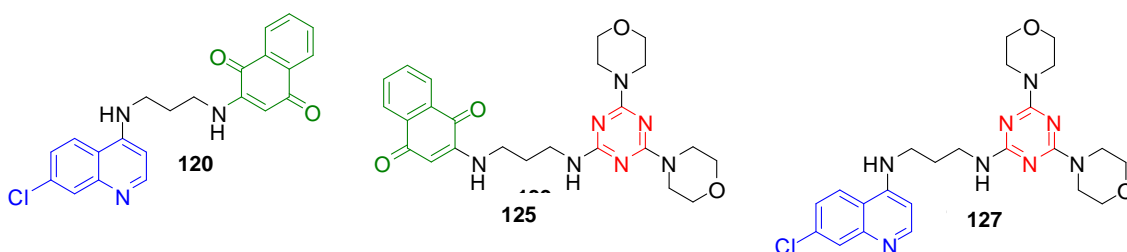


Figura 142. Espectro de massas para o **127** (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).

5. CONCLUSÃO

Os estudos de ancoragem molecular revelaram que as substâncias-alvo descritas no objetivo são potencialmente inibidoras das enzimas PI3K e AMPK (exceto pela **123** na AMPK), podendo atuar por essas vias de sinalização no tratamento do câncer.

Dentre as estruturas propostas como alvo, foi possível sintetizar um híbrido para cada grupo de moléculas: um naftoquinônico-quinolínico **120** com rendimento de 85% em 48h, um triazínico-naftoquinônico **125** com rendimento de 47% em 16h e um triazínico-quinolínico **127** com rendimento de 43% em 16h. Vale ressaltar que os compostos **120** e **125** são inéditos.



Diversos intermediários foram sintetizados, porém as etapas finais das sínteses dos produtos-alvo **121**, **122**, **123**, **124**, **126** e **128** ficaram impossibilitadas por problemas experimentais. A baixa solubilidade de muitos derivados 1,3,5-triazínicos foi o grande empecilho para seguir a síntese até as moléculas-alvo.

Os compostos sintetizados **120**, **125** e **127**, e todos os intermediários obtidos foram enviados para avaliação da citotoxicidade *in vitro* nas linhagens de célula de câncer humano de melanoma e leucemia no **Laboratório de Bioensaios e Transdução de Sinal** do Departamento de Bioquímica da Unicamp pelas Professoras Doutoras Carmen Veríssima Ferreira e Paola Rocha Gonçalves. Pretende-se ainda realizar estudos sobre possíveis mecanismos de ação (inibição de PI3K/AMPK).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/oquee>. Acessado em 30 de Maio de 2015.
- 2 CANCER: Fact sheet n°297. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>. Acessado em 27 de Maio de 2015.
- 3 DE MARTEL, C.; FERLAY, J.; FRANCESCHI, S.; VIGNAT, J.; BRAY, F.; FORMAN, D.; PLUMMER, M. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology*, **13**, 607-615, 2012.
- 4 INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Disponível em <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/tabelaestados.asp?UF=BR>. Acesso em 28 de Maio de 2015.
- 5 INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Prevenção E Fatores de Risco. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=13. Acessado em 30 de Maio de 2015.
- 6 AIRLEY, R. Cancer Chemotherapy: Basic Science to the Clinic. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 342p., 2009.
- 7 BRADBURY, R. H. Cancer. Top. Med. Chem., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007.
- 8 JORDAN, V. C.; FURR, B. J. A. Hormone therapy in breast and prostate cancer. Totowa, NJ: Human Press., 2002.
- 9 JORDAN, V. C. Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2 (3)**, 205-213, 2003.
- 10 CUZICK, J. Anastrozole. *Drugs Today*, **41**, 227-239, 2005.
- 11 BROGDEN, R. N.; CLISSOLD, S. P. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in advanced prostatic cancer. *Drugs*, **38**, 185-203, 1989.
- 12 HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell.*, **100 (1)**, 57-70, 2000.
- 13 DE SOUZA, W. F.; DE ARAÚJO, W. M.; DE-FREITAS-JUNIOR, J., C., M.;

- MORGADO-DÍAZ, J. A. Sinalização celular em câncer. *Cienc. Cult.* **66 (1)**, 30-33, 2014.
- 14 ZHANG, J.; YANG, P. L.; GRAY, N. S. Targeting cancer with small molecules kinase inhibitors. *Nat. Rev. Cancer* **9 (1)**, 28-39, 2009.
- 15 AVILA, C. M.; ROMEIRO, N. C. Proteínas tirosinas quinases: Desafios do desenvolvimento de fármacos para a terapia do câncer. *Rev. Virtual de Quim.* **2 (1)**, 59-82, 2010.
- 16 BASELGA, J. Targeting tyrosine kinases in cancer: the second wave. *Science*, **312 (5777)**, 1175-1178, 2006.
- 17 SLICHENMYER, W. J.; FRY, D. W. Anticancer therapy targeting the erbB family of receptor tyrosine kinases. *Semin Oncol.* **28**, 67-79, 2001.
- 18 CANTLEY, L. C.; AUGER, K. R.; CARPENTER, C. L.; DUCKWORTH, B.; GRAZIANI, A.; KAPPELLER, R.; SOLTOFF, S. Oncogenes and signal transduction. *Cell.*, **61**, 281-302, 1991.
- 19 VLAHOVIC, G.; CRAWFORD, J. Activation of Tyrosine Kinases in Cancer. *Oncologist*, **8**, 531-538, 2003.
- 20 BENNASROUNE, A.; GARDIN, A.; AUNIS, D.; CREMEL, G.; HUBERT, P. Tyrosine kinase receptors as attractive targets of cancer therapy. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **50**, 23-38, 2004.
- 21 ROBINSON, D. R.; WU, Y. M.; LIN, S. F. The protein tyrosine kinase family of the human genome. *Oncogene*. **19 (49)**, 5548-5557, 2000.
- 22 MELOCHE, S.; POUYSSÉGUR, J. The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1- to S-phase transition. *Oncogene*. **26**, 3227-3239, 2007.
- 23 LEVE, F.; MORGADO-DÍAZ, J. A. Rho GTPase signaling in the development of colorectal cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, **113**, 2549-2559, 2012.
- 24 VIVANCO, I.; SAWYERS, C. L. The phosphatidylinositol 3-kinase-AKT pathway in human cancer. *Nat. Rev. Cancer*. **2**, 489-501, 2002.
- 25 CARRACEDO, A.; PANDOLFI, P. P. The PTEN-PI3K pathway: of feedbacks and cross-talks. *Oncogene*, **27**, 5527-5541, 2008.
- 26 KATSO, R.; OKKENHAUG, K.; AHMADI, K.; WHITE, S.; TIMMS, J.; WATERFIELD, M. D. Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis, and cancer. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* **17**, 2001, 615-675.

- 27 ARCARO, A.; ZVELEBIL, M. J.; WALLASCH, C.; ULLRICH, A.; WATERFIELD, M. D.; DOMIN, J. Class II Phosphoinositide 3-Kinases Are Downstream Targets of Activated Polypeptide Growth Factor Receptors. *Mol. Cell. Biol.*, **20 (11)**, 3817-3830, 2000.
- 28 HERMAN, P. K.; , E. S. D. Characterization of VPS34, a gene required for vacuolar protein sorting and vacuole segregation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.*, **10**, 6742-6754, 1990.
- 29 BACKER, J. . M. The regulation and function of class III PI3Ks: novel roles for Vps34. *Biochem. J.*, **410**, 1-17, 2008.
- 30 FOSTER, J. G.; BLUNT, M. D.; CARTER, E.; WARD, S. G. Inhibition of PI3K Signaling Spurs New Therapeutic Opportunities in Inflammatory/Autoimmune Diseases and Hematological Malignancies. *Pharmacological Reviews*, **64 (4)**, 1027-1054, 2012.
- 31 LYSENG-WILLIAMSON, K.; JARVIS, B. Imatinib. *Drugs*, **61 (12)**, 1765-1774, 2001.
- 32 RUSNAK, D. W.; LACKEY, K.; AFFLECK, K.; WOOD, E. R.; ALLIGOOD, K. J.; RHODES, N.; KEITH, B. R.; MURRAY, D. M.; KNIGHT, W. B.; MULLIN, R. J. GLIMER, T. M. The effects of the novel, reversible epidermal growth factor receptor/ErbB-2 tyrosine kinase inhibitor, GW2016, on the growth of human normal and tumor-derived cell lines in vitro and in vivo. *Mol. Cancer Ther.* **1 (2)**, 85-94, 2001.
- 33 THOMAS, S. M.; GRANDIS, J. R. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of EGFR inhibitors under clinical investigation. *Cancer Treat. Rev.* **30 (3)**, 255-268, 2004.
- 34 WEISBERG, E.; MANLEY, P.; MESTAN, J.; COWAN-JACOB, S.; RAY, A.; GRIFFIN, J. D. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL. *Br. J. Cancer*, **94 (12)**, 1765-1769.
- 35 WEISBERG, E.; MANLEY, P. W.; COWAN-JACOB, S. W.; HOCHHAUS, A.; GRIFFIN, J. D. Second generation inhibitors of BCR-ABL for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukaemia. *Nat. Rev. Cancer*, **7 (5)**, 345-356, 2007.
- 36 SHAH, N. P.; TRAN, C.; LEE, F. Y.; CHEN, P.; NORRIS, D.; SAWYERS, C. L. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science*, **305 (5682)**, 399-401, 2004.

- 37 CHEN, H.; MA, J.; LI, W.; ELISEENKOVA, A. V.; XU, C.; NEUBERT, T. A.; MILLER, W. T.; MOHAMMADI, M. A molecular brake in the kinase hinge region regulates the activity of receptor tyrosine kinases. *Mol. Cell.*, **27 (5)**, 717-730, 2007.
- 38 PAO, W.; MILLER, V. A.; POLITI, K. A.; RIELY, G. J.; SOMWAR, R.; ZAKOWSKI, M. F.; KRIS, M. G.; VARMUS, H. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med.* **2**, e73, 2005.
- 39 LIU, Y.; GRAY, N. S. Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nature Chem. Biol.* **2**, 358-364, 2006.
- 40 KNIGHT, Z. A.; GONZALEZ, B.; FELDMAN, M. E.; ZUNDER, E. R.; GOLDENBERG, D. D.; WILLIAMS, O.; LOEWITH, R.; STOKOE, D.; BALLA, A.; TOTH, B.; BALLA, T.; WEISS, W. A.; WILLIAMS, R. L.; SHOKAT, K. M. A pharmacological map of the PI3-K family defines a role for p110alpha in insulin signaling. *Cell*, **125**, 733-747, 2006.
- 41 OHREN, J. F.; CHEN, H.; PAVLOVSKY, A.; WHITEHEAD, C.; ZHANG, E.; KUFFA, P.; YAN, C.; MCCONNELL, P.; SPESSARD, C.; BANOTAI, C.; MUELLER, W. T.; DELANEY, A.; OMER, C.; SEBOLT-LEOPOLD, J.; DUDLEY, D. T.; LEUNG, I. K.; FLAMME, C.; WARMUS, J.; KAUFMAN, M. Structures of MAP kinase kinase 1 (MEK1) and MEK2 describe novel noncompetitive kinase inhibition. *Nat. Struct. Mol Biol.* **11 (12)**, 1192-1197, 2004.
- 42 COHEN, M. S.; ZHANG, C.; SHOKAT, K. M.; TAUNTON, J. Structural bioinformatics-based design of selective, irreversible kinase inhibitors. *Science*, **3008**, 1318-1321, 2005.
- 43 RABINDRAN, S. K.; DISCAFANI, C. M.; ROSFJORD, E. C.; BAXTER, M.; FLOYD, M. B.; GOLAS, J.; HALLETT, W. A.; JOHNSON, B. D.; NILAKANTAN, R.; OVERBEEK, E.; REICH, M. F.; SHEN, R.; SHI, X.; TSOU, H. R.; WANG, Y. F.; WISSNER, A. Antitumor activity of HKI-272, an orally active, irreversible inhibitor of the HER-2 tyrosine kinase. *Cancer Res.* **64 (11)**, 3958-2965, 2004.
- 44 LE COUTRE, P.; AL., E. Induction of resistance to the Abelson inhibitor STI571 in human leukemic cells through gene amplification. *Blood*, **95**, 1758-1766, 2000.
- 45 MEANWELL, N. A. Synopsis of Some Recent Tactical Application of Bioisosteres in Drug Design. *J. Med. Chem.* **54**, 2529-2591, 2011.

- 46 LONGLEY, D. B.; JOHNSTON, P. G. Molecular Mechanisms of Drug Resistance. *J. Pathol.* **205 (2)**, 275-292, 2005.
- 47 MITSCHER, L. A. E. A. Multiple Drug Resistance. *Med. Res. Rev.*, **19 (6)**, 477-496, 1999.
- 48 HILL, B. Drug Resistance. *Int. J. Onc.* **9 (2)**, 197-203, 1996.
- 49 WAGNER-SOUZA, K. Ciclosporina A e seus análogos como reversores da resistência a múltiplas drogas em células tumorais. *Revista Brasileira de Oncologia*, **49 (2)**, 103-112, 2003.
- 50 HUBER, P. C.; MARUIAMA, C. H.; ALMEIDA, W. P. Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. *Quim. Nova*, **33 (10)**, 2148-2154, 2010.
- 51 DIETEL, M. What's New in Cytostatic Drug Resistance and Pathology.. *Pathol. Res. Pract.* **187 (7)**, 892-905, 1991.
- 52 BECK, W. T. Mechanisms of multidrug resistance in human tumor cells. The roles of P-glycoprotein, DNA topoisomerase II, and other factors. *Cancer Treat. Rev.* **17**, 11-20, 1990.
- 53 MORROW, C. S.; COWAN, K. H. Glutathione S-transferases and drug resistance. *Cancer Cell*, **2**, 15-22, 1990.
- 54 HAMMOND, J. R.; JOHNSTONE, R. M. Enhanced Efflux of [3H]Vinblastine from Chinese Hamster Ovary Cells Transfected with a Full-Length Complementary DNA Clone for the *mdr1* Gene. *Cancer Res.* **49**, 3867-3871, 1989.
- 55 HANNUN, Y. A. Apoptosis and the dilemma of cancer chemotherapy. *Blood*, **89 (6)**, 1845-1853, 1997.
- 56 SZAKÁCS, G. E. A. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat. Rev. Drug. Discovery*, **5**, 219-234, 2006.
- 57 ZHOU, C. Multi-targeted tyrosine kinase inhibitors for the treatment of non-small cell lung cancer: an era of individualized therapy. *Transl Lung Cancer Res.* **1 (1)**, 72-77, 2012.
- 58 NATALE, R. B.; BODKIN, D.; GOVINDAN, R. E. A. ZD6474 versus gefitinib in patients with advanced NSCLC: final results from a two-part, double-blind, randomized phase II trial. *J Clin Oncol* **24**, 7000, 2006.
- 59 WILHELM, S.; CARTER, C.; LYNCH, M. E. A. Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov.* **5**,

835-844, 2006.

60 HU-LOEW, D. D.; ZOU, H. Y.; SANTORO, A. E. A. Nonclinical antiangiogenesis and antitumor activities of axitinib (AG-013736), an oral, potent, and selective inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases 1, 2, 3. *Clin Cancer Res.* **14**, 7272-7283, 2008.

61 VIEGAS-JUNIOR, C.; DANUELLO, A.; DA SILVA BOLZANI, V.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C.A. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. *Curr Med Chem*, **14 (17)**, 1829-1852, 2007.

62 KUDUK, S. D.; ZHENG, F. F.; SEPP-LORENZINO, L.; ROSEN, N.; DANISHEFSKY, S. J. Synthesis and evaluation of geldanamycin-estradiol hybrids. *Bioorg Med Chem Lett.* **9 (9)**, 1233-1238, 1999.

63 KARTHIKEYAN, C.; SOLOMON, V. R.; LEE, H.; TRIVEDI, P. Design, synthesis and biological evaluation of some isatin-linked chalcones as novel anti-breast cancer agents: A molecular hybridization approach. *Biomedicine & Preventive Nutrition* **3**, 325-330, 2013.

64 VINE, K. L.; MATESIC, L.; LOCKE, J. M.; RANSON, M.; SKROPETA, D. Cytotoxic and anti-cancer activities of isatins and its derivatives: a comprehensive review from 2000-2008. *Anticancer Agents Med Chem* **9**, 397-414, 2009.

65 SILVA, M. N.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas com ênfase na b-lapachona e derivados. *Quim. Nova* **26**, 407-416, 2003.

66 NICULESCU, V. C.; MURESAN, N.; SALAGEANU, A.; TUCUREANU, C.; MRINESCU, G.; CHIRIGIU, L.; LEPADATU, C. Novel 2,3-disubstituted 1,4-naphthoquinone derivatives and their metal complexes - Synthesis and in vitro cytotoxic effect against mouse fibrosarcoma L929 cells. *J. Organom. Chem.* **400**, 13-19, 2012.

67 BARBOSA, M. D.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S.; MARTINS, R. M.; PINTO, A. C.; VARGAS, M. D. New 1,2,3,4-tetrahydro-1-aza-anthraquinones and 2-aminoalkyl compounds from norlapachol with molluscicidal activity. *Bioorg. Med. Chem.* **13**, 6464-6469, 2005.

68 TEIXEIRA, M. J.; ALMEIDA, Y. M.; VIANA, J. R.; HOLANDA FILHA, J. G.; RODRIGUES, T. P.; PRATA JR, J. R. C.; COELHO, I. C. B.; RAO, V. S.; POMPEU, M. M. L. In vitro and in vivo Leishmanicidal activity of 2-hydroxy-3-(3-

methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (lapachol). *Phytother. Res.* **15**, 44-48, 2001.

69 ALMEIDA, E. R.; SILVA-FILHO, A. A. A.; SANTOS, E. R.; LOPES, C. A. J. Antiinflammatory action of lapachol. *Ethnopharmacol.* **29**, 239-241, 1990.

70 GAFNIER, S.; WOLFENDER, J. L.; NIANGA, M.; STOECKLI-EVANS, H.; HOSTETTMANN, K. Antifungal and antibacterial naphthoquinones from *Newbouldia laevis* roots. *Phytochemistry.* **42**, 1315-1320, 1996.

71 RÍOS, D.; BENITES, J.; VALDERRAMA, J. A.; FARIAS, M.; PEDROSA, R. C.; VERRAX, J.; BUC CALDERON, P. Biological evaluation of 3-acyl-2-arylamino-1,4-naphthoquinones as inhibitors of Hsp90 chaperoning function. *Curr Top Med Chem* **12 (19)**, 2094-2102, 2012.

72 TANDON, V. K.; KUMAR, S. Recent development on naphthoquinone derivatives and their therapeutic applications as anticancer agents. *Expert Opin. Ther. Patents* **23 (9)**, 1087-1108, 2013.

73 WELLINGTON, K. W. Understanding cancer and the anticancer activities of naphthoquinones – a review. *RSC Adv.*, **5**, 20309-20338, 2015.

74 SIMIC, M. G.; BERGTOLD, D. S.; KARAM, L. R. Generation of oxy radicals in biosystems. *Mutat. Res.*, **3**, 214, 1989.

75 LOWN, J. W.; SIM, S. K.; MAJUMDAR, K. C.; CHANG, R. Y. Strand scission of DNA by bound adriamycin and daunorubicin in the presence of reducing agents. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **76**, 705-710, 1977.

76 DELARMELENA, M. **Síntese, avaliação biológica e docking de novos derivados 2,3-substituídos-1,4-naftoquinônicos contendo nitrogênio, oxigênio e enxofre com atividade anticâncer.**, Dissertação de Mestrado. Departamento de Química da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2013. 110 p.

77 AFZAL, O.; KUMAR, S.; HAIDER, M. R.; ALI, M. R.; KUMAR, R.; JAGGI, M.; BAWA, S. A review on anticancer potential of bioactive heterocycle quinoline. *Eur. J. Med. Chem.* **97**, 871-910, 2015.

78 XIA, Y.; YANG, Z. Y.; HACKL, T.; HAMEL, E.; MAUGER, A.; WU, J. H.; LEE, K. H. Fluorinated 2-phenyl-4-quinolone derivatives as antimetabolic antitumor agents. *J. Med. Chem.*, **44**, 3932-3936, 2001.

79 SHAHABUDDIN, M. S.; GOPAL, M.; RAGHAVAN, C. S. Intercalating cytotoxic antitumor activity of 8-chloro and 4-morpholinopyrimido

- [4',5':4,5]thieno(2,3-b)quinolines. *Photochem. Photobiol. B*, **94**, 13-19, 2009.
- 80 THAPA, P.; KARKI, R.; YOO, H. Y.; PARK, P. H.; LEE, E.; JEON, K. H.; NA, Y.; CHO, W. J. 2,4-Diaryl-5,6-dihydro-1,10-phenanthroline and 2,4-diaryl-5,6-dihydrothieno [2,3-h] quinoline derivatives for topoisomerase I and II inhibitory activity, cytotoxicity, and structure-activity relationship study. *Bioorg. Chem.* **40**, 67-78, 2012.
- 81 NIEN, C. Y.; CHEN, Y. C.; KUO, C. C.; HSIEH, H. P.; CHANG, C. Y.; WU, J. S.; WU, S. Y.; LIOU, J. P.; CHANG, J. Y.; LIOU, J. P. 5-Amino-2-arylquinolines as highly potent tubulin polymerization inhibitors. *J. Med. Chem.* **53**, 2309-2313, 2010.
- 82 LI, S.; GUO, C.; SUN, X.; LI, Y.; ZHAO, H.; ZHAN, D.; LAN, M.; TANG, Y. Synthesis and biological evaluation of quinazoline and quinoline bearing 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl as potent epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors and EPR bio-probe agents. *Eur. J. Med. Chem.* **49**, 271-278, 2012.
- 83 LIU, Q.; WANG, J.; KANG, S. A.; THOREEN, C. C.; HUR, W.; AHMED, T.; SABATINI, D. M.; GRAY, N. S. Discovery of 9-(6-aminopyridin-3-yl)-1-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzo[h][1,6]naphthyridin-2(1H)-one (Torin2) as a potent, selective, and orally available mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor for treatment of cancer. *J. Med. Chem.* **54**, 1473-1480, 2011.
- 84 BOLDT, S.; KOLCH, W. Targeting MAPK signalling: prometheus' fire or pandora's box? *Curr. Pharm. Des.* **10**, 1885-1905, 2004.
- 85 NECKERS, L. Hsp90 inhibitors as novel cancer chemotherapeutic agents. *Trends Mol Med* **8**, S55-S61, 2002.
- 86 CAPRIO, V.; GUYEN, B.; BOAHEN, Y. O.; MANN, J.; GOWAN, S. M.; KELLAND, L. M.; READ, M. A.; NEEDLE, S. A novel inhibitor of human telomerase derived from 10H-indolo[2,3-b]quinoline. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **10**, 2063-2066, 2000.
- 87 YANG, Y.; SHI, L.; ZHOU, Y.; LI, H. Q.; ZHU, Z. W.; ZHU, H. L. Design, synthesis and biological evaluation of quinoline amide derivatives as novel VEGFR-2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 6653-6656, 2010.
- 88 AUGER, K. R.; LUO, L.; KNIGHT, S. D. E. A. A novel inhibitor of phosphoinositide3-kinase for the treatment of cancer. EORTC-NCI-AACR international conference on molecular targets and cancer. Geneva Palexpo,

Geneva, Switzerland, October 2008.

89 KNIGHT, S. D.; ADAMS, N. D.; BURGESS, J. L. Discovery of GSK2126458, a highly potent inhibitor of PI3K and the mammalian target of rapamycin. *ACS Med. Chem. Lett.*, **1**, 39-43, 2010.

90 ABOUZID, K.; SHOUMAN, S. Design, synthesis and in vitro antitumor activity of 4-aminoquinoline and 4-aminoquinazoline derivatives targeting EGFR tyrosine kinase. *Bioorg. Med. Chem.* **16**, 7543-7551, 2008.

91 SOLOMON, V. R.; LEE, H. Quinoline as a Privileged Scaffold in Cancer Drug Discovery. *Curr. Med. Chem.* **18**, 1488-1508, 2011.

92 ULUKAN, H.; SWAAN, P. W. Camptothecins, a review of their chemotherapeutical potential. *Drugs*, **62**, 2039-2057, 2002.

93 REIS, M. I. P.; ROMEIRO, G. A.; DAMASCENO, R.; DA SILVA, F. C.; FERREIRA, V. F. Síntese e Aplicações de 1,3,5-Triazinanas. *Rev. Virtual de Quim.*, **5 (2)**, 283-299, 2013.

94 CUNHA, A. C.; DA PAIXÃO, F. M.; DE SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, V. F. Cloreto isocianúrico e cloreto cianúrico: aspectos gerais e aplicações em síntese orgânica. *Quim. Nova*, **29 (3)**, 520-527, 2006.

95 GRUNDMANN, C.; KREUTZBERGER, A. Triazines. IX. 1,3,5-Triazine and its Formation from Hydrocyanic Acid. *J. Am. Soc.* **76**, 5646-5650, 1954.

96 BLOTNY, G. Recent applications of 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine and its derivatives in organic synthesis. *Tetrahedron*, **62**, 9507-9522, 2006.

97 BASEDIA, D. K.; DUBEY, B. K.; SHRIVASTAVA, B. A REVIEW ON SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS BEARING 1, 3, 5-TRIAZINE LEAD MOIETY. *American Journal of PharmTech Research*. **1(4)**, 174-193, 2011.

98 POGORELCNIK, B.; BRVAR, M.; ZAJC, I.; FILIPIC, M.; SOLMAJER, T.; PERDIH, A. Monocyclic 4-amino-6-(phenylamino)-1,3,5-triazines as inhibitors of human DNA topoisomerase IIa. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **24**, 5762-5768, 2014.

99 LIU, B.; SUN, T.; ZHOU, Z.; DU, L. A Systematic Review on Antitumor Agents with 1, 3, 5-triazines. *Med. Chem.* **5 (3)**, 131-148, 2015.

100 SINGLA, P.; LUXAMI, V.; PAUL, K. Triazine–benzimidazole hybrids: Anticancer activity, DNA interaction and dihydrofolate reductase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **23**, 1691-1700, 2015.

101 WURZ, R. P.; LIU, L.; YANG, K.; NISHIMURA, N.; BO, Y.; PETTUS, L. H.;

CAENEPEEL, S.; FREEMAN, D. J.; MCCARTER, J. D.; MULLADY, E. L.; MIQUEL, T. S.; WANG, L.; ZHANG, N.; ANDREWS, K. L.; WHITTINGTON, D. A.; JIANG, J.; SUBRAMANIAN, R.; HUGHES, P. E. Synthesis and structure–activity relationships of dual PI3K/mTOR inhibitors based on a 4-amino-6-methyl-1,3,5-triazine sulfonamide scaffold. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **22**, 5714-5720, 2012.

102. *Nature Biotechnology* 18, IT18 - IT20, 2000.

103 TROTT, O. E.; OLSON, A. AutoDock Vina: improvind the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and Multithreading. *J. Comput. Chem.* **31**, 455, 2010.

104 WALKER, E. H.; PACOLD, M. E.; PERISIC, O.; STEPHENS, L.; HAWKINS, P. T.; WYMAN, M. P.; WILLIAMS, R. L.;. Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Mol. Cell.* **6 (4)**, 909-919, 2000.

105 KOH, M.; LEE, J. C.; MIN, C.; MOON, A. A novel metformin derivative, HL010183, inhibits proliferation and invasion of triple-negative breast cancer cells. *Bioog. Med. Chem.*, **21 (8)**, 2305-2313, 2013.

106 YANG, L.; SHA, H.; DAVISON, R. L.; QI, L. Phenformin Activates the Unfolded Protein Response in an AMP-activated Protein Kinase (AMPK)-dependent Manner. *J. Biol. Chem.*, **288 (19)**, 13631-13638, 2013.

107 MCNAMARA, C. R.; DEGTEEV, A. Small-molecule inhibitors of the PI3K signaling network. *Future Med. Chem.*, **3 (5)**, 549-565, 2011.

108 PANICHAYUPAKARANANT, P.; REANMONGKO, W. Evaluation of chemical stability and skin irritation of lawsone methyl ether in oral base. *Pharm. Biol.* **40**, 429-432, 2002.

109 CARMO, A. M. L.; SILVA, F. M. C.; MACHADO, P. A.; FONTES, A. P. S.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; LEITE, S. R. DE A.; COIMBRA, E. S.; DA SILVA, A. D. Synthesis of 4-aminoquinoline analogues and their platinum(II) complexes as new antileishmanial and antitubercular agents. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **65**, 204-209, 2011.

110 ALLOCHIO FILHO, J. F.; FIOROT, R. G.; LACERDA JR., V.; DOS SANTOS, R. B.; VANINI, G.; ROMÃO, W.; GRECO, S. J. First synthesis of aminonaphthoquinones derived from lawsone in a colloidal dispersion system created by a Brønsted acid-surfactant-combined catalyst in water: An

environmentally friendly protocol. *Colloids and Interface Science Communications*, **4**, 14–18, 2015.

111 DIELECTRIC Constant.. Disponível em <http://macro.lsu.edu/HowTo/solvents/Dielectric%20Constant%20.htm> Acessado em 23 de Julho de 2015.

112 YOO, S.-H.; KIM-Y.-W.; CHUNG, K.; KIM, N.-K. Corrosion Inhibition Properties of Triazine Derivatives Containing Carboxylic Acid and Amine Groups in 1.0 M HCl Solution. *Ind. Eng. Chem. Res.* **52**, 10880-10889, 2013.

113 THURSTON, J. T.; DUDLEY, J. R.; KAISER, D. W.; HECHENBLEIKNER, I.; SCHAEFER, F. C.; HOLM-HANSEN, D.. Cyanuric Chloride Derivatives. I. Aminochloro-s-triazines. *J. Am. Chem. Soc.* **73 (7)**, 2981-2983, 1951.

114 KAISER, D. W.; THURSTON, J. T.; DUDLEY, J. R.; SCHAEFER, F. C.; HECHENBLEIKNER, I.; HOLM-HANSEN, D.. Cyanuric Chloride Derivatives. II. Substituted Melamines. *J. Am. Chem. Soc.* **73 (7)**, 2984-2986, 1951.

115 DUDLEY, J. R.; THURSTON, J. T.; SCHAEFER, F. C.; HOLM-HANSEN, D.; HULL, C. J.; ADAMS, P. Cyanuric Chloride Derivatives. III. Alkoxy-s-triazines. *J. Am. Chem. Soc.* **73 (7)**, 2986-2990, 1951.

116 SCHAEFER, F. C.; THURSTON, J. T.; DUDLEY, J. R. Cyanuric Chloride Derivatives. IV. Aryloxy-s-triazines. *J. Am. Chem. Soc.* **73 (7)**, 2990-2992.

117 THURSON, J. T.; SCHAEFER, F. C.; DUDLEY, J. R.; HOLM-HANSEN, D. Cyanuric Chloride Derivatives. V. Reactions of Alkoxy-s-triazines and Aryloxy-s-triazines with Amines. *J. Am. Chem. Soc.* **73 (7)**, 2992-2996, 1951.

118 SCHAEFER, F. C.; DUDLEY, J. R.; THURSTON, J. T. Cyanuric Chloride Derivatives. VI. Rearrangement Reactions of 2,4-Dialkoxy-6-amino-s-triazines. **J. Am. Chem. Soc.** **73 (7)**, 2996-2999, 1951.

119 DUDLEY, J. R.; THURSTON, J. T.; SCHAEFER, F. C.; HULL, C. J.. Cyanuric Chloride Derivatives. VII. Transesterification Reactions of Alkoxy-s-triazines. Polyammide Ethers. *J. Am. Chem. Soc.* **73 (7)**, 2999-3004, 1951.

120 SCHAEFER, F. C.; DUDLEY, J. R.; THURSTON, J. T. Cyanuric Chloride Derivatives. VIII. Vinylamino-s-triazines. *J. Am. Chem. Soc.* **73 (7)**, 3004-3006.

121 DUDLEY, J. R. Cyanuric Chloride Derivatives. IX. Dissociation Constants of Substituted Melamines and Related Triazines. *J. Am. Chem. Soc.* **73 (7)**, 3007-3008, 1951.

122 AFONSO, C. A. M.; LOURENÇO, N. M. T.; ROSATELLA, A. A. Synthesis of

2,4,6-Tri-substituted-1,3,5-Triazines. *Molecules*, **11**, 81-102, 2006.

123 KOTHAYER, H.; ELSHANAWANI, A. A.; ABU KULL, M. E.; EL-SABBAGH, O. I.; SHEKHAR, M. P. V.; BRANCALE, A.; JONES, A. T.; WESTWELL, A. D. Design, synthesis and in vitro anticancer evaluation of 4,6-diamino-1,3,5-triazine-2-carbohydrazides and -carboxamides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**, 6886-6889, 2013.

124 KOLESINSKA, B.; KAMINSKI, Z. J. The umpolung of substituent effect in nucleophilic aromatic substitution. A new approach to the synthesis of N,N-disubstituted melamines (triazine triskelions) under mild reaction conditions. *Tetrahedron*, **65**, 3573-3576, 2009.

125 SHAH, D. R.; MODH, R. P.; CHIKHALIA, K. H. Privileged s-triazines: structure and pharmacological applications. *Future Med. Chem.* **6 (4)**, 463-477, 2014.

126 BORJA, G.; PLEIXATS, R.; SHAFIR, A.; PARELLA, T. Preparation of some nitrogen-containing 2,5-dialkoxystyrene derivatives. *ARKIVOC*, **iii**, 169-180, 2010.

127 MURASATO, K.; MATSUURA, K.; KIMIZUKA, N. Self-Assembly of Nanofiber with Uniform Width from Wheel-Type Trigonal-b-Sheet-Forming Peptide. *Biomacromolecules*, **9 (3)**, 913-918, 2008.

128 QIAO, W.; LI, J.; PENG, H.; ZHU, Y.; CAI, H. Synthesis of single and double long-chain 1,3,5-triazine amphoteric surfactants and their surface activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **384**, 612-617, 2011.

129 BOUFFIER, L.; LISTER, K. E.; HIGGINS, S. J.; NICHOLS, R. J.; DONEUX, TH. Electrochemical investigations of dissolved and surface immobilised 2-amino-1,4-naphthoquinones in aqueous solutions. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **664**, 80-87, 2012.

130 GILLES, V.; VIEIRA, M. A.; LACERDA JR., V.; CASTRO, E. V. R.; SANTOS, R. B.; ORESTES, E.; CARNEIRO, J. W. M.; GRECO, S. J. A New, Simple and Efficient Method of Steglich Esterification of Juglone with Long-Chain Fatty Acids: Synthesis of a New Class of Non-Polymeric Wax Deposition Inhibitors for Crude Oil. *J. Braz. Chem. Soc.*, **26 (1)**, 74-83, 2015.

131 GILLES, V. **Síntese de novos ésteres graxos naftoquinônicos com atividade inibidora de deposição de parafina e depressora de fluidez em petróleo.** Dissertação de Mestrado. Departamento de Química da Universidade

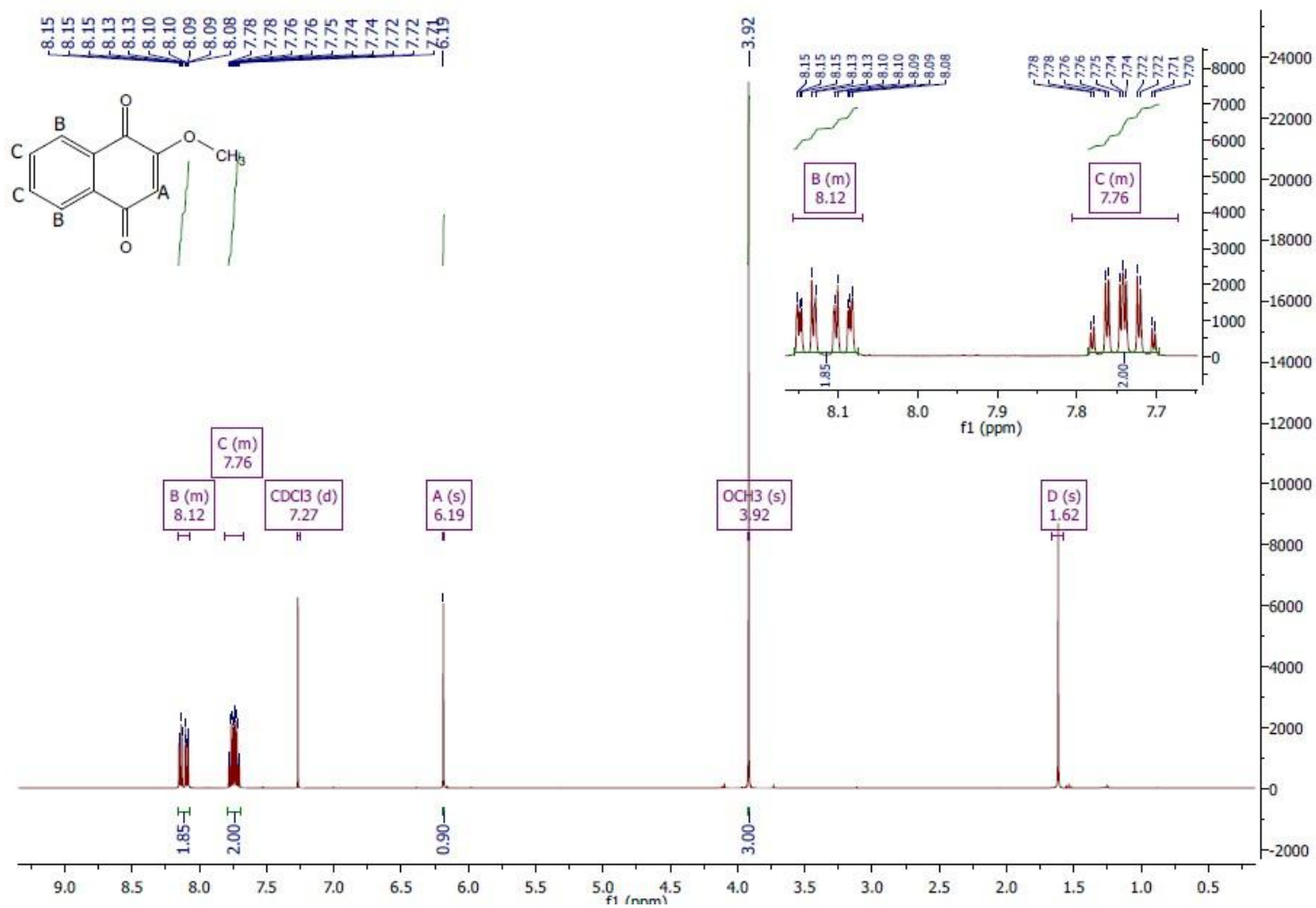
Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014. 147 p.

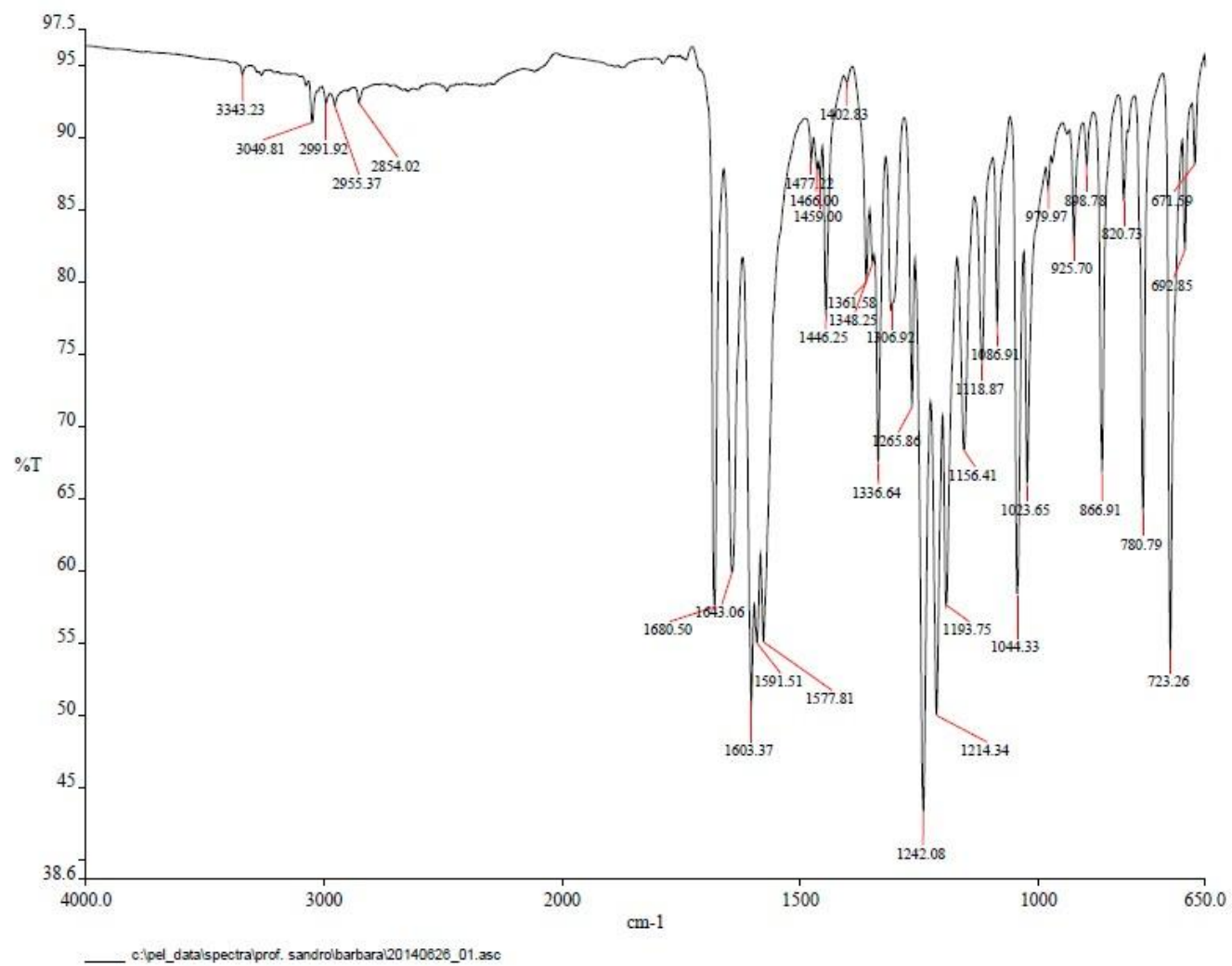
132 AL-GHORBANI, M.; VIGNESHWARAN, V.; RANGANATHA, L.; RANGANATHA, L.; PRABHAKAR, B. T.; ARA KHANUN, S. Synthesis of oxadiazole-morpholine derivatives and manifestation of the repressed CD31 Microvessel Density (MVD) as tumoral angiogenic parameters in Dalton's Lymphoma. *Bioorg. Chem.*, **60**, 136-146, 2015.

133 IBRAHIM, M. A.; ABOU-SERI, S. M.; HANNA, M. M.; ABDALLA, M. M.; EL SAYED, N. A. Design, synthesis and biological evaluation of novel condensed pyrrolo[1,2-c]pyrimidines featuring morpholine moiety as PI3Ka inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **16 (3)**, 227-235, 2012.

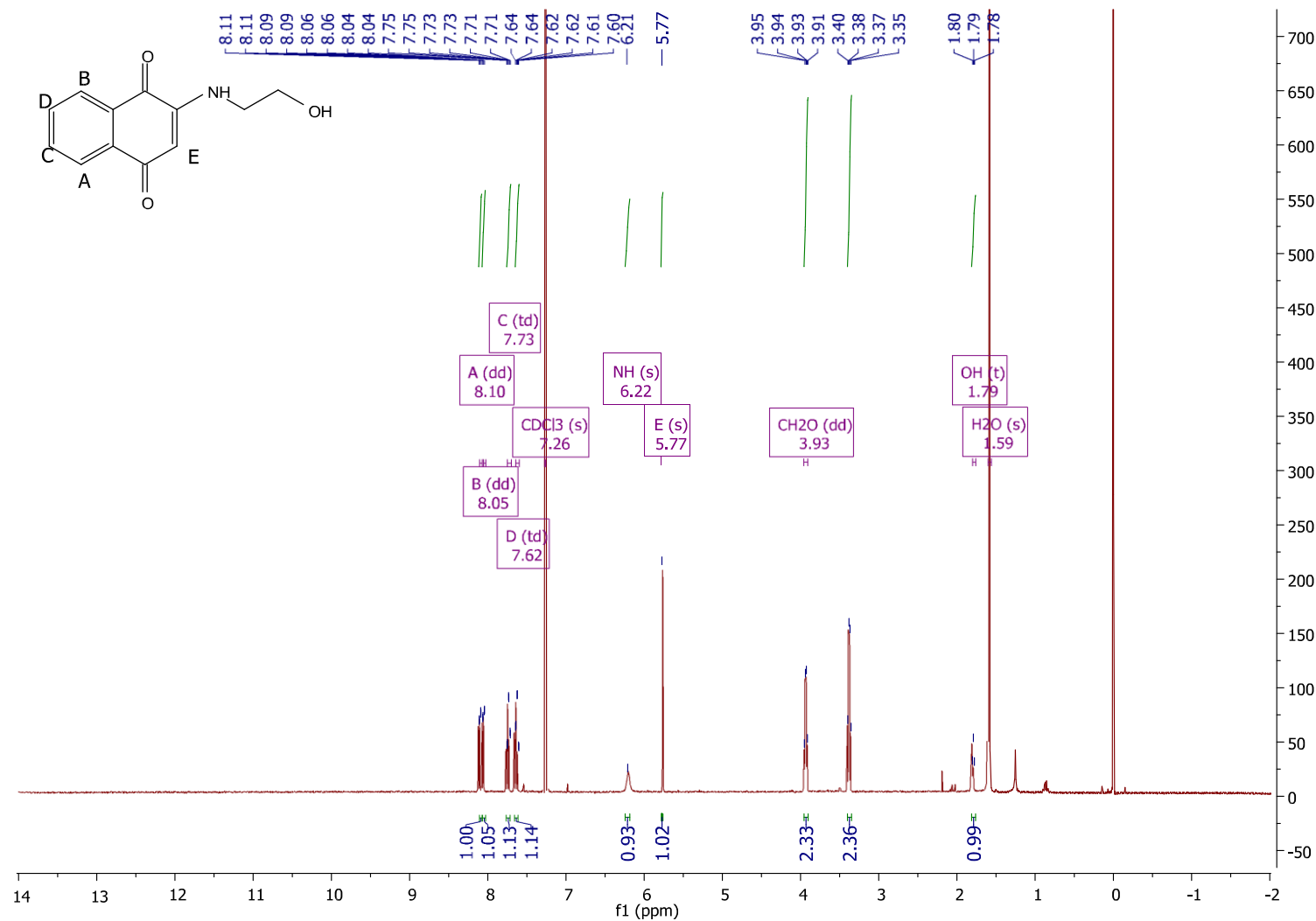
134 VENKATESAN, A. M.; DEHNHARDT, C. M.; SANTOS, E. F.; CHEN, Z.; DOS SANTOS, O.; AYRAL-KALOUSTIAN, S.; KHAFIZOVA, G.; BROOIJMANS, N.; MALLON, R.; HOLLANDER, I.; FELDBERG, L.; LUCAS, J.; YU, K.; GIBBONS, J.; ABRAHAM R. T.; CHAUDHARY, I.; MANSOUR, T. S. Bis(morpholino-1,3,5-triazine) Derivatives: Potent Adenosine 5'-Triphosphate Competitive Phosphatidylinositol-3-kinase/Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors: Discovery of Compound 26 (PKI-587), a Highly Efficacious Dual Inhibitor. *J. Med. Chem.*, **53 (6)**, 2636-2645, 2010.

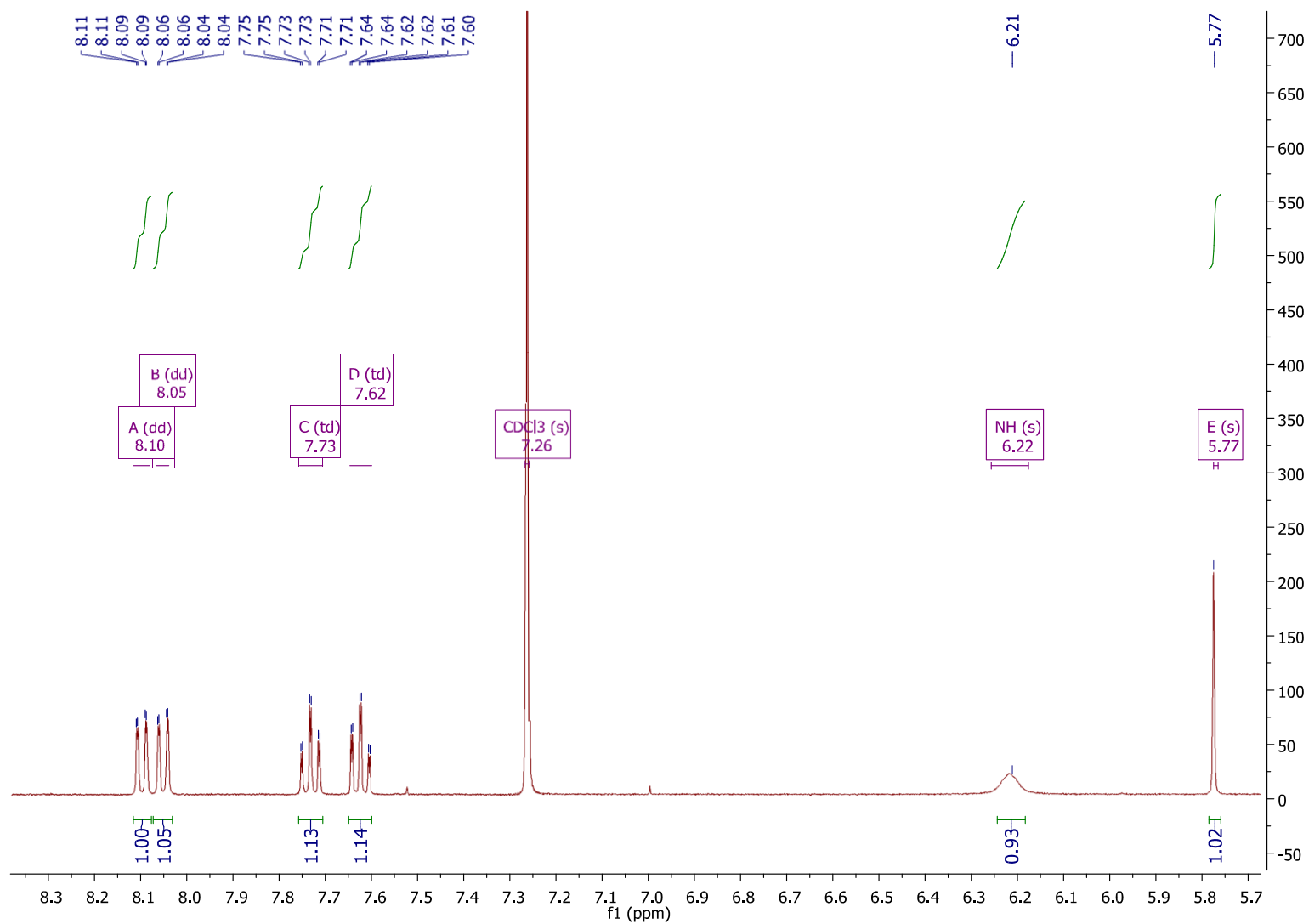
7. ANEXOS

Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H da 2-metoxilausona 131.

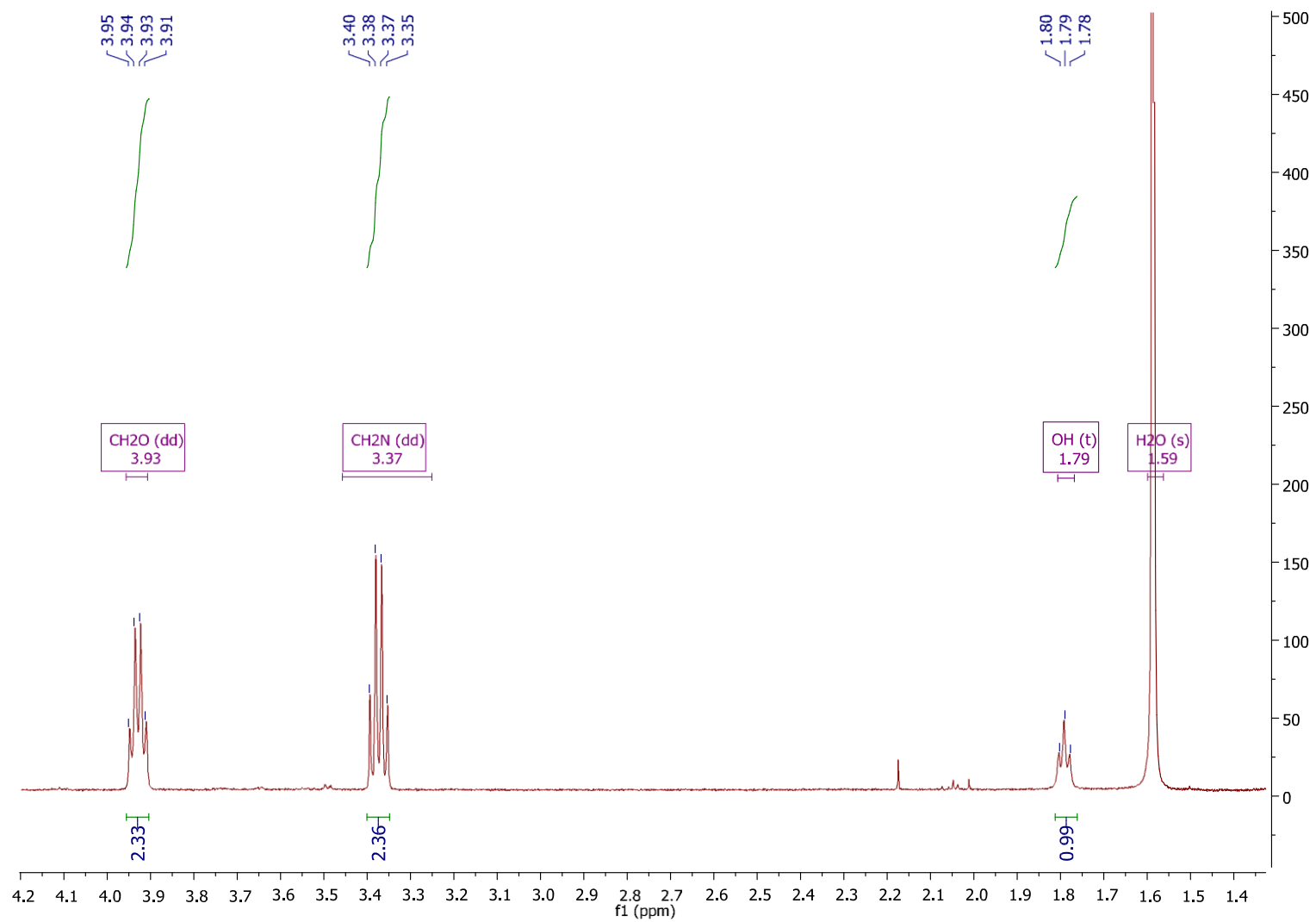


Anexo 2. Espectro de IV da 2-metoxilaosona 131.

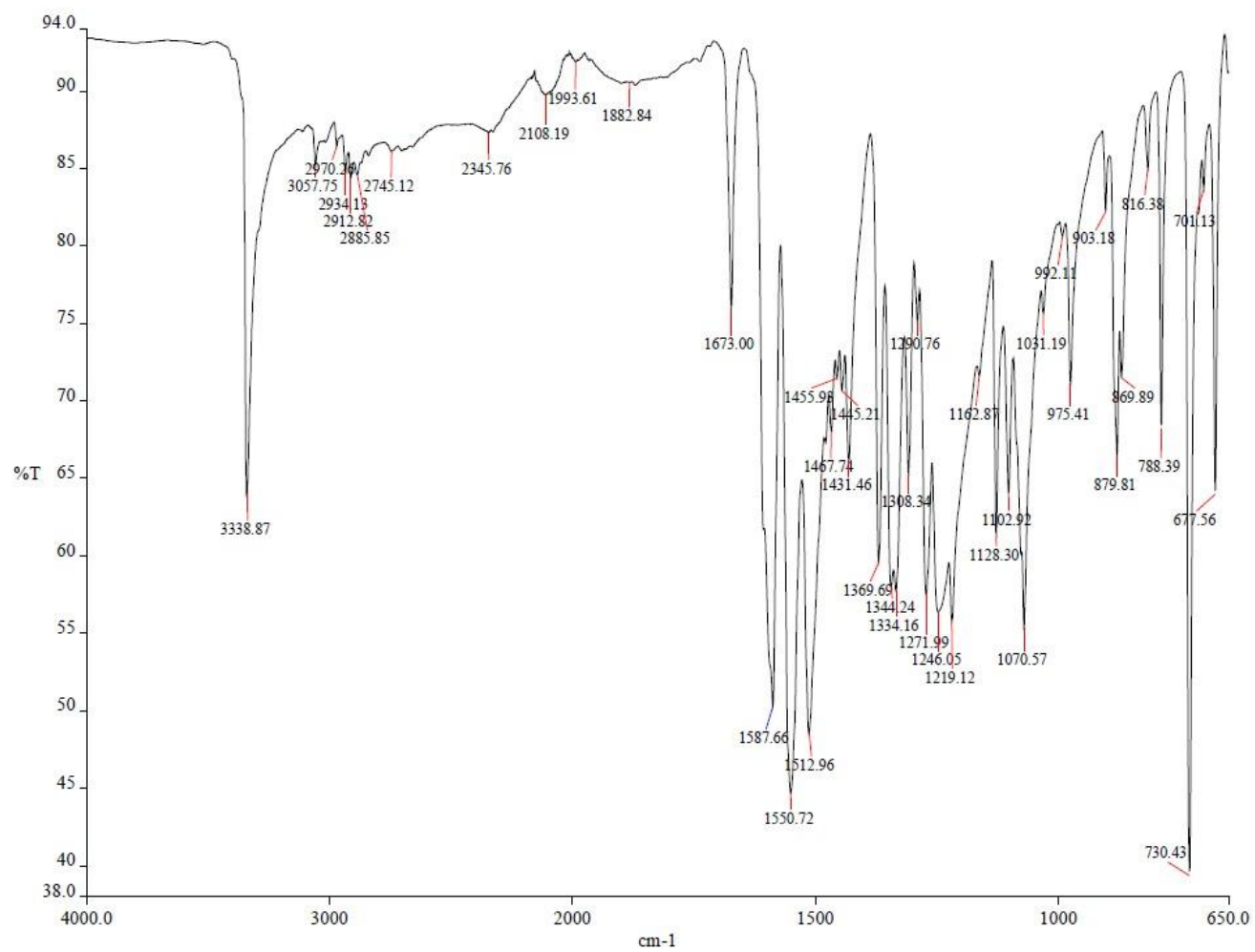
Anexo 3. Espectro de RMN de ¹H do composto 132.



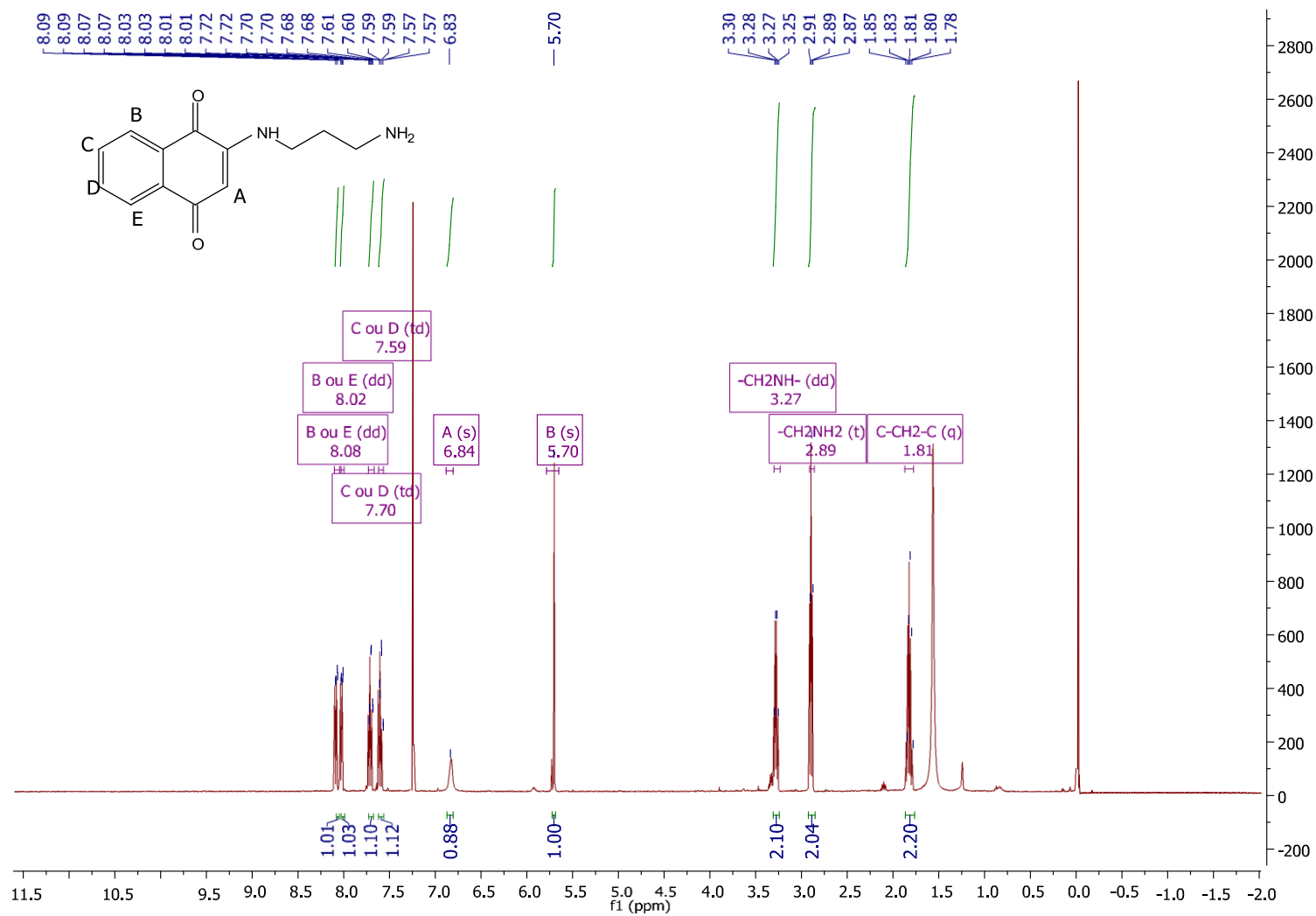
Anexo 4. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 132.



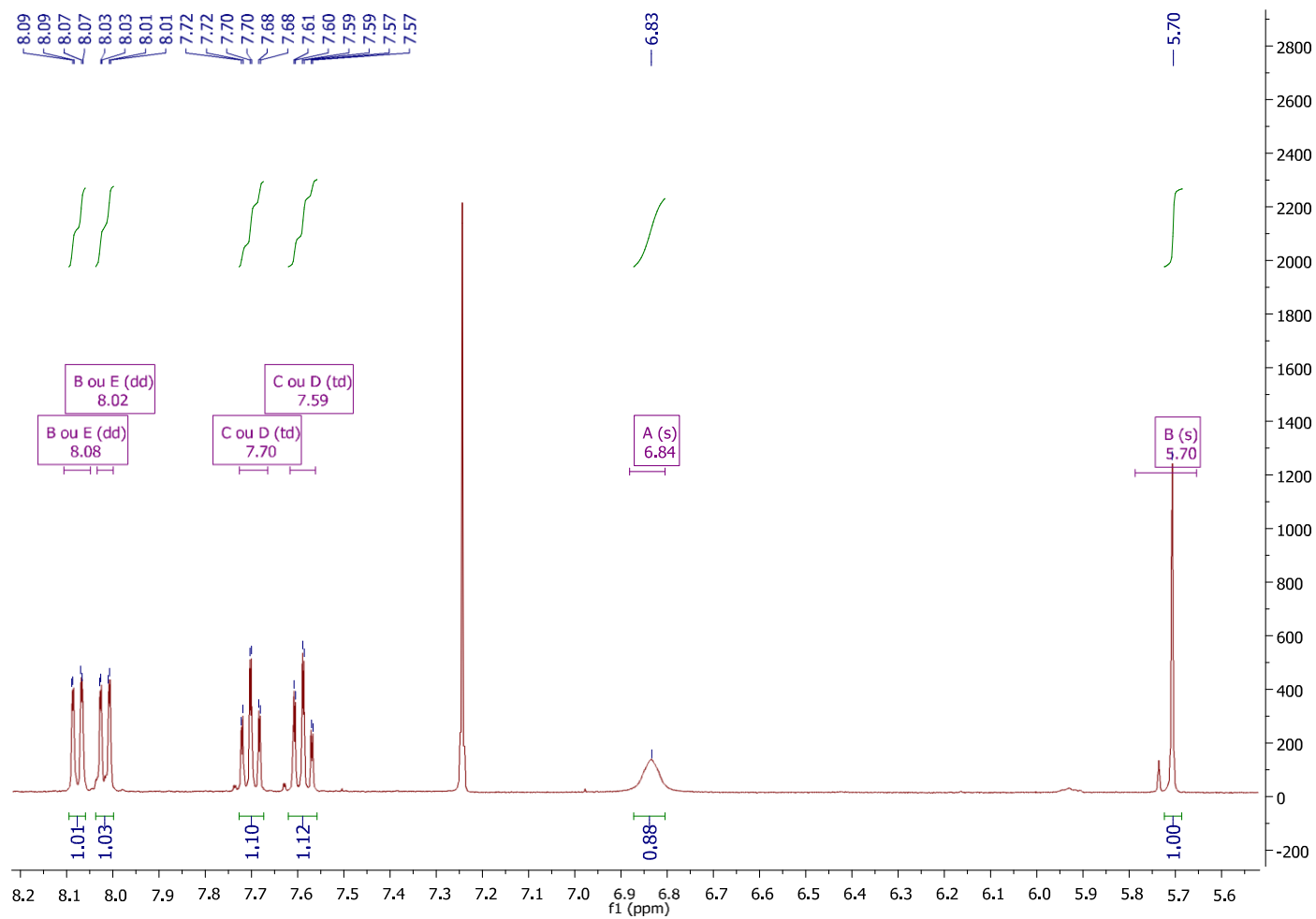
Anexo 5. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 132.



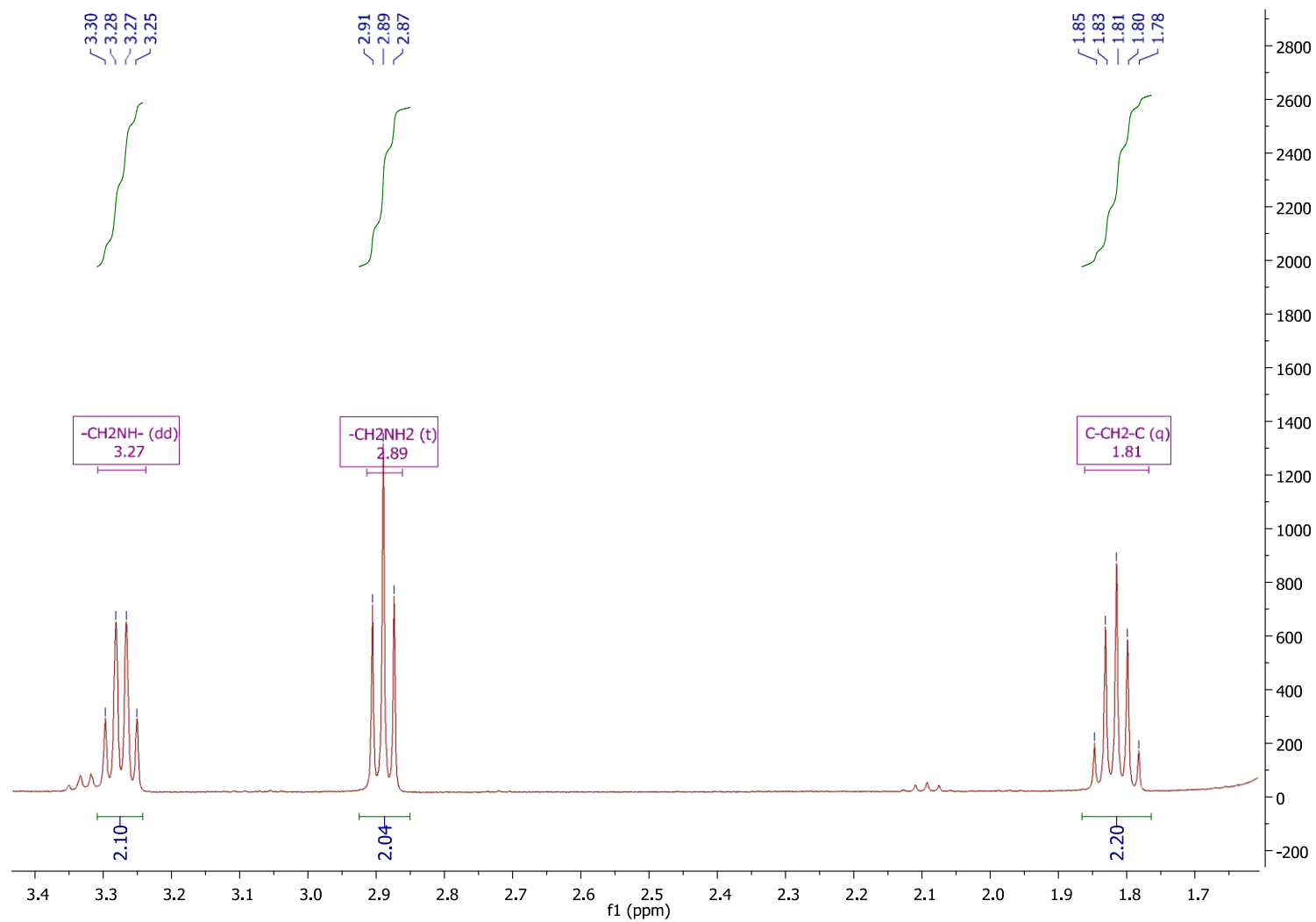
Anexo 6. Espectro de IV do composto 132.



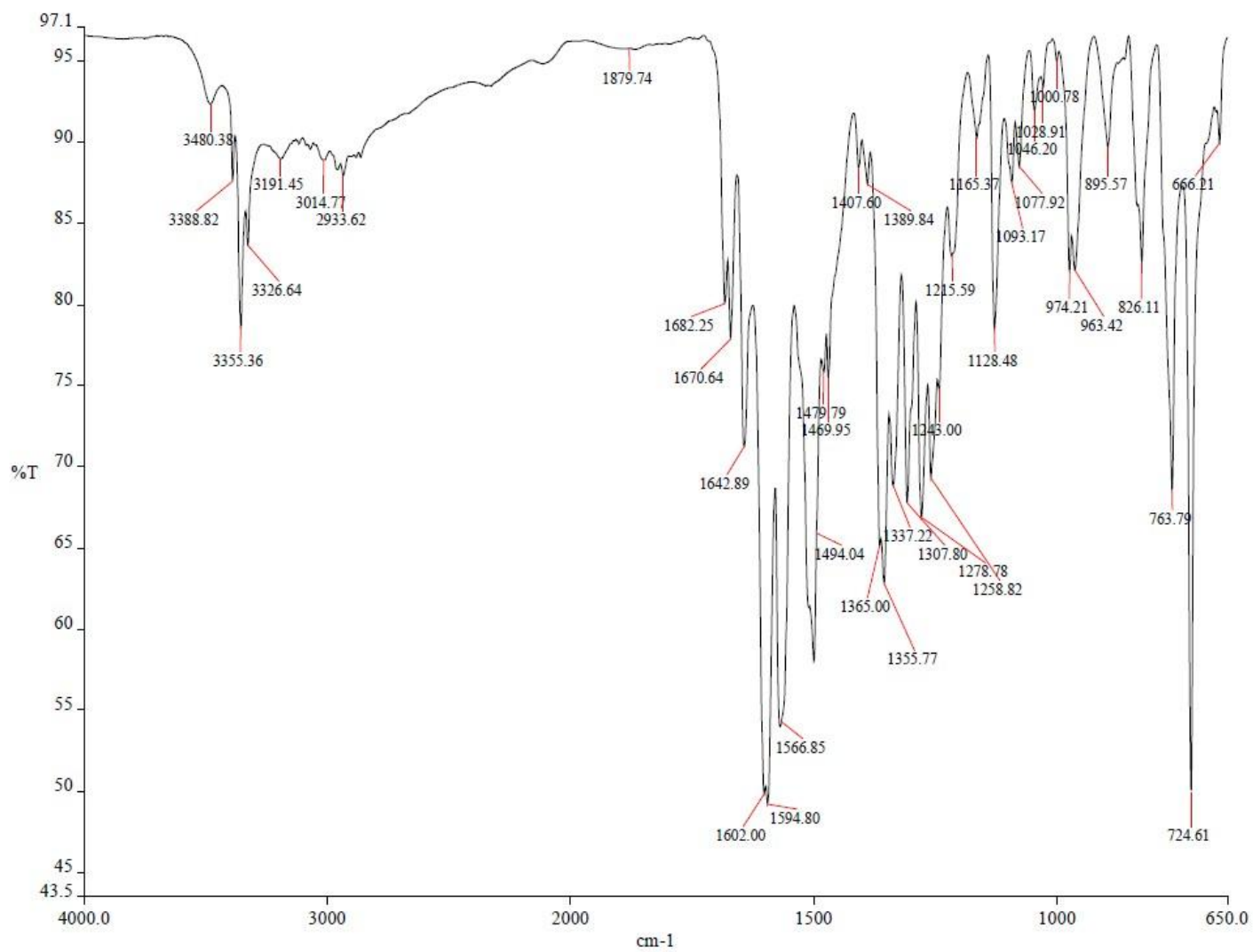
Anexo 7. Espectro de RMN de ^1H do composto 133.



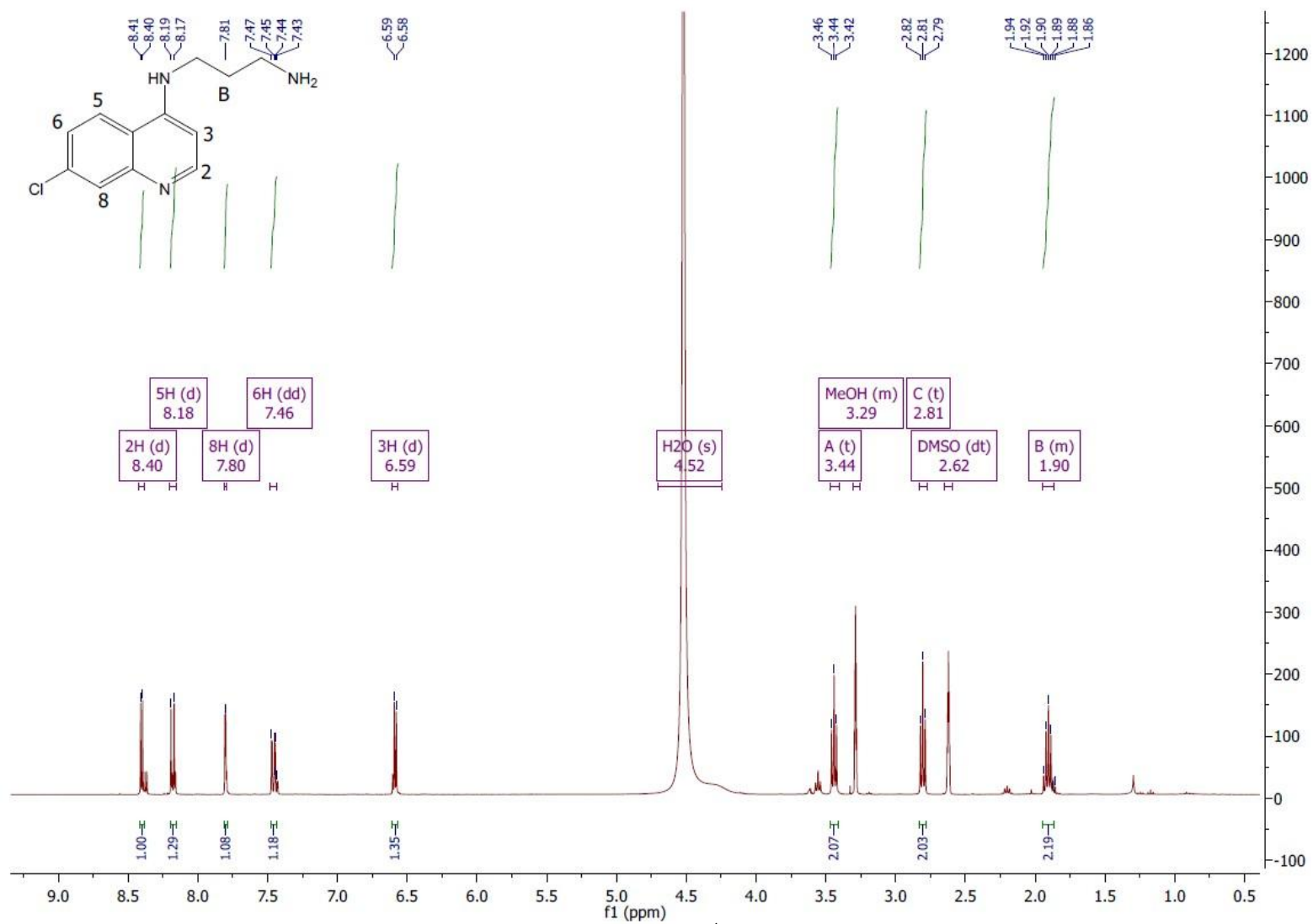
Anexo 8. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 133.



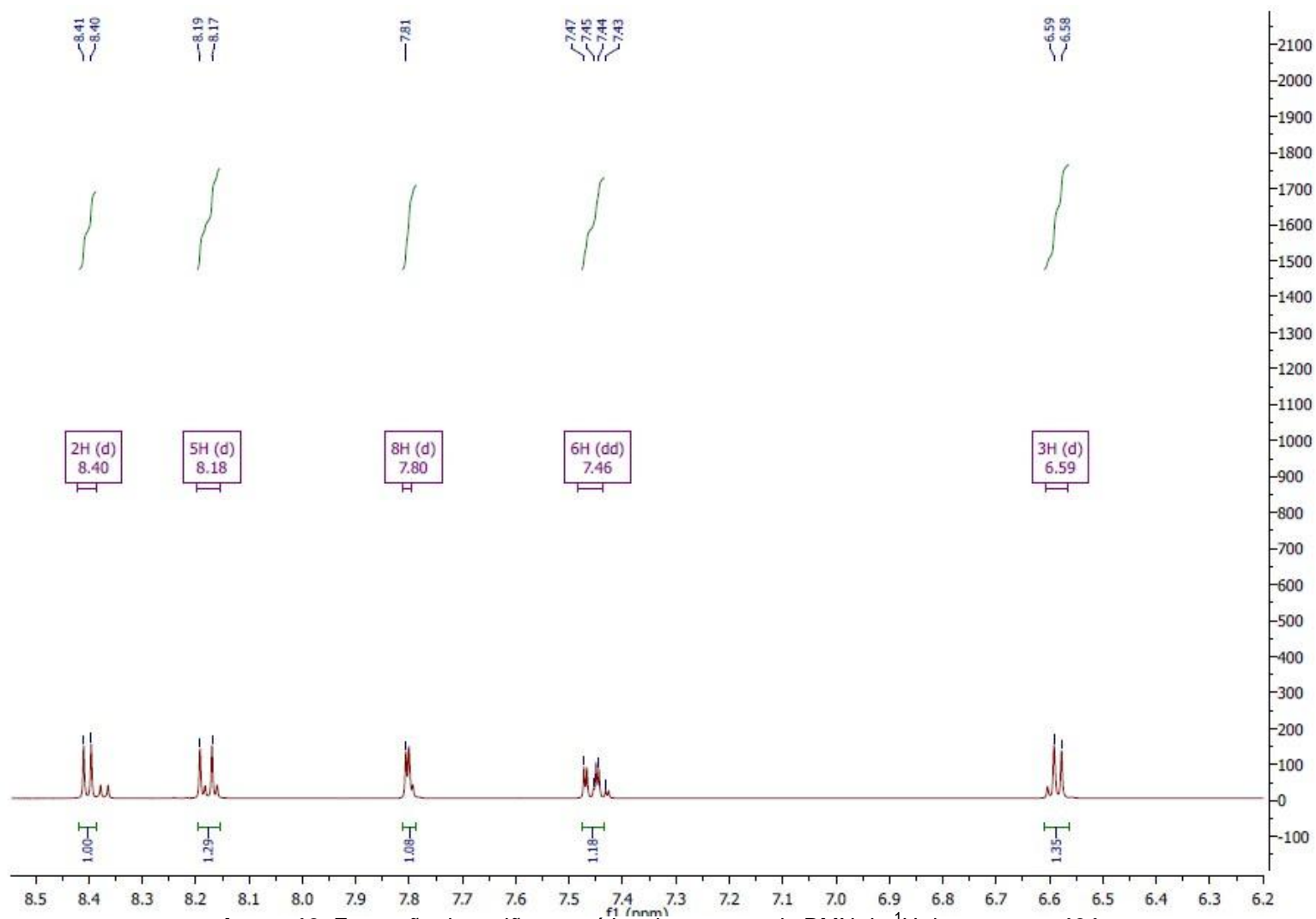
Anexo 9. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 133.



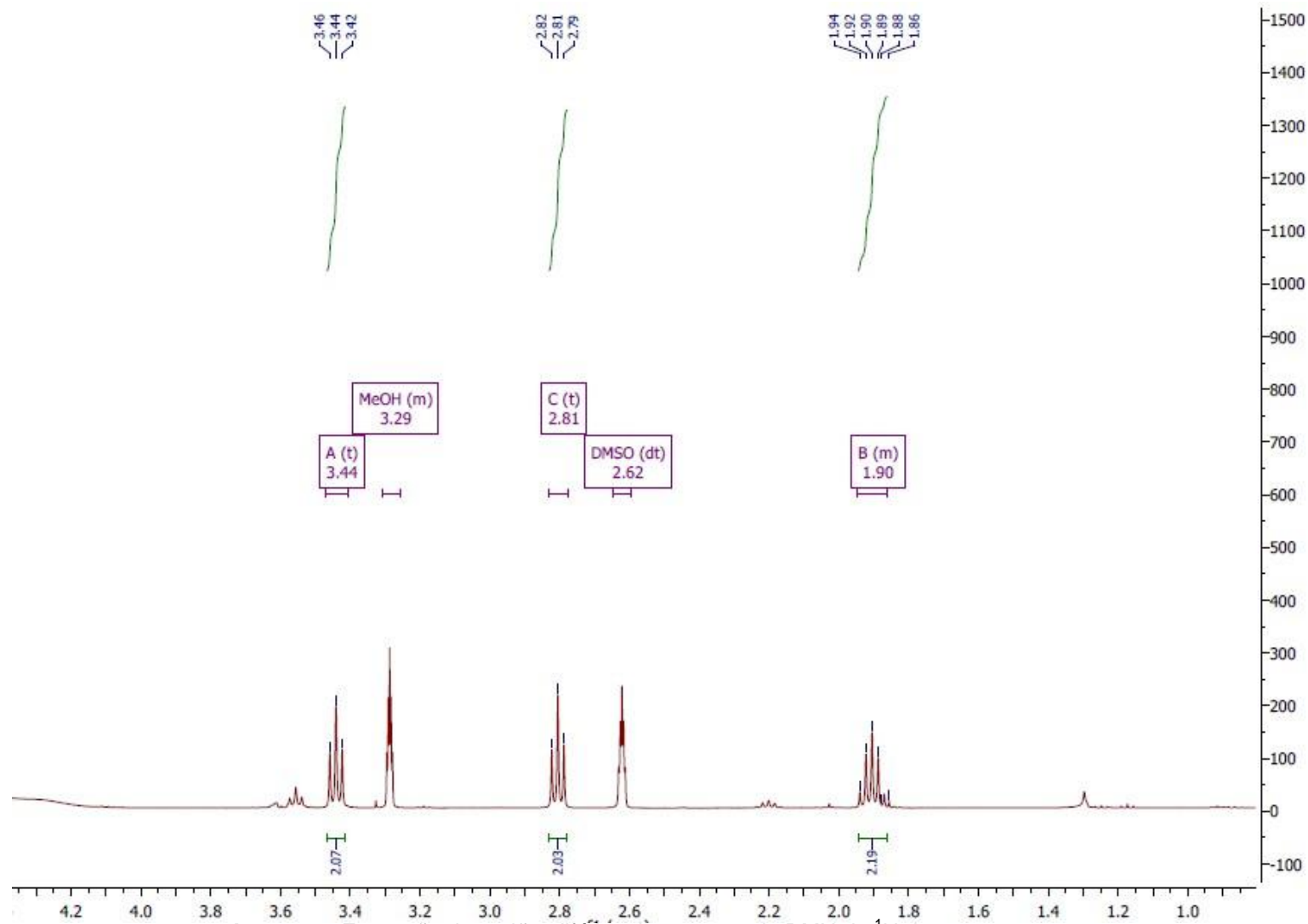
Anexo 10. Espectro de IV do composto 133.



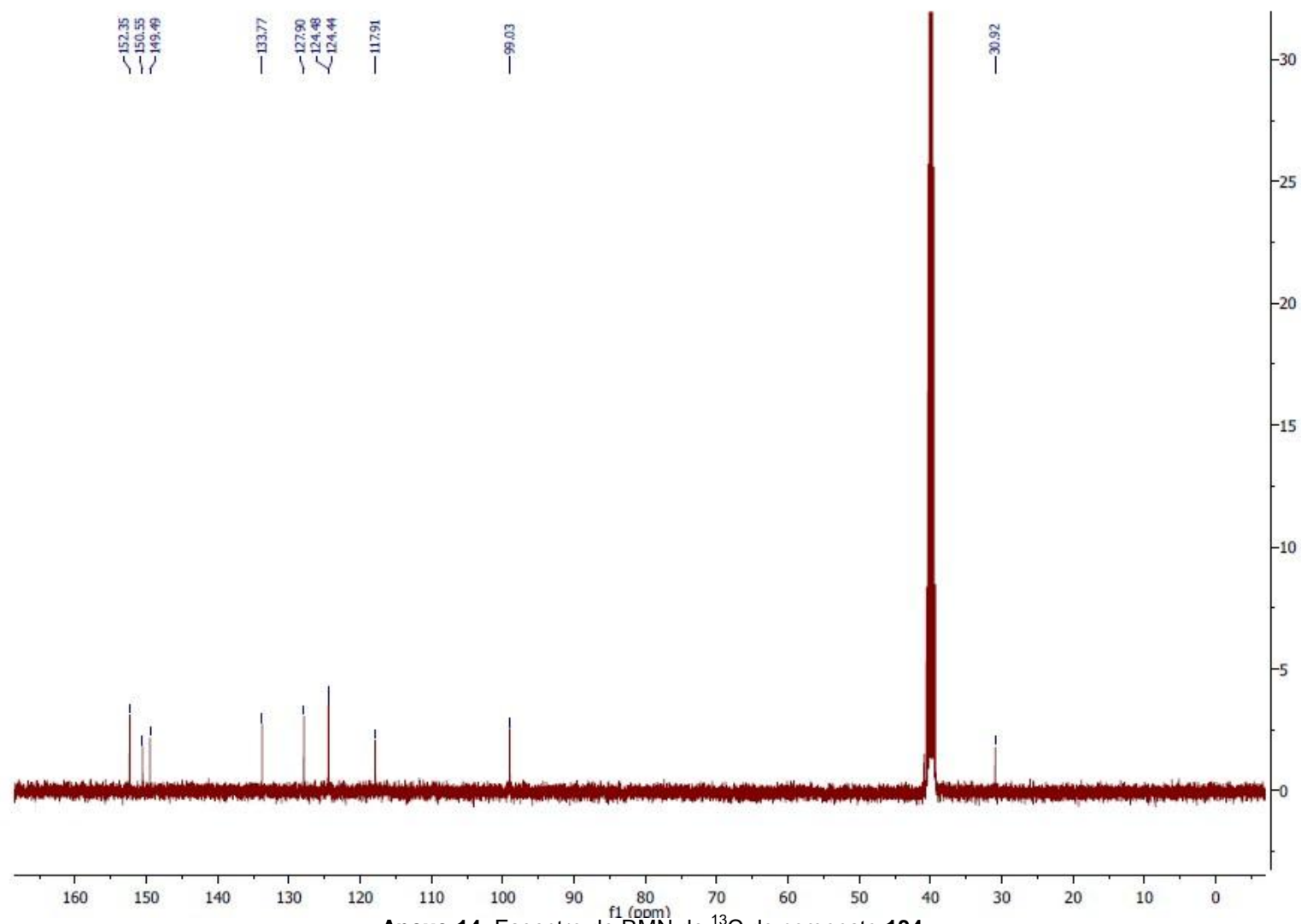
Anexo 11. Espectro de RMN de ¹H do composto 134.

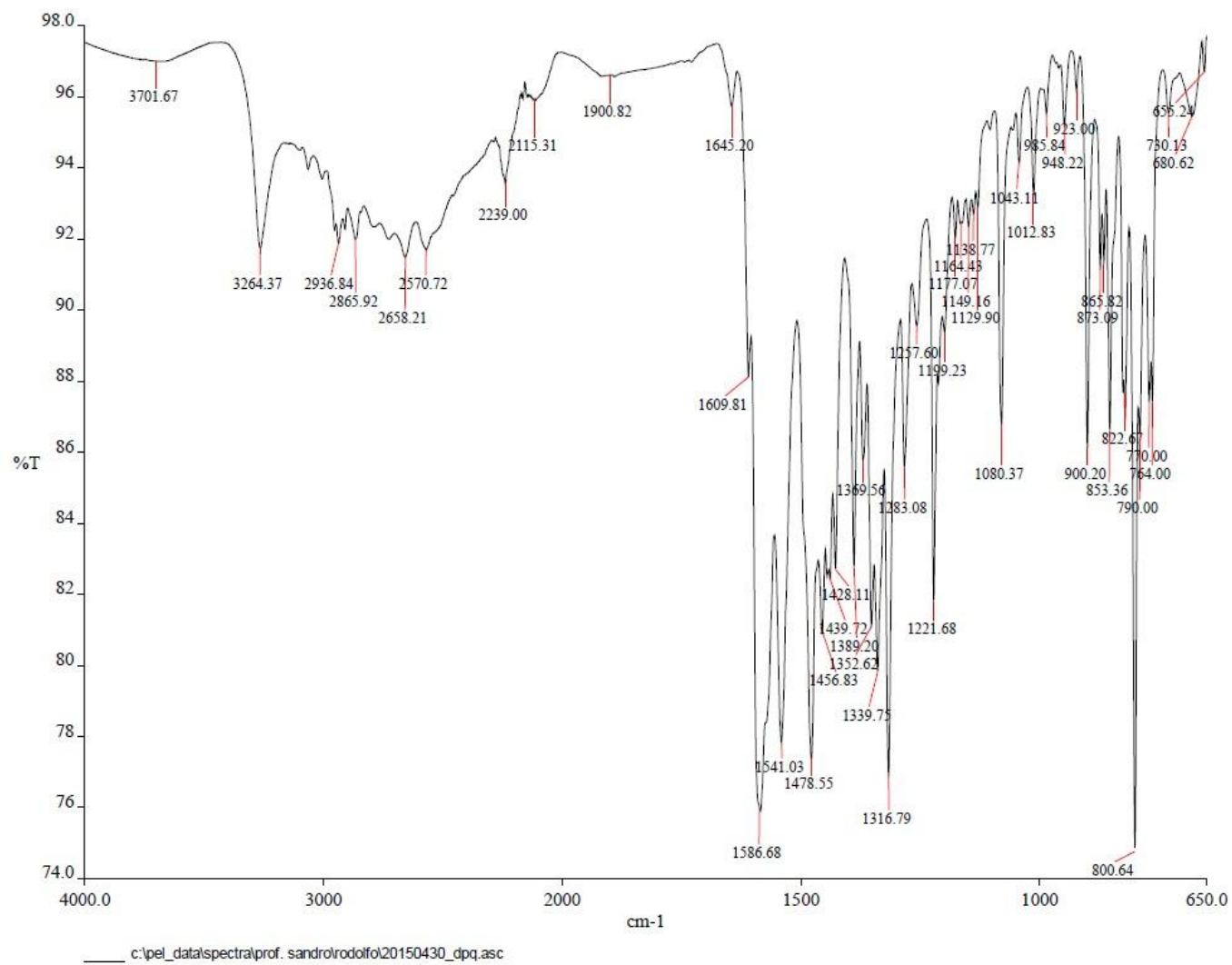


Anexo 12. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **134**.

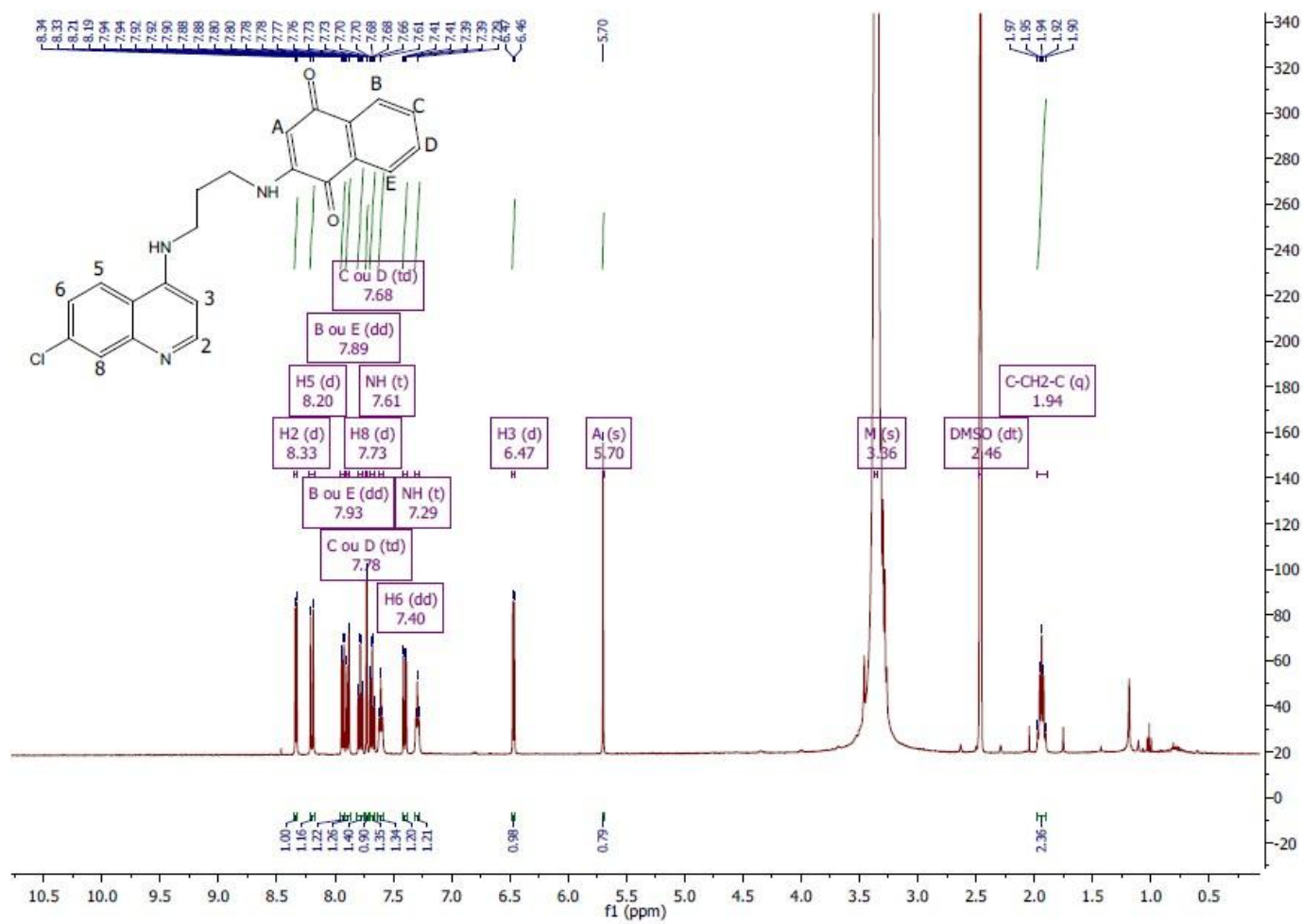


Anexo 13. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto **134**.

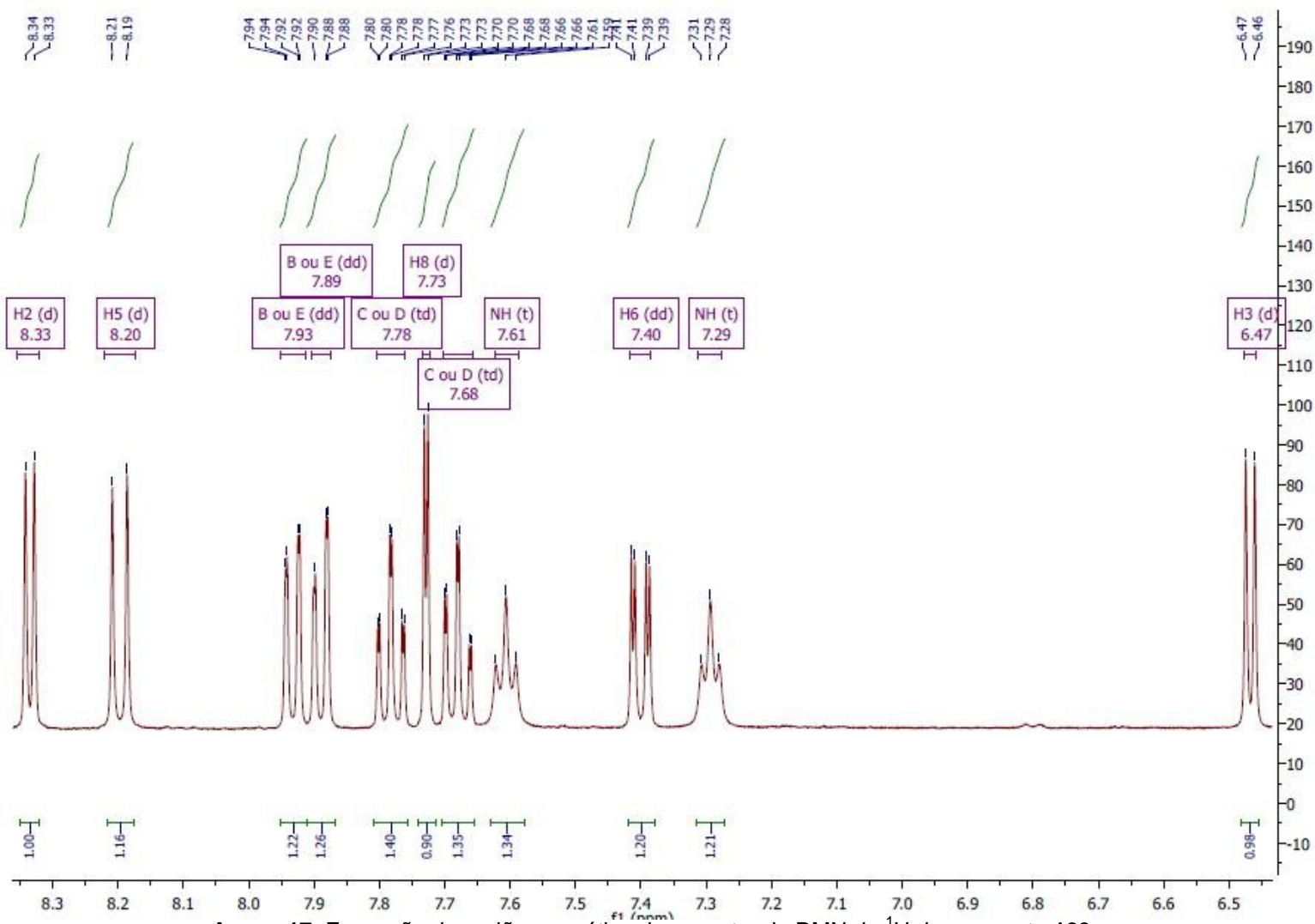




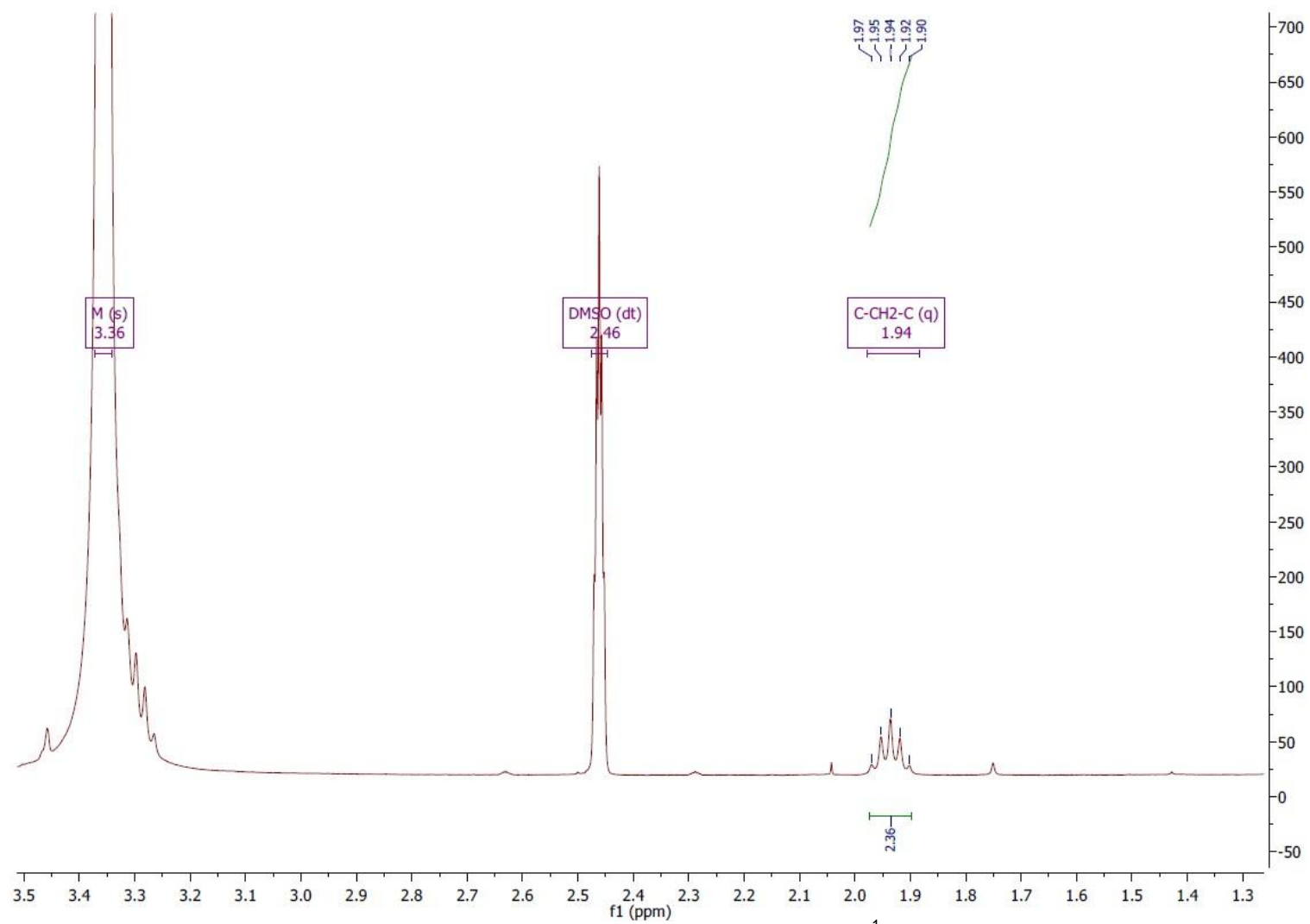
Anexo 15. Espectro de IV do composto 134.



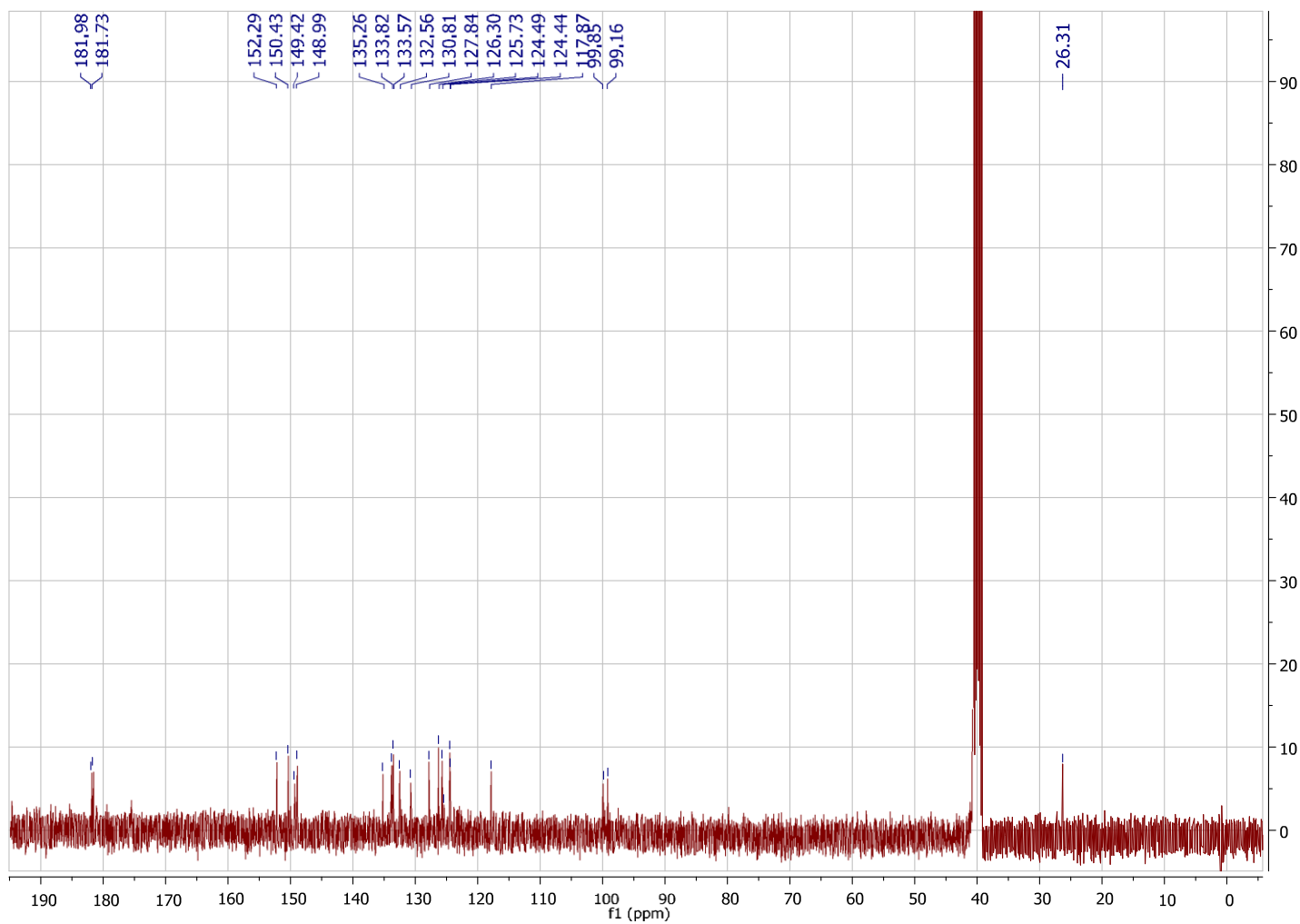
Anexo 16. Espectro de RMN de ^1H do composto 120.



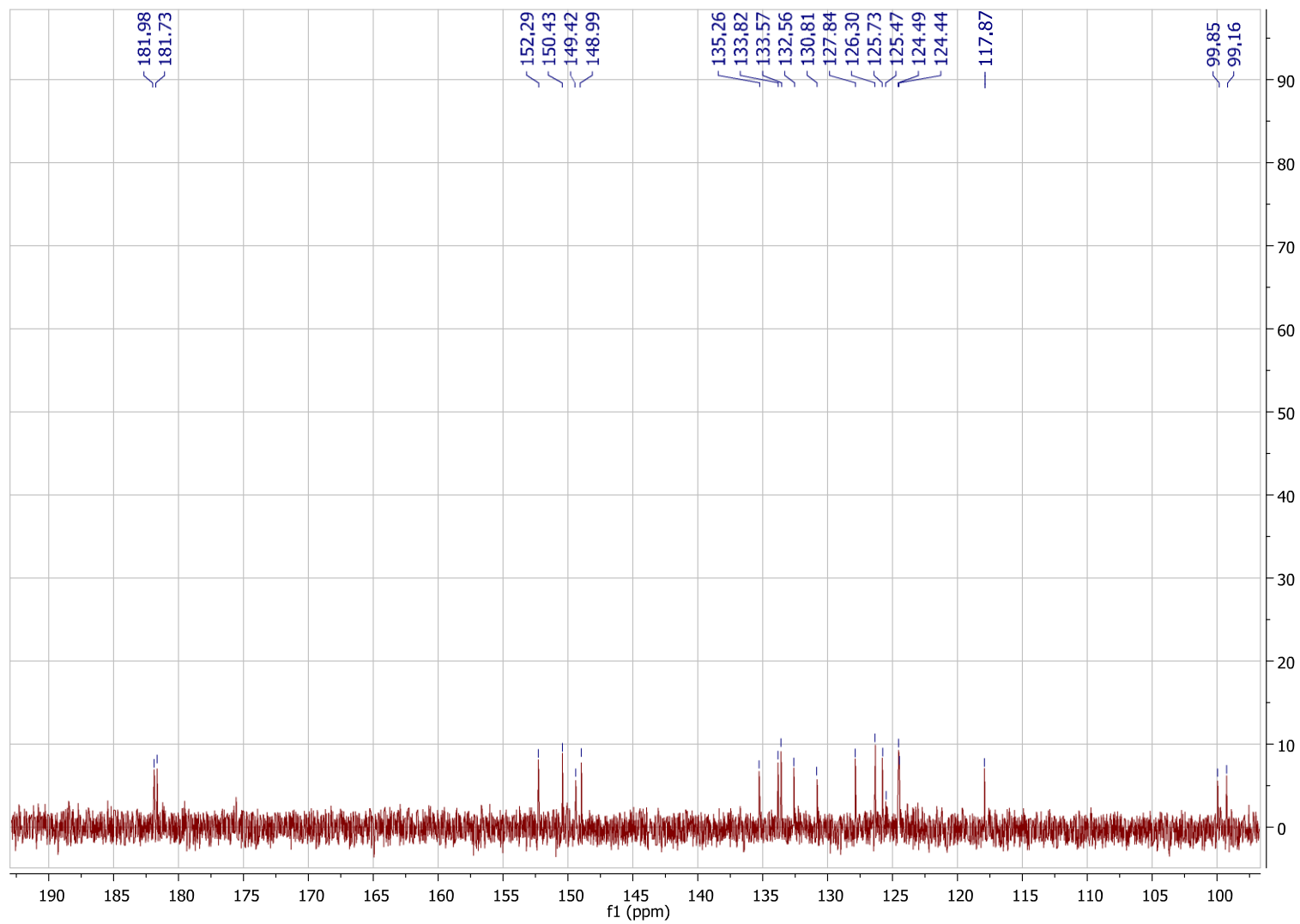
Anexo 17. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **120**.



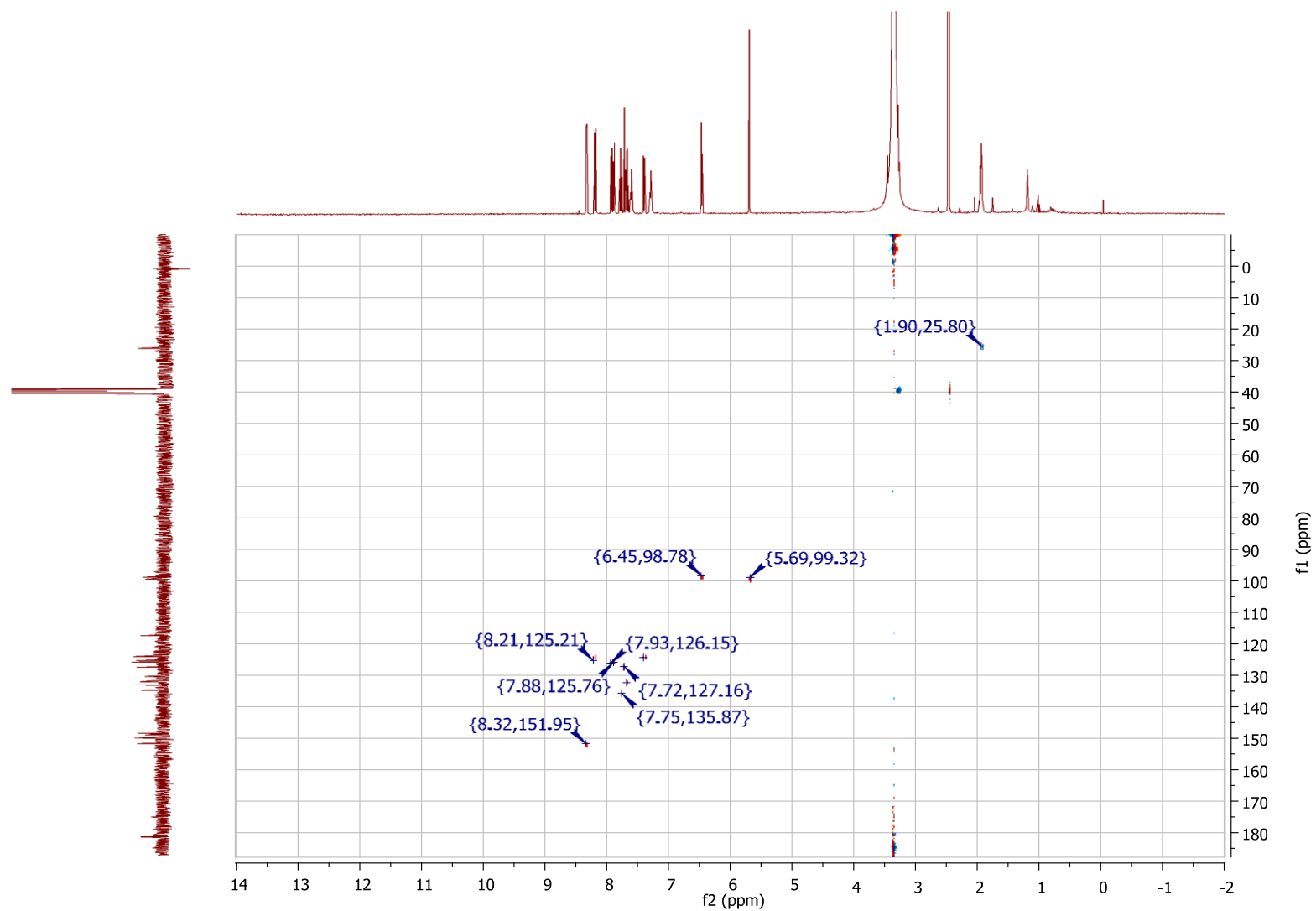
Anexo 18. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 120.



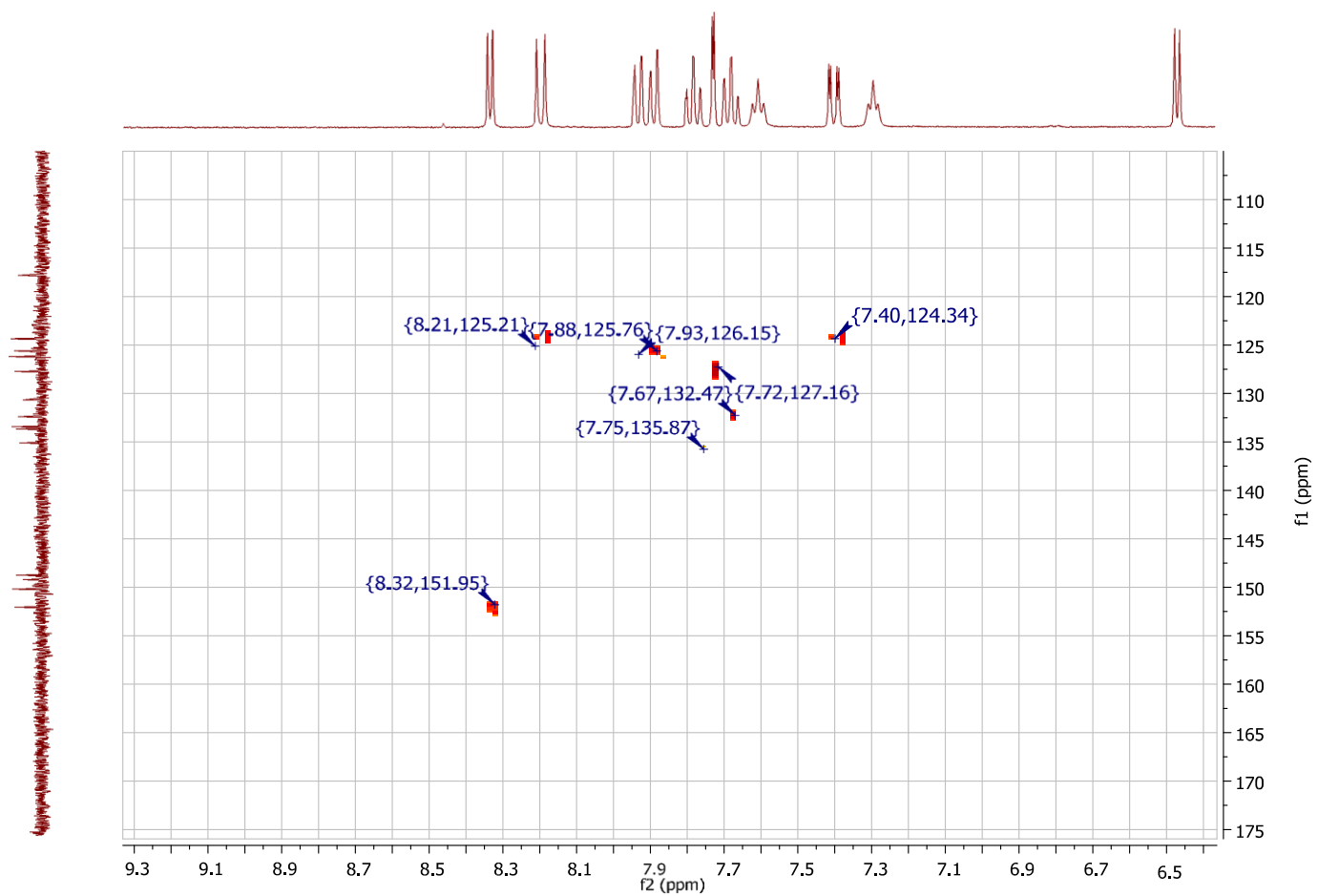
Anexo 19. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 120.



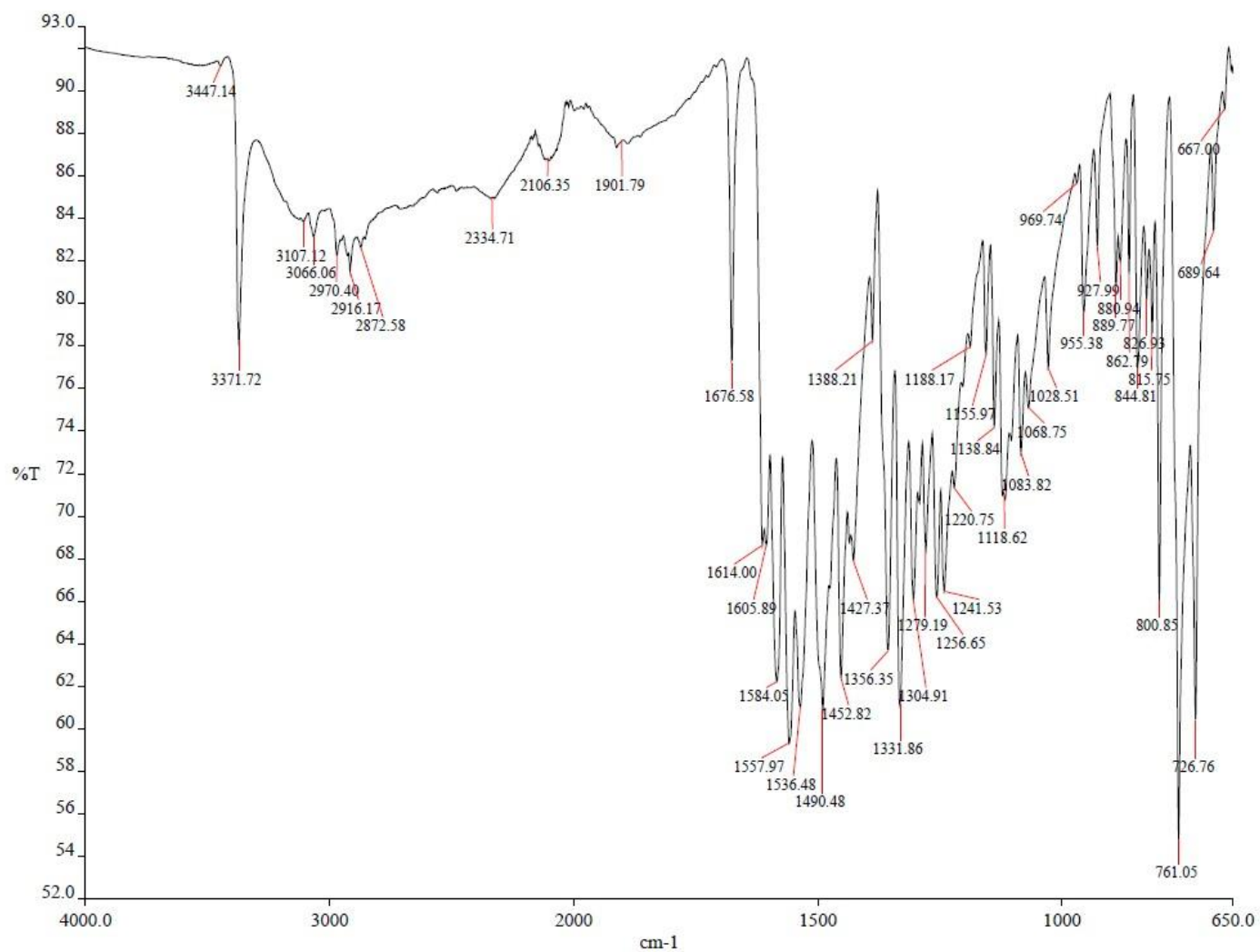
Anexo 20. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^{13}C do composto **120**.



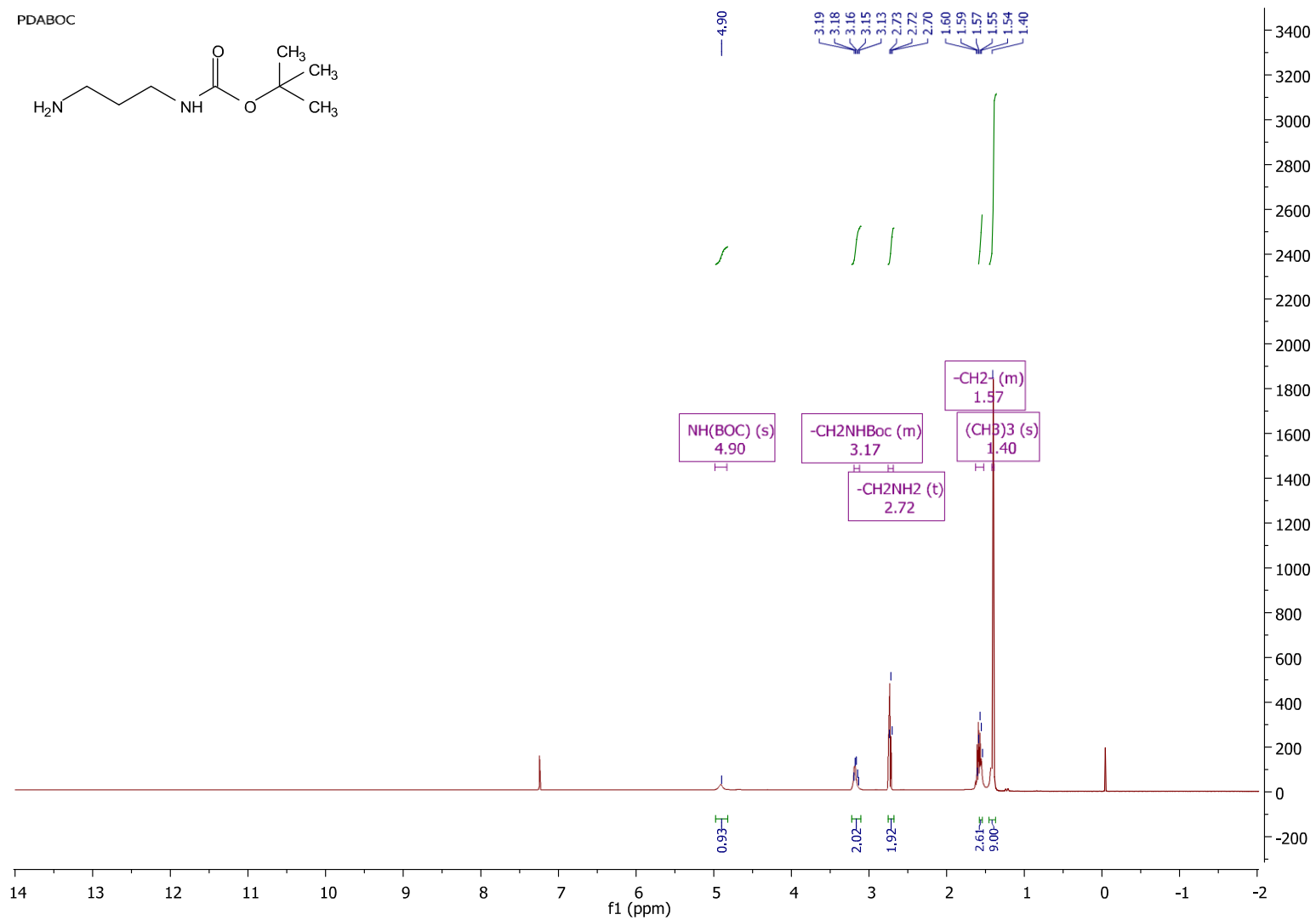
Anexo 21. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 120.



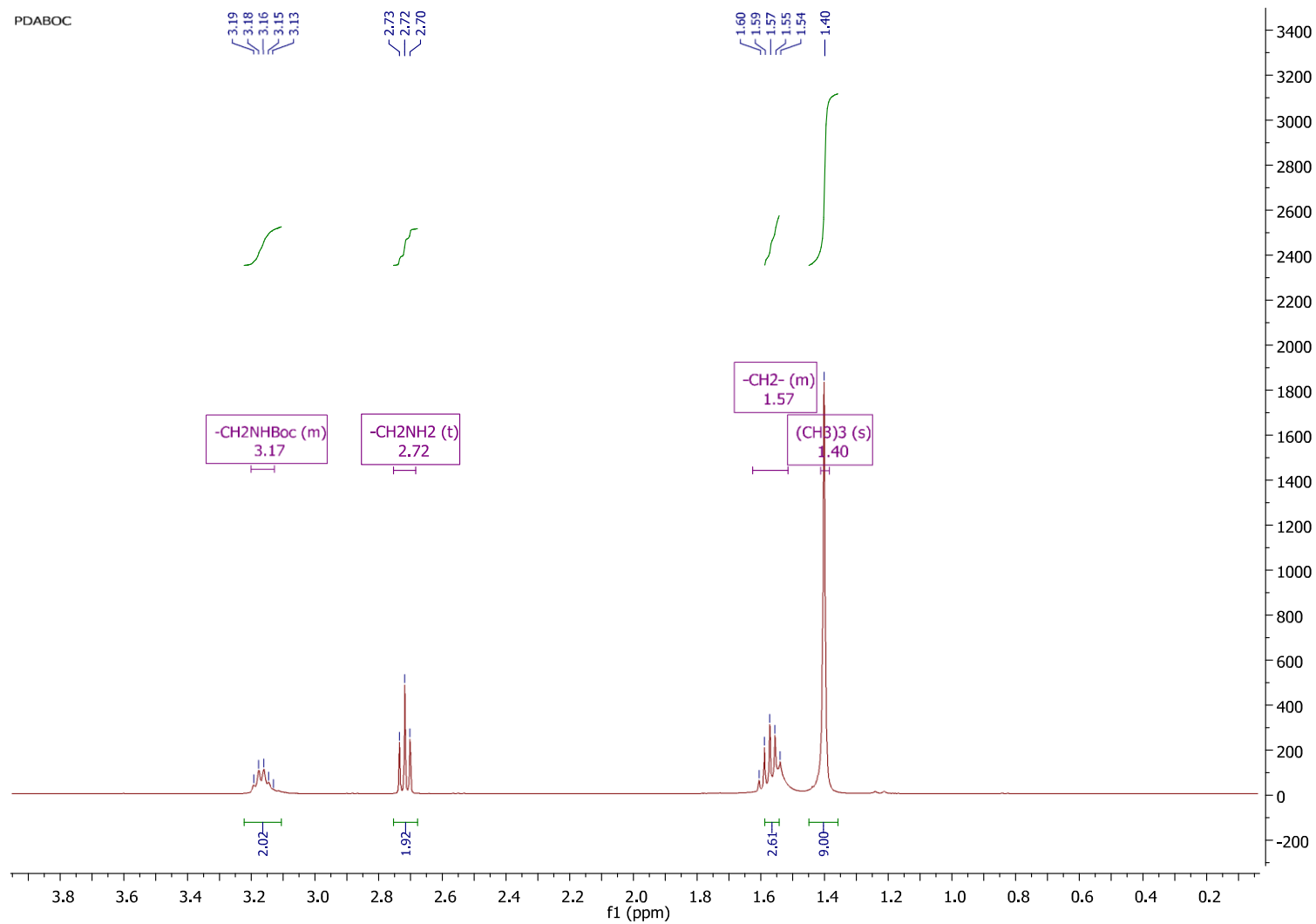
Anexo 22. Expansão da região aromática do mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto **120**.



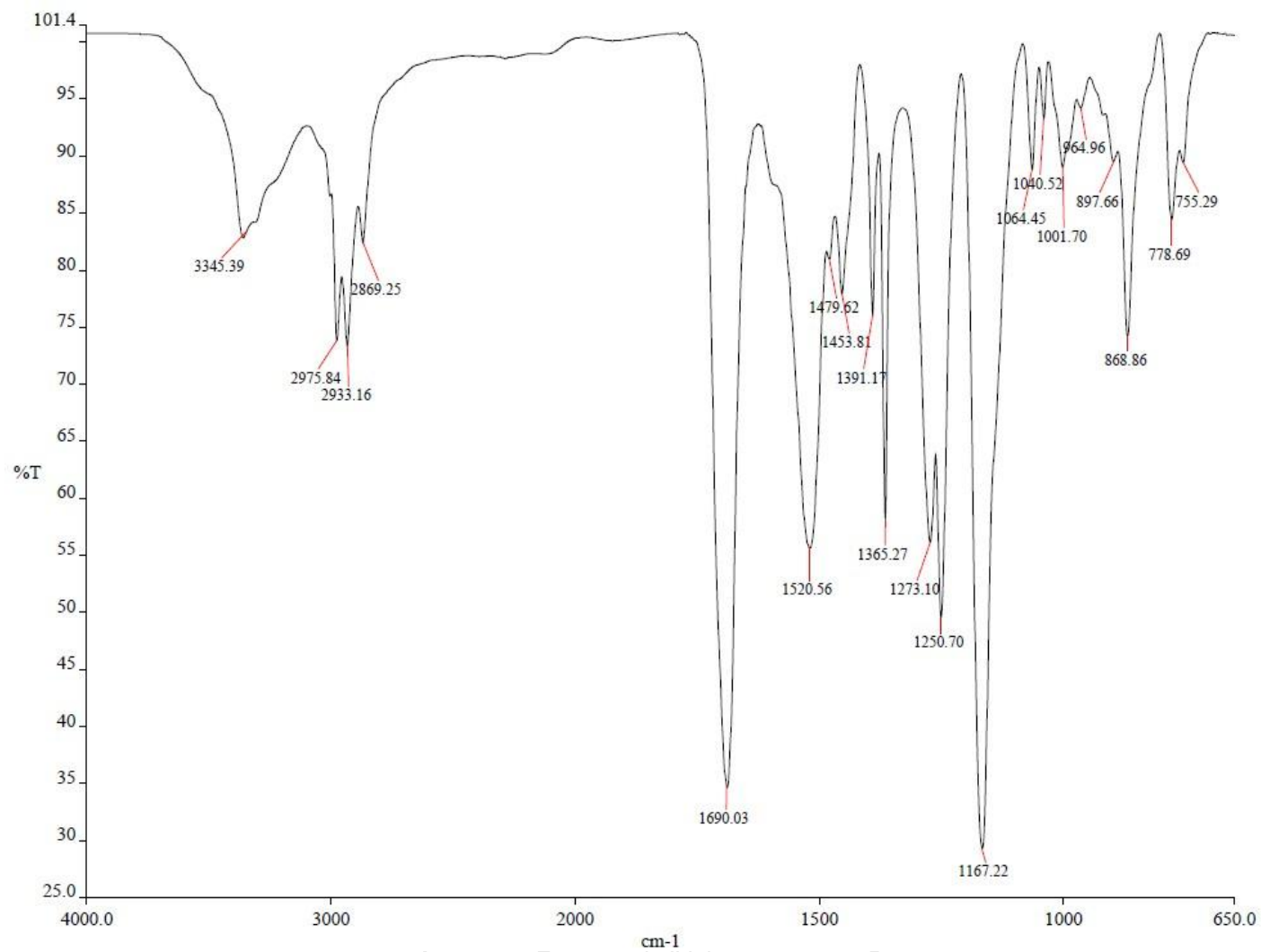
Anexo 23. Espectro de IV do composto 120.



Anexo 24. Espectro de RMN de ¹H do composto 135.



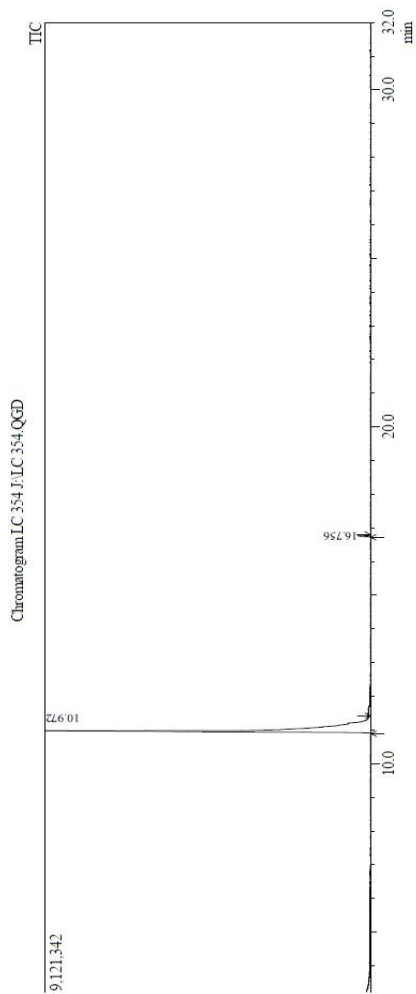
Anexo 25. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 135.



Anexo 26. Espectro de IV do composto 135.

Sample Information

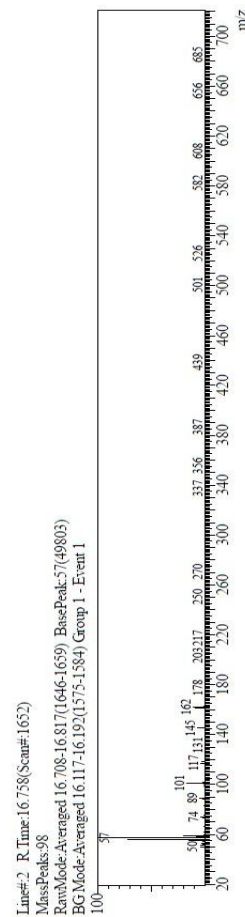
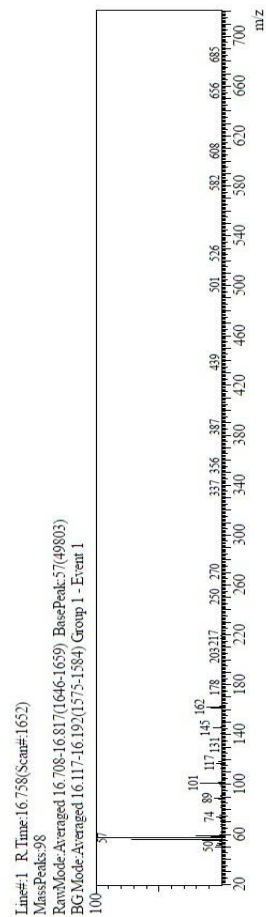
Analyzed by : Adnan
 Analyzed : 16/07/2015 09:25:24
 Sample Type : Unknown
 Level # : 1
 Sample Name : LC 354
 Sample ID : LC 354
 IS Amount : [1]=1
 Sample Amount : 1
 Dilution Factor : 1
 Vial # : 1
 Injection Volume : 1.00
 Data File : F:\LC 354.QGD
 Orig Data File : C:\GCMSolution\Data Sandro Rodolfo LC 354.QGD
 Method File : C:\GCMSolution\Data Sandro Rodolfo Tranzmana.qgm
 Orig Method File : C:\GCMSolution\Data Sandro Rodolfo Tranzmana.qgm
 Report File :
 Tuning File :
 [Comment]
 DECAV15



Peak Report: TIC

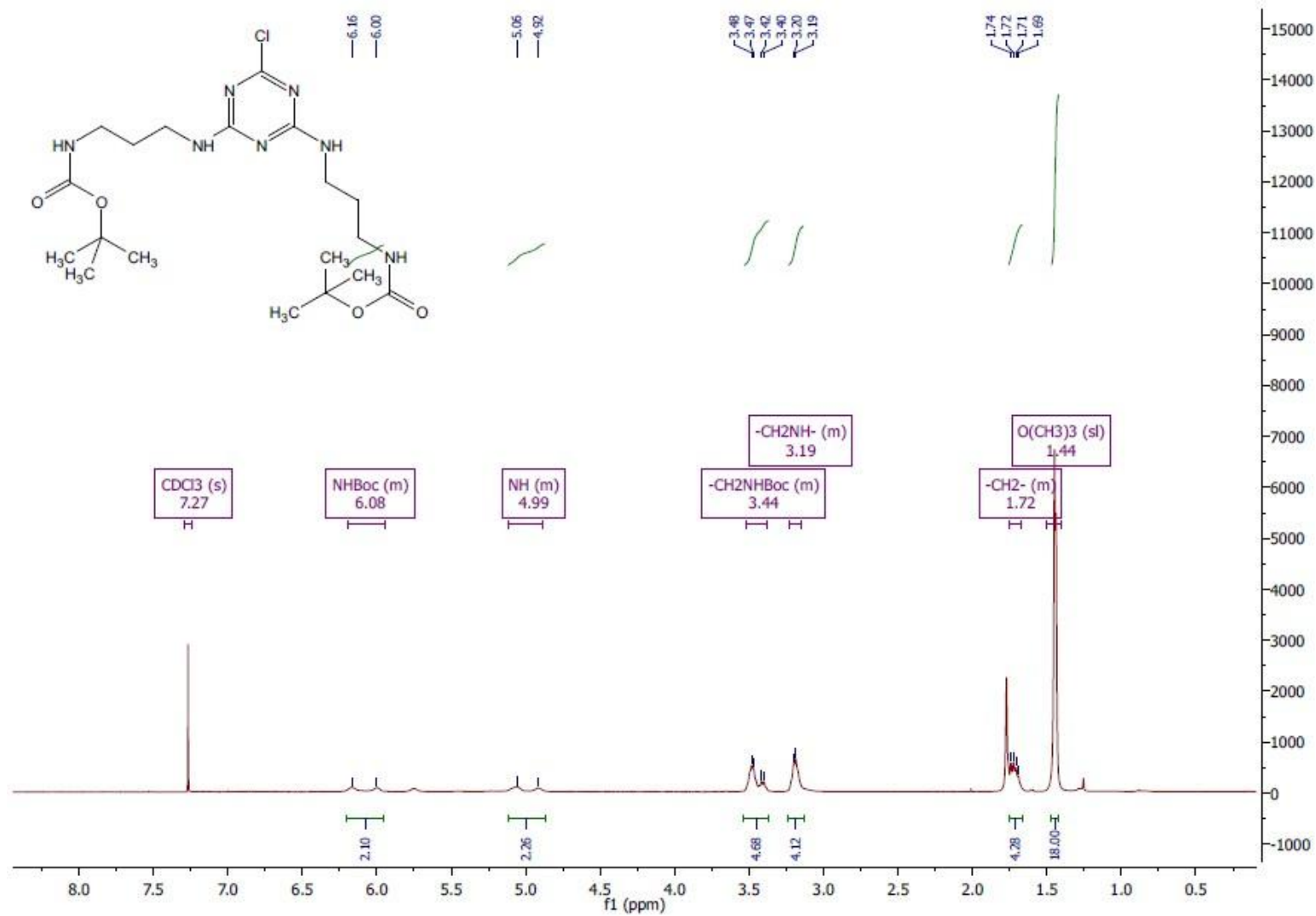
Peak#	R. Time	I. Time	F. Time	Area	Area%	Height	Height%	A.H	Mark	Name
1	10.972	10.892	11.425	84513038	98.77	19106796	96.31	4.42	MI	
2	16.756	16.725	16.800	1049929	1.23	731034	3.69	1.44	MI	Propane, 1-(ethenylloxy)-2-nit
				85562967	100.00	19837830	100.00			

Spectrum

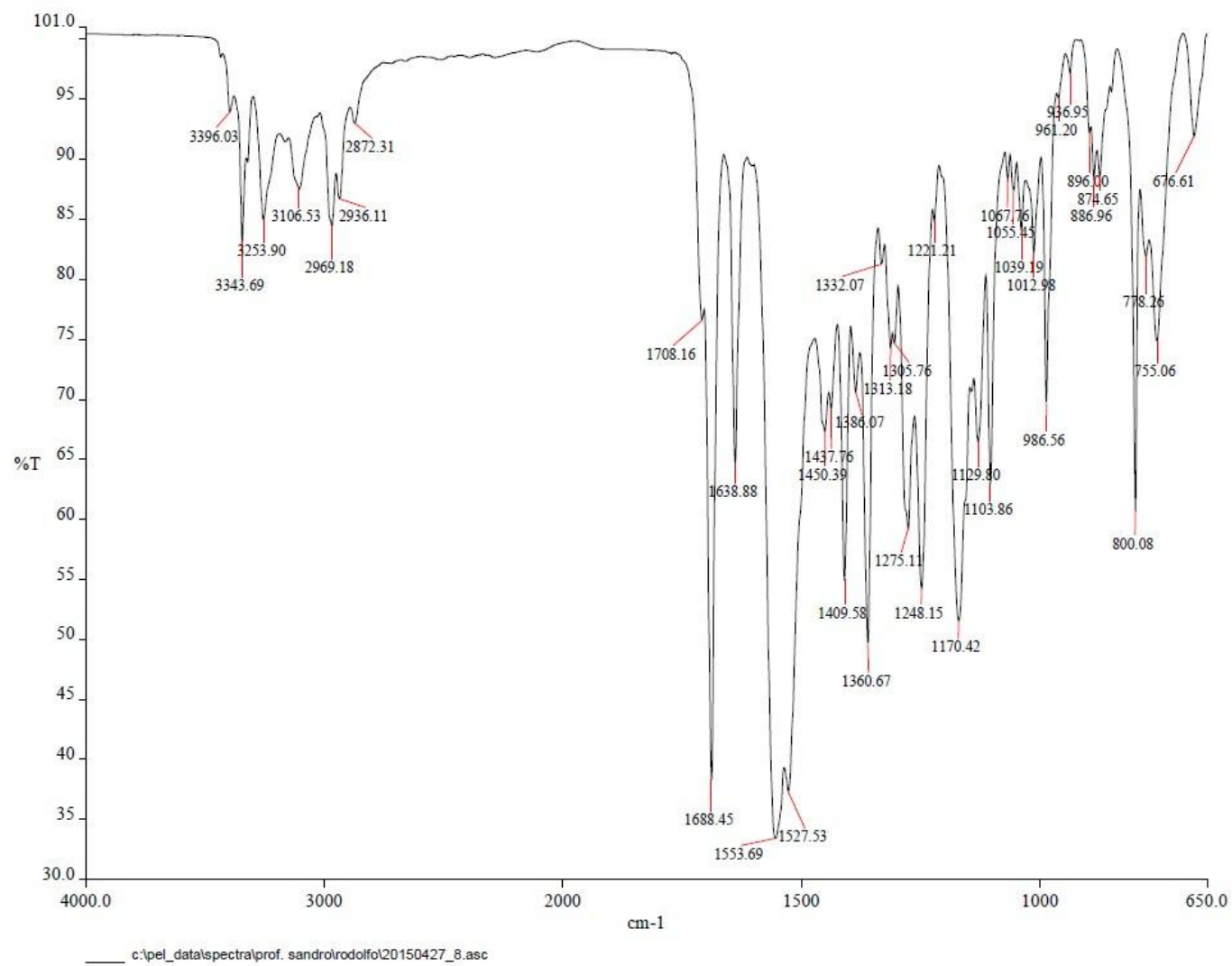


Library

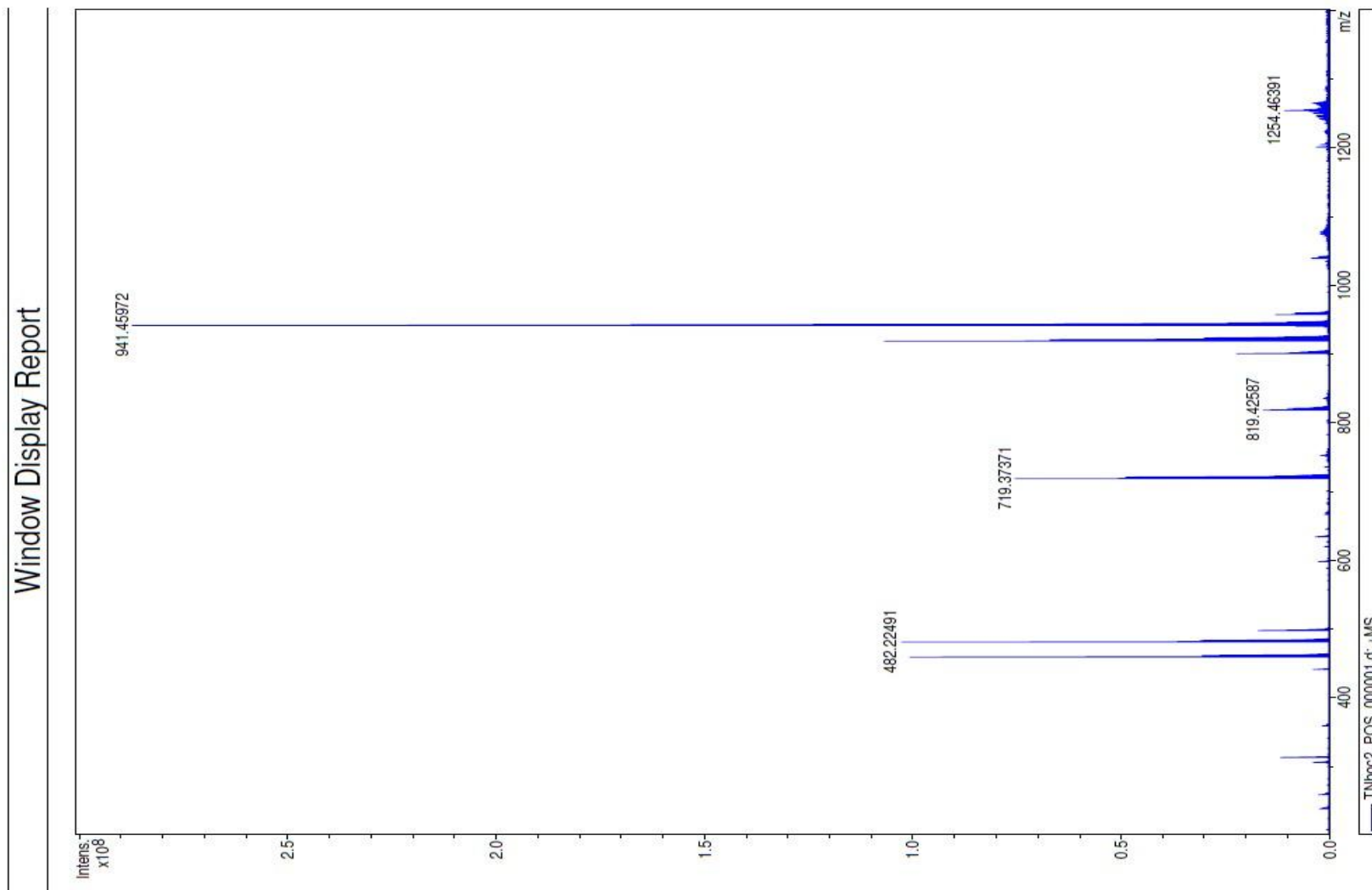
Anexo 27. Cromatograma gasoso e espectro de massas obtido para o produto 135.



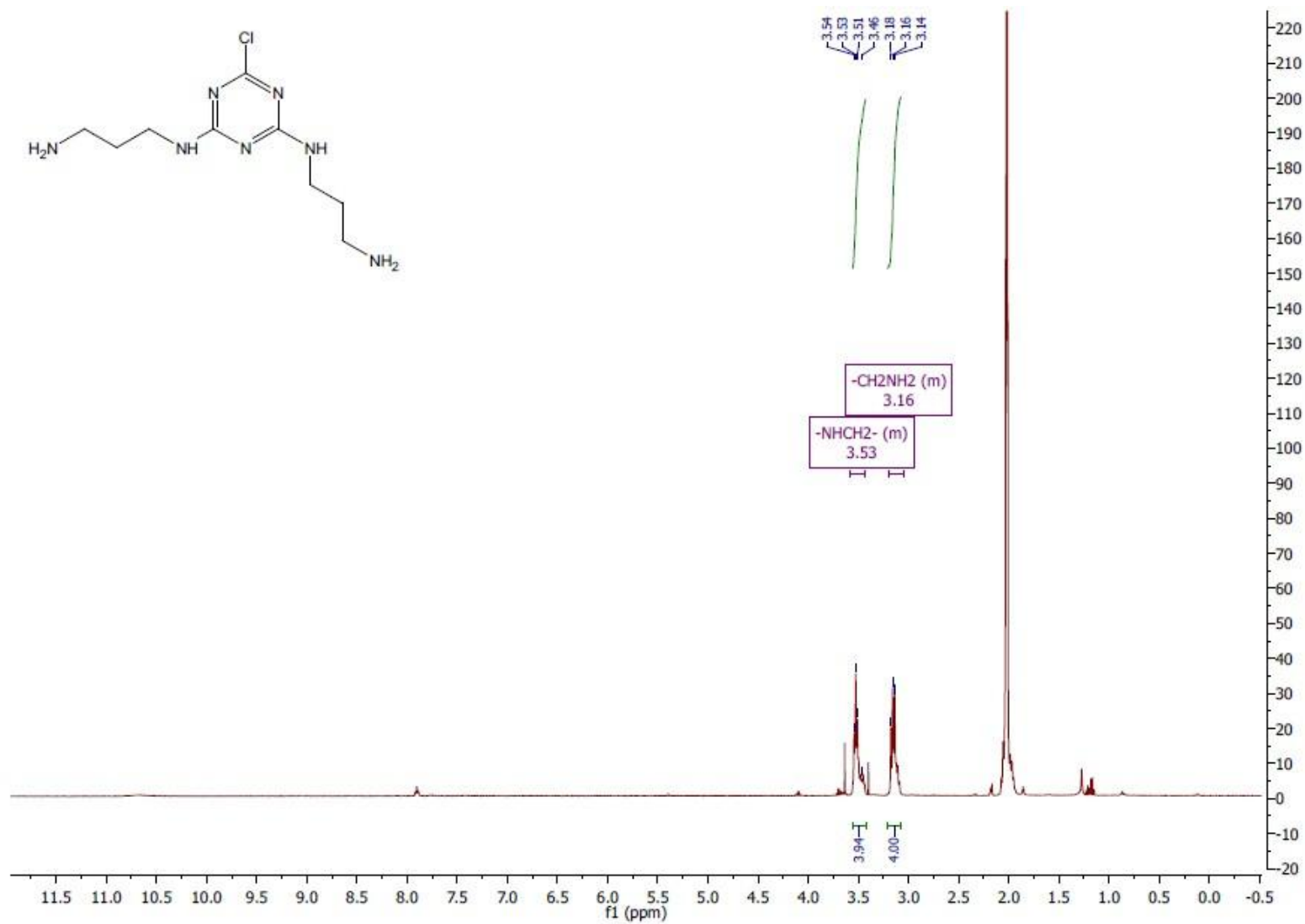
Anexo 28. Espectro de RMN de ¹H do composto 136.



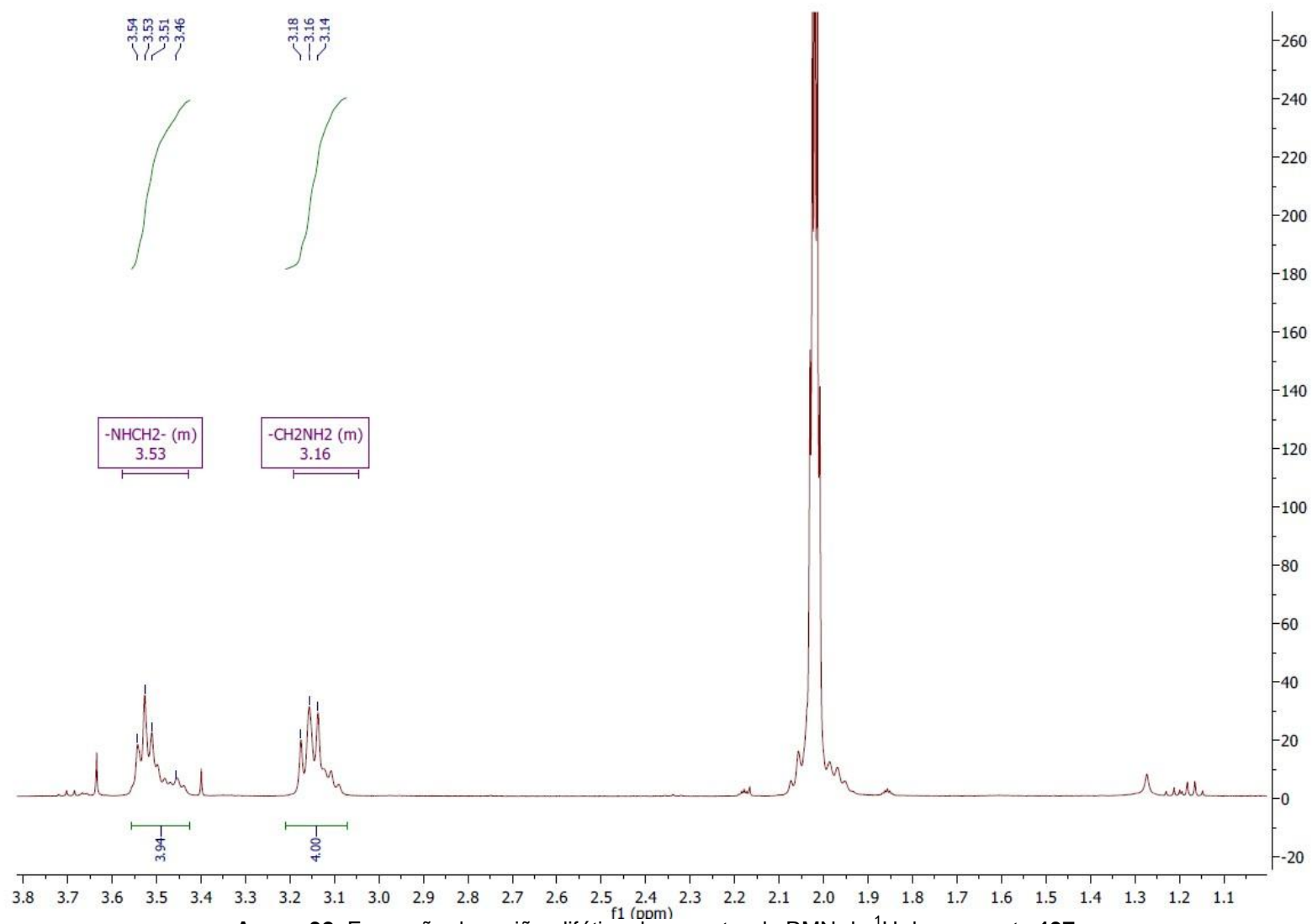
Anexo 29. Espectro de IV do composto 136.



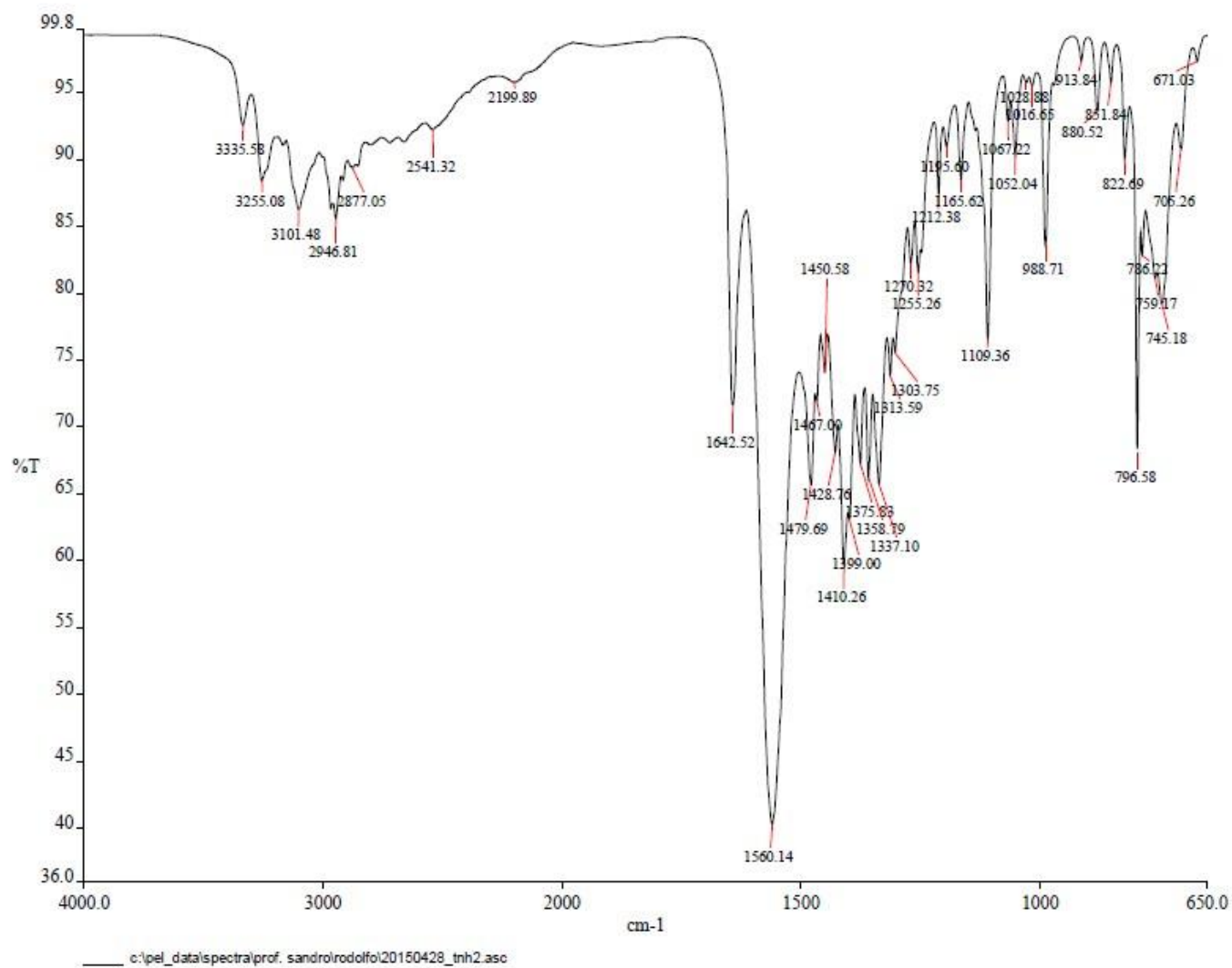
Anexo 30. Espectro de massas do composto **136** (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).



Anexo 31. Espectro de RMN de ^1H do composto 137.

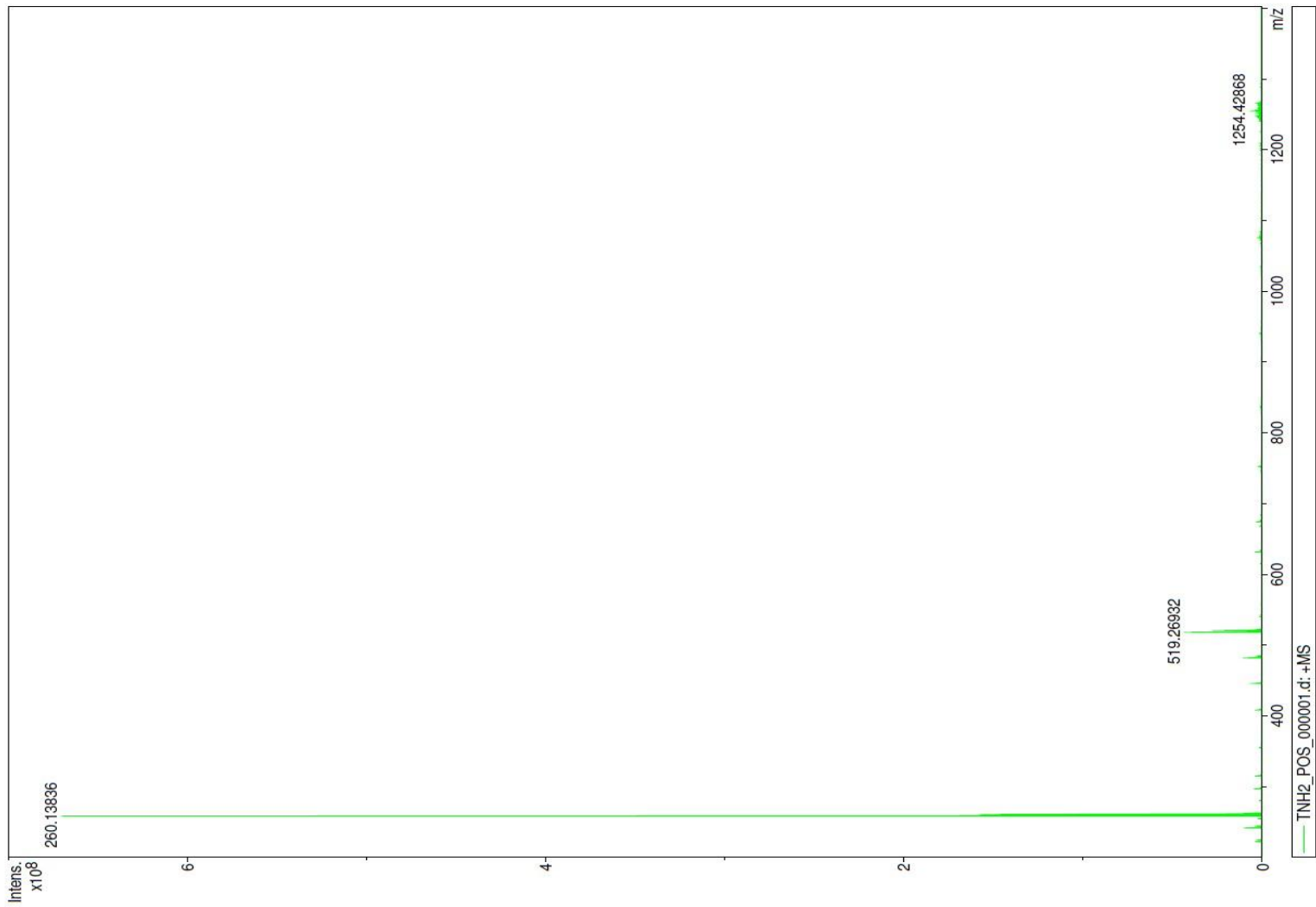


Anexo 32. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 137.

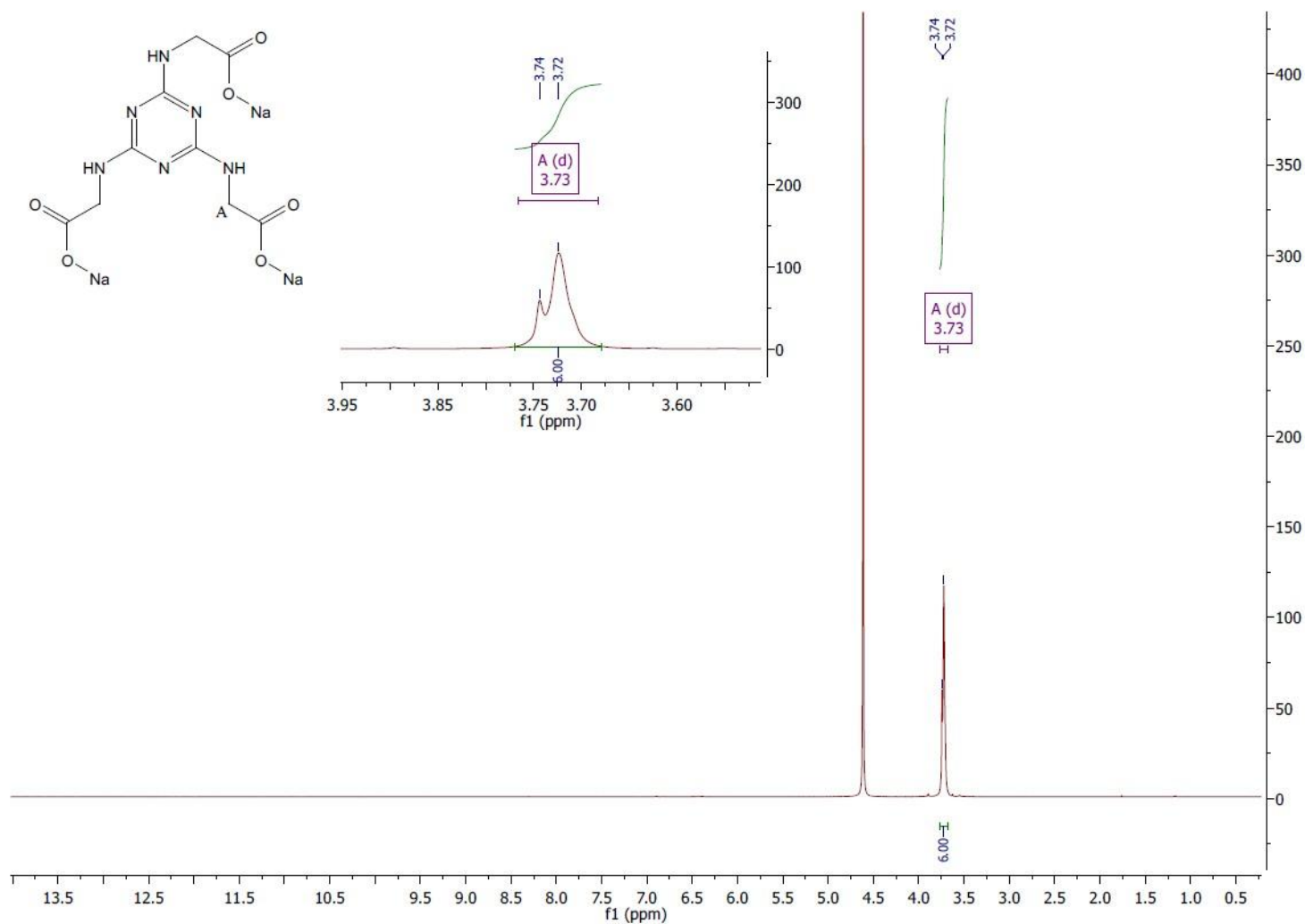


Anexo 33. Espectro de IV do composto 137.

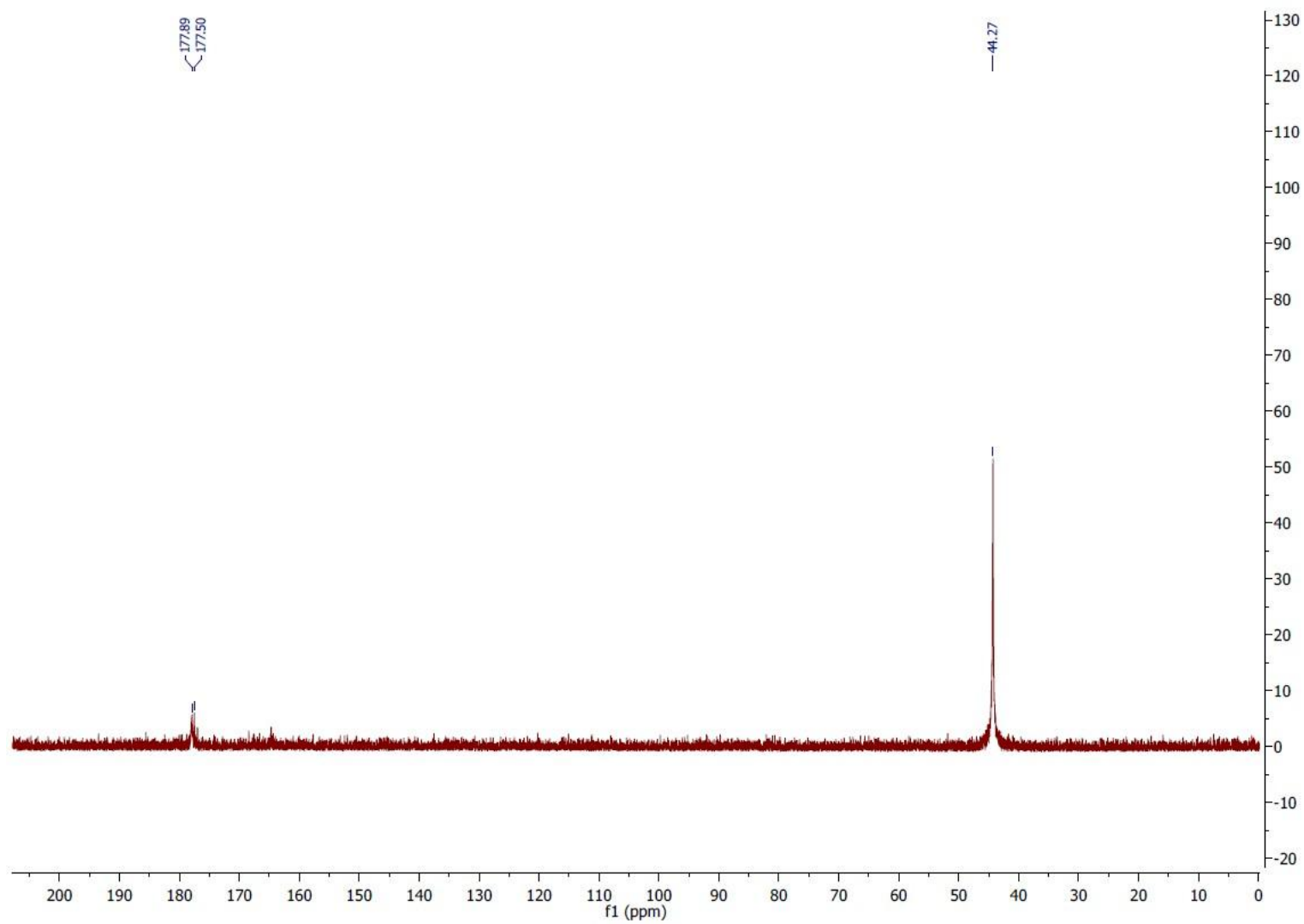
Window Display Report



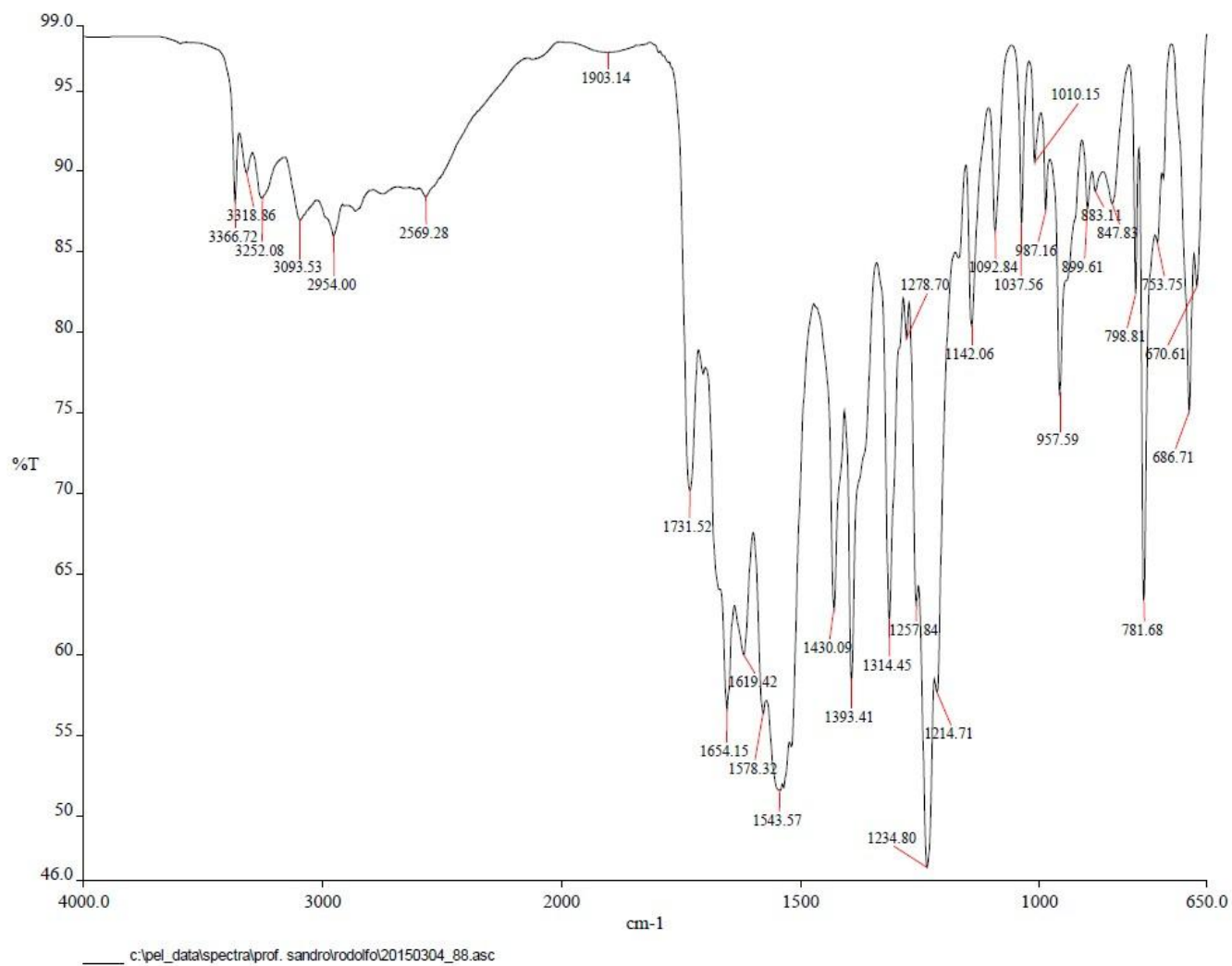
Anexo 34. Espectro de massas do composto 137 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).



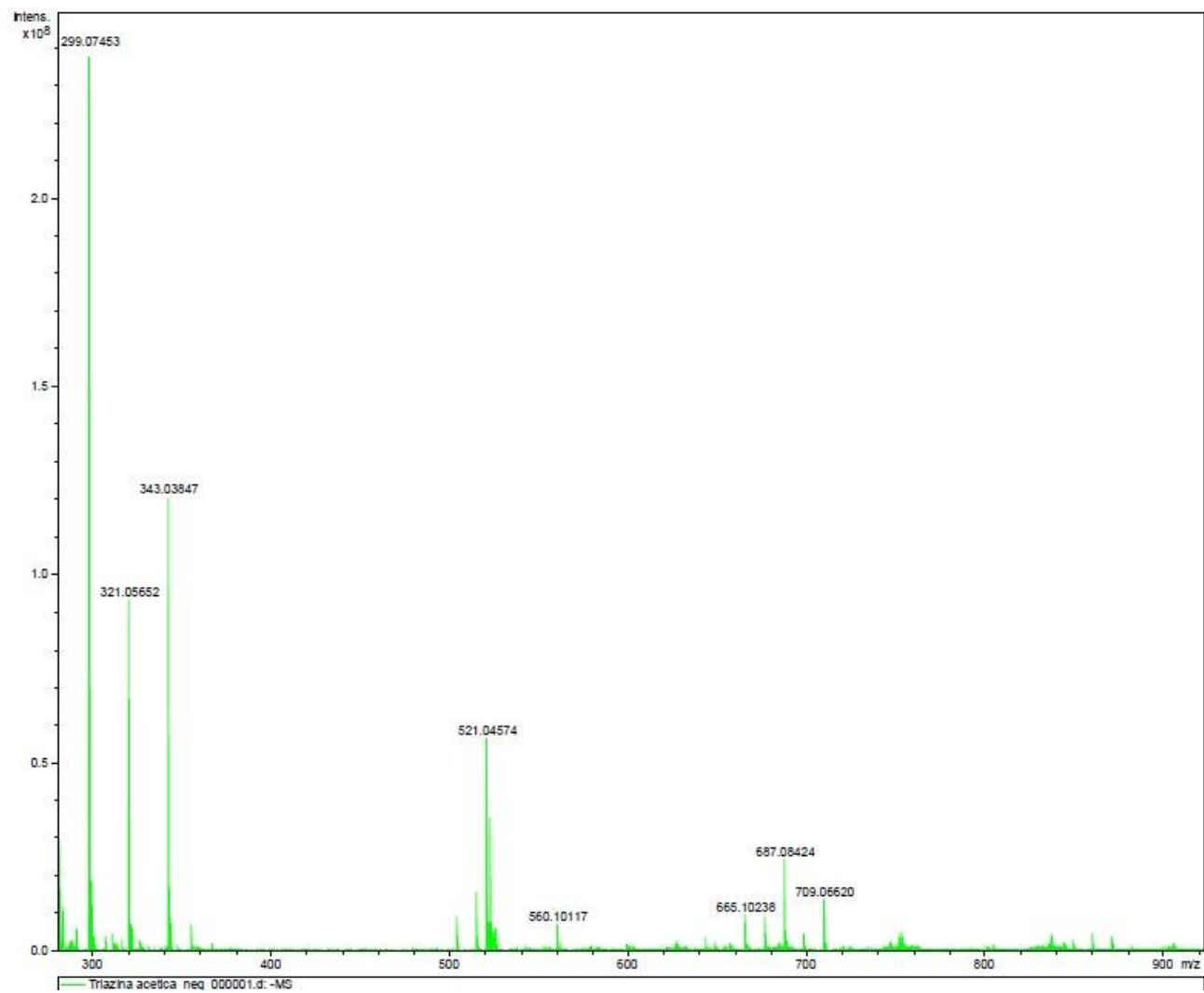
Anexo 35. Espectro de RMN de ^1H do sal sódico do composto 138.



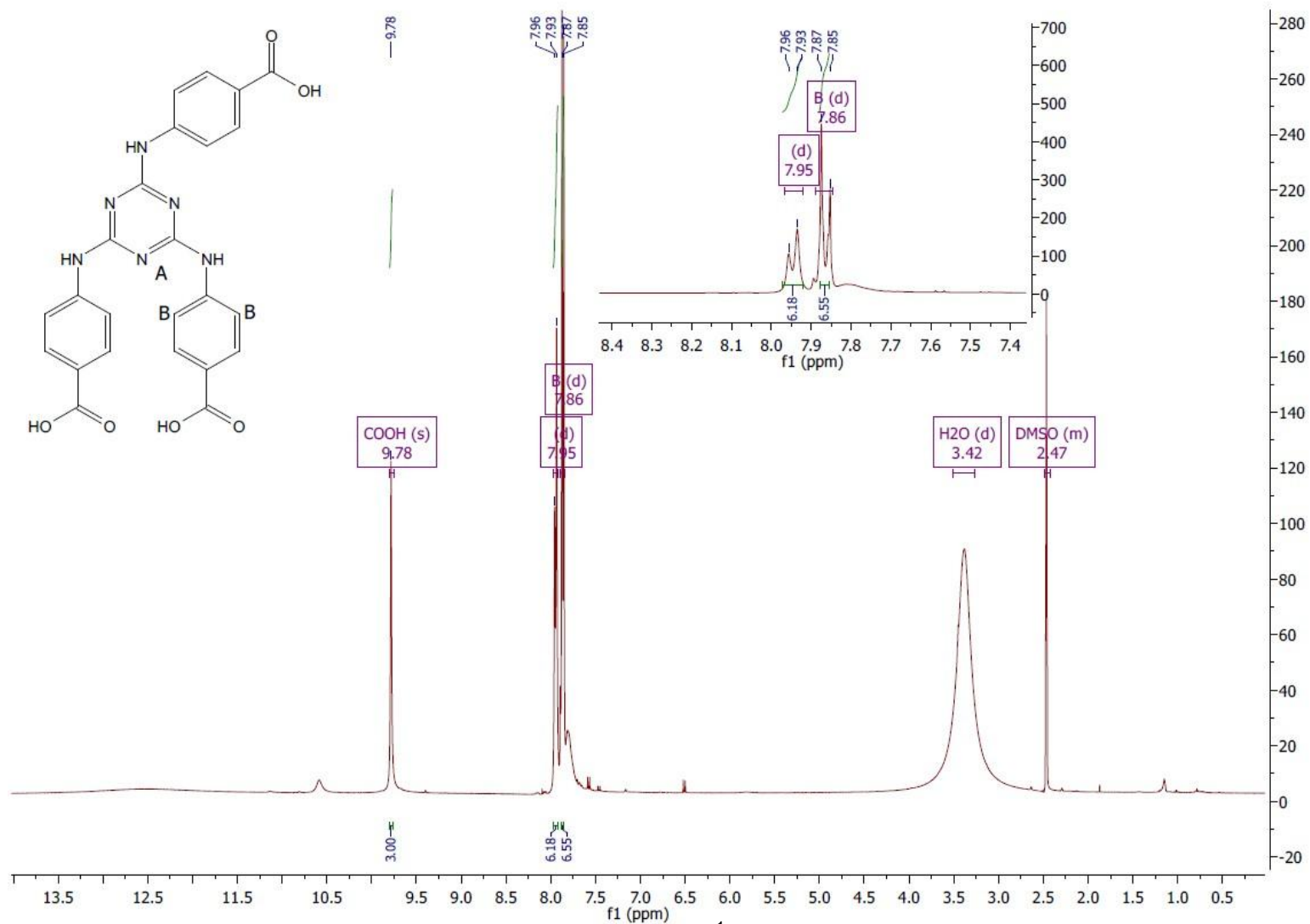
Anexo 36. Espectro de RMN de ^{13}C do sal sódico do composto 138.



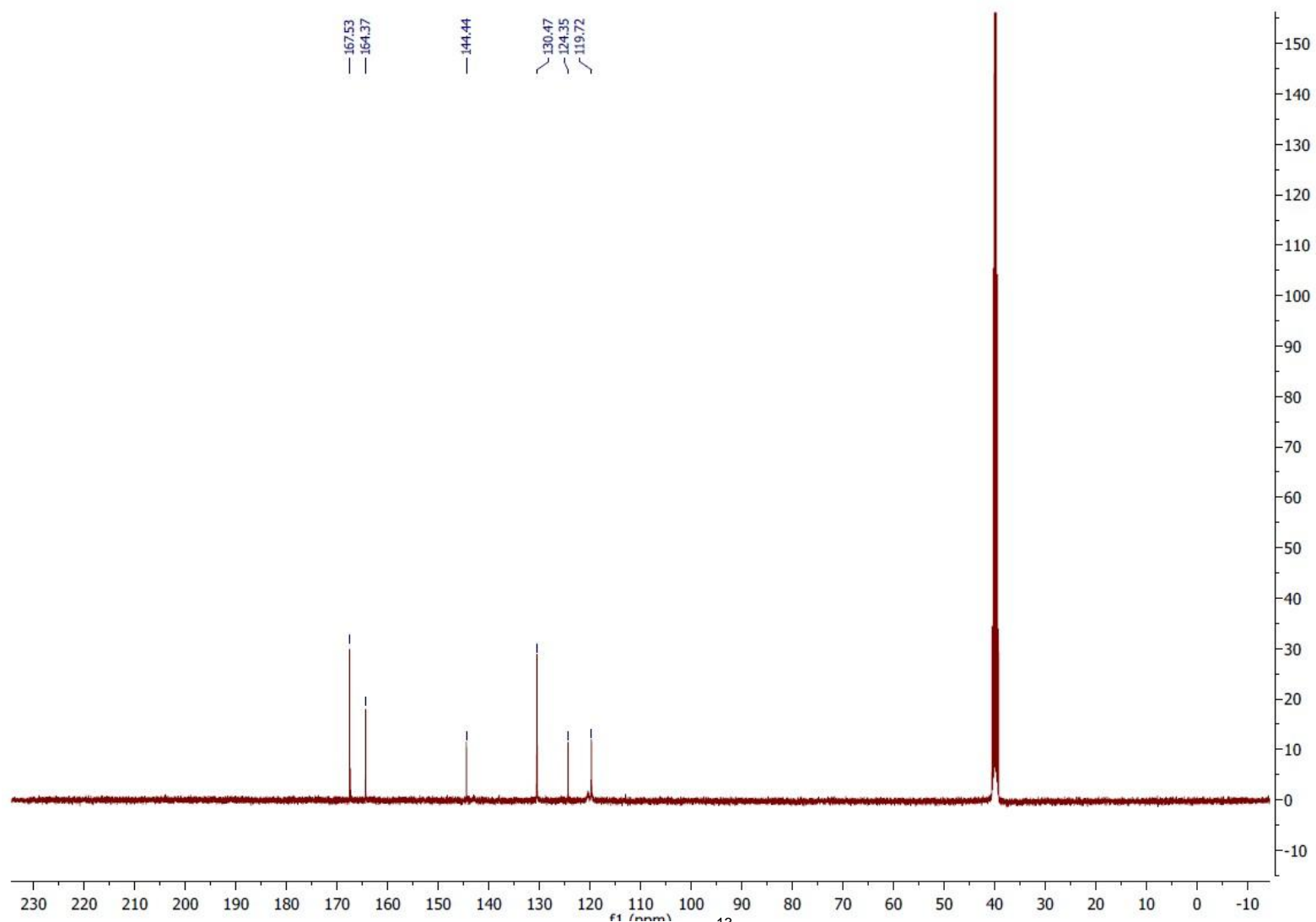
Anexo 37. Espectro de IV do composto **138**.



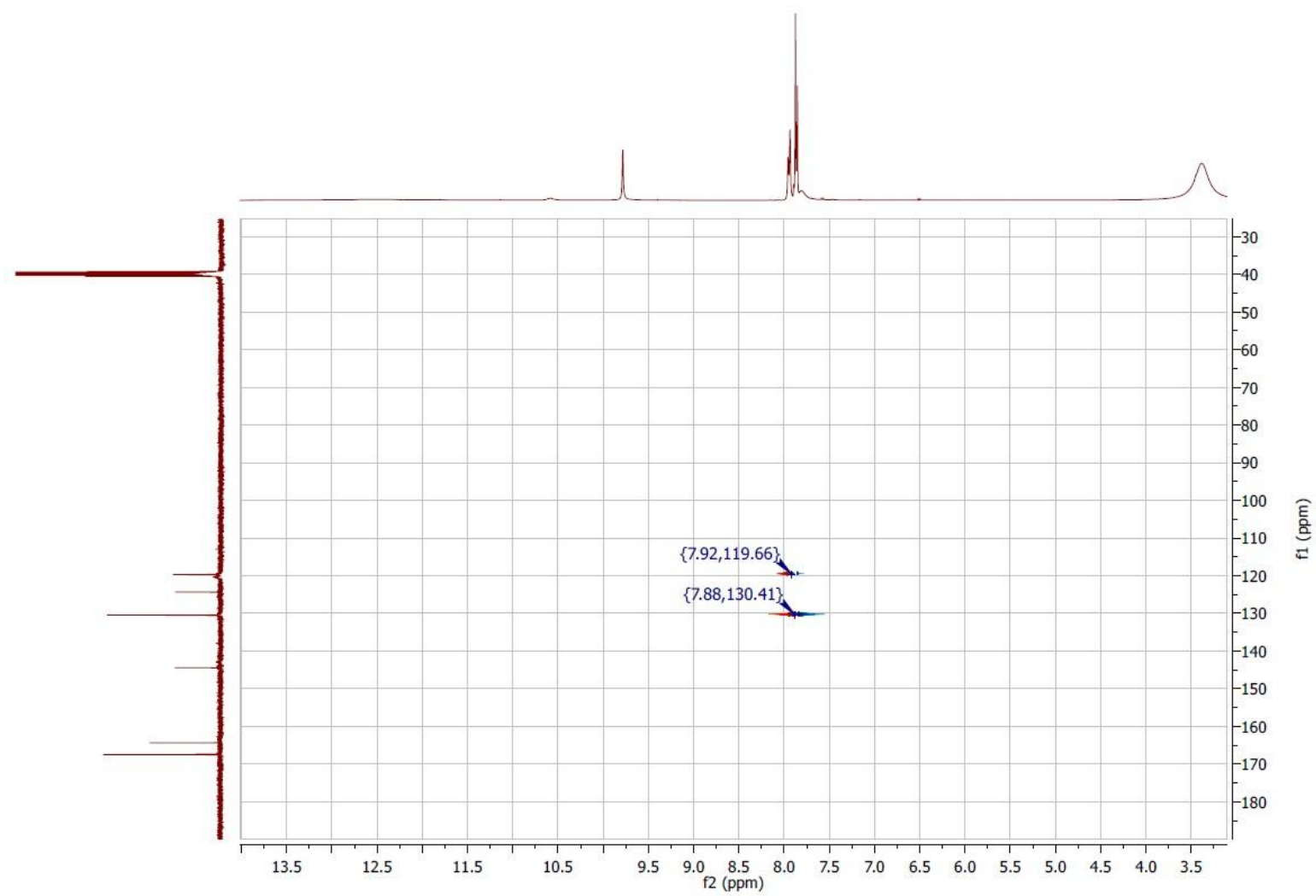
Anexo 38. Espectro de massas do composto **138** (ESI (-) FT-ICR MS, 9,4T).



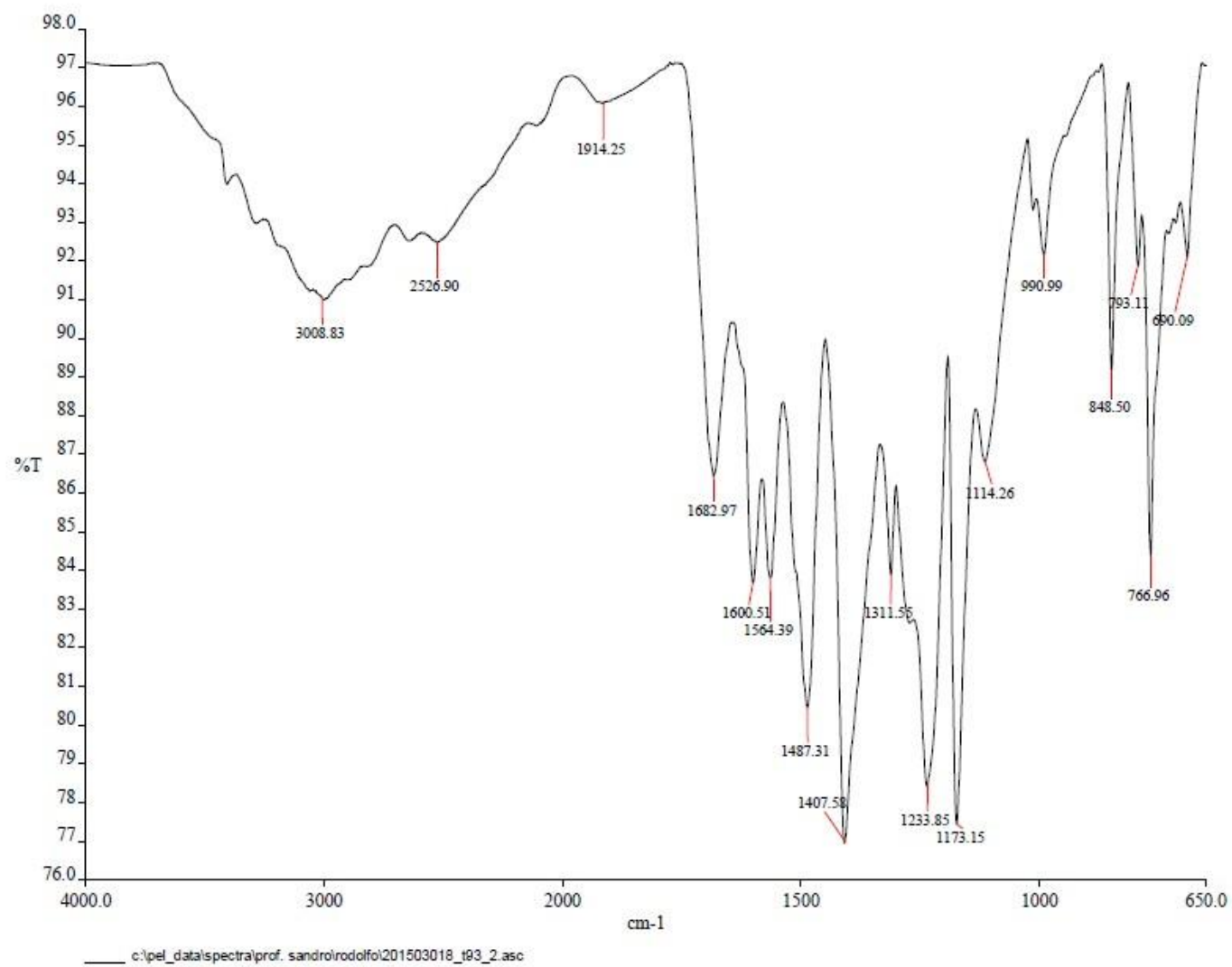
Anexo 39. Espectro de RMN de ^1H do composto 140.



Anexo 40. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 140.

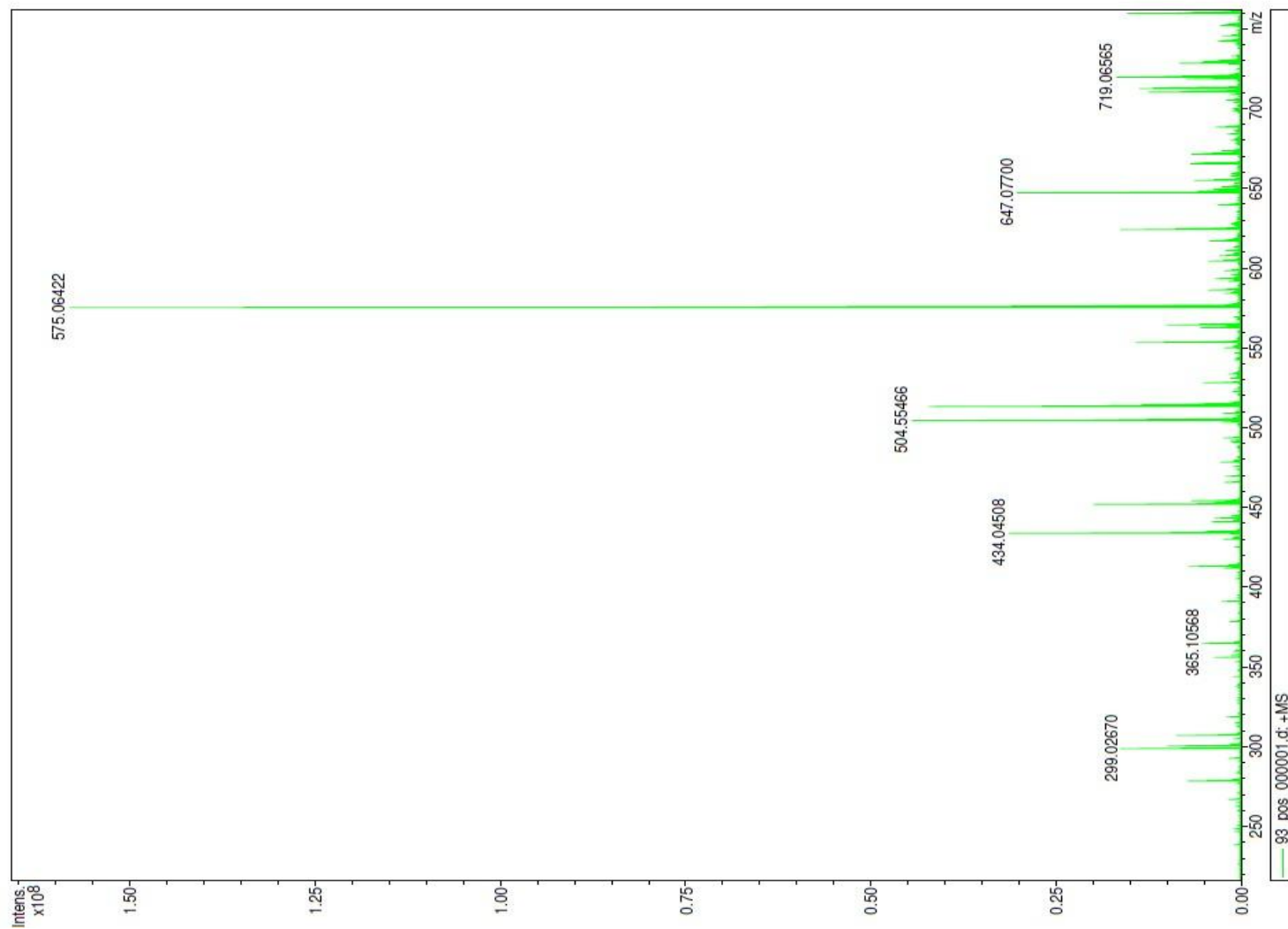


Anexo 41. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 140.

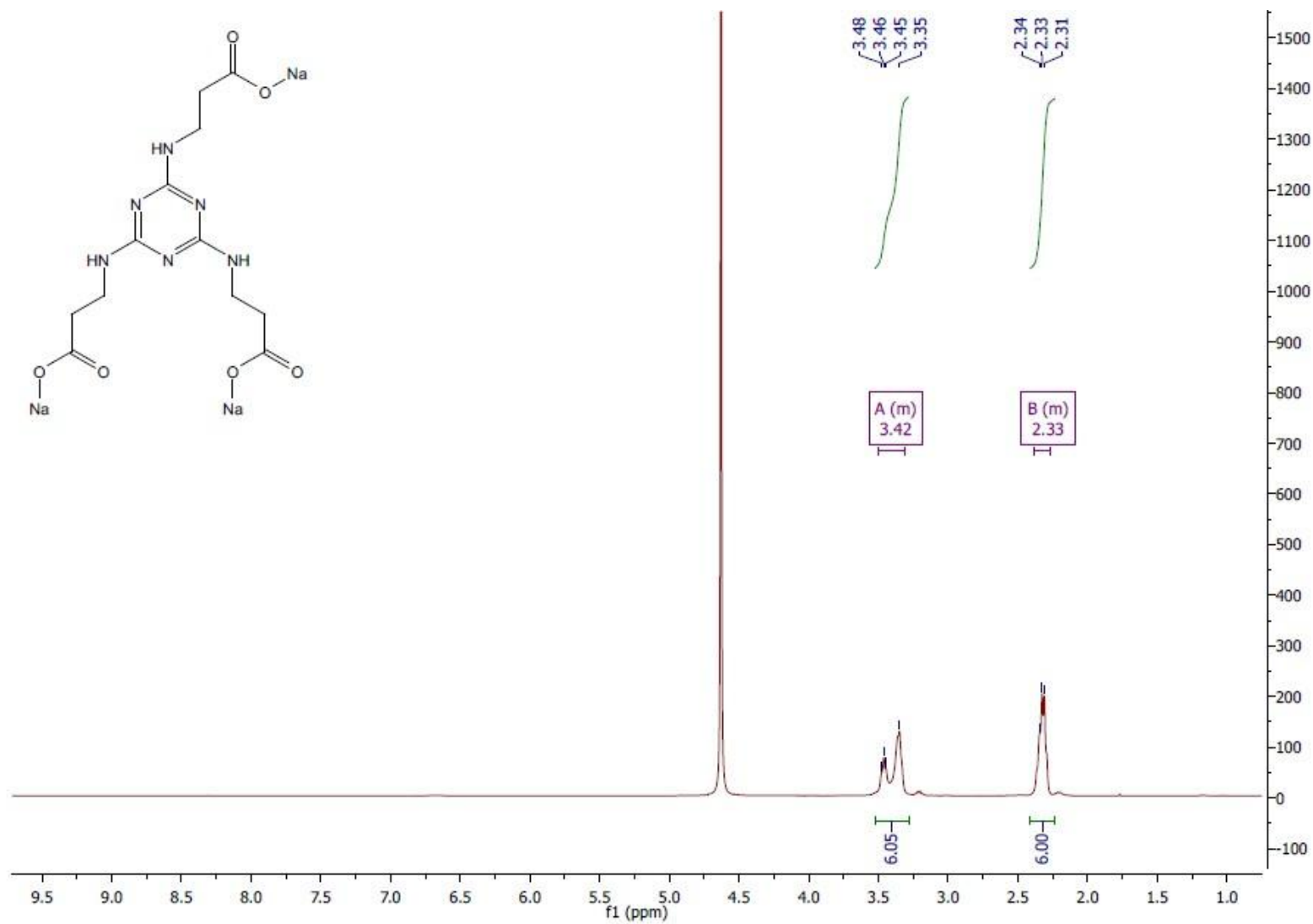


Anexo 42. Espectro de IV do composto **140**.

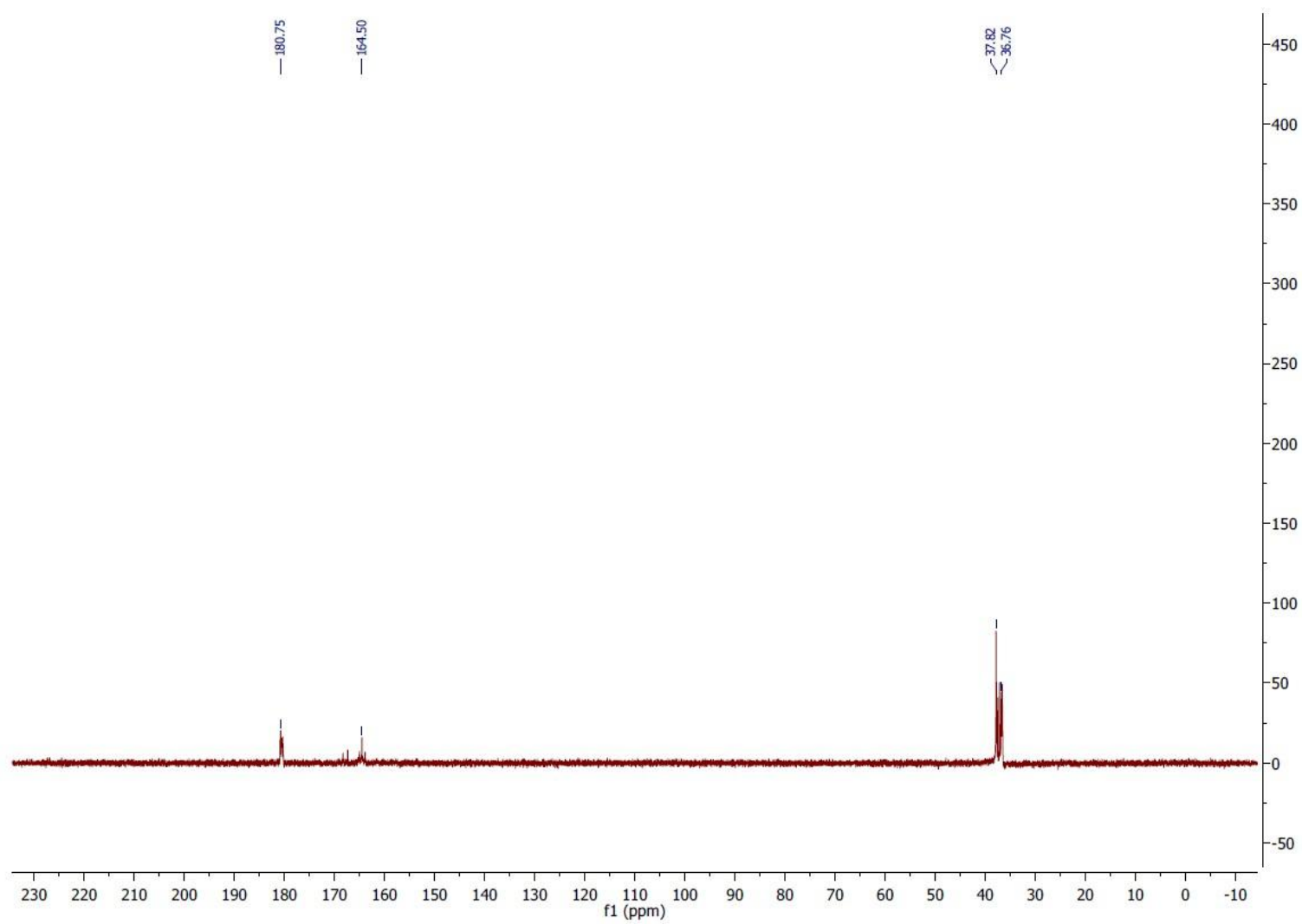
Window Display Report



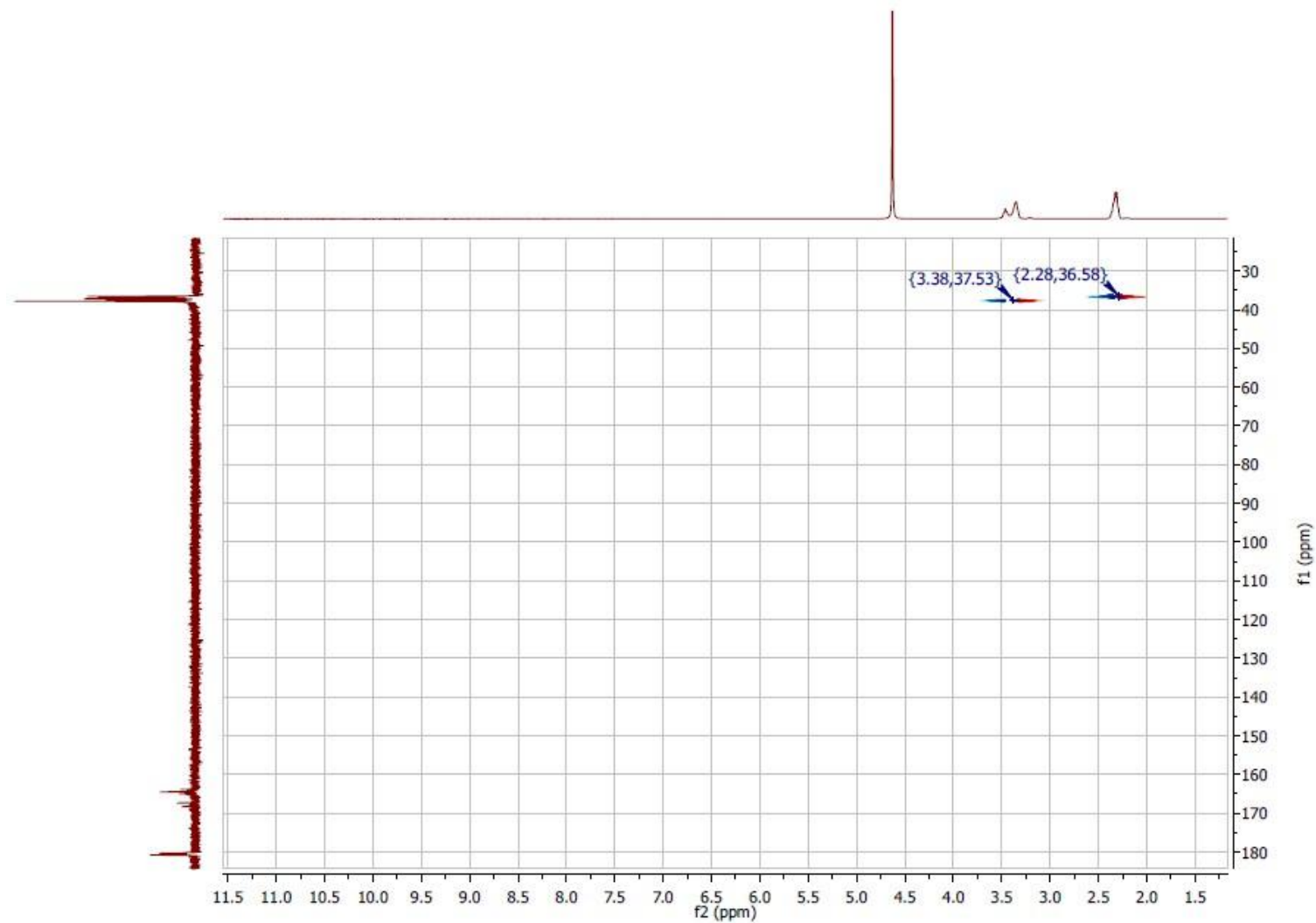
Anexo 43. Espectro de massas para o sal trissódico do composto 140 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).



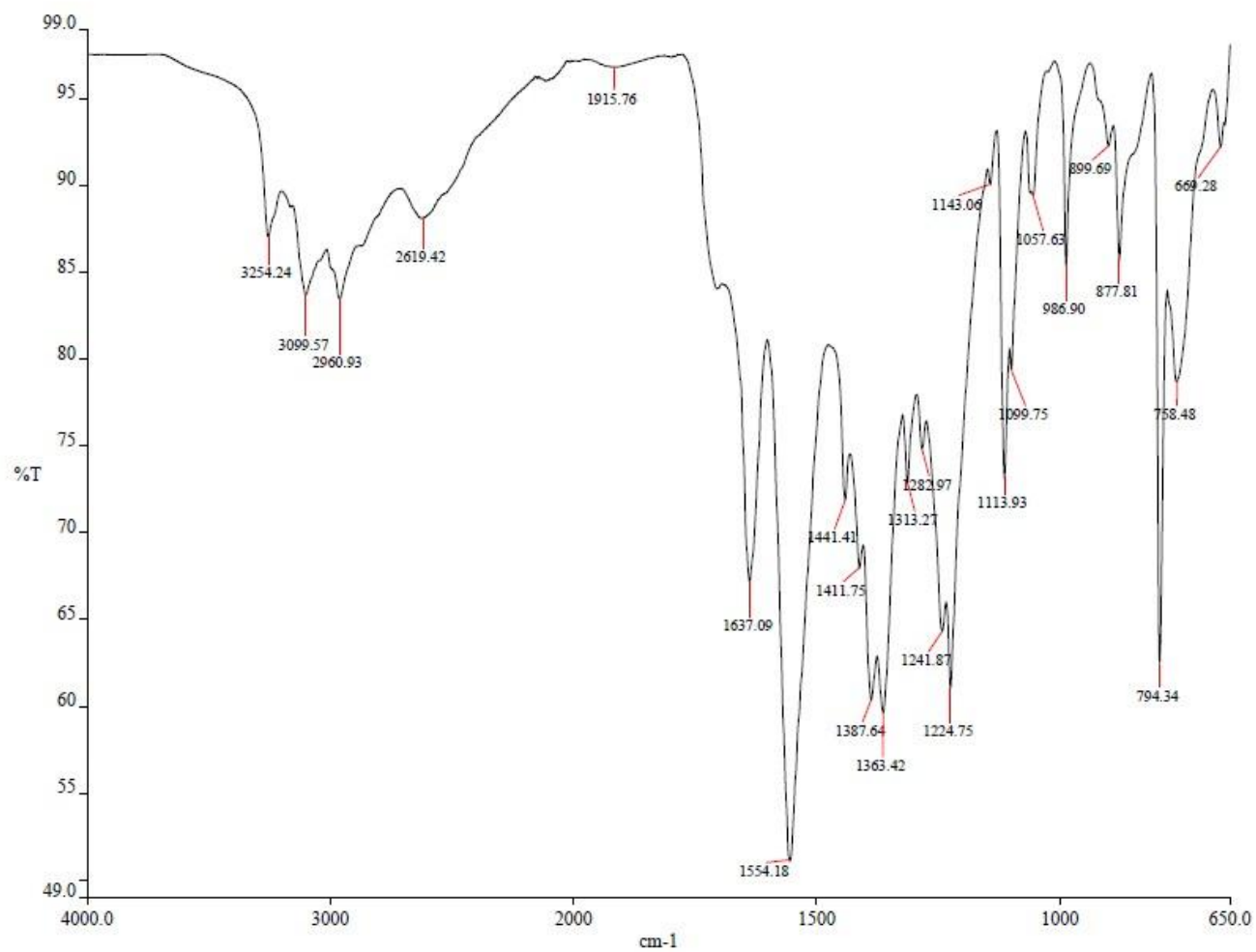
Anexo 44. Espectro de RMN de ^1H do sal sódico do composto 139.



Anexo 45. Espectro de RMN de ^{13}C do sal sódico do composto 139.

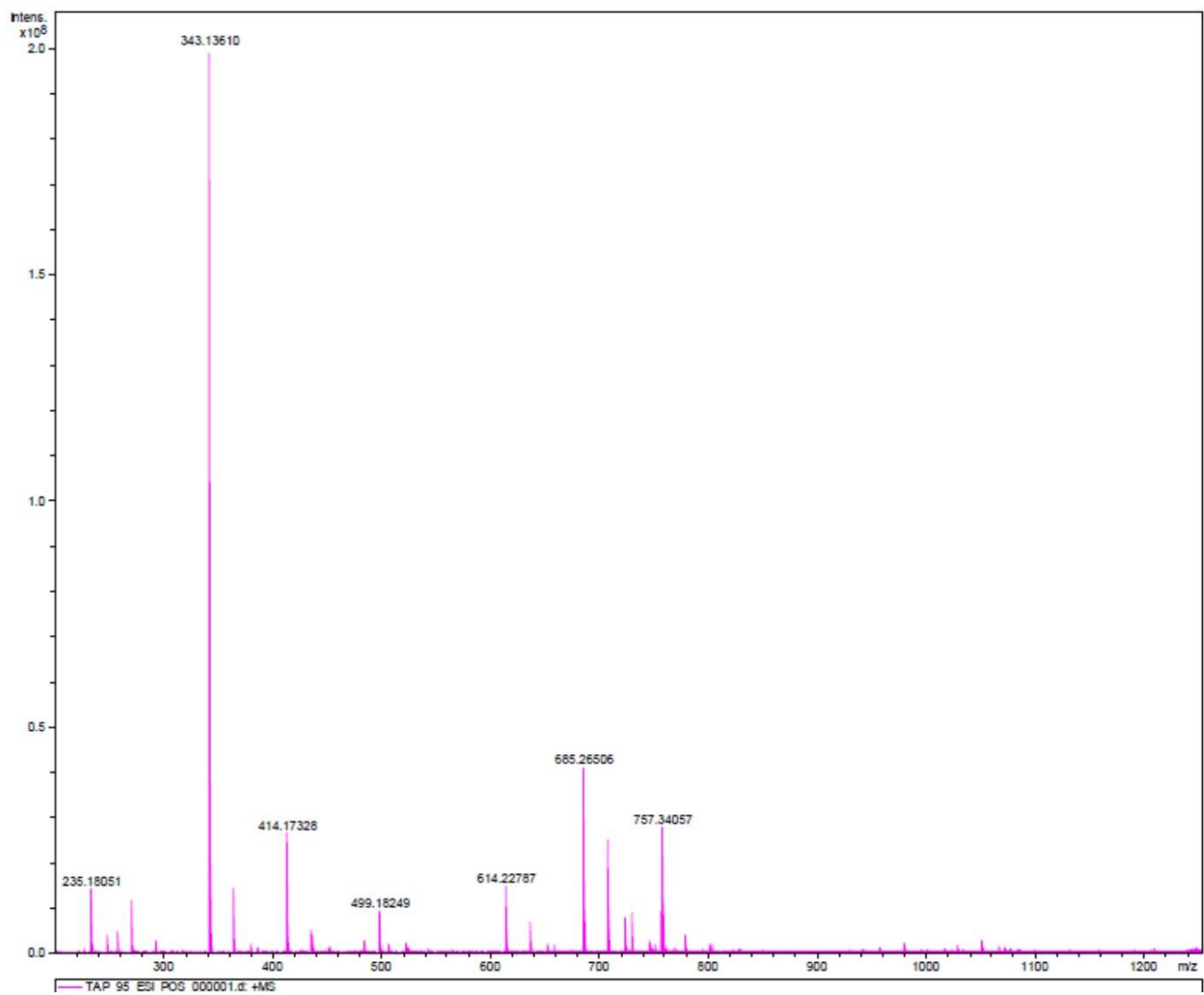


Anexo 46. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 139.

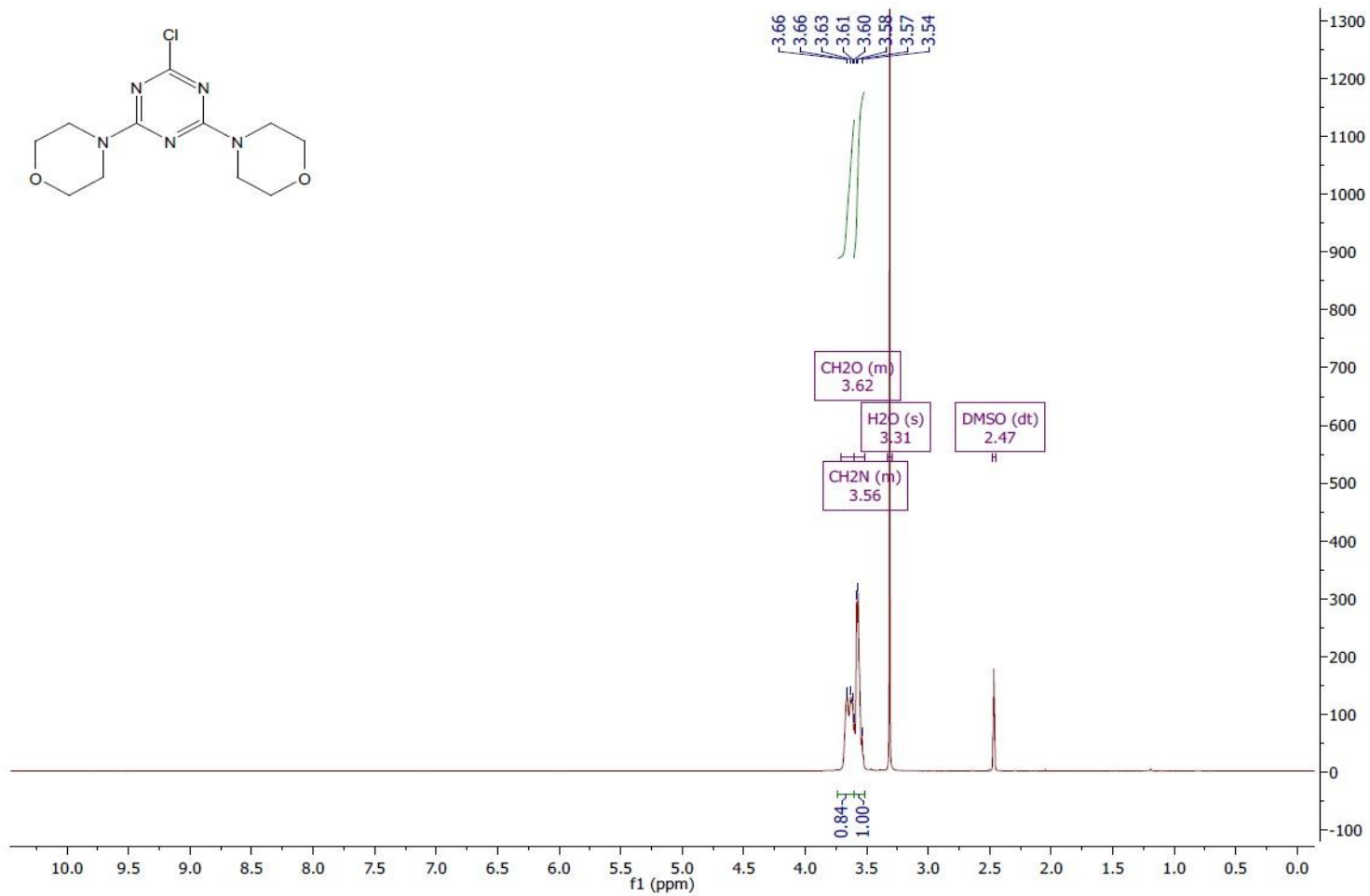


c:\pel_data\spectra\prof. sandro\rodolfo\201503018_195.asc

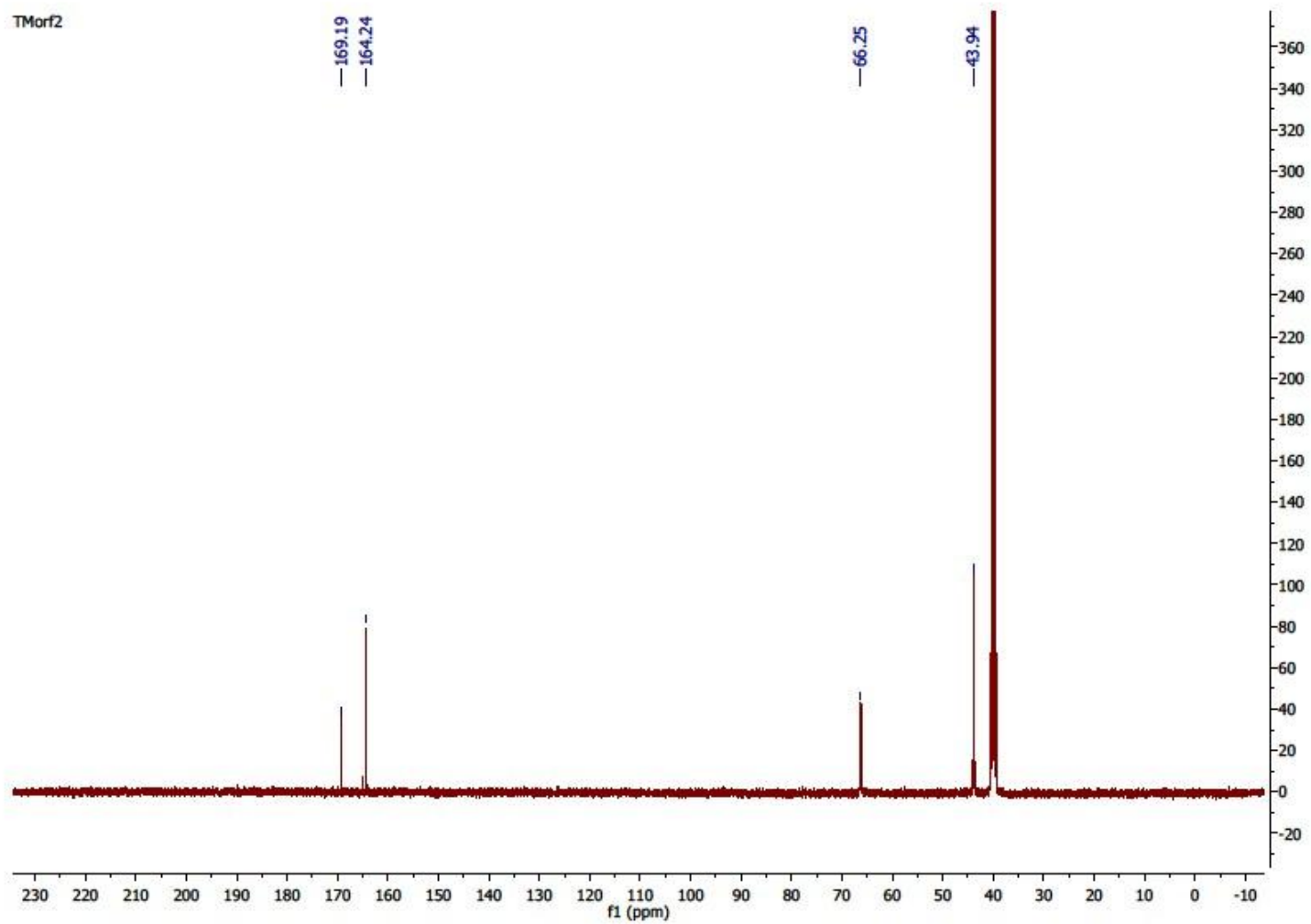
Anexo 47. Espectro de IV do composto 139.



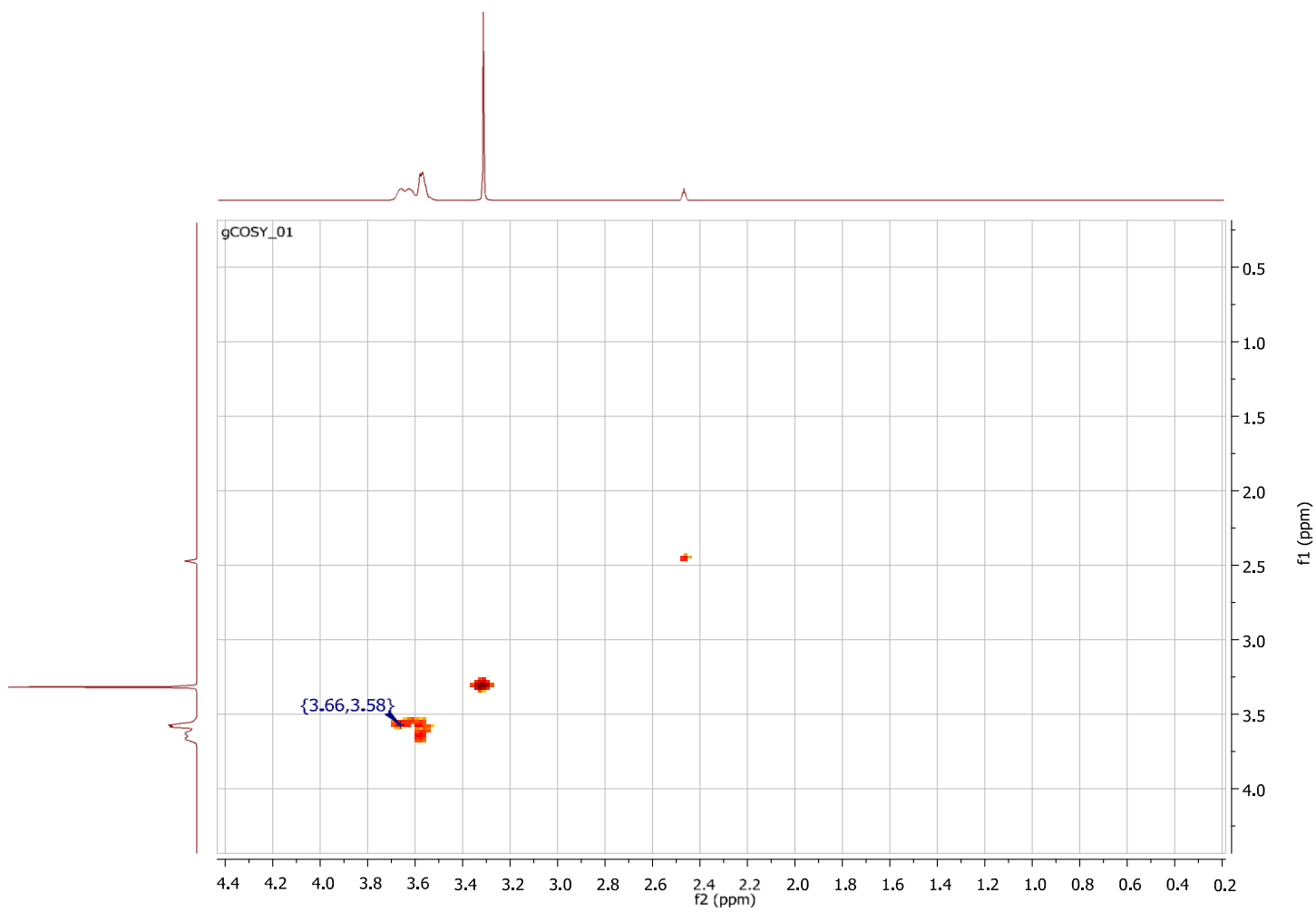
Anexo 48. Espectro de massas para o sal trissódico do composto **139** (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).



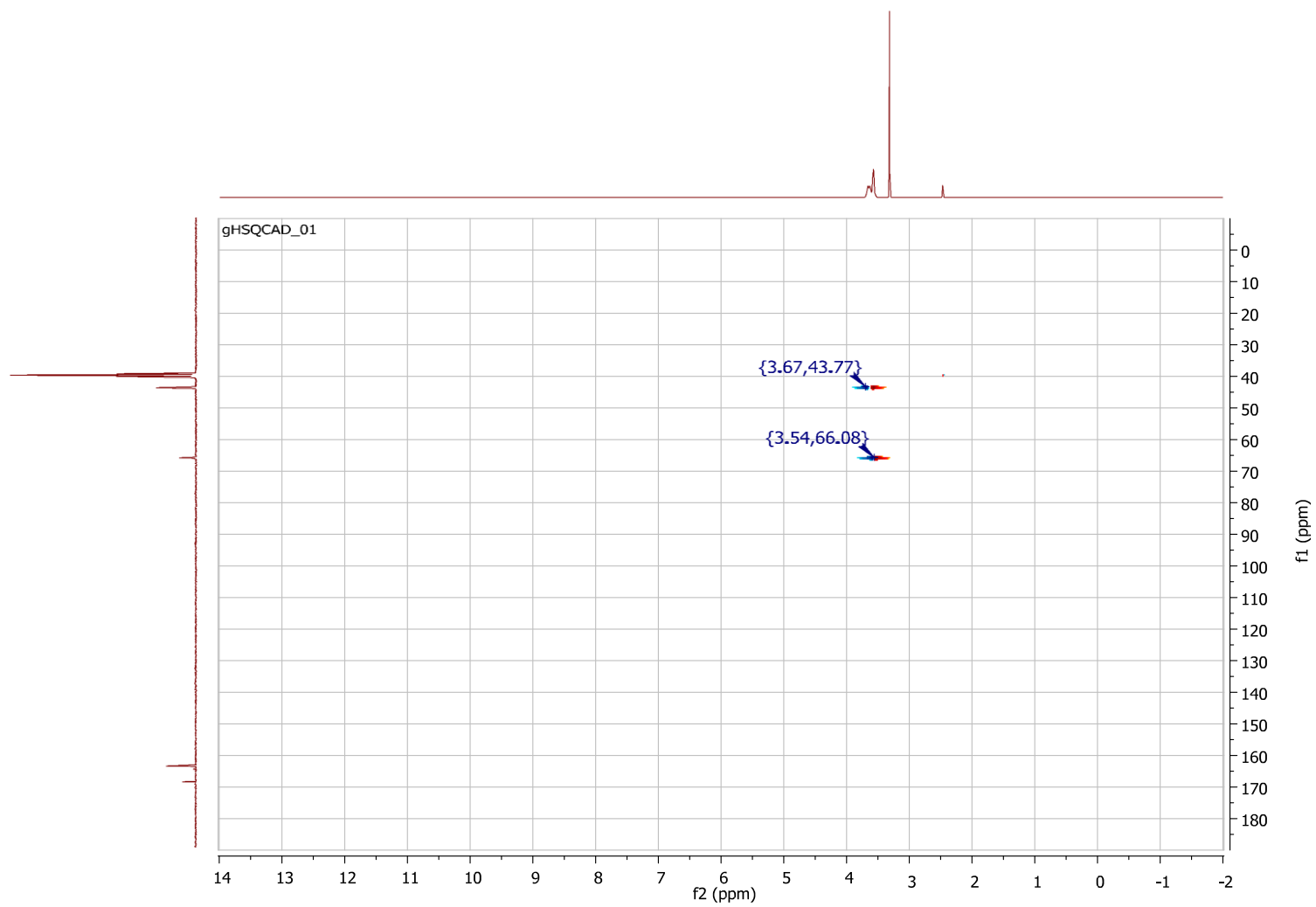
Anexo 49. Espectro de RMN de ^1H do composto 141.



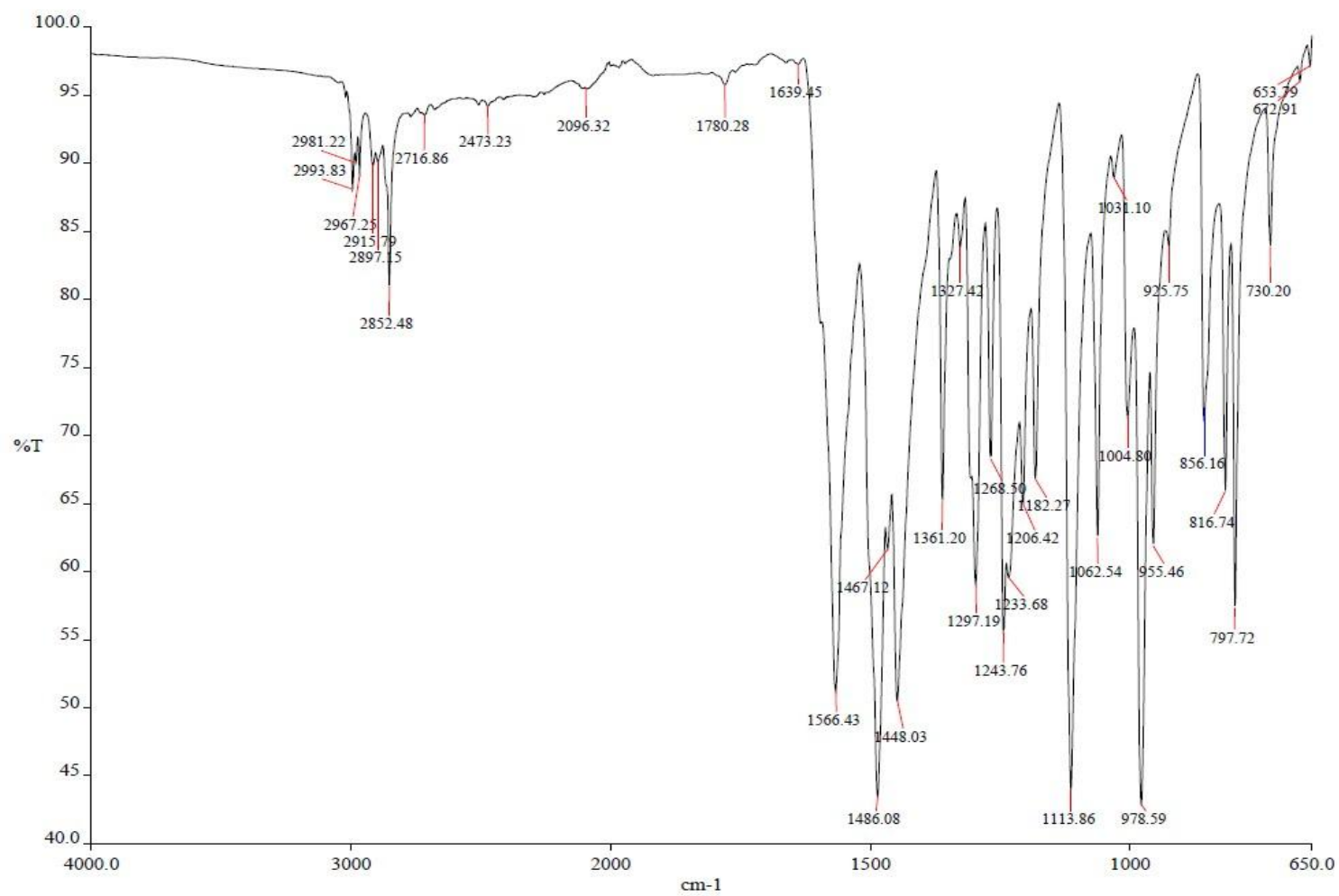
Anexo 50. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 141.



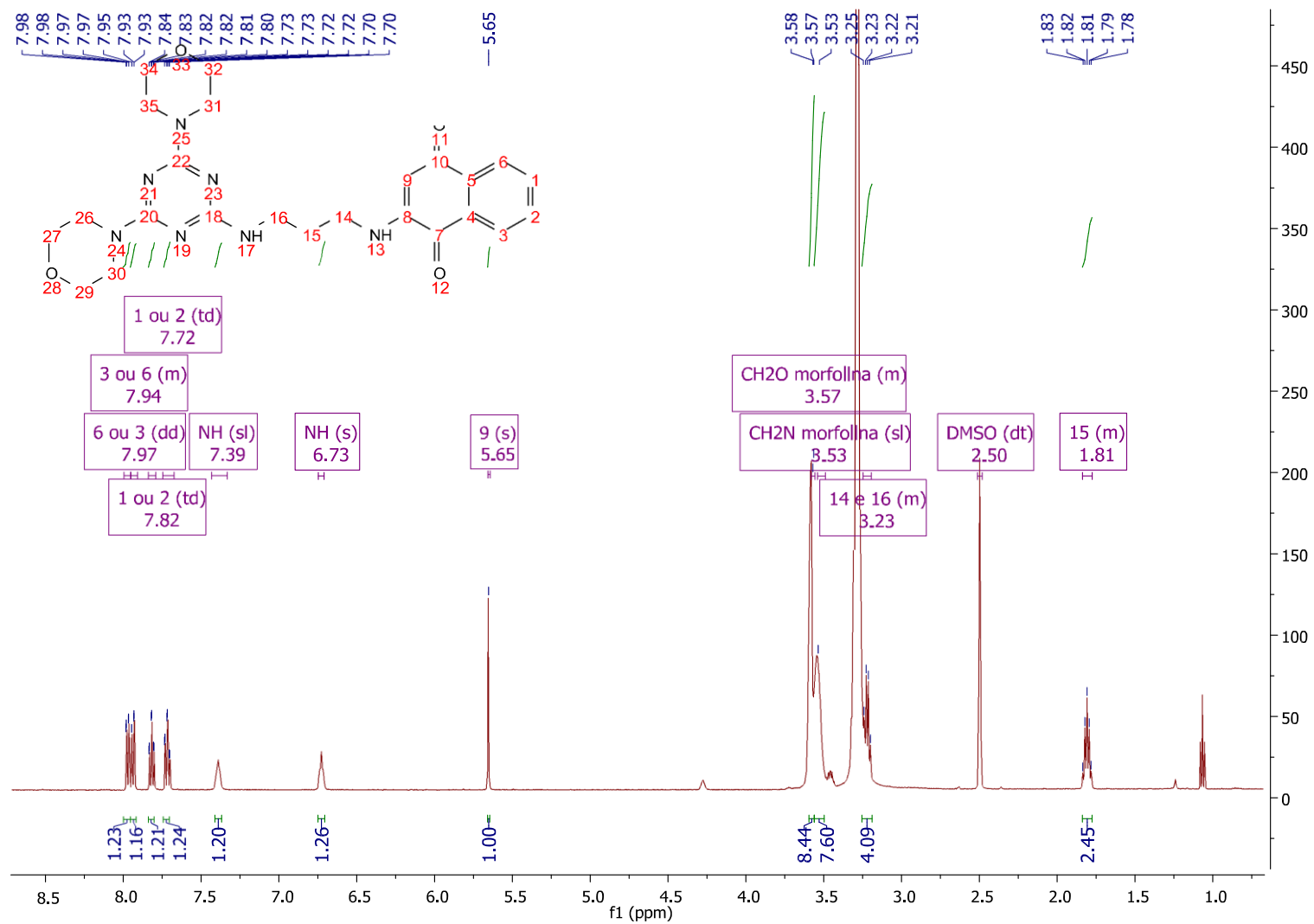
Anexo 51. Mapa de contorno da correlação homonuclear ¹H-¹H bidimensional COSY do composto **141**.



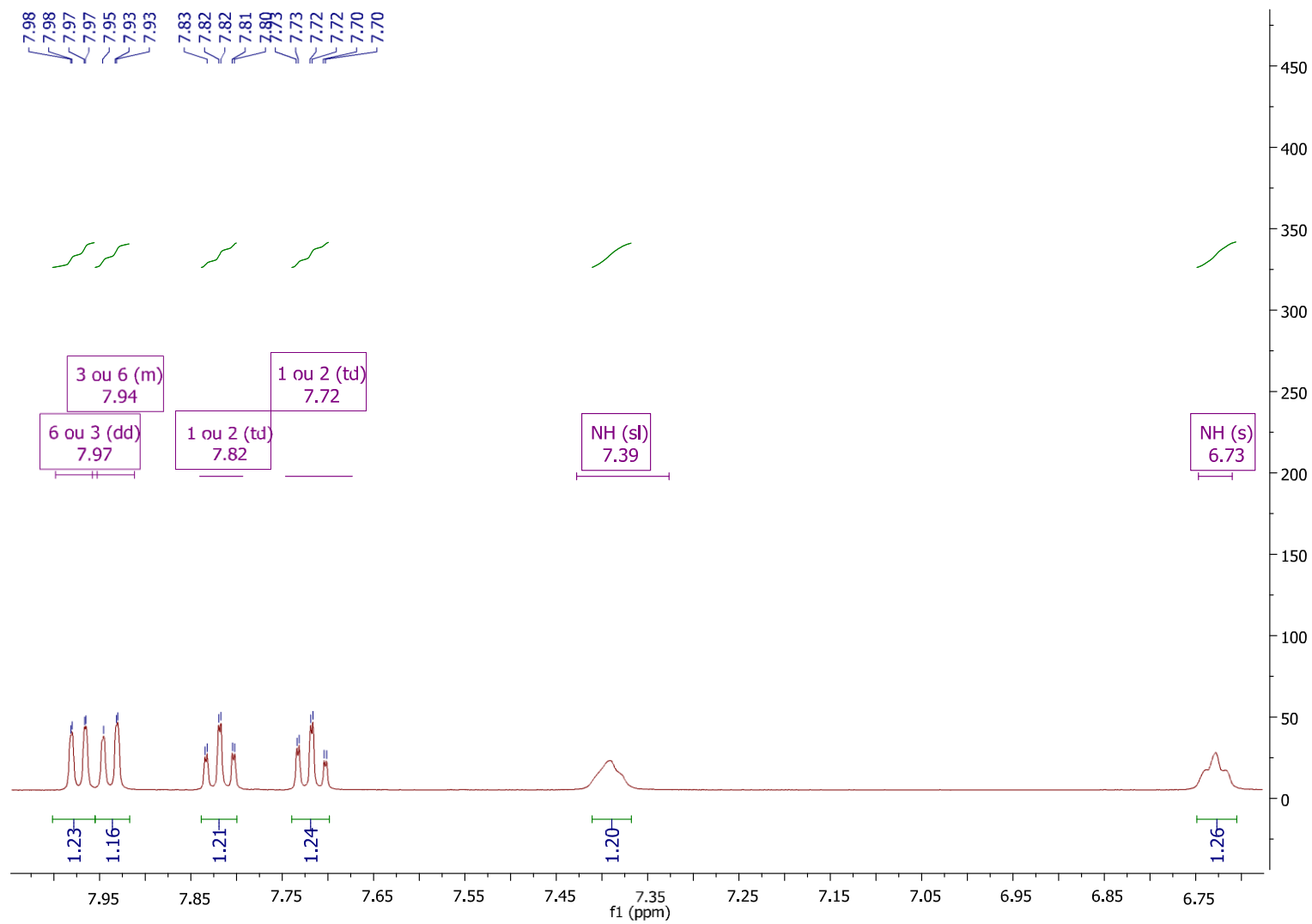
Anexo 52. Mapa de contorno da correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C bidimensional HSQC do composto 141.



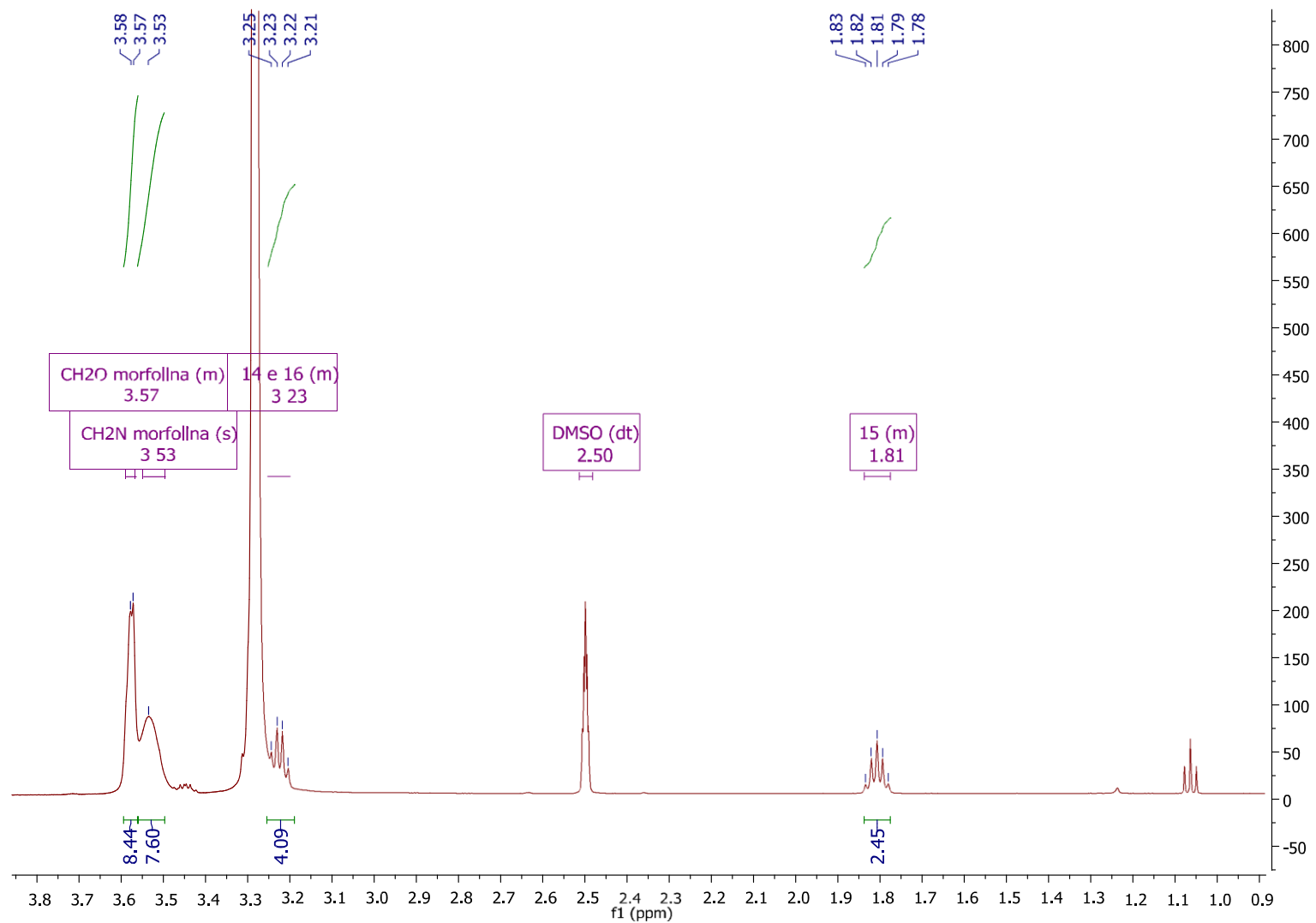
Anexo 53. Espectro de IV do composto 141.



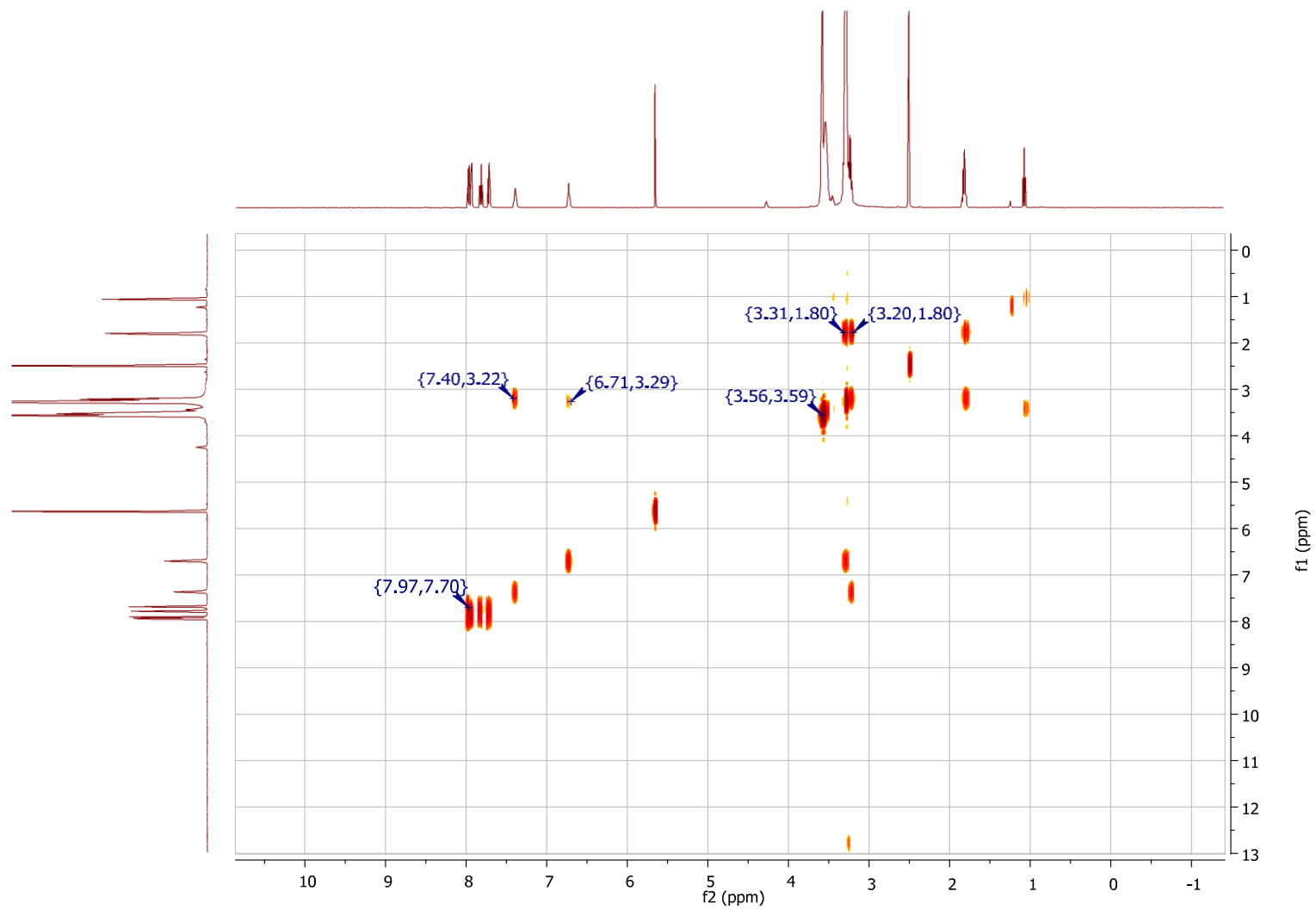
Anexo 54. Espectro de RMN de ¹H do composto 125.



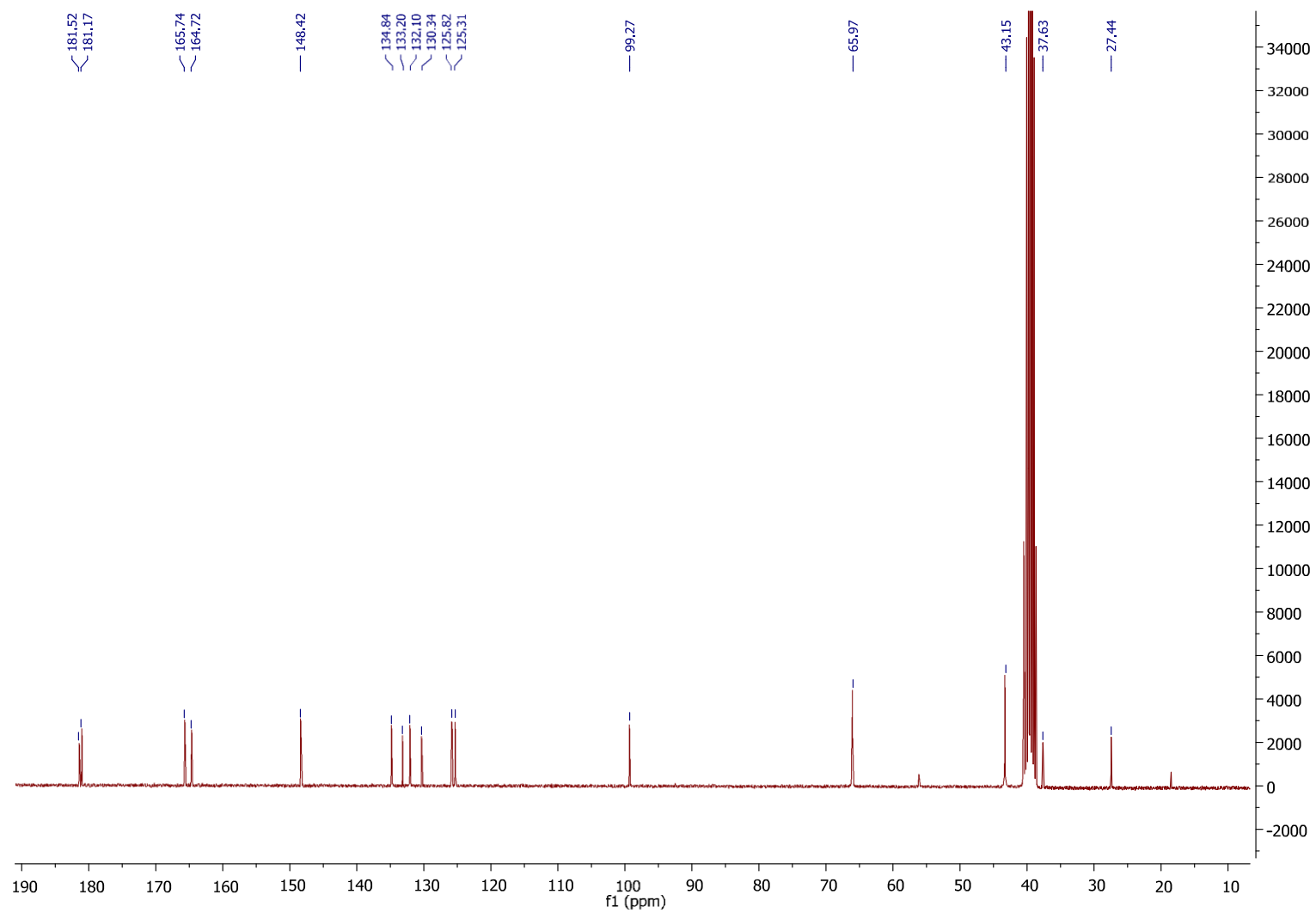
Anexo 55. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 125.



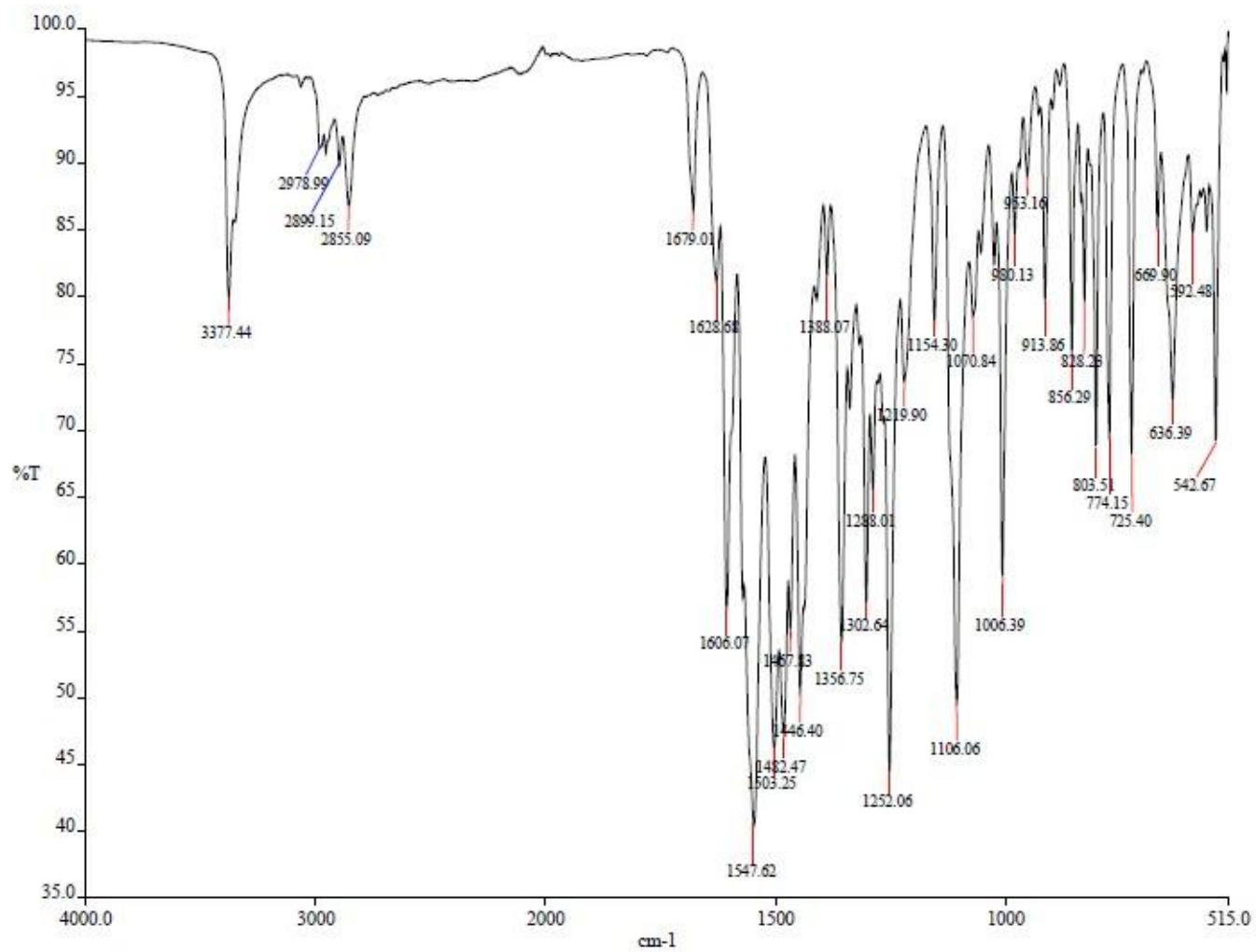
Anexo 56. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 125.



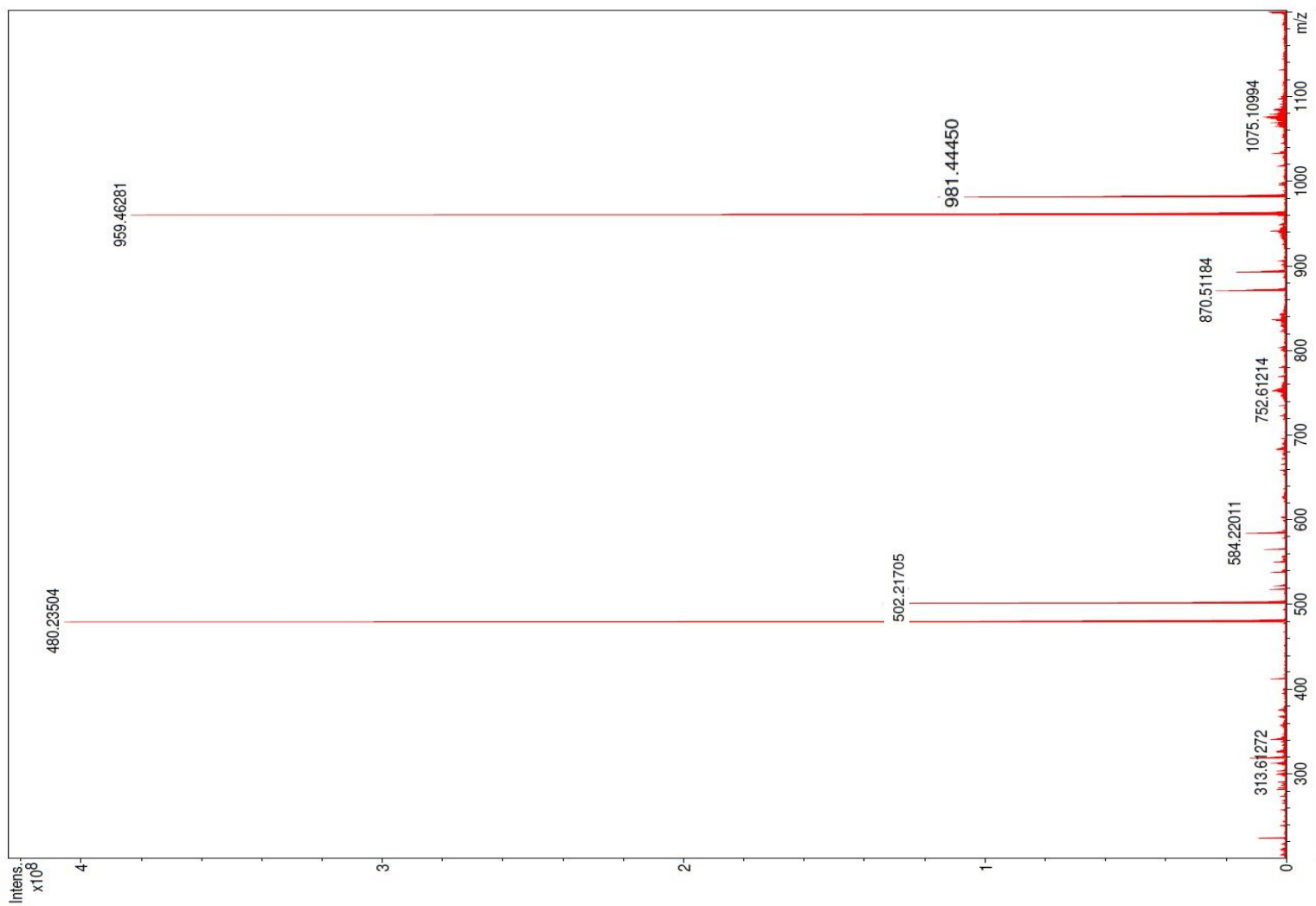
Anexo 57. Mapa de contorno da correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY do composto 125.



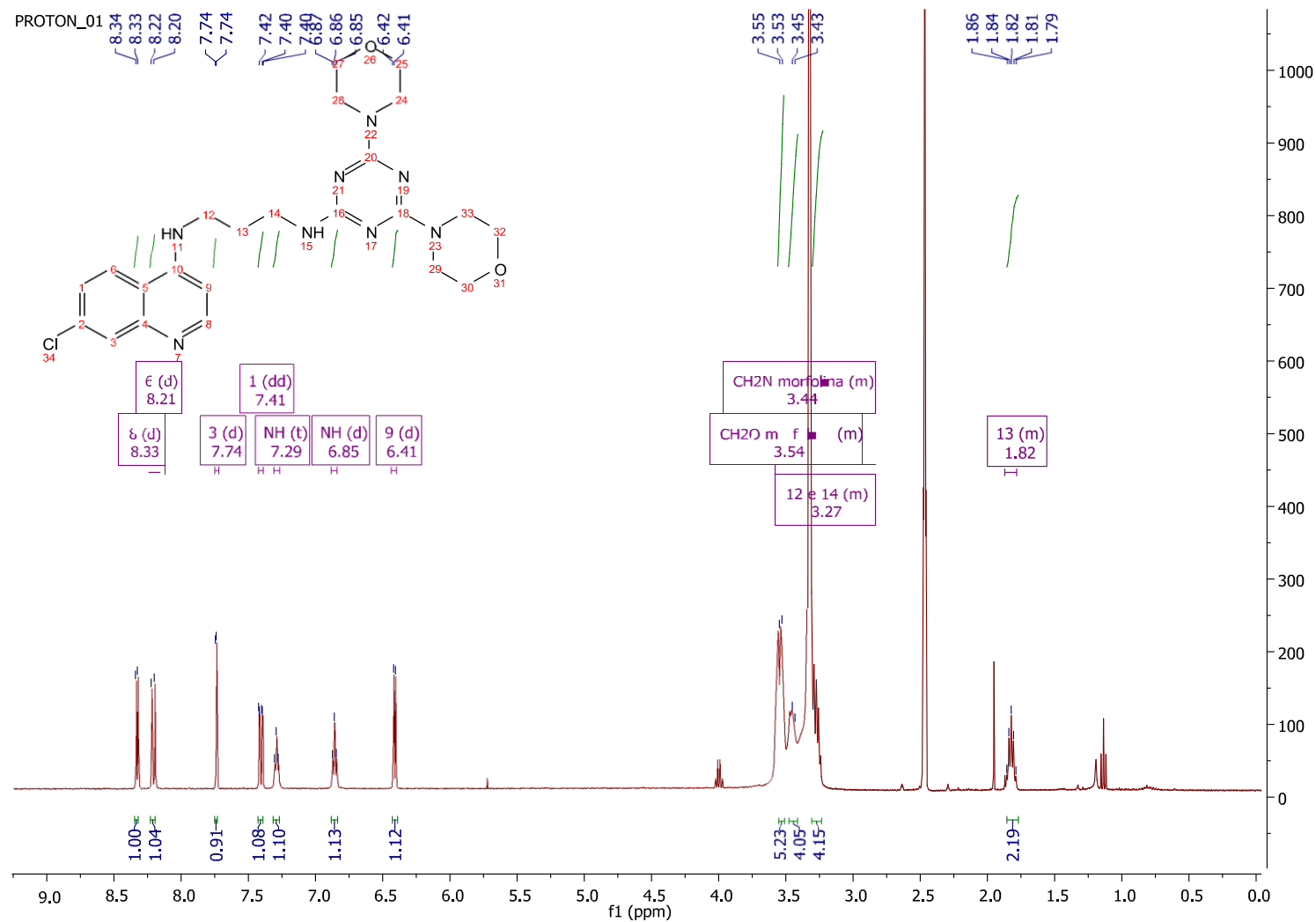
Anexo 58. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 125.



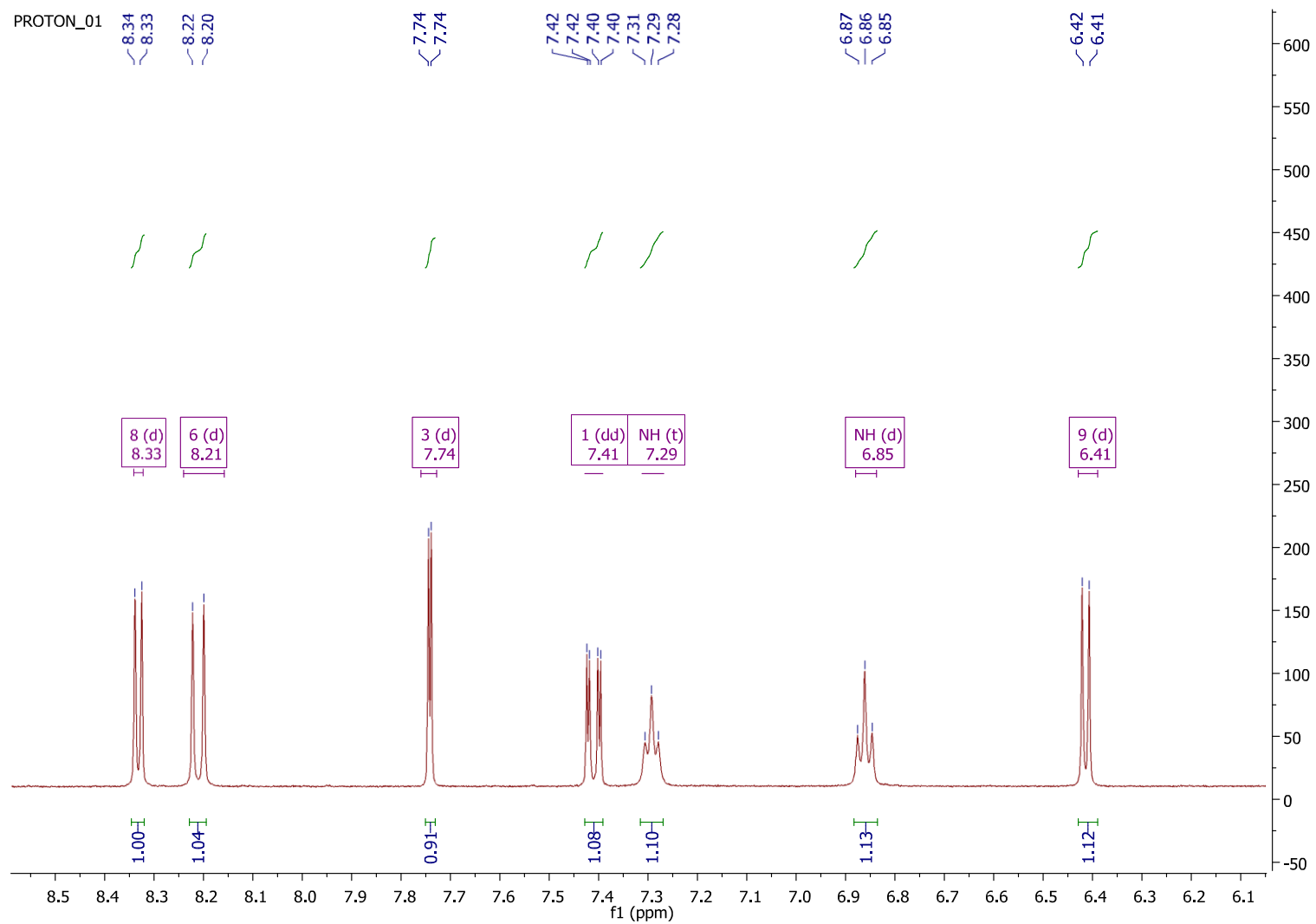
Anexo 59. Espectro de IV do composto 125.



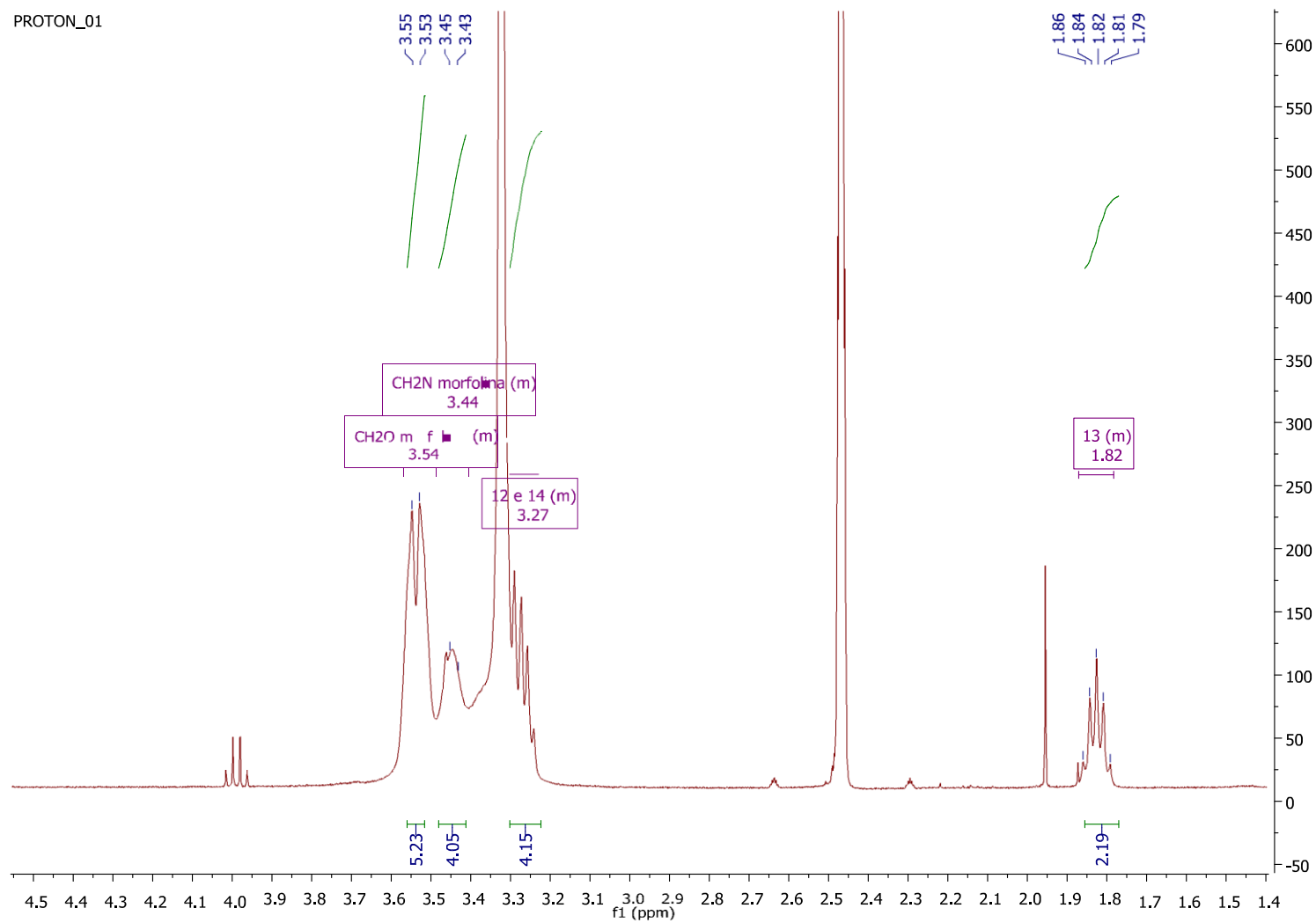
Anexo 60. Espectro de massas para composto 126 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).



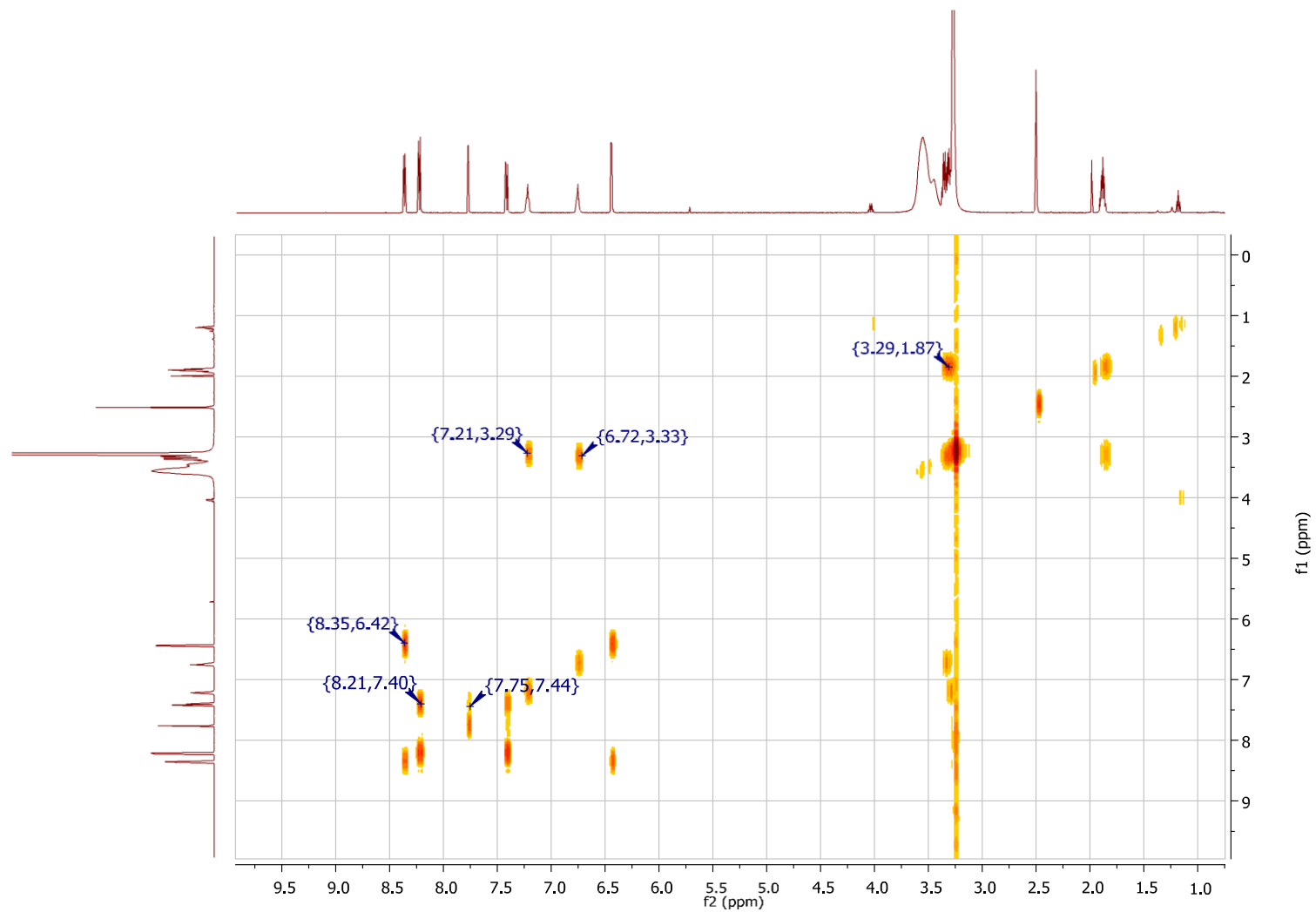
Anexo 61. Espectro de RMN de ^1H do composto 127.



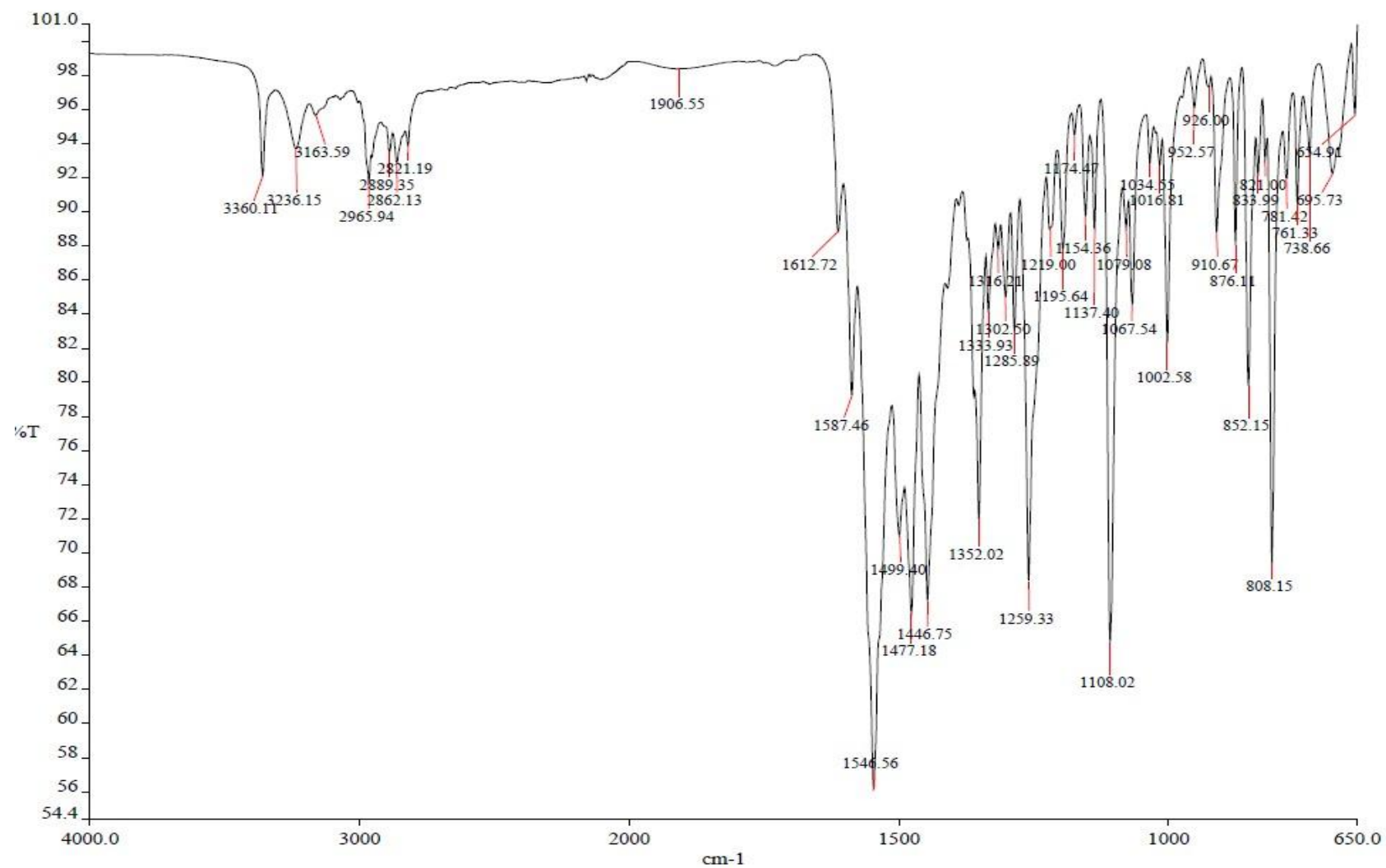
Anexo 62. Expansão da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto 127.



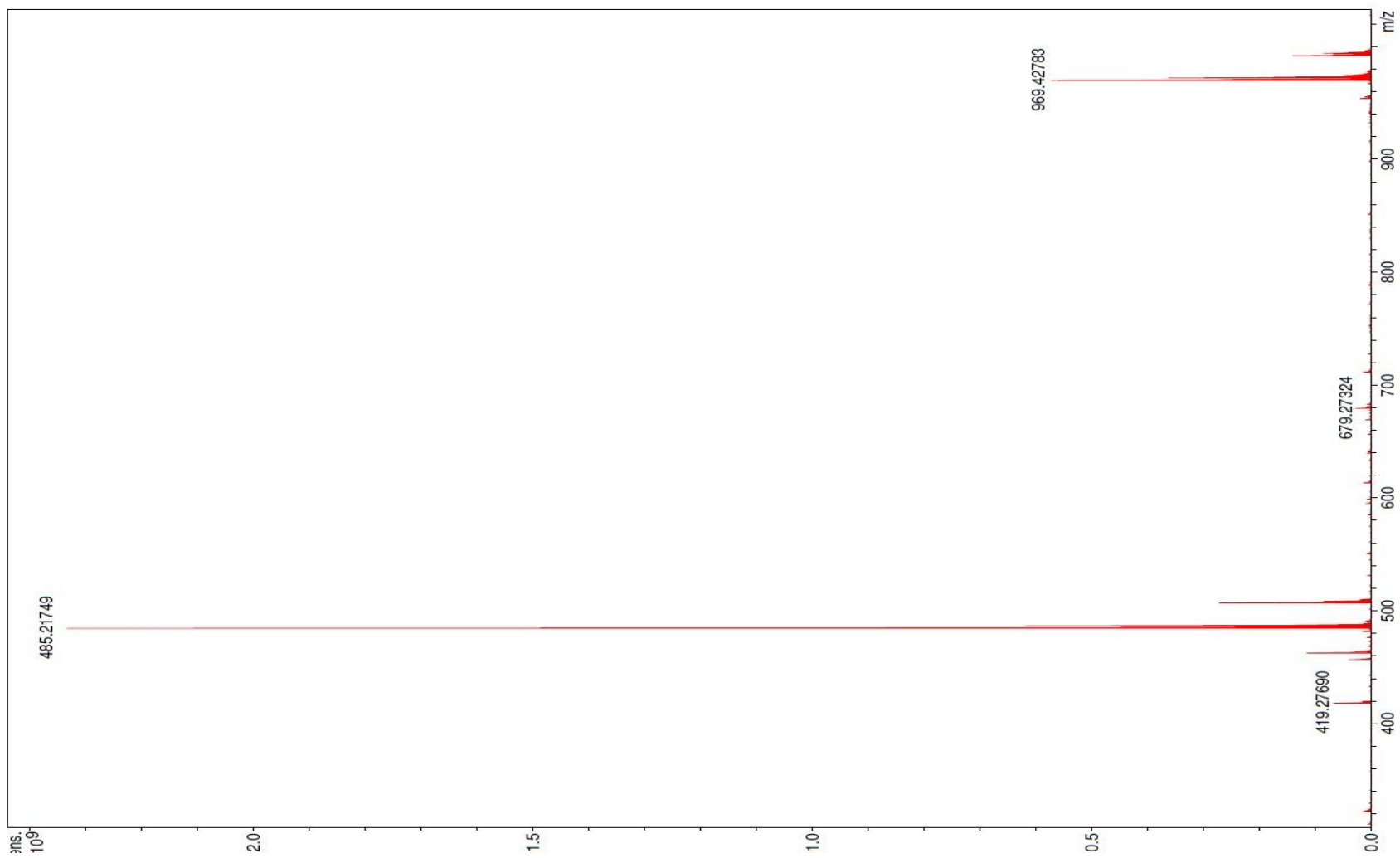
Anexo 63. Expansão da região alifática do espectro de RMN de ^1H do composto 127.



Anexo 64. Mapa de contorno da correlação homonuclear ^1H - ^1H bidimensional COSY para o composto 127.



Anexo 65. Espectro de IV do composto 127.



Anexo 66. Espectro de massas para composto 127 (ESI (+) FT-ICR MS, 9,4T).