



ISEL

INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE LISBOA

ÁREA DEPARTAMENTAL DE ENGENHARIA QUÍMICA

**SÍNTESE ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS DE
DERIVADOS DA 1,4-NAFTOQUINONA,
CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO ELETROQUÍMICO
E ANÁLISE *IN SILICO***

RAFAELA GONÇALVES CABRAL

(Licenciada em Engenharia Química e Biológica)

Trabalho Final de Mestrado para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia
Química e Biológica

Orientadores:

Professora Doutora Ana Catarina Cardoso de Sousa

Professora Doutora Maria Paula Alves Robalo

Júri:

Presidente: Professor Doutor Jaime Borges Puna

Vogais: Professor Doutor Tiago Daniel Adriano Fernandes

Professora Doutora Ana Catarina Cardoso de Sousa

Lisboa

2021

Agradecimentos

Tendo terminado este trabalho, após muita dedicação, esforço e trabalho, gostaria de expressar o meu sincero e profundo agradecimento às pessoas que, direta ou indiretamente, foram fundamentais para que conseguisse realizar mais uma etapa do meu percurso académico.

À minha orientadora, Professora Doutora Ana Catarina Sousa, agradeço pela sua dedicação, conhecimento transmitido, pela disponibilidade e paciência demonstrados. Pela sua alegria e animação constante, mas sobretudo pelo apoio e confiança que deposita em mim diariamente em todos os desafios que me propõe. Um especial obrigada pela sua amizade e por me fazer acreditar no papel da mulher na ciência.

À Professora Doutora Paula Robalo, na qualidade de co-orientadora, agradeço pelo apoio, disponibilidade e compreensão demonstrados ao longo deste percurso, pelo conhecimento transmitido, sugestões e revisão crítica.

Agradeço ao Instituto Superior de Engenharia de Lisboa e Área Departamental de Engenharia Química pela realização do trabalho experimental no Laboratório de Química Inorgânica, ao Centro de Química Estrutural do Instituto Superior Técnico por disponibilizar o acesso aos equipamentos de RMN e Espectrometria de Massa. E ao laboratório pHarmaLAB equipado através da Farmacêutica Hovione S.A. por disponibilizar o acesso ao equipamento de HPLC.

A todos os meus colegas de laboratório, agradeço o bom ambiente que me proporcionaram, compreensão, apoio e ajuda durante a realização deste trabalho. Um agradecimento especial ao Mohamed Soliman, que sempre se mostrou disponível em todos os momentos, pelo conhecimento transmitido e sobretudo pela sua amizade. À Catarina Henriques, que me acompanhou desde o início do meu percurso e trilhou o mesmo caminho em paralelo, pela sua companhia, amizade e partilha, obrigada. À Ana Dias que de colega passou a uma amiga que levo para a vida, um enorme obrigada por toda a paciência, ajuda, apoio e motivação constante para conseguir terminar esta etapa e continuar sempre a ser uma pessoa melhor e bem comigo mesma.

Ao meu padrinho, Ricardo Ferreira, agradeço por todos os seus apontamentos, por toda a ajuda, paciência ao ouvir os meus problemas, motivação, diversão nos momentos de tensão e especialmente pelo seu ombro amigo que me acompanhou ao longo de todo o meu percurso académico, sem ele não teria conseguido seguir em frente. Ao Manuel Verganista, agradeço por todas as palavras de motivação, diversão, compreensão e apoio durante todo o meu percurso.

À Inês Correia, agradeço pela eterna amizade, pelo apoio contante, pela compreensão de todas as vezes que não podia ir ao café por ter este trabalho para fazer e especialmente, por estar do meu lado em todos os momentos bons e menos bons da minha vida.

Ao Sérgio, por todo o seu carinho, pela compreensão, paciência, motivação diária, por me reconfortar nos momentos em que tudo parecia não fazer sentido, pelas palavras de apoio e pelo orgulho que demonstra, um enorme e especial obrigada.

E finalmente, o agradecimento mais especial, à minha família. Aos meus pais, agradeço pelo amor, apoio e por me deixarem seguir este caminho à minha maneira apesar da constante preocupação pelo meu futuro, sem eles este trabalho não teria sido possível nem eu teria conseguido terminar o meu percurso académico. Aos meus avós agradeço por todo o amor, apoio incondicional e orgulho que fazem questão de demonstrar. Ao meu avô, António, apesar de não estar comigo, acredito que estará num lugar melhor a torcer por mim.

Resumo

As naftoquinonas apresentam importância relevante em química orgânica, nomeadamente, em áreas de investigação como a química medicinal e farmacêutica, sendo reconhecidas por possuírem variados tipos de atividades biológicas de onde se destacam as suas ações anti-tumorais, anti-inflamatórias e anti-fúngicas. Modificações na estrutura central da 1,4-naftoquinona permitem o desenvolvimento de novos produtos para eventual uso clínico, com características vantajosas que permitem interações diversas com os alvos biológicos e potencialmente úteis para a arquitetura estrutural de novos fármacos.

Neste contexto o desenvolvimento de metodologias de síntese rápidas e inseridas nos princípios da Química Sustentável, para a obtenção destes compostos, apresenta-se como uma linha de investigação a explorar. Enquadrado nesta estratégia, este trabalho teve como objetivo utilizar a síntese assistida por micro-ondas (SAMO) para a produção de derivados da 1,4-naftoquinona e sua posterior avaliação no que se refere às suas propriedades redox, antioxidantes e avaliação *in silico*.

Com recurso à SAMO foi possível obter 17 compostos, derivados da 1,4-naftoquinona, por adição de Michael, com vantagens significativas relativamente ao método tradicional de síntese por aquecimento convencional, essencialmente do ponto de vista do tempo de reação (5 minutos). As conversões obtidas, nos diferentes produtos de acoplamento desejados, dependeram do carácter básico dos agentes nucleófilos utilizados, tendo-se obtido conversões moderadas a elevadas (57 - 80%) com agentes nucleófilos mais básicos e conversões mais modestas (7 - 20%) com agentes nucleófilos menos básicos. Todos os compostos obtidos foram purificados e caracterizados pelas técnicas de espectroscopia no Infravermelho (FTIR), Ressonância Magnética Nuclear (1D e 2D-RMN) e Espectrometria de Massa (ESI-MS).

A avaliação das propriedades redox, antioxidantes e estudos *in silico* (biodisponibilidade oral teórica, absorção, toxicidade, *druglikeness* e *drug score*) permitiu também seleccionar os compostos mais promissores para potenciais aplicações medicinais.

Palavras-chave: Naftoquinonas; síntese por micro-ondas; análise *in silico*; propriedades eletroquímicas; atividade antioxidante.

Abstract

Naphthoquinones belong to an important class of organic compounds with relevance on the field of medicinal chemistry. A broad range of 1,4-naphthoquinones derivatives exhibit a wide variety of pharmacological properties and biological activities including anti-tumor, anti-inflammatory and anti-fungal. Modifications in the central nucleus allow the development of new compounds, with potential beneficial characteristics for the design of new drug candidates.

In this context, the development of green and sustainable methodologies, to synthesize these compounds, is still an area of research to be explored. As part of this strategy, this work aimed to use microwave assisted organic synthesis (MAOS) to produce 1,4-naphthoquinone derivatives and its subsequent evaluation regarding its redox and antioxidant properties and *in silico* analysis.

The use of MAOS allowed to obtain 17 compounds, via Michael addition, with advantages compared to the conventional heating method, mainly on the reaction time (5 minutes). The obtained conversions were dependent on the chemical nature of the nucleophilic agent used, with moderated to good conversions (57 – 80%) for more basic nucleophilic agents and more modest conversions (7- 20%) for less basic nucleophilic agents. All compounds obtained were purified and characterized by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Nuclear Magnetic Resonance (1D and 2D-NMR) and Mass Spectrometry (ESI-MS).

The evaluation of the redox and antioxidant properties with the *in silico* studies (bioavailability, absorption, toxicity, druglikeness and drug score) allowed the selection of the most promising compounds for potential medicinal applications.

Keywords: Naphthoquinones; microwave synthesis; *in silico* methods; electrochemical properties; antioxidant activity.

Lista de Abreviaturas

| | |
|---------------------------|--|
| AA% | Percentagem de atividade antioxidante |
| Abs | Absorvância |
| ABS% | Percentagem de absorção oral |
| ADMET | Absorção, distribuição, metabolismo, excreção, toxicidade |
| Ccf | Cromatografia de camada fina |
| ¹³C-RMN | Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono-13 |
| D | Dupleto |
| Dd | Duplo duplete |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picril-hidrazil |
| E_{pa} | Potencial de pico anódico |
| E_{pc} | Potencial de pico catódico |
| EROs | Espécies reativas de oxigênio |
| ESI-MS | Espectroscopia de massa com ionização por <i>electrospray</i> |
| HMBC | Correlação heteronuclear a múltiplas ligações (¹ H- ¹³ C) |
| HSQC | Correlação heteronuclear a uma ligação (¹ H- ¹³ C) |
| HPLC | Cromatografia líquida de alta eficiência |
| Hz | Hertz |
| ¹H-RMN | Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton |
| FTIR | Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier |
| J | Constante de acoplamento (Hz) |
| LogP | Coeficiente de partição octanol-água |
| M | Multiplete |
| MHz | Mega Hertz |
| mV | Milivolts |

| | |
|-------------------|---|
| <i>m/z</i> | Razão massa-carga |
| nOH | Número de grupos aceitadores de ligação de hidrogénio |
| nOHNH | Número de grupos doadores de ligação de hidrogénio |
| Nrotb | Número de bandas rotáveis |
| pKa | Constante de acidez |
| Ppm | Partes por milhão |
| RMN | Ressonância magnética nuclear |
| S | Singuleto |
| SAMO | Síntese assistida por micro-ondas |
| T | Tripleto |
| TPSA | Área de superfície polar topológica |
| V | Volts |
| W | Watts |
| E | Constante dielétrica |
| Δ | Desvio químico |
| λ | Comprimento de onda |

Índice Geral

| | |
|---|------|
| Agradecimentos | i |
| Resumo | iii |
| Abstract | v |
| Lista de Abreviaturas | vii |
| Índice Geral | ix |
| Índice de Figuras | xi |
| Índice de Tabelas | xiii |
| 1. Introdução | 3 |
| 1.1. Naftoquinonas | 3 |
| 1.1.1. Propriedades e ações biológicas | 4 |
| 1.1.2. Métodos de obtenção das naftoquinonas..... | 6 |
| 1.1.2.1. Extração de produtos naturais..... | 6 |
| 1.1.2.2. Métodos de síntese da 1,4-naftoquinona..... | 7 |
| 1.1.2.3. Síntese de derivados 2- <i>N</i> -1,4-naftoquinona | 8 |
| 1.2. Síntese assistida por micro-ondas | 12 |
| 1.2.1. Vantagens e desvantagens da síntese por micro-ondas..... | 17 |
| 1.3. Análise <i>in silico</i> | 19 |
| 1.3.1. Estudo ADMET | 20 |
| 2. Otimização das condições de síntese | 25 |
| 2.1. Reagentes | 25 |
| 2.2. Agentes nucleófilos | 25 |
| 2.3. Estratégias gerais de síntese..... | 27 |
| 2.4. Parâmetros reacionais..... | 30 |
| 3. Síntese e Caracterização | 35 |
| 3.1. Síntese dos derivados da 1,4-naftoquinona..... | 35 |
| 3.1.1. Derivados 2- <i>N</i> -arilamino-1,4-naftoquinona..... | 35 |
| 3.1.1.1. Caracterização estrutural dos derivados 2- <i>N</i> -arilamino-1,4-naftoquinona (1 a 5 e 7 a 9)..... | 38 |

| | | |
|----------|---|----|
| 3.1.2. | Derivados 2- <i>N</i> -alquilamino-1,4-naftoquinona..... | 46 |
| 3.1.2.1. | Caracterização estrutural dos derivados 2- <i>N</i> -alquilamino-1,4-naftoquinona (10 a 13) | 47 |
| 3.2. | Síntese dos derivados da 5-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 52 |
| 3.2.1. | Derivados 2- <i>N</i> -arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 52 |
| 3.2.1.1. | Caracterização estrutural dos derivados 2- <i>N</i> -arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (14 a 16) | 53 |
| 3.2.2. | Derivados 2- <i>N</i> -alquilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona | 56 |
| 3.2.2.1. | Caracterização estrutural dos derivados 2- <i>N</i> -alquilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (18 e 19) | 57 |
| 3.3. | Avaliação das propriedades | 59 |
| 3.3.1. | Estudos eletroquímicos | 59 |
| 3.3.2. | Avaliação da atividade antioxidante..... | 64 |
| 3.3.3. | Avaliação <i>in silico</i> | 68 |
| 3.3.3.1. | Biodisponibilidade oral teórica..... | 68 |
| 3.3.3.2. | Bioatividade teórica contra alvos moleculares comuns | 71 |
| 3.3.3.3. | Parâmetros ADMET | 72 |
| 4. | Conclusões e Perspetivas Futuras | 81 |
| 5. | Parte Experimental..... | 87 |
| 5.1. | Considerações gerais..... | 87 |
| 5.1.1. | Cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) acoplada a um detetor de díodos (DAD) | 87 |
| 5.1.2. | Espetroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)..... | 88 |
| 5.1.3. | Espetroscopia de Massa (ESI) | 88 |
| 5.1.4. | Determinação dos potenciais redox por voltametria cíclica..... | 88 |
| 5.1.5. | Determinação das percentagens de atividade antioxidante | 89 |
| 5.2. | Método geral das sínteses por aquecimento convencional..... | 89 |
| 5.3. | Método geral das sínteses por aquecimento de micro-ondas | 90 |
| 6. | Referências Bibliográficas | 97 |

Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1.1 - Estrutura química das classes de quinonas: A) 1,4-benzoquinona; B) 1,2-benzoquinona; C) 1,4-naftoquinona; D) 1,2-naftoquinona; E) antraquinona. | 3 |
| Figura 1.2 - Estrutura química dos derivados da 1,4-naftoquinona: F) 5-hidroxi-1,4-naftoquinona; G) 2-hidroxi-1,4-naftoquinona; H) 5-hidroxi-2-metil-1,4-naftoquinona..... | 4 |
| Figura 1.3 - Ciclo redox da 1,4-naftoquinona promovido pela Flavoenzima (FAD); DT-diaforase (FAD _{DT}). ²⁶ | 5 |
| Figura 1.4 - Esquema reacional da oxidação do naftaleno. | 8 |
| Figura 1.5 - Estrutura de derivados 2- <i>N</i> -1,4-naftoquinona. | 9 |
| Figura 1.6 - Efeito da basicidade em aminas substituídas. | 10 |
| Figura 1.7 - Efeito da basicidade em compostos heterocíclicos azotados. | 10 |
| Figura 1.8 - Síntese de derivados 2- <i>N</i> -1,4-naftoquinona: A) Adição de Michael; B) Substituição nucleófila..... | 11 |
| Figura 1.9 - Visão geral dos diferentes métodos de aquecimento. ⁶³ | 14 |
| Figura 1.10 – Diferentes áreas de aplicação da tecnologia de micro-ondas. ⁶⁰ | 16 |
| Figura 1.11 - Exemplos de reações orgânicas utilizando tecnologia de micro-ondas. ^{68,69} | 17 |
| Figura 1.12 - Esquema representativo dos parâmetros ADME. ⁸² | 21 |
| Figura 2.1 - Estruturas moleculares das naftoquinonas utilizadas como reagentes. | 25 |
| Figura 2.2 - Estruturas moleculares e valores de <i>pKa</i> das aminas aromáticas <i>para</i> -substituídas..... | 26 |
| Figura 2.3 - Estruturas moleculares e valores de <i>pKa</i> das aminas aromáticas <i>orto</i> -substituídas..... | 26 |
| Figura 2.4 - Estruturas moleculares e valores de <i>pKa</i> das aminas alifáticas..... | 27 |
| Figura 2.5 - Estruturas moleculares e valores de <i>pKa</i> dos compostos heterocíclicos azotados. | 27 |
| Figura 2.6 - Esquema reacional geral para obtenção de derivados da 1,4NQ e da 5OH1,4NQ. | 28 |
| Figura 2.7 - Esquema reacional da desprotonação do imidazol e pirazol (1^a Etapa), seguida de uma reação de adição nucleófila com os reagentes (2^a Etapa)..... | 29 |
| Figura 2.8 - Esquema reacional geral para obtenção de derivados da 1,4NQ com compostos heterocíclicos. | 29 |
| Figura 2.9 - Cromatogramas da 1,4NQ com diferentes catalisadores básicos: A) Reagente sem catalisador; B) Reagente com CaCO ₃ ; C) Reagente com NaHCO ₃ | 31 |
| Figura 3.1 - Esquema geral das condições de reação dos derivados da 1,4-naftoquinona. | 35 |

| | |
|---|----|
| Figura 3.2 - Esquema reacional para obtenção dos derivados da 1,4NQ substituídos com aminas aromáticas..... | 36 |
| Figura 3.3 - Espectro ¹ H-RMN (300 MHz) do composto 1 em MeOD- <i>d</i> ₄ | 39 |
| Figura 3.4 - Espectro ¹³ C-RMN (300 MHz) do composto 1 em MeOD- <i>d</i> ₄ | 40 |
| Figura 3.5 - Espectro bidimensional HMBC (300 MHz) do composto 1 em MeOD- <i>d</i> ₄ | 41 |
| Figura 3.6 - Espectro ESI(+)-MS ² da molécula protonada <i>m/z</i> 265 do composto 1 | 43 |
| Figura 3.7 - Espectro ¹ H-RMN (300 MHz) do composto 8 em MeOD- <i>d</i> ₄ | 44 |
| Figura 3.8 - Esquema reacional das reações entre 1,4NQ e aminas alifáticas..... | 46 |
| Figura 3.9 - Espectro ¹ H-RMN (300 MHz) do composto 10 em MeOD- <i>d</i> ₄ | 48 |
| Figura 3.10 - Espectro ¹³ C-RMN (300 MHz) do composto 10 em MeOD- <i>d</i> ₄ | 49 |
| Figura 3.11 - Espectro bidimensional HMBC (300 MHz) do composto 10 em MeOD- <i>d</i> ₄ | 50 |
| Figura 3.12 - Esquema geral das condições de reação dos derivados da 5-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 52 |
| Figura 3.13 - Esquema reacional das reações entre 5OH1,4-NQ e aminas aromáticas <i>para</i> -substituídas..... | 53 |
| Figura 3.14 - Espectro ¹ H-RMN (300 MHz) do composto 15 em MeOD- <i>d</i> ₄ | 54 |
| Figura 3.15 - Esquema reacional das reações entre 5OH1,4NQ e aminas alifáticas.... | 56 |
| Figura 3.16 - Espectro ¹ H-RMN (300 MHz) do composto 18 em MeOD- <i>d</i> ₄ | 58 |
| Figura 3.17 - Voltamogramas cíclicos: A) 1,4NQ e B) 5OH1,4NQ, 1x10 ⁻³ mol.L ⁻¹ , ACN/NBu ₄ PF ₆ , <i>v</i> = 200 mV..... | 60 |
| Figura 3.18 - Propriedades redox da naftoquinona..... | 61 |
| Figura 3.19 - Voltamograma cíclico do composto 10 , 1x10 ⁻³ molL ⁻¹ , ACN/ NBu ₄ PF ₆ , <i>v</i> = 200 mV..... | 62 |
| Figura 3.20 - Mecanismo de reação do 2,2-difenil-1-picril-hidrazil. ⁹³ | 64 |
| Figura 3.21 - Atividade antioxidante do Ácido Ascórbico e dos reagentes 1,4NQ, 5OH1,4NQ..... | 65 |
| Figura 3.22 - Atividade antioxidante de derivados 2- <i>N</i> -1,4-naftoquinona (1 , 2 , 3 , 5 , 10 , 11 e 12)..... | 66 |
| Figura 3.23 - Atividades antioxidantes de derivados 2- <i>N</i> - 5-hidroxi-1,4-naftoquinona (15 , 16 , 18 e 19)..... | 67 |

Índice de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 2.1 - Conversões obtidas nas reações de otimização da SAMO da 1,4NQ com a 1,4PDA..... | 30 |
| Tabela 3.1 - Conversões obtidas na SAMO e método de aquecimento convencional para os derivados 2- <i>N</i> -arilamino-1,4-naftoquinona. | 37 |
| Tabela 3.2 - Dados de ¹ H e ¹³ C-RMN (MeOD- <i>d</i> ₄) para derivados 2- <i>N</i> -arilamino-1,4-naftoquinona (1 a 5). | 42 |
| Tabela 3.3 - Dados de ¹ H e ¹³ C-RMN (MeOD- <i>d</i> ₄) para derivados 2- <i>N</i> -arilamino-1,4-naftoquinona (7 a 9). | 45 |
| Tabela 3.4 - Conversões obtidas na SAMO e método de aquecimento convencional para os derivados 2- <i>N</i> -alquilamino-1,4-naftoquinona. | 47 |
| Tabela 3.5 - Dados de ¹ H e ¹³ C-RMN (MeOD- <i>d</i> ₄) para derivados 2- <i>N</i> -alquilamino-1,4-naftoquinona (10 a 13). | 51 |
| Tabela 3.6 - Conversões obtidas na SAMO para os derivados 2- <i>N</i> -arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona. | 53 |
| Tabela 3.7 - Dados de ¹ H e ¹³ C-RMN (MeOD- <i>d</i> ₄) para os derivados 2- <i>N</i> -arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (14 a 16)..... | 55 |
| Tabela 3.8 - Conversões obtidas na SAMO para os derivados 2- <i>N</i> -alquilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona. | 56 |
| Tabela 3.9 - Dados de ¹ H (MeOD- <i>d</i> ₄) para os derivados 2- <i>N</i> -alquilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (18 e 19). | 59 |
| Tabela 3.10 - Dados eletroquímicos para o reagente 1,4NQ e seus derivados (1, 2, 3, 5, 10, 11 e 12) em acetonitrilo, para uma velocidade de varrimento de 200 mV/s. | 62 |
| Tabela 3.11 - Dados eletroquímicos para o reagente 5OH1,4NQ e seus derivados (14, 15, 16, 18 e 19) em acetonitrilo, para uma velocidade de varrimento de 200 mV/s. | 63 |
| Tabela 3.12 - Biodisponibilidade oral teórica através da regra do Lipinski para a 1,4NQ e seus derivados (1-13) estimada através do programa Molinspiration®..... | 69 |
| Tabela 3.13 - Biodisponibilidade oral teórica através da regra de Lipinski para a 5OH1,4NQ e seus derivados (14-21) estimada através do programa Molinspiration®. . | 70 |
| Tabela 3.14 - Bioatividade teórica contra alvos moleculares comuns para a 1,4NQ e seus derivados (1-13) estimada através do programa Molinspiration®..... | 71 |
| Tabela 3.15 - Bioatividade teórica contra alvos moleculares comuns para a 5OH1,4NQ e seus derivados (14-21) estimada através do programa Molinspiration®..... | 72 |
| Tabela 3.16 - Parâmetros ADMET para a 1,4NQ e seus derivados (1-13) estimada através do programa admetSAR®. | 73 |

| | |
|--|----|
| Tabela 3.17 - Parâmetros ADMET para a 5OH1,4NQ e seus derivados (14-21) estimada através do programa admetSAR®. | 74 |
| Tabela 3.18 - Classificação da toxicidade oral aguda pela EPA. | 76 |
| Tabela 3.19 - Parâmetros para a 1,4NQ e seus derivados (1-13) estimada através do programa OSIRIS®. | 77 |
| Tabela 3.20 - Parâmetros para a 5OH1,4NQ e seus derivados (14-21) estimada através do programa OSIRIS®. | 77 |

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1. Introdução

As quinonas são compostos orgânicos presentes na natureza cujas propriedades químicas lhes permitem interagir com alvos biológicos.¹ Estes compostos caracterizam-se por conter na sua estrutura molecular um ou mais anéis cíclicos insaturados de seis membros com dois grupos carbonilo em posições adjacentes (1,2-quinonas) ou separados por uma ligação dupla (1,4-quinonas). As quinonas podem ser categorizadas em três classes principais cujas estruturas se encontram representadas na Figura 1.1: benzoquinonas (um anel aromático simples), naftoquinonas (dois anéis aromático condensados), antraquinonas (três anéis aromáticos condensados).^{1,2}

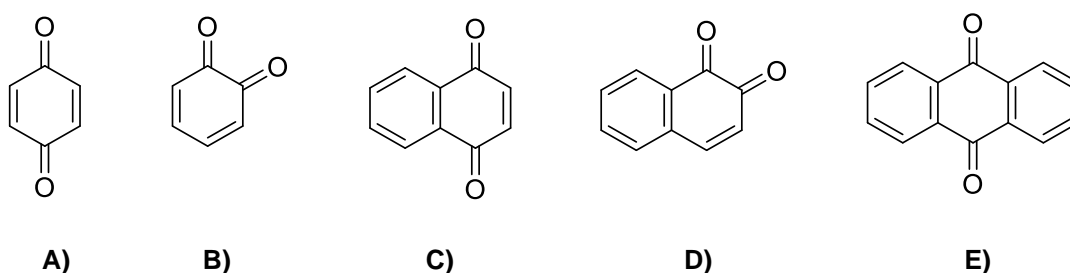


Figura 1.1 - Estrutura química das classes de quinonas: **A)** 1,4-benzoquinona; **B)** 1,2-benzoquinona; **C)** 1,4-naftoquinona; **D)** 1,2-naftoquinona; **E)** antraquinona.

1.1. Naftoquinonas

Na família das quinonas, a classe das naftoquinonas é de particular interesse devido à sua presença em produtos naturais e ambientais.³

Na natureza têm sido encontradas e isoladas de plantas, fungos, algas, bactérias e animais. São encontradas em quantidades consideráveis em plantas de certas famílias de angiospermas, como *Avicenniaceae*, *Bignoniaceae*, *Boraginaceae*, *Droseraceae*, *Ebenaceae*, *Juglandaceae*, *Nepenthaceae* e *Plumbagnaceae*.⁴ Podem também ser encontradas como produtos secundários do metabolismo de actinobactérias, fungos, líquens e algas.⁵ Possuem uma coloração geralmente entre amarelo, laranja, vermelho e castanho. São substâncias muito solúveis em solventes orgânicos, tais como álcoois, acetonitrilo, acetona, clorofórmio, benzeno e dimetilsulfóxido, e geralmente insolúveis em água.⁵

A sua estrutura química é baseada num sistema dicíclico, substituído no esqueleto de naftaleno por dois grupos carbonilo que podem estar dispostos nas posições 1,4 do anel naftaleno (*para*-naftoquinonas) ou nas posições 1,2 (*orto*-naftoquinonas) (Figura 1.1

C) e Figura 1.1 D), respetivamente).¹ O sistema de ligações duplas conjugadas com os grupos carbonilo torna estes compostos suscetíveis a reações de oxidação-redução.⁶

As 1,4-naftoquinonas englobam uma classe de produtos frequentemente substituídos por um ou mais grupos metilo, hidroxilo e/ou metoxilo e, em alguns compostos, uma cadeia lateral lipossolúvel. Desta classe de moléculas, as mais abundantes na natureza e, conseqüentemente, as mais estudadas são, a 5-hidroxi-1,4-naftoquinona (*Juglone*), a 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (*Lawson*) e a 5-hidroxi-2-metil-1,4-naftoquinona (*Plumbagin*), cujas estruturas se encontram representadas na Figura 1.2.

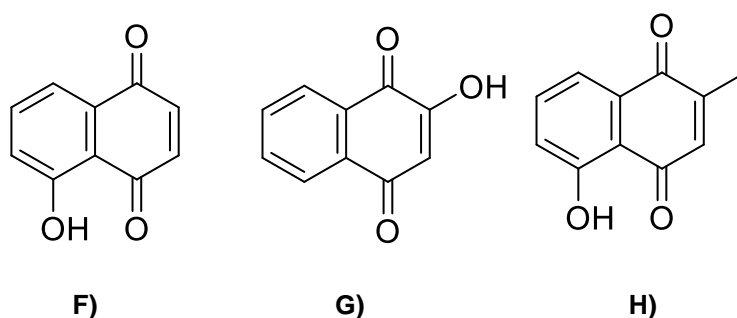


Figura 1.2 - Estrutura química dos derivados da 1,4-naftoquinona: **F)** 5-hidroxi-1,4-naftoquinona; **G)** 2-hidroxi-1,4-naftoquinona; **H)** 5-hidroxi-2-metil-1,4-naftoquinona.

As aplicações industriais das naftoquinonas são vastas, destacando-se como exemplos as aplicações na indústria agroquímica⁷, na indústria têxtil, alimentar e cosmética como corantes^{8,9}, como intermediário na síntese de antraquinona pelo processo de Kawasaki e ainda, como reguladores de polimerização, endurecedores, inibidores de corrosão e estabilizadores.¹⁰ Contudo, as aplicações onde as naftoquinonas são mais utilizadas são na síntese orgânica e produtos farmacêuticos.^{1,11}

1.1.1. Propriedades e ações biológicas

As naftoquinonas são compostos que estão envolvidos em diferentes processos oxidativos biológicos. De entre as várias atividades biológicas reportadas, destacam-se as propriedades: anti-fúngico¹²⁻¹⁴, anti-bacteriano^{12,14,15}, anti-oxidante^{11,16}, capacidade citotóxica^{17,18}, anti-alérgica^{19,20}, anti-viral²¹, entre outras.^{5,11,22}

Devido às ações referenciadas, as naftoquinonas são consideradas estruturas privilegiadas na química medicinal devido às suas características, propriedades estruturais e atividades biológicas em células procarióticas e eucarióticas. Na maioria dos casos, esta atividade está relacionada com propriedades eletroquímicas, ácido-base e

capacidade quelante que podem ser moduladas sinteticamente, por alteração da estrutura da molécula, ou alteração do ambiente em que esta se encontra envolvida, podendo melhorar a atividade farmacológica e reduzir efeitos adversos.^{1,14,23}

Os estudos sobre os mecanismos de ação biológica, o design e a síntese de novos compostos com atividades biológicas mais seletivas, requerem a compreensão dos fatores que modificam as propriedades físico-químicas dos sistemas quinona.^{24,25}

A interação das naftoquinonas com os alvos biológicos ocorre através da formação de ligações covalentes ou pela sua capacidade de sofrer reações reversíveis de redução e oxidação.³ Na maioria dos casos, o modo de ação das quinonas está relacionado com a sua capacidade de aceitar um ou dois elétrões, para formar radicais aniônicos altamente reativos. Deste modo, as quinonas atuam como inibidores do transporte de eletrões, como desacopladores da fosforilação oxidativa, agentes intercalantes na dupla hélice do DNA, agentes alquilantes bio-redutores das biomoléculas ou produtores de espécies reativas de oxigénio (EROs) pelo ciclo redox em condições aeróbicas, responsáveis pelo stress oxidativo observado nas células.^{5,14,24}

As naftoquinonas podem sofrer ativação bio-redutora por três possíveis vias, isto é, uma redução de um eletrão, uma redução de dois eletrões, ou duas reações de redução de um eletrão. A redução de um eletrão produz uma seminaftoquinona, enquanto a redução de dois eletrões produz a hidronaftoquinona correspondente, estando estas duas espécies em equilíbrio. Este processo encontram-se esquematizado na Figura 1.3.^{11,26}

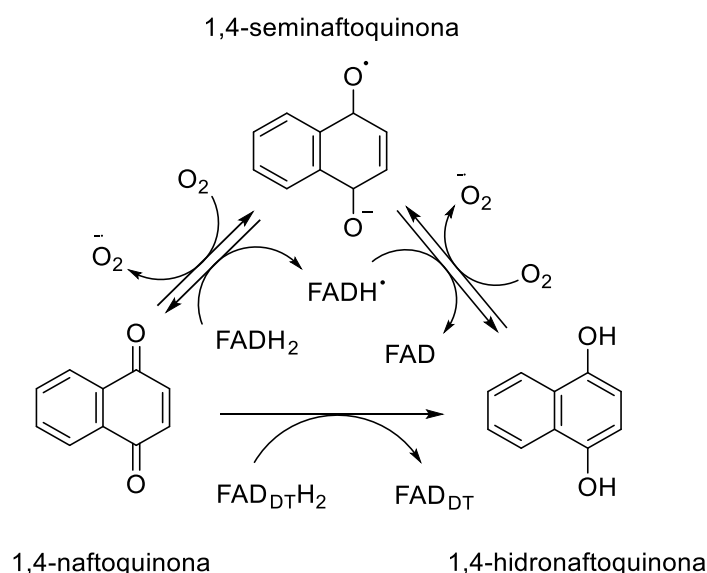


Figura 1.3 - Ciclo redox da 1,4-naftoquinona promovido pela Flavoenzima (FAD); DT-diaforase (FAD_{DT}).²⁶

Nas células, o ciclo redox das naftoquinonas é catalisado pela flavoenzima que estão envolvidas numa vasta gama de processos biológicos, tendo um papel central no metabolismo aeróbico.^{26,27}

Para além das hidronaftoquinonas estáveis, outros dois tipos de hidronaftoquinonas podem também ser formadas, hidronaftoquinonas lábeis que sofrem subsequentemente auto-oxidação com formação de EROs e hidronaftoquinonas que se reorganizam em eletrófilos potentes, participando em reações de bioalquilação.^{27,28}

A capacidade de uma naftoquinona para produzir EROs depende de vários parâmetros, por exemplo, o potencial de redução da naftoquinona, o pKa da hidronaftoquinona e a constante de estabilidade da seminaftoquinona. O potencial de redução deve ser elevado o suficiente para permitir uma redução eficiente da naftoquinona, contudo, naftoquinonas com maior potencial redox são, em geral, consideravelmente mais tóxicas do que outras com menor potencial redox.²⁶

1.1.2. Métodos de obtenção de naftoquinonas

1.1.2.1. Extração de produtos naturais

Devido ao interesse da comunidade científica nas propriedades das naftoquinonas e à sua abundância em diferentes plantas, muitos foram os procedimentos de extração e purificação relatados.²⁹

Uma tarefa crucial é a escolha de uma técnica de extração eficiente, incluindo solvente, tempo de extração e temperatura adequados.³⁰

Os métodos convencionais, como a maceração ou extração de Soxhlet, são amplamente utilizados para obter naftoquinonas a partir de extratos naturais. Estes métodos baseiam-se na utilização de solventes orgânicos, à temperatura ambiente ou com temperatura elevada e refluxo.³¹

Babula *et al.* testaram diferentes técnicas de extração da 1,4-naftoquinona, no entanto, o processo não se revelou eficaz porque esta naftoquinona não se encontra presente na natureza. A sua obtenção é conseguida por posterior tratamento dos derivados extraídos usando temperaturas e pressões altas.³²

A revisão bibliográfica revela que o procedimento de extração de Soxhlet é a técnica mais eficiente para a extração dos diferentes derivados, resultando num maior

rendimento. A alta eficiência da extração de Soxhlet pode ser explicada, considerando que o processo ocorre a uma temperatura relativamente alta, enquanto os restantes processos são realizados à temperatura ambiente. A utilização de solvente quente promove a passagem dos analitos da matriz vegetal para o solvente, aumentando a sua concentração no extrato final.³³

De acordo com diferentes autores, o metanol é o solvente mais adequado para a obtenção de maiores rendimentos, contudo o hexano fornece uma alta recuperação com maior grau de pureza.^{5,31,32} Considerando a utilização dos extratos em diferentes aplicações, também o dióxido de carbono supercrítico é de particular interesse como um fluido extrator não tóxico que é facilmente evaporado por descompressão.²⁹

Para reduzir ou eliminar o uso de solvente orgânico e melhorar o processo de extração, novos métodos de preparação de amostras têm sido amplamente estudados, como a extração assistida por micro-ondas, a sonificação e a extração acelerada de solvente. Estes métodos permitem uma extração eficiente de compostos bioativos de plantas, de modo a aumentar a sua funcionalidade terapêutica. Entre eles, a extração assistida por micro-ondas é considerada a técnica mais simples e económica, devido ao menor consumo de solvente e considerável redução no tempo de extração.^{30,34}

Um esforço importante tem vindo a ser feito para reduzir/eliminar o uso de solvente, eliminar etapas de purificação, fracionamento e pré-concentração atendendo às prerrogativas da Química Verde. Apesar dos avanços em relação à preparação da amostra, as técnicas de extração por solvente continuam a ser a opção mais comum.³⁵

1.1.2.2. Métodos de síntese da 1,4-naftoquinona

No início do século XX, Barret³⁶ relatou a síntese da 1,4-naftoquinona conseguida com rendimentos de 40% através da oxidação do naftaleno, como esquematizado na Figura 1.4. Neste método foram utilizadas condições agressivas com ácido crómico dissolvido em ácido acético aquoso 80% em banho de gelo. A precipitação da 1,4-naftoquinona, foi conseguida em água e o produto purificado por sublimação ou recristalização com álcool.

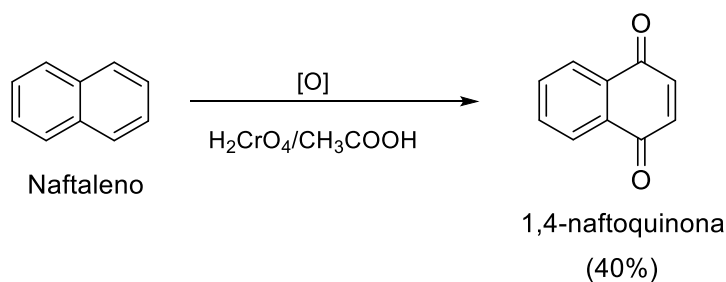


Figura 1.4 - Esquema reacional da oxidação do naftaleno.

Diferentes autores foram propondo métodos alternativos de síntese e atualmente, à escala laboratorial, é obtida por uma reação de Diels-Alder entre a *para*-benzoquinona e o 1,3-dieno. Os adutos são posteriormente oxidados por vários oxidantes (CrO_3 , H_2O_2 , NaClO_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) em meio ácido ou por oxigênio do ar em meio alcalino. A oxidação do aduto utilizando CrO_3 dá origem à 1,4-naftoquinona com rendimento de 66%.³⁷

A produção industrial da 1,4-naftoquinona é realizada pelo processo de Kawasaki por oxidação do naftaleno com gases contendo oxigênio a temperaturas entre 250 e 450 °C e pressões de 0,1 a 1 MPa, sobre um catalisador de pentóxido de vanádio. A reação possui uma conversão quase total do naftaleno, sendo obtidos 36% molar de 1,4-naftoquinona e 54% molar de anidrido ftálico. Além do catalisador mencionado, outros compostos podem ser utilizados como tais: ácido crômico, dióxido de chumbo, persulfato de amônio e íons de cério (IV).^{10,37}

A 1,4-naftoquinona pode ainda ser obtida industrialmente com rendimentos elevados (90%) por oxidação do 1-naftol com oxigênio na presença de complexos de cobalto.¹⁰

1.1.2.3. Síntese de derivados 2-N-1,4-naftoquinona

As 1,4-naftoquinonas substituídas na posição 2 com formação de uma ligação C-N (Figura 1.5) têm sido objeto de estudo ao longo do tempo devido às vastas propriedades medicinais e biológicas.^{38,39} A introdução de grupos substituintes azotados, tais como aminas aromáticas, alifáticas ou compostos heteroaromáticos, modifica a estrutura e as propriedades eletrônicas do núcleo da naftoquinona, bem como dos seus intermediários de redução.

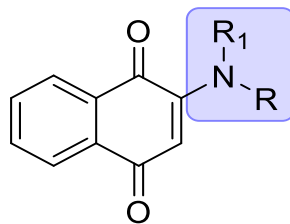


Figura 1.5 - Estrutura de derivados 2-*N*-1,4-naftoquinona.

As aminas aromáticas ou arilaminas são compostos orgânicos que contêm pelo menos um grupo amina ligado diretamente a um anel aromático. A atividade biológica destes compostos relaciona-se com a sua estrutura química e pela presença de grupos substituintes.^{40,41} De entre os derivados da anilina, os que possuem grupos substituintes -NH₂, -OH, -OCH₃, -Cl, -NO₂ e -CN destacam-se pela quantidade de trabalhos realizados relativamente às suas propriedades. O interesse nestas aminas resultou da revisão da literatura, onde se analisou o seu potencial de risco, tendo sido objeto de biomonitorização, dosimetria, epidemiologia e polimorfismo genético com objetivo de desenvolver estratégias para intervenção e prevenção de doenças.^{40,41}

As aminas alifáticas podem ser definidas como moléculas que apresentam na sua estrutura grupos amina separados com cadeias carbonadas hidrofóbicas. Estes compostos apresentam um crescente interesse na comunidade científica pela sua importância em processos biológicos vitais, tais como o normal crescimento e funcionalização das células por interações eletrostáticas ou covalente com macromoléculas, no meio biológico.⁴²⁻⁴⁴

Os compostos heterocíclicos são substâncias orgânicas cíclicas contendo, pelo menos, um heteroátomo no anel. Quando o heteroátomo é azoto apresentam uma ampla gama de propriedades físicas, químicas e biológicas de particular interesse em química medicinal, nomeadamente, na descoberta de novas moléculas bioativas potentes e seletivas.^{45,46} De entre os compostos heterocíclicos, os que contem 5 membros e 2 heteroátomos (imidazol e pirazol) e os de 6 membros e 1 heteroátomo (piridinas) são os que se destacam na amplitude de propriedades fisiológicas e farmacológicas. Apresentam solubilidade adequada, estabilidade química, capacidade de formação de ligações de hidrogénio e reduzido tamanho molecular, que permitem a sua absorção oral e biodisponibilidade.^{46,47}

O acoplamento de aminas ou compostos heterocíclicos azotados na estrutura da naftoquinona ocorre principalmente pela disponibilidade do par de eletrões no átomo de azoto do grupo amina, que é influenciada pela presença de grupos substituintes, afetando

a sua basicidade e conseqüentemente a sua nucleofilicidade. A tendência da basicidade dos grupos de aminas estudadas encontra-se esquematizada na Figura 1.6.

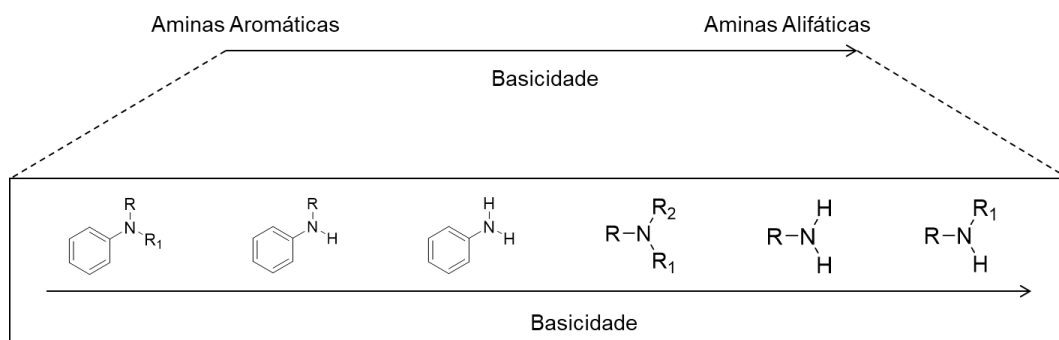


Figura 1.6 - Efeito da basicidade em aminas substituídas.

A basicidade das aminas aromáticas é mais fraca quando comparada com a das aminas alifáticas, devido à interação de ressonância do par não ligante do azoto com o sistema π do anel aromático. Para as aminas substituídas, a basicidade aumenta com a presença de grupos doadores de elétrons e diminui na presença de grupos aceptadores de elétrons.^{48,49} Este efeito é particularmente acentuado quando os grupos substituintes se encontram na posição *para*- do anel aromático, devido à maior conjugação com o grupo amina.

A tendência da basicidade do grupo de compostos heterocíclicos azotados estudado encontra-se esquematizada na Figura 1.7.

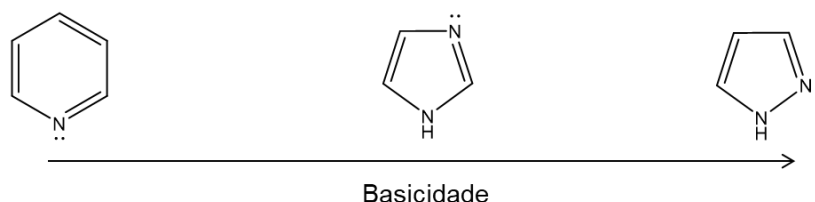


Figura 1.7 - Efeito da basicidade em compostos heterocíclicos azotados.

A basicidade da piridina é mais fraca quando comparada com o imidazol e ou pirazol, devido à presença de um único átomo de azoto que não integra o sistema π do anel aromático. Por sua vez quando formado um anião no imidazol/pirazol, a carga negativa pode ser distribuída igualmente pelos dois átomos de azoto presentes na molécula.

A síntese de derivados 2-N-1,4-naftoquinona encontra-se devidamente reportada e ocorre essencialmente através de duas estratégias. A primeira envolve uma reação de

adição de Michael entre o reagente 1,4-naftoquinona e as aminas utilizadas como agentes nucleófilos (Figura 1.8 **A**). A segunda envolve uma reação de substituição nucleófila aromática entre a 1,4-naftoquinona halogenada e os agentes nucleófilos (Figura 1.8 **B**).⁵⁰

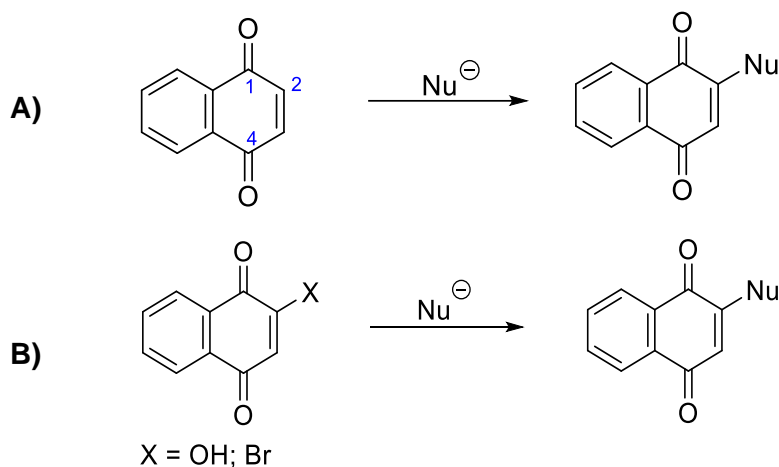


Figura 1.8 - Síntese de derivados 2-N-1,4-naftoquinona: **A)** Adição de Michael; **B)** Substituição nucleófila.

A estratégia de síntese mais comum é a adição de Michael, sendo que a reação ocorre com nucleófilos de oxigênio, enxofre, azoto, carbono e halogênio.^{51,52} As naftoquinonas são consideradas aceitadoras de Michael porque possuem um sistema carbonilo α,β -insaturado eletrofílico e também devido à sua capacidade de formar ligações covalentes com grupos nucleófilos.¹

Ainda assim, os rendimentos reportados são relativamente baixos devido à formação de produtos secundários.^{38,50}

De modo a potenciar a reação, Leya *et al.* testaram a utilização de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalisador na reação em etanol, ao refluxo. Os rendimentos foram francamente melhorados, relativamente aos obtidos nas reações sem catalisador.⁵³

López-López *et al.* realizaram a síntese de derivados de 2-anilino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona na presença de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e observaram um aumento nos rendimentos obtidos. A implementação da metodologia SAMO, apesar de originar uma diminuição de rendimento para alguns derivados, permitiu a diminuição do tempo de reação e redução dos processos de isolamento e purificação.³⁸

A síntese de derivados substituídos com compostos heterocíclicos azotados através de SAMO, foi realizada pelo grupo de Tapia *et al.* que definiu esta técnica como sendo valiosa para acelerar as taxas de reação e aumentar o rendimento das reações em geral.

1.2. Síntese assistida por micro-ondas

Nos últimos anos, os grupos dedicados à síntese química têm sofrido crescente pressão para produzir, de maneira ambientalmente benigna, uma vasta quantidade de compostos exigidos pela sociedade num curto espaço de tempo. Os métodos tradicionais de síntese orgânica envolvem processos de aquecimento convencional que são muito lentos para satisfazer a procura desses compostos. Sendo o resultado de uma reação orgânica dependente da energia empregue e da sua introdução no sistema, a preparação destes compostos depende da implementação de novas técnicas, ferramentas e estratégias sintéticas.⁵⁴

Entre as fontes disponíveis, a irradiação por micro-ondas atraiu considerável atenção nas últimas décadas pelo seu enorme potencial para fornecer energia controlada diretamente às moléculas de interesse, podendo ser uma alternativa para a simplificação e melhoria das condições de reação de muitos processos clássicos.^{55,56}

O primeiro equipamento de micro-ondas para uso em laboratório foi introduzido, em 1978, pela CEM® para aplicações analíticas na indústria alimentar. À medida que esta tecnologia se foi consolidando, a empresa desenvolveu equipamentos melhorados em sofisticação e utilidade, passando a incluir equipamentos para extração e síntese.⁵⁵

Os primeiros trabalhos científicos reportados sobre o uso e as vantagens da irradiação por micro-ondas para promover reações orgânicas foram publicados por Gedye *et al.*⁵⁷ e suportados por Giguere *et al.*⁵⁸ em 1986, dando início à aplicação bem-sucedida desta tecnologia na química em geral, e em particular, na síntese orgânica.⁵⁹

Um argumento apresentado na literatura é que, como as transformações assistidas por micro-ondas são tipicamente mais rápidas em comparação com processos de aquecimento convencional, estas são consideradas eficientes e, portanto, mais sustentáveis. Embora a velocidade da reação não seja mencionada especificamente como um princípio da química verde, pode-se alegar que uma reação rápida realizada em regime de temperatura elevada, requer possivelmente menos energia que uma transformação que necessita de tempos de reação significativamente mais longos a temperaturas mais baixas. Embora a eficiência energética não seja o único fator para o uso da tecnologia de micro-ondas, o consumo reduzido de energia é um fator essencial para tornar este processo economicamente viável.⁶⁰

A aceitação desta técnica tem vindo a ser importante para o desenvolvimento da química ambientalmente consciente à escala laboratorial, sendo que a otimização de muitos parâmetros de reação pode ser avaliada em poucas horas.^{55,61}

O aquecimento promovido por irradiação micro-ondas, em condições controladas, demonstrou ser uma tecnologia válida para aplicações em química medicinal e na indústria farmacêutica e biotecnológica, tendo o potencial de diminuir esforços tanto no desenvolvimento de bibliotecas de compostos, quanto na otimização de novos métodos, traduzindo-se numa melhoria em, pelo menos, três fases do processo de descoberta de fármacos.^{55,61}

A síntese assistida por micro-ondas pode ser realizada em solventes orgânicos e não orgânicos, em condições de vaso aberto ou vaso fechado. O procedimento mais comum envolve a utilização de vaso fechado, sob pressão e temperatura controladas.⁶²

Ao realizar a síntese, o protocolo usual é aquecer a mistura de reação até à temperatura desejada e mantê-la por um período de tempo, sendo isso conhecido como controlo de temperatura. Durante o estágio inicial de aquecimento, uma quantidade significativa de energia de micro-ondas é direcionada para a amostra, e após se ter atingido a temperatura definida, a energia diminui de modo a manter a temperatura desejada. Alternativamente pode, também, introduzir-se energia na mistura reacional através da irradiação a uma potencia constante, permitindo que a temperatura suba continuamente durante o curso da reação, sendo este processo conhecido como controlo de energia.⁵⁵

O aquecimento por micro-ondas é fundamentalmente diferente do aquecimento convencional, devido à interação da radiação eletromagnética com a matéria que conduz a um acoplamento energético ao nível molecular.⁵⁹ A forma pela qual estes dois tipos de aquecimento interagem com as moléculas durante a reação, é demonstrada na Figura 1.9.

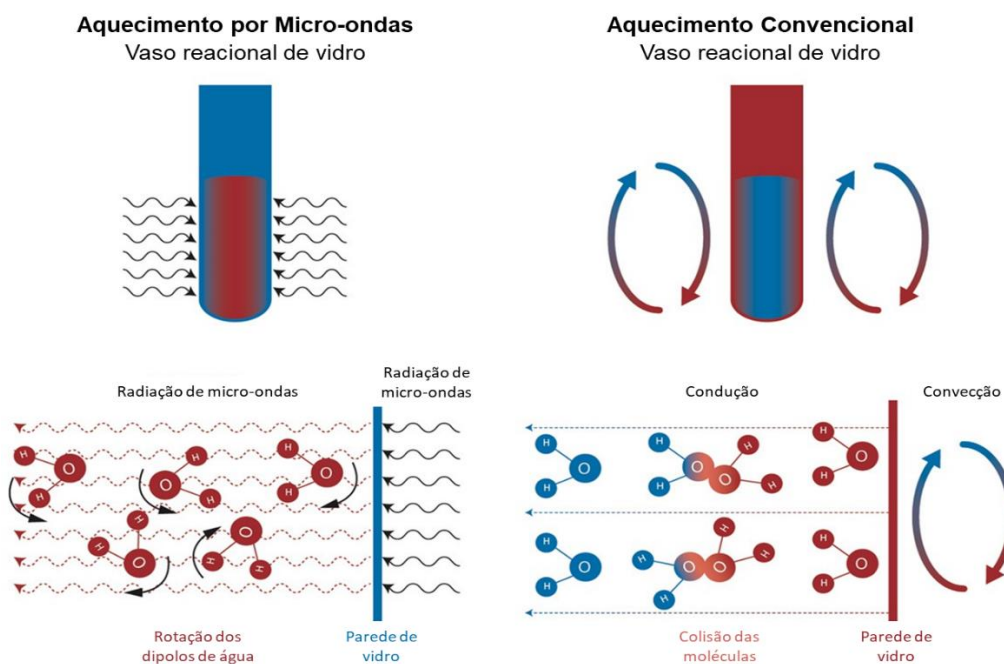


Figura 1.9 - Visão geral dos diferentes métodos de aquecimento.⁶³

Tradicionalmente, a síntese orgânica é realizada por aquecimento condutivo, com uma fonte de calor externa. Este método é relativamente lento e ineficiente para transferir energia para o sistema, pois esta é introduzida na superfície e transmitida por correntes de convecção e condutividade térmica, o que resulta numa temperatura do vaso de reação mais elevada que a da mistura reacional. Deste modo, este método depende fortemente de uma agitação eficiente para facilitar a distribuição de calor. Além disso, pode ser desenvolvido um gradiente de temperatura dentro da amostra e o superaquecimento que pode levar à decomposição de produto e/ou reagentes.^{55,59,61}

Ao contrário, a irradiação por micro-ondas produz aquecimento interno eficiente no núcleo, através do acoplamento direto da energia de micro-ondas com as moléculas presentes na mistura reacional. Além disso, esta tecnologia é seletiva e altamente dependente das propriedades do material, pois apenas os compostos que absorvem eficiente as micro-ondas têm a capacidade de transformar a radiação eletromagnética em calor e, assim, conduzir reações químicas. Como os vasos de reação empregues são tipicamente feitos de materiais transparentes, a radiação passa pelas paredes do vaso e existe uma inversão do gradiente de temperatura em comparação com o aquecimento térmico convencional.^{59,61}

As micro-ondas geram aquecimento rápido e intenso em substâncias polares, que possuem constantes dielétricas (ϵ) altas, enquanto que substâncias menos polares ou cristalinas, possuem constantes mais baixas e não absorvem a energia da micro-ondas.⁵⁶

A energia de micro-ondas não é ionizante e é fraca para quebrar ligações, pelo que não altera a estrutura molecular dos compostos que são aquecidos, nem induz reações por absorção direta da energia, fornecendo apenas ativação térmica.^{61,64}

Na síntese por micro-ondas, o mecanismo pelo qual a matéria absorve eficientemente a energia é designado de aquecimento dielétrico e o fator determinante para a utilização deste mecanismo são as propriedades elétricas das moléculas envolvidas.^{62,65}

Para a interpretação das propriedades elétricas envolvidas existem três parâmetros fundamentais a ter em conta na escolha das espécies envolvidas na reação: *i*) a constante dielétrica, ϵ , (grau em que uma molécula pode ser polarizada por um campo eletromagnético); *ii*) a perda dielétrica, ϵ' , (eficiência da conversão de micro-ondas em energia térmica); e *iii*) a tangente de perda, $\tan \delta = \epsilon'/\epsilon$, (capacidade do material de absorver energia de micro-ondas).⁵⁴

O principal efeito utilizado na síntese orgânica assistida por micro-ondas é o mecanismo de polarização dipolar. Para que este efeito seja verificado, as moléculas necessitam ter um momento dipolar, permanente ou induzido. A amostra quando exposta a frequências de micro-ondas, os seus dipolos alinham-se ao campo elétrico aplicado e à medida que o campo alterna, os dipolos tentam continuamente realinhar-se, no processo desenvolve-se energia cinética que resulta da rotação, movimento e colisão entre moléculas que, por sua vez, é convertida em energia térmica e, conseqüentemente, em calor.^{54,61,65}

O segundo efeito de aquecimento é o mecanismo de condução iónica e depende do tamanho e da carga dos iões presentes na solução. Durante a condução iónica, quando as partículas carregadas dissolvidas numa amostra oscilam sob a influência do campo de micro-ondas, estas colidem entre si e dessa colisão resulta agitação e movimento, que gera calor.⁵⁵

O aquecimento rápido e as temperaturas elevadas ocorrem com base na aplicação da lei de Arrhénius:⁶⁶

$$k = A \times e^{\left(-\frac{E_a}{R \times T}\right)}$$

A aplicação da expressão no aquecimento dielétrico permite que a irradiação por micro-ondas seja uma técnica eficaz para realizar reações que possuem altas energias de ativação, o que se traduz em temperaturas mais altas e tempos de reação mais curtos.^{55,67}

Na Figura 1.10 encontram-se alguns exemplos de setores industriais que utilizam a tecnologia de micro-ondas.

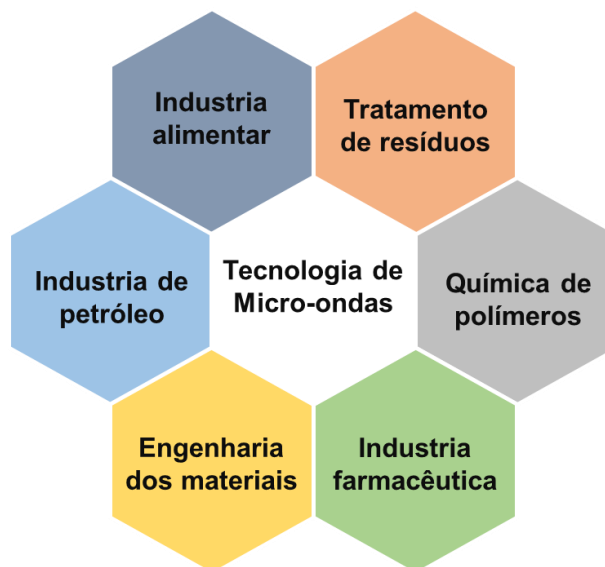


Figura 1.10 – Diferentes áreas de aplicação da tecnologia de micro-ondas.⁶⁰

A análise da literatura relativa à síntese orgânica assistida por micro-ondas sugere que quase todos os tipos de transformações químicas podem ser realizados, com sucesso, em condições de micro-ondas. No passado, os micro-ondas eram frequentemente usados apenas quando todas as outras opções para realizar uma reação específica tinham falhado, ou quando eram necessários tempos de reação excessivamente longos ou altas temperaturas. Essa prática tem vindo a mudar lentamente e, devido à crescente disponibilidade de reatores, têm sido testadas um maior número de reações químicas através deste método.⁶¹

Alguns exemplos de reações estudadas, com a utilização de irradiação de micro-ondas apresentam-se na Figura 1.11.

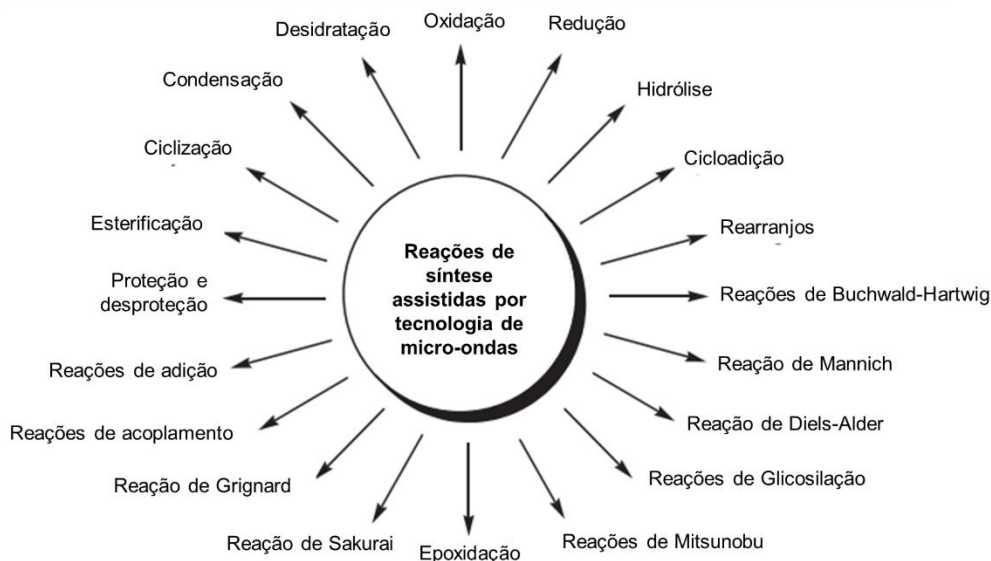


Figura 1.11 - Exemplos de reações orgânicas utilizando tecnologia de micro-ondas.^{68,69}

1.2.1. Vantagens e desvantagens da síntese por micro-ondas

Conforme referido, os métodos de síntese por aquecimento convencional geralmente requerem maiores tempos de aquecimento e preparação e montagens elaboradas, o que resulta em maior custo do processo e no uso excessivo de solventes e reagentes.⁶⁸

As várias vantagens da tecnologia de micro-ondas em relação ao aquecimento convencional são descritas abaixo.

Temperaturas elevadas e reações rápidas: com base em dados experimentais, verificou-se que as taxa de reação conduzidas por micro-ondas são aceleradas em até 1000 vezes comparativamente ao aquecimento convencional. Assim, reações que são conduzidas durante horas, podem ser concluídas em poucos minutos ou segundos.^{70,71}

Aquecimento uniforme e seletivo: no caso de aquecimento por micro-ondas, apenas o solvente e as moléculas da amostra são excitados, o que resulta num aquecimento uniforme do solvente e seletivo nas moléculas a reagir.⁶⁹

Alto rendimento e pureza do produto: o tempo de reação mais curto diminui a possibilidade de formação de produtos secundários, aumentando o rendimento do produto.^{69,71}

Síntese verde: uma consequência da elevada pureza do produto formado, é a redução na quantidade de solvente e reagentes utilizados durante a purificação do produto final. Uma vez que esta técnica aquece diretamente a amostra, o uso de solventes na reação química pode ser reduzido ou eliminado.^{60,69,71}

Economia de energia: no aquecimento por micro-ondas praticamente não há atraso térmico, o sistema pode operar quase imediatamente. Também o desativar da energia não possui atraso, ajudando na prevenção de fugas térmicas que podem resultar em subprodutos indesejados ou decomposição. Esta vantagem inclui ainda a não existência de decomposição térmica nas paredes, deste modo, o calor é desenvolvido onde é necessário.^{55,70}

Controlo preciso do processo e reprodutibilidade: a monitorização e ajustes das condições reacionais, são de fácil resposta, permitindo uma maior facilidade na otimização da reação e na sua reprodutibilidade.^{69,71}

Segurança: como apenas o material que está a ser processado é aquecido, não há perdas de calor significativas. Sendo que a reação se encontra fechada dentro do reator, há também um aumento na segurança dos operadores.⁵⁵

Limpeza do equipamento: existe uma diminuição no desperdício do recipiente de reação, diminuindo o desperdício durante a limpeza dos vasos. A capacidade de produção rápida e os materiais de construção permitem uma limpeza fácil para reutilização.⁷⁰

Custos: o método utiliza uma menor quantidade de solvente nas reações e purificações, o que conseqüentemente diminui os custos associados.⁵⁵

Embora a SAMO seja amplamente usada, existem, ainda, algumas limitações, de onde se destacam:

Aplicabilidade: o uso de micro-ondas como fonte de aquecimento tem aplicabilidade limitada aos materiais que as absorvem. As micro-ondas não conseguem aquecer materiais que são transparentes à sua radiação, ou materiais sensíveis ao calor.^{69,72}

Segurança: devido ao potencial de acidentes durante o transporte e armazenamento e ao risco elevado de explosão proveniente do uso impróprio do método, realização de reações em condições de alta pressão, e aglomeração de material sólido que pode revelar a existência de irregularidades submicroscópicas. O aumento da escala

aumenta, também, o risco de explosões no caso de reações exotérmicas não controladas.^{69,70,73}

Custos: apesar dos custos de manutenção relativamente baixos, os custos de investimento num equipamento de micro-ondas são altos.⁶²

Eficiência energética: foi verificado que apenas 20 a 30% da energia elétrica fornecida ao reator é convertida em energia térmica no aquecimento, contudo a utilização de vasos fechados, tempos de reação curtos e reatores multimodo com grandes volumes, podem aumentar esta eficiência.⁶⁰

Escalabilidade: o rendimento obtido com os equipamentos disponíveis no mercado é limitado a algumas gramas. Embora tenha havido desenvolvimentos relacionados à escalabilidade de equipamentos de micro-ondas, ainda existem lacunas que necessitam ser preenchidas.⁶⁹

Riscos de saúde: em exposição prolongada, a irradiação de micro-ondas pode resultar na degeneração dos tecidos e células do corpo, por penetração da radiação no corpo humano.⁶⁹

Assim, o objetivo fundamental da síntese orgânica assistida por micro-ondas é a aceleração de reações, a fim de evitar parâmetros de reação desfavoráveis, tornando assim as reações mais rápidas, limpas, seguras, ecológicas e melhorando o rendimento, seletividade e reprodutibilidade.^{54,56}

1.3. Análise *in silico*

Na última década, apenas alguns compostos, entre centenas de candidatos a fármacos, foram aprovados e chegaram, efetivamente, ao mercado. As principais causas para o insucesso são a falta de eficácia no seu metabolismo e as fracas características farmacocinéticas, incluindo a toxicidade, e resultam de uma análise aprofundada tardia, isto é, até que um número limitado de compostos candidatos tenha sido identificado, tornando, assim, difícil a realização de modificações estruturais.⁷⁴⁻⁷⁶

Uma melhor compreensão da relação entre a estrutura química dos potenciais fármacos e as suas interações com alvos biológicos, permite a seleção dos compostos mais promissores, permitindo priorizar os candidatos e reduz desta forma o custo e o tempo envolvido no seu desenvolvimento.^{77,78}

As técnicas *in silico*, surgiram como uma possível alternativa para os estudos experimentais. Estas técnicas recorrem a sistemas e modelos computacionais, e são consideradas uma ferramenta de triagem, que simula as principais propriedades farmacocinéticas de um composto bioativo, incluindo a análise de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET), nos estágios iniciais de descoberta e desenvolvimento de fármacos.^{78,79}

As principais vantagens da utilização destes métodos prendem-se com a diminuição no tempo de análise e custos associados, o aumento da eficiência e eficácia na avaliação de risco ambientais e humanos, substituição ou melhoramento dos testes em animais, e rapidez na recolha e construção de bibliotecas de compostos.^{75,76,79}

1.3.1. Estudo ADMET

Durante o processo de desenvolvimento de novos fármacos é comum realizar-se um estudo de previsão de propriedades ADMET *in silico* com o intuito de avaliar o perfil farmacocinético, grau de toxicidade, reduzir os gastos com ensaios biológicos e otimizar o tempo de produção.⁸⁰

Os parâmetros ADMET são baseados na cinética de exposição de um fármaco aos tecidos, como afetam o corpo humano e como o corpo descarta o fármaco por absorção, distribuição, metabolismo e excreção, influenciando o desempenho e a atividade farmacológica do composto. Assim, este método fornece uma visão preliminar sobre o comportamento de um composto farmacêutico dentro de um organismo (Figura 1.12).^{74,81}

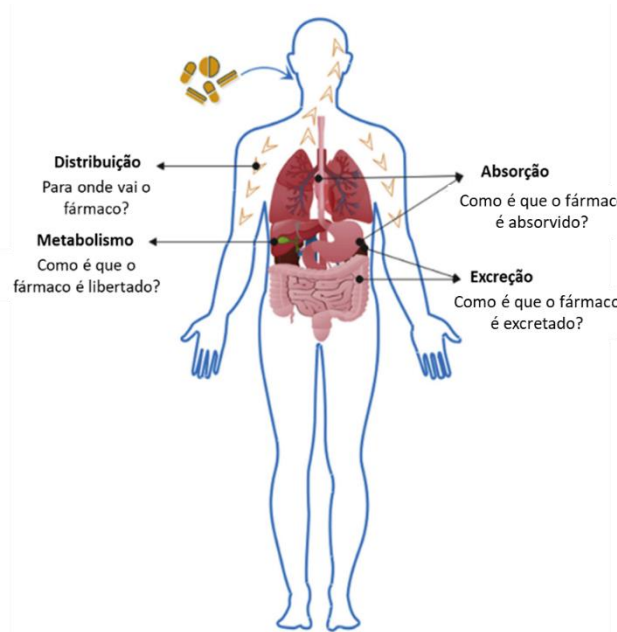


Figura 1.12 - Esquema representativo dos parâmetros ADME.⁸²

Os parâmetros analisados num estudo ADMET são:

Absorção: Transferência do local de administração para a corrente sanguínea e a extensão em que isso ocorre.⁸³

Distribuição: Processo pelo qual os fármacos são transportadas para locais de ação extravasculares pela corrente sanguínea, após a sua absorção.^{80,83}

Metabolismo: Processo de degradação enzimática de um fármaco em metabolitos que são posteriormente eliminados do corpo.⁸⁰

Excreção: Após o fármaco ser ingerido e distribuído pelo corpo, deve ser posteriormente removido, para que as suas concentrações não aumentem com cada dose sucessiva.⁸³

Toxicidade: Medida de potenciais efeitos adversos causados pelo fármaco em humanos, animais e meio ambiente por exposição aguda ou múltipla.⁸⁴

Na análise dos parâmetros farmacológicos, é avaliada a biodisponibilidade oral teórica do produto pela “Regra dos Cinco” criada por Christopher A. Lipinski⁸⁵, que possui como base cinco regras simples que estão relacionadas às propriedades moleculares de um composto, nomeadamente, coeficiente de partição octanol-água (LogP), massa molecular (MM), área de superfície polar topológica (TPSA), grupos aceptores de ligação de hidrogénio (nOH) e grupos doadores de ligação de hidrogénio (nOHNH).⁷⁴

No entanto, Lipinski considera como exceções compostos que agem como transportadores biológicos, podendo ser vitaminas, antibióticos, antifúngicos e glicosídeos.⁸⁵

Os *softwares* atualmente existentes, que são utilizados para a determinação e análise dos dados de farmacocinética e toxicocinética, encontram-se disponíveis tanto para acesso livre como existem outros mais detalhados com a necessidade de aquisição licença. De notar que os resultados obtidos por estes programas resultam de uma procura por compostos semelhantes nas respetivas bases de dados. Os programas utilizados neste trabalho foram: OSIRIS Property Explorer (Organic Chemistry Portal)⁸⁶, Molinspiration (Molinspiration Cheminformatics)⁸⁷ e admetSAR (Cheng *et al.* 2012)⁷⁵.

É neste contexto que se enquadra este trabalho, que pretende contribuir para o desenvolvimento de métodos ambientalmente mais favoráveis, utilizando a tecnologia de micro-ondas para a obtenção de diferentes derivados da 1,4-naftoquinona, com possíveis propriedades medicinais. De modo a verificar as potencialidades dos compostos sintetizados enquanto compostos ativos, foram realizados estudos eletroquímicos, avaliação da atividade antioxidante e análise *in silico*.

CAPÍTULO 2

OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE SÍNTESE

2. Otimização das condições de síntese

O presente trabalho teve início com a seleção e caracterização dos reagentes e agentes nucleófilos a utilizar como pares de reação, na síntese assistida por micro-ondas (SAMO), com vista à obtenção de derivados da 1,4-naftoquinona (1,4NQ) e 5-hidroxi-1,4-naftoquinona (5OH1,4NQ) substituídos na posição 2. Foram testadas duas estratégias de síntese, adição de Michael e substituição nucleófila aromática, com auxílio de catalisadores básicos, CaCO_3 , K_2CO_3 e NaHCO_3 .

Procedeu-se à otimização das condições reacionais e, selecionados esses parâmetros, realizou-se a síntese dos compostos pretendidos que foram, posteriormente, purificados e caracterizados por diferentes técnicas instrumentais. Efetuou-se ainda a avaliação das propriedades redox, antioxidante e estudos *in silico*.

2.1. Reagentes

Nas reações de adição de Michael utilizaram-se como reagentes a 1,4NQ e a 5OH1,4NQ e nas reações de substituição nucleófila, os reagentes 2OH1,4NQ e 2Br1,4NQ.

As estruturas das naftoquinonas utilizadas como reagentes encontram-se representadas na Figura 2.1.

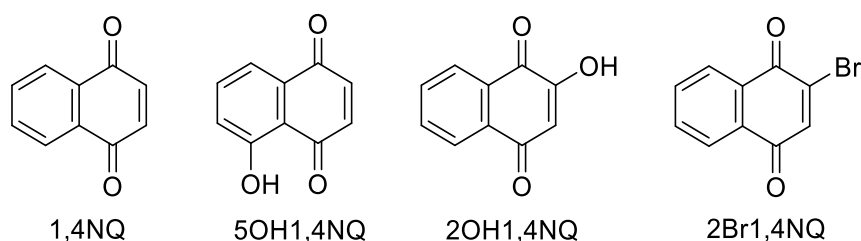


Figura 2.1 - Estruturas moleculares das naftoquinonas utilizadas como reagentes.

2.2. Agentes nucleófilos

Selecionaram-se aminas primárias, aromáticas e alifáticas, e compostos heteroaromáticos, de acordo com a sua natureza química e importância biológica relatada anteriormente. Estes compostos foram organizados em três diferentes conjuntos, de acordo com a sua estrutura, designadamente: Grupo 1: Aminas aromáticas, Grupo 2: Aminas alifáticas e Grupo 3: Compostos heterocíclicos azotados.

Grupo 1 - Este conjunto compreende 6 aminas aromáticas *para*-substituídas e 3 aminas aromáticas *orto*-substituídas.

Aminas aromáticas *para*-substituídas: Este subconjunto engloba 3 aminas aromáticas substituídas por grupos doadores de elétrons: 1,4-fenilenodiamina (1,4PDA), 4-aminonfenol (4AP) e 4-metoxianilina (4MA) e três substituídas por grupos aceitadores de elétrons: 4-aminobenzonitrilo (4ABN), 4-cloroanilina (4CIA) e 4-nitroanilina (4NA), cujas estruturas e valores de pK_a calculados pelo método de Marvin (ChemAxon) se apresentam na Figura 2.2.⁸⁸

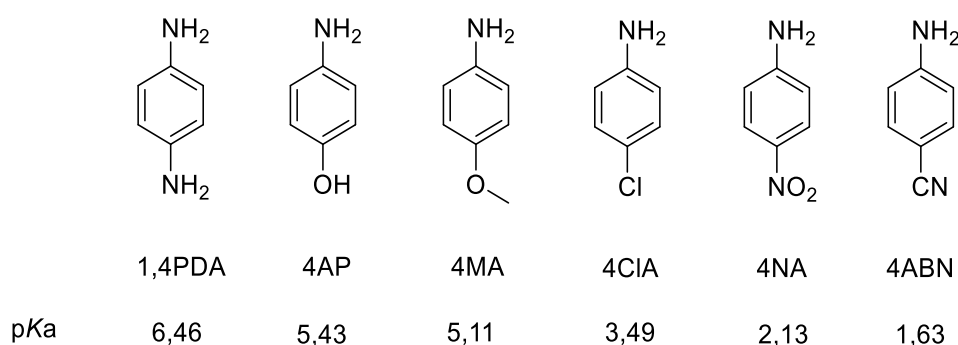


Figura 2.2 - Estruturas moleculares e valores de pK_a das aminas aromáticas *para*-substituídas.

Aminas aromáticas *orto*-substituídas: Este subconjunto engloba três aminas aromáticas *orto*-substituídas, designadamente: 1,2-fenilenodiamina (1,2PDA), 2-aminonfenol (2AP) e 2-metoxianilina (2APA), cujas estruturas moleculares e valores de pK_a calculados pelo método de Marvin (ChemAxon) se apresentam na Figura 2.3.⁸⁸

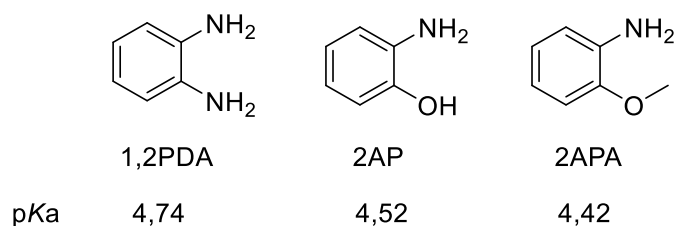


Figura 2.3 - Estruturas moleculares e valores de pK_a das aminas aromáticas *orto*-substituídas.

Grupo 2 - Aminas alifáticas: Este subconjunto é composto por cinco aminas alifáticas, nomeadamente a *n*-butilamina (BA), etilenodiamina (EDA), dietilamina (DEA) e aminoacetoneitrilo (AACN), cujas estruturas e valores de pK_a calculados pelo método de Marvin (ChemAxon) se apresentam na Figura 2.4.⁸⁸

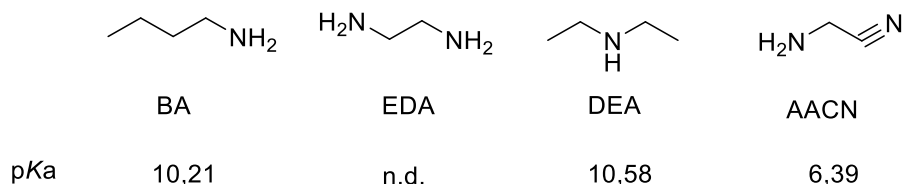


Figura 2.4 - Estruturas moleculares e valores de pKa das aminas alifáticas.

Grupo 3 - Compostos heterocíclicos azotados: Este subconjunto engloba dois derivados da piridina, designadamente a 2,3-diaminopiridina (2,3DAPA) e a 2-amino-3-hidroxipiridina (3APA). Utilizaram-se também dois compostos com núcleo central de cinco membros, pirazol e imidazol, cujas estruturas e valores de pKa calculados pelo método de Marvin (ChemAxon) se apresentam na Figura 2.5.⁸⁸

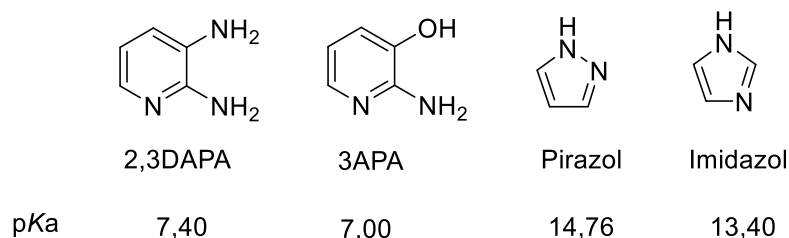


Figura 2.5 - Estruturas moleculares e valores de pKa dos compostos heterocíclicos azotados.

2.3. Estratégias gerais de síntese

De acordo com o referido foram testadas duas estratégias de síntese:

1ª Estratégia: Reação de adição de Michael

Utilizaram-se como reagentes a 1,4NQ e a 5OH1,4NQ para promover a adição nucleófila dos diferentes compostos selecionados como pares, de acordo com o definido na Figura 2.6.

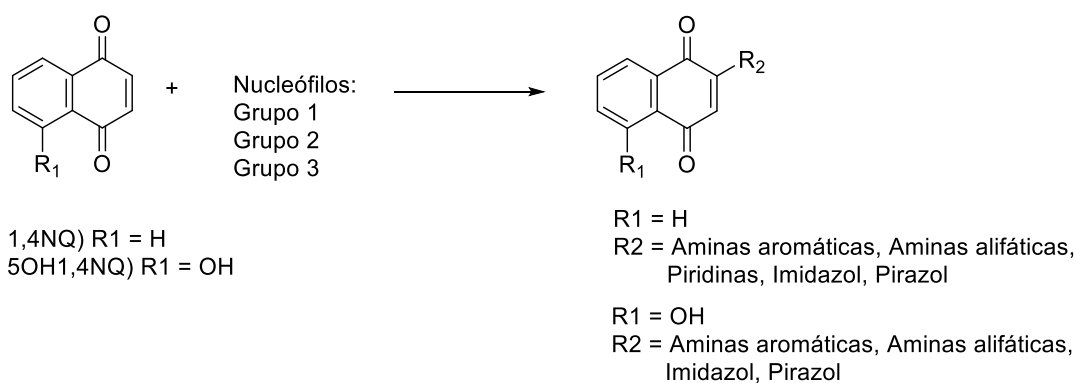


Figura 2.6 - Esquema reacional geral para obtenção de derivados da 1,4NQ e da 5OH1,4NQ.

No entanto, os resultados obtidos nas reações com os compostos do grupo 3 não se revelaram promissores. A utilização de catalisadores básicos (CaCO_3 , K_2CO_3 e NaHCO_3) foi testada, não tendo sido observadas melhorias no processo de síntese. Admite-se que este facto esteja relacionado com a menor basicidade destes compostos quando comparadas com os compostos dos grupos 1 e 2.

Nas reações com o imidazol e pirazol tentou-se ainda contornar a situação potenciando a sua nucleofilicidade por desprotonação dos compostos com NaHCO_3 numa primeira etapa e posterior adição nucleófila numa segunda etapa de acordo com o apresentado no esquema da Figura 2.7.

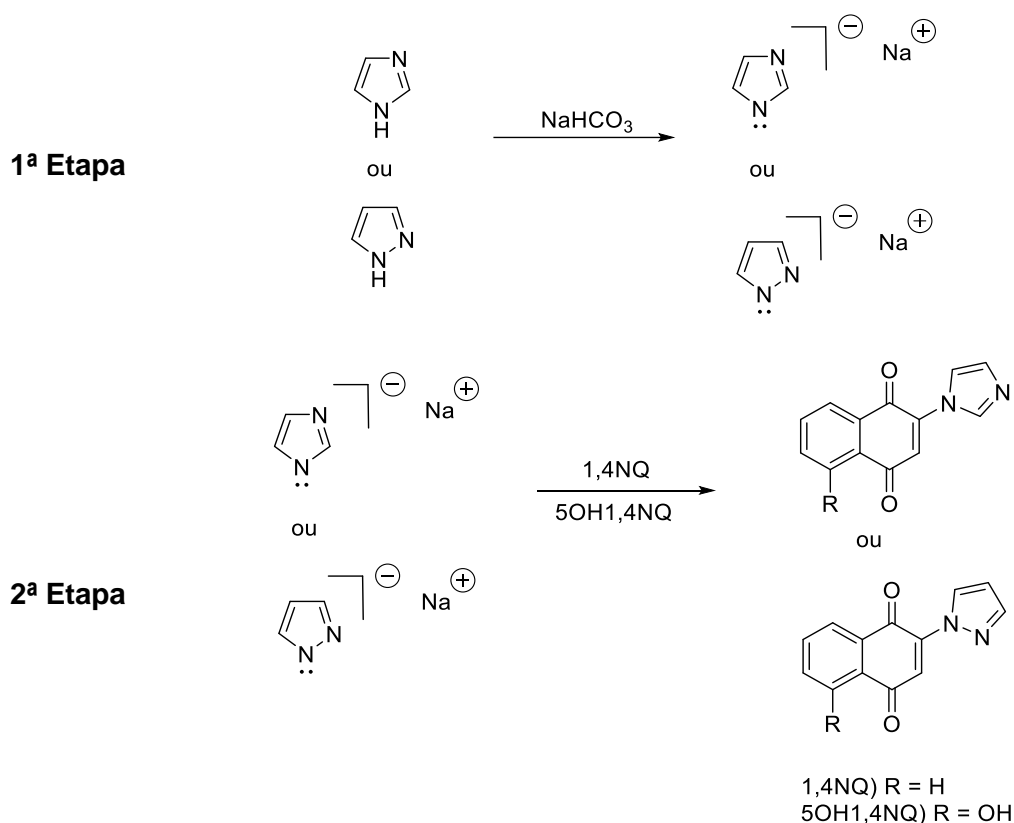


Figura 2.7 - Esquema reacional da desprotonação do imidazol e pirazol (**1ª Etapa**), seguida de uma reação de adição nucleófila com os reagentes (**2ª Etapa**).

Ainda assim, estas reações não foram bem sucedidas, o que obrigou à alteração da estratégia de síntese.

2ª Estratégia: Reação de substituição nucleófila

Os reagentes 2OH1,4NQ e 2Br1,4NQ foram utilizados para promover a formação dos derivados do grupo 3 por substituição nucleófila de acordo com o esquema da Figura 2.8.

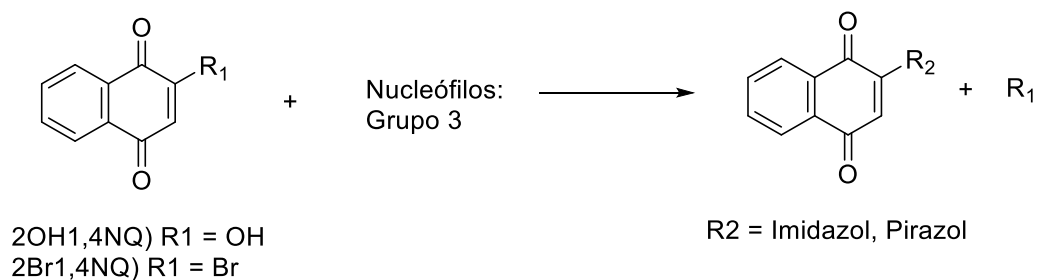


Figura 2.8 - Esquema reacional geral para obtenção de derivados da 1,4NQ com compostos heterocíclicos.

Ainda assim, as reações testadas não foram bem sucedidas e os resultados obtidos levaram ao abandono dos compostos do grupo 3, não tendo sido possível obter os derivados pretendidos.

2.4. Parâmetros reacionais

A otimização das condições reacionais para a SAMO foi realizada com o reagente 1,4NQ e a 1,4PDA (grupo 1) como agente nucleófilo. As reações de *screening* iniciais foram realizadas com quantidades equimolares em diferentes solventes (etanol, acetona e acetonitrilo) e na ausência de solvente. A água não foi considerada devido à insolubilidade da 1,4NQ. Definiu-se como temperatura de trabalho 150 °C e potência de 200 W, fazendo-se variar o solvente e o tempo de reação. Como estratégia para aumentar a nucleofilicidade das arilaminas foram testados diferentes catalisadores básicos, designadamente CaCO₃, K₂CO₃, NaHCO₃.

As reações foram monitorizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e as conversões obtidas apresentam-se na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Conversões obtidas nas reações de otimização da SAMO da 1,4NQ com a 1,4PDA.

| Solvente | Tempo (min) | Conversão (%) ⁽¹⁾ | |
|--------------|-------------|------------------------------|-------------------|
| | | Sem catalisador | CaCO ₃ |
| Etanol | 5 | 26 | 68 |
| | 10 | 4 | 73 |
| Acetona | 5 | - | 17 |
| | 10 | - | 13 |
| Acetonitrilo | 5 | 20 | 76 |
| | 10 | 14 | 72 |
| Sem solvente | 5 | - | - |
| | 10 | 66 | 56 |

⁽¹⁾ P= 200W, T= 150 °C, 1 eq catalisador básico; Conversões calculadas por HPLC

A análise dos resultados mostra que o tempo de reação de 5 minutos demonstrou ser o suficiente para a realização das reações com irradiação de micro-ondas.

No que se refere aos catalisadores básicos estudados, (CaCO_3 , K_2CO_3 e NaHCO_3), o CaCO_3 revelou ser o único eficiente para o aumento da nucleofilicidade, dado que a utilização dos restantes nos diferentes solventes não permitiu a formação do produto de acoplamento, tendo-se detetado a degradação do reagente inicial, tal como é observado pelos cromatogramas obtidos na Figura 2.9.. Considerando a basicidade inerente da 1,4PDA e a tendência da utilização de catalisadores básicos, seria, tal como observado, expectável que a utilização destes tivesse um impacto positivo na formação dos produtos obtidos.

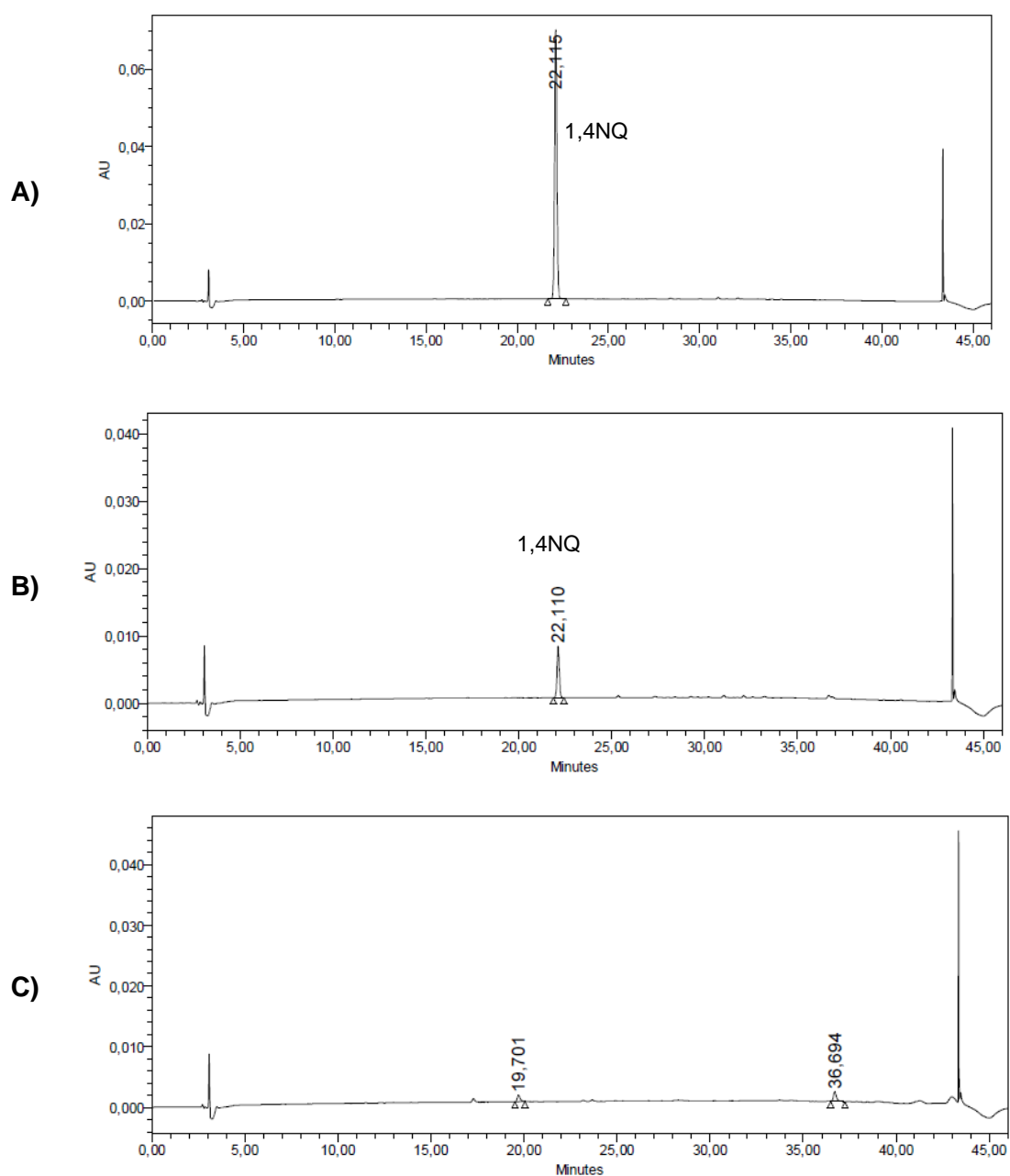


Figura 2.9 - Cromatogramas da 1,4NQ com diferentes catalisadores básicos: **A)** Reagente sem catalisador; **B)** Reagente com CaCO_3 ; **C)** Reagente com NaHCO_3 .

Para os três solventes testados, a utilização de CaCO_3 melhorou significativamente a conversão do reagente, sendo que o acetonitrilo revelou ser o melhor solvente, o que está de acordo com a sua natureza polar-aprótica, conhecida por aumentar a nucleofilicidade, e com o facto de, entre os solventes testados, ser aquele com maior constante dielétrica (ϵ).⁸⁹

A reação sem solvente também se revelou eficaz, tendo-se obtido uma conversão de 66% no produto esperado, na ausência de catalisador. Ainda assim, selecionaram-se como condições ótimas: 5 minutos, acetonitrilo e 1 eq. CaCO_3 .

A mesma abordagem foi realizada utilizando-se o reagente 5OH1,4NQ e a 1,4PDA. Contudo, verificou-se que as reações não foram eficazes na presença dos catalisadores básicos estudados (CaCO_3 , NaHCO_3 e K_2CO_3). Admite-se que o aumento de pH provoca uma degradação do reagente, tornando inviável a utilização de catalisadores básicos.⁹⁰ Estas reações foram promovidas nas seguintes condições: 5 minutos, acetonitrilo e sem catalisador.

CAPÍTULO 3

SÍNTESE E

CARACTERIZAÇÃO

3. Síntese e Caracterização

3.1. Síntese dos derivados da 1,4-naftoquinona

Com as condições ótimas definidas procedeu-se à SAMO dos compostos desejados, tal como esquematizado na Figura 3.1. Pretendia-se obter um total de 13 compostos derivados da 1,4NQ, dos quais 12 foram devidamente purificados e as suas estruturas elucidadas. De forma a validar o método efetuou-se, para alguns exemplos, a síntese pelo método por aquecimento convencional ao refluxo, discutindo-se de seguida os resultados obtidos.

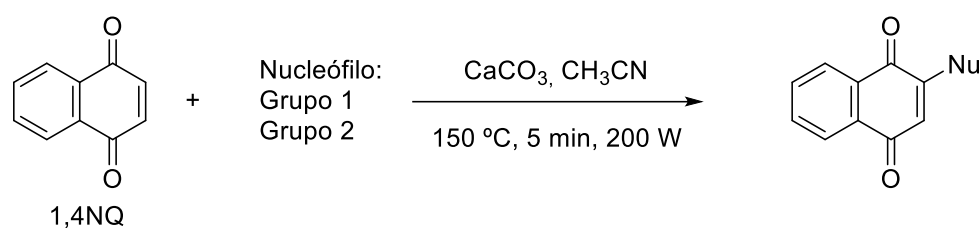


Figura 3.1 - Esquema geral das condições de reação dos derivados da 1,4-naftoquinona.

3.1.1. Derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona

As reações promovidas com as aminas aromáticas *para* e *orto*-substituídas, apresentadas no Grupo 1, foram realizadas nas condições ótimas definidas para a SAMO e pelo método por aquecimento convencional (acetonitrilo, 24 horas ao refluxo com CaCO_3), de acordo com o procedimento descrito no Capítulo 5 Parte Experimental. As rotas de síntese apresentam-se esquematizadas na Figura 3.2.

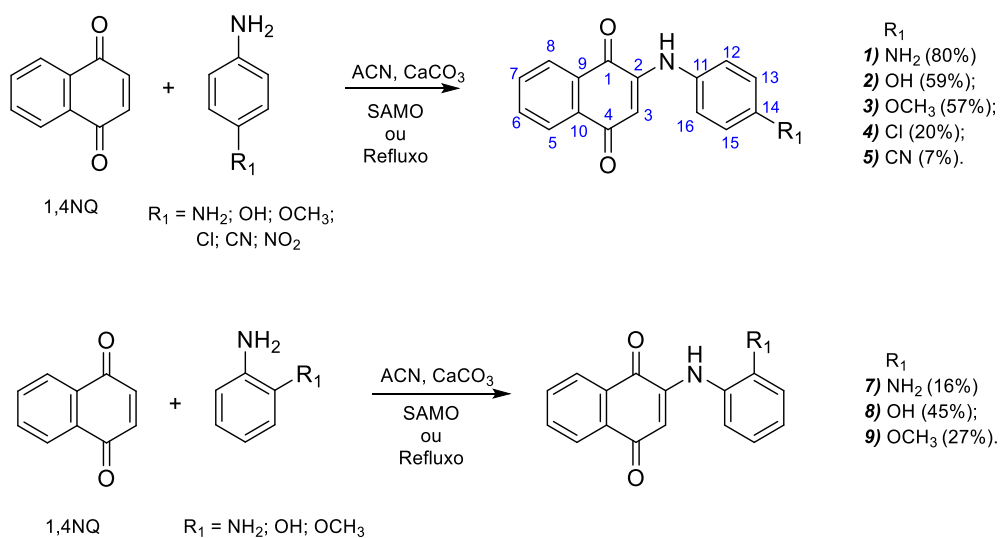


Figura 3.2 - Esquema reacional para obtenção dos derivados da 1,4NQ substituídos com aminas aromáticas.

As reações foram monitorizadas por HPLC e as conversões obtidas, nos respectivos produtos de acoplamento, resumem-se na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Conversões obtidas na SAMO e método de aquecimento convencional para os derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona.

| Composto | Amina aromática | Conversão (%) ⁽¹⁾ | |
|----------|-----------------|------------------------------|---|
| | | SAMO ⁽²⁾ | Aquecimento Convencional ⁽³⁾ |
| 1 | 1,4-PDA | 80 | 42 (2h) |
| | | | 61 (24h) |
| | | | |
| 2 | 4-AP | 59 | 55 (2h) |
| | | | 64 (4h) |
| | | | 67 (24h) |
| 3 | 4-MA | 57 | -- |
| 4 | 4-CIA | 20 | -- |
| 5 | 4-ABN | 7 | -- |
| 6 | 4-NA | - | -- |
| 7 | 1,2-PDA | 16 | 4 (2h) |
| | | | 6 (4h) |
| | | | 5 (24h) |
| 8 | 2-AP | 45 | 37 (2h) |
| | | | 57 (4h) |
| 9 | 2-APA | 27 | -- |

(1) Conversões calculadas por HPLC

(2) V_{acetone} = 1 mL; V_{água} = 1 mL; P = 200 W; T = 150 °C; t = 5 min; 1 eq de CaCO₃

(3) V_{acetone} = 25 mL; V_{água} = 25 mL; Refluxo; T = 70 °C; t = 24 h; 1 eq de CaCO₃

A análise dos resultados permite concluir que, nas condições testadas, o processo de SAMO permitiu a formação dos derivados 2-*N*-alquilamino-1,4-naftoquinona (**1-5** e **7-9**). À exceção do composto **6**, todos os outros foram obtidos em 5 minutos de reação, enquanto que na síntese por aquecimento convencional, nas condições testadas neste trabalho, só foi possível obter os compostos **1**, **2**, **7** e **8**. Um estudo conduzido por Leyva *et al*⁵³ onde se utilizou a técnica de irradiação por ultrassons, para produzir compostos semelhantes, revela que, também, essa técnica permite obter maiores rendimentos em menores espaços de tempo (8 horas) que o método de aquecimento convencional utilizado no estudo (7 dias ao refluxo em etanol). Estes autores reportam rendimentos de 95%, 93% e 80%, para os compostos **3**, **9** e **4**, respetivamente, ao fim de 8 horas de irradiação por ultrassons. Apesar de os resultados serem mais elevados que os reportados neste trabalho o tempo de reação necessário é consideravelmente superior.

De acordo com o esperado, e conforme se pode verificar pelos resultados obtidos, nas reações SAMO com aminas aromáticas *para*-substituídas (derivados **1** a **6**), é evidente, que a presença de grupos doadores de elétrons substituintes beneficia a reação de adição nucleófila, cujas conversões, nos produtos de acoplamento pretendidos, foram consideravelmente superiores (57 - 80%) às obtidas nas reações com aminas aromáticas substituídas com grupos aceitadores de elétrons (0 – 20%). Quanto maior o efeito doador do grupo substituinte maior a basicidade da amina, sendo espectável que a reação de adição nucleofílica seja mais favorável.

No que se refere à posição dos grupos substituintes nas aminas aromáticas, verifica-se que as conversões obtidas para os derivados substituídos com aminas aromáticas *para*-substituídas (**1-5**) são superiores às obtidas para os derivados substituídos com aminas aromáticas *orto*-substituídas (**7-9**). Admite-se que este facto esteja relacionado com a menor basicidade das aminas aromáticas *orto*-substituídas, quando comparada com a basicidade das suas semelhantes *para*-substituídas. Apesar da utilização de um catalisador básico em ambas as reações, a sua ação não terá sido suficiente para promover a reação de ataque nucleófilo, com as aminas aromáticas *orto*-substituídas. Admite-se também que o impedimento estereoquímico possa ter contribuído para a diferença de resultados observada.

3.1.1.1. Caracterização estrutural dos derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona (1** a **5** e **7** a **9**)**

A caracterização estrutural foi feita pela análise conjunta dos espectros das experiências 1D (^1H e ^{13}C) e 2D (HSQC e HMBC) de RMN.

A análise dos espectros de ^1H -RMN ($\text{MeOD-}d_4$) obtidos para os derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona (**1-5**) permitiu identificar um perfil semelhante para os compostos isolados, constituído pela presença de dois dupletos, dois tripletos e um singuleto, sinais referentes aos prótons na região $\delta = 6,00$ a $8,21$ ppm, consistentes com o carácter aromático do núcleo central da 1,4NQ e a presença de dois dupletos na região $\delta = 6,76$ a $7,42$ ppm referentes ao carácter aromático da amina *para*-substituída acoplada à 1,4NQ.

Na Figura 3.3 encontra-se o espectro de ^1H -RMN do composto **1** como exemplificação do perfil observado. A frequências mais altas, nomeadamente $\delta = 8,02$ a $8,12$ ppm, são identificados os dois dupletos atribuídos às ressonâncias dos prótons

aromáticos mais próximos às ligações C=O (H₈ e H₅) e conseqüentemente mais desblindados. No intervalo de $\delta = 7,70$ a 7,82 ppm são identificados os dois tripletos correspondentes aos prótons aromáticos H₆ e H₇ que se encontram mais blindados devido ao seu maior afastamento dos grupos carbonilo. O singuleto a $\delta = 6,01$ ppm, refere-se ao próton H₃, indicando que ocorreu formação de uma ligação na posição 2. Este próton encontra-se entre o grupo carbonilo e o substituinte acoplado, assim, tendo em conta que o substituinte é um grupo doador, existe um efeito de ressonância que torna este próton mais blindado em relação aos anteriores.

Os prótons referentes às aminas aromáticas *para*-substituídas apresentam-se no intervalo de $\delta = 7,50$ e 6,50 ppm, sendo caracterizados por dois dupletos. Uma vez que as aminas *para* são simétricas, cada sinal é referente a 2 prótons, logo o duplete a $\delta = 7,10$ ppm foi atribuído aos prótons H₁₂ e H₁₆ e o duplete a $\delta = 6,80$ ppm foi atribuído aos prótons H₁₃ e H₁₅.

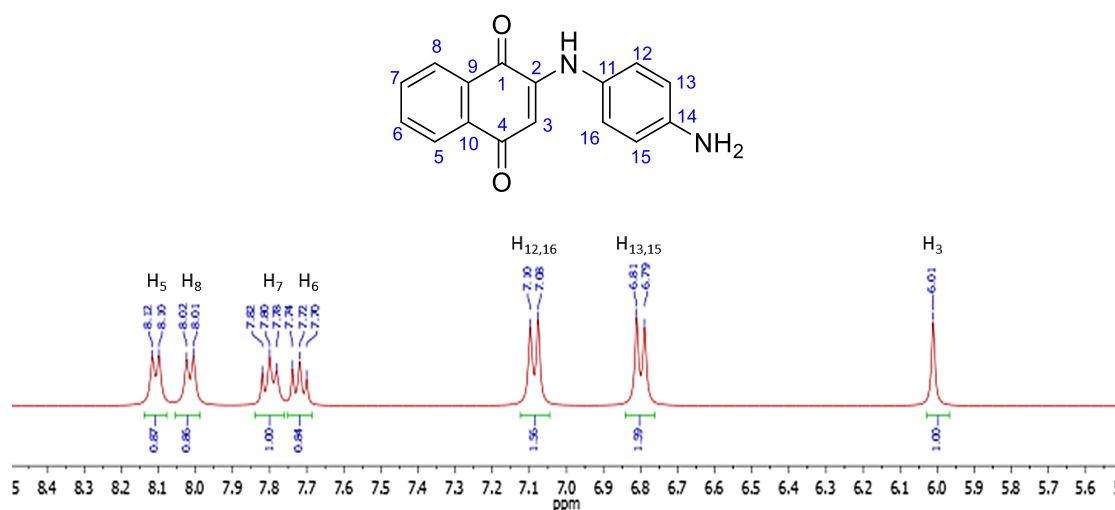


Figura 3.3 - Espetro ¹H-RMN (300 MHz) do composto **1** em MeOD-*d*₄.

Dos espectros de ¹³C-RMN conseguidos, foi possível identificar 2 regiões onde se acumulam os sinais de carbono, conforme se apresenta no exemplo da Figura 3.4 para o composto **1**.

Os sinais a frequências mais elevadas ($\delta > 180$ ppm) são atribuídos às ressonâncias C₄ e C₁, respetivamente. Estes carbonos encontram-se mais desblindados na zona dos grupos carbonilo e a atribuição das ressonâncias foi feita através das correlações observadas no espetro bidimensional de HMBG (Figura 3.5). A uma frequência mais elevada encontra-se também o carbono quaternário C₂ que pelo efeito de proximidade com o substituinte e com um dos grupos carbonilo se encontra desblindado. No intervalo de $\delta = 126,5$ a 147,7 ppm encontram-se os carbonos aromáticos do núcleo da 1,4NQ,

seguidos dos carbonos aromáticos da amina aromática *para*-substituídas, para estes últimos encontram-se apenas dois sinais de carbono, devido à simetria da amina já discutida, assim cada sinal corresponde a 2 carbonos simétricos. Na frequência mais baixa encontra-se o sinal C₃, atribuído por correlação direta no espectro de HSQC (não apresentado).

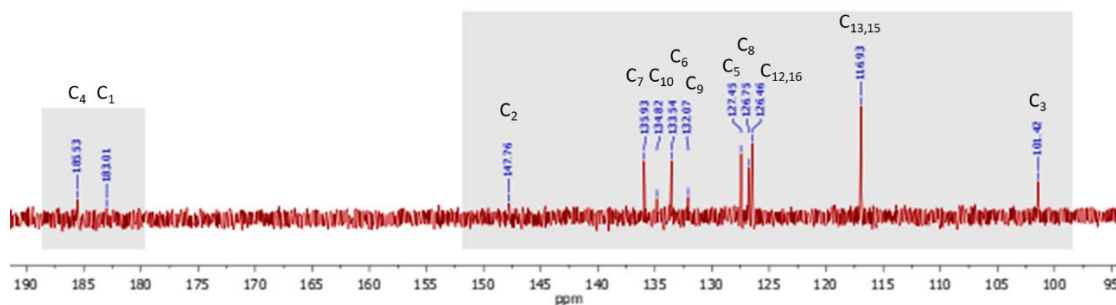


Figura 3.4 - Espectro ¹³C-RMN (300 MHz) do composto **1** em MeOD-*d*₄.

A análise do espectro da experiência bidimensional de HMBC (Figura 3.5) permitiu atribuir os sinais com base nas correlações ³J_{CH} e ²J_{CH} encontradas.

O singuleto a $\delta = 6,01$ ppm, correspondente a H₃, permitiu definir que o sinal a $\delta = 183,0$ ppm corresponde ao C₁, pela correlação ³J_{CH}. Definido C₁, C₄ foi atribuído ao sinal a $\delta = 185,5$ ppm. Também C₁ encontra correlação ³J_{CH} com o duplete a $\delta = 8,02$ ppm, o que permitiu definir o sinal correspondente a H₈ e posteriormente definir H₅. Através da definição destes prótons e das suas correlações ³J_{CH}, foram atribuídos os sinais $\delta = 133,5$ e $135,9$ ppm aos carbonos C₇ e C₆, respetivamente. A correlação ³J_{CH} do próton H₃, permitiu ainda atribuir o sinal $\delta = 134,8$ ppm a C₁₀. Pela correlação ³J_{CH} com o próton H₇, foi possível definir o sinal a $\delta = 132,1$ como sendo C₉.

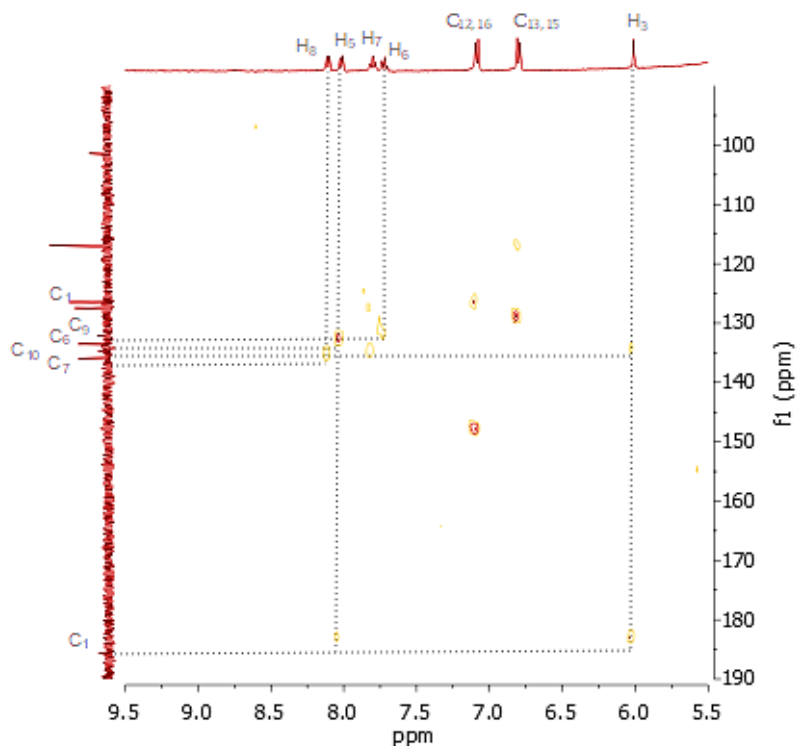


Figura 3.5 - Espectro bidimensional HMBC (300 MHz) do composto **1** em MeOD-*d*₄.

Os espectros obtidos para cada um dos compostos sintetizados foram analisados de forma semelhante e os dados espectroscópicos apresentam-se na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Dados de ^1H e ^{13}C -RMN (MeOD- d_4) para derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona (1 a 5).

| Posição | Composto 1 | | Composto 2 | |
|------------------|---------------------------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | ^1H (δ , m, J) | ^{13}C (δ) | ^1H (δ , m, J) | ^{13}C (δ) |
| 1 | - | 183,0 | - | 182,9 |
| 2 | - | 147,8 | - | - |
| 3 | 6,01 (s, 1H) | 101,4 | 6,0 (s, 1H) | 101,7 |
| 4 | - | 185,5 | - | 185,6 |
| 5 | 8,11 (d, 1H, 7,2 Hz) | 127,5 | 8,11 (d, 1H, 7,7 Hz) | 127,4 |
| 6 | 7,72 (t, 1H, 7,4 Hz) | 133,5 | 7,70 (t, 1H, 7,5 Hz) | 133,6 |
| 7 | 7,80 (t, 1H, 7,8 Hz) | 135,9 | 7,80 (t, 1H, 7,5 Hz) | 135,9 |
| 8 | 8,02 (d, 1H, 7,5 Hz) | 126,8 | 8,02 (d, 1H, 7,6 Hz) | 126,8 |
| 9 | - | 132,1 | - | 130,4 |
| 10 | - | 134,8 | - | 132,1 |
| 11 | - | - | - | - |
| 12, 16 | 7,09 (d, 2H, 8,6 Hz) | 126,5 | 7,17 (d, 2H, 8,8 Hz) | 126,9 |
| 13, 15 | 6,81 (d, 2H, 8,6 Hz) | 116,9 | 6,87 (d, 2H, 8,8 Hz) | 117,1 |
| 14 | - | - | - | 157,2 |
| Posição | Composto 3 | | Composto 4 (*) | Composto 5 (*) |
| | ^1H (δ , m, J) | ^{13}C (δ) | ^1H (δ , m, J) | ^1H (δ , m, J) |
| 1 | - | 182,8 | - | - |
| 2 | - | - | - | - |
| 3 | 6,02 (s, 1H) | 101,9 | 7,08 (s, 1H) | 6,22 (s, 1H) |
| 4 | - | 185,6 | - | - |
| 5 | 8,09 (d, 1H, 7,6 Hz) | 127,4 | 8,21 (d, 1H, 7,8 Hz) | 8,31 (d, 1H, 7,8 Hz) |
| 6 | 7,70 (t, 1H, 7,5 Hz) | 133,6 | 7,76 (t, 1H, 7,6 Hz) | 7,65 (t, 1H, 7,2 Hz) |
| 7 | 7,78 (t, 1H, 7,5 Hz) | 135,8 | 7,86 (t, 1H, 7,6 Hz) | 7,82 (t, 1H, 7,2 Hz) |
| 8 | 8,0 (d, 1H, 7,7 Hz) | 126,8 | 8,09 (d, 1H, 7,8 Hz) | 8,05 (d, 1H, 7,8 Hz) |
| 9 | - | 132,1 | - | - |
| 10 | - | 133,2 | - | - |
| 11 | - | 129,4 | - | - |
| 12, 16 | 7,25 (d, 2H, 8,8 Hz) | 126,7 | 7,42 (d, 2H, 8,8 Hz) | 7,48 (d, 2H, 9,0 Hz) |
| 13, 15 | 7,00 (d, 2H, 8,8 Hz) | 115,8 | 6,76 (d, 2H, 8,8 Hz) | 7,35 (d, 2H, 9,0 Hz) |
| 14 | - | 159,4 | - | - |
| OCH ₃ | 3,82 (s, 3H) | 56,0 | - | - |

 (*) Não foi possível obter espectro de ^{13}C .

A análise efetuada por espectrometria de massa corroborou as caracterizações das estruturas propostas para os compostos **1**, **2**, **3**, **4** e **5**. Os espectros de massa em modo positivo apresentam um pico principal a m/z 265, 266, 280, 284 e 275, respetivamente, atribuídos às respetivas moléculas protonadas $[M+H]^+$. A dissociação das espécies protonadas deu origem aos iões fragmento a m/z 237, 238, 252, 256 e 247, respetivamente, em concordância com a perda de CO. A título de exemplo apresenta-se na Figura 3.6 o espectro ESI(+)-MS² da molécula protonada do composto **1** onde é evidente a perda de CO.

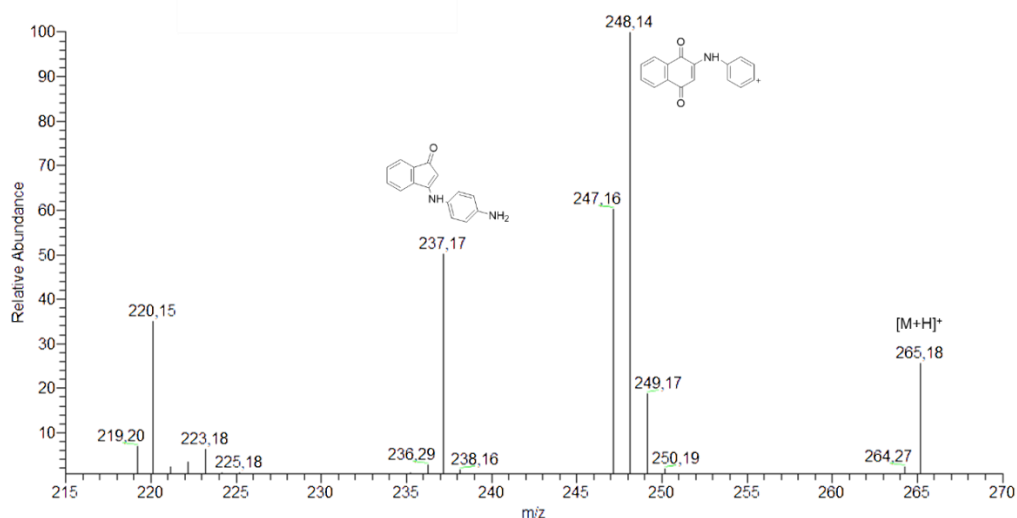


Figura 3.6 - Espectro ESI(+)-MS² da molécula protonada m/z 265 do composto **1**.

A análise complementar por espectroscopia de IV confirmou a presença dos grupos carbonilo pela sua banda característica na região dos 1670 cm^{-1} . As ligações duplas das estruturas aromáticas são identificadas por três bandas na região entre 1629 e 1568 cm^{-1} . E a formação da nova ligação C-N estabelecida é confirmada pela presença de uma banda média observada na região entre 1299 e 1234 cm^{-1} , para os compostos **1** a **5**.

Foi realizada uma análise semelhante para os compostos **7**, **8** e **9** substituídos com aminas aromáticas *orto*-substituídas. Os dados espectroscópicos dos derivados 2-*N*-arilamino-1,4-Naftoquinona (**7-9**) substituídos com aminas aromáticas *orto*-substituídas, apresentam-se na Tabela 3.3.

A identificação dos sinais para os prótons e carbonos aromáticos pertencentes ao anel da 1,4NQ segue um perfil idêntico ao já discutido para os compostos anteriores. A diferença nos sinais observados para estes derivados é consequência da orientação *orto* dos substituintes.

No espectro ^1H -RMN, esses sinais são detetados no intervalo de $\delta = 7,4$ e $6,8$ ppm, onde se encontram 2 dupletos e 2 tripletos. Os sinais a frequências mais altas são atribuídos aos prótons mais próximos dos grupos substituintes, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ e $-\text{OCH}_3$, que correspondem aos prótons H_{12} e H_{14} , nas frequências mais baixas do intervalo, os sinais existentes são atribuídos os prótons H_{13} e H_{15} . A título de exemplo, na Figura 3.7 encontra-se o espectro ^1H -RMN para o composto **8** e respectiva análise.

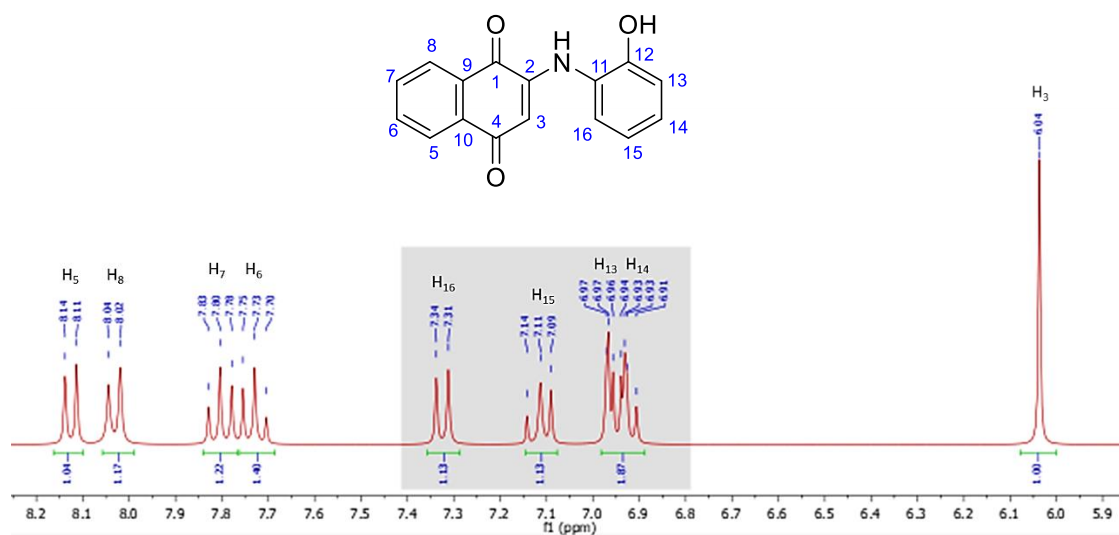


Figura 3.7 - Espectro ^1H -RMN (300 MHz) do composto **8** em $\text{MeOD}-d_4$.

Tabela 3.3 - Dados de ^1H e ^{13}C -RMN (MeOD- d_4) para derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona (**7** a **9**).

| Posição | Composto 7 ^(*) | Composto 8 | | Composto 9 ^(*) |
|---------|----------------------------------|---------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| | ^1H (δ , m, J) | ^1H (δ , m, J) | ^{13}C (δ) | ^1H (δ , m, J) |
| 1 | - | - | 182,8 | - |
| 2 | - | - | - | - |
| 3 | 6,08 (s, 1H) | 6,04 (s, 1H) | 103,1 | 6,09 (s, 1H) |
| 4 | - | - | 185,7 | - |
| 5 | 8,29 (d, 1H, 8,4 Hz) | 8,13 (dd, 1H, 7,4 Hz) | 126,3 | 8,12 (d, 1H, 7,5 Hz) |
| 6 | 8,02 (m, 2H) | 7,73 (t, 1H, 7,5 Hz) | 134,6 | 7,75 (t, 1H, 7,5 Hz) |
| 7 | 8,02 (m, 2H) | 7,80 (t, 1H, 7,5 Hz) | 132,0 | 7,81 (t, 1H, 7,8 Hz) |
| 8 | 8,17 (d, 1H, 8,4 Hz) | 8,03 (dd, 1H, 7,6 Hz) | 124,8 | 8,05 (d, 1H, 8,7 Hz) |
| 9 | - | - | - | - |
| 10 | - | - | 133,7 | - |
| 11 | - | - | - | - |
| 12 | - | - | 151,9 | - |
| 13 | 7,08 (d, 1H, 7,8 Hz) | 6,97 (t, 1H, 8,2 Hz) | - | 7,13 (d, 1H, 8,2 Hz) |
| 14 | 6,99 (t, 1H, 7,7 Hz) | 6,93 (t, 1H, 7,4 Hz) | - | 7,06 (t, 1H, 7,7 Hz) |
| 15 | 7,17 (t, 1H, 7,7 Hz) | 7,11 (t, 1H, 8,5 Hz) | 126,8 | 7,25 (t, 1H, 7,9 Hz) |
| 16 | 7,24 (d, 1H, 7,8 Hz) | 7,32 (d, 1H, 7,8 Hz) | - | 7,40 (d, 1H, 7,9 Hz) |

(*) Não foi possível obter espectro de ^{13}C .

A análise efetuada por espectrometria de massa corroborou as caracterizações das estruturas propostas para os compostos **7**, **8** e **9**. Os espectros de massa em modo positivo apresentam um pico principal a m/z 265, 266 e 280, atribuídos às respectivas moléculas protonadas $[\text{M}+\text{H}]^+$. A dissociação das espécies protonadas deu origem aos iões fragmento a m/z 237, 238 e 252, respetivamente, em concordância com a perda de CO.

A análise complementar por espectroscopia de IV confirmou a existência dos grupos carbonilo da naftoquinona pela identificação da sua banda característica na região dos 1670 cm^{-1} , ainda da naftoquinona as ligações duplas da estrutura aromática são identificadas pelas três bandas na região entre 1624 e 1573 cm^{-1} . A formação da nova ligação C-N é confirmada pela banda média representativa da ligação C-N a 1292 cm^{-1} .

3.1.2. Derivados 2-*N*-alquilamino-1,4-naftoquinona

Os derivados 2-*N*-alquilamino-1,4-naftoquinona (**10** a **13**) foram obtidos por SAMO nas condições selecionadas no processo de otimização. Também neste caso se realizou uma síntese através do método de aquecimento convencional ao refluxo, como forma de validação do método SAMO, de acordo com o procedimento descrito no Capítulo 5 Parte Experimental e esquematizado na Figura 3.8.

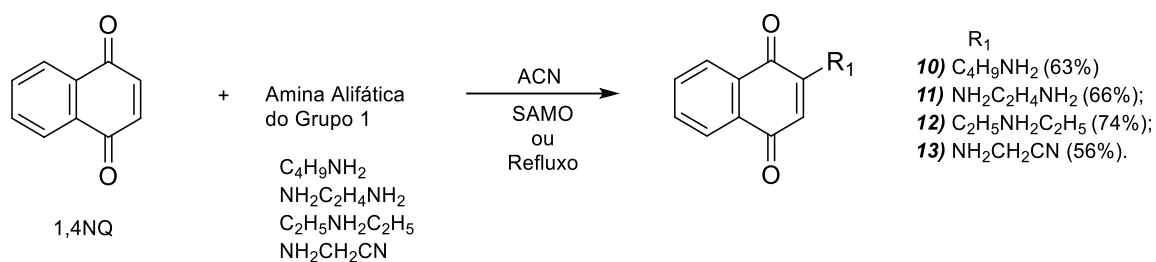


Figura 3.8 - Esquema reacional das reações entre 1,4NQ e aminas alifáticas.

As reações foram monitorizadas por HPLC e as conversões obtidas, nos produtos de acoplamento desejados, são apresentadas na Tabela 3.4.

É de notar que as reações entre 1,4NQ e os agentes nucleófilos alifáticos ocorreram na presença de CaCO₃, no entanto, verificou-se que as conversões obtidas ficaram abaixo do expectável, ocorrendo a formação de outros produtos secundários que não foram identificados. Uma vez que as aminas alifáticas apresentam nucleofilia superior às aminas aromáticas, testou-se as reações na ausência de CaCO₃. Com os resultados obtidos, verificou-se que, na generalidade, as conversões foram melhoradas, à exceção do agente nucleófilo AACN (composto **13**).

Tabela 3.4 - Conversões obtidas na SAMO e método de aquecimento convencional para os derivados 2-*N*-alquilamino-1,4-naftoquinona.

| Composto | Amina alifática | Conversão (%) ⁽¹⁾ | | |
|-----------|-----------------|------------------------------|---------------------|---|
| | | Com CaCO ₃ | Sem catalisador | |
| | | SAMO ⁽²⁾ | SAMO ⁽³⁾ | Aquecimento Convencional ⁽⁴⁾ |
| 10 | BA | 54 | 63 | - |
| 11 | EDA | 5 | 66 | 62 (2h) 82 (4h) 80 (24h) |
| 12 | DEA | 15 | 74 | - |
| 13 | AACN | 61 | 56 | - |

⁽¹⁾ Conversões calculadas por HPLC

⁽²⁾ V_{acetoneitrilo} = 1 mL; V_{água} = 1 mL; P = 200 W; T = 150 °C; t = 5 min; 1 eq de CaCO₃

⁽³⁾ V_{acetoneitrilo} = 2 mL; P = 200 W; T = 150 °C; t = 5 min

⁽⁴⁾ V_{acetoneitrilo} = 50 mL; Refluxo; T = 70 °C; t = 24 h

Verifica-se que, ao final de 5 minutos, as conversões de reagente, nos respectivos produtos de acoplamento desejados, nas reações realizadas por SAMO, são superiores a 55%, validando a aplicação deste método à síntese dos compostos desejados. Também neste grupo de reações o método de aquecimento convencional conduz à formação dos compostos desejados com conversões semelhantes ao fim de 2h de reação.

3.1.2.1. Caracterização estrutural dos derivados 2-*N*-alquilamino-1,4-naftoquinona (**10 a 13**)

A caracterização estrutural foi feita pela análise conjunta dos espectros das experiências 1D (¹H e ¹³C) e 2D (HSQC e HMBC) de RMN. De acordo com o esperado, observou-se a existência de um padrão comum nos compostos **10**, **11**, **12** e **13**.

A análise dos espectros de ¹H-RMN (MeOD-*d*₄) obtidos para os derivados 2-*N*-alquilamino-1,4-naftoquinona (**10-13**) permitiu identificar um perfil semelhante para os compostos isolados, constituído pela presença de dois dupletos, dois tripletos e um singuleto, sinais referentes aos prótons na região δ = 5,63 a 8,19 ppm, consistentes com o caráter aromático do núcleo central da 1,4NQ e a presença de sinais a frequências

inferiores a $\delta < 4,11$ ppm referentes aos prótons das correspondentes aminas alifáticas acopladas.

Na Figura 3.9 encontra-se o espectro de ^1H -RMN do composto **10**, com ampliação das regiões $\delta = 7,50 - 8,25$ ppm e $\delta = 0,75 - 2,0$ ppm, como exemplificação do perfil observado.

A frequências elevadas, nomeadamente $\delta = 8,01$ a $7,97$ ppm, são identificados os dois dupletos atribuídos aos prótons aromáticos mais próximos às ligações de carbonilo (H_5 e H_8 , respetivamente) e no intervalo de $\delta = 7,58$ a $7,71$ ppm são identificados os dois tripletos correspondentes aos prótons aromáticos H_7 e H_6 . Ainda na região dos aromáticos é identificado um singuleto a $\delta = 5,68$ ppm, referente ao próton H_3 , indicando que existiu formação de uma ligação na posição 2 da naftoquinona. Os prótons referentes ao substituinte alifático encontram-se a frequências mais baixas, com os sinais esperados para cada composto. Para o composto **10**, identifica-se um tripleto correspondente aos prótons H_{11} , dois multipletos dos prótons de H_{12} e H_{13} e um segundo tripleto, correspondente aos prótons H_{14} . Para o composto **11**, identificam-se dois tripletos referentes aos prótons H_{11} e H_{12} . E para o composto **12**, identifica-se um multipletto referente aos prótons simétricos H_{11} e H_{11}' e um tripleto atribuído aos prótons H_{12} e H_{12}' .

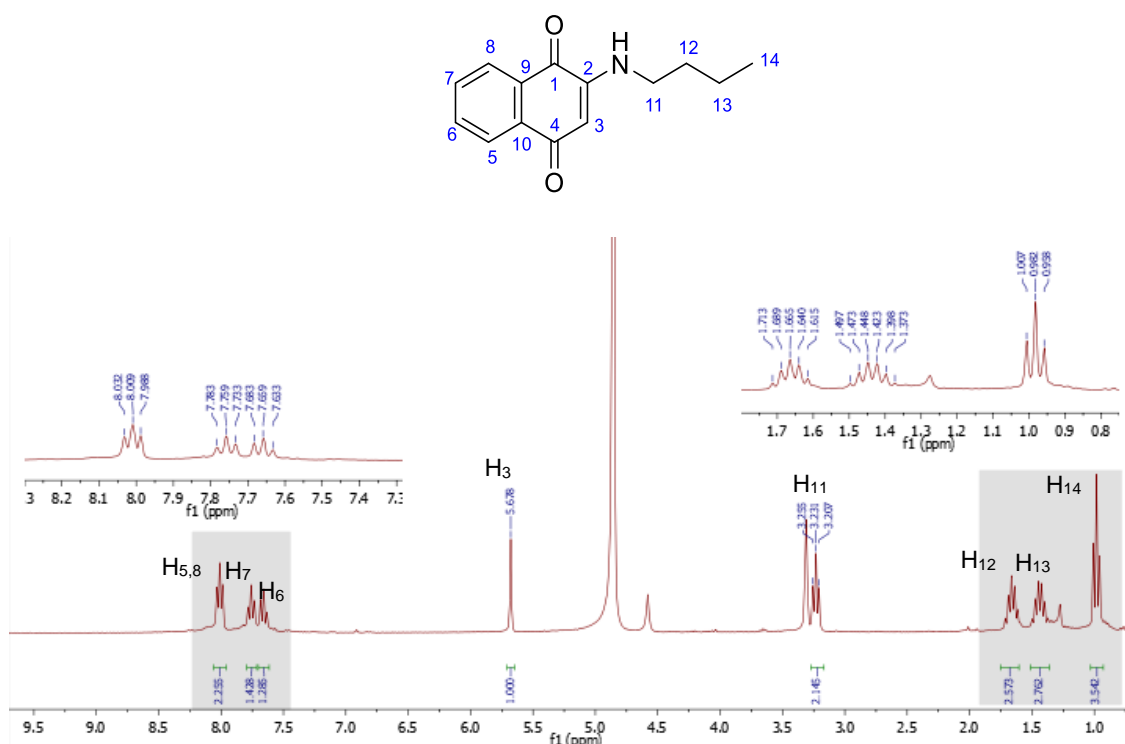


Figura 3.9 - Espectro ^1H -RMN (300 MHz) do composto **10** em MeOD-d_4 .

Nos espectros de ^{13}C -RMN foi possível identificar 3 regiões onde se distribuem os sinais de carbono esperados, conforme se apresenta no exemplo da Figura 3.10 para o composto **10**.

A frequências mais altas, entre $\delta = 190,0$ e $180,0$ ppm, encontram-se os 2 sinais dos carbonos dos grupos carbonilo, atribuídos com base no sinal de acoplamento encontrado com o próton H_3 no espectro obtido pela experiência bidimensional de HMBC (Figura 3.11). Também a frequência mais alta, nomeadamente a $\delta = 150,8$ ppm, encontra-se o carbono quaternários C_2 atribuído com base no sinal de acoplamento com o próton H_{11} no espectro da experiência bidimensional de HMBC. Na região entre $\delta = 91,9$ e $139,8$ ppm, encontram-se os 7 sinais referentes aos carbonos aromáticos, atribuídos através das correlações obtidas de $^1\text{J}_{\text{CH}}$ com as frequências dos respectivos prótons no espectro da experiência bidimensional de HSQC (não apresentado). Nas frequências mais baixas, encontram-se os sinais respectivos ao substituinte alifático, a atribuição foi realizada pelas correlações nos espectros das experiências bidimensionais de HSQC (não apresentado) e HMBC.

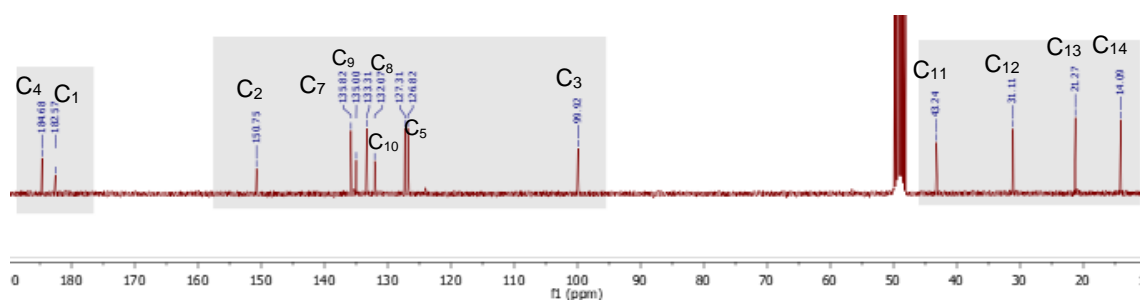


Figura 3.10 - Espectro ^{13}C -RMN (300 MHz) do composto **10** em $\text{MeOD-}d_4$.

A análise do espectro da experiência bidimensional de HMBC (Figura 3.11) permitiu atribuir os sinais com base nas correlações $^3\text{J}_{\text{CH}}$ e $^2\text{J}_{\text{CH}}$ encontradas.

O singuleto a $\delta = 5,68$ ppm, correspondente a H_3 , permitiu definir que o sinal a $\delta = 182,6$ ppm correspondia ao C_1 , pela correlação $^3\text{J}_{\text{CH}}$ encontrada. Definido C_1 , C_4 foi atribuído ao sinal à $\delta = 184,7$ ppm. Também a partir de C_1 , que encontra correlação $^3\text{J}_{\text{CH}}$ com o duplete a $\delta = 8,01$ ppm, definiu-se o sinal correspondente a H_5 e H_8 . O sinal a $\delta = 132,1$ ppm foi atribuído a C_{10} pela observação das correlações $^3\text{J}_{\text{CH}}$ com H_8 e H_3 . Os sinais a $\delta = 133,3$ e $135,8$ ppm, foram definidos como os carbonos C_7 e C_6 , respetivamente, através da correlação $^3\text{J}_{\text{CH}}$ destes carbonos com os prótons H_5 e H_8 definidos anteriormente. Pela correlação $^3\text{J}_{\text{CH}}$ com o próton H_7 , foi possível definir o sinal a $\delta = 135,0$ como sendo C_9 . O sinal a $\delta = 0,98$ ppm, correspondente a H_{14} , permitiu através das correlações $^3\text{J}_{\text{CH}}$ e $^2\text{J}_{\text{CH}}$ definir os sinais a $\delta = 31,1$ e $21,3$ ppm como sendo C_{12} e C_{13} ,

respetivamente. Finalmente, o carbono C₂ a $\delta = 150,8$ ppm foi definido pela sua correlação $^3J_{CH}$ com H₁₁.

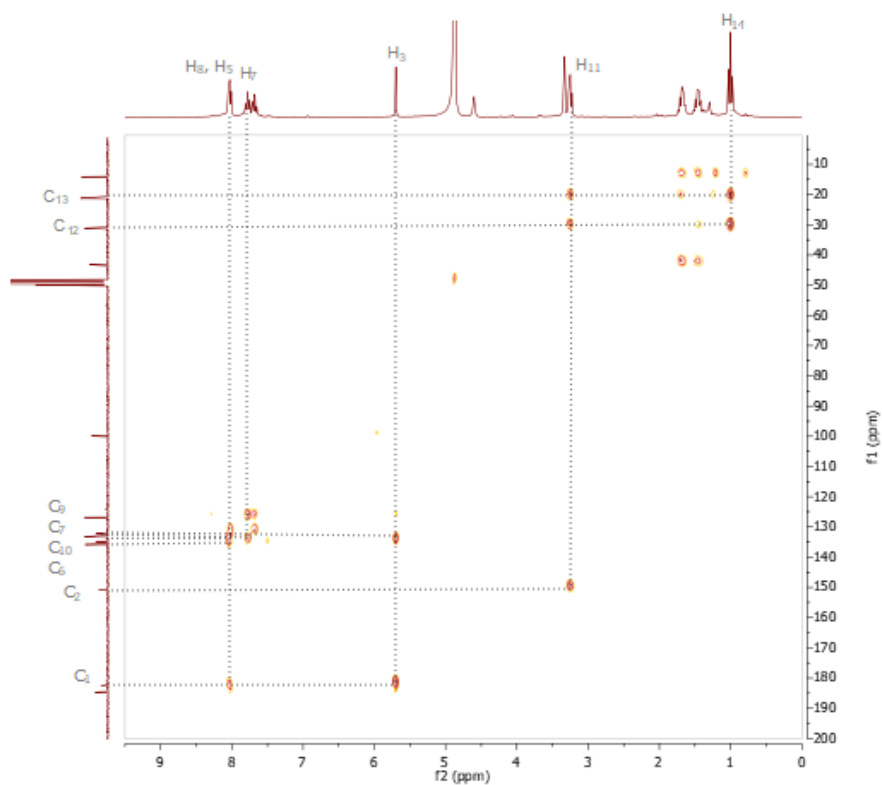


Figura 3.11 - Espectro bidimensional HMBC (300 MHz) do composto **10** em MeOD-*d*₄.

Todos os espectros obtidos para cada um dos compostos sintetizados foram analisados de forma semelhante e os dados espectroscópicos apresentam-se na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 - Dados de ^1H e ^{13}C -RMN (MeOD- d_4) para derivados 2-*N*-alquilamino-1,4-naftoquinona (**10** a **13**).

| Posição | Composto 10 | | Composto 11 ^(*) |
|---------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| | ^1H (δ , m, J) | ^{13}C (δ) | ^1H (δ , m, J) |
| 1 | - | 182,6 | - |
| 2 | - | 150,8 | - |
| 3 | 5,68 (s, 1H) | 99,9 | 5,63 (s, 1H) |
| 4 | - | 184,7 | - |
| 5 | 8,01 (t, 2H, 6,9 Hz) | 126,8 | 8,00 (dd, 1H, 3,2 Hz) |
| 6 | 7,66 (t, 1H, 7,5 Hz) | 133,3 | 7,59 (t, 1H, 3,2 Hz) |
| 7 | 7,75 (t, 1H, 7,5 Hz) | 135,8 | 7,61 (t, 1H, 3,4 Hz) |
| 8 | 8,01 (t, 2H, 6,9 Hz) | 127,3 | 8,19 (dd, 1H, 3,2 Hz) |
| 9 | - | 135,0 | - |
| 10 | - | 132,1 | - |
| 11 | 3,23 (t, 2H, 7,2 Hz) | 43,2 | 4,11 (t, 2H, 6,6 Hz) |
| 12 | 1,66 (d, 2H, 7,4 Hz) | 31,1 | 3,37 (t, 2H, 7,2 Hz) |
| 13 | 1,44 (d, 2H, 7,4 Hz) | 21,3 | - |
| 14 | 0,98 (t, 3H, 7,3 Hz) | 14,1 | - |

| Posição | Composto 12 | | Composto 13 ^(*) |
|---------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| | ^1H (δ , m, J) | ^{13}C (δ) | ^1H (δ , m, J) |
| 1 | - | 184,4 | - |
| 2 | - | 153,3 | - |
| 3 | 5,86 (s, 1H) | 105,0 | 5,62 (s, 1H) |
| 4 | - | 184,7 | - |
| 5 | 7,98 (dd, 2H, 7,9 Hz) | 125,9 | 8,01 (d, 1H, 7,4 Hz) |
| 6 | 7,68 (t, 1H, 7,4 Hz) | 133,3 | 7,68 (t, 1H, 7,6 Hz) |
| 7 | 7,76 (t, 1H, 7,4 Hz) | 135,0 | 7,77 (t, 1H, 7,2 Hz) |
| 8 | 7,98 (dd, 2H, 7,9 Hz) | 125,9 | 8,07 (d, 1H, 7,7 Hz) |
| 9 | - | 134,3 | - |
| 10 | - | 134,1 | - |
| 11 | 3,62 (m, 2H) | 48,0 | 3,77 (s, 2H) |
| 12 | 1,32 (t, 2H, 7,0 Hz) | 12,9 | - |

(*) Não foi possível obter espectro de ^{13}C .

A análise efetuada por espectrometria de massa corroborou as caracterizações das estruturas propostas para os compostos **10** e **12**. Os espectros de massa em modo positivo apresentam um pico principal a m/z 230, para ambos os compostos, atribuído às respetivas moléculas protonadas $[\text{M}+\text{H}]^+$.

A análise complementar por espectroscopia de IV confirmou a presença dos grupos carbonilo na naftoquinona pela identificação das bandas na região de 1688 e 1665 cm^{-1} , ainda da naftoquinona as ligações duplas da estrutura aromática são identificadas por três bandas na região entre 1608 e 1544 cm^{-1} . A formação da nova ligação C-N estabelecida é confirmada por uma banda média representativa da ligação C-N na região entre 1274 e 1255 cm^{-1} .

3.2. Síntese dos derivados da 5-hidroxi-1,4-naftoquinona

De acordo com os resultados obtidos para os derivados da 1,4NQ, em que as condições mais favoráveis à formação dos produtos desejados foram verificadas com a utilização do método de SAMO, para derivados da 5OH1,4NQ as reações foram realizadas apenas por este método. Pretendia-se obter um total de 8 compostos derivados da 5OH1,4NQ, dos quais 5 foram devidamente purificados e as suas estruturas elucidadas.

De realçar que as sínteses destes derivados ocorreram na ausência de catalisador, conforme determinado na otimização das condições de reação. Na Figura 3.12 encontra-se esquematizadas as condições gerais para a síntese dos derivados da 5OH1,4NQ.

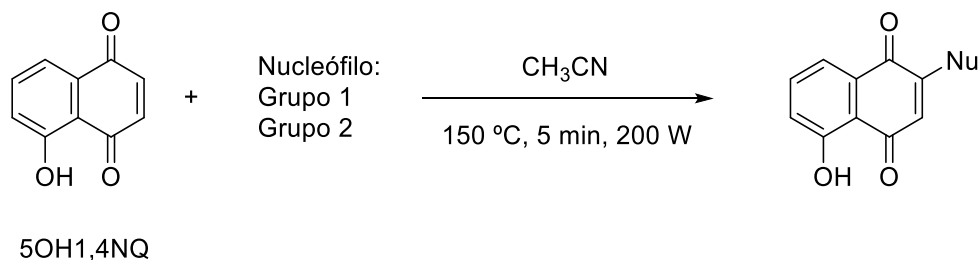


Figura 3.12 - Esquema geral das condições de reação dos derivados da 5-hidroxi-1,4-naftoquinona.

3.2.1. Derivados 2-*N*-arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona

As reações promovidas com aminas aromáticas foram estudadas através da SAMO, de acordo com o procedimento descrito no Capítulo 5 Parte Experimental. As rotas de síntese encontram-se esquematizadas na Figura 3.13.

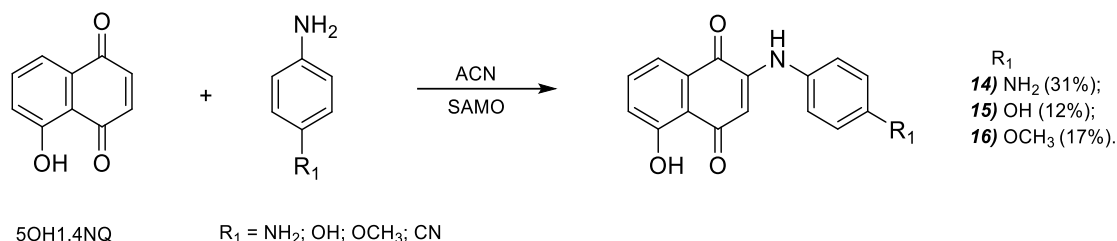


Figura 3.13 - Esquema reacional das reações entre 5OH1,4-NQ e aminas aromáticas *para*-substituídas.

As reações foram monitorizadas por HPLC e as conversões obtidas, nos respetivos produtos de acoplamento desejados resumem-se na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 - Conversões obtidas na SAMO para os derivados 2-*N*-arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona.

| Composto | Amina aromática | Conversões (%) ⁽¹⁾ |
|-----------|-----------------|-------------------------------|
| | | SAMO ⁽²⁾ |
| 14 | 1,4-PDA | 31 |
| 15 | 4-AP | 12 |
| 16 | 4-AT | 17 |
| 17 | 4-ABN | - |

⁽¹⁾ Conversões calculadas por HPLC

⁽²⁾ V_{acetonitrilo} = 2 mL; P = 200 W; T = 150 °C; t = 5 min

Os resultados obtidos para os derivados da 5OH1,4NQ (31-12%) foram significativamente inferiores aos obtidos para os derivados da 1,4NQ semelhantes (80-7%) (Tabela 3.1). Admite-se que este facto esteja relacionado com a ausência de catalisador no meio reacional, que tal como verificado, potencia a nucleofilicidade e consequentemente promove a adição nucleófila entre o reagente e as aminas aromáticas.

3.2.1.1. Caracterização estrutural dos derivados 2-*N*-arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (**14** a **16**)

A caracterização estrutural dos derivados 2-*N*-arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (**14-16**) foi realizada pela análise dos espetros de ¹H-RMN (MeOD-*d*₄), tendo-se

observado a existência de um perfil semelhante para todos os derivados isolados, este perfil é constituído pela presença de dois dupletos, um tripleto e um singuleto, sinais referentes aos prótons na região $\delta = 5,94$ a $7,67$ ppm, consistentes com o carácter aromático do núcleo central da 5OH1,4NQ e a presença de dois dupletos na região $\delta = 6,73$ a $7,17$ ppm referentes ao carácter aromático da amina *para*-substituída acoplada à 5OH1,4NQ.

Na Figura 3.14 encontra-se o espectro de ^1H -RMN do composto **15** como exemplificação do perfil observado. A frequências elevadas, nomeadamente $\delta = 7,63$ e $7,49$ ppm, é identificado um tripleto e um duplete atribuídos às ressonâncias dos prótons aromáticos mais desblindados pelo efeito de proximidade dos grupos carbonilo e hidroxilo (H_7 e H_8 , respetivamente). Nas frequências $\delta = 7,17$ e $6,87$ ppm encontram-se dois dupletos referentes aos prótons pertencentes ao anel aromático da amina acoplada, cada sinal de duplete é atribuído a 2 prótons devido à simetria presente no substituinte, assim estes sinais são atribuídos a $\text{H}_{12,16}$ e $\text{H}_{13,15}$, respetivamente. A $\delta = 7,17$ ppm, verifica-se que o duplete existente é relativo a 3 prótons, o que indica que existe um sinal de sobreposição que se refere ao próton H_6 que também será um duplete. Ainda na região dos aromáticos, é identificado um singuleto a $\delta = 5,63$ ppm, referente ao próton H_3 , que se encontra entre o grupo carbonilo e o substituinte acoplado.

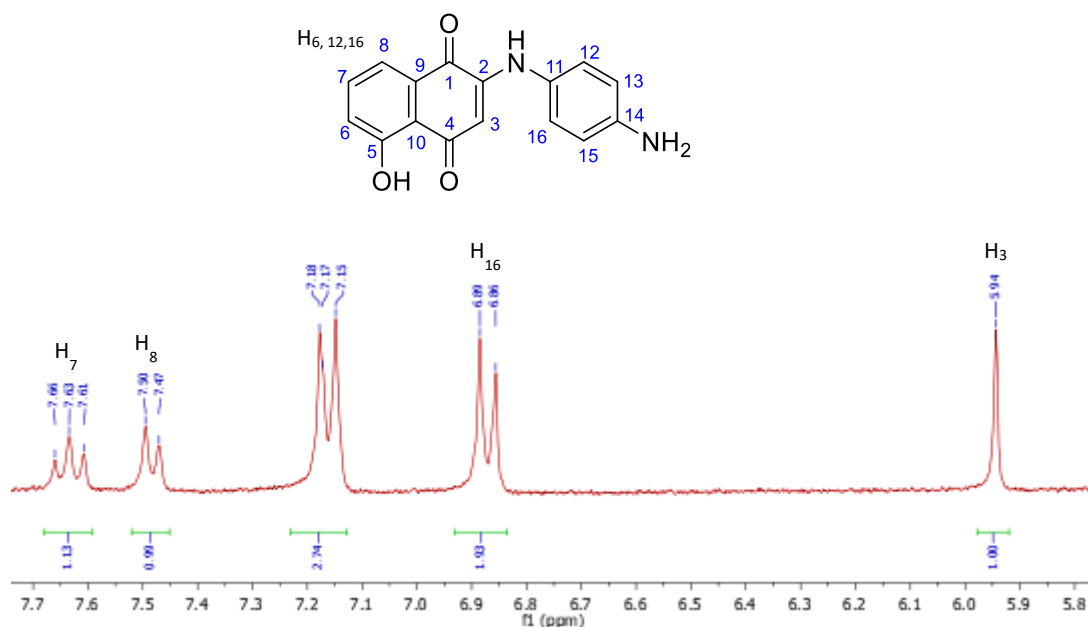


Figura 3.14 - Espectro ^1H -RMN (300 MHz) do composto **15** em MeOD-*d*₄.

Os espectros obtidos para cada um dos compostos isolados foram analisados de forma semelhante e os dados espectroscópicos apresentam-se na Tabela 3.7.

Tabela 3.7 - Dados de ^1H e ^{13}C -RMN (MeOD- d_4) para os derivados 2-*N*-arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (**14** a **16**).

| Posição | Composto 14 ^(*) | Composto 15 | | Composto 16 ^(*) |
|------------------|-----------------------------------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| | ^1H (δ , m, J) | ^1H (δ , m, J) | ^{13}C (δ) | ^1H (δ , m, J) |
| 1 | - | - | 185,0 | - |
| 2 | - | - | - | - |
| 3 | 5,97 (s, 1H) | 5,94 (s, 1H) | 101,8 | 5,99 (s, 1H) |
| 4 | - | - | - | - |
| 5 | - | - | - | - |
| 6 | 7,19 (d, 1H, 8,5 Hz) | 7,17 (d, 3H, 8,6 Hz) | - | 7,28 (d, 1H, 8,6 Hz) |
| 7 | 7,68 (t, 1H, 8,1 Hz) | 7,63 (t, 1H, 7,8 Hz) | 138,4 | 7,67 (m, 1H) |
| 8 | 7,54 (d, 1H, 7,6 Hz) | 7,49 (d, 1H, 7,4 Hz) | 118,7 | 7,55 (d, 1H, 6,8 Hz) |
| 9 | - | - | - | - |
| 10 | - | - | - | - |
| 11 | - | - | 130,2 | - |
| 12,16 | 7,08 (d, 2H, 8,3 Hz) | 7,17 (d, 3H, 8,6 Hz) | 126,9 | 7,03 (d, 2H, 9,1 Hz) |
| 13,15 | 6,73 (d, 2H, 8,5 Hz) | 6,88 (d, 2H, 8,7 Hz) | 117,2 | 6,78 (d, 2H, 7,8 Hz) |
| 14 | - | - | 157,4 | - |
| OCH ₃ | - | - | - | 3,83 (s, 3H) |

(*) Não foi possível obter espectro de ^{13}C .

A análise efetuada por espectrometria de massa corroborou as caracterizações das estruturas propostas para os compostos **14**, **15** e **16**. Os espectros de massa em modo positivo apresentam um pico base a m/z 281, 282 e 296, respetivamente, atribuídos às respetivas moléculas protonadas $[\text{M}+\text{H}]^+$. A dissociação das espécies protonadas deu origem aos iões fragmento m/z 253, 254 e 268, respetivamente, resultantes da perda de CO.

A análise complementar por espectroscopia de IV confirmou a existência do grupo hidroxilo do núcleo da naftoquinona pela existência de uma banda larga a 3500 cm^{-1} , relativamente ao núcleo da naftoquinona a presença dos grupos carbonilos foram identificados pelas bandas entre 1735 e 1625 cm^{-1} , e as ligações duplas da estrutura aromática foram identificadas pela existência de três bandas na região entre 1635 e 1542 cm^{-1} . A formação da nova ligação C-N estabelecida é confirmada por uma banda média representativa da ligação C-N na região de 1097 cm^{-1} .

3.2.2. Derivados 2-*N*-alquilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona

Também no caso da utilização de amins alifáticas como agentes nucleófilos as reações com a 5OH1,4NQ foram promovidas através da SAMO, de acordo com o procedimento descrito no Capítulo 5 Parte Experimental e cujo esquema reacional se encontra na Figura 3.15.

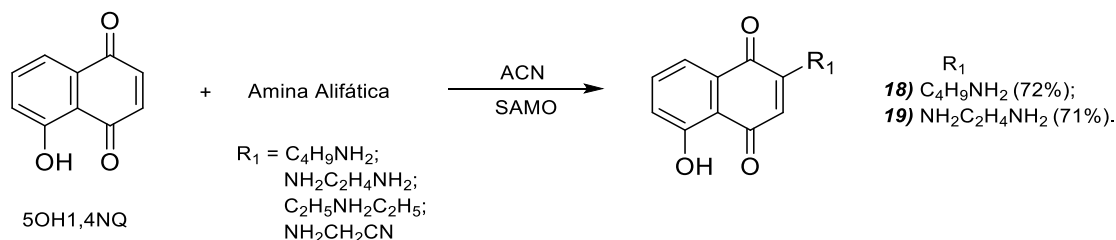


Figura 3.15 - Esquema reacional das reações entre 5OH1,4NQ e amins alifáticas.

As reações foram monitorizadas por HPLC e as conversões obtidas nos respectivos produtos de acoplamento desejados são apresentados na Tabela 3.8.

Tabela 3.8 - Conversões obtidas na SAMO para os derivados 2-*N*-alquilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona.

| Entrada | Amina alifática | Conversões (%) ⁽¹⁾ |
|-----------|-----------------|-------------------------------|
| | | SAMO ⁽²⁾ |
| 18 | BA | 72 |
| 19 | EDA | 71 |
| 20 | DEA | - |
| 21 | AACN | - |

⁽¹⁾ Conversões calculadas por HPLC

⁽²⁾ $V_{\text{acetone}} = 2 \text{ mL}; P = 200 \text{ W}; T = 150 \text{ }^\circ\text{C}; t = 5 \text{ min}$

Os resultados obtidos para os derivados **18** e **19** (aproximadamente de 70%) encontram-se próximos aos obtidos para os derivados da 1,4NQ semelhantes (63-66%) (Tabela 3.4).

3.2.2.1. Caracterização estrutural dos derivados 2-*N*-alquilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (**18** e **19**)

A caracterização estrutural dos derivados 2-*N*-alquilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (**18** e **19**) foi feita pela análise dos espectros de ^1H -RMN ($\text{MeOD-}d_4$), e de acordo com o esperado, observou-se a existência de um perfil padrão comum a ambos os compostos, constituído pela presença de dois dupletos, um triplete e um singuleto, sinais referentes aos prótons na região $\delta = 5,50$ a $7,62$ ppm, consistentes com o caráter aromático do núcleo central da 5OH1,4NQ e a presença de sinais a frequências inferiores a $\delta < 4,10$ ppm referentes aos prótons das correspondentes aminas alifáticas acopladas.

A título de exemplo na Figura 3.16 apresenta-se o espectro de ^1H -RMN obtido para o composto **18**, com ampliação das regiões $\delta = 7,10 - 7,70$ ppm, $\delta = 3,00 - 3,50$ ppm e $\delta = 1,8 - 1,2$ ppm.

Na Figura 3.16 observa-se que, a frequências elevadas, nomeadamente $\delta = 7,58$ e $7,52$ ppm, são identificados um duplete e um triplete atribuídos às ressonâncias dos prótons aromáticos mais desblindados pelo efeito de proximidade dos grupos carbonilo e hidroxilo (H_8 e H_7 , respetivamente). Na frequência de $\delta = 7,22$ ppm, encontra-se um duplete referente ao próton H_6 presente no anel aromático. Ainda na região é identificado um singuleto a $\delta = 5,63$ ppm, referente ao próton H_3 , que se encontra entre o grupo carbonilo e o substituinte acoplado. Os prótons referentes ao substituinte alifático encontram-se a frequências mais baixas, especificamente na região $\delta = 3,50$ e $0,95$ ppm, com os sinais esperados para cada composto, como já referidos e esclarecidos para os derivados 1,4NQ semelhantes.

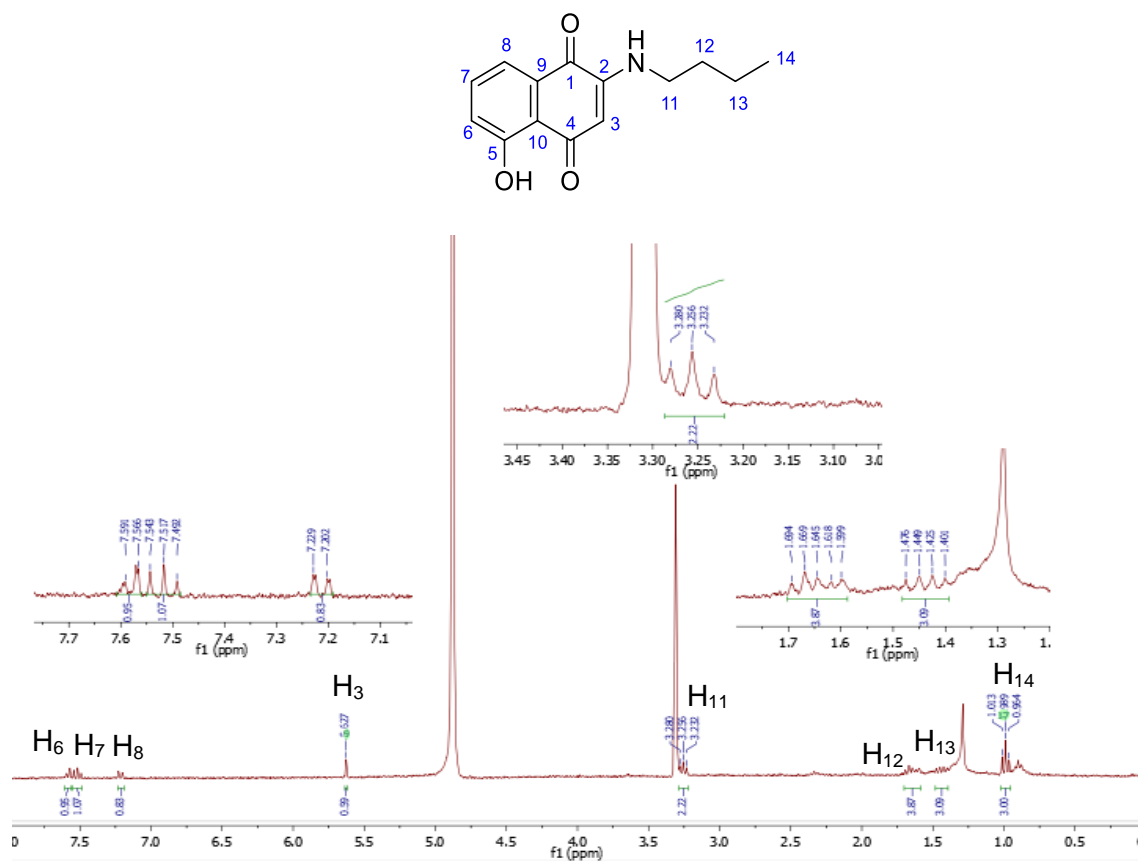


Figura 3.16 - Espectro ¹H-RMN (300 MHz) do composto **18** em MeOD-*d*₄.

Os dados espectroscópicos obtidos de ¹H-RMN para os derivados **18** e **19**, encontram-se representados na Tabela 3.9.

Tabela 3.9 - Dados de ^1H (MeOD- d_4) para os derivados 2-*N*-alquilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (**18** e **19**).

| Posição | Composto 18 ^(*) | Composto 19 ^(*) |
|---------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | ^1H (δ , m, J) | ^1H (δ , m, J) |
| 1 | - | - |
| 2 | - | - |
| 3 | 5,63 (s, 1H) | 5,50 (s, 1H) |
| 4 | - | - |
| 5 | - | - |
| 6 | 7,58 (d, 1H, 7,3 Hz) | 7,62 (d, 1H, 7,8 Hz) |
| 7 | 7,52 (t, 1H, 7,5 Hz) | 7,41 (t, 1H, 7,9 Hz) |
| 8 | 7,22 (d, 1H, 8,3 Hz) | 6,98 (d, 1H, 8,2 Hz) |
| 9 | - | - |
| 10 | - | - |
| 11 | 3,26 (t, 2H, 7,2 Hz) | 4,08 (t, 2H, 6,7 Hz) |
| 12 | 1,65 (m, 2H) | 0,90 (t, 2H, 6,8 Hz) |
| 13 | 1,44 (m, 2H) | - |
| 14 | 0,99 (t, 3H, 7,3 Hz) | - |

^(*) Não foi possível obter espectro de ^{13}C .

A análise efetuada por espectrometria de massa corroborou a caracterização da estrutura proposta para o composto **18**. O espectro de massa em modo positivo apresentou um pico base a m/z 246, atribuído à respetiva molécula protonada $[\text{M}+\text{H}]^+$.

A análise complementar por espectroscopia de IV confirmou a existência do grupo hidroxilo do núcleo da naftoquinona pela existência de uma banda larga a 3450 cm^{-1} , relativo ao núcleo da naftoquinona a presença dos grupos carbonilos foram identificados pelas bandas na região de 1735 e 1698 cm^{-1} , ainda da naftoquinona as ligações duplas da estrutura aromática são identificadas por três bandas na região entre 1640 e 1595 cm^{-1} . A formação da nova ligação C-N estabelecida é confirmada por uma banda média representativa da ligação C-N na região entre 1165 e 1095 cm^{-1} .

3.3. Avaliação das propriedades

3.3.1. Estudos eletroquímicos

O estudo eletroquímico dos reagentes (1,4NQ e 5OH1,4NQ) e dos derivados da 1,4NQ (**1**, **2**, **3**, **5**, **10**, **11** e **12**) e da 5OH1,4NQ (**14**, **15**, **16**, **18** e **19**) isolados neste trabalho

foi feito por voltametria cíclica, em meio aprótico acetonitrilo/hexafluorofosfato de tetrabutílamônio (ACN/NBu₄PF₆), de acordo com o descrito no ponto 5.1.4 da Parte Experimental. O uso de solvente orgânico aprótico justifica-se quer pela necessidade de mimetizar o ambiente hidrofóbico das membranas biológicas, quer pela necessidade de formar semiquinonas a partir da transferência de um elétron possível, principalmente, na ausência de uma fonte de prótons.⁹¹ Portanto, a determinação dos parâmetros eletroquímicos das naftoquinonas sintetizadas permite prever o desempenho biológico destes compostos em processos metabólicos e definir uma correlação com a atividade biológica, apesar de o ambiente celular ser complexo e, por vezes, estas correlações não serem lineares. Ainda assim, o conhecimento do comportamento redox permite mimetizar os mecanismos de transferência de elétrons em ambiente biológico e melhor prever a ocorrência de reações redox que envolvam estes compostos bioativos, sendo o potencial de redução referente à primeira onda (E_{pc}^I) o principal parâmetro a ter em conta para a referida correlação.⁹² De acordo com o mencionado, as quinonas podem agir como antioxidantes e proteger as células contra espécies reativas de oxigénio (EROs), ou como agentes citotóxicos, gerando EROs, estas são substâncias associadas a um estado redox intracelular em desequilíbrio, relevantes em processos que envolvem doenças como o cancro e algumas doenças degenerativas. Assim, os produtos resultantes da redução das quinonas podem interagir com o oxigénio segundo o mecanismo eletroquímico-catalítico, o que sugere a participação de EROs no mecanismo de ação molecular desses compostos em células cancerígenas. Esta ação citotóxica está associada aos valores de potencial de redução que facilita a transferência de elétrons para o oxigénio, colaborando desta forma para o desequilíbrio redox no ambiente celular.

Os voltamogramas cíclicos dos reagentes 1,4NQ e 5OH1,4NQ são apresentados na Figura 3.17.

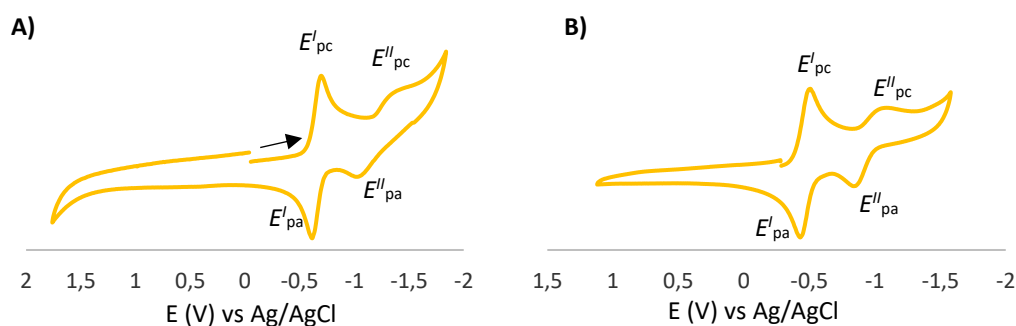


Figura 3.17 - Voltamogramas cíclicos: A) 1,4NQ e B) 5OH1,4NQ, 1×10^{-3} mol.L⁻¹, ACN/ NBu₄PF₆, $v = 200$ mV.

Ambos os reagentes (1,4NQ e 5OH1,4NQ) apresentam o comportamento eletroquímico esperado para a estrutura quinona em meio aprótico, descrito pela presença de duas ondas de redução monoelétricas sequenciais (E_{pc}^I e E_{pc}^{II}), atribuindo-se a primeira à formação do anião radical seminaftoquinona ($NQ^{\cdot-}$) e a segunda à formação do dianiã naftoquinônico (NQ^{2-}), como esquematizado na Figura 3.18. Em ambos os casos, a primeira etapa de redução corresponde a um processo reversível enquanto a segunda etapa corresponde a um processo irreversível. A maior reversibilidade do primeiro processo está relacionada com a tendência de o eletrólito de suporte formar pares de iões com o produto dianiã naftoquinônico, afetando assim os resultados do segundo processo.⁹²

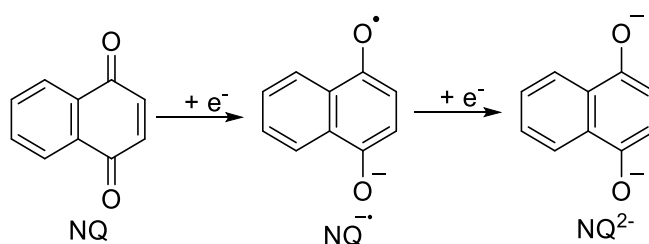


Figura 3.18 - Propriedades redox da naftoquinona.

Nas condições de ensaio, o valor obtido para o primeiro potencial de redução (E_{pc}^I) da 1,4NQ (-0,70 V) é inferior ao obtido para a 5OH1,4NQ (-0,52 V), indicando que este último apresenta maior poder oxidante.

Na Figura 3.19 encontra-se o voltamograma do composto **10**, como exemplificação do comportamento eletroquímico apresentado pelos derivados, onde são visíveis os processos redox a potenciais positivos e negativos. E na Tabela 3.10 apresentam-se os dados eletroquímicos obtidos para a 1,4NQ e seus derivados **1**, **2**, **3**, **5**, **10**, **11** e **12**, isolados neste trabalho.

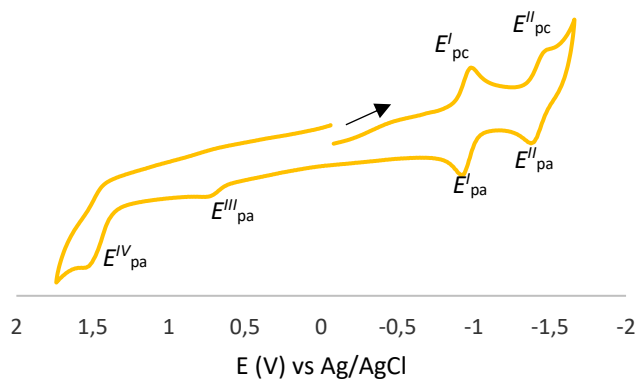


Figura 3.19 - Voltamograma cíclico do composto **10**, $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, ACN/ NBu_4PF_6 , $v = 200 \text{ mV}$.

Tabela 3.10 - Dados eletroquímicos para o reagente 1,4NQ e seus derivados (**1**, **2**, **3**, **5**, **10**, **11** e **12**) em acetonitrilo, para uma velocidade de varrimento de 200 mV/s .

| Composto | E_{pa} (V) | E_{pc} (V) | $E_{1/2}$ | Processo |
|--------------|--------------|--------------|-----------|----------|
| 1,4NQ | -0,61 | -0,70 | -0,65 | I |
| | -1,02 | -1,36 | -- | II |
| 1 | 0,77 | 0,44 | -- | III |
| | -0,86 | -0,93 | -0,90 | I |
| | -1,27 | -1,44 | -- | II |
| 2 | 1,03 | -- | -- | III |
| | -0,77 | -0,83 | -0,80 | I |
| 3 | 1,21 | -- | -- | III |
| | -0,80 | -0,84 | -0,82 | I |
| | -1,22 | -1,33 | -1,28 | II |
| 5 | -0,65 | -0,74 | -0,70 | I |
| 10 | 1,58 | -- | -- | IV |
| | 0,73 | -- | -- | III |
| | -0,92 | -0,98 | -0,95 | I |
| | -1,38 | -1,49 | -1,44 | II |
| 11 | -0,70 | -1,11 | -- | I |
| 12 | 1,39 | -- | -- | III |
| | -0,89 | -0,97 | -0,93 | I |

A análise dos resultados obtidos mostra que a introdução de aminas aromáticas e alifáticas na posição 2 da 1,4NQ diminui o valor encontrado para o potencial de redução (E_{pc}) de todos os derivados (-0,74 a -1,11 V), relativamente ao reagente que lhe deu origem (-0,70 V). A presença de substituintes alifáticos aumenta o poder redutor dos derivados, pois são estes que possuem menores valores de E_{pc} . Relativamente aos derivados 1,4NQ substituídos com aminas aromáticas *para*-substituídas, é possível verificar que o derivado **5**, com um grupo substituinte aceitador de eletrões foi o composto com valor mais elevado de E_{pc} (-0,74 V) de entre os compostos isolados e com um valor mais próximo do reagente que lhe deu origem. Assim, a presença de substituintes aceitadores de eletrões não promove um aumento significativo do poder redutor, quando comparando com substituintes doadores de eletrões.

Os processos redox irreversíveis a potenciais positivos são centrados na estrutura do substituinte introduzido na posição 2 e a análise dos resultados obtidos mostrou que essa introdução no esqueleto da 1,4NQ aumenta os valores de E_{pa} comparativamente ao agente nucleófilo inicial, deste modo conclui-se que o acoplamento de substituintes à 1,4NQ dificultou o processo de oxidação.

O mesmo estudo foi realizado para os derivados da 5OH1,4NQ (**14**, **15**, **16**, **18** e **19**) e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3.11.

Tabela 3.11 - Dados eletroquímicos para o reagente 5OH1,4NQ e seus derivados (**14**, **15**, **16**, **18** e **19**) em acetonitrilo, para uma velocidade de varrimento de 200 mV/s.

| Composto | E_{pa} (V) | E_{pc} (V) | $E_{1/2}$ | Processo |
|-----------------|--------------|--------------|-----------|----------|
| 5OH1,4NQ | -0,43 | -0,52 | -0,48 | I |
| | -0,84 | -1,09 | -- | II |
| 14 | -0,65 | -0,72 | -0,68 | I |
| 15 | -0,49 | -1,02 | -- | I |
| 16 | -0,59 | -0,63 | -0,61 | I |
| 18 | 1,07 | -- | -- | IV |
| | 0,79 | -- | -- | III |
| | -0,70 | -0,77 | -0,73 | I |
| 19 | -0,49 | -1,10 | -- | I |

A análise dos resultados apresentados na Tabela 3.11 revela um comportamento eletroquímico semelhante ao descrito para os derivados da 1,4NQ. A introdução de

substituintes na posição 2 do esqueleto da 5OH1,4NQ diminui o valor de E_{pc}^I dos derivados isolados (-0,63 a -1,10 V), relativamente ao valor de E_{pc}^I do reagente que lhe deu origem (-0,52 V), o que consequentemente aumenta o seu poder redutor.

Nos processos redox irreversíveis a potenciais positivos, apenas o composto **18** apresenta processos de oxidação situados a 0,79 V e 1,07 V, respetivamente, enquanto os restantes derivados não apresentam processos de oxidação na janela de potenciais estudada. Permitindo concluir que provavelmente os processos de oxidação são dificultados pela presença da estrutura da 5OH1,4NQ.

3.3.2. Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante (AA%) foi avaliada através do método de radical livre do DPPH, de acordo com o procedimento descrito no ponto 5.1.5 da Parte Experimental, utilizando o ácido ascórbico como controlo positivo. O ácido ascórbico é uma substância de referência muito utilizado nas análises de atividade antioxidante pela capacidade de reduzir rapidamente o DPPH. Foram avaliados os dois reagentes: 1,4NQ e 5OH1,4NQ e os derivados da 1,4NQ (**1**, **2**, **3**, **5**, **10**, **11** e **12**) e da 5OH1,4NQ (**15**, **16**, **18** e **19**) isolados neste trabalho.

O método de radical livre do DPPH é amplamente utilizado para avaliar o efeito de eliminação de radicais livres e baseia-se numa reação de redução da solução de DPPH na presença de um antioxidante resultando na formação de DPPH-H.⁹³ A redução do DPPH e consequentemente o efeito de eliminação por parte dos compostos são observados pela mudança da cor inicial da reação de roxo para amarelo, como é demonstrado na Figura 3.20, em tons variáveis dependendo do potencial de eliminação de cada composto.

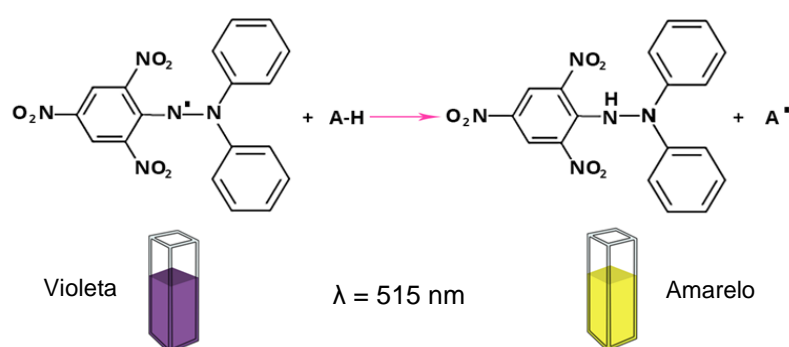


Figura 3.20 - Mecanismo de reação do 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

A análise efetuada focou-se na determinação da AA% ao final de 1h de reação, uma vez que não se determinaram os valores de IC₅₀ para cada composto, considera-se que os resultados apresentados são preliminares e como tal não se correlacionaram com os dados eletroquímicos, realizando-se uma comparação com o valor determinado para o ácido ascórbico (controlo positivo).

A análise dos resultados obtidos para os reagentes 1,4NQ e 5OH1,4NQ (Figura 3.21) mostra que, relativamente ao ácido ascórbico utilizado como padrão (AA% = 98%) e nas condições de ensaio, ambos os reagentes apresentam valores de AA% significativamente inferiores de 54% e 19% para a 5OH1,4NQ e a 1,4NQ, respetivamente, com o reagente que contem o grupo hidroxilo na sua estrutura a apresentar o valor mais elevado. Este resultado encontra-se de acordo com o esperado, pois a presença de grupos hidroxilo aumenta a capacidade de eliminação de radicais livres.⁹⁴

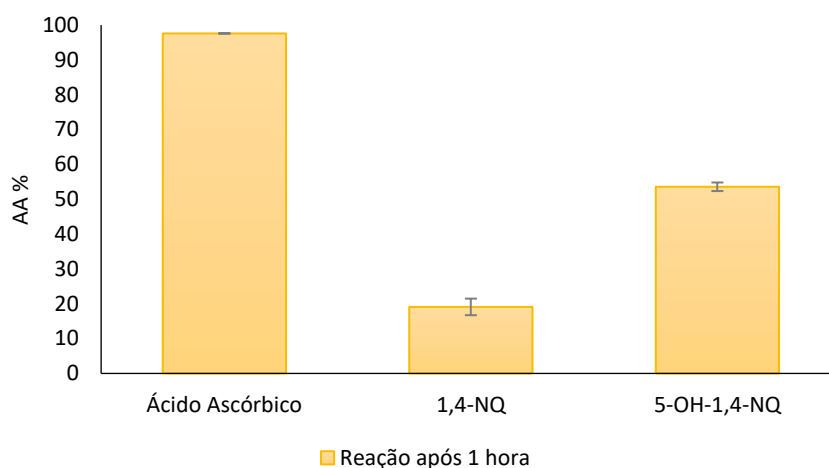


Figura 3.21 - Atividade antioxidante do Ácido Ascórbico e dos reagentes 1,4NQ, 5OH1,4NQ.

Os valores de AA% dos derivados 2-N-1,4-naftoquinona estudados (**1**, **2**, **3**, **5**, **10**, **11** e **12**) encontram-se apresentados na Figura 3.22.

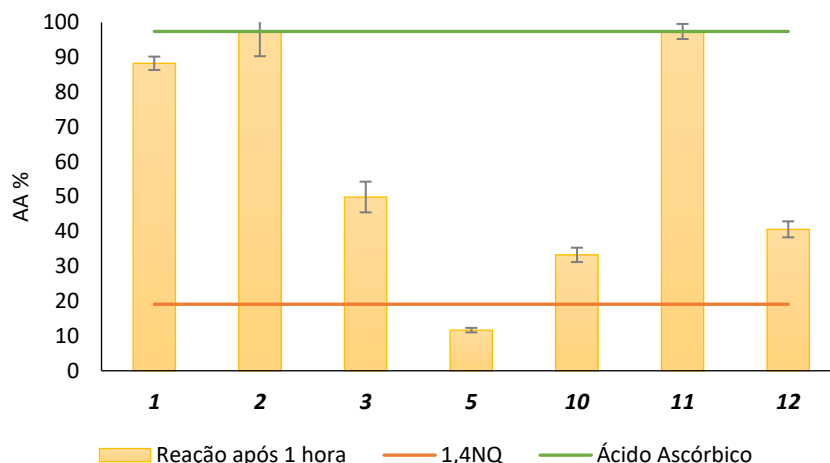


Figura 3.22 - Atividade antioxidante de derivados 2-N-1,4-naftoquinona (**1**, **2**, **3**, **5**, **10**, **11** e **12**).

A análise dos dados apresentados na Figura 3.22 permite verificar que com a introdução de aminas aromáticas *para*-substituídas com os grupos NH_2 , OH e OCH_3 (compostos **1**, **2** e **3**, respetivamente) a atividade antioxidante, foi significativamente melhorada, com valores de 86, 99 e 55%, respetivamente, relativamente ao reagente (19%), e que a introdução de aminas aromáticas *para*-substituídas com grupos aceitadores de eletrões (composto **5**) diminuiu a atividade para um valor de 12%. Este facto pode estar relacionado com o grupo doador aumentar a densidade eletrónica do anel aromático, diminuir a energia de dissociação e conseqüentemente aumentar a capacidade de eliminação de radicais livres.⁹⁴ Verificou-se, novamente, que a presença do grupo OH na estrutura da amina aromática potenciou a atividade oxidante deste derivado.

Relativamente à introdução de aminas alifáticas verifica-se um aumento da atividade oxidante para os três derivados (compostos **10**, **11** e **12**) com valores de 33, 99 e 40%, respetivamente, relativamente ao reagente 1,4NQ (19%). Destaca-se o resultado obtido para o composto **11** onde a atividade oxidante atingiu valores semelhantes aos obtidos para o ácido ascórbico.

Os valores de atividade antioxidante dos derivados de 5OH1,4NQ (**15**, **16**, **18** e **19**), encontram-se representados na Figura 3.23.

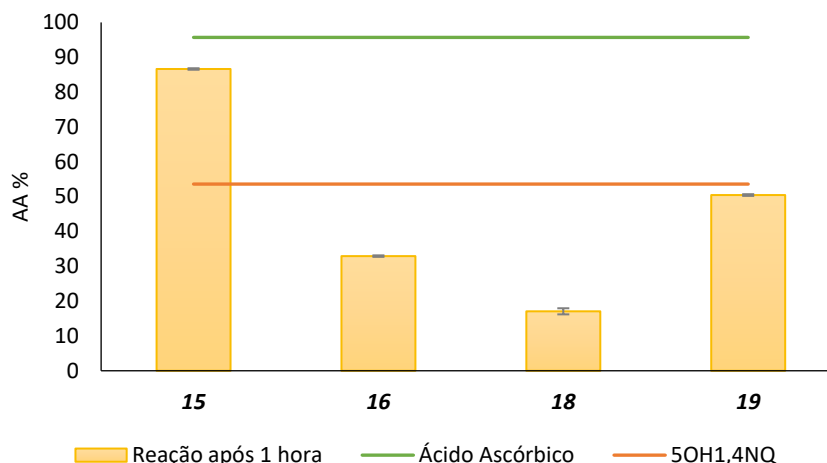


Figura 3.23 - Atividades antioxidantes de derivados 2-*N*-5-hidroxi-1,4-naftoquinona (**15**, **16**, **18** e **19**).

A análise dos resultados, permitiu concluir que a introdução de aminas aromáticas *para*-substituídas com o grupo OH (composto **15**) aumentou a atividade antioxidante, tendo o composto um valor de 87%. Estes resultados são concordantes com o observado para o derivado 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona substituído com o mesmo agente nucleófilo (composto **2**). Contudo, a adição de aminas aromáticas *para*-substituídas com o grupo OCH₃ (composto **16**) originou uma atividade de 33%, inferior à atividade do reagente inicial, o que é desconcordante com o derivado 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona substituído com o mesmo agente nucleófilo (composto **3**).

Os resultados para os derivados substituídos com aminas alifáticas (compostos **18** e **19**) indicam que a adição destes substituintes ao reagente inicial, diminui a sua atividade antioxidante, tendo-se obtido valores de 17 e 50%, respetivamente. Apesar dos resultados serem inferiores ao do reagente que lhes deu origem, ao contrário do verificado para os derivados semelhantes da 1,4NQ, verifica-se a tendência de o derivado com a EDA apresentar um valor superior ao derivado substituídos com a BA.

3.3.3. Avaliação *in silico*

Neste trabalho as potenciais propriedades farmacológicas dos compostos **1-13**, derivados da 1,4NQ e dos compostos **14-21**, derivados da 5OH1,4NQ, foram avaliadas no que se refere à biodisponibilidade oral teórica, bioatividade contra alvos moleculares comuns e análise da toxicidade teórica, recorrendo aos softwares Molinspiration® e admetSAR®, que são reconhecidos como uma ferramenta válida como primeira abordagem para a previsão e definição do espectro das atividades biológica e farmacológica de substâncias candidatas a fármacos.

3.3.3.1. Biodisponibilidade oral teórica

Para a análise da biodisponibilidade oral teórica dos compostos sintetizados foi utilizada a “Regra dos cinco” proposta por Lipinski e Lombardo⁸⁵, num trabalho de análise estatística de propriedades de fármacos conhecidos, onde consideraram que um fármaco ativo para ser administrado via oral não deve violar mais do que uma das seguintes condições: *i*) coeficiente de partição octanol-água ($\log P$) ≤ 5 , *ii*) massa molecular (MM) ≤ 500 , *iii*) aceitadores de ligação de hidrogénio (n_{OH}) ≤ 10 , i.e., a soma de oxigénios e azotos aceitadores e *iv*) doadores de ligação de hidrogénio (n_{OHNH}) ≤ 5 , i.e., a soma dos grupos hidroxilo e amina. Como resultado global, a molécula em estudo pode apresentar uma violação, a um dos referidos parâmetros, desde que não viole o critério *iv*). É ainda de considerar que a área superfície polar topológica (TPSA) deverá ser inferior a 140 Å, para garantir uma boa permeabilidade da molécula na membrana plasmática celular.⁹⁵

Na Tabela 3.12 apresentam-se os resultados obtidos através do programa Molinspiration®. Bem como a percentagem de absorção oral (ABS%) determinada através da expressão: ⁹⁶

$$ABS\% = 100 \times \left[\exp\left(-10^{0.506 - 0.0754 \times n_{OH} - 0.141 \times n_{OHNH} + 0.00184 \times MM}\right) \right]$$

Tabela 3.12 - Biodisponibilidade oral teórica através da regra do Lipinski para a 1,4NQ e seus derivados (**1-13**) estimada através do programa Molinspiration®.

| Composto | Parâmetros da Regra de Lipinski | | | | | | n _{violações} | ABS (%) |
|--------------|---------------------------------|---------|-------|-----------------|-------------------|------------------|------------------------|---------|
| | M (g.mol ⁻¹) | mi LogP | TPSA | n _{OH} | n _{OHNH} | n _{rot} | | |
| 1,4NQ | 158,16 | 1,67 | 34,14 | 2 | 0 | 0 | 0 | 98,83 |
| 1 | 164,28 | 2,66 | 72,19 | 4 | 3 | 2 | 0 | 70,55 |
| 2 | 265,27 | 3,11 | 66,40 | 4 | 2 | 2 | 0 | 92,53 |
| 3 | 279,3 | 3,64 | 55,40 | 4 | 1 | 3 | 0 | 97,78 |
| 4 | 283,71 | 4,26 | 46,17 | 3 | 1 | 2 | 0 | 99,00 |
| 5 | 274,28 | 3,34 | 69,96 | 4 | 1 | 2 | 0 | 97,60 |
| 6 | 248,26 | 2,71 | 46,17 | 3 | 1 | 2 | 0 | 98,10 |
| 7 | 264,28 | 3,02 | 72,19 | 4 | 3 | 2 | 0 | 84,55 |
| 8 | 265,27 | 3,32 | 58,20 | 4 | 2 | 2 | 0 | 92,53 |
| 9 | 279,3 | 3,60 | 66,40 | 4 | 1 | 3 | 0 | 97,78 |
| 10 | 229,28 | 2,89 | 46,17 | 3 | 1 | 4 | 0 | 97,42 |
| 11 | 216,24 | 0,26 | 72,19 | 4 | 3 | 3 | 0 | 78,21 |
| 12 | 229,28 | 2,45 | 37,38 | 3 | 0 | 3 | 0 | 99,37 |
| 13 | 198,18 | 1,23 | 69,96 | 4 | 1 | 1 | 0 | 93,29 |

M: massa molar; mi LogP: coeficiente de partição octanol/água; TPSA: área superficial polar topológica; n_{OH}: número de grupos aceitadores de ligações de hidrogénio; n_{OHNH}: número de grupos doadores de ligações de hidrogénio; n_{rot}: número de ligações rotáveis; n_{violações}: número de violações à regra dos 5.

De acordo com os resultados apresentados, os derivados da 1,4NQ estudados, apresentam propriedades hidrofóbicas e tamanhos adequados para que consigam permear a membrana biológica e aceder aos locais de ação. As massas molares variam entre os 198,18 – 283,10 g/mol e todos os compostos apresentam TPSA inferiores a 140 Å. No que se refere aos restantes 3 parâmetros, nomeadamente Log P, grupos aceitadores e doadores de ligação de hidrogénio e número de ligações rotáveis, mostraram que também eles cumprem os critérios estabelecidos na “regra dos cinco”.

Os resultados mostraram que todos os compostos atenderam à regra de Lipinski, e a ABS% calculada variou entre 70,55 e 99,37%, o que sugere que os compostos estudados, teoricamente, não terão problemas com a biodisponibilidade oral. De notar ainda que com exceção dos compostos **1**, **7** e **11**, a ABS% se manteve acima de 90% para os restantes derivados.

Foi realizada uma aproximação semelhante para os derivados da 5OH1,4NQ e os resultados obtidos encontram-se resumidos na Tabela 3.13.

Tabela 3.13 - Biodisponibilidade oral teórica através da regra de Lipinski para a 5OH1,4NQ e seus derivados (**14-21**) estimada através do programa Molinspiration®.

| Composto | Parâmetros da Regra de Lipinski | | | | | | n _{violações} | ABS (%) |
|-----------------|---------------------------------|---------|-------|-----------------|-------------------|------------------|------------------------|---------|
| | M (g.mol ⁻¹) | mi LogP | TPSA | n _{OH} | n _{OHNH} | n _{rot} | | |
| 5OH1,4NQ | 174,16 | 1,40 | 54,37 | 3 | 1 | 0 | 0 | 94,48 |
| 14 | 280,28 | 2,40 | 92,42 | 5 | 4 | 2 | 0 | 70,38 |
| 15 | 281,27 | 2,84 | 86,62 | 5 | 3 | 2 | 0 | 81,56 |
| 16 | 295,29 | 3,38 | 75,63 | 5 | 2 | 3 | 0 | 91,64 |
| 17 | 290,28 | 3,08 | 90,19 | 5 | 2 | 2 | 0 | 91,20 |
| 18 | 245,28 | 2,62 | 66,40 | 4 | 2 | 4 | 0 | 90,78 |
| 19 | 232,24 | -0,01 | 92,42 | 5 | 4 | 3 | 0 | 62,94 |
| 20 | 245,28 | 2,18 | 57,61 | 4 | 1 | 3 | 0 | 96,31 |
| 21 | 228,21 | 0,97 | 90,19 | 5 | 2 | 2 | 0 | 84,56 |

MM: massa molar; mi LogP: coeficiente de partição octanol/água; TPSA: área superficial polar topológica; n_{OH}: número de grupos aceitadores de ligações de hidrogénio; n_{OHNH}: número de grupos doadores de ligações de hidrogénio; n_{rot}: número de ligações rotáveis; n_{violações}: número de violações à regra dos 5.

Relativamente aos derivados da 5OH1,4NQ estudados, verifica-se que as conclusões são semelhantes. Os derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona e 2-*N*-alquilamino-1,4-naftoquinona cumprem os requisitos impostos pela “regra dos cinco”, revelando uma adequada biodisponibilidade destes compostos.

Os derivados sintetizados, apresentam propriedades hidrofóbicas e tamanhos adequados para que estes consigam permear a membrana biológica e aceder aos locais de ação. As massas molares variam entre os 228,21 – 295,29 g/mol, todos os compostos apresentam TPS inferiores a 140 Å e para os restantes 3 parâmetros, nomeadamente Log P, grupos aceitadores e doadores de ligação de hidrogénio e número de ligações rotáveis, todos os derivados cumprem os valores máximos impostos para que estes possuam uma boa biodisponibilidade oral.

No que se refere à ABS% calculada, à exceção do derivado **19**, os valores variaram entre 70,38 e 96,31%, o que sugere que os compostos estudados, teoricamente, não terão problemas com a biodisponibilidade oral.

3.3.3.2. Bioatividade teórica contra alvos moleculares comuns

A avaliação da bioatividade teórica contra alvos moleculares comuns, nomeadamente, recetores acoplados à proteína G (GPCR), moduladores do canal iónico, inibidores de quinase, ligandos do recetor nuclear, inibidores de protease e inibidores de enzimas, foi realizada, também, através do programa Molinspiration® e os resultados apresentam-se na Tabela 3.14 para o reagente 1,4NQ e seus derivados, e na Tabela 3.15 para o reagente 5OH1,4NQ e respetivos derivados.

Tabela 3.14 - Bioatividade teórica contra alvos moleculares comuns para a 1,4NQ e seus derivados (**1-13**) estimada através do programa Molinspiration®.

| Composto | GPCR | Moduladores do canal iónico | Inibidores da quinase | Ligandos do recetor nuclear | Inibidores da protease | Inibidores de enzimas |
|--------------|-------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------|-----------------------|
| 1,4NQ | -0,94 | -0,46 | -0,77 | -1,00 | -1,10 | -0,34 |
| 1 | -0,11 | -0,25 | 0,46 | -0,60 | -0,30 | 0,20 |
| 2 | -0,12 | -0,28 | 0,40 | -0,12 | -0,40 | -0,14 |
| 3 | -0,19 | -0,41 | 0,32 | -0,26 | -0,42 | 0,02 |
| 4 | -0,18 | -0,34 | 0,32 | -0,32 | -0,47 | 0,04 |
| 5 | -0,11 | -0,32 | 0,47 | -0,13 | -0,33 | 0,12 |
| 6 | -0,18 | -0,33 | 0,35 | -0,29 | -0,41 | 0,08 |
| 7 | -0,13 | -0,02 | -0,24 | -0,39 | -0,12 | 0,14 |
| 8 | 0,12 | -0,57 | 0,32 | -0,31 | -0,49 | 0,10 |
| 9 | -0,17 | -0,55 | 0,31 | -0,41 | -0,48 | -0,02 |
| 10 | -0,19 | -0,31 | 0,19 | -0,74 | -0,33 | 0,29 |
| 11 | -0,17 | -0,32 | -0,02 | -0,37 | -0,42 | 0,23 |
| 12 | -0,19 | -0,36 | -0,06 | -0,46 | -0,62 | 0,04 |
| 13 | -0,32 | -0,31 | 0,10 | -0,65 | -0,58 | 0,36 |

Tabela 3.15 - Bioatividade teórica contra alvos moleculares comuns para a 5OH1,4NQ e seus derivados (**14-21**) estimada através do programa Molinspiration®.

| Composto | GPCR | Moduladores do canal iônico | Inibidores da quinase | Ligandos do recetor nuclear | Inibidores da protease | Inibidores de enzimas |
|-------------------|-------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------|-----------------------|
| 5-OH-1,4NQ | -0,79 | -0,3 | -0,49 | -0,51 | -0,84 | -0,01 |
| 14 | -0,07 | -0,19 | 0,57 | -0,09 | -0,17 | 0,35 |
| 15 | -0,1 | -0,24 | 0,49 | 0,03 | -0,27 | 0,26 |
| 16 | -0,14 | -0,32 | 0,42 | -0,03 | -0,29 | 0,18 |
| 17 | -0,07 | -0,26 | 0,56 | 0,11 | -0,21 | 0,27 |
| 18 | -0,11 | -0,21 | 0,36 | -0,36 | -0,15 | 0,5 |
| 19 | -0,1 | -0,23 | 0,15 | -0,04 | -0,25 | 0,43 |
| 20 | -0,12 | -0,27 | 0,12 | -0,13 | -0,44 | 0,25 |
| 21 | -0,37 | -0,51 | 0,1 | -0,23 | -0,28 | 0,24 |

A análise dos resultados obtidos permite verificar que relativamente aos reagentes iniciais, os derivados estudados apresentam resultados melhorados para todos os alvos estudados. No entanto, o resultado que se destaca é a sua ação contra os inibidores quinase, estes inibidores permitem bloquear a ação de proteínas quinase presentes nas células cancerígenas. As proteínas quinase são enzimas que por um processo de fosforilação adicionam grupos fosfatos a outra proteína, este processo está envolvido no crescimento, proliferação e divisão celular das células cancerígenas.⁹⁷

Verifica-se ainda que, para ambos os casos, os derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona com aminas aromáticas *para*-substituídas apresentam ser os candidatos mais promissores.

3.3.3.3. Parâmetros ADMET

Os parâmetros de absorção, nomeadamente absorção intestinal humana (HIA), penetração na barreira hematoencefálica (BBB) e permeabilidade celular Caco-2, bem como os parâmetros toxicológicos, potencial mutagénico AMES, toxicidade oral aguda, potencial carcinogénico e classe carcinogénica determinados através do software admetSAR® apresentam-se nas Tabelas 3.16 e 3.17, para os reagentes e seus derivados.

Tabela 3.16 - Parâmetros ADMET para a 1,4NQ e seus derivados (**1-13**) estimada através do programa admetSAR®.

| Composto | Absorção (valor em %) | | | Toxicidade (valor em %) | | | |
|--------------|-----------------------|----------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|
| | HIA | BBB | Permeabilidade celular Caco-2 | Toxicidade de AMES | Potencial carcinogénico | Classe Carcinogénica | Toxicidade oral aguda |
| 1,4NQ | + (98,7) | - (25,3) | + (85) | + (75) | - (62,1) | No (56,3) | II (73,6) |
| 1 | + (97,7) | + (94,7) | + (77,8) | + (68) | + (56,3) | Alerta (42,6) | III (61,9) |
| 2 | + (98,1) | + (81,9) | + (57,5) | + (66) | + (51,7) | No (50,9) | III (67,9) |
| 3 | + (98,6) | + (94,6) | + (88,5) | + (62) | + (52,9) | Alerta (43,2) | III (75,5) |
| 4 | + (98,4) | + (95,9) | + (70,1) | - (54) | + (61,9) | No (49,8) | III (68,7) |
| 5 | + (96,9) | + (96) | + (66,5) | + (76) | + (60,5) | No (49,3) | III (57,5) |
| 6 | + (95,2) | + (95,7) | + (51,9) | + (57) | + (55,4) | Alerta (42,7) | III (64,1) |
| 7 | + (97,7) | + (95,6) | + (84,7) | + (91) | + (56,3) | Alerta (46,5) | III (63) |
| 8 | + (98,1) | + (83,9) | + (74,9) | + (77) | + (51,7) | No (52,8) | III (68) |
| 9 | + (98,6) | + (94,6) | + (87,6) | + (76) | + (52,9) | Alerta (43,2) | III (75,5) |
| 10 | + (99) | + (97,2) | + (80,5) | + (53) | - (77,1) | No (64,1) | III (63,6) |
| 11 | + (98,2) | + (96,6) | + (58,1) | + (81) | - (53,3) | No (58,9) | III (63,8) |
| 12 | + (99,1) | + (97,4) | + (94,4) | + (64) | + (50,8) | No (44,1) | III (56,9) |
| 13 | + (98,1) | + (97,1) | - (57,9) | + (67) | - (53,3) | No (63,5) | III (60,5) |

HIA: absorção intestinal humana; BBB: penetração na barreira hematoencefálica

Tabela 3.17 - Parâmetros ADMET para a 5OH1,4NQ e seus derivados (**14-21**) estimada através do programa admetSAR®.

| Composto | Absorção (valor em %) | | | Toxicidade (valor em %) | | | |
|-----------------|-----------------------|----------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|
| | HIA | BBB | Permeabilidade celular Caco-2 | Toxicidade de AMES | Potencial carcinogénico | Classe Carcinogénica | Toxicidade oral aguda |
| 5OH1,4NQ | + (97,9) | - (56,8) | + (82,4) | + (92) | - (64,9) | Alerta (56,3) | II (72,7) |
| 14 | + (97,1) | + (85,4) | + (72,4) | + (75) | - (53,7) | No (46,6) | III (65,1) |
| 15 | + (97,9) | + (81,9) | + (55) | + (79) | - (51,1) | No (54,5) | III (64,9) |
| 16 | + (97,9) | + (89,1) | + (83,8) | + (77) | - (57) | No (48,9) | III (65,7) |
| 17 | + (96,1) | + (85,4) | + (57,5) | + (82) | - (51,1) | No (54) | III (56,9) |
| 18 | + (98,6) | + (88,9) | + (54,3) | + (70) | - (75,7) | No (63,6) | III (65,7) |
| 19 | + (97,6) | + (91,9) | - (60,6) | + (85) | - (57,8) | No (61,6) | III (69,7) |
| 20 | + (98,8) | + (95,7) | + (93,7) | + (64) | + (50,8) | No (44,1) | III (56,9) |
| 21 | + (97,5) | + (91,1) | - (73,5) | + (83) | - (59,2) | No (62,6) | III (61,7) |

HIA: absorção intestinal humana; BBB: penetração na barreira hematoencefálica

A análise dos resultados permite verificar que, no que se refere ao parâmetro HIA teórico, quer os derivados da 1,4NQ quer do 5OH1,4NQ e os reagentes estudados possuem a capacidade de serem absorvidos, não existindo variações do parâmetro entre os derivados e os reagentes que lhes deram origem.

As diferenças observam-se para os parâmetros BBB e permeabilidade celular Caco-2. Relativamente à BBB verifica-se que os derivados possuem a capacidade de penetrar a barreira hematoencefálica (BBB+), enquanto ambos os reagentes, teoricamente não penetram a barreira hematoencefálica (BBB-). Contudo, para o reagente 1,4NQ a probabilidade obtida para o resultado é inferior a 50%, este valor indica que o resultado, na realidade, pode estar incorreto e possuir a capacidade de penetrar a barreira hematoencefálica.

No que se refere à permeabilidade celular Caco-2, na generalidade, os derivados da 1,4NQ e do 5OH1,4NQ e os reagentes possuem permeabilidade intestinal pelo modelo da célula Caco-2, com exceção dos derivados **13**, **19** e **21**.

No que se refere aos critérios toxicológicos teóricos, potencial mutagénico AMES, potencial carcinogénico, classe carcinogénica e toxicidade oral aguda, a análise dos parâmetros estimados permitiu retirar as seguintes conclusões:

i) A introdução de substituintes, quer aromáticos quer alifáticos, a ambos os reagentes não alterou a toxicidade AMES, à exceção do composto **4**, indicando que os derivados e os reagentes estudados possuem potencialmente atividade mutagénica.

ii) Quanto ao potencial carcinogénico verifica-se que ambos os reagentes não apresentam efeitos carcinogénicos. No entanto, ao introduzir substituintes aromáticos (compostos **1** a **9**) verifica-se que o critério se altera e esses nove derivados formados passam a ser considerados, teoricamente, carcinogénicos. Também com a amina alifática DEA se verifica a alteração deste parâmetro. Os restantes compostos com derivados das aminas alifáticas (compostos **10**, **11** e **13**), teoricamente, são consideradas não carcinogénicos.

Relativamente aos derivados da 5OH1,4NQ, não se verifica a mesma tendência observada para os derivados da 1,4NQ. Neste caso a introdução de aminas aromáticas não alterou o perfil estimado, sendo que os derivados **14-17** foram, teoricamente, definidos como não carcinogénicos, assim como os derivados **18**, **19** e **21**. Mais uma vez, a adição da amina alifática DEA apresenta um comportamento contrário aos agentes nucleófilos da sua família, sendo o derivado **20** considerado, teoricamente, carcinogénico.

iii) Para analisar os resultados estimados para a classe carcinogénica é importante referir que compostos com a previsão de não carcinogénico (inativo) ou fracamente carcinogénicos ($TD_{50} \leq 10$ mg/kg/dia) foram considerados não cancerígenos e os compostos com a previsão “alerta” ($TD_{50} > 10$ mg/kg/dia) foram considerados cancerígenos.⁹⁸

Os resultados estimados permitem verificar que a 1,4NQ é considerada não carcinogénica, e que todos os derivados à exceção dos compostos **1**, **3**, **6**, **7** e **9**, se mantêm nesta categoria, contudo, a probabilidade do resultado destes é inferior a 50%, pelo que os resultados poderão não ser corretos, também o derivado **12** apresenta esta condição, sendo que este pode passar a ser classificado como “alerta”.

No que se refere à 5OH1,4NQ, este reagente é considerado como um composto que merece “alerta” e os seus derivados foram considerados não carcinogênicos, no entanto os compostos **14**, **16** e **20** possuem probabilidade inferior a 50%.

iv) A toxicidade oral aguda foi classificada de acordo com as quatro categorias definidas pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), que divide os compostos de acordo com seu valor de LC₅₀ (conhecida como a dose letal média) em quatro categorias apresentadas na Tabela 3.18.

Tabela 3.18 - Classificação da toxicidade oral aguda pela EPA.

| Categoria | LC₅₀ |
|------------------|--|
| I | ≤ 50 mg/kg (Perigo) |
| II | > 50 mg/kg e ≤ 500 mg/kg (Atenção) |
| III | > 500 mg/kg e ≤ 5000 mg/kg (Cuidado) |
| IV | > 5000 mg/kg (Cuidado ou nenhuma palavra de sinalização) |

De acordo com a avaliação feita através do programa admetSAR® ambos os reagentes foram classificados como compostos com LC₅₀ categoria II e todos os seus derivados classificados como compostos com LC₅₀ categoria III.

A pontuação geral do composto para ser aplicado como fármaco foi determinada através do software OSIRIS® e os resultados obtidos apresentam-se nas Tabelas 3.19 e 3.20, para os reagentes e seus derivados.

Tabela 3.19 - Parâmetros para a 1,4NQ e seus derivados (**1-13**) estimada através do programa OSIRIS®.

| Composto | Druglikeness | Drug Score |
|-----------------|---------------------|-------------------|
| 1,4NQ | -2,44 | 0,18 |
| 1 | - 2,74 | 0,13 |
| 2 | -0,43 | 0,46 |
| 3 | - 1,63 | 0,36 |
| 4 | 0,29 | 0,42 |
| 5 | - 7,2 | 0,28 |
| 6 | - 11,6 | 0,3 |
| 7 | - 2,48 | 0,34 |
| 8 | - 0,3 | 0,47 |
| 9 | - 0,13 | 0,46 |
| 10 | - 1,85 | 0,39 |
| 11 | - 3,02 | 0,39 |
| 12 | 1,0 | 0,62 |
| 13 | - 4,62 | 0,37 |

Tabela 3.20 - Parâmetros para a 5OH1,4NQ e seus derivados (**14-21**) estimada através do programa OSIRIS®.

| Composto | Druglikeness | Drug Score |
|-----------------|---------------------|-------------------|
| 5OH1,4NQ | 0,6 | 0,46 |
| 14 | 0,15 | 0,19 |
| 15 | 2,44 | 0,81 |
| 16 | 1,22 | 0,72 |
| 17 | - 4,31 | 0,37 |
| 18 | 1,01 | 0,77 |
| 19 | - 0,11 | 0,7 |
| 20 | 3,89 | 0,91 |
| 21 | - 1,68 | 0,53 |

A *druglikeness* é a semelhança de um composto com um fármaco comercial com base nos fatores da biodisponibilidade oral. Os resultados obtidos pelo 1,4NQ e seus derivados indicam que a maioria dos derivados e o reagente não possuem ou possuem uma baixa semelhança com outros fármacos. Destaca-se, no entanto, o derivado **12** nas semelhanças com outros fármacos já existentes.

Para o reagente 5OH1,4NQ e os seus derivados **15**, **16**, **18** e **20** observa-se uma semelhança com outros fármacos, enquanto os restantes derivados (compostos **14**, **17**, **19** e **21**) não possuem ou possuem uma baixa semelhança com fármacos comerciais.

O último parâmetro da pontuação do composto indica o potencial geral do composto para se qualificar para um fármaco. Relativamente ao reagente 1,4NQ verifica-se que este possui uma baixa pontuação para ser qualificado, no entanto os seus derivados, à exceção do composto **1**, possuem uma pontuação média para este parâmetro, indicando que os compostos sintetizados podem teoricamente ser qualificados como fármacos.

Também para os derivados do 5OH1,4NQ verifica-se que, à exceção do derivado **14**, os compostos possuem teoricamente pontuações médias a altas e que podem ser qualificados enquanto fármacos.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES E

PERSPETIVAS FUTURAS

4. Conclusões e Perspetivas Futuras

Com este trabalho foi possível obter derivados da 1,4-naftoquinona utilizando a irradiação por micro-ondas como ferramenta alternativa aos processos tradicionais de síntese.

As reações de acoplamento com aminas aromáticas foram realizadas na presença de catalisador básico (CaCO_3), em 5 minutos sob irradiação de micro-ondas, onde se verificou que a adição de aminas aromáticas *para*-substituídas com grupos doadores de elétrons (1,4PDA, 4AP e 4MA) originou a formação dos compostos **1**, **2** e **3** com conversões de 80%, 59% e 57%, respetivamente. Relativamente ao acoplamento de aminas aromáticas *para*-substituídas com grupos aceitadores de elétrons (4ABN, 4NA e 4CIA), a adição ocorreu para as aminas 4CIA e 4ABN com conversões de 20% e 7%, respetivamente.

Na síntese de derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona substituídos com aminas aromáticas *orto*-substituídas (1,2PDA, 2AP e 2APA), as conversões obtidas para os derivados (**7-9**) foram inferiores (8%, 45% e 27%, respetivamente) às conseguidas para os seus semelhantes *para*-substituídos.

As reações com aminas alifáticas foram realizadas na ausência de catalisador básico e foram obtidos os derivados **10**, **11**, **12** e **13** com conversões de 63%, 66%, 74% e 56%, respetivamente.

No que se refere aos derivados 2-*N*-arilamino-5-hidroxi-1,4-naftoquinona com aminas aromáticas *para*-substituídas com grupos aceitadores de elétrons (1,4PDA, 4AP e 4MA) foram obtidos os compostos **14**, **15** e **16** com conversões de 31%, 12% e 17%, respetivamente. As conversões foram significativamente mais baixas que as obtidas para os derivados da 1,4NQ semelhantes, admite-se por as reações terem sido realizadas sem catalisador.

Para os derivados da 5OH1,4NQ com aminas alifáticas, verificou-se a formação dos compostos **18** e **19** com conversões de 72% e 71%, respetivamente, ligeiramente superiores às obtidas para os derivados 1,4NQ semelhantes.

Os estudos eletroquímicos permitiram concluir que a adição de substituintes na posição 2 da naftoquinona diminuiu o E_{pc} dos derivados, conseqüentemente a adição destes substituintes aumenta o poder redutor dos compostos comparativamente ao reagente que lhes deu origem. O poder redutor aumenta com a adição de substituintes com maior efeito indutivo, ou seja, as aminas aromáticas que possuem um sistema de

eletrões conjugados terão um poder redutor mais baixo. Assim o poder oxidativo dos derivados aumenta da seguinte forma: aminas alifáticas > aminas aromáticas com grupos substituintes doadores de eletrões > aminas aromáticas com grupos substituintes aceitadores de eletrões.

Na atividade antioxidante dos compostos, os derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona com aminas aromáticas *para*-substituídas apresentaram as maiores atividades, nomeadamente os derivados com grupos substituintes doadores de eletrões, também as aminas alifáticas apresentam atividades de intermédias a altas. As atividades mais baixas são obtidas para os derivados 2-*N*-arilamino-1,4-naftoquinona com aminas aromáticas *orto*-substituídas.

Os resultados obtidos para a biodisponibilidade oral teórica permitiram determinar que todos os compostos cumprem a “regra dos 5” e possuem valores de %ABS superiores a 71% para os derivados da 1,4NQ e superiores a 63% para os derivados da 5OH1,4NQ, pelo que, teoricamente, todos os derivados estudados poderão ser administrados de forma oral e terão uma boa absorção após a sua administração.

Na bioatividade contra alvos moleculares comuns, verificou-se que os derivados estudados possuem maior capacidade enquanto inibidores da proteína quinase e de enzimas. Verificou-se ainda que, existe uma melhoria significativa dos resultados, quando o substituinte é uma amina aromática *para*-substituída.

Na avaliação das propriedades ADMET, os resultados obtidos para os parâmetros que descrevem a absorção, permitiram verificar que os derivados possuem capacidade para serem absorvidos e transportados até à corrente sanguínea, à exceção dos compostos **13**, **19** e **21** que não possuem permeabilidade Caco-2.

Para os parâmetros que descrevem a toxicidade: *i*) todos os derivados da 1,4NQ e da 5OH1,4NQ, à exceção do composto **4**, possuem teoricamente potencial mutagénico pelo teste de AMES; *ii*) os derivados da 1,4NQ com aminas aromáticas apresentam teoricamente potencial carcinogénico, enquanto os derivados com aminas alifáticas, à exceção do **12**, não apresentam esta tendência. Todos os derivados da 5OH1,4NQ, à exceção do **25**, não apresentam potencial carcinogénico, verifica-se assim que a presença da amina DEA condiciona este parâmetro para ambos os reagentes; *iii*) no que se refere à toxicidade oral aguda verifica-se que ambos os reagentes se encontram na categoria II, enquanto os seus derivados correspondem à categoria III, diminuindo a sua toxicidade.

A análise complementar efetuada pelo programa OSIRIS sugere que, na generalidade, os derivados da 5OH1,4NQ apresentam valores de *druglikeness* e *drug scores* superiores aos obtidos para os derivados da 1,4NQ indicando que serão potencialmente melhores candidatos a fármacos.

Como perspetivas futuras pode ainda ser explorado e melhorado a não utilização de solvente, pois resultados preliminares mostraram ser uma via promissora para a síntese dos compostos estudados.

Pretende-se também explorar novos mecanismos para a formação dos derivados substituídos com compostos heterocíclicos, pois estes últimos apresentam-se como promissores para aplicações farmacêuticas.

Com os compostos mais promissores sugere-se a realização de ensaios de atividade citotóxica *in vitro* de forma a confirmar as potencialidades biológicas propostas. De acordo com a ampla gama de atividades apresentadas para compostos semelhantes, poderá ainda ser explorada a capacidade de utilização como anti-bacterianos e anti-fúngicos.

O trabalho desenvolvido nesta tese foi apresentado como comunicações em poster:

Encontros Internacionais

- Sousa, Ana Catarina; Cabral, Rafaela; Costa, João; Robalo, Maria Paula. **2020**. "Synthesis of 1,4-naphthoquinones derivatives under non-conventional conditions and in silico studies". The Sixth Electronic Conference on Medicinal Chemistry, 1 a 30 de novembro de 2020, evento online.

- Sousa, Ana Catarina; Cabral, Rafaela; Costa, João; Robalo, Maria Paula. **2019**. "Microwave assisted synthesis of substituted 4-arylamino-1,4-naphthoquinones with potential biological properties". International Symposium on Synthesis and Catalysis 2019 (ISySyCat2019), 3 a 6 de setembro de 2019, Évora, Portugal.

Encontros Nacionais:

- Sousa, Ana Catarina; Henriques, Catarina; Cabral, Rafaela; Piedade, M. Fátima M. M.; Robalo, Maria Paula. **2019**. "Improving the synthesis of bioactive molecules using microwave irradiation". Chemistry: shaping the future, 4th Meeting of Colégio de Química da Universidade de Lisboa (4ECQUL)", 16 a 18 de julho de 2019, Lisboa, Portugal.

Trabalho distinguido com o prémio do melhor poster na divisão Life & Health do Encontro.

- Cabral, Rafaela; Sousa, Ana Catarina; Robalo, Maria Paula. **2021**. " Síntese por micro-ondas de derivados da 1,4-naftoquinona e sua avaliação *in silico*". iFEQB - Fórum de Engenharia Química e Biológica, 11 a 13 de maio de 2021, ISEL, Lisboa, Portugal.

CAPÍTULO 5

PARTE EXPERIMENTAL

5. Parte Experimental

5.1. Considerações gerais

Os reagentes e solventes utilizados foram adquiridos pela Acrös Organics, Sigma Aldrich, Merck, Alfa Aesar, Fluka Analytical, BDH reagente, Janssen, Panreac, Carlos Erba e Fisher Scientific com elevada pureza e utilizados tal como adquiridos.

As sínteses por aquecimento de micro-ondas foram realizadas num reator de micro-ondas CEM Discover® BenchMate (CEM Microwave Technology Ltd., Buckingham, Reino Unido). As reações foram realizadas em vasos de micro-ondas Pyrex selados (potência máxima de 200 W) usando o modo de controlo de temperatura.

A formação do/os produto/os das reações foi seguida por cromatografia de camada fina (ccf) utilizando-se para tal folhas de alumínio revestidas de sílica gel 60 GF₂₅₄ da Merck, com uma espessura de 0,25 mm e por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). As placas foram analisadas sob luz ultravioleta a 254 e 366 nm, tendo-se como comparação em paralelo os reagentes das reações.

As purificações foram realizadas por cromatografia em coluna utilizando-se sílica gel 60 Å de elevada pureza da Scharlau, com diferentes sistemas eluentes especificados para cada caso. Realizaram-se ainda purificações por cromatografia preparativa utilizando-se placas de vidro (20 x 20 cm) revestidas com uma camada de sílica gel 60CF da Merck. As soluções foram concentradas e secas num evaporador rotativo Büchi, modelo R210, e a remoção total dos solventes garantida com secagem em linha de vácuo.

5.1.1. Cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) acoplada a um detetor de díodos (DAD)

A cromatografia líquida de alta resolução foi efetuada num sistema de HPLC (Alliance Waters e2695) equipado com um DAD (Alliance Waters 2489). Foi utilizada uma coluna de fase reversa RP-18e (Symmetry, 250 x 4,6 mm, 5 µm) da Alliance Waters, operando a 1mL/min. Utilizou-se um programa de gradiente linear 5 – 70 % de acetonitrilo em 1 % de ácido fórmico aquoso até aos 32 min, seguido de 8 min de um gradiente linear de 100 % de acetonitrilo, com fluxo de 1mL/min.

As conversões foram determinadas por análise de áreas dos perfis cromatográficos obtidos a $\lambda = 270$ nm. Para os ensaios das misturas reacionais e do padrão individual de

cada reagente, de uma solução com concentração de 50 mM (concentração em reação), 20 μ L da mistura que foram diluídos em 2980 μ L de acetonitrilo. Estas soluções diluídas foram injetadas (10 μ L) de acordo com o método descrito e traçados os respectivos cromatogramas. O cálculo das áreas foi definido tendo como referência o reagente padrão de cada reação. Por fim, os tempos de retenção dos produtos foram confirmados por injeção do produto de reação isolado e purificado.

5.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de próton (^1H -RMN), de carbono (^{13}C -RMN) e bidimensionais foram obtidos nos espectrômetros Bruker 300 MHz e 400 MHz, com o *software* Topspin 3.2. As amostras de RMN foram preparadas ao ar e à temperatura ambiente, utilizando como solvente deuterado MeOD tal como adquirido à *Euriso top*.

As ressonâncias são caracterizadas pelos seus desvios químicos (δ) expressos em partes por milhão (ppm), as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz) e as multiplicidades estão expressas segundo a nomenclatura: s (singuleto), d (duplete), t (tripleto), m (multiplete) e dd (duplo duplete).

5.1.3. Espectroscopia de Massa (ESI)

As análises de massa foram efetuadas através da técnica de *electrospray ionization* (ESI) em modo positivo e/ou negativo. Os espectros foram obtidos num espectrômetro Varian 500-MS LC Ion Trap (Rede Portuguesa de Espetrometria de Massa) a operar com voltagem do spray de ionização $\pm 5,0$ kV, voltagem capilar 20 V e RF 80%.

5.1.4. Determinação dos potenciais redox por voltametria cíclica

O comportamento eletroquímico dos reagentes foi determinado por voltametria cíclica num potencióstato/galvanóstato EG&G *Princeton Applied Research*, modelo 273A, utilizado para manter e controlar em cada instante o potencial de elétrodo, associado ao respetivo software de aquisição e tratamento de dados (Electrochemistry Powersuite, versão 2.6). Utilizou-se uma célula eletroquímica convencional para três elétrodos, que continha incorporado um fio de platina utilizado como contra-elétrodo. Como elétrodo de trabalho utilizou-se um elétrodo de platina de 1 mm de diâmetro e como referência o

elétrodo de Ag/AgCl da Radiometer analytical. Os ensaios foram realizados à temperatura ambiente, num intervalo de potencial entre -1,8 e 1,8 V para uma velocidade de varrimento de 200 mV, em soluções de 1 mM de composto em acetonitrilo, previamente desarejado com azoto.

5.1.5. Determinação das percentagens de atividade antioxidante

As soluções dos compostos sintetizados foram preparadas com metanol na concentração de 1 mg/mL. Um volume de 30 µL de cada uma dessas soluções foi diluído em 270 µL de uma solução metanólica de DPPH 0,1 mM. As diluições resultantes foram incubadas à temperatura ambiente durante 1 hora no escuro. As medições espectrofotométricas foram realizadas a $\lambda = 515$ nm num leitor de microplacas (BioTek-Synergy 2) associado a um software de aquisição de dados (Gen5, versão 1.10), usando uma mistura de 270 µL de metanol e 30 µL da solução de composto como branco, de modo a fazer a correção de cor das amostras e uma mistura de 270 µL de solução de DPPH e 30 µL de metanol que foi empregue como controlo. Todas as misturas de reação, branco e controlo foram feitas em triplicado e o ácido ascórbico foi utilizado como controlo positivo. A percentagem de inibição foi calculada usando a seguinte fórmula:

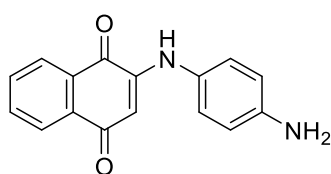
$$AA \% = 100 - \left[\frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100}{Abs_{controlo}} \right]$$

5.2. Método geral das sínteses por aquecimento convencional

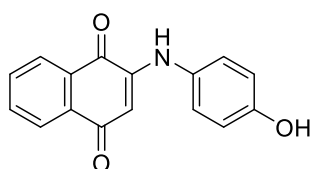
A uma solução de reagente (50 mM) em acetonitrilo (25-50 mL) foi adicionado o respetivo agente nucleófilo (50 mM). Para reações realizadas com presença de catalisador, à mistura anterior foi adicionada uma solução de CaCO₃ (252 mg, 50 mM) em água (25 mL). As reações ficaram sob agitação em refluxo a 70 °C durante 24h e os produtos obtidos foram isolados e purificados. O procedimento de síntese foi idêntico para todos os derivados, e as reações foram seguidas por ccf. Os produtos insolúveis foram isolados por filtração e os produtos solúveis isolados por evaporação da solução orgânica. Sempre que necessário utilizou-se a técnica de cromatografia em coluna ou preparativa para posterior purificação.

5.3. Método geral das sínteses por aquecimento de micro-ondas

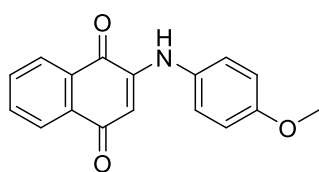
A uma solução de reagente (50 mM) em acetonitrilo (1-2 mL) foi adicionado o respetivo agente nucleófilo (50 mM). Para reações realizadas com presença de catalisador, à mistura anterior foi adicionada uma solução de CaCO₃ (101 mg, 50 mM) em água (1 mL). O vial de micro-ondas foi selado e a reação permaneceu em agitação a 150 °C e 200W durante 5 minutos, finalmente os produtos foram isolados e purificados. O procedimento de síntese foi idêntico para todos os derivados, e as reações foram seguidas por cc. Os produtos insolúveis foram isolados por filtração e os produtos solúveis isolados por evaporação da solução orgânica. Sempre que necessário utilizou-se a técnica de cromatografia em coluna ou preparativa para posterior purificação.



1: sólido castanho; 80%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3315, 1670, 1629, 1600, 1570, 1353, 1299; **¹H RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ (ppm) = 8,11 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz, H₅), 8,02 (d, 1H, *J* = 7,5 Hz, H₈), 7,80 (t, 1H, *J* = 7,8 Hz, H₇), 7,72 (t, 1H, *J* = 7,4 Hz, H₆), 7,09 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H₁₂, H₁₆), 6,81 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H₁₃, H₁₅), 6,01 (s, 1H, H₃); **¹³C{¹H} RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ (ppm) = 185,5 (C₄), 183,0 (C₁), 147,8 (C₂), 135,9 (C₇), 134,8 (C₁₀), 133,5 (C₆), 132,1 (C₉), 127,5 (C₅), 126,8 (C₈), 126,5 (C₁₂, C₁₆), 116,9 (C₁₃, C₁₅), 101,4 (C₃); **ESI/MS** modo positivo: *m/z* 265 [M+H]⁺; MS² *m/z* = 237.

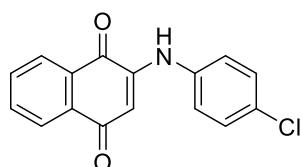


2: sólido laranja acobreado; 59%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3303, 1670, 1624, 1598, 1568, 1267; **¹H RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ (ppm) = 8,11 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz, H₅), 8,02 (d, 1H, *J* = 7,6 Hz, H₈), 7,80 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz, H₇), 7,70 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz, H₆), 7,17 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, H₁₂, H₁₆), 6,87 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, H₁₃, H₁₅), 6,0 (s, 1H, H₃); **¹³C{¹H} RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ (ppm) = 185,6 (C₄), 182,9 (C₁), 157,2 (C₁₄), 135,9 (C₇), 133,6 (C₆), 132,1 (C₁₀), 130,4 (C₉), 127,4 (C₅), 126,9 (C₁₂, C₁₆), 126,8 (C₈), 117,1 (C₁₃, C₁₅), 101,7 (C₃); **ESI/MS** modo positivo: *m/z* 266 [M+H]⁺; MS² *m/z* = 238.

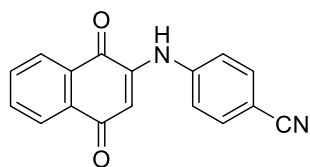


3: sólido castanho; 57%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3222, 1678, 1608, 1600, 1568, 1234; **¹H RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ (ppm) = 8,09 (d, 1H, *J* = 7,6 Hz, H₅), 8,00 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz, H₈), 7,78 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz, H₇), 7,70 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz, H₆), 7,25 (d, 2H,

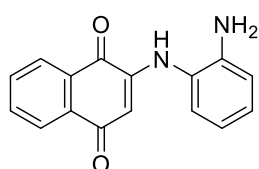
$J = 8,8$ Hz, H_{12}, H_{16}), 7,00 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H_{13}, H_{15}), 6,02 (s, 1H, H_3), 3,82 (s, 3H, H_{OCH_3}); $^{13}C\{H\}$ RMN (300 MHz, MeOD- d_4): δ (ppm) = 185,6 (C_4), 182,8 (C_1), 159,4 (C_{14}), 135,8 (C_7), 133,6 (C_6), 133,2 (C_{10}), 132,1 (C_9), 129,4 (C_{11}), 127,4 (C_5), 126,8 (C_8), 126,7 (C_{12} , C_{16}), 115,8 (C_{13}, C_{15}), 101,9 (C_3), 56,0 (C_{OCH_3}); **ESI/MS** modo positivo: m/z 280 $[M+H]^+$; MS^2 $m/z = 252$.



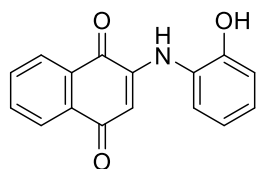
4: sólido laranja; 20%; 1H RMN (300 MHz, MeOD- d_4): δ (ppm) = 8,21 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_5), 8,09 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_8), 7,86 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz, H_7), 7,76 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz, H_6), 7,42 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H_{12}, H_{16}), 6,76 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H_{13}, H_{15}), 7,08 (s, 1H, H_3); **ESI/MS** modo positivo: m/z 284 $[M+H]^+$; MS^2 $m/z = 256, 249, 247$.



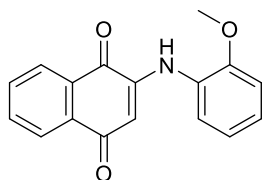
5: sólido laranja; 7%; **IV** $[KBr]$ ν_{max}/cm^{-1} : 3205, 1676, 1624, 1598, 1571, 1299; 1H RMN (300 MHz, MeOD- d_4): δ (ppm) = 8,31 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_5), 8,05 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_8), 7,82 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, H_7), 7,65 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, H_6), 7,48 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz, H_{12}, H_{16}), 7,35 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz, H_{13}, H_{15}), 6,22 (s, 1H, H_3); **ESI/MS** modo positivo: m/z 275 $[M+H]^+$; MS^2 $m/z = 247$.



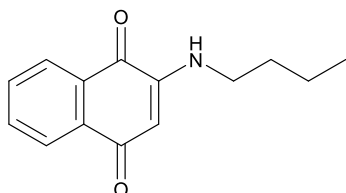
7: sólido amarelo; 16%; 1H RMN (300 MHz, MeOD- d_4): δ (ppm) = 8,29 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_5), 8,17 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_8), 8,02 (m, 2H, H_6, H_7), 7,24 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_{16}), 7,17 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{15}), 7,08 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz, H_{13}), 6,99 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{14}), 6,08 (s, 1H, H_3); **ESI/MS** modo positivo: m/z 265 $[M+H]^+$; MS^2 $m/z = 237$.



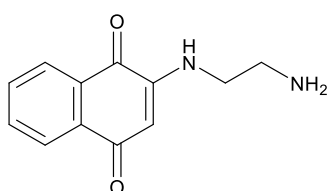
8: sólido vermelho; 45%; **IV** $[KBr]$ ν_{max}/cm^{-1} : 3450, 3305, 1669, 1616, 1604, 1584, 1290; 1H RMN (300 MHz, MeOD- d_4): δ (ppm) = 8,13 (dd, 1H, $J = 7,4$ Hz, H_5), 8,03 (dd, 1H, $J = 7,6$ Hz, H_8), 7,80 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H_7), 7,73 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H_6), 7,32 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_{16}), 7,11 (t, 1H, $J = 8,5$ Hz, H_{15}), 6,97 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz, H_{13}), 6,93 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz, H_{14}), 6,04 (s, 1H, H_3); $^{13}C\{H\}$ RMN (300 MHz, MeOD- d_4): δ (ppm) = 185,7 (C_4), 182,8 (C_1), 151,9 (C_{12}), 134,6 (C_6), 133,7 (C_{10}), 132,0 (C_7), 126,8 (C_{15}), 126,3 (C_5), 124,8 (C_8), 103,1 (C_3); **ESI/MS** modo positivo: m/z 280 $[M+H]^+$; MS^2 $m/z = 252$.



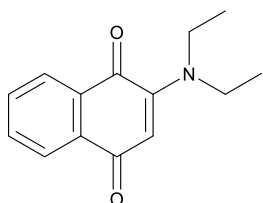
9: sólido castanho avermelhado; 27%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3305, 1668, 1624, 1616, 1573, 1292; **$^1\text{H RMN}$** (300 MHz, MeOD- d_4): $\delta(\text{ppm}) = 8,12$ (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H₅), 8,05 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H₈), 7,81 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, H₇), 7,75 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H₆), 7,40 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H₁₆), 7,25 (t, 1H, $J = 7,9$ Hz, H₁₅), 7,13 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, H₁₃), 7,06 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz, H₁₄), 6,09 (s, 1H, H₃); **ESI/MS** modo positivo: m/z 280 [M+H]⁺; MS² $m/z = 252$.



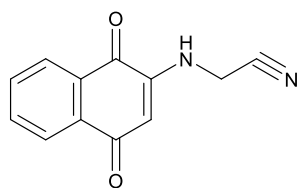
10: sólido laranja; 63%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3350, 1674, 1608, 1595, 1571, 1274; **$^1\text{H RMN}$** (300 MHz, MeOD- d_4): $\delta(\text{ppm}) = 8,01$ (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, H₅, H₈), 7,75 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H₇), 7,66 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H₆), 5,68 (s, 1H, H₃), 3,23 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, H₁₁), 1,66 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz, H₁₂), 1,44 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz, H₁₃), 0,98 (t, 3H, $J = 7,3$ Hz, H₁₄); **$^{13}\text{C}\{\text{H}\}$ RMN** (300 MHz, MeOD- d_4): $\delta(\text{ppm}) = 184,7$ (C₄), 182,6 (C₁), 150,8 (C₂), 135,8 (C₇), 135,0 (C₉), 133,3 (C₆), 132,1 (C₁₀), 127,3 (C₈), 126,8 (C₅), 99,9 (C₃), 43,2 (C₁₁), 31,1 (C₁₂), 21,3 (C₁₃) 14,1 (C₁₄); **ESI/MS** modo positivo: m/z 230 [M+H]⁺.



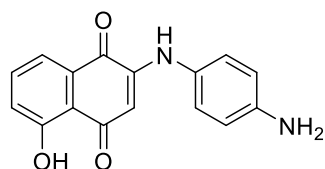
11: sólido castanho; 66%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3323, 1686, 1668, 1557, 1270; **$^1\text{H RMN}$** (300 MHz, MeOD- d_4): $\delta(\text{ppm}) = 8,19$ (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz, H₈), 8,00 (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz, H₅), 7,61 (t, 1H, $J = 3,4$ Hz, H₇), 7,59 (t, 1H, $J = 3,2$ Hz, H₆), 5,63 (s, 1H, H₃), 4,11 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, H₁₁), 3,37 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, H₁₂).



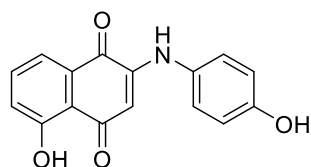
12: sólido castanho avermelhado; 74%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3352, 1676, 1591, 1589, 1544, 1255; **$^1\text{H RMN}$** (300 MHz, MeOD- d_4): $\delta(\text{ppm}) = 7,98$ (dd, 2H, $J = 7,9$ Hz, H₅, H₈), 7,76 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz, H₇), 7,68 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz, H₆), 5,86 (s, 1H, H₃), 3,62 (m, 2H, H₁₁), 1,32 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, H₁₂); **$^{13}\text{C}\{\text{H}\}$ RMN** (300 MHz, MeOD- d_4): $\delta(\text{ppm}) = 184,7$ (C₄), 184,4 (C₁), 153,3 (C₂), 135,0 (C₇), 134,3 (C₉), 134,1 (C₁₀), 133,3 (C₆), 125,9 (C₅, C₈), 105,0 (C₃), 48,0 (C₁₁, C_{11'}), 12,9 (C₁₂, C_{12'}); **ESI/MS** modo positivo: m/z 230 [M+H]⁺.



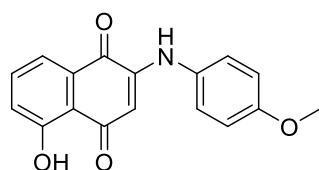
13: sólido preto; 56%; **¹H RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ(ppm) = 8,07 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz, H₈), 8,01 (d, 1H, *J* = 7,4 Hz, H₅), 7,77 (t, 1H, *J* = 7,2 Hz, H₇), 7,68 (t, 1H, *J* = 7,6 Hz, H₆), 5,62 (s, 1H, H₃), 3,77 (s, 2H, H₁₁).



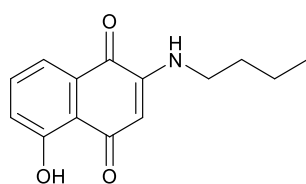
14: sólido castanho; 31%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3426, 2922, 1735, 1635, 1625, 1542, 1097; **¹H RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ(ppm) = 7,68 (t, 1H, *J* = 8,1 Hz, H₇), 7,54 (d, 1H, *J* = 7,6 Hz, H₈), 7,19 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz, H₆), 7,08 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz, H_{12,16}), 6,73 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{13,15}), 5,97 (s, 1H, H₃); **ESI/MS** modo positivo: *m/z* 281 [M+H]⁺; **MS²** *m/z* = 253.



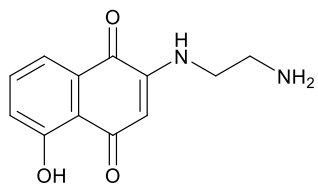
15: sólido rosa/roxo claro; 12%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3451, 2963, 1735, 1635, 1625, 1542, 1099; **¹H RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ(ppm) = 7,63 (t, 1H, *J* = 7,8 Hz, H₇), 7,49 (d, 1H, *J* = 7,4 Hz, H₈), 7,17 (d, 3H, *J* = 8,6 Hz, H₆, H_{12,16}), 6,88 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{13,15}), 5,94 (s, 1H, H₃); **¹³C{H} RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ(ppm) = 185,0 (C₁), 157,4 (C₁₄), 138,4 (C₇), 130,2 (C₁₁), 126,9 (C_{12,16}), 118,7 (C₈), 117,2 (C_{13,15}), 101,8 (C₃); **ESI/MS** modo positivo: *m/z* 282 [M+H]⁺; **MS²** *m/z* = 254.



16: sólido castanho preto; 17%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3545, 3016, 1682, 1625, 1627, 1557, 1109; **¹H RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ(ppm) = 7,67 (m, 1H, H₇), 7,55 (d, 1H, *J* = 6,8 Hz, H₈), 7,28 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, H₆), 7,03 (d, 2H, *J* = 9,1 Hz, H_{12,16}), 6,78 (d, 2H, *J* = 7,8 Hz, H_{13,15}), 5,99 (s, 1H, H₃), 3,83 (s, 3H, H_{OC}H₃); **ESI/MS** modo positivo: *m/z* 296 [M+H]⁺; **MS²** *m/z* = 268.



18: sólido rosa avermelhado; 72%; **IV [KBr]** $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3450, 2873, 1733, 1698, 1597, 1164; **¹H RMN** (300 MHz, MeOD-*d*₄): δ(ppm) = 7,58 (d, 1H, *J* = 7,3 Hz, H₆), 7,52 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz, H₇), 7,22 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz, H₈), 5,63 (s, 1H, H₃), 3,26 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, H₁₁), 1,65 (m, 2H, H₁₂), 1,44 (m, 2H, H₁₃), 0,99 (t, 3H, *J* = 7,3 Hz, H₁₄); **ESI/MS** modo positivo: *m/z* 246 [M+H]⁺.



19: sólido laranja; 71%; **IV [KBr]** $U_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3446, 2932, 1735, 1639, 1464, 1311, 1092; **$^1\text{H RMN}$** (300 MHz, MeOD- d_4): δ (ppm) = 7,62 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H₆), 7,41 (t, 1H, $J = 7,9$ Hz, H₇), 6,98 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, H₈), 5,50 (s, 1H, H₃), 4,08 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, H₁₁), 0,90 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, H₁₂).

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

6. Referências Bibliográficas

1. López López, L.; Daniel, S.; Flores, N.; Yesenia, S.; Belmares, S. *VITAE, Rev. LA Fac. QUÍMICA Farm.* **2014**, *21* (3), 248–258.
2. Pereyra, C. E.; Dantas, R. F.; Ferreira, S. B.; Gomes, L. P.; Silva, F. P. *Cancer Cell Int.* **2019**, *19* (207), 1–20.
3. Kumagai, Y.; Shinkai, Y.; Miura, T.; Cho, A. K. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2012**, *52*, 221–250.
4. López López, L. I.; Leyva, E.; Garcia de la Cruz, R. F. *Rev. Mex. Ciencias Farm.* **2011**, *42* (1), 311–346.
5. Babula, P.; Adam, V.; Havel, L.; Kizek, R. *Curr. Pharm. Anal.* **2009**, *5* (1), 47–68.
6. Aminin, D.; Polonik, S. *Chem. Pharm. Bull.* **2020**, *68* (1), 46–57.
7. Aguilar-Martinez, M.; Cuevas, G.; Jimenez-Estrada, M.; Gonzalez, I.; Lotina-Hennsen, B.; Macias-Ruvalcaba, N. *J. Org. Chem.* **1999**, *64* (10), 3684–3694.
8. Kumar, S.; Gautam, S.; Sharma, A. *Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* **2013**, *755* (1), 30–41.
9. Griffiths, J. *Ullmann's Encycl. Ind. Chem.* **2006**, 1–6.
10. Grolig, J.; Wagner, R. Naphthoquinones in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., **2012**), 733–737.
11. Wellington, K. W. *RSC Adv.* **2015**, *5* (26), 20309–20338.
12. Sharma, U.; Katoch, D.; Sood, S.; Kumar, N.; Singh, B.; Thakur, A.; Gulati, A. *Indian J. Chem. - Sect. B Org. Med. Chem.* **2013**, *52B* (11), 1431–1440.
13. Ibis, C.; Tuyun, A. F.; Bahar, H.; Ayla, S. S.; Stasevych, M. V.; Ya Musyanovych, R.; Komarovska-Porokhnyavets, O.; Novikov, V. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23* (4), 2140–2149.
14. Sánchez-Calvo, J. M.; Barbero, G. R.; Guerrero-Vásquez, G.; Durán, A. G.; Macías, M.; Rodríguez-Iglesias, M. A.; Molinillo, J. M. G.; Macías, F. A. *Med. Chem. Res.* **2016**, *25* (6), 1274–1285.
15. Nasiri, H. R.; Madej, M. G.; Panisch, R.; Lafontaine, M.; Bats, J. W.; Lancaster, C. R. D.; Schwalbe, H. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (23), 9530–9541.
16. Chobot, V.; Hadacek, F. *J. Chem. Ecol.* **2009**, *35* (3), 383–390.
17. Bhasin, D.; Chettiar, S. N.; Etter, J. P.; Mok, M.; Li, P. K. *Bioorganic Med. Chem.* **2013**, *21* (15), 4662–4669.

18. Medentsev, A. G.; Akimenko, V. K. *Phytochemistry* **1992**, 31 (1), 77–79.
19. Huang, L. J.; Chang, F. C.; Lee, K. H.; Wang, J. P.; Teng, C. M.; Kuo, S. C. *Bioorganic Med. Chem.* **1998**, 6 (12), 2261–2269.
20. Lien, J.-C.; Huang, L.-J.; Wang, J.-P.; Teng, C.-M.; Lee, K.-H.; Kuo, A.-C. *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, 44 (6), 1181–1187.
21. Mahapatra, A.; Tshikalange, T. E.; Meyer, J. J. M.; Lall, N. *Chem. Nat. Compd.* **2012**, 47 (6), 883–887.
22. Ahmad, T.; Suzuki, Y. J. *Antioxidants* **2019**, 91 (8), 0–13.
23. Prachayasittikul, V.; Pingaew, R.; Worachartcheewan, A.; Sitthimonchai, S.; Nantasenamat, C.; Prachayasittikul, S.; Ruchirawat, S.; Prachayasittikul, V. *EXCLI J.* **2017**, 16, 714–726.
24. Leyva, E.; López, L. I.; Loredó-Carrillo, S. E.; Rodríguez-Kessler, M.; Montes-Rojas, A. *J. Fluor. Chem.* **2011**, 132 (2), 94–101.
25. Prachayasittikul, V.; Pingaew, R.; Worachartcheewan, A.; Sitthimonchai, S.; Nantasenamat, C.; Prachayasittikul, S.; Ruchirawat, S.; Prachayasittikul, V. *EXCLI J.* **2017**, 14, 714–726.
26. Pinho, B. R.; Sousa, C.; Oliveira, J. M. A.; Valentão, P.; Andrade, P. B. *Bioact. Compd. Types, Biol. Act. Heal. Eff.* **2012**, 181–218.
27. Klotz, L. O.; Hou, X.; Jacob, C. *Molecules* **2014**, 19, 14902–14918.
28. El-Najjar, N.; Gali-Muhtasib, H.; Vuorela, P.; Urtti, A.; Vuorela, H. Naphthoquinones and Anthraquinones: Chemical, Analytical, and Biological Overview in *Encyclopedia of Analytical Chemistry* (**2014**), 1–16.
29. Rodrigues, S. V.; Viana, L. M.; Baumann, W. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 385 (5), 895–900.
30. Sharma, N.; Ghosh, P.; Sharma, U. K.; Sood, S.; Sinha, A. K.; Gulati, A. *Anal. Lett.* **2009**, 42 (16), 2592–2609.
31. Ferreira, G. M. Studies on Benzoquinones and Naphthoquinones from Medicinal Plants (Institute of Chemical Technology, **2014**), 25-52.
32. Babula, P.; Mikelova, R.; Adam, V.; Kizek, R.; Havel, L.; Sladky, Z. *J. Chromatogr. B* **2006**, 842, 28–35.
33. Sagratini, G.; Cristalli, G.; Giardinà, D.; Gioventù, G.; Maggi, F.; Ricclutelli, M.; Vittori, S. *J. Sep. Sci.* **2008**, 31 (6–7), 945–952.
34. Hou, Y.; Vasileva, E. A.; Carne, A.; McConnell, M.; Bekhit, A. E. D. A.; Mishchenko, N. P.

- RSC Adv.* **2018**, *8* (57), 32637–32650.
35. Santos, A. G.; Regis, A. C. D.; da Rocha, G. O.; Bezerra, M. de A.; de Jesus, R. M.; de Andrade, J. B. *J. Chromatogr. A* **2016**, *1435*, 6–17.
36. Barnett, E. D. B. The Preparation of Organic Compounds in *Philadelphia P. Blakiston's Som & Co.* (**1912**), 137-139.
37. Gogin, L. L.; Zhizhina, E. G.; Pai, Z. P. *Mod. Res. Catal.* **2019**, *8*, 1–9.
38. López López, L. I.; Vaquera Garcia, J. J.; Saenz-Galindo, A.; Silva-Belmares, S. Y. *Lett. Org. Chem.* **2014**, *11* (8), 573–582.
39. Benites, J.; Valderrama, J. A.; Bettega, K.; Pedrosa, R. C.; Calderon, P. B.; Verrax, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45* (12), 6052–6057.
40. ON, W. H. O. I. A. F. R.; CANCER. Some Aromatic Amines, Organic Dyes, and Related Exposures in *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* (**2010**), 41–54.
41. Woo, Y.-T.; Lai, D. Y. Aromatic Amino and Nitro–Amino Compounds and Their Halogenated Derivatives in *Patty's Toxicology* (John Wiley & Sons, Inc., **2012**), 609–703.
42. Groppa, M. D.; Benavides, M. P. *Amino Acids* **2008**, *34*, 35–45.
43. Morgan, D. M. L. Polyamines: An overview in *Molecular Biotechnology* **1999**, 229–250.
44. Woster, P.; Casero, R. Polyamine Drug Discovery in *RSC Drug Discovery* (The Royal Society of Chemistry, **2011**), 1-49.
45. Gaba, M.; Mohan, C. *Med. Chem. Res.* **2016**, *25*, 173–210.
46. Ansari, A.; Ali, A.; Asif, M.; Shamsuzzaman. *New J. Chem.* **2017**, *41*, 16–41.
47. Hamada, Y. Role of Pyridines in Medicinal Chemistry and Design of BACE1 Inhibitors Possessing a Pyridine Scaffold in *Pyridine* (**2018**), 9–26.
48. Ouellette, R. J.; Rawn, J. D. Amines and Amides in *Organic Chemistry Study Guide* (Elsevier Inc., **2015**), 465–494.
49. Brown, W. H.; Poon, T. Amines in *Introduction to Organic Chemistry* (John Wiley & Sons, **2016**), 331–360.
50. Ramos-Peralta, L.; López López, L. I.; Silva-Belmares, S. Y.; Zugasti-Cruz, A.; Rodriguez-Herrera; Anguilar-Gonzalez, C. N. *Battle Against Microb. Pathog. Basic Sci. Technol. Adv. Educ. Programs* **2015**, 542–550.
51. Finley, K. T. Quinones in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (John Wiley & Sons, Inc., **2016**), 1-67.

52. Kutyrev, A. A. *Tetrahedron* **1991**, *47* (38), 8043–8065.
53. Leyva, E.; Loredano-Carrillo, S. E.; López, L. I. Catalytic, ultrasonic, and microwave-assisted synthesis of naphthoquinone derivatives by intermolecular and intramolecular N-arylation reactions in *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science* (Elsevier Inc., **2021**), 231–264.
54. Santagada, V.; Frecentese, F.; Perissutti, E.; Fiorino, F.; Severino, B.; Caliendo, G. *Mini-Reviews Med. Chem.* **2009**, *9* (3), 340–358.
55. Bassyouni, F. A.; Abu-Bakr, S. M.; Rehim, M. A. *Res. Chem. Intermed.* **2012**, *38* (2), 283–322.
56. Hoz, A.; Diaz-Ortiz, A.; Moreno, A. *Curr. Org. Chem.* **2004**, *8* (10), 903–918.
57. Gedye, R.; Smith, F.; Westaway, K.; Ali, H.; Baldisera, L.; Laberge, L.; Rousell, J. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27* (3), 279–282.
58. Giguere, R. J.; Bray, T. L.; Duncan, S. M.; Majetich, G. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27* (41), 4945–4948.
59. Díaz-Ortiz, Á.; Prieto, P.; de la Hoz, A. *Chem. Rec.* **2018**, *18* (1), 1–14.
60. Moseley, J. D.; Kappe, C. O. *Green Chem.* **2011**, *13*, 794–806.
61. Kappe, C. O. Drug Discovery Technologies in *Comprehensive Medicinal Chemistry II* (Elsevier Ltd., **2007**), 837–860.
62. Kappe, C. O. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2004**, *43* (46), 6250–6284.
63. Sweygens, N.; Alewaters, N.; Dewil, R.; Appels, L. *Sci. Rep.* **2018**, *8* (1), 1–11.
64. Sanghi, R. *Resonance* **2000**, *5* (3), 77–81.
65. Abubakar, M. S. Effect of microwave radiation on organic solvents (**2020**), 1–6.
66. Kappe, C. O.; Pieber, B.; Dallinger, D. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2013**, *52*, 1088–1094.
67. Mingos, D. M. P. Theoretical Aspects of Microwave Dielectric Heating in *Microwave Assisted Organic Synthesis* (Blackwell Publishing Ltd., **2007**), 1–22.
68. Nain, S.; Singh, R.; Ravichandran, S. *Adv. J. Chem. A* **2019**, *2* (2), 94–104.
69. Sahoo, B. M.; Banik, B. K.; Panda, J. Microwave Synthetic Technology: An Eco-friendly Approach in Organic Synthesis Biswa in *Advances in Microwave Chemistry* (CRC Press, **2019**), 429–474.
70. Strauss, C. R.; Varma, R. S. Microwaves in Green and Sustainable Chemistry in *Microwave Methods in Organic Synthesis* (**2006**), 199–231.

71. Kumar, A.; Kuang, Y.; Liang, Z.; Sun, X. *Mater. Today Nano* **2020**, *11*, 100076.
72. Darekar, A.; Shahane, A.; Saudagar, R. *J. Drug Deliv. Ther.* **2019**, *9* (3), 531–536.
73. Zhu, H.; Huang, K.; Tao, J. *Processes* **2020**, *8* (491), 2–4.
74. Wang, Y.; Xing, J.; Xu, Y.; Zhou, N.; Peng, J.; Xiong, Z.; Liu, X.; Luo, X.; Luo, C.; Chen, K.; Zheng, M.; Jiang, H. *Q. Rev. Biophys.* **2015**, *48* (4), 488–515.
75. Cheng, F.; Li, W.; Zhou, Y.; Shen, J.; Wu, Z.; Liu, G.; Lee, P. W.; Tang, Y. *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52* (11), 3099–3105.
76. Yang, H.; Lou, C.; Sun, L.; Li, J.; Cai, Y.; Wang, Z.; Li, W.; Liu, G.; Tang, Y. *Bioinformatics* **2019**, *35* (6), 1067–1069.
77. Valerio, L. G. *Encycl. Toxicol.* **2014**, *2* (1), 1026–1029.
78. Surabhi; Singh, B. K. *J. Drug Deliv. Ther.* **2018**, *8* (5), 504–509.
79. Oliveiral, V. F. de; Oliveira, H. M. B. F. de; Medeiros, C. I. S.; Filho, A. A. de O.; Rego, T. G. do. *J. Med. Heal. Promot.* **2018**, *3* (1), 913–921.
80. Lin, J.; Sahakian, D.; de Moraes, S.; Xu, J.; Polzer, R.; Winter, S. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3* (10), 1125–1154.
81. Tomar, V.; Mazumder, M.; Chandra, R.; Yang, J.; Sakharkar, M. K. *Encycl. Bioinforma. Comput. Biol. ABC Bioinforma.* **2018**, *1–3*, 741–760.
82. Chandrasekaran, B.; Abed, S. N.; Al-Attraqchi, O.; Kuche, K.; Tekade, R. K. Computer-Aided Prediction of Pharmacokinetic (ADMET) Properties in *Dosage Form Design Parameters* (Elsevier Inc., **2018**), 731–755.
83. Sakai, J. B. Chapter 3: Pharmacokinetics: The Absorption, Distribution, and Excretion of Drugs in *Practical Pharmacology for the Pharmacy Technician* (**2008**), 27–40.
84. Parthasarathi, R.; Dhawan, A. Chapter 5 - In Silico Approaches for Predictive Toxicology in *In Vitro Toxicology* (Elsevier Inc., **2018**), 91–109.
85. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23*, 3–25.
86. OSIRIS Property Explorer in www.organic-chemistry.org/prog/peo (**2020**).
87. Molinspiration Cheminformatics in www.molinspiration.com (**2020**).
88. Chemicalize in www.chemicalize.com/app (**2020**).
89. Dortmund Data Bank in www.ddbst.com (**2020**).
90. Wright, D. A.; Mitchelmore, C. L.; Dawson, R.; Cutler, H. G. *Environ. Technol.* **2010**, *28*

- (10), 1091–1101.
91. De Paiva, Y. G.; Silva, T. L.; Xavier, A. F. A.; Cardoso, M. F. C.; Da Silva, F. C.; Silva, M. F. S.; Pinheiro, D. P.; Pessoa, C.; Ferreira, V. F.; Goulart, M. O. F. *J. Braz. Chem. Soc.* **2019**, *30* (3), 658–672.
92. Manvizhi, K.; Nagar, A. Electrochemical reduction behaviour of 1,4-naphthoquinones in *International Journal of Scientific Research and Modern Education* (**2016**), 171–181.
93. Sadeer, N. B.; Montesano, D.; Albrizio, S.; Zengin, G.; Mahomoodally, M. F. *Antioxidants* **2020**, *9* (709), 1–39.
94. Chen, J.; Yang, J.; Ma, L.; Li, J.; Shahzad, N.; Kim, C. K. *Sci. Rep.* **2020**, *10* (2611), 1–9.
95. Triggle, D. J. ADME-Tox Approaches in *Comprehensive Medicinal Chemistry II* (**2006**), 231–257.
96. Zhao, Y. H.; Abraham, M. H.; Le, J.; Hersey, A.; Luscombe, C. N.; Beck, G.; Sherborne, B.; Cooper, I. *Pharm. Res.* **2002**, *19* (10), 1446–1457.
97. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Protein Kinase Inhibitors in *LiverTox* (**2012**).
98. Guan, L.; Yang, H.; Cai, Y.; Sun, L.; Di, P.; Li, W.; Liu, G.; Tang, Y. *Medchemcomm* **2018**, *10* (1), 148–157.