



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

JANNIERES DARC DA SILVA

**SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS NAFTOQUINÔNICOS E AVALIAÇÃO DA
SUA ATIVIDADE BIOLÓGICA**

Recife, PE

Novembro de 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

JANNIERES DARC DA SILVA

**SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS NAFTOQUINÔNICOS E AVALIAÇÃO DA SUA
ATIVIDADE BIOLÓGICA**

**Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas do Centro de Ciências da
Saúde da UFPE, como requisito parcial
para obtenção do grau Em MESTRE
em Ciências Farmacêuticas.**

PROF. DR. DALCI JOSÉ BRONDANI
ORIENTADOR

**Recife, PE
Novembro de 2014**

S586s Silva, Jannieres Darc da.
Síntese de novos derivados naftoquinônicos e avaliação da sua atividade biológica / Jannieres Darc da Silva. – 2014.
153 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Dalci José Brondani.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2014.

Inclui referências e anexos.

1. Naftoquinonas. 2. Anticâncer. 3. Antimicrobiana. 4. 2-N-alkuil-1,4-Naftoquinonas. 5. Isoxazolinás. I. Brondani, Dalci José (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2017-199)

JANNIERES DARC DA SILVA

**SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS NAFTOQUINÔNICOS E AVALIAÇÃO DA SUA
ATIVIDADE BIOLÓGICA**

Aprovada em: 28/11/2014

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Dalci José Brondani-DCFar/UFPE (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Ricardo Brandão- DCFar/UFPE (Membro Externo Titular)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria – DCFar/UFPE (Membro Externo Titular)
Universidade Federal de Pernambuco

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Souza Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof.a Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Antônio Rodolfo de Faria

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dalci José Brandini

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof. Almir Gonçalves Wanderley

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof.a Ana Cristina Lima Leite

Dedico este trabalho aos meus pais, meus avos, meu namorado e ao meu irmão, que são a razão da minha. Por acreditarem e confiarem em mim, torcerem e incentivarem para que eu vencesse todos os obstáculos, pela compreensão e o estímulo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

- Primeiramente a **Deus**, que me abençoou. Iluminando minha vida, meus caminhos, e por ter me guiado e dado força em toda essa jornada.
- Aos meus pais, **José Américo** e **Joana Darc**, que desde cedo me ensinaram que o estudo é o caminho e a melhor herança que um pai pode deixar para o filho, orientando e promovendo meios para que isso fosse possível, e ainda hoje, permanecem estimulando e incentivando em tudo aquilo que possa significar o meu crescimento. Pelo Amor, Carinho e Paciência que tiveram comigo.
- Ao meu orientador **Dalci** por ter aberto as portas do seu laboratório e ter passado seu conhecimento ao longo desses anos, por toda confiança depositada em mim, pelos conselhos, amizade, carinho e respeito
- Ao meu Namorado **Angelo**, por me compreender, apoiar e incentivar. Mas principalmente pelo seu Amor, Carinho, Dedicação e Presença ao longo dessa minha jornada, tê-lo ao meu lado me fortaleceu muito.
- Ao meu irmão, **Wiltone** a todos os meus familiares, que vibram com minhas vitórias, Meu Avô **João**, Minha Avó **Josefa**, tios, tias, Madrinha Titia **Carminha** e Maninha **Priscila**.
- As Minhas Melhores Amigas, **Arianny**, **Andreia** e **Adriely**, pela amizade sincera e verdadeira, pelo carinho, compreensão e força. Aos Meus Melhores Amigos **Charlinho**, **David** e **Felipão**, por seu carinho e sinceridade. Obrigada por serem tão especiais em minha vida.
- A **Ângela**, pessoa muito especial que sempre cuidou e torceu por mim.
- Ao Prof. Pai **Hanns Webber** e Dr^a **Andrea Batista**, pessoas muito importantes em toda essa minha jornada, as quais irei lembrar por toda a minha vida.
- A Amiga de todas as horas **Samara Brito**, que ajudou de forma muito positiva na construção desse trabalho e por sua amizade sincera.
- Aos Amigos mais especiais que uma pessoa poderia ter, **Iálly**, **Paulinho**, **Suellen**, **Leonardo**, **Tâmara**, **Luiz Henrique**, **Serginho**, **Elisângela**, **Paulo Andre**, **Agenor Jr**, **Braz**, **Thalisson**, **Thays**, **Tarciana**, **Vinicius**, **Shirley**, **Laercio**, **Evelyn** e pelo carinho e amizade sincera
- As Minhas grandes amigas **Marlene Saraiva** e **Vanessa Xavier**, por todos os dias da faculdade, por tornarem essa jornada agradável e vitoriosa.

- A todos os que fazem a família LabSinf**Lecilio, Milca, Lais , Andrea, Wan, Jacksom ,Hugo,Juliana ,Januaria**, a minha eterna chefinha **Marcia**, pele amizade construída nesse tempo de convivência. E agregados ao laboratório **Hellen, Elany, Ronmilson, Charles**, amigos que vou levar para o resto da vida.
- Um agradecimento mais que especial para aqueles que foram meus ICs e contribuíram de uma forma muito importante para a conclusão desse trabalho, **Danillo, Eloisa, Caio, Carol, Clarissa, Bianca** e a monitora **Melissa**. Vocês moram no meu Coração.
- A todos os professores que fizeram parte dessa minha jornada, em Especial aos inesquecíveis, **Rodolfo de Faria, Alexandre Goes e Bernadete Maia**
- A **Nerillin Trajano**, por toda gentileza em todos os momentos da minha pós-graduação.
- A **Eliete Barros** do DQF, por toda a paciência e atenção comigo em momentos importantes da minha pesquisa.
- E um agradecimento muito especial a todosa aqueles que foram e são meus **Alunos**, que a cada aula me incentivavam mais a seguir carreira acadêmica.

"Não posso imaginar que uma vida sem trabalho seja capaz de trazer qualquer espécie de conforto. A imaginação criadora e o trabalho para mim andam de mãos dadas; não retiro prazer de nenhuma outra coisa." Sigmund Freud

RESUMO

A descoberta de novos medicamentos é um processo altamente complexo e caro, exigindo esforços integrados em vários aspectos relevantes, envolvendo inovação, conhecimento, informação e tecnologias. As Naftoquinonas, são estruturas privilegiadas em Química Medicinal por apresentarem um amplo espectro de atividade farmacológica, dentre elas contra o câncer e infecções bacterianas. A presença de nitrogênio ligado ao anél quinônico, ou 3,4-isoxasolinas, proporcionam uma potencialização das propriedades biológicas dos novos derivados bioativos naftoquinônicos. Foram sintetizados novos derivados 2-N-alkil-1,4-Naftoquinonas através de uma metodologia simples, barata e versátil. Trata-se de uma reação de substituição nucleofílica entre a Naftoquinona e aminas primárias ou pela cicloadição com oximas à obtenção de novos derivados isoxazilínicos. As novas biomoléculas foram purificadas por recristalização e placa cromatográfica preparativa, as mesmas foram elucidadas por espectroscopias no Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN H^1) e Carbono 13 (RMN C^{13}). Após a elucidação destes derivados, foram submetidos a testes de atividades biológicas frente a quatro linhagens de células tumorais e microrganismo. Para a atividade anticâncer, os resultados variam de 65% a 100% de inibição nas diferentes linhagens celulares. E com relação à atividade antimicrobiana, mostraram-se ativas para bactérias Gram positivas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* além do fungo *Candida albicans* e frente à bactéria resistente, *Staphylococcus aureus* OSAR, com destaque ao derivado 2a que foi ativo em praticamente todas as cepas de micro-organismos.

Palavras chaves: Naftoquinonas. Anticâncer. Antimicrobiana. 2-N-alkil-1,4-Naftoquinonas. Isoxazolinas.

ABSTRACT

The discovery of new drugs is a highly complex and expensive process, requiring integrated in several relevant aspects involving innovation, knowledge, information and technology efforts. The Naphthoquinones are privileged structures in Medicinal Chemistry for presenting a broad spectrum of pharmacological activity, among them against cancer and bacterial infections, the presence of nitrogen attached to the quinone ring, or 3,4-isoxasolinas provide an enhancement of the biological properties of naftoquinônicos new bioactive derivatives. Novel N-alkyl-2-1,4-Naphthoquinones through a simple, inexpensive and versatile method were synthesized. It is a nucleophilic substitution reaction between primary amines and Naphthoquinone or by cycloaddition with oximes isoxazilínicos to obtain new derivatives. The new biomolecules were purified by recrystallization and preparative chromatographic plate, they were elucidated by Infrared spectroscopy (IR) and nuclear magnetic resonance of hydrogen (^1H NMR) and carbon 13 (^{13}C NMR). After the elucidation of these derivatives were submitted to tests of biological activities against four tumor cell lines and microorganisms. For anticancer activity, the results ranged from 65% to 100% inhibition in the different cell lines. And with respect to antimicrobial activity, were active against gram-positive bacteria *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus Staphylococcus* addition of the fungus *Candida albicans* and against the resistant bacteria, *Staphylococcus Staphylococcus* OSAR, especially the second derivative that has been active in virtually all strains of micro - organisms.

Key words: Naphthoquinones. Anticancer. Antimicrobial. 2-N-alkyl-1,4-naphthoquinones. Isoxazolines.

LISTA DE FIGURAS

Figura1:	Estruturas das quinonas com diferentes arranjos quinonoídicos.	27
Figura 2:	Núcleos quinoidais nas posições Orto e Para	28
Figura 3:	Fármacos com grupamento quinona utilizada na terapia antineoplásica	29
Figura 4:	Naftoquinonas quanto a posição do grupo carbonílico	30
Figura 5:	Naftoquinonas naturais vitaminas K1 e K2	30
Figura 6:	Naftoquinona natural, lapachol, 2-hidroxi-3-(3- metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona	31
Figura 7:	Análogos naturais do Lapachol; a β -lapachona e α -lapachona	32
Figura 8:	aldeídos com hidroxilamina em meio ácido	34
Figura 9:	síntese por Ultrassom	34
Figura 10:	Métodos de cloração de aldoximas proposto por CHIANG em 1971	35
Figura 11:	obtenção de cloreto de imidoíla a partir do tratamento de aldoximas com <i>N</i> -cloro-succinimida (NCS) em <i>N,N</i> -dimetil- formamida (DMF)	36
Figura 12:	síntese de cloretos de imidoílapor tratamento de aldoximas com hipoclorito de sódio	36
Figura 13:	síntese de cloretos de imidoíla utilizando o ácido tricloro-isocianúrico (ATCI)	36
Figura 14:	Tipos de isoxazolina: (1) 2-isoxazolina, (2) 3-isoxazolina e (3) 4-isoxazolina	37
Figura 15:	derivados isoxazolínicos e suas diferentes atividade biológica	38
Figura 16:	Orbitais Moleculares de Fronteira do dipolo e dipolarófilo e suas interações tipo I e Tipo III	38
Figura 17:	reação entre um dipolo e um dipolarófilo	38
Figura. 18:	4,5-diidro-isoxazóis (1), isoxazóis (2), oxadiazóis (3) e triazóis (4)	39
Figura 19:	interação entre os orbitais moleculares de fronteira	40
Figura 20:	A= Caranguejo Fonte: Stock.xchnng B= Hipócrates Fonte: U.S. National Library of Medicine, History of Medicine Division	44
Figura 21:	Células cancerosas Fonte: Science Photo Library	45
Figura 22:	Incidência de câncer mundial	46
Figura 23:	incidência e prevalência de câncer entre os diferentes gêneros nas regiões do mundo	47

Figura 24:	distribuição da incidência de câncer por gênero e região do país	49
Figura 25:	Dados sobre a incidência, prevalência e mortalidade do câncer sobre o Homem brasileiro	50
Figura 26:	Dados sobre a incidência, prevalência e mortalidade do câncer sobre o a mulher brasileira	50
Figura 27:	Mecanismo de ação das drogas inibidores de enzimas topoisomerase	54
Figura 28:	Estrutura dos derivados obtidos	69
Figura 29:	Proposta de mecanismo da síntese dos derivados 1,4 Naftoquinona e 2-Metil-1,4-Naftoquinona	72
Figura 30:	Estrutura química da Naftoquinona com destaque no hidrogênio <u>Ha</u> e <u>Hb</u>	72
Figura 31:	Espectro no Infravermelho da Naftoquinona 1	73
Figura 32:	Estrutura química da Substância <u>1b</u>	74
Figura 33:	Espectro no Infravermelho da substância 1b	74
Figura 34:	Espectro de RMN de ^1H da Naftoquinona <u>1</u>	75
Figura 35:	Espectro de RMN de ^1H da Substância <u>1b</u>	76
Figura 36:	Espectro de RMN de ^{13}C da Naftoquinona <u>1</u>	77
Figura 37:	Espectro RMN ^{13}C da Substância <u>1b</u>	78
Figura 38:	Estrutura química da 2-metil-1,4- Naftoquinona <u>2</u>	78
Figura 39:	Espectro de Infravermelho da 2 metil 1,4 Naftoquinona <u>1</u>	79
Figura 40:	Estrutura química da Substância <u>2f</u> .	80
Figura 41:	Espectro de Infravermelho da Substancia <u>2f</u>	80
Figura 42:	Espectro de RMN de ^1H da 2-metil-1,4- Naftoquinona <u>2</u>	81
Figura 43:	Espectro de RMN de ^1H da substância <u>2f</u>	82
Figura 44:	Espectro de RMN de ^{13}C da 2 metil 1,4 Naftoquinona	83
Figura 45:	Espectro de RMN de ^{13}C da substância <u>2f</u>	84
Figura 46:	Proposta de mecanismo da síntese dos derivados aldoximas	85
Figura 47:	Espectro de RMN de ^1H do derivado da cicloadição da 1,4 Naftoquinona com aldoximas <u>4b</u>	87

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1:	Reações que resultam em espécies envolvidas no processo de estresse Oxidativo (SILVA, FERREIRA & SOUZA, 2003)	28
Esquema 2:	Ciclo redox induzido por quinonas (Adaptado de DA SILVA, 2003 e PINTO,2009)	33
Esquema 3:	Rota sintética para a obtenção dos derivados 2-N-alkilamino 1,4 Naftoquinona ou 2-N-alkilamino 3-metil-1,4-Naftoquinona	60
Esquema 4:	Rota sintética para a obtenção dos derivados da aldoxima	61
Esquema 5:	Rota sintética para a obtenção dos derivados Oxazolínicos da cicloadição da 1,4 Naftoquinona com aldoximas	62
Esquema 6:	Rota sintética para a obtenção dos derivados 1,2,4 triacetoxil e 1,2,4 tri acetoxil 3-metil Naftoquinonas	63
Esquema 7:	Síntese da 2-N-ciclohexilamina-1,4-Naftoquinona	103
Esquema 8:	Síntese da 2-N- (2- morfolina-propilamina)-1,4-Naftoquinona	104
Esquema 9:	Síntese da : 2-N-(3-morfolina-propilamina)-1,4-Naftoquinona	105
Esquema 10:	Síntese da : 2-N-procainamina-1,4-Naftoquinona	106
Esquema 11:	Síntese da 2-N- (2- piperazina-etilamina)-1,4-Naftoquinona	107
Esquema 12:	Síntese da 2-N-(3- morfolina-propilamina)-3-metil-1,4-Naftoquinona	108
Esquema 13:	Síntese da 2-N-procainamina-3-metil-1,4-Naftoquinona	109
Esquema 14:	Síntese da 2-N-(2- piperazina-etilamina)-3-metil-1,4-Naftoquinona	110
Esquema 15:	síntese daN-(tiossemicarbazona)-3-metil-1,4-Naftoquinona	111
Esquema 16:	Síntese da Oxima de 4-Br Benzaldeído	112
Esquema 17:	Síntese da Oxima de 4-Cl Benzaldeído	113
Esquema 18:	Síntese da Oxima de 2-furaldeído	114
Esquema 19:	Síntese da Oxima de 5-Nitro-2-furaldeído	114
Esquema 20:	Síntese da Oxima de 2-tiofenocarboxialdeído	115
Esquema 21:	Síntese da Oxima de 5-Nitro-2-tiofenocarboxialdeído	115
Esquema 22:	Síntese da 3'(4-Br)fenil-2,3-oxazolina-1,4-Naftoquinona	116
Esquema 23:	Síntese da 3'(4-Cl)fenil-2,3-oxazolina-1,4-Naftoquinona	117

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Determinação da ZMI, dos derivados sintetizados	94
Tabela 2:	Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em três linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL	97

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

(λ) : Comprimento de onda

ATCl: Ácido Tricloro Isocianúrico

ATP: Adenosina Trifosfato

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

Cl₂: Cloro

CMB: Concentração Mínima Bactericida

CO₂ : Dióxido de Carbono

DMF: Dimetil-formamida

DMSO-d⁶: Dimetil Sulfóxido

DNA: Ácido Desoxirribonucléico

DQF: Departamento de Química Fundamental

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

FMOs: Orbital Molecular de Fronteira

GPX: Glutathione peroxidase;

GR: Glutathione reductase

GRXo: Glutathione (oxidada);

GRXr: Glutathione (reduzida);

GSSG: Glutathione (oxidada);

TRXo: Thioredoxina (oxidada);

GSHr: Glutathione (reduzida)

H₂SO₄: Ácido Sulfúrico

HOMO: Orbital Molecular Ocupado de Mais Alta Energia

Hz. : Hertz

IARC: Agência Internacional para Pesquisa Sobre Câncer

IV: Infravermelho

KBr : Brometo de Potássio

KOH: Hidróxido de Potássio

LUMO: Orbital Molecular não-ocupado de menor Energia

MEC: Matriz extracelular

MTT: (4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium

NaOCl: Hipoclorito de Sódio

NCI: National Cancer Institute dos Estados Unidos

NCS: N-Cloro-Succimida

OMS: Organização Mundial de Saúde

OSAR: Staphylococcus aureus resistentes à oxacilina

Peb: Ponto de Ebulição

Ppm: Partes por milhão

RF: Fator de Referência

RMN-¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de carbono

RMN-¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

SOD: Superóxido Desmutase

TEA: Trietilamina

TRXo: Tioredoxina (oxidada)

TRXr: tioredoxina (reduzida);

XO: xantina oxidase

UFC: Unidades Formadoras de Colônia

UV : Ultravioleta

ZMI: Zona Mínima Inibitória

μM: Micro Molar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	REVISÃO DA LITERATURA	26
2.1	QUINONAS	26
2.2	NAFTOQUINONAS	29
2.3	OXIMAS E CLORETO DE IMIDOÍLA	33
2.4	ISOXAZOLINAS	36
2.5	CICLOADIÇÃO	37
2.6	AMINONAFTOQUINONAS	40
2.7	CÂNCER	44
2.7.1	Historico do câncer	44
2.7.2	Epidemiologia	45
2.7.3	Tratamento	51
2.7.4	Alvos terapêuticos	52
2.7.4.1	Espécies reativas de oxigênio (EROS)	52
2.7.4.2	Inibição das topoisomerasas	53
2.7.4.3	Naftoquinonas como agentes anticâncer	54
3.	OBJETIVOS	57
3. 1	OBJETIVO GERAL	57
3. 2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	57
4	METODOLOGIA	60
4.1	PROCEDIMENTO GERAL NA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS 2 AMINO 1,4 NAFTOQUINONA	60
4.2	PROCEDIMENTO GERAL PARA A OBTENÇÃO DOS DERIVADOS	60

	DA ALDOXIMAS	
4.3	PROCEDIMENTO GERAL PARA A OBTENÇÃO DE DERIVADOS OXAZOLÍNICOS PROVENIENTE DA CICLOADIÇÃO DA 1,4 NAFTOQUINONA COM AS DIFERENTES ALDOXIMAS	61
4.4	PROCEDIMENTO GERAL PARA OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA 1,4-ACETILAÇÃO-2-ACETOXILAÇÃO DANAFTOQUINONA	62
4.5	ANÁLISE DE ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO (IV):	63
4.6	ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO (RMN ^1H) E CARBONO (RMN ^{13}C)	63
4.7	AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICA DOS COMPOSTOS	65
4.7.1	Metodologia da avaliação antimicrobiana	65
4.7.1.1	Método de difusão em discos de papel	65
4.7.2	Metodologia da atividade antitumoral	65
4.7.2.1	Citotoxicidade in vitro dos Derivados da Naftoquinona	65
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
5.1	NA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS 2-N-ALQUILAMINO-1,4-NAFTOQUINONA	70
5.1.1	Elucidação estrutural	72
5.1.1.1	Análise de espectrofotometria de absorção no Infravermelho (IV) da 1,4 Naftoquinona e seu derivado	72
5.1.1.2	Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) da 1,4 Naftoquinona e seu derivado	74
5.1.1.3	Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ^{13}C) da 1,4 Naftoquinona e seu derivado	76

5.1.1.4	Análises de espectrofotometria de absorção no Infravermelho (IV) da 2 metil 1,4 Naftoquinona e seu derivado..	78
5.1.1.5	Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) da 2 metil 1,4 Naftoquinona e seu derivado	80
5.1.1.6	Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ^{13}C) da 2 metil 1,4 Naftoquinona e seu derivado	82
5.2	NA OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA ALDOXIMAS	84
5.3	NA OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA CICLOADIÇÃO DA 1,4 NAFTOQUINONA COM ALDOXIMAS	85
5.3.1	Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) do derivado da cicloadição da 1,4 Naftoquinona com aldoximas:	87
5.4	OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA 1,4 DI- ACETILAÇÃO-2- ACETOXILAÇÃO DA NAFTO QUINONAS	88
5.5	AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS DERIVADOS DA NAFTOQUINONA	90
5.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS DERIVADOS DA NAFTOQUINONA	91
5.6.1	Metodologia da avaliação da atividade antimicrobiana dos derivados da naftoquinona	92
5.6.1.1	Método de difusão em disco de papel	92
5.6.2	Resultados e discussão	93
5.7	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICANCER DOS DERIVADOS DA NAFTOQUINONA	94
5.7.1	Citotoxicidade <i>in vitro</i> dos derivados da naftoquinona	95
5.7.2	Resultados e discussão	97

6	PARTE EXPERIMENTAL	100
6.1	MATERIAIS E MÉTODOS	100
6.1.1	Cromatografias	100
6.1.2	Pontos de fusão	100
6.1.3	Espectroscopias de IV, RMN ¹H e RMN ¹³C	100
6.1.4	Equipamentos	101
6.1.5	Reagentes e solventes	102
6.2	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	103
6. 2. 1	Síntese e caracterização estrutural	103
7	CONCLUSÕES	119
7.1	PERSPECTIVAS	120
	REFERÊNCIAS	121
	ANEXOS	135
	ANEXOS A	137
	ANEXOS B	143
	ANEXOS C	148

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Química Medicinal é uma área da ciência que envolve aspectos de natureza química, biológica, médica e ciências farmacêuticas. Ela correlaciona a invenção, descoberta, design, identificação e preparação de compostos biologicamente ativos, bem como o estudo do seu metabolismo, na interpretação da ação em nível molecular e da construção de relações estrutura-atividade (IUPAC,1998)

A descoberta de medicamentos é um processo altamente complexo e caro, que exige esforços integrados em vários aspectos relevantes que envolvem inovação, conhecimento, informação, tecnologias (ANDRICOPULO, 2009). Modelagem molecular é a investigação estrutural e das propriedades moleculares pelo uso de química computacional e técnicas de visualização gráfica, visando fornecer uma representação tridimensional, solucionando um conjunto de circunstâncias e parâmetros e como consequência, a elucidação dos mecanismos envolvidos nas ações moleculares dos fármacos (SANT'ANNA, 2002)

O desenvolvimento de resistência a drogas representa um desafio no tratamento quimioterápico do câncer e de doenças parasitárias e microbianas (KELLEN *et al*, 1994). Apesar do grande número de drogas empregadas hoje, o problema de resistência requer o constante desenvolvimento de novas drogas eficazes no combate a essas doenças que afetam milhões de pessoas.

Constantes pesquisas na indústria farmacêutica visam obter drogas cada vez mais específicas e com menos efeitos deletérios sobre o corpo. Neste contexto, a modificação molecular surge como uma importante ferramenta para elaboração de novos candidatos a fármacos antitumorais, visando à diminuição de resistência e inibição significativa do crescimento do tumor.

O câncer é definido como uma doença genômica e surge a partir de alterações cumulativas no material genético (DNA- Ácido Desoxirribonucléico) de células normais que sofrem transformações até se tornarem malignas. Todos os processos desde a iniciação tumoral, transformação, invasão até metástase ocorrem em múltiplas etapas e podem envolver dezenas até centenas de genes, por meio de mutações intragênicas, quebras e perdas cromossômicas, amplificações gênicas, instabilidades genômica e mecanismo epigenéticos (como metilação e acetilação). Em tecidos normais, as taxas de crescimentos e de morte celular estão em equilíbrio. No câncer, esse equilíbrio é rompido por perda no controle do

crescimento celular e/ou dos mecanismos de apoptose (também chamado de morte celular programada) (SPENCE, 2001)

Nas últimas décadas a oncologia teve um desenvolvimento intenso, impulsionado pela incidência crescente de novos casos de câncer, provocados não somente pela ampliação da expectativa de vida média da população mundial, mas, sobretudo, pela ocorrência desta doença nas faixas etárias mais jovens e em situações consideradas raras (FRANZI & SILVA).

A descoberta de fármacos antineoplásicos de fácil administração e com poucos ou insignificantes efeitos colaterais é uma das principais metas buscadas pelos pesquisadores da área. As estratégias para a descoberta de novos fármacos têm mudado ao longo dos anos. O conhecimento de novos alvos terapêuticos no câncer amplia a possibilidade da descoberta de novas moléculas com potencial anticâncer.

As naftoquinonas e seus derivados exibem um variado espectro de atividades farmacológicas, por conseguinte, este trabalho visa sintetizar, caracterizar e investigar a atividade farmacológica antitumoral com o objetivo de obter novas drogas cada vez mais ativas e com menos efeitos colaterais e nocivos ao organismo se faz necessário. Quinonas nitrogenadas são objeto de intensa e constante investigação, devido à suas propriedades farmacológicas em especial àquelas relacionadas à citotoxicidade seletiva (THOMSON, 1971; DA SILVA, 2008).

Tendo em vista que na natureza mais da metade dos compostos com propriedades farmacológicas apresentam anéis heterocíclicos em suas estruturas, esta classe de compostos possui destacada importância na pesquisa e desenvolvimento de novos produtos. Os 4,5 diidro-isoxazóis, também chamado de isoxazolinas, fazem parte de uma classe de heterociclos amplamente descrita na literatura, os quais podem ser precursores de diferentes compostos bioativos. Os derivados isoxazolinícos são conhecidos por apresentarem uma diversificada atividade biológica, tais como: antibiótica, antineoplásica, antiviral e antifúngica (PATRICK, 2001 ; DA SILVA *et al*, 2003).

Nas últimas décadas as naftoquinonas têm sido alvo de pesquisas e modificações estruturais baseadas em diferentes estratégias da química medicinal devido à promissora atividade biológica que suas estruturas têm apresentado. Além das atividades antitripanossida, antimicrobiana dentre outras, a potencial ação anticâncer está em destaque.

Apesar da introdução de novos fármacos no arsenal terapêutico do câncer, vários tumores ainda não dispõem de tratamento adequado. Levando em consideração a necessidade mundial por novos agentes antitumorais investigaremos o potencial antitumoral dos novos derivados

da Naftoquinona uma vez que a mesma possui um amplo espectro farmacológico e com destaque para a atividade anticâncer, assim como antimicrobiana.

REVISÃO DA LITERATURA

PARTE QUÍMICA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 QUINONAS

Quinonas correspondem a uma grande família de compostos de ocorrência natural (KUMAGAI *et al.*, 1997; SILVA, 2003). São compostos que representam uma classe de metabólitos secundários e podem ser encontradas em várias partes de tecidos de plantas superiores, algas, fungos e como subproduto do metabolismo de algumas bactérias (THOMSON, 1971).

Quinonas naturais ou sintéticas possuem um vasto espectro de atividades biológicas (ASCHE, 2005; THOMSON, 1987), por representarem uma ampla e variada família de metabólitos de distribuição natural que possuem uma larga atividade biológica previamente relatada na literatura, tais como, antibacteriana, antitumoral, antiinflamatória, tripanossomicida, antiviral e antifúngica (VALENTE *et al.*, 2007 & OLIVEIRA, *et al.*, 2002). A atividade antitumoral, estando como o mais eficiente agente quimioterápico utilizado na clínica no tratamento de diversos tipos de cânceres (DALEN *et al.*, 2008).

Quinonas são compostos com dicetônicos estrutura $O = C-(C = C-)_n -C = O$, derivados de compostos aromáticos cujos grupos carbonila são encontrados separados ou conjugados com dupla ligação (BRUNMARK e CADENAS, 1988). São reduzidos a fenóis e apresentam geralmente, coloração de Amarela a Vermelha (SILVA; FERREIRA; SOUZA, 2003). Observando ainda as estruturas das quinonas percebe-se facilmente a ocorrência de estruturas isoméricas em consequência da posição relativa das carbonilas no anel quinônico, ocasionando diferentes arranjos quinonoídicos, que são divididas em: benzoquinonas, com um Anel benzênico, naftoquinonas, com um Anel naftoquinônico, antraquinonas, com um Anel antracênico linear ou angular (**Figura 1**) (SIMÕES *et al.*, 2004; SILVA; FERREIRA; SOUZA, 2003)

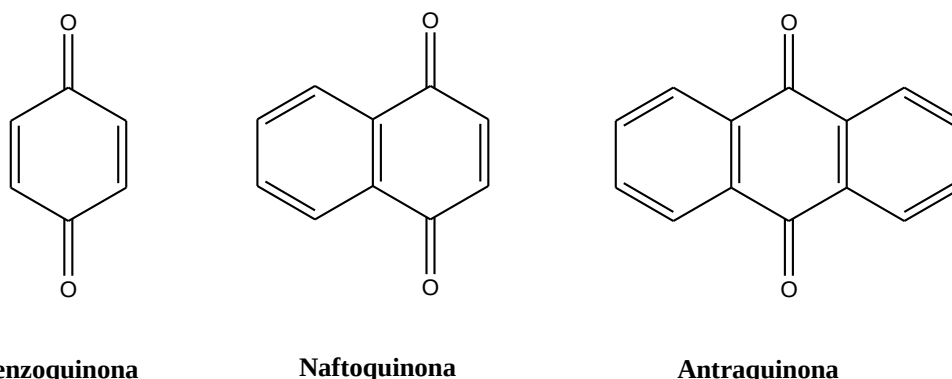


Figura1: Estruturas das quinonas com diferentes arranjos quinonoídicos

Nos últimos anos, tem-se observado um crescimento de estudos sobre a atividade farmacológica das quinonas. Tais estudos, tem mostrado, para estes compostos, uma grande biodinamicidade, destacando-se como propriedades microbicidas, tripanossomicidas, viruscidas, antitumorais e inibidoras de sistemas celulares reparadores, os tais como atividade de enzimas importantes como como topoisomerases (ESTEVES-SOUZA *et al* , 2007;. MONGES, 1992; SILVA, 2003). Estudos sobre o mecanismo de ação biológica das quinonas destacam a importância do grupo farmacofórico quinonoídico para a geração de imprescindível espécies reativas de oxigênio(EROs) que induzem a apoptose (SILVA, 2003).

O mecanismo de ação e toxicidade das quinonas são ainda difíceis de entender, embora pelo menos dois mecanismos concorrentes foram identificados. O primeiro mecanismo é referente à capacidade que as quinonas tem de apresentar ciclos redox, induzindo assim o estresse oxidativo através da geração de espécies reativas de oxigênio. O outro mecanismo de ação das quinonas, não baseado no transporte de elétrons, inclui a inibição da enzima topoisomerase (PLYTA *et al* 1998).

Derivados de quinonas podem ser tóxicos às células por diferentes mecanismos, incluindo inibição do transporte de elétrons (VANNERSTROM & EATON; 1988), ciclo redox, bioalquilação, intercalação, indução de quebras nas fitas do DNA e geração de radicais livres (FERRAZ *et al* 2001 ; PLYTA *et al* 1998). Em todos estes casos, o mecanismo de ação, *in vivo*, requer a biorredução das quinonas, como primeira etapa (FERRAZ *et al* 2001). Dados da literatura mostram que o perfil biológico dessas moléculas está centrado nos seus pontos orto ou para quinoidais (**Figura 2**) (FERREIRA *et al* 2006).

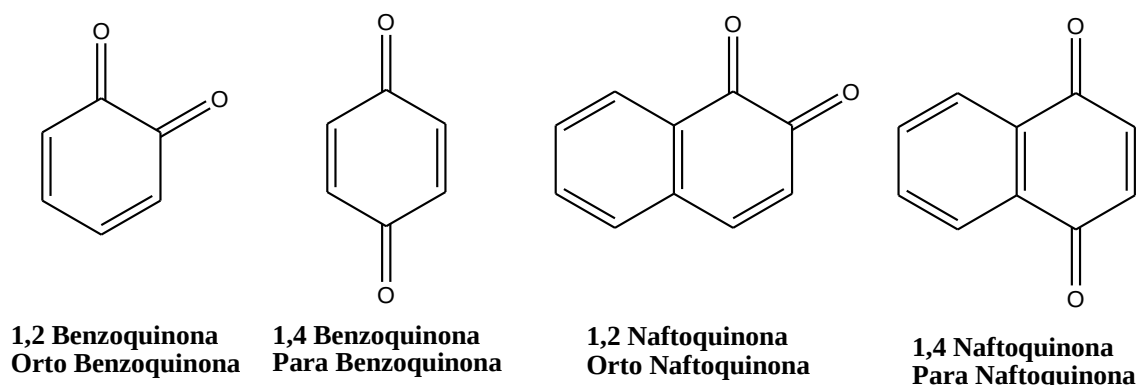


Figura 2: Núcleos quinoidais nas posições Orto e Para

A citotoxicidade das quinonas esta relacionada com uma capacidade de serem biorreduzidas por flavoenzimas gerando radicais semi-quinonas que por sua vez doam elétrons ao oxigênio molecular gerando espécies reativas de oxigênio (SALMÃO-CHEMIN *et al.*, 2001)

As quinonas também induzem o morte celular através da geração de radicais livres, dentro da célula, o que desencadeia o estresse oxidativo. Alguns radicais importantes produzidos são espécies reativas do oxigênio, na presença do peróxido de hidrogênio, como o ânion radical superóxido e o radical hidroxil, que podem danificar componentes celulares importantes. Estes radicais (**Esquema 1**) interferem no processo de divisão celular, induzindo a apoptose de células que não conseguem combater todo o estresse oxidativo (SILVA, FERREIRA & SOUZA, 2003).



Esquema 1- Reações que resultam em espécies envolvidas no processo de estresse oxidativo (SILVA, FERREIRA & SOUZA, 2003).

Diversas substâncias antineoplásicas que são comumente utilizadas no tratamento quimioterápico apresentam o núcleo quinona em sua estrutura (TOMASZ, 1995). A relação principalmente descrita da estrutura e função das quinonas, esta relacionada com a capacidade de participar nos ciclos redox, assim, interferindo em diversos mecanismos celulares. (SILVA, FERREIRA & SOUZA, 2003). As quinonas nitrogenadas são objeto de intensa e constante investigação (ESTEVES-SOUZA *et al.*, 2007/2008), devido à suas propriedades farmacológicas em especial àquelas relacionadas a citotoxicidade seletiva (CUNHA *et al.*, 2006).

Dentre os fármacos com grupamento quinona utilizada na terapia antineoplásica, destacam-se como mitomicinas, antraciclina e mitoxantrona (**Figura 3A**)(FOYE, 1995). Os representantes mais conhecidos da classe das antraciclina São a daunorubicina (**Figura 3B**) e a doxorubicina (**Figura 3C**) isoladas de *S. peuceoticus* e *S. coeruleorubidus*, respectivamente. Exibem um amplo espectro de atividade antitumoral, porem, a sua utilização é limitada pela indução de cardiotoxicidade dose dependente, o qual determinou o desenvolvimento de novos análogos com reduzido potencial cardiotóxico e índice terapêutico favorável, entretanto, a maioria dos compostos sintetizados não demonstraram atividade significativa comparada a doxorubicina (SAIFY et al, 1999;. SINGAL; ILISKOVIC, 1998)

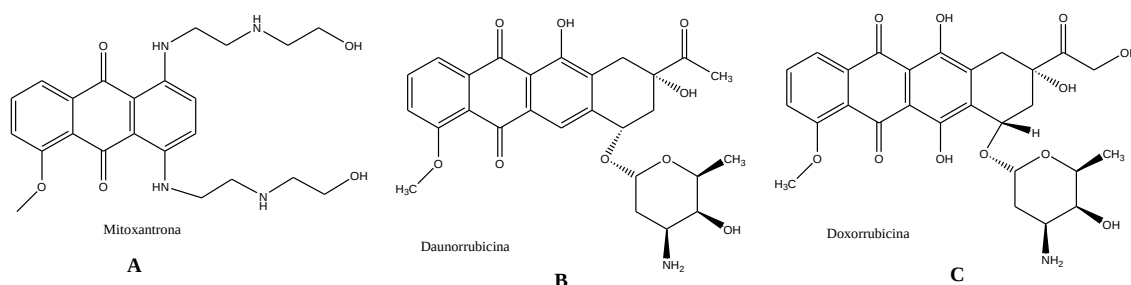


Figura 3: Fármacos com grupamento quinona utilizada na terapia antineoplásica

Quinonas desempenham papéis vitais na bioquímica da vida celular, onde está envolvida na respiração, fotossíntese e na defesa celular contra bactérias, fungos e parasitas, atuando como componentes móveis no transporte de elétrons da respiração e da fotossíntese (MURRAY et al, 2003).

2.2 NAFTOQUINONAS

As naftoquinonas são compostos dicetônicos derivados do anel naftaleno, onde possuem dois grupos carbonílicos que podem estar nas posições 1,2 do anel naftaleno, chamadas de orto-naftoquinonas ou nas posições 1,4 do anel naftaleno, chamados de para-naftoquinonas (**Figura 4**) (SILVA; FERREIRA; SOUZA, 2003; BALULA et al., 2009). Faz parte de uma importante classe de metabólitos secundários chamados quinonas.

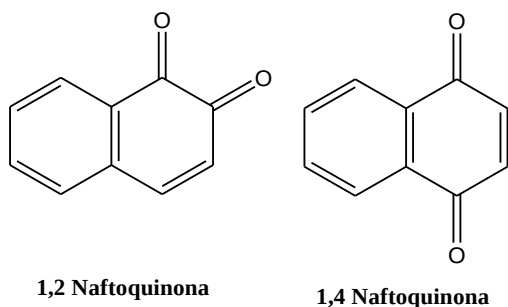


Figura 4: Naftoquinonas quanto a posição do grupo carbonílico

As naftoquinonas ocorrem naturalmente em plantas superiores das famílias Bignoniaceae, Droseraceae, Lythraceae, Junglandaceae, Plumbaginaceae, Boraginaceae, Ebanaceae, entre outras (BALULA et al, 2009). As plantas que possuem estas quinonas são utilizadas na medicina popular no tratamento de diversas doenças (DE MOURA et al., 2004). Desde o antigo Egito, o homem utiliza extratos de plantas que possuem naftoquinonas para diversos fins, tais como cosméticos e medicinais (DA SILVA *et al.*, 2003).

As naftoquinonas são importantes substâncias naturais encontradas em diferentes famílias de plantas, em fungos e alguns animais, muitas delas desempenham um papel integral nos processos bioquímicos vitais. Por exemplo, as vitaminas K1 (**Figura 5A**) e K2 (**Figura 5B**) são naftoquinonas naturais que são responsáveis pelo mecanismo de coagulação do sangue (DA SILVA *et al.*, 2003). Devido a este envolvimento no metabolismo, essa classe de substâncias tem sido estudada extensivamente sobre as suas diversas propriedades biológicas. Muitas naftoquinonas deixaram de ser meras curiosidades e tornaram-se drogas muito úteis para humanidade (SUH et al., 2001).

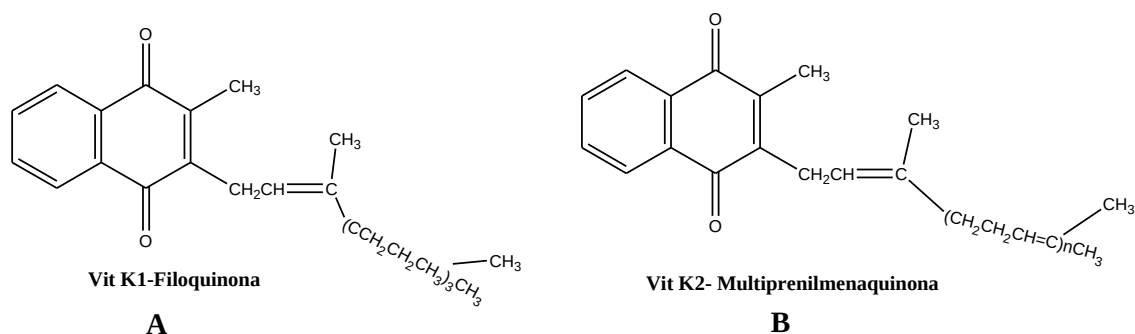
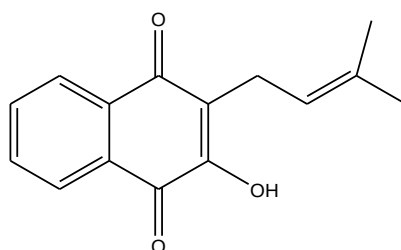


Figura 5: Naftoquinonas naturais vitaminas K1 e K2

Dentre as naftoquinonas naturais, destaca-se o lapachol, 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona (**Figura 6**), que pode ser considerado um dos principais representantes do grupo de quinonas das *Tabebuia avellanedae* (Bignoniaceae) (SILVA; FERREIRA; SOUZA, 2003). O Lapachol foi isolado pela primeira vez por Paternò (1882) no JANNIERES DARC DA SILVA

fim do século passado e extensamente explorado por Hooker (1936) e Fieser (1948) que realizaram a síntese de algumas naftoquinonas substituídas com reconhecida atividade antimalárica.

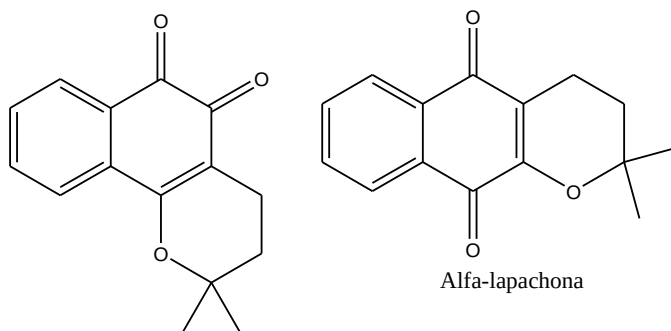
Em estudos realizados ao longo dos anos, foram constatadas outras atividades biológicas para o lapachol, seus análogos e derivados semi-sintéticos, dentre elas, destacamos a atividade antitumoral contra o carcinoma Walker 256 (RAO, et. al. 1968), a atividade antimicrobiana e antifúngica contra espécies de *H. pylori* , *Staphylococcus* , *Streptococcus* , *Enterococcus* , *Bacillus* e *Clostridium*, *Mycobacterium tuberculosis*, além de efeito significativo contra *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans* (GARNIER et al , 1996;. GUIRAUD et al , 1994;. COELHO et al ., 2010);



Lapachol

Figura 6: Naftoquinona natural, lapachol, 2-hidroxi-3-(3- metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona

Os primeiros análogos naturais do lapachol a serem isolados foram como 1,2 e 1,4 naftoquinonas, β -lapachona e α -lapachona (**Figura 7**), respectivamente, presentes como constituintes minoritários na planta *Tabebuia Avellanadae* , conhecida como ipê-preto, ipê-rosa, ipê-roxo, pau d'arco, tahebo ou lapacho (PIO CORREA; PENNA, 1969; NAGATA, 1998).



Beta-lapachona

Alfa-lapachona

Figura 7: Análogos naturais do Lapachol; a β -lapachona e α -lapachona,

A Menadione, a 2-metil-1,4-Naftoquinona, conhecida como vitamina K3, usada como uma fonte de vitamina K para os animais já foi estudada com relação a sua ação frente a vários tipos de tumores (LAMSON & PLAZA 2003). Na presença de oxigênio molecular, a 2 metil 1,4 Naftoquinona (Menadione) gera radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e outras espécies reativas de oxigênio (EROs) (MONKS *et al.*, 1992), esta exposição resulta na apoptose (SATA *et al.*, 1997; CRIDDLE *et al.* 2006; WOCHNA *et al.* 2007).

A descoberta de propriedades tão nobres a respeito de naftoquinonas naturais e seus derivados sintéticos impulsionaram a busca por novas estruturas que apresentassem atividades biológicas mais seletivas (BARBOSA, *et al.*, 2005). A química das quinonas, em especial as naftoquinonas, já há muito vem sendo descrita na literatura, sendo encontrados diferentes trabalhos que relatam a síntese de derivados naftoquinônicos por meio de diversas metodologias.

Estudos de relação estrutura atividade biológica dos compostos derivados da naftoquinona, a α -lapachona, que é uma modificação no anel da estrutura química do Lapachol, levando a uma mudança nas suas bioatividades, mostrando-se relevante para o desenvolvimento de novos compostos com maior potencial farmacológico e com menor toxicidade (BONIFAZI *et al.*, 2010; WEI *et al.*, 2008). Atividade significativa da 1,4 naftoquinonas pentacíclicas, com estruturas relacionadas ao lapachol e α -lapachona, são descritas para o tratamento de leucemias resistentes a multidrogas (SALUSTIANO *et al.*, 2009).

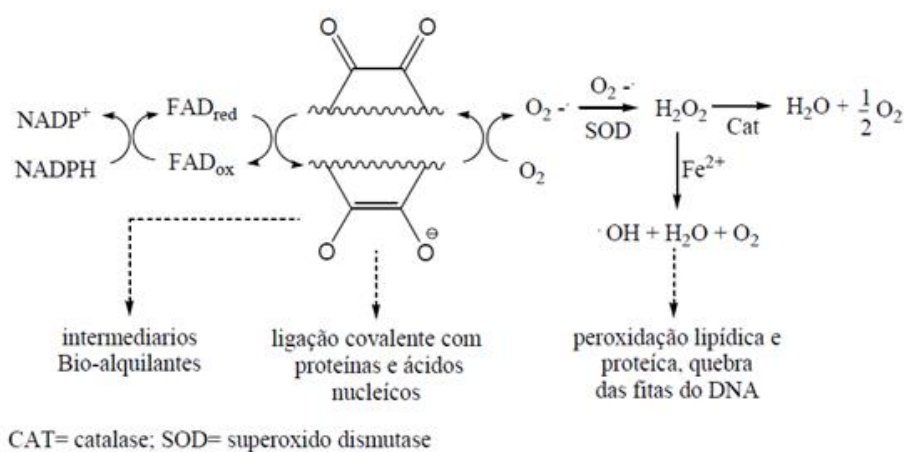
A citotoxicidade das quinonas leva à especulação de que existe uma propriedade química intrínseca na unidade quinonoídica, que associada a outros fatores estruturais, são responsáveis pela intensidade das atividades antitumorais (BRAND & FISHER, 1990). Foi observado que muitas quinonas possuem um grupo de saída que pode ser ativado por redução das carbonilas quinonoídicas, gerando intermediários alquilantes que são agentes antineoplásicos biorredutores (LIN, 1984). De acordo com vários autores, o estresse oxidativo e alquilação de nucleófilos celulares nucleares, são os dois principais mecanismos da citotoxicidade das quinonas que leva a danos no DNA (BOLTON *et al.*, 2000).

Os efeitos citotóxicos destas naftoquinonas são principalmente devido a dois fatores: (i) Inibição da DNA topoisomerase II e (ii) formação de radical semiquinona que pode

JANNIERES DARC DA SILVA

transferir um elétron ao oxigênio para produzir superóxido. Ambas espécies, semiquinona e superóxido, podem gerar o radical hidroxila, que causa as quebras da cadeia de DNA. A 1,4-naftoquinona contém dois grupos de cetona que tem a capacidade de aceitar um ou dois elétrons para formar o ânion radical correspondente. Provavelmente, as ações de relevância biológicas das naftoquinonas são dependentes do ciclo redox das quinonas para gerar EROs (VERMA, 2006).

O Processo de Formação de EROs pelas naftoquinonas ocorre porque estes compostos são reduzidos enzimaticamente (**Esquema 2**), formando o ânion semiquinona pelo ganho de um elétron. Este se auto-oxida e reage com o oxigênio para oxidar uma quinona (JARABAK; JARABAK, 1995).



Esquema 2- Ciclo redox induzido por quinonas (Adaptado de DA SILVA, 2003 e PINTO, 2009)

A introdução de grupos vicinais oxidáveis no núcleo quinona, tais como substituintes amino, pode exercer influência sobre suas propriedades redox, induzindo o estresse oxidativo nas células, e alquilação de macromoléculas celulares, incluindo lipídios, proteínas e DNA (DA SILVA *et al.*, 2003; FRANCISCO *et al.*, 2010). A literatura, até o momento, mostra claramente que aminoquinonas estão presentes em vários compostos bioativos importantes e que apresentam atividade antitumoral (SUH *et al.*, 2001). Em diversas pesquisas realizadas, estes compostos mostram um amplo espectro de atividade antineoplásica contra o câncer de mama, câncer de próstata, câncer de pulmão, câncer de pâncreas e também em células leucêmicas promielocítica (DE ALMEIDA, 2009).

2.3 OXIMAS E CLORETO DE IMIDOÍLA

Oximas são compostos carbonílicos derivados da reação aldeídos e cetonas com cloridrato de hidroxilamina, possuindo grande aplicação na química orgânica, como por exemplo, a proteção do grupo carbonila em moléculas orgânicas. Este fato as torna um importante intermediário em rotas sintéticas devido à possibilidade de regeneração de seu substrato (ALI *et al.*, 2006).

As aldoximas podem ser obtidas por uma metodologia clássica, que consiste no tratamento de aldeídos com hidroxilamina em meio ácido, fornecendo as respectivas aldoximas conforme a **(Figura 8)** (SOLOMONS & FRYHLE, 2006).

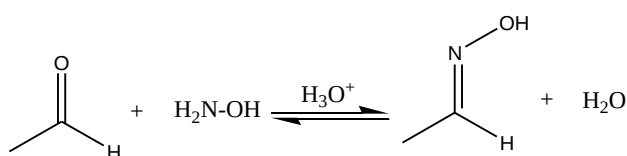


Figura 8: aldeídos com hidroxilamina em meio ácido

A utilização de ultrassom em síntese orgânica vem aumentando ano após ano, devido a diminuição do tempo reacional, bem como uma melhora nos rendimentos quando comparados pela via tradicional. Na preparação de oximas por meio de condensação dos compostos carbonílicos e cloridrato hidroxilamina, também foram evidenciados uma aceleração na obtenção dos seu produtos desejados pela via utilização de ultrassom **(Figura 9)**. O uso do ultrassom pode acelerar a condensação de aldeídos e cetonas com cloridrato de hidroxilamina, isso devido ao fenômeno da cavitação (produção de microbolhas, em um líquido quando uma grande pressão negativa é aplicada) produzida pelo ultrassom (J.-T. Li *et al.*; 2006).

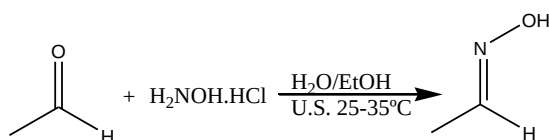


Figura 9: síntese por Ultrassom

Um dos primeiros métodos de cloração de aldoximas foi estudado por CHIANG em 1971. Seu estudo se baseou na cloração, através do cloro gasoso (Cl₂), de benzoaldoximas com diferentes substituintes, utilizando como solvente o clorofórmio ou o diclorometano. CHIANG (1971) concluiu que a formação do cloreto de imidoíla dependia tanto do solvente utilizado quanto da característica do grupo substituinte (elétrão-doador ou elétron-receptor) contido no anel aromático **(Figura 10)**.

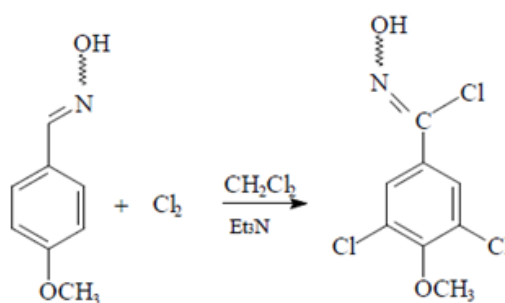


Figura 10: Métodos de cloração de aldoximas proposto por CHIANG em 1971

Alguns anos depois, estudos propuseram a obtenção de cloreto de imidoíla a partir do tratamento de aldoximas com *N*-cloro-succinimida (NCS) em *N,N*-dimetil- formamida (DMF) (**Figura 11**). Essa metodologia substituiu a desidroalogenação oxidativa de aldoximas utilizando Cl_2 , pois a cloração do anel aromático só ocorreria na presença de um grupo fortemente ativador (LIU *et al.*, 1980).

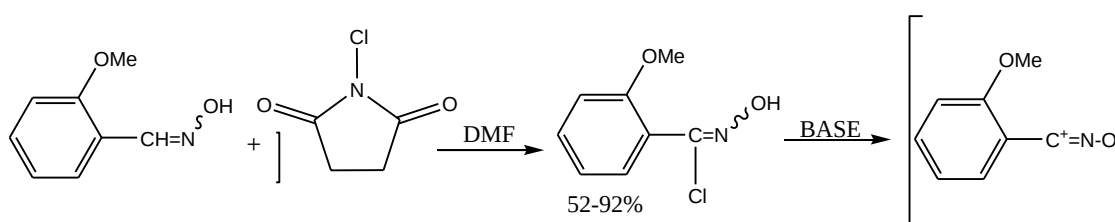


Figura 11: obtenção de cloreto de imidoíla a partir do tratamento de aldoximas com *N*-cloro-succinimida (NCS) em *N,N*-dimetil- formamida (DMF)

As pesquisas foram avançando e em 1982, foi descrita uma metodologia para síntese de cloretos de imidoíla envolvendo halogenação de oximas. Este procedimento consistiu no tratamento de aldoximas com hipoclorito de sódio (NaOCl), (**Figura 12**). Esse método ainda é bem empregado por utilizar um reagente de baixo custo, porém, a reação necessita de monitoramento, já que o NaOCl é tóxico e fotossensível. Os rendimentos da formação de anéis heterocíclicos desta reação variaram de 19 a 95% (LEE, 1982).

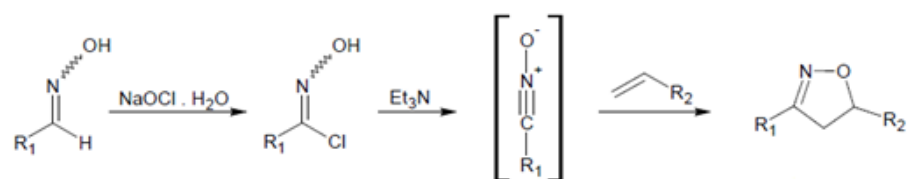


Figura 12: síntese de cloretos de imidoilaplor tratamento de aldoximas com hipoclorito de sódio

Porem em 2001, Rodrigues e Aguiar descreveram uma metodologia de formação de óxido de nitrila, utilizando o ácido tricloro-isocianúrico (ATCI) como principal reagente, (**Figura 13**). O ATCI é um forte agente oxidante que converte aldoximas em cloretos de imidoíla de maneira eficiente. A grande vantagem desta reação esta no fato deste reagente apresentar um baixo custo e, boa disponibilidade, bem como um procedimento experimental simples (RODRIGUES & AGUIAR, 2001).

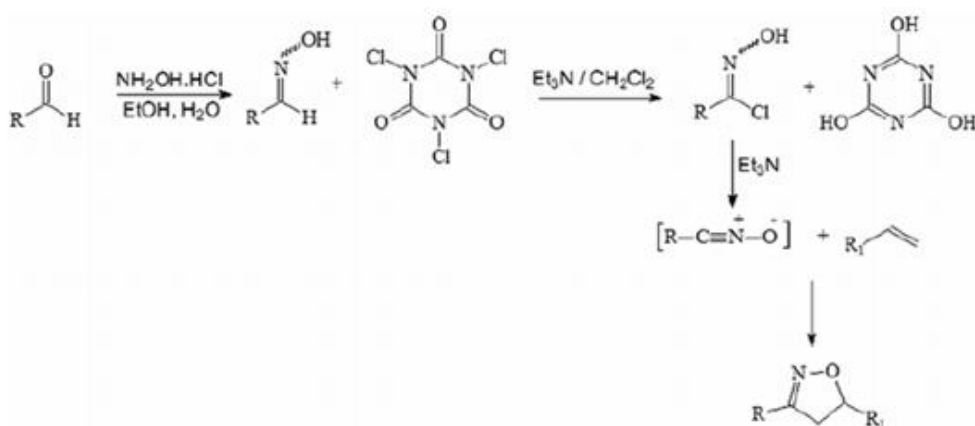


Figura 13: síntese de cloretos de imidoíla utilizando o ácido tricloro-isocianúrico (ATCI)

Estudos de modificação de compostos-protótipos têm demonstrado que heterociclos como isoxazóis e 4,5-diidro-isoxazóis podem apresentar um conjunto bastante diversificado de atividade farmacológica (WEIDNER-WELLS *et al.*, 2004; PLENKIEWICZ & ZAGOZDA, 2007).

2.4 ISOXAZOLINAS

As isoxazolininas são compostos heteropentacíclicos que possuem um átomo de nitrogênio e um de oxigênio impedindo a continuidade da cadeia carbônica. Existem diferentes tipos de isoxazolininas, onde a mudança consiste apenas na localização da ligação dupla presente no grupo (**Figura 14**).

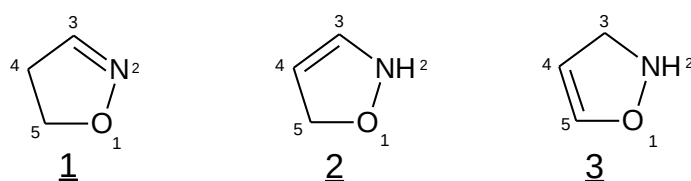


Figura 14:Tipos de isoxazolina: (1) 2-isoxazolina, (2) 3-isoxazolina e (3) 4-isoxazolina.

Os 4,5 diidro-isoxazóis, também chamado de isoxazolinas, fazem parte de uma classe de heterociclos amplamente descrita na literatura, os quais podem ser precursores de diferentes compostos bioativos (BASAPPA, 2003; PLENKIEWICZ & ZAGOZDA, 2007; SORO, 2006). Os derivados isoxazolínicos são conhecidos por apresentarem uma diversificada atividade biológica, tais como: antibiótica, antineoplásica, antiviral e antifúngica, (**Figura 15**)(BASAPPA, 2003; LEE, 2007; PIRRUNG, 2002).

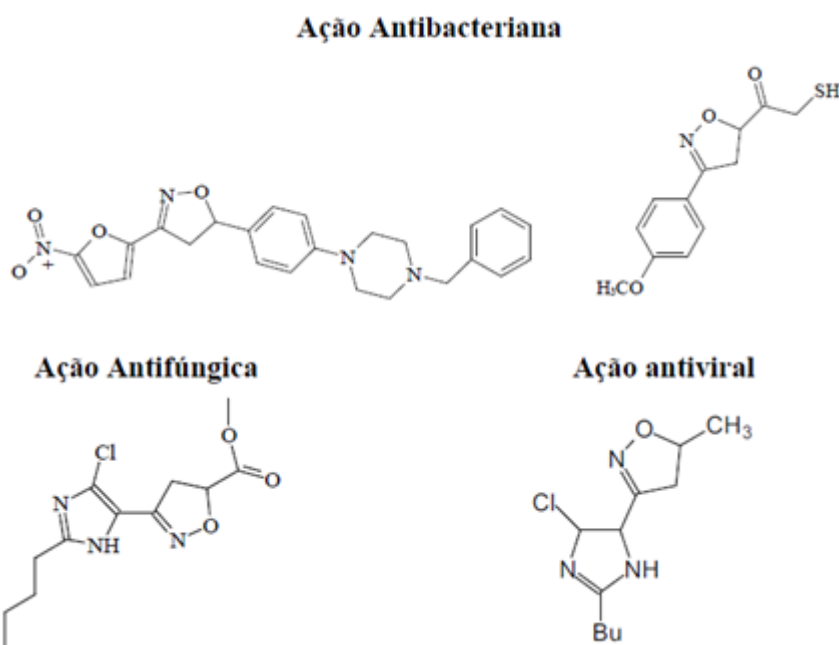


Figura 15: derivados isoxazolínicos e suas diferentes atividade biológica

2.5 CICLOADIÇÃO

As interações entre o dipolo e o dipolarófilo nas reações de cicloadição são governadas pelos Orbitais Moleculares de Fronteira (FMOs) destes reagentes. A teoria do orbital molecular de fronteira afirma que as interações mais importantes ocorrem entre o

Orbital Molecular Ocupado de mais Alta Energia (HOMO) de um dos reagentes e o Orbital Molecular Desocupado de mais Baixa Energia (LUMO) de outro reagente **Figura 16** (HIMO, 2005).

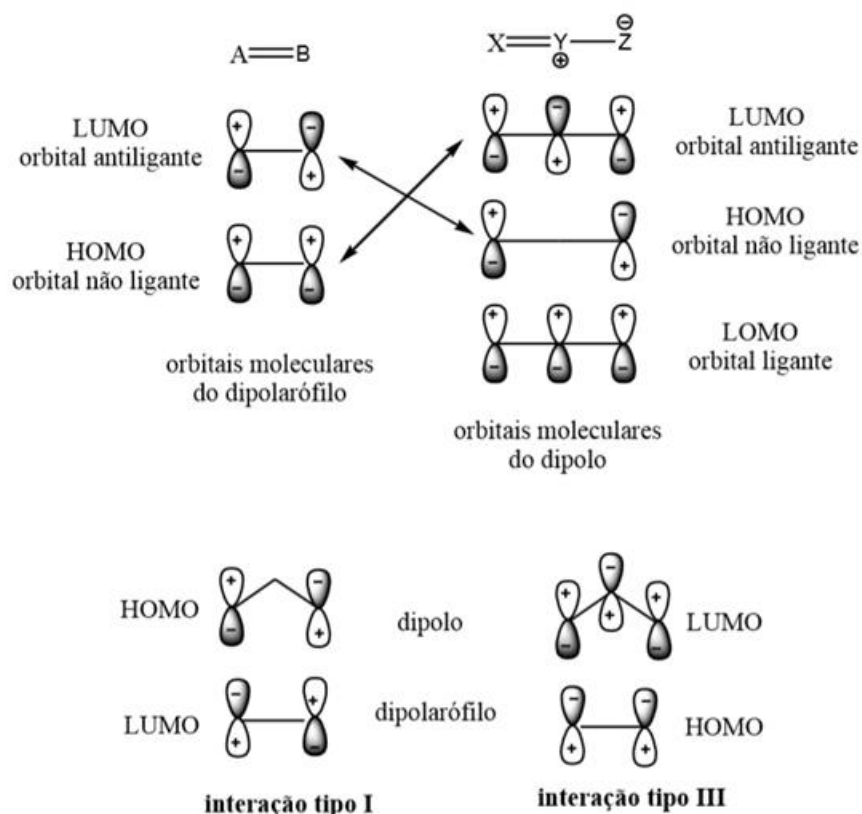


Figura 16: Orbitais Moleculares de Fronteira do dipolo e dipolarófilo e suas interações tipo I e Tipo III

A aplicação das reações de cicloadição pode ser estendida para promover a formação de anéis heterocíclicos de cinco membros obtidos por meio de reação de cicloadição 1,3-dipolar [3+2]. 1,3-dipolos são espécies que em geral, frente a um dipolarófilo (alquenos ou alquinos) sofrem reações concertadas, fornecendo os respectivos adutos de cicloadição. A seguir é mostrada a reação entre um dipolo e um dipolarófilo (**Figura 17**) (GOTHELF *et al.*, 1998).

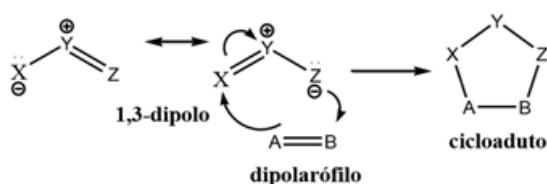


Figura 17: reação entre um dipolo e um dipolarófilo

A nomenclatura 1,3-dipolar está relacionada com os átomos do dipolo que interagem através dos orbitais moleculares com o dipolarófilo, não estando associada com as cargas formais existentes. A reação de ciclo-adição é um dos processos mais importantes para a síntese de heterociclos de cinco membros, podendo fornecer diferentes compostos (**Figura. 18**), tais como: 4,5-diidro-isoxazóis (1), isoxazóis (2), oxadiazóis (3) e triazóis (4) (RODRIGUES & AGUIAR, 2001; DONNICI *et al.*, 2006).

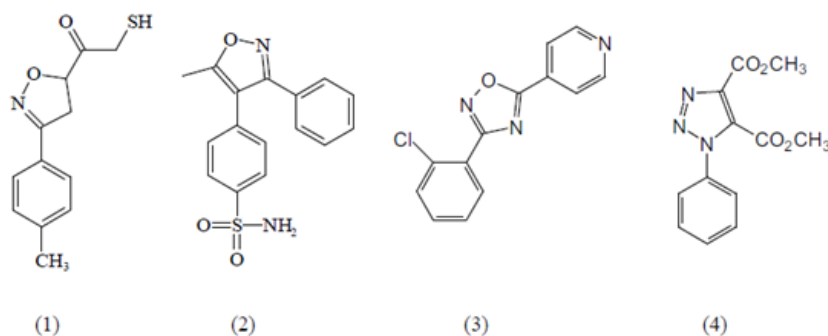


Figura. 18: 4,5-diidro-isoxazóis (1), isoxazóis (2), oxadiazóis (3) e triazóis (4)

O conceito geral da reação de cicloadição 1,3 dipolar foi introduzido por Huisgen nos anos 60. Este trabalho indicava a base para a compreensão do mecanismo das reações de cicloadição (HUISGEN, 1968). Ao mesmo tempo, surgiu um novo conceito de conservação da simetria de orbitais, desenvolvido por Woodward e Hoffmann (1965). Este trabalho foi um marco importante para a compreensão do mecanismo concertado das reações de cicloadição e contribuiu para o entendimento da reatividade e regioseletividade deste tipo de reação (WOODWARD & HOFFMANN, 1965).

Um novo conceito descrito sobre a teoria dos orbitais de fronteira (OMF), foi evidenciado o qual descreve o que entrosamento mais favorável dos orbitais ocorria entre o HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) e o LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) com mesma simetria e dimensões próximas. O *LUMODipolo* pode interagir com o *HOMODipolarófilo* e o *HOMODipolo* com o *LUMODipolarófilo*, sendo que a interação favorecida é aquela que apresenta a menor diferença de energia (ΔE) entre os orbitais. Este tipo de interação está associado ao mecanismo de reação apresentado na (**Figura 19**) (GOTHELF & JORGENSEN, 1998; NAIR *et al.*, 2000; WOODWARD E HOFFMANN, 1965).

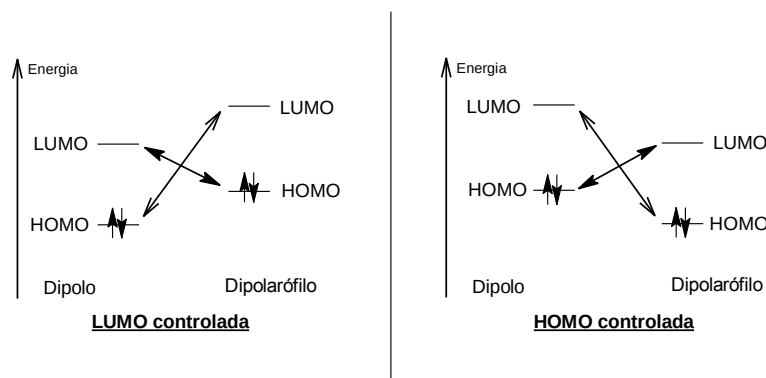


Figura 19: interação entre os orbitais moleculares de fronteira

A química das quinonas, em especial as naftoquinonas, já há muito vem sendo descrita na literatura, sendo encontrados vários trabalhos que relatam a síntese de derivados naftoquinônicos por meio de diversas metodologias, incluindo a ciclo adição com aldoximas. Bargiotti e colaboradores descreveram a síntese 1,3 dipolar realizada para a obtenção dos isoxazolonaftoquinonas, as quais foram testadas para avaliação da atividade antiproliferativa em células de cânceres, quem apresentaram uma forte atividade antiproliferativa (BARGIOTTI *et al.* , 2012). A presença do núcleo heterocíclico parece exercer um papel no acoplamento dos compostos no sítio de ligação do ATP de células tumorais do tipo Hsp90 (T. TALDONE *et al.* , 2009).

A cicloadição 1,3-dipolar de benzóxidos de nitrila com quinonas é uma reação bem conhecida (C. GRUNDMANN *et al.* ,1971) que tem sido explorada em sínteses de quinonas fundidas ao núcleo isoxazolina substituídos (QUILICO *et al.* ,2006). Uma vez que os heterocíclicos são de grande importância na síntese de compostos de interesse com um amplo espectro na atividade biológica (BASAPPA *et al.* , 2013).

2.6 AMINONAFTOQUINONAS

As aminonaftoquinonas constituem compostos de um amplo interesse biológico devido, entre outros motivos, a sua versatilidade sintética que os convertem em matérias primas úteis para construção dos sistemas tetracíclicos das antraciclinonas (FARIÑA *et al.* , 1986). Faz parte do componente do esqueleto molecular de vários compostos naturais (antibióticos tais como rifamicinas, quinamicinas) e têm sido usadas para a síntese de vários compostos biologicamente importantes (NAGAOKA & KISHI; 1981).

A introdução de um grupo vicinal oxidável, como aminas substituídas, ao núcleo quinônico pode influenciar as propriedades redox do núcleo 2-amino-1,4-naftoquinona, e a literatura mostra que o esqueleto aminoquinona está presente em diversos derivados bioativos (SILVA *et al.* , 2005), como foi descrito anteriormente as Rifamicinas e Quinamicinas. A presença de um átomo de nitrogênio, por exemplo, um grupo alquilamino, (BOUAZIZ *et al.* , 1995 , LIN *et al.* , 1989) é conhecido por proporcionar uma ampla série de propriedades biológicas em compostos do tipo quinona (YOON *et al.* , 1995).

Como aminonaftoquinonas possuem função importante no transporte de elétrons e nos processos de fosforilação oxidativa envolvidos nas reações bioquímicas, varias proteínas formam adutos com essas quinonas (via grupo amino livre) que são capazes de catalizar o ascorbato por oxidação produzindo peróxido de hidrogênio a partir do oxigênio gasoso (MORRISON; 1969). Outras aminonaftoquinonas estão envolvidas na inibição enzimática e possuem atividades antibacteriana, antifúngica e anticancerígena (BITTNER & LEMPET; 1994).

Sabe-se que a presença do átomo de nitrogênio, permite a modulação dos efeitos de substituintes sobre as propriedades eletrônicas do sistema quinona, bem como a modificação da geometria da moléculas quinona e seus intermediários de redução. Modificações químicas na porção naftoquinona aumentam o efeito citotóxico da biomolécula (SIEVEKING; 2014).

A reação de adição de aminas a 1,4-naftoquinona é um experimento simples e atrativo, pois é possível observar imediatamente a formação do produto, devido ao acoplamento oxidativo de alquil ou arilaminas à 1,4-naftoquinona, ocorrendo em uma única etapa, simples, rápido e de fácil execução. Trata-se de uma proposta que considera os princípios da Química Verde, aborda conceitos como economia atômica (MARTINEZ *et al.* , 2012).

A reação de adição de aminas a 1,4-naftoquinona com a sua subsequente eliminação do hidrogênio vinílico é um experimento simples e atrativo, pois é possível observar imediatamente a formação do produto. Trata-se de uma proposta que considera os princípios da Química Verde, abordando conceitos como Economia Atômica (MARTINEZ *et al.* , 2012). A inserção de grupos mais eletronegativo como o átomo de Nitrogênio no C-2 da naftoquinona, é uma das importantes vantagens na substituição uma vez que essa inserção destes tipos de átomo possivelmente aumenta a potencial redox da estrutura naftoquinoidal, levando assim um provável aumento no potencial das atividades biológicas que são importantes neste centro quinoidal (VALENÇA; 2012) . Na maioria dos casos, a atividade está relacionada com a capacidade da quinona aceitar um ou dois elétrons para formar ânion

radical da espécie oxidativa correspondente, bem como as propriedades de ácido/base dos compostos (SILVA, 2013).

Desse modo, a modelagem estrutural de novos compostos a partir da 1,4 Naftoquinona, revela-se de suma importância não sentido de buscar novos fármacos por apresentar melhor eficácia e menor toxicidade no tratamento do câncer.

REVISÃO DA LITERATURA

PARTE BIOLÓGICA

2.7 CÂNCER

2.7.1 Historico do câncer

A palavra câncer vem do grego karkínos, que quer dizer caranguejo(**Figura 20A**), e foi utilizada pela primeira vez por Hipócrates, o pai da medicina (**Figura 20B**), que viveu entre 460 e 377 a.C. O câncer não é uma doença nova. O fato de ter sido detectado em múmias egípcias comprova que ele já comprometia o homem há mais de 3 mil anos antes de Cristo(MS;2011).

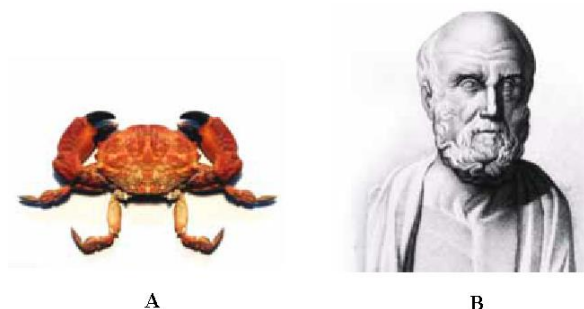


Figura 20: A= Caranguejo Fonte: Stock.xchng B= Hipócrates Fonte: U.S. National Library of Medicine, History of Medicine Division

A Revista “O Brasil-Médico”, no ano de 1904, publicou o trabalho “Frequência do câncer no Brasil”, assinado por Sodré. Esta publicação, abrangendo o período de 1894 a 1898, procurou relacionar o clima com uma maior presença do câncer no extremo sul do país e a predominância do câncer uterino. É conhecido como a primeira manifestação a respeito do assunto no âmbito científico e acadêmico brasileiro. As primeiras publicações oficiais de mortalidade por câncer, pelo então Ministério de Educação e Saúde, datam de 1944, contendo dados referentes ao período de 1929 a 1932, das capitais do estado e constam do Anuário de Bioestatística (MS; 2005).

Atualmente, câncer é o nome geral dado a um conjunto de mais de 100 doenças, que têm em comum o crescimento desordenado de células (**Figura 21**), que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinhos (MS;2011).

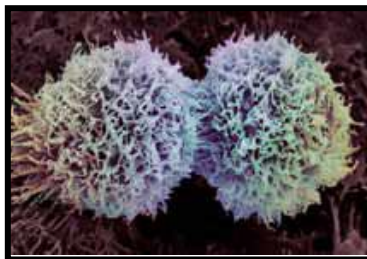


Figura 21: Células cancerosas Fonte: Science Photo Library

O Câncer compreende um conjunto de doenças que se caracterizam pela presença de células em crescimento contínuo, com propriedades de invasão e destruição do tecido adjacente, bem como, de crescimento em outros sítios diferentes do tumor primário (metastização) (HANAHAH; 2000). Essas propriedades geralmente são ocasionadas por um acúmulo de mutações nos oncogenes, nos genes supressores e nos genes reparadores de DNA, o que caracteriza o câncer como doença genética (FOSTER; 2008). De um modo geral, os oncogenes promovem a proliferação celular ordenada enquanto os genes supressores mantêm essa proliferação sob controle restringindo o crescimento celular. Os genes reparadores de danos do DNA estão constantemente refazendo as moléculas que sofrem mutação. O mau funcionamento dos mecanismos de regulação do ciclo celular permite a passagem das células mutadas pelo ciclo, acumulando mutações que contribuem para o surgimento das características do tumor maligno (LOURO *et al.*, 2002; VERMEULEN *et al.* , 2003). O câncer afeta, portanto, a população de um modo geral, incluindo pessoas de ambos os sexos e de todas as idades e classes sociais.

Embora a mortalidade de muitos tipos de câncer tem vindo a cair, especialmente as do sangue como a leucemias, a estatística mais importante pode ser que muitos cancros epiteliais (carcinomas) e eficazmente todos os tipos de câncer mesenquimais (sarcomas) permanecem em grande parte incurável (WATSON, J.D. 2013).

2.7.2 Epidemiologia

O câncer é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo, o que o torna um importante problema de saúde pública. A cada ano, dezenas de milhões de pessoas são diagnosticadas com câncer, levando mais da metade a morte. Embora as maiores taxas de

JANNIERES DARC DA SILVA

incidência de câncer sejam encontradas em países desenvolvidos(**Figura 22**) , mais de 60% das mortes por câncer ocorrem nos países com média a baixa renda, onde os recursos para a prevenção, diagnóstico e tratamento são limitadas ou inexistentes. Como os idosos são mais suscetíveis ao câncer e o envelhecimento da população continua em muitos países, o câncer continuará a ser um importante problema de saúde em todo o mundo (XIAOMEI; HERBERT, 2006).

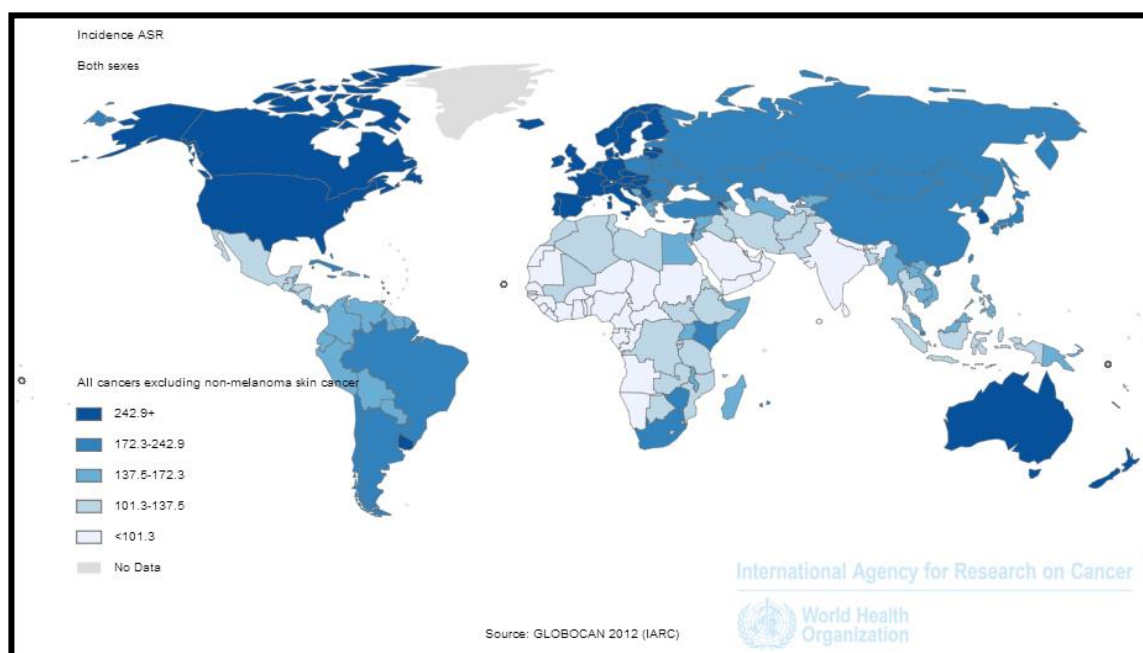


Figura 22: Incidência de câncer mundial.

A Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer (IARC) informou que de acordo com os dados do GLOBOCAN 2012, ocorreram um número estimado de 14,1 milhões de novos casos e 8,2 milhões de mortes relacionadas ao câncer em 2012, em comparação com 12,7 milhões e 7,6 milhões, respectivamente, em 2008. As estimativas de prevalência para 2012 mostravam que existiam 32,6 milhões de pessoas (com idade superior a 15 anos) que tiveram um câncer diagnosticado nos últimos cinco anos.

Os cânceres mais comumente diagnosticados em todo o mundo foram os de pulmão (1,8 milhões, 13,0% do total), de mama (1,7 milhões, 11,9%), de cólon e retal (1,4 milhões, 9,7%). As causas mais comuns de morte por esta doença foram os cânceres de pulmão (1,6 milhões, 19,4% do total), fígado (0,8 milhão, 9,1%) e estômago (0,7 milhão, 8,8%).

Projeções com base nas estimativas do GLOBOCAN 2012 preveem um aumento substancial de 19,3 milhões de novos casos de câncer por ano até 2025, devido ao crescimento e envelhecimento da população global. Mais da metade da incidência (56,8%) e mortes por

câncer (64,9%), em 2012 ocorreram nas regiões menos desenvolvidas do mundo, e essas proporções irão aumentar ainda mais até 2025. A publicação também lançou um alerta sobre o crescente número do câncer de mama, um crescimento de mais de 20%, enquanto a mortalidade aumentou em 14% desde 2008.

A taxa de incidência de câncer global é quase 25% maior entre homens do que em mulheres, com taxas de 205 e 165 para grupos de 100 mil pessoas, respectivamente. Taxas de incidência do sexo masculino variam quase cinco vezes entre as diferentes regiões do mundo, com taxas que variam de 79 por 100.000 na África Ocidental a 365 por 100.000 na Austrália / Nova Zelândia (com altas taxas de câncer de próstata).

Há menos variação nas taxas de incidência do sexo feminino (quase três vezes), com taxas que variam de 103 por 100 mil no Sudeste da Ásia Central a 295 por 100.000 na América do Norte, dados que podem ser observados na (Figura 23).

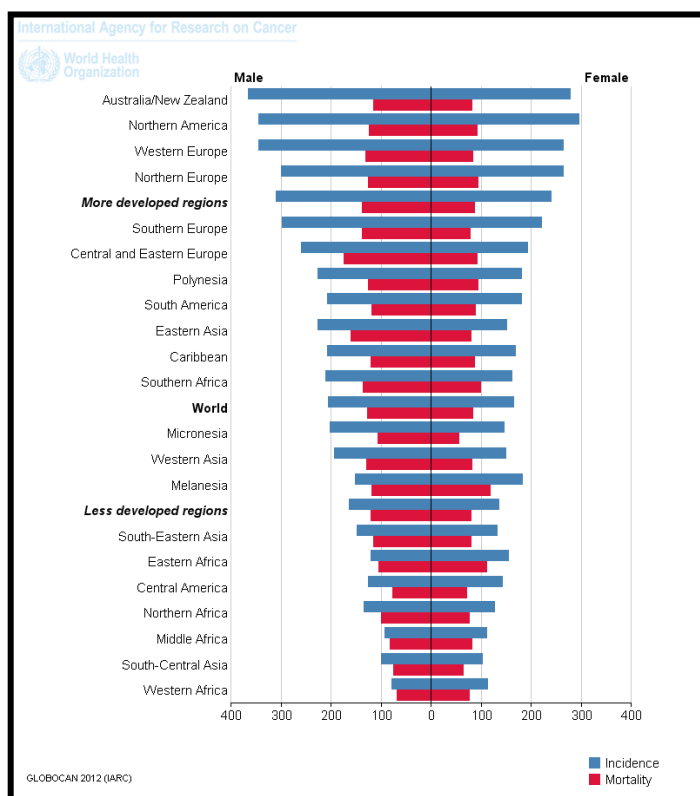


Figura 23: incidência e prevalência de câncer entre os diferentes gêneros nas regiões do mundo.

Existem várias causas, claramente identificadas de câncer e várias estratégias que podem levar a reduções na incidência e mortalidade (PETO, 2001). Atualmente, as formas mais comuns diferem entre os países de alta renda de outros. Nos países de alta renda, os cânceres de pulmão, mama, próstata, de cólon e retal dominam, e um terço dos casos tem origem no uso do tabaco e 10% em infecções crônicas (STEWART; KELIHUES, 2003). As JANNIERES DARC DA SILVA

prioridades no controle do câncer nessas regiões incluem o controle do tabaco e estratégias de alta tecnologia como triagem para pequenos tumores e tratamento curativo.

Nos países em desenvolvimento e pobres, os cânceres de estômago, fígado, cavidade oral e colo do útero dominam (BOYLE, 2006; PARKIN, 2006). Este padrão está mudando rapidamente, com grandes aumentos em muitas partes do mundo dos casos de câncer de pulmão, mama, de cólon e retal, onde historicamente têm sido incomuns. Um quarto da carga de câncer em países pobres parece ser atribuído a infecções crônicas, mas 12% são atualmente causados pelo tabagismo e esta proporção está crescendo (PARKIN, 2006). As prioridades de controle de câncer nesses países incluem o controle do tabaco e estratégias de baixa tecnologia, com o tratamento frequentemente destinado a palição.

Este século guarda para esta parte do mundo mais pobre uma série de desafios, entre os quais os principais são o crescimento e envelhecimento da população e a ocidentalização de seu estilo de vida, particularmente o crescimento da prevalência do tabagismo (BOYLE, 2006). Mudanças de hábitos de vida, incluindo a mudança das práticas nutricionais, o aumento do sedentarismo, ganho de peso, obesidade e mudanças sociológicas, claramente o aumento da idade do primeiro parto e diminuição da paridade em mulheres, estão levando a grandes aumentos do número de câncer de mama.

No Brasil o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima cerca de 580 mil novos casos da doença para 2014. De acordo com a publicação da estimativa de incidência de Câncer no Brasil para 2014, preve que os cânceres mais incidentes na população brasileira neste ano serão de pele não melanoma (182 mil), próstata (69 mil); mama (57 mil); de cólon e reto (33 mil), pulmão (27 mil) e estômago (20 mil). Excetuando-se pele não melanoma, a ocorrência será de 394.450 novos casos, sendo 52% em homens e 48% entre as mulheres. Já na distribuição por região o maior número de casos encontram-se na região sudeste e a norte aponta com o menor número de incidência como pode-se observar na **(Figura 24)**.

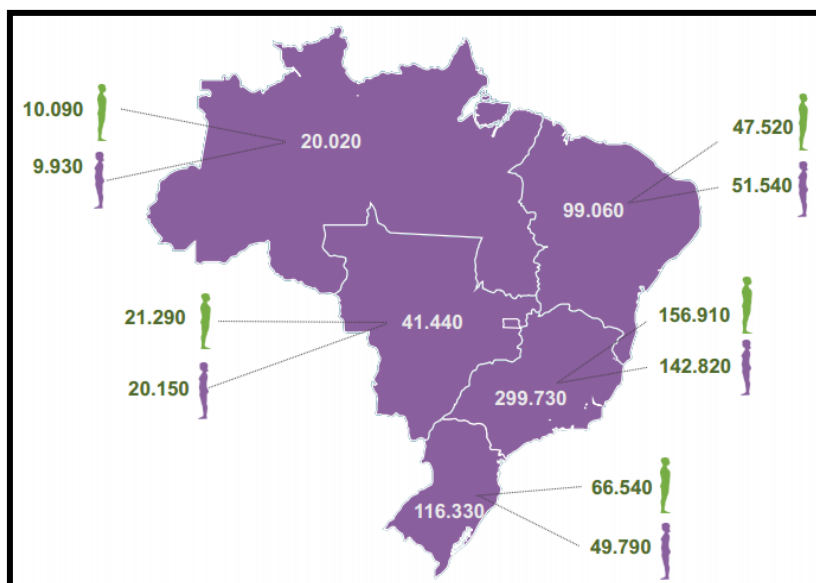
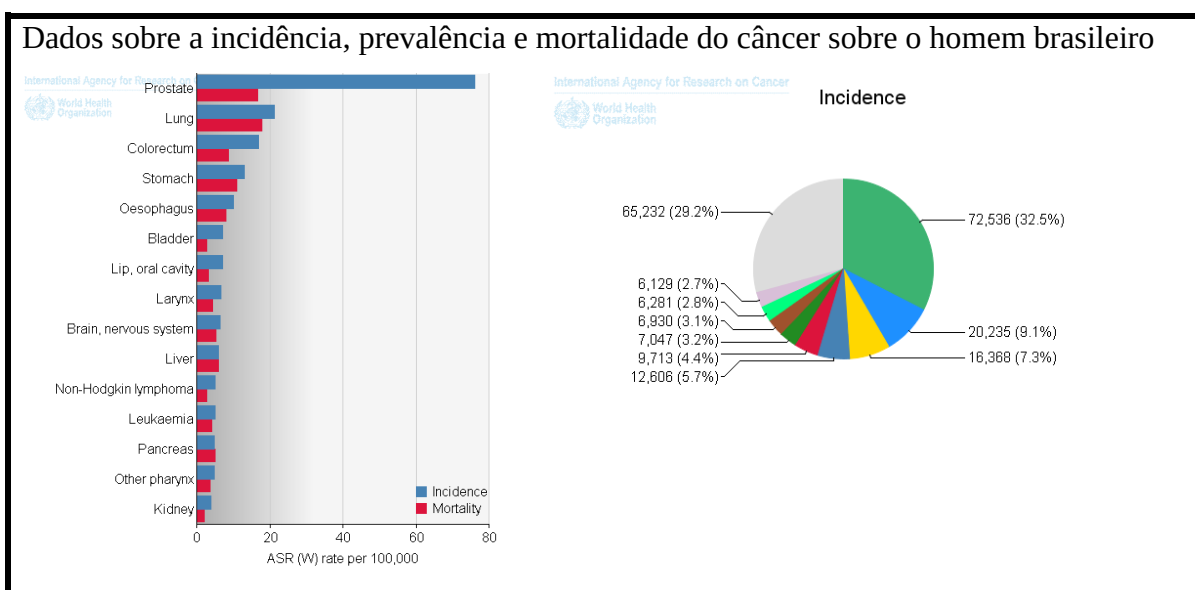
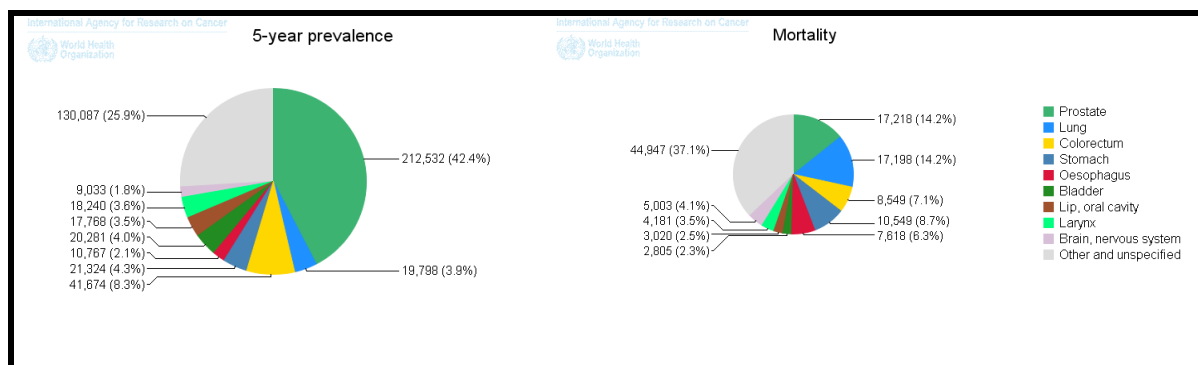


Figura 24: distribuição da incidência de câncer por gênero e região do país.

Em condições de normalidade, ou seja, nos tecidos saudáveis, existe um respeito a um equilíbrio entre a divisão celular que originam novas células e a apoptose responsável pela morte celular programada de outras, para que o tecido não se prolifere desenfreadamente e assim acarrete danos ao organismo. Contudo, este equilíbrio muitas vezes é quebrado levando ao desenvolvimento de tumores malignos, sendo este caracterizado por cinco processos: proliferação, apoptose, angiogênese, invasão e migração de células (EICHHORST; KRAMMER, 2001; HENGARTNER, 2000). A seguir estão os dados sobre a incidência, prevalência e mortalidade do câncer sobre o homem brasileiro (**Figura 25**).

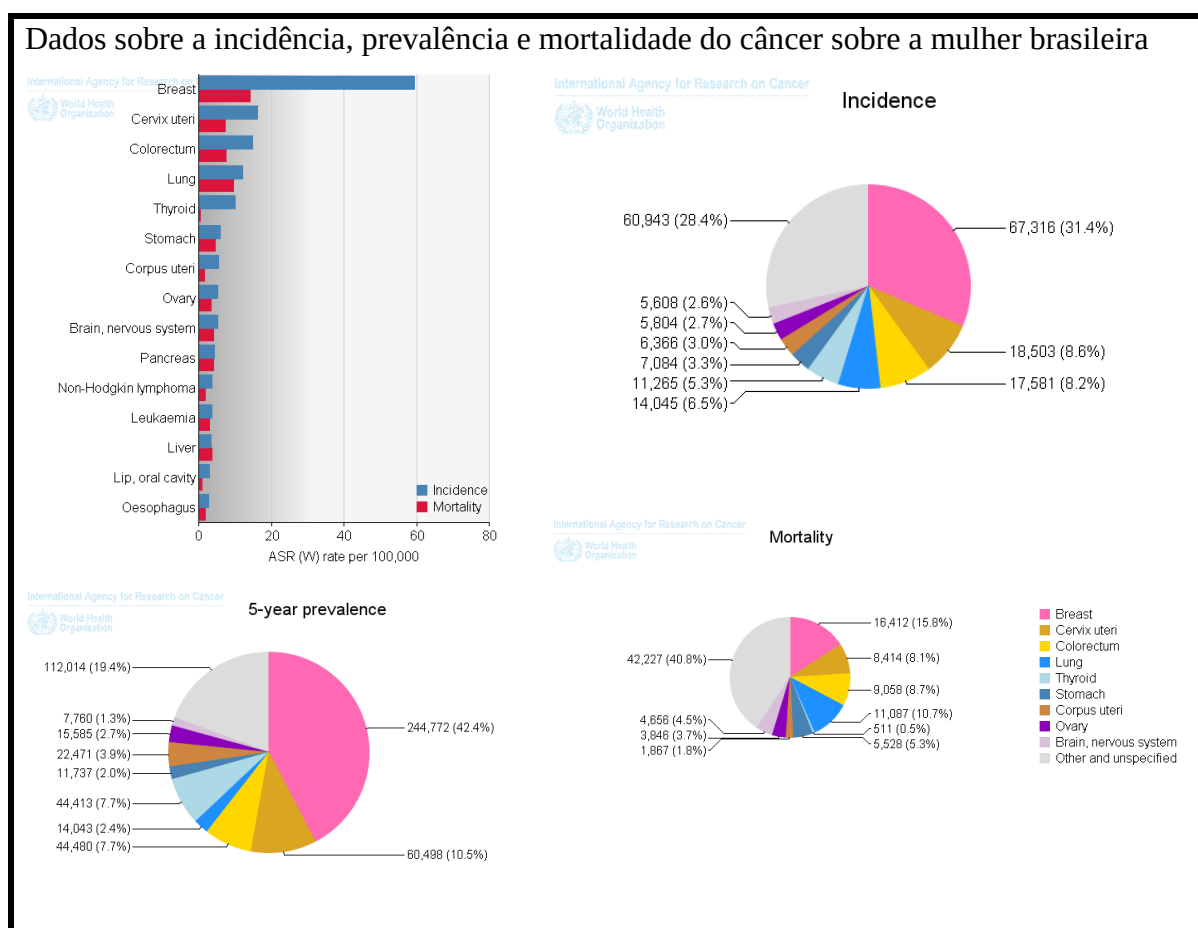




Fonte: GLOBOCAN 2012

Figura 25: Dados sobre a incidência, prevalência e mortalidade do câncer sobre o Homem brasileiro

Neste outro quadro estão os dados sobre a incidência, prevalência e mortalidade do câncer sobre o mulher brasileira (**Figura 26**).



Fonte: GLOBOCAN 2012

Figura 26: Dados sobre a incidência, prevalência e mortalidade do câncer sobre o a mulher brasileira

As células malignas perdem a capacidade de responder aos estímulos do seu microambiente, passando a proliferar-se até na ausência dos mesmos, e seus mecanismos de

JANNIERES DARC DA SILVA

autodestruição tornam-se ineficazes. A célula passa por um processo de desprogramação, agora não é mais que um “estranho no ninho” não desempenha mais suas funções básicas e passa a ser um agente nocivo a vida (EVAN; VOUSDEN, 2001).

Uma consequência desse crescimento desenfreado da massa celular dos tumores é a crescente necessidade de nutrição o que o torna dependente de novos vasos, a angiogênese, que será responsável pelo fornecimento constante de oxigênio e nutrientes e remoção de resíduos. Com a perda das características morfofuncionais da célula no tecido também se perdem as adesões célula-célula e célula-matriz características que entre outras como a degradação de componentes da matriz extracelular (MEC) estão envolvidas nos processos de invasão e migração (CAIRNS *et al.*, 2003).

Quando há a redução e perda da expressão de moléculas de aderência entre as células e também das mesmas com matriz extracelular (MEC) os laços entre as células e seu microambiente se desfazem, e as mesmas tornam-se invasivas e migrantes. As células malignas mostram aumento da atividade proteolítica, que as ajuda a digerir a MEC. Esta digestão é necessária para que as células do câncer possam invadir e migram através da lâmina basal, que é a marca de malignidade (GOACHEVA *et al.*, 2006). A invasão e migração de células cancerosas podem levar ao desenvolvimento de metástases em locais distantes (FIDLER, 1990). A metástase é a principal causa de morte em pacientes com câncer, portanto, a redução da progressão metastática é o maior desafio para o desenvolvimento de terapias anticâncer eficazes.

2.7.3 Tratamento

Os tumores malignos são responsáveis por um número expressivo e crescente de pacientes em todo o mundo, e representam a segunda causa de morte da população mundial (SRIVASTAVA *et al.*, 2005). A terapêutica do câncer baseia-se, de forma geral, na associação da ressecção cirúrgica dos tumores ao tratamento radioterápico, e a quimioterapia.

Na década de setenta estas formas clássicas de abordagem sofreram alterações significativas com a introdução do conceito de tratamento adjuvante. O emprego intensivo dos protocolos pós-cirúrgicos, incluindo a associação de quimioterápicos com diferentes mecanismos de ação à radioterapia e, mais recentemente, a associação destes aos anticorpos monoclonais, vem melhorando os resultados do tratamento de alguns tipos de cânceres. Infelizmente, muitos tumores ainda apresentam respostas modestas aos protocolos clínicos,

limitando a indicação e a eficácia do tratamento adjuvante tanto para os tumores primários quanto para as metástases (KUMMAR *et al.*, 2004).

Os quimioterápicos não atuam exclusivamente sobre as células tumorais, mas também em células saudáveis que estão em constante renovação tais como: medula óssea e células do tubo digestivo, o que torna o tratamento bastante agressivo ao paciente. Além disso, o desenvolvimento de resistência a drogas antineoplásicas constitui uma falha na quimioterapia (CARRASCO *et al.*; 2008), pois algumas populações celulares acabam por desenvolver uma nova codificação genética após exposição a elas.

Portanto, torna-se imperativo a necessidade de encontrar, desenvolver, e introduzir no arsenal médico, modalidades terapêuticas mais eficientes que possam oferecer ao número crescente de pacientes com doenças malignas disseminadas, oportunidades reais de controle local/regional e a distância das células neoplásicas.

2.7.4 Alvos terapêuticos

2.7.4.1 Espécies reativas de oxigênio (EROS)

Nas Células Normais existe um balanço entre a geração e eliminação de radicais livres, mantendo assim, a homeostase do estado redox da célula (DEVI *et al.*, 2000).

Entre os principais radicais livres estão as espécies reativas de oxigênio (EROs) e outras espécies com elétrons desemparelhados, como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), Oxigênio singlete (1O_2) e radical hidroxila ($HO^{\cdot}$), além das espécies não-radicais como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). EROs de natureza radicalar são altamente reativos e sua meia-vida, geralmente, dura alguns segundos ou minutos (GUPTA; PEDINTE, 2008).

O balanço do estado redox da célula é mantido por um poderoso sistema antioxidante para neutralização dos EROS. Esse sistema composto por substâncias enzimáticas superóxido dismutase (SOD), catalase, sistema de glutatona (Glutathione, glutathione reductase, peroxidase e transferase), sistema de tioredoxina (Tioredoxina, tioredoxina peroxidase e peroxiredoxina) e não enzimáticas como as vitaminas E e C (MANDA; NECHIFOR; NEAGU, 2009).

As principais enzimas envolvidas na geração de EROs são: glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), glutathione oxidized (GRXo), glutathione reduced (GRXr), glutathione reduced (GSHr), a glutathione oxidized (GSSG), tioredoxina

oxidada (TRXo), tioredoxina reduzida (TrxR), xantina oxidase(XO) (TRACHOOTHAM; ALEXANDRE; HUANG, 2009) .

Tem-se especulado que o aumento de EROs em células cancerosas seja devido a fatores como estimulação oncogênica, aumento da atividade metabólica e mau funcionamento mitocondrial (PELICIANO *et al.*, 2004). Além disso, são consideradas responsáveis pelo desenvolvimento, progressão, invasão e metástase dos cânceres (GILES, 2006). As baixas concentrações dos EROs favorecem uma Sobrevivência e proliferação das células, porem, em altas concentrações, elas exaurem um capacidade antioxidante das células provocando injúrias celulares irreversíveis desencadeando um programa de sinalização que leva à senescência, apoptose ou necrose (HALLIWELL, 2007).

Apoptose, ou morte celular programada, é um processo de manutenção para o desenvolvimento dos seres vivos, sendo de suma importância para eliminar células indesejadas ou defeituosas. Durante a apoptose, a célula sofre alterações morfológicas características desse tipo de morte celular. Tais alterações incluem uma retração da célula, perda de aderência com a matriz extracelular e células vizinhas, condensação da cromatina, fragmentação internucleossômica e formação dos corpos apoptóticos (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007).

2.7.4.2 Inibição das topoisomerases

Uma estratégia conhecida no combate às células cancerosas envolve a indução da apoptose da célula tumoral, antes que ela se replique para formar novas células malignas (DA SILVA *et al.* , 2003). Uma das maneiras de se induzir a apoptose está na inibição de enzimas importantes conhecidas como topoisomerases (PLYTA *et al.* , 1998). Em sua atuação natural, essas enzimas ligam-se ao DNA, fazendo cortes localizados que permitem que funções de transcrição, reparação, replicação e estruturação do cromossomo ocorram normalmente (ANDOH, 1998 , BELOTSEKOVSKII *et al.* , 2006 ; WANG, 1996). A atividade antineoplásica das quinonas dá-se através de diferentes mecanismos de ação. Algumas quinonas atuam no processo de inibição das topoisomerases, afetando diretamente o “complexo” topoisomerase-DNA e, conseqüentemente, induzindo a apoptose (PLYTA *et al.* , 1998). Os inibidores de topoisomerase estabilizam o complexo enzima-DNA, após o corte no DNA e antes de ele ser recomposto, formando um complexo ternário estável que impede que o DNA e a enzima prossigam com suas funções normais (**Figura 27**) (ANDOH, 1998 ;

WANG, 1996). Estudos *in vitro* mostraram que algumas drogas derivadas de naftoquinonas podem inibir a topoisomerase II (Tipo II) por estabilização das formas intermediárias dos complexos enzima-DNA (complexos quebráveis) (MATSUMOTO *et al.* , 2001). Essa estabilização leva à quebra da fita simples e da fita dupla do DNA induzindo a apoptose.

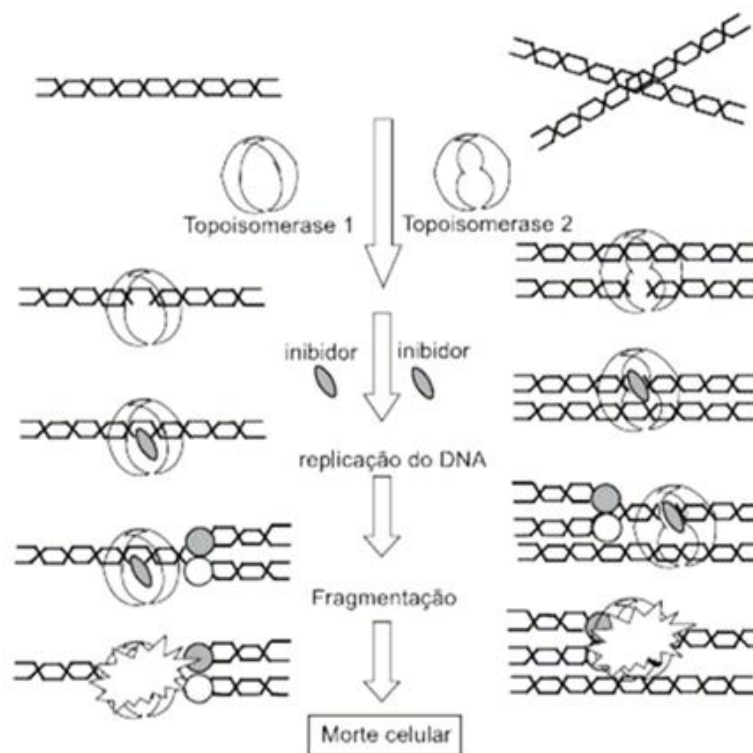


Figura 27: Mecanismo de ação das drogas inibidores de enzimas topoisomerase

2.7.4.3 Naftoquinonas como agentes anticâncer

Tem-se visto muitos estudos focados no desenvolvimento de drogas potencialmente ativas contra neoplasias.

A atividade antineoplásica das quinonas dá-se através de diferentes mecanismos de ação. Tais como a capacidade das quinonas de inibirem a oxidação e a fosforilação mitocondrial, como também de inibição da oxidase succínica (SANTANA *et al.* , 1968), inibição do transporte de elétrons (VENNERSTROM, 1988), ciclo redox, bioalquilação, intercalação, indução de quebras nas fitas do DNA e geração de radicais livres (PLYTA *et al.*, 1998 ; FERRAZ *et al.* , 2001), inibição da enzima topoisomerase (PLYTA *et al.* ; 1998). Em todos estes casos, o mecanismo de ação, *in vivo*, requer a biorredução das quinonas, como primeira etapa (FERRAZ *et al.* , 2001).

No entanto, a maioria dos modelos para estudos de atividade antitumoral emprega culturas primárias de células tumorais humanas, utilizadas como teste de sensibilidade às drogas *in vitro*; ação esta, que nem sempre pode ser extrapolada para as condições *in vivo*, principalmente pela toxicidade das drogas anticancerígenas em geral.

Como consequência, muitos compostos farmacológicos e biológicos contêm unidades quinona. Dados da literatura mostram que o perfil biológico dessas moléculas está centrado nos seus pontos orto ou para quinoidais (FERREIRA *et al.*, 2006). Este grupo geralmente aceita um e/ou dois elétrons, para formar os correspondentes ânion radical ou a espécie diânion, *in situ* (BABIOR; 1997). Este comportamento está diretamente relacionado à atividade antineoplásica desses compostos.

O mecanismo de ação das naftoquinonas nos sistemas biológicos ainda não foi totalmente esclarecido. Mas, se sabe que parte do mecanismo envolve a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) induzidas pela biorredução do núcleo quinônico por enzimas específicas e oxigênio (BENITES *et al.*, 2008), e induzem apoptose e/ou interação com topoisomerasas das células tumorais (SILVA; FERREIRA; SOUZA, 2003).

As novas biomoléculas serão sintetizadas por diferentes métodos já conhecidos para a obtenção dos diferentes novos derivados naftoquinônicos; derivados 2-N-amino-naftoquinonas, derivados 2-N-amino-3-metil-naftoquinonas e derivados isoxazolinico da naftoquinona. Estes derivados serão purificados e elucidados por espectroscopia no Infra-vermelho (IV), ressonância magnética nuclear de prótons (RMN H^1) e carbono (RMN C^{13}) para posterior serem avaliados frente ao teste da MTT (Timidina Triteriada), afim de identificar a atividade anticâncer e frente a micro-organismos (Bactérias, gram positivas e gram negativas, e Fungo).

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Síntese e avaliação biológica de derivados da Naftoquinonana análogos ao lapachol, visando à obtenção de compostos ativos com atividade anticancer e de menor toxicidade que os fármacos utilizados atualmente na quimioterapiaterapia do câncer, além de determinar a ação antimicrobiana desses derivados, utilizando técnicas sintéticas simplificadas para a obtenção de produtos com alto valor agregado.

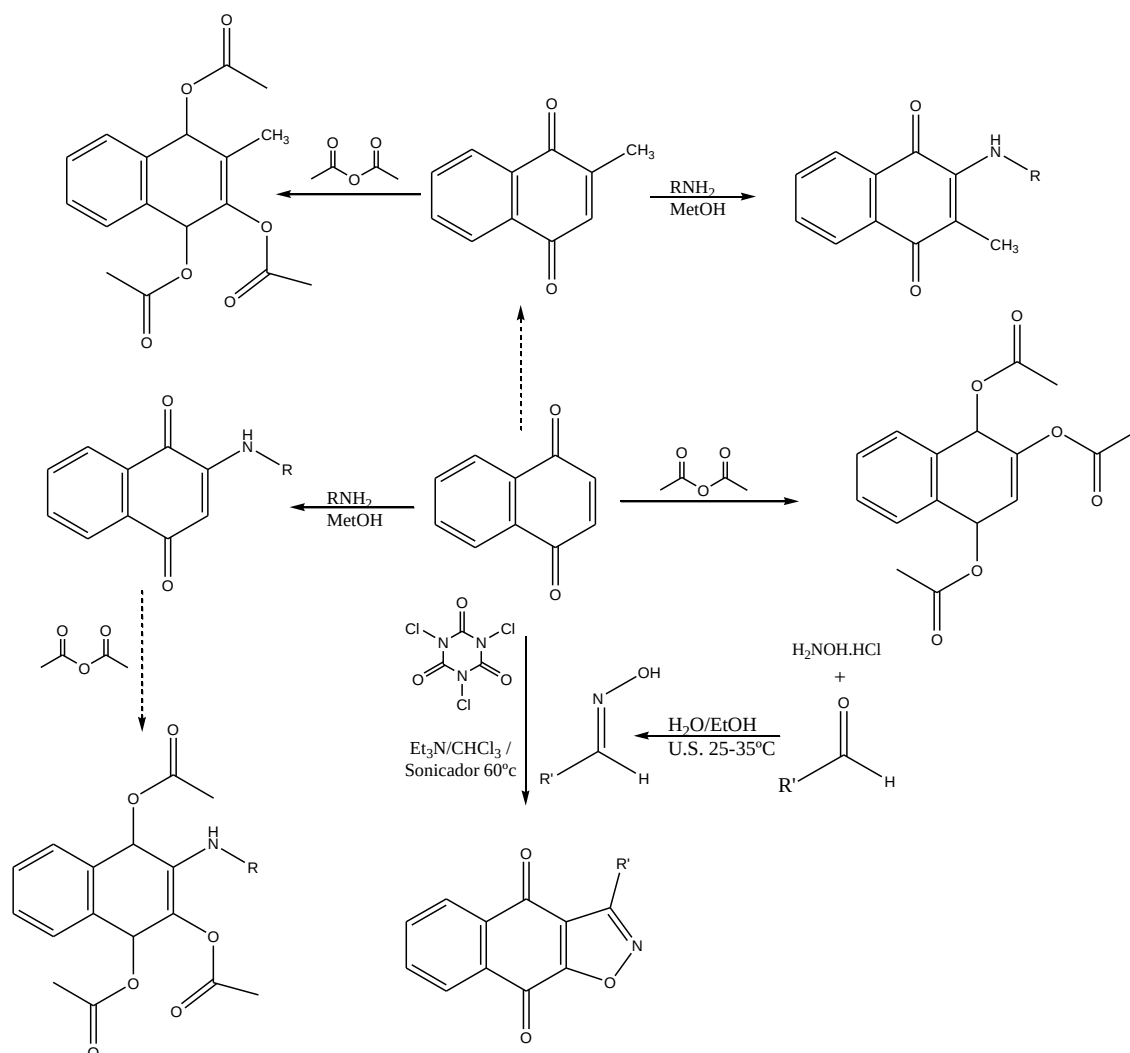
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter análogos do lapachol estruturalmente relacionados pela substituição de 1,4-naftoquinona com diversas aminas;
- Caracterizar a estrutura química dos compostos sintetizados através de Espectroscopia no Infravermelho (IVTF) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (^1H -RMN), Ponto de Fusão e Rf (Fonte de Referência);
- Avaliação das atividades biológicas dos derivados da Naftoquinona: atividade antimicrobiana e principalmente atividade anticancer *in vitro* através de *screening* inicial de citotoxicidade diante de três linhagens de células tumorais.

METODOLOGIA

PARTE QUÍMICA

Metodologia Sintética de Obtenção dos Novos Derivados da Naftoquinônicos



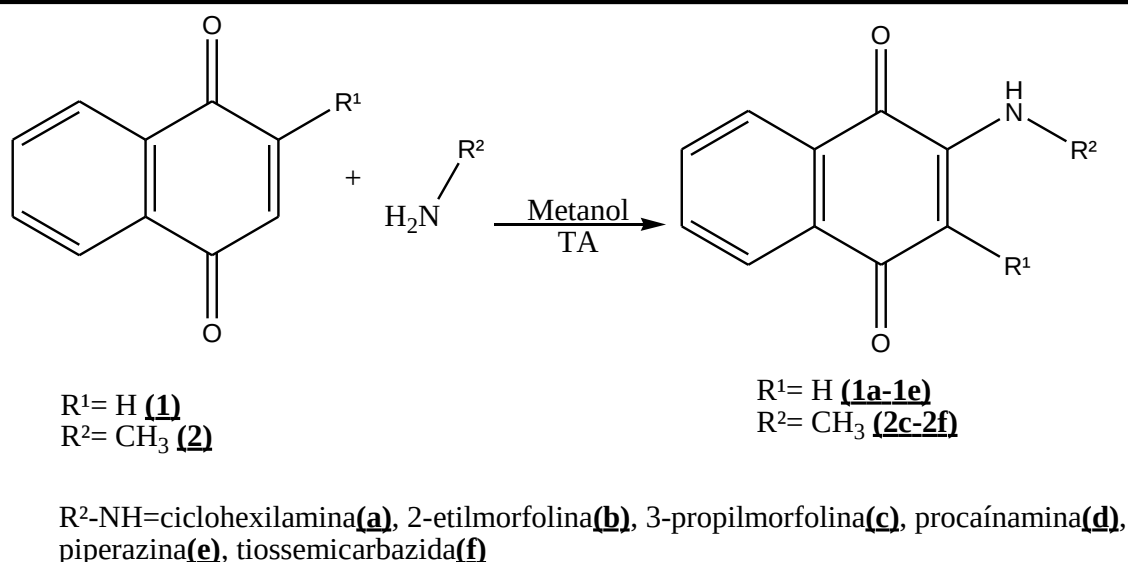
Partindo da 1,4-Naftoquinona como reagente principal, e seu derivado 2-metil-1,4-Naftoquinona (menadione) foram traçadas as estratégias de síntese de novos derivados, as modificações desta molécula foi traçada por três principais vias sintéticas:

- A aminação da 1,4 Naftoquinona e 2-metil-1,4-Naftoquinona, a partir da reações com aninas primarias em meio metanolico.
- Redução da 1,4 Naftoquinona e 2-metil-1,4-Naftoquinona, através da reação de acetoxilação com anidrido acético.
- Obtenção de aldoxima, pela reação entre aldeídos e cloridrato de hidroxiamina em água e álcool como solvente em ultrassom.
- Cicloadição da 1,4 Naftoquinona com oximas na presença do ácido tricloroisocianúrico e do seu derivado 2 metil 1,4 Naftoquinona.

4 METODOLOGIA

4.1 PROCEDIMENTO GERAL NA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS 2 AMINO 1,4 NAFTOQUINONA:

A obtenção dos derivados 2 amino 1,4 Naftoquinona, procedeu-se fazendo reagir um (01) equivalente da 1,4-Naftoquinona ou da 2-metil-1,4-naftoquinona, com 1,25 equivalentes dos reagentes alquilas aminas primarias correspondentes em metanol, como solvente, para a obtenção dos derivados 2-N-alquilamino-1,4-Naftoquinona ou 2-N-alquilamino-3-metil-1,4-Naftoquinona. As diferentes reações foram mantidas a temperatura ambiente com duração média de 24 horas e foram monitoradas por cromatografia de camada fina (CCD). A estratégia de síntese pode ser observada no **(Esquema3)**a seguir.

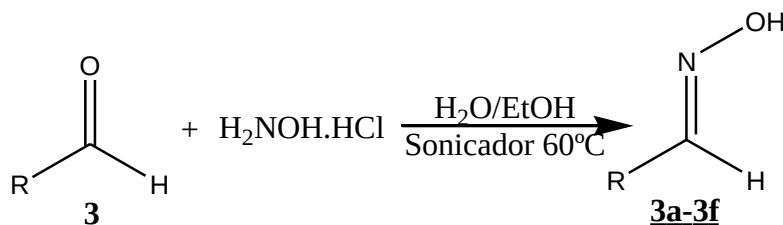


Esquema 3: Rota sintética para a obtenção dos derivados 2-N-alquilamino 1,4 Naftoquinona ou 2-N-alquilamino 3-metil-1,4-Naftoquinona.

4.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA A OBTENÇÃO DOS DERIVADOS DA ALDOXIMAS :

A Obtenção de derivados das aldoximas, procedeu-se fazendo reagir uma solução de um (01) equivalente do aldeído correspondente em etanol, como solvente, em um tubo de ensaio e adicionado sobre esta, uma outra solução de 1,25 equivalentes de cloridrato de hidroxilamina em água, para a obtenção dos derivados da aldoximas correspondentes. As

reações foram realizadas em ultrassom a 60°C com duração média de 2 horas e 30 min e foram monitoradas por CCD. A rota sintética pode ser observada no **(Esquema4)**a seguir.

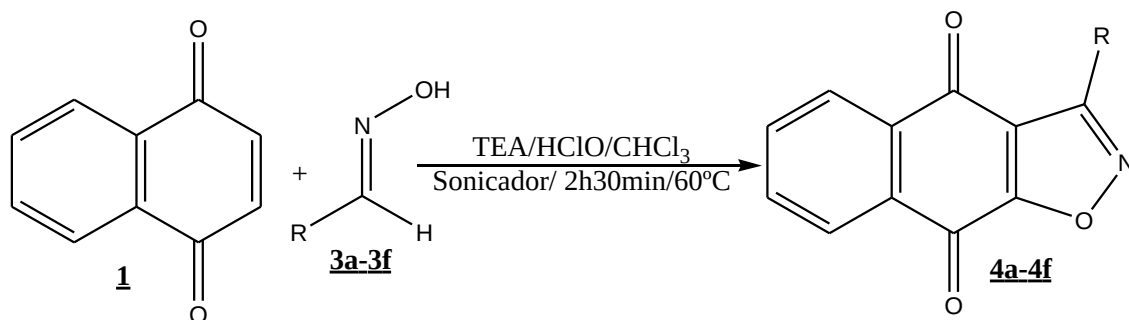


R= 4Br Benzaldeído(**a**), 4Cl Benzaldeído(**b**), Furaldeído(**c**), 5 Nitro 2 Furaldeído(**d**), Tiofenocarboxialdeído(**e**), 5 Nitro 2 Tiofenocarboxialdeído(**f**)

Esquema 4: Rota sintética para a obtenção dos derivados daaldoxima.

4.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA A OBTENÇÃO DE DERIVADOS ISOXAZOLINA PROVENIENTE DA CICLOADIÇÃO DA 1,4 NAFTOQUINONA COM AS DIFERENTES ALDOXIMAS :

A Obtenção de derivados da cicloadição da 1,4 Naftoquinona com aldoximas, procedeu-se fazendo reagir um(01) equivalente de uma solução de Naftoquinona, em clorofórmio, como solvente, e 3 gotas de trietilamina (TEA), em um tubo de ensaio e sobre esta foi gotejado lentamente, durante 10min, com auxílio de funil de adição, uma solução de 1,25 equivalentes da oxima derivada de um aldeído correspondente em clorofórmio e do ácido tricloroisocianúrico (ATCI), para a obtenção dos derivados Oxazolínicos resultado da cicloadição da 1,4 Naftoquinona com as diferentes aldoximas. As reações foram realizadas em ultrassom a 60°C durante 2 horas e 30 min e foram monitoradas por CCD. A rota sintética pode ser observada no **(Esquema5)** a seguir.

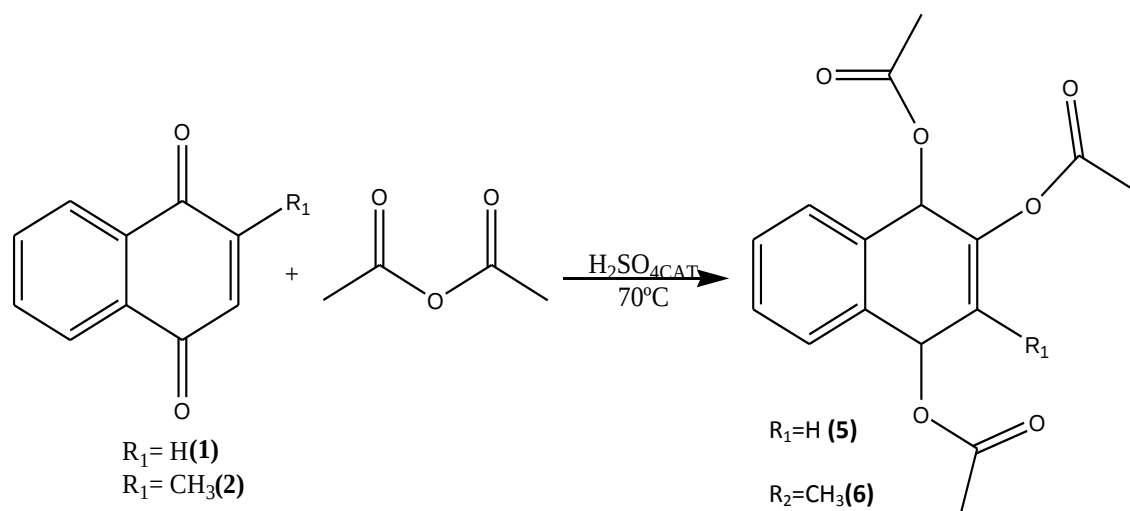


R= 4Br Benzaldeído(**a**), 4Cl Benzaldeído(**b**), Furaldeído(**c**), 5 Nitro 2 Furaldeído(**d**), Tiofenocarboxialdeído(**e**), 5 Nitro 2 Tiofenocarboxialdeído(**f**)

Esquema 5: Rota sintética para a obtenção dos derivados Isoxazolina da cicloadição da 1,4 Naftoquinona com aldoximas. *In situ* ocorre a formação do cloreto de hidroximiinoila a partir aldoxima com hipoclorito (produzido a parti do ácido tricloroisocianúrico (ATCI) dissolvido em água).

4.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA 1,4-ACETILAÇÃO-2-ACETOXILAÇÃO DANAFTOQUINONA:

A obtenção dos derivados 1,4-acetilação-2-acetoxilação da Naftoquinona e da metil-Naftoquinona, procedeu-se fazendo reagir a Naftoquinona ou a 2-metil-1,4-naftoquinona e anidrido acético como reagente e solvente, adicionando H₂SO₄, como catalisador, para a obtenção dos derivados 1,4-acetilação-2-acetoxilação Naftoquinona e 1,4-acetilação-2-acetoxilação-3-metil Naftoquinonas. As reações foram mantidas sob agitação e aquecimento, durante 6 a 8 horas nesta temperatura e foram monitoradas por CCD. A rota sintética pode ser observada no (**Esquema6**)a seguir.



Esquema 6: Rota sintética para a obtenção dos derivados 1,4-acetilação-2-acetoxilação Naftoquinona e 1,4-acetilação-2-acetoxilação-3-metil Naftoquinonas.

4.5 ANÁLISE DE ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO (IV):

Os espectros de absorção no infravermelho na região de 4.000 a 400 cm^{-1} , foram obtidos em pastilhas de KBr no espectrofotômetro de infravermelho, disponível na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, Recife - PE.

4.6 ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO (RMN ^1H) E CARBONO (RMN ^{13}C)

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C e das substâncias sintetizadas foram obtidos no espectrômetro da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, Recife - PE, utilizando como solvente DMSO- d_6 e como padrão interno DMSO.

METODOLOGIA

PARTE BIOLÓGICA

4.7 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICA DOS COMPOSTOS

4.7.1 Metodologia da avaliação antimicrobiana

4.7.1.1 Método de difusão em discos de papel

Neste método, os discos contendo concentrações conhecidas dos compostos sintetizados foram colocados na superfície de uma placa de ágar, onde uma suspensão padronizada dos microorganismos em teste foi inoculada. As suspensões dos microorganismos testes foram padronizadas através da escala de McFarland com turbidez correspondente a 0,5, equivalente a $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias por mililitros (UFC/mL). Discos de papel contendo apenas o solvente Dimetilsulfóxido (DMSO) foram utilizados como controles negativos. As placas foram levadas a estufa durante 24h e 48h à temperatura de 30°C e 37°C e após o período de incubação mediram-se os halos de inibição em milímetros (mm). O halo de inibição será considerado a área sem crescimento detectável a olho nu.

4.7.2 Metodologia da atividade antitumoral

4.7.2.1 Citotoxicidade in vitro dos derivados da Naftoquinona

Para o estudo em questão, as linhagens tumorais utilizadas, HL-60 (Leucemia promielocítica), HEP2 (carcinoma laríngeo humano), MCF-7 (Adenocarcinoma) e NCI H-292 (câncer de pulmão– humano), foram obtidas do Banco de células do Rio de Janeiro, tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640 ou DMEN, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril e testadas na concentração de 25 µg/mL para substâncias puras e 50 µg/mL para extratos ou frações. Análise de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990). É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma

análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

As células foram plaqueadas na concentração de 1×10^5 células/mL. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Em seguida, foram adicionados 25 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 100 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm. Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos desvio no programa *GraphPad Prism*. Cada amostra foi testada em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

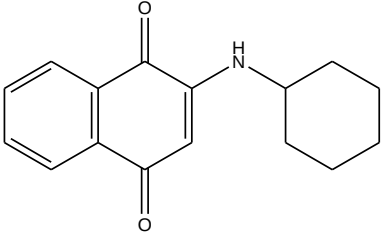
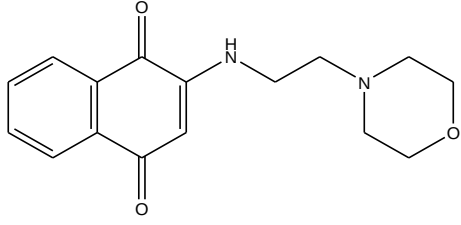
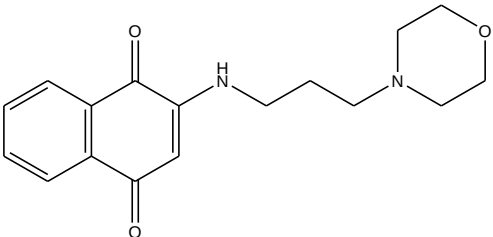
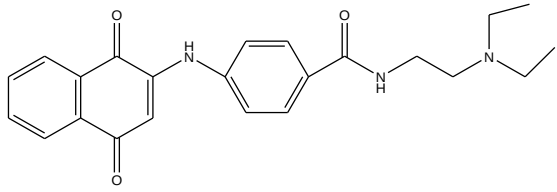
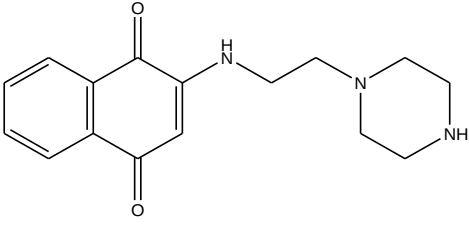
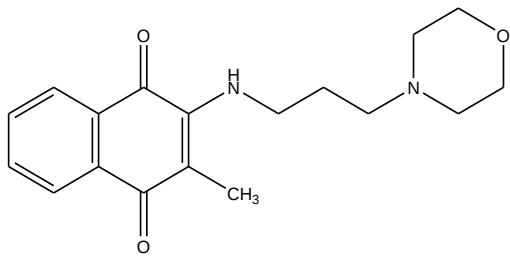
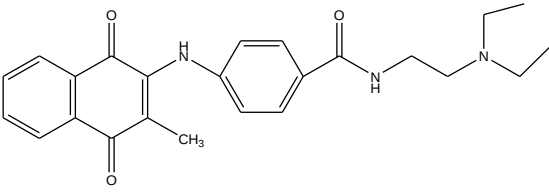
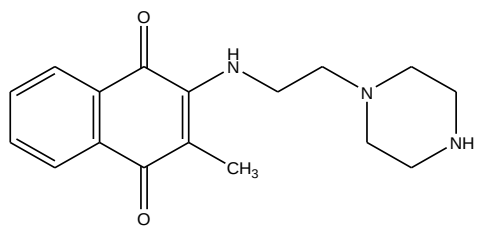
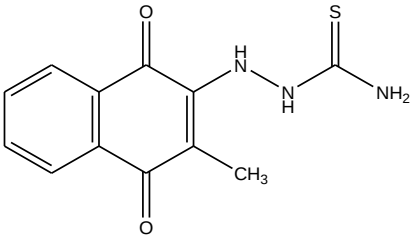
PARTE QUÍMICA

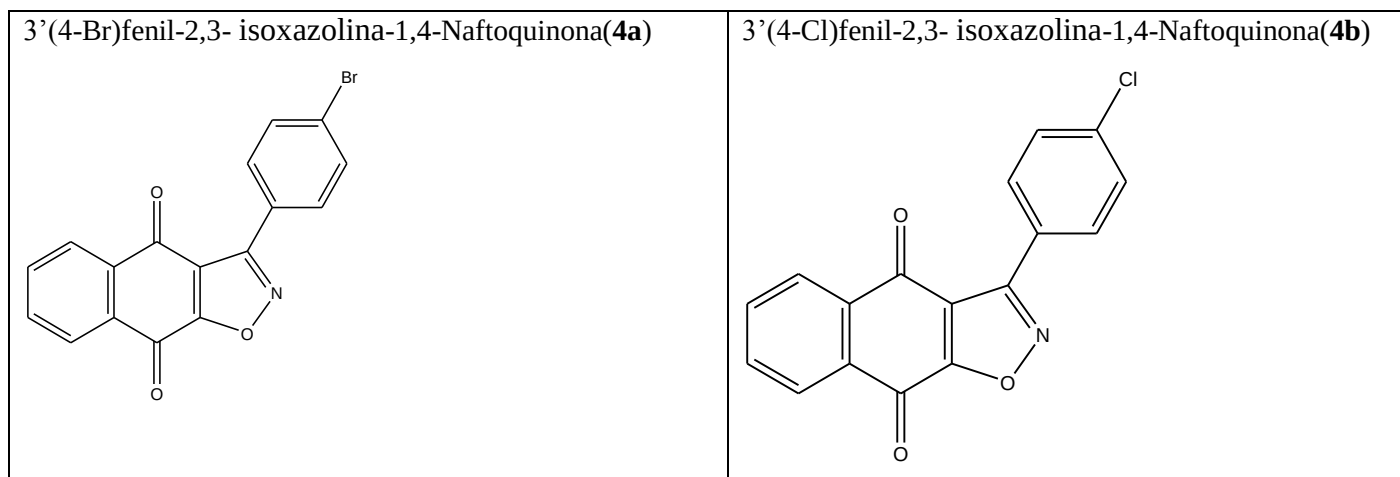
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as diferentes rotas sintéticas acima citadas, foram obtidos um total de 34 produtos, sendo 26 derivados da 1,4-Naftoquinona e 14 derivados da 3-metil-1,4-Naftoquinona com as diferentes aminas primarias, ciclohexilamina, 2 etil morfolina, 3 propilmorfolino, procaínamina, piperazina, tiossemicarbazida, semicarbazida, feniltiosseicarbazida, tiourea, furfurilamina, 4-Br-anilina, tioacetamida e o aminoácido cisteína; 6 derivado oxazolinico e 2 derivados triacetoxilados. Destes 34 produtos obtidos somente 11 compostos foram devidamente purificados e elucidados e as restantes das biomoléculas estão sendo purificadas e elucidadas. Algumas reações procederam de forma diferente da descrita nas reações gerais, devido às características específicas de cada amina utilizada.

Os diferentes derivados da 1,4 Naftoquinona da serie de **1a** a **1e** e o derivado isoxazolina **4a** e **4b**, como também da 2-Metil 1,4 Naftoquinona da série **2c** a **2f** obtidos e purificados foram realizados devidamente suas elucidaciones estruturais por RMN ^1H , RMN C^{13} e IV, bem como submetidos aos testes biológicos. Os diferentes produtos finais obtidos e elucidados estão expostos na **(Figura 28)** a seguir.

Figura 28: Estrutura dos derivados obtidos

2-<i>N</i>-ciclohexilamina-1,4-Naftoquinona(1a) 	2-<i>N</i>-(2-morfolino-etilamina)-1,4-Naftoquinona(1b) 
2-<i>N</i>-(3-morfolina-propilamina)-1,4-Naftoquinona(1c) 	2-<i>N</i>-procainamina-1,4-Naftoquinona(1d) 
2-<i>N</i>-(2-piperazina-etilamina)-1,4-Naftoquinona(1e) 	2-<i>N</i>-(3-morfolina-propilamina)-3-metil-1,4-Naftoquinona(2c) 
2-<i>N</i>-procainamina-3-metil-1,4-Naftoquinona(2d) 	2-<i>N</i>-(2-piperazina-etilamina)-3-metil-1,4-Naftoquinona (2e) 
2-<i>N</i>-(tiossemicarbazona)-3-metil-1,4-Naftoquinona (2f) 	



5.1 NA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS 2-N-ALQUILAMINO-1,4-NAFTOQUINONA:

Os derivados 2-N-alkilamino-1,4-Naftoquinona foram obtidos através de uma metodologia simples, barata e com pouco tempo reacional. Trata-se de uma reação de substituição nucleofílica entre a Naftoquinona e uma alquil amina primária. Inicialmente foi realizado a solubilização da Naftoquinona ou da metil- Naftoquinona em metanol e posteriormente procedeu-se com a adição de uma solução da alquil amina em metanol a temperatura ambiente, para obtenção dos derivados 2-N-alkilamino Naftoquinona correspondentes. Para as reações que não apresentaram um bom desenvolvimento com a metodologia inicialmente aplicada, sofreram algumas modificações no procedimento experimental.

Primeiramente as reações foram realizadas a temperatura ambiente e sob agitação com as duas naftoquinonas (1,4 naftoquinona e 3-metil-1,4-Naftoquinona) e com as diferentes aminas (ciclohexilamina, 2-etilmorfolina, 3-propilmorfolino, piperazina, tiossemicarbazida, semicarbazida, furfurilamina, Br-anilina, feniltiossemicarbazida, tiourea, tioacetamida e cisteína), mas apenas as reações com ciclohexilamina, 2-etilmorfolina, 3-propilmorfolino, piperazina, furfurilamina, Br-anilina apresentaram na CCD a formação de um único produto e com uma mancha na base. A Procainamida só reagiu com as respectivas naftoquinonas após a adição de um catalizador básico, a KOH. Com exceção da reação com a tiossemicarbazida que apresentou um ótimo rendimento com 3-metil-1,4-naftoquinona, as demais aminas (semicarbazida, tiossemicarbazida, tiourea, tioacetamida), apresentaram na CCD pontos que caracterizavam a formação de dois produtos ou de um produto e um subproduto. As Aminas feniltiosseminarbazida e cisteína, apresentaram na CCD três pontos que caracterizavam a

formação de três produtos ou de um produto e dois subprodutos. As sínteses com as aminas semicarbazida, tiosemicarbazida, tioúreia, tioacetamida, feniltiosseminarbazida e cisteína foram repetidas nas mesmas condições reacionais em ultrassom e aquecidas a 60°C, porém os resultados observados não foram diferentes dos obtidos pelo método convencional, somente uma vantagem com o menor tempo reacional. Foi observado também para as aminas feniltiosseminarbazida e cisteína dos três pontos que apareciam na placa com maior intensidade, eram diferentes do que foi observado no método convencional. Foram realizadas também reações no método convencional com a adição do catalizador básico, o KOH, sob aquecimento a uma temperatura de 60°C (mesma temperatura do ultrassom), mas as reações das respectivas Naftoquinonas com a tioúreia, tioacetamida, feniltiosseminarbazida e cisteína, também não foi observado mudança significativa. Nas reações com a tioúreia, tioacetamida e feniltiosseminarbazida, apresentaram as mesmas características observada no ultrassom e com a cisteína foi visualizado uma maior intensidade em outro ponto da CCD diferente dos observados anteriormente.

As reações realizadas com a presença do catalizador KOH, foram neutralizadas com uma solução a 5% de ácido cítrico. Após o processo de neutralização foi adicionado água destilada para a precipitação dos diferentes produtos. A solução foi filtrada e lavada com água destilada gelada varias vezes em funil sinterizado.

As reações não foram realizadas em meio reacional catalisado por um ácido, por que o produto obtido seria diferente do objetivado por nós, uma vez que, a síntese é descrita pela condensação equimolar de um derivado carbonilado do tipo aldeído ou cetona, com tiosemicarbazidas em meio alcoólico, sob refluxo e quantidades catalíticas de ácido, poderiam apresentar um mecanismo reacional semelhante ao de formação de iminas (TENÓRIO *et al*, 2005). Uma vez que o objetivo deste trabalho é substituição com uma amino no carbono 2 da Naftoquinona, e não nas carbonilas das Naftoquinonas com a formação de iminas.

A purificação foi feita por recristalização e placa preparativa cromatográfica. Os derivados foram obtidos na forma de cristal que variam do bôrdio ao amarelo e azul. Nesta fase foram enfrentados vários problemas para a purificação de alguns compostos tanto na sua recristalização, bem como na purificação por cromatografia preparativa. Alguns compostos se mostraram bastante sensíveis a estabilidade na purificação sob a placa preparativa, bastante instáveis em contato com a sílica e se degradaram parcialmente com o passar do tempo, dificultando a sua purificação ou até mesmo a manutenção da pureza para posterior

elucidação. Por este motivo que não foram elucidados todos os derivados obtidos nesta série, **(Figura 29)** a seguir.

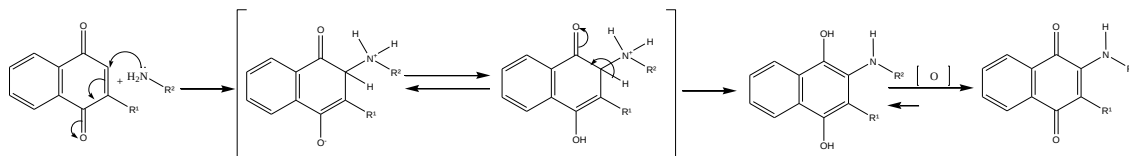


Figura 29: Proposta de mecanismo da síntese dos derivados 1,4 Naftoquinona e 2-Metil-1,4-Naftoquinona

5.1.1 Elucidação Estrutural

Os produtos, bem como a 1,4-Naftoquinona e a 2-Metil-1,4-Naftoquinona, foram elucidados estruturalmente por RMN ^1H , RMN C^{13} e IV, análises estas realizados no Departamento de Química Fundamental (DQF).

A análise inicial dos espectros no infravermelho teve como objetivo identificar a presença das bandas de absorção referentes aos principais grupamentos químicos característicos dos compostos analisados.

A confirmação estrutural foi realizada através da análise dos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C , sendo que no RMN ^1H foram feitos os cálculos das integrais das áreas dos picos, para o conhecimento da quantidade de hidrogênios a molécula possui. Assim com atribuir os valores das constantes de acoplamento (J).

5.1.1.1 Análise de espectrofotometria de absorção no Infravermelho (IV) da 1,4 Naftoquinona e seu derivado:

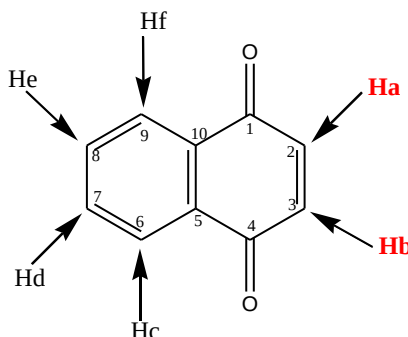


Figura 30: Estrutura química da Naftoquinona com destaque no hidrogênio **Ha** e **Hb**.

Na análise do espectro no infravermelho da 1,4 Naftoquinona é possível observa as bandas de absorção na região 3057 cm^{-1} referente a C-H do aromáticos e vinílicos da

quinona, a banda na região de $1.660,75\text{ Cm}^{-1}$ característico das carbonilas da quinona e as bandas $1.604,2$ e $1.587,69\text{ Cm}^{-1}$ de $\text{C}=\text{C}$ de aromáticos, vistos na **(Figura 31)**.

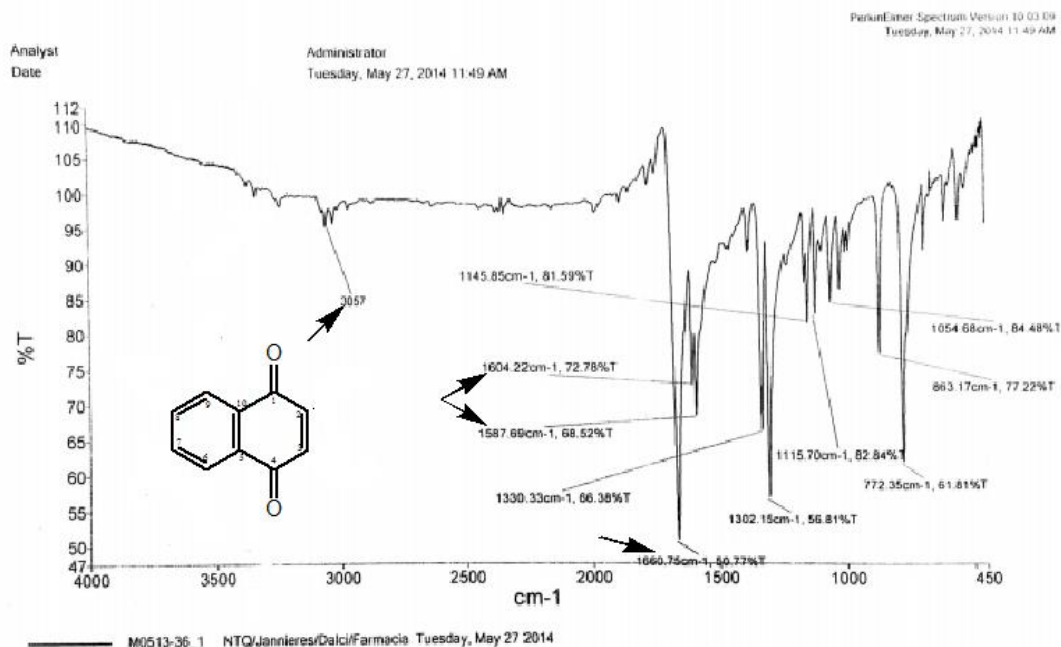


Figura 31: Espectro de Infravermelho da Naftoquinona **1**

Para os diferentes derivados obtidos da serie da N-amino alquil naftoquinonas vimos o aparecimento no Infravermelho da absorção do NH aparece numa banda de $3.342,98\text{ Cm}^{-1}$. Além dessa banda de absorção que comprova a substituição e possível observar o aparecimento de bandas características dos substituintes CH_2 (R^2) das aminas utilizadas. Na **(Figura 33)**, são vistas as bandas de absorção na região de 1.070 Cm^{-1} da deformação axial de C-N, a banda de $2.968,09\text{ Cm}^{-1}$ e $2.847,7\text{ Cm}^{-1}$ referente aos CH_2 , a banda 1.267 Cm^{-1} da deformação axial assimétrica de C-O-C e de 1.070 Cm^{-1} da deformação axial simétrica de C-O-C. É observado também a permanência das bandas $1.672,1\text{ Cm}^{-1}$ e $1.605,85\text{ Cm}^{-1}$ das Carbonilas da quinona, e $1.570,99\text{ Cm}^{-1}$ e $1519,97\text{ Cm}^{-1}$ do $\text{C}=\text{C}$ de aromáticos.

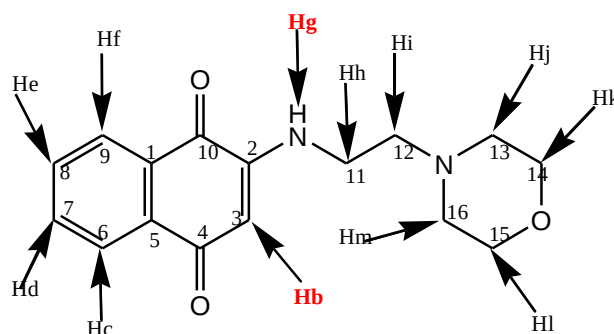


Figura 32: Estrutura química da Substância **1b**.

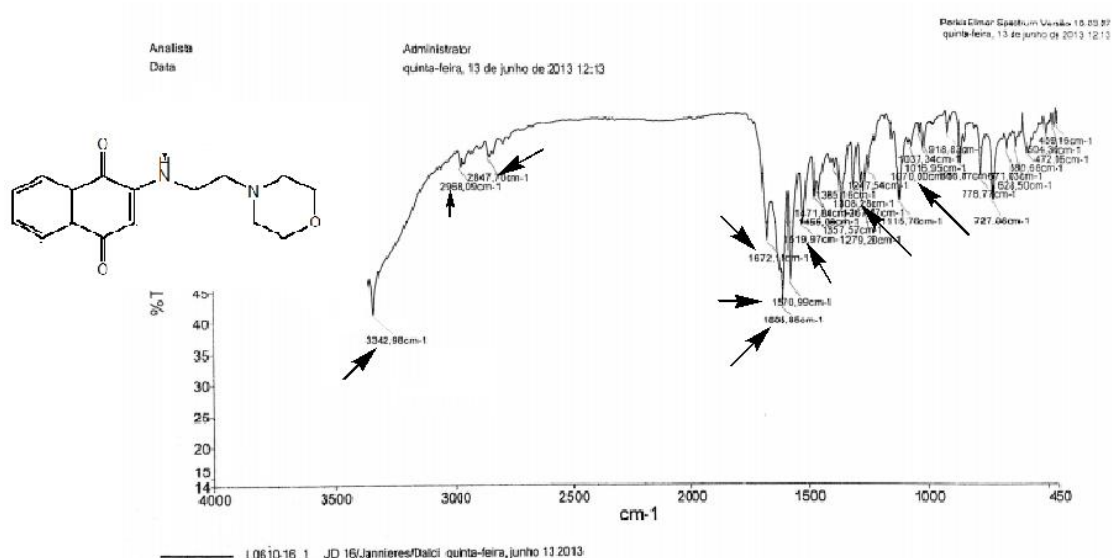


Figura 33: Espectro de Infravermelho da substância 1b

5.1.1.2 Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN^1H) da 1,4 Naftoquinona e seu derivado:

De acordo com os dados obtidos nos espectros de RMN^1H , dos compostos derivados da Naftoquinona, observam-se alguns picos que confirmam a estrutura molecular planejada para esses compostos.

Essas modificações são facilmente observadas uma vez que, a 1,4Naftoquinona é uma molécula que apresenta simétrica em sua estrutura, por isso nos RMN^1H e RMN^{13}C é possível observar tal simetria visto que os picos de identificação da molécula aparecem na mesma região por apresentarem o mesmo ambiente químico. A substituição modifica a estrutura uma vez que os átomos passaram atuar em ambientes químicos diferentes, e deixam assim de apresentar uma simetria anteriormente observada em seus diferentes deslocamentos

químicos do espectro. Outra observação importante é a apresentação do hidrogênio Hb que no RMN da 1,4 Naftoquinona esta no deslocamento químico de 6,97 ppm, como um dubleto, e para o derivado o deslocamento químico é de 5,69 ppm, apresentando-se como um singlete. Além do aparecimento de outros picos num campo mais forte do que os observados da Naftoquinona. O aparecimento do deslocamento químico referente ao H (N-H) do substituinte N-alquil que fica a 7,25 ppm, em forma de um singlete.

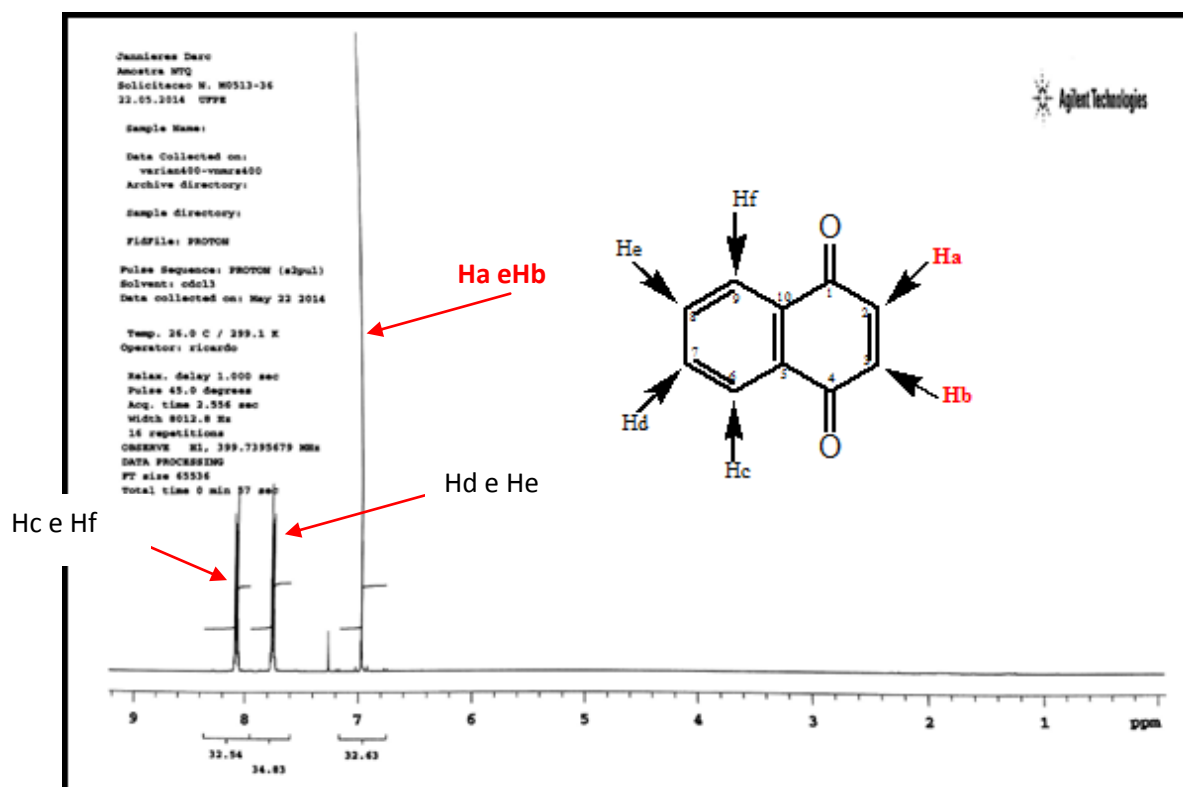


Figura 34: Espectro de RMN de ^1H da Naftoquinona **1**

Na Naftoquinona os picos do hidrogênio são bem específicos estando localizados num deslocamento químico entre 6,9 ppm a 8,2 ppm do espectro, não existindo picos com deslocamento químico entre 1 ppm e 6,8 ppm. Porém nos espectros dos derivados aparecem picos mais distintos por estarem situados em ambientes químicos diferentes que passa a existir picos com deslocamento químico entre 1,0 ppm a 8,0 ppm, e principalmente a confirmação das substituições se da ao aparecimento dos picos de hidrogênio referente aos CH_2 das moléculas do substituintes utilizado.

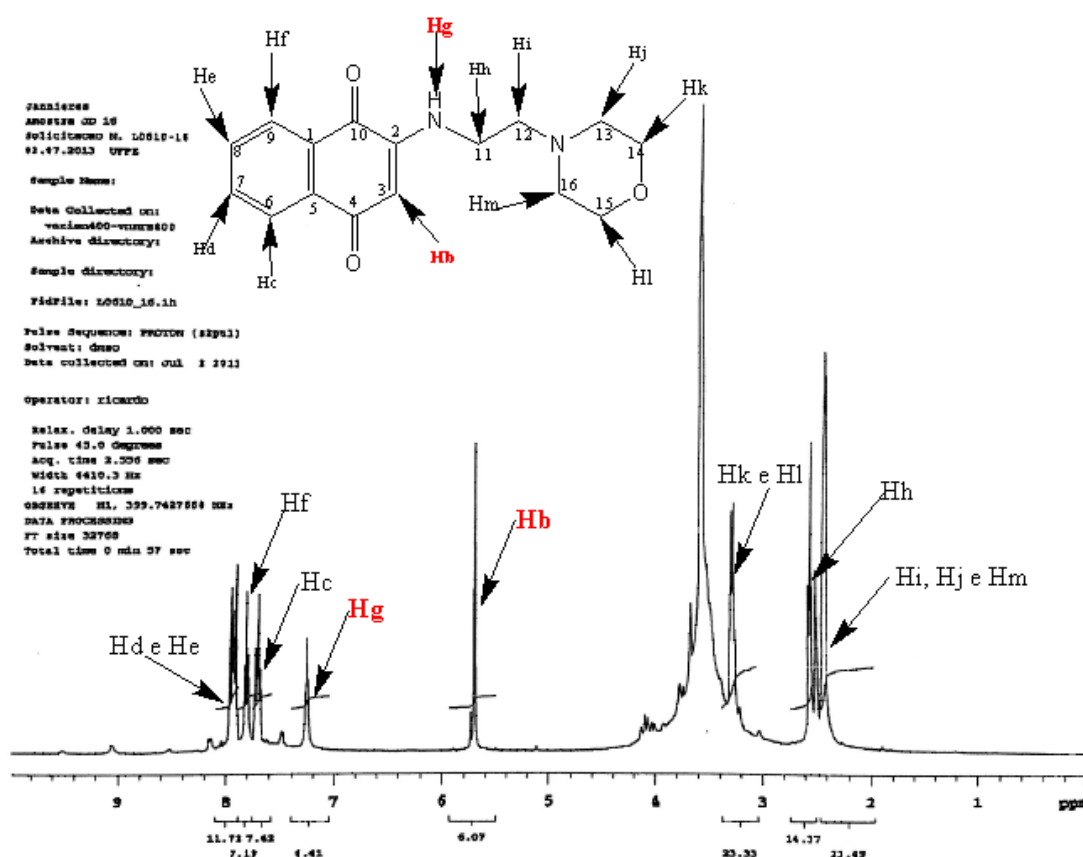


Figura 35: Espectro de RMN de ^1H da Substância **1b**

5.1.1.3 Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ^{13}C) da 1,4 Naftoquinona e seu derivado:

No espectro de RMN ^{13}C da 1,4 Naftoquinona, foi observado a presença de carbonos com picos com deslocamentos químicos em 184,97 ppm característicos das carbonilas quinônicas (C1 e C4), assim como os picos em deslocamento químico de 131,87 ppm característicos dos carbonos quaternários (C5 e C10) e os carbonos terciários em deslocamento químico de 133,88 (C2 e C3), 126,37 (C6 e C9) e 138,63 (C7 e C8). Referentes a estrutura química vista na (Figura 30).

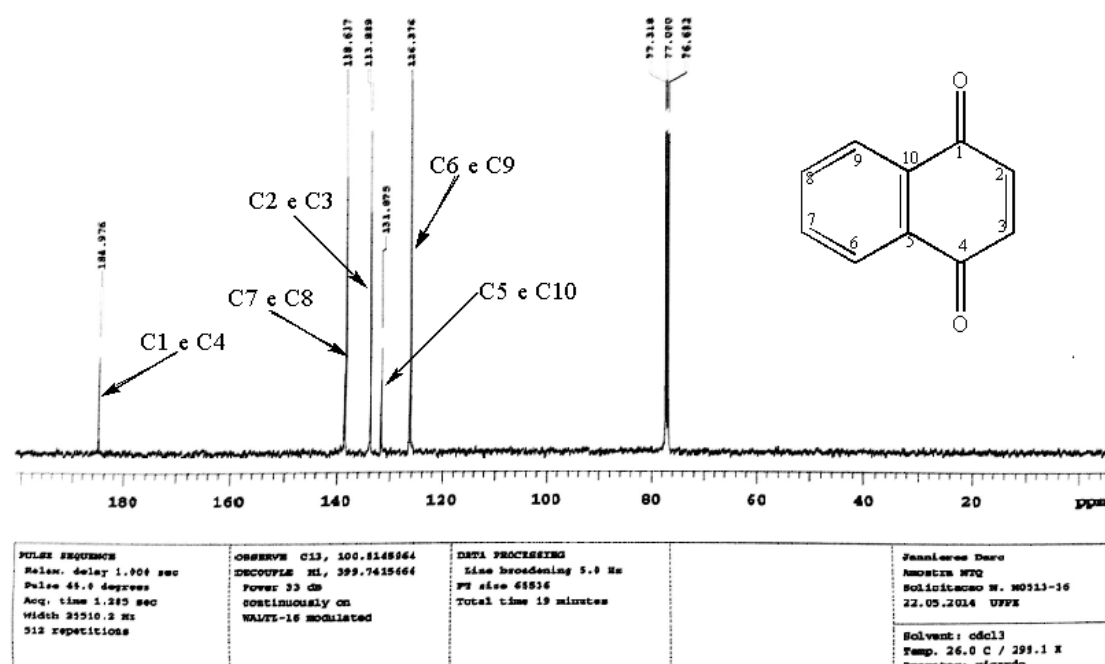


Figura 36: Espectro de RMN de ^{13}C da Naftoquinona **1**

Ao analisar o RMN de ^{13}C da 1,4 Naftoquinona, foi possível observar a simetria da molécula, uma vez que os 10 carbonos na molécula em 5 picos, cada um com dois carbonos que apresentam o mesmo deslocamento químico. A confirmação de que a substituição foi bem sucedida pela análise do RMN de ^{13}C é observando o deslocamento químico do carbono C2, (**Figura 34**), apresentava o mesmo deslocamento químico que o C3 em 133,88 ppm e (**Figura 35**), espectro RMN ^{13}C do composto **1b** esta na faixa de 148,75 ppm caracterizando a substituição nesse carbono. Assim como o aparecimento dos picos referente ao substituinte dos diferentes derivados 2-amino substituídos da 1,4-naftoquinona.

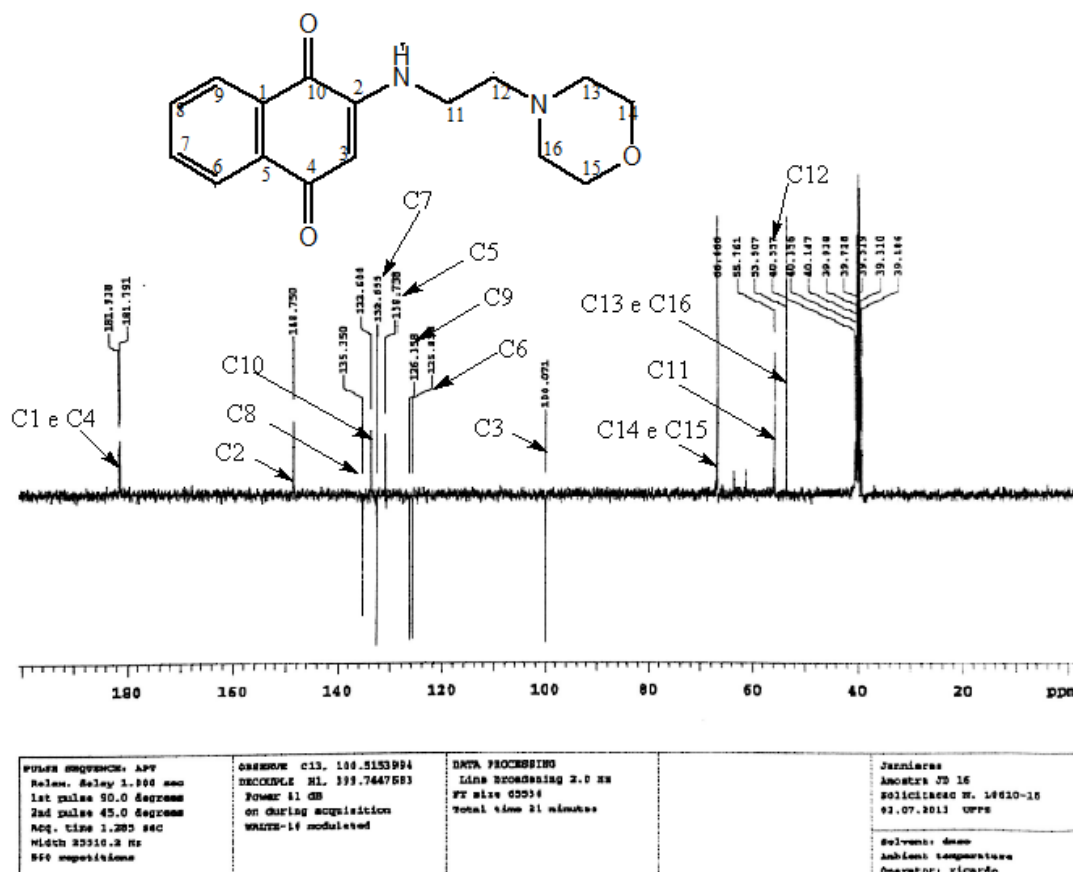


Figura 37: Espectro RMN ^{13}C da Substância **1b**. Em RMN ^{13}C APT, os solvente DMSO e CHCl_3 não solubiliza, aparecendo no espectro.

5.1.1.4 Análises de espectrofotometria de absorção no Infravermelho (IV) da 2 metil 1,4 Naftoquinona e seu derivado:

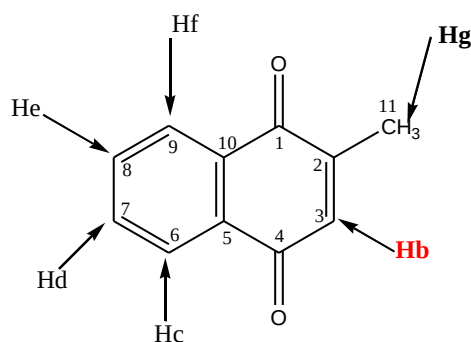


Figura 38: Estrutura química da 2-metil-1,4- Naftoquinona

Na análise do espectro de infravermelho da 1,4 Naftoquinona é possível observar as bandas de absorção da região de 1.665 cm^{-1} que correspondem a presença das carbonilas, e

banda de absorção em $1.593,89\text{ cm}^{-1}$ do C-C aromático, banda de absorção $1.301,26\text{ cm}^{-1}$ que correspondem ao CH_3 e a banda de absorção em 780 cm^{-1} referente a deformação angular C-H.

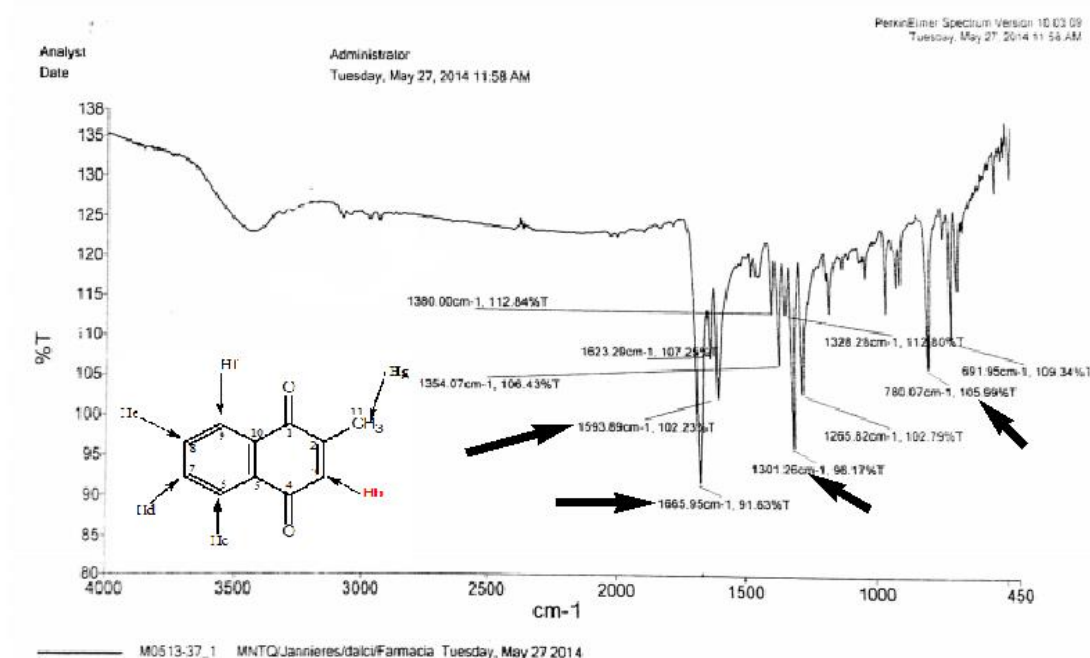


Figura 39: Espectro de Infravermelho da 2 metil 1,4 Naftoquinona 1

Para os diferentes derivados dessa serie, foram observadas aabsorção na região de $3.310\text{ cm}^{-1} - 3.350\text{ cm}^{-1}$, as quais são atribuídas as vibrações de deformação axial de N-H, uma vez que as aminas secundárias mostram uma única banda fraca, entre 3.350 e 3310 cm^{-1} (SILVERSTEIN, 2007). Bandas de absorção na região de 1.644 cm^{-1} do estiramento das carbonilas, 1.596 cm^{-1} da banda de estiramento do C=C, 1.492 cm^{-1} da absorção de tiocarbonilados ligados a N. A confirmação da presença do CH_3 está nas bandas de absorção $1.383,84\text{ cm}^{-1}$ e $1.450,78\text{ cm}^{-1}$, já que a vibração de deformação angular simétrica (CH_3) ocorre próximo de 1.375 cm^{-1} , e a deformação angular assimétrica (CH_3), próxima de 1.450 cm^{-1} e em torno de 2.980 cm^{-1} . (SILVERSTEIN, 2007). Apesar disto, região entre $1.383,84\text{ cm}^{-1}$ e $1.450,78\text{ cm}^{-1}$ e tida como uma região de impressão digital, de bandas fracas, não é diagnóstico, mas sim o fato de esta antes de 3.000 cm^{-1} .

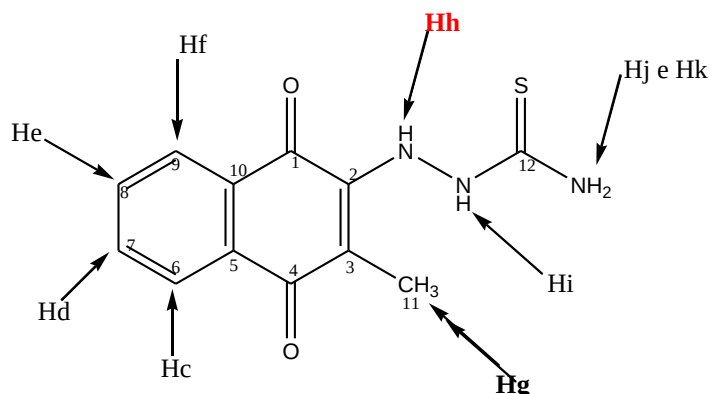


Figura 40: Estrutura química da Substância **2f**

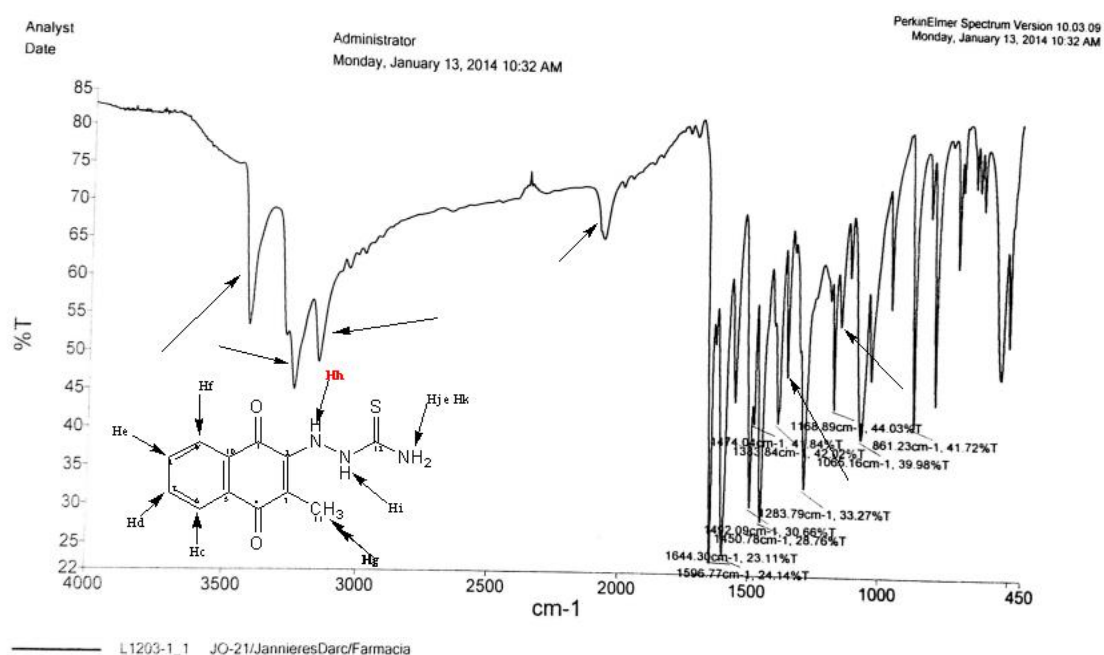


Figura 41: Espectro de Infravermelho da Substancia **2f**

5.1.1.5 Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) da 2 metil 1,4 Naftoquinona e seu derivado:

Para os derivados da 2-metil-1,4 Naftoquinona **2**, observa-se que o pico que aparece num deslocamento químico em 2,82 ppm correspondente aos hidrogênios **Hg**, hidrogênios presentes no metil, e em 6,82 ppm o hidrogênio corresponde ao **Hb**, onde é possível comparar com o hidrogênio localizados na mesma posição moléculas **1** e **1b**, onde na molécula **1** esse hidrogênio aparecia num deslocamento químico em 6,97 ppm e na molécula **1b** em torno 5,69 ppm. A confirmação da substituição no carbono 2 do nucleo central da 1,4 naftoquinona, muda o ambiente químico dos demais átomos da molécula, e com isso apresentando esses

diferentes picos referente aos hidrogênios adicionais a molécula com deslocamentos químicos próximos as posição nas três moléculas descritas anteriormente.

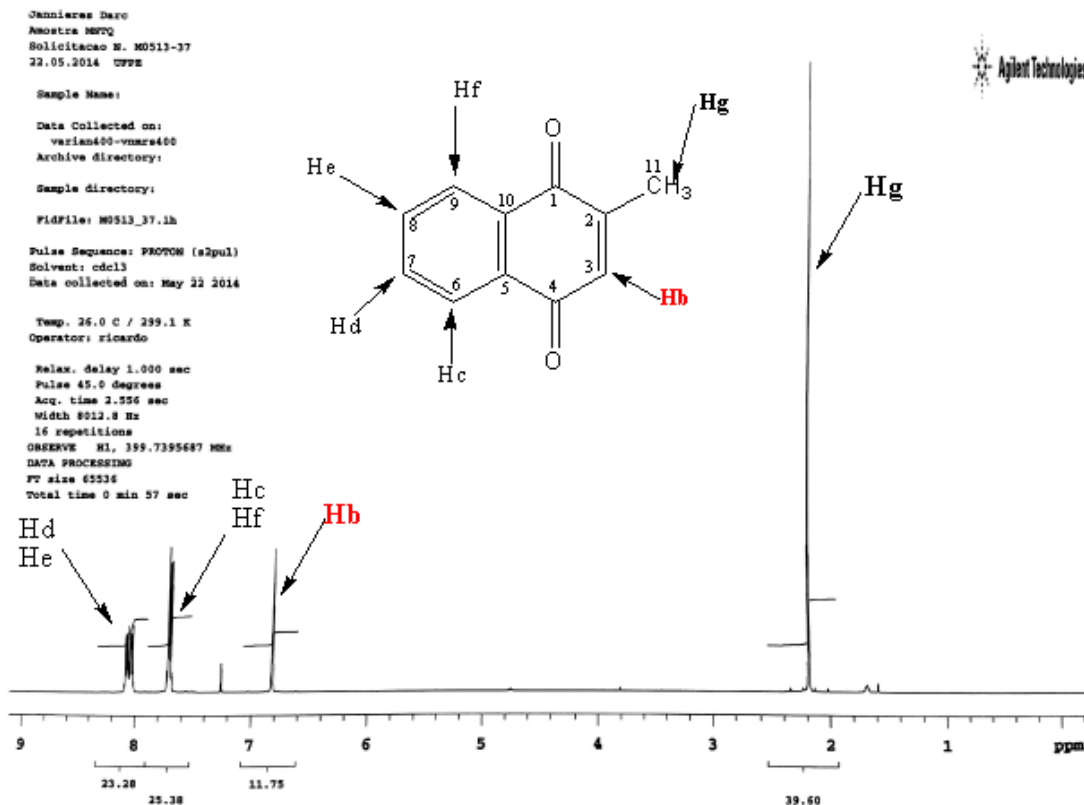


Figura 42: Espectro de RMN de ^1H da 2-metil-1,4- Naftoquinona **2**

No espectro dos derivados da 2 metil 1,4 Naftoquinona é possível observar o desaparecimento do pico em 6,82 ppm, que caracteriza a presença do hidrogênio Hb e o aparecimento do pico em 8,80 ppm do hidrogênio Hh (N-H), ligado ao nitrogênio do substituinte amino. Os hidrogênios Hj e Hk (NH₂), aparecem em posições diferentes por serem rotâmeros.

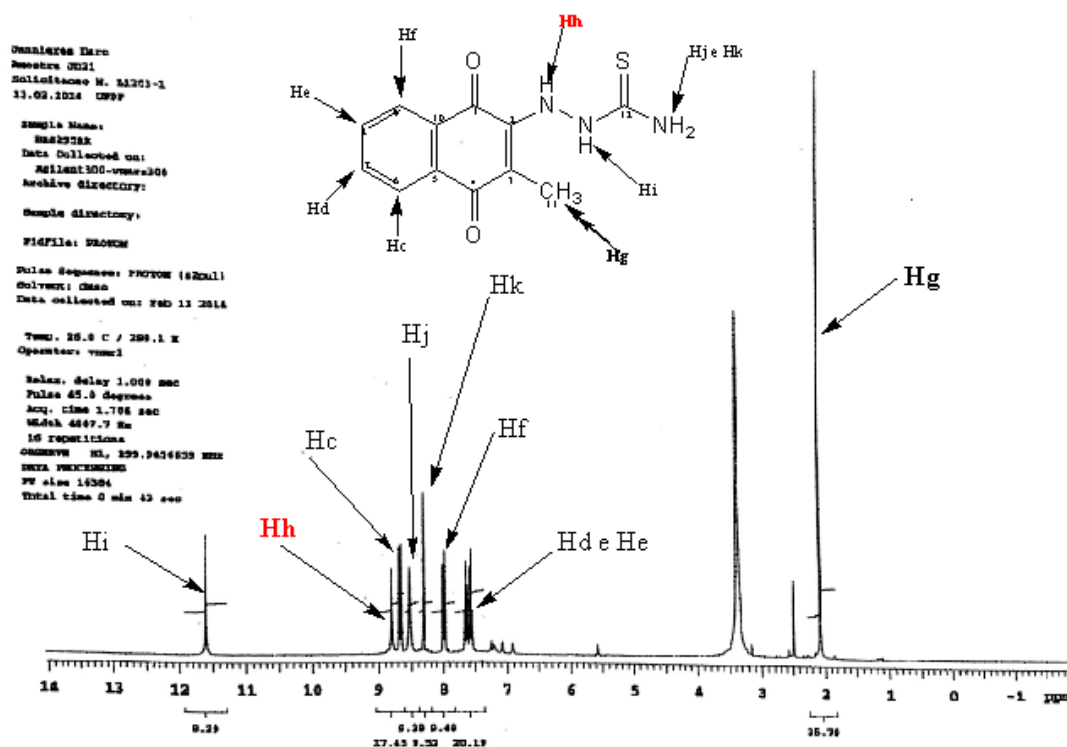


Figura 43: Espectro de RMN de ^1H da substância **2f**

5.1.1.6 Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ^{13}C) da 2 metil 1,4 Naftoquinona e seu derivado:

No RMN ^{13}C da 2 metil 1,4 Naftoquinona, quando comparado ao da 1,4 Naftoquinona, que é uma molécula totalmente simétrica, pode se observa que a inserção de um metil ao carbono C2, alterou o deslocamento químico de toda a molécula passando a não apresentar mais faixas de deslocamento de carbonos na mesma posição. Característica essa que também foi observada nos derivados 2 amino 1,4 naftoquinona.

Na 2 metil 1,4 Naftoquinona, foi observado os picos com deslocamentos químicos de 184,914 ppm, para o C1, 185,488 ppm, para o C4, e picos característico da Naftoquinona que correspondem as carbonilas, os carbonos C2 e C3 aparecem em 148,117 ppm e 135,624 ppm respectivamente, aparecendo em ambientes químicos diferentes quando comparadas a 1,4 Naftoquinonas, isso devido a presença do carbono C11, com deslocamento químico de 16,417 ppm, ligado ao carbono C2.

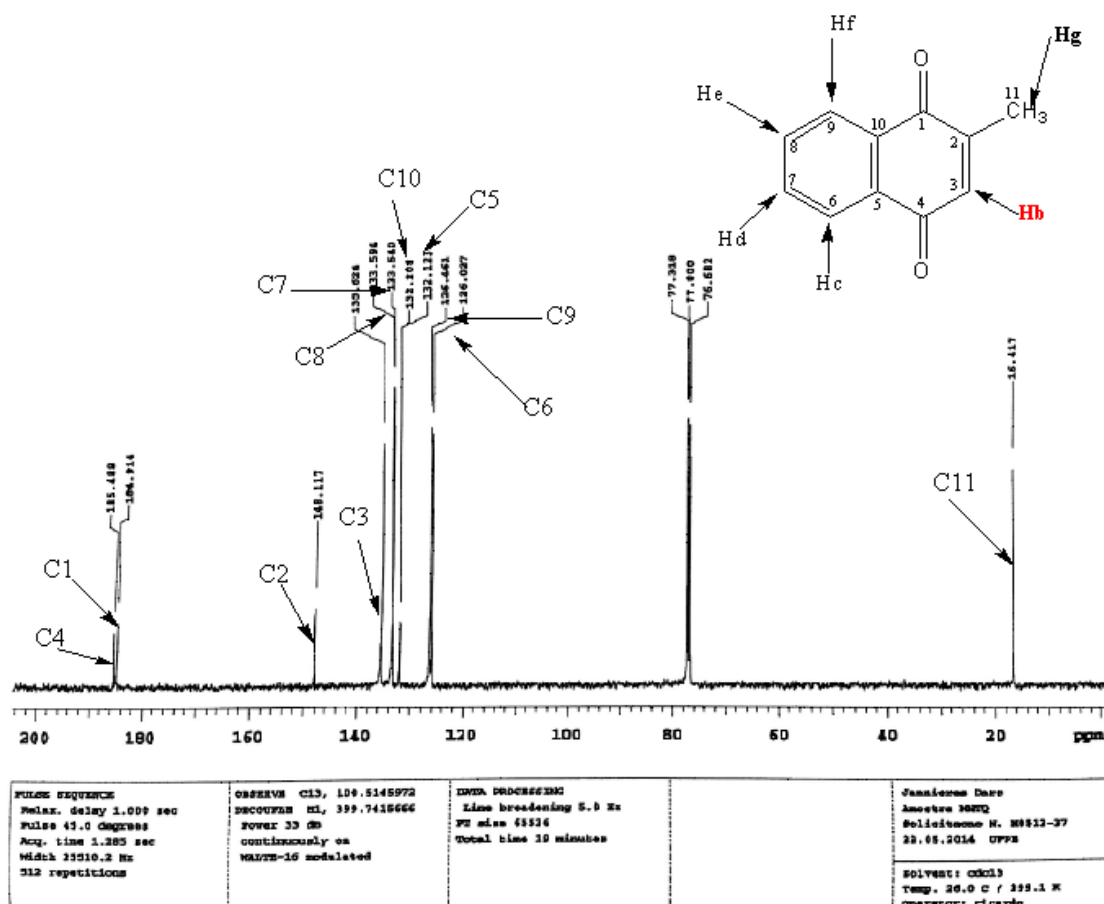


Figura 44: Espectro de RMN de ^{13}C da 2 metil 1,4 Naftoquinona

A confirmação de que ocorreu a substituição é a visualização do aparecimento dos picos referente a este substituinte, confirmando assim a obtenção dos diferentes derivados 2-amino substituídos da 2-metil-1,4-naftoquinona, vistos na **Fig. 31**, a seguir.

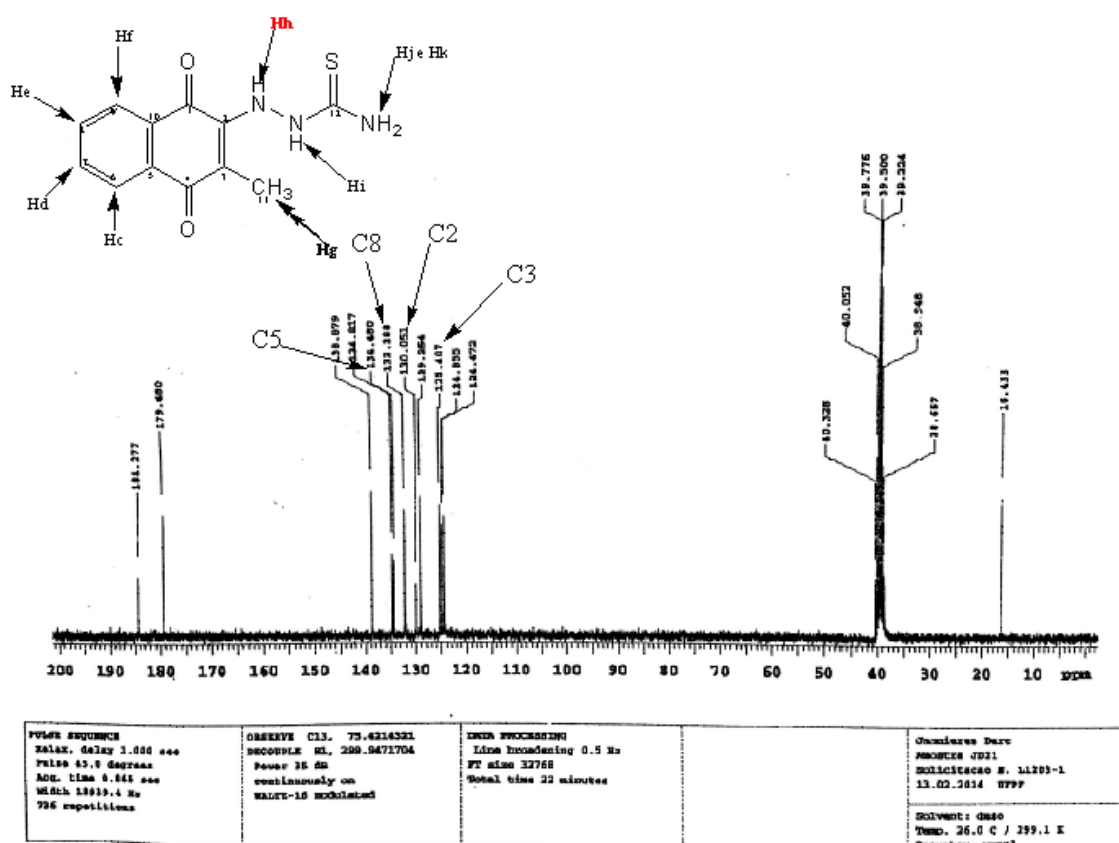


Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C da substância 2f

De acordo com esses dados, pode-se confirmar que a modificações estruturais das Naftoquinona, **1e 2**, para a obtenção de seus diferentes derivados, foram realizadas com sucesso.

Os deslocamentos químicos observados para os compostos destas séries estão de acordo as suas estruturas e estas em consonância com os dados da literatura de Robert M. Silverstein *et al*, 2007.

5.2 NA OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA ALDOXIMAS

Os derivados foram obtidos através de uma metodologia descrita por J.-T. Li em 2006, no qual foi realizado a condensação dos compostos carbonílicos cloridrato de hidroxilamina em ultrassom. Trata-se de uma metodologia simples, barata e com pouco tempo reacional. Inicialmente foi feita a solução da hidroxilamina cloridrato em água destilada e a solução do aldeído correspondente em etanol. As duas soluções foram misturadas em um tubo de ensaio e colocadas no ultrassom. A reação foi acompanhada por CCD e após o termino a reação foi

rotaevaporada para tirar o etanol antes da extração com Diclorometano. Isso por que, álcoolcom menos de 4 carbonos são miscíveis em água.

A purificação foi feita por recristalização água/etanol, inicialmente colocou-se o produto e água sob agitação e aquecimento, ao atingir 60°C começou a ser adicionado etanol aos poucos até a solução ficar límpida, sabe-se que o produto é solúvel em etanol e insolúvel em água, o etanol vai ficar miscível na água e vai facilitar o solubilização do produto, e conforme a solução for esfriando os cristais precipitam por serem insolúveis naquela solução água/etanol.

O procedimento reacional e a purificação foram realizados sem nenhuma dificuldades, metodologia simples, rápida, econômica e de fácil reprodução, mas nenhum dos intermediários reacionais foram elucidados, (**Figura46**) a seguir.

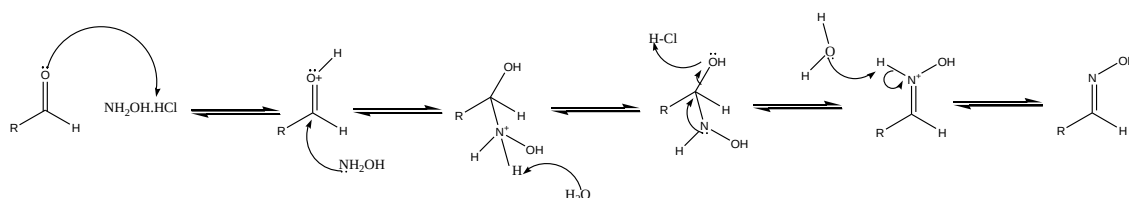


Figura 46: Proposta de mecanismo da síntese dos derivados aldoximas

5.3 NA OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA CICLOADIÇÃO DA 1,4 NAFTOQUINONA COM ALDOXIMAS :

Os derivados foram obtidos através de uma metodologia semelhante a descrita por A. Bargiotti em 2012, esse pesquisador descreveu uma reação entre a solução feita pela 1,4 Naftoquinona, trietilamina e hipoclorito de sódio a 15% a solução da oxima em diclorometano que foi adicionado, gota a gota, a 0 °C, em agitação, durante 1,5 h. Essa reação descrita foi adaptada já que a mesma não teve bons rendimentos utilizando o hipoclorito de sódio. Esta adaptação foi no lugar do hipoclorito, onde este foi substituído por uma solução do ácido tricloro-isocianúrico, utilizado por Rodrigues e Aguiar em 2001, na síntese de ciclo adição para obtenção de derivados isoxazolinás. Cunha em 2006, descreveu que a solução do ácido tricloro-isocianúrico em água ocorre a liberação de hipoclorito no meio reacional. Com base na referência supra citadas, foi realizada conforme o descrito por Bargiotti em 2012, com a troca do Hipoclorito por ácido tricloro-isocianúrico, em método tradicional e a 0°C, que não reagiu, por isso se fez necessário variar determinados parâmetros para termos sucesso na cicloadição. Repetiu-se a reação alterando a temperatura, que antes era

JANNIERES DARC DA SILVA

0°C, para temperatura ambiente, aproximadamente 28°C, também não reagiu. Repetiu-se a reação alterando do método convencional em chapa aquecedora e agitação para ultrassom temperatura ambiente aproximadamente 30°C, isso devido ao leve aquecimento da água devido a sonicação, não reagiu. Repetiu-se novamente a reação pelo método convencional alterando dessa vez o solvente, antes utilizava o diclorometano (Peb. 40°C) para Cloroformio (Peb. 61°C), para efetuar a reação com aquecimento. A reação então foi aquecida a 50°C e reagiu, a CCD apresentou um novo ponto e diferente dos reagentes utilizados, onde a reação ficou por 24h, nesta temperatura e não apresentou alteração desse ponto formado. Utilizando clorofórmio, como solvente, repetiu-se a reação em ultrassom, a temperatura de 60°C, temperatura de aquecimento do aparelho de ultrassom que é de 60°C, podendo ter um leve aquecimento adicional, a sonicação, onde ficou reagindo por 2:30h (a reação era acompanhada a cada 30 mim por CCD), mas ainda neste tempo reacional restava um pouco de reagente visto pela CCD, onde aparecia um ponto claro que caracterizava ainda presença de reagentes. Para ver se a reação se processava por completo foi acrescentado mais 30 mim de reação, mas o produto se degradou, por isso de que a reação foi preservada como tempo reacional de 2:30h. O mesmo procedimento realizado em ultrassom foi refeito em Micro-ondas em condições de temperatura 80°C e potência de 100W, a reação procedeu da mesma forma que aconteceu em Ultrassom em um tempo de 2:30 h, nas primeira 2h estava sendo feita uma CCD a cada 30 mim, após isso a cada 15 mim, a reação apresentou as mesmas características das que foram vistas em ultrassom. Por não apresentar diferença entre a síntese em ultrassom e micro-ondas, nestas condições, as demais reações foram realizadas em ultrassom.

A purificação foi feita por recristalização e placa preparativa cromatográfica. Os produtos apresentavam na CCD um ponto na base, local de aplicação, um arraste da base ao ponto, e ainda a presença dos resquícios de reagentes. O processo de recristalização foi realizado com a mistura de dois solventes, mas não foi obtido sucesso. Para realização da purificação dessas substâncias por placa preparativa, apresentaram algumas dificuldades, além do arraste, produtos e reagentes, estavam juntos em uma mesma mancha, só foi possível separar a impureza da base, após a segunda placa preparativa foi possível separar o ponto do produto, que foi armazenado em geladeira. Deve-se tomar cuidado, por que tempo de exposição desse produto a temperatura ambiente e a luz pode favorecer a sua degradação. Após o solvente ser rotineiramente evaporado, o produto foi secado ainda sob vácuo, mesmo assim foi possível observar que em algumas partes do balão o produto estava mudando da coloração

bordô para um preto, foi feita outra CCD e observou-se não só a presença do produto, mas também dos reagentes e decomposições.

O principal problema enfrentado nesta fase foi, a instabilidade apresentada pelo composto, dificultado a sua purificação e requerendo uma maior atenção e cuidado durante a sua preparação, manuseio e armazenamento.

5.3.1 Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) do derivado da cicloadição da 1,4 Naftoquinona com aldoximas:

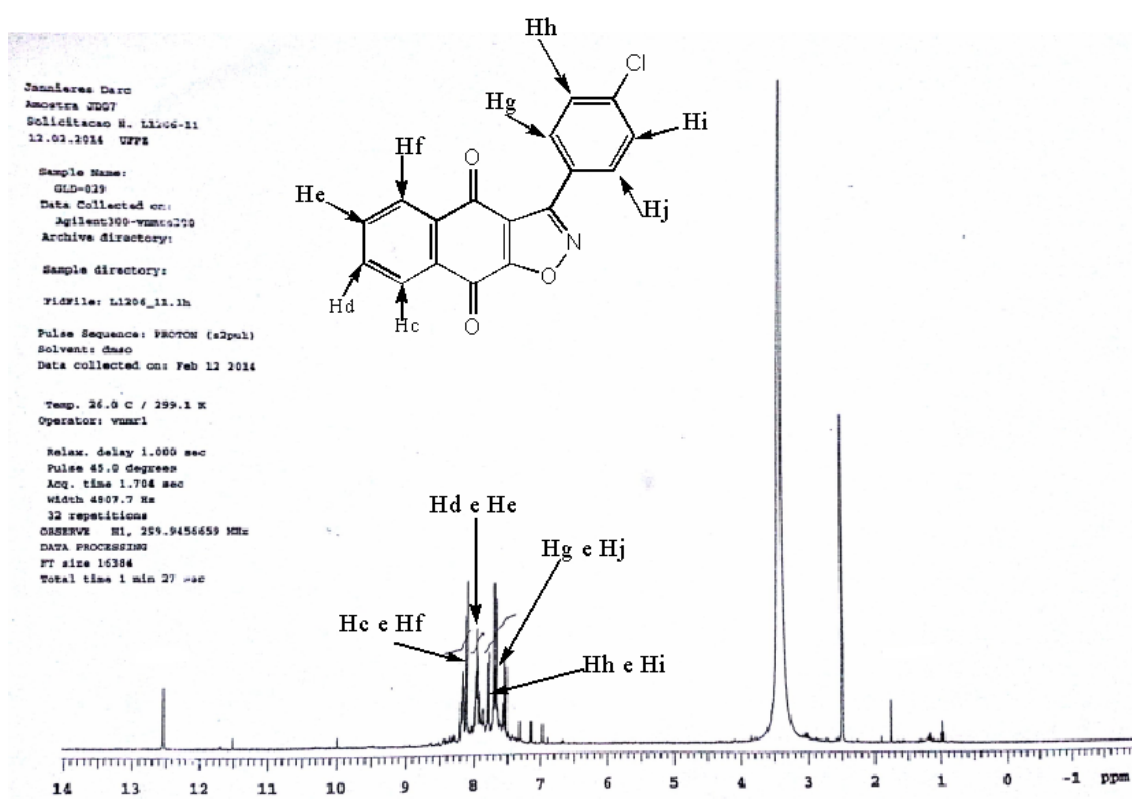


Figura 47: Espectro de RMN de ^1H do derivado da cicloadição da 1,4 Naftoquinona com aldoximas **4b**

No espectro dos derivados da cicloadição da 1,4 Naftoquinona com aldoximas é possível observar o desaparecimento dos picos em 6,97 ppm, que caracteriza a presença do hidrogênio Ha, Hb em dubletos, (**Figura 34**), e o aparecimento dos picos correspondentes aos hidrogênios do substituinte.

5.4 OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA 1,4-ACETILAÇÃO-2-ACETOXILAÇÃO DAS NAFTOQUINONAS:

Os derivados foram obtidos através de uma metodologia simples, barata e com pouco tempo reacional. Trata-se de uma reação de acetoxilação entre a Naftoquinona e o anidrido acético catalisado por ácido Sulfúrico. Inicialmente a Naftoquinona foi solubilizada em anidrido acético e posteriormente foi adicionado o H_2SO_4 , como catalisador, a reação foi mantida sob agitação e aquecimento a temperatura de $70^\circ C$, durante aproximadamente 7 horas de reação e foi acompanhada por CCD. Após este tempo reacional e confirmado por CCD que a reação estava concluída, foi realizada a neutralização, acompanhada por fita de pH, com uma solução de hidróxido de sódio a 50%. Depois da neutralização foi realizada extração com Clorofórmio, secado com sal de sulfato e depois rota evaporado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PARTE BIOLÓGICA

5.5 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS DERIVADOS DA NAFTOQUINONA

Após a obtenção dos derivados da Naftoquinona, purificados e elucidados, estes foram submetidos à análise de suas atividades biológicas. Os testes realizados foram; determinação da atividade antitumoral, bem como, avaliação da atividade antibacteriana.

A modificação estrutural da Naftoquinona, com diferentes substituintes amino alquilados purificados e elucidados, foram a maioria das moléculas inéditas (sendo 5 inéditas e 4 não inéditas), para a obtenção de derivados da cicloadição com aldoximas, 3 foram inéditas mas uma purificada, elucidada e inédita, mas, aquelas não inéditas, todas elas foram sintetizadas com metodologia diferente das normalmente vistas na literatura, e quanto aos ensaios biológicos que os mesmos foram submetidos não são relatados na literatura.

A maioria das publicações a cerca das atividades biológicas de derivados da Naftoquinona, são em sua maioria em derivados do Lapachol, alfa-lapachona, benta-lapachona e lausona (2-hidroxi-1,4-Naftoquinona). Desta forma as análises realizadas neste estudo servirão para enriquecer ainda mais as informações sobre este fármaco, possibilitando traçar um melhor perfil farmacológico sobre Naftoquinonas e mais precisamente dos seus novos derivados 2-Amino-1,4-Naftoquinanas.

5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS DERIVADOS DA NAFTOQUINONA

Atualmente a terapia antimicrobiana torna-se um desafio, devido ao uso abusivo dos agentes antibacterianos, acarretando no desenvolvimento de resistência de diversos micro-organismos. Segundo Andrea Massunari 2007, mortes associadas a infecções bacterianas variam de 12% a 81% no mundo, dependendo das condições e particularidades dos tipos de pacientes e tratamentos utilizados, observando-se que a elevação das taxas de mortalidade está associada, fundamentalmente, ao aumento do espectro de resistência dos patógenos.

Devido a esses fatores a pesquisa por novos agentes antimicrobianos, torna-se uma questão de urgência médica. Desde a introdução dos antimicrobianos naturais como as penicilinas, bem como os semi-sintéticos, em meados do século XX, a crescente ineficácia dessas drogas sobre os micro-organismos mais resistentes se tornou um desafio de saúde pública (TRABULSI; 2002).

Cerca de 50% a 87% das infecções hospitalares, têm como agente responsável o *Staphylococcus aureus*, sendo que em 16% a 43% dos casos os pacientes evoluem para o óbito em função do amplo espectro de resistência deste microrganismo (MASUNARI; 2005). Devido à natureza mais complexa, as bactérias Gram negativas são mais resistentes à ação de antibióticos, que não são capazes de cruzar efetivamente esta barreira lipídica. Para ter acesso à célula bacteriana, os antibióticos devem cruzar a parede celular através de canais proteicos de purina, embebidos na estrutura lipídica, que apresentam o interior com características hidrofílicas. Assim, antibióticos com maior atividade frente a bactérias Gram negativas são aqueles que apresentam grupos ionizáveis em suas estruturas químicas, justamente para favorecer esta invasão celular na bactéria (GUIMARÃES et al.,2010).

Inserido neste contexto, o número de pesquisas que exploram novos agentes antimicrobianos torna-se cada vez mais crescente, e grupos farmacofóricos como o núcleo Naftoquinônico tem sido um deles. A descoberta de propriedades tão nobres a respeito de Naftoquinonas naturais e seus derivados sintéticos impulsionaram a busca por novas estruturas que apresentassem atividades biológicas mais seletivas a estes males (BARBOSA et al. , 2005).

Dentro deste contexto a nova série de derivados da Naftoquinona foi avaliada, quanto sua ação antimicrobiana.

5.6.1 Metodologia da Avaliação da Atividade Antimicrobiana dos Derivados da Naftoquinona

Para a análise da atividade antimicrobiana dos derivados da Naftoquinona, foram utilizados o método de difusão em discos de papel.

5.6.1.1 Método de difusão em discos de papel

Neste método, os discos contendo concentrações 50µL dos compostos sintetizados em Dimetilsulfóxido (DMSO) , veículo, foram colocados na superfície de uma placa de ágar, onde uma suspensão padronizada dos micro-organismos em teste foi inoculada. As suspensões dos micro-organismos testes foram padronizadas através da escala de McFarland com turbidez correspondente a 0,5, equivalente a $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias por mililitros (UFC/mL).

Discos de papel contendo apenas o solvente DMSO foram utilizados como controles negativos. As placas foram levadas a estufa durante 24h e 48h à temperatura de 30°C e 37°C e após o período de incubação mediram-se os halos de inibição em milímetros (mm). O halo de inibição será considerado a área sem crescimento detectável a olho nu. A zona média de inibição (ZMI) para 1,4 Naftoquinona e 2-metil-1,4 Naftoquinona foi utilizada como valor de referência, como controle positivo. Os experimentos foram realizados em triplicata, e repetidos se os resultados apresentassem alguma divergência (BAUER AW; 1966).

5.6.2 Resultados e Discussão

A análise dos diferentes compostos obtidos frente a micro-organismos em teste de determinação da ZMI, onde foram obtidos os seguintes resultados na (Tabela 1).

Tabela 1. Determinação da ZMI, dos derivados sintetizados

CEPAS	ZONA DE INIBIÇÃO (mm)					
	02	86	224	416	699	1007
SUBSTÂNCIAS						
<u>1</u>	35 ; 37	42 ; 37	16 ; 17	13 ; 11	35 ; 34	20 ; 26
<u>1a</u>	20 ; 21	21 ; 21	18 ; 11	-- ; --	18 ; 22	18 ; 20
<u>1b</u>	19 ; --	17 ; 18	-- ; --	-- ; --	-- ; --	16 ; 24
<u>1c</u>	20 ; 20	18 ; 9	-- ; --	-- ; --	-- ; --	12 ; 22
<u>1d</u>	-- ; --	-- ; --	-- ; --	-- ; --	-- ; --	18 ; 14
<u>1e</u>	13 ; 15	13 ; 15	-- ; --	-- ; --	-- ; --	19 ; 24
<u>2</u>	55 ; 53	45 ; 45	-- ; --	-- ; --	60 ; 56	30 ; 31
<u>2c</u>	12 ; 13	14 ; 14	-- ; --	-- ; --	11 ; 13	16 ; 17
<u>2d</u>	28 ; 24	28 ; 30	-- ; --	-- ; --	33 ; 30	12 ; 13
<u>2e</u>	18 ; 18	14 ; 14	-- ; --	-- ; --	-- ; --	11 ; 17
<u>2f</u>	11 ; --	-- ; --	10 ; --	-- ; --	-- ; --	18 ; 23
<u>4a</u>	18 ; 19	15 ; 17	-- ; --	-- ; --	13 ; 13	15 ; 15
CONTROLE	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Tabela 1. Os valores representam os Halos de inibição (mm) do crescimento dos micro-organismos comparados aos seus controles positivo 1,4-Naftoquinona (**1**) e 2-metil-1,4-Naftoquinona (**2**), e negativo DMSO.

CEPAS	MICRO-ORGANISMOS	
02	<i>Staphylococcus aureus</i>	B. Gran +
86	<i>Bacillus subtilis</i>	B. Gran +
224	<i>Escherichia coli</i>	B. Gran -
416	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B. Gran -
699	<i>Staphylococcus aureus</i> OSAR	B. Gran +
1007	<i>Candida albicans</i>	Fungo

Tomando como padrões a substância **1** (1,4 Naftoquinona) e substância **2** (3 metil 1,4 Naftoquinona), observa-se que os compostos sintetizados mostraram-se bastante ativos. As substâncias **1a**, **1b**, **1c**, **1e**, **2c**, **2d**, **2e** e **4a**, mostraram-se ativas para bactérias Gram positivas

Staphylococcus aureus e *Bacillus subtilis* além do fungo *Candida albicans*, fungo qual todas as cepas, com exceção da **2d** apresentaram atividade, porém essa atividade é menor que a do protótipo. As substâncias **1a**, **2d** mostraram atividade frente a bactéria resistente *Staphylococcus aureus* OSAR, porém menor que o padrão. A substância **1a** mostrou-se ativa em bactérias Gram positivas e bactérias Gram negativas, assim como no fungo testado.

5.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICÂNCER DOS DERIVADOS DA NAFTOQUINONA

O câncer é um conjunto complexo de doenças genéticas distintas, unidas por características comuns, como potencial proliferativo ilimitado, autossuficiência nos sinais de crescimento e resistência aos sinais antiproliferativos e apoptóticos (LUO, SOLIMINI, ELLEDGE, 2009).

Considerado como a segunda causa de morte no mundo, o câncer ganha relevância pelo perfil epidemiológico que vem apresentando. Assim, a Organização mundial de saúde (OMS) estimou para o ano de 2030 a ocorrência de 27 milhões de novos casos, com 17 milhões de mortes. No entanto, anualmente são registrados 75 milhões de pessoas vivas com câncer, onde os países mais afetados são os de baixa e média renda (INCA, 2012).

O combate ao câncer envolve a descoberta dos processos bioquímicos que levam a célula a se modificar e se tornar neoplásica, assim como as formas de induzir esta célula a sofrer morte celular. O processo de morte celular tem um papel fundamental no tratamento de várias doenças, pois é através da modulação das vias de morte que vários fármacos promissores estão sendo desenvolvidos para doenças como o câncer, doença isquêmica e doença neurodegenerativa. Os mecanismos complexos que controlam a morte celular estão sendo melhor compreendidos, o que torna cada vez mais evidente que diferentes vias de morte celular têm um papel crítico em múltiplas doenças, inclusive o câncer (KEPP, 2011).

A maioria dos quimioterápicos usados na terapêutica foi selecionada por sua capacidade de controlar a proliferação celular (DE ALMEIDA et al, 2005). Entretanto, recentemente, foram identificados fármacos com atividade específica contra alguns mecanismos metabólicos da célula tumoral.

A atividade citotóxica dos compostos Naftoquinônicos é descrita por diferentes mecanismos, sabe-se que parte do mecanismo envolve a geração de espécies reativas de

oxigênio (EROs) induzidas pela biorredução do núcleo quinônico por enzimas específicas e oxigênio (BENITES et al., 2008). Algumas quinonas atuam no processo de inibição das topoisomerasas, afetando diretamente o “complexo” topoisomerase-DNA e, conseqüentemente, induzindo a apoptose (PLYTA, 2003).

Constantes pesquisas na indústria farmacêutica visam obter drogas cada vez mais específicas e com menos efeitos deletérios sobre o corpo. Neste contexto, a modificação molecular surge como uma importante ferramenta para elaboração de novos candidatos a fármacos antitumorais, visando à diminuição de resistência e inibição significativa do crescimento do tumor.

Levando em consideração a necessidade mundial por novos agentes antitumorais foi realizada a investigação do potencial antitumoral destas novas séries de derivados da Naftoquinona.

5.7.1 Citotoxicidade *in vitro* dos Derivados da Naftoquinona.

Para o estudo em questão, as linhagens tumorais utilizadas, HL-60 (Leucemia promielocítica), HEP2 (carcinoma laríngeo humano), MCF-7 (Adenocarcinoma) e NCI H-292 (câncer de pulmão– humano), foram obtidas do Banco de células do Rio de Janeiro, tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640 ou DMEN, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂. As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril e testadas na concentração de 25 µg/mL para substâncias puras e 50 µg/mL para extratos ou frações.

A avaliação dos efeitos citotóxicos dos derivados da Naftoquinona foi realizado através do teste do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium). Este teste se baseia na capacidade da enzima do ciclo de Krebs succinato desidrogenase ativa nas mitocôndrias de células viáveis em converter o sal tetrazolium MTT que é hidrossolúvel e de cor amarelada, em cristais de formazan, que são de cor púrpura.

Análise de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN, 1990). É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal tetrazolium

(MTT) em azul de formazan. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (MOSSMAN,1983).

As células tumorais (HL60, NCI-H292, HEP-2 e MCF-7) foram semeadas (2×10^5 células x poço⁻¹) em placas de 96 poços. Em seguida as substâncias previamente dissolvidas em DMSO, foram diluídas em série no meio DMEM para obtenção das concentrações (0,039 - 25µg/mL⁻¹) e adicionadas em placas de 96 poços (100 µL. Poço⁻¹). A beta Lapachona, assim como os protótipos, 1,4 Naftoquinona e 3Metil 1,4 Naftoquinona foram utilizadas como padrão. Após 72h de contato das células com os compostos. O sobrenadante foi aspirado e adicionados 150 µL de solução de MTT (Sigma-Aldrich®) na concentração de 5 mg.mL⁻¹. As placas foram deixadas por 3 horas em estufa 37 °C e ao final desse período, 150 µL de DMSO foi adicionado a cada poço para a dissolução dos cristais de Formazan. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 100 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos desvio no programa *GraphPad Prism*. Cada amostra foi testada em duplicata.

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (1 a 20% de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70%) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%).

5.7.2 Resultados e Discussão

A atividade antiproliferativa dos derivados da Naftoquinônicos realizada através do teste do MTT está representada na tabela 2. De acordo com os dados obtidos no teste de inibição do crescimento celular em concentração única de 25 µg/mL, em 72 horas, os derivados apresentaram de moderada a muita atividade, pois demonstraram uma variação percentual de 65% a 100% para a linhagem MCF-7, de 74% a 100% para a linhagem NCI-H-292, de 65% a 100% para a linhagem HL-60 e uma variação de 93,75% para a linhagem HEP-2. Com destaque para as substâncias **1a**, **1b**, **1c**, **1d** e **2d**, que apresentaram o melhor resultado.

Tabela 2 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%)

Amostra	MCF-7		NCI-H-292		HL-60		HEP-2	
	Média IC%	DP	Média IC%	DP	Média IC%	DP	Média IC%	DP
β-Lap	96,65	0,38	96,22	4,45	100	0	95,93	1,64
1	66,91	0,18	95,08	0,58	96,09	1,17	93,94	0,28
1^a	100	0	100	0	100	0	NT	
1b	79,17	8,03	74,81	3,61	100	0	44,89	16,58
1c	85,12	1,2	89,41	11,87	100	0	23,3	7,16
1d	65,28	8,55	31,21	1,57	99,26	0,82	0	0
1e	8,93	3,9	13,87	2,43	2,07	0,94	16,92	10,76
2	68,99	0,27	97,52	0	98,03	0,04	94,23	0,57
2c	43,59	0,45	29,42	16,64	65,75	2,16	10,38	3,84
2d	73,44	0,54	99,62	1,59	100	0,13	93,75	4,9
2e	17,64	3,17	29,5	2,26	6,57	0,76	20,57	0,57
2f	51,71	0	48,17	3,88	41,03	29,92	24,25	17,19

Tabela 2 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em quatro linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL.

Após análise do percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das mostras em dose única de 25 µg/mL, tendo em vista o excelente resultado de algumas substâncias, essas foram submetidas à análise do percentual do crescimento celular (IC50%). Este teste foi feito com as amostras que apresentaram percentual de inibição de crescimento acima de 70% , visando verificar qual a concentração em µg/mL que inibe 50% do crescimento celular. O NCI (Instituto Nacional do câncer) preconiza que as moléculas puras para serem consideradas promissoras precisam apresentar a concentração que inibe 50% do crescimento celular seja abaixo de 4,0µg/mL. Os resultados apareceram como ambíguos no programa estatístico utilizado (Prisma), o programa considera os parâmetros muito amplos (diferentes) e ele não consegue analisar bem os dados. Por conta da ambiguidade apresentada os testes deverão ser repetidos.

PARTE EXPERIMENTAL

6. Parte Experimental

6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1.1 Cromatografias

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram conduzidas em placas de Sílica Gel 60 F254 da MERCK de 0,25 mm de espessura. A leitura das mesmas foi realizada através de radiação de ultravioleta (UV) no comprimento de onda (λ) de 254 nm.

6. 1. 2 Pontos de Fusão

Os pontos de fusão foram medidos no equipamento digital FISATON® 431D

6. 1. 3 Espectroscopias de IV, RMN ^1H e RMN ^{13}C

Os espectros no IV foram obtidos em espectrofotômetro BRUKER IFS-66, em discos de KBr. Alguns espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos no equipamento UNITYplus-300 MHz-VARIAN e outros no UNMRS-400 MHz-VARIAN, utilizando-se DMSO- d_6 como solvente. Os deslocamentos químicos (δ) foram reportados em ppm, utilizando tetrametilsilano como referência interna. As constantes de acoplamento foram indicadas em Hz, e as multiplicidades dos sinais foram designadas da seguinte forma: s – singleto, d – dubleto, dd – duplo dubleto, t – tripleto, m – multipeto.

6. 1. 4 Equipamentos

- Bomba de vácuo TECNAL TE 058;
- Estufa;
- Evaporador rotativo;
- Placas de agitação e aquecimento FISOTON 752 A;
- Vidraria geral;
- Capela com exaustão;
- Balança analítica BEL 220;
- Balança semi-analítica BEL Marc 500 C;
- Fusiômetro FISATON® 431D;
- Ultrassom UNIQUE® USC 1400-A,
- Microondas

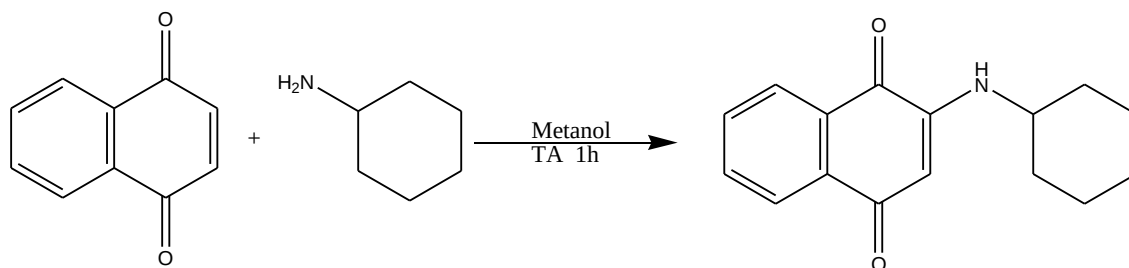
6. 1. 5 Reagentes e Solventes

- 1,4 Naftoquinona;
- 2-Metil-1,4 Naftoquinona;
- Ciclohexilamina
- 2 etil morfolina
- 3 propilmorfolino
- Procaínamina
- Piperazina
- Furfuriamina
- Br-Anilina
- Semicarbazida
- Tiosemicarbazida
- Feniltiossecarbazida
- Tioúreia
- Tioacetamida
- Aminoácido Cisteína
- Hidroxilamina Cloridrato
- 4Br Benzaldeido
- 4Cl Bezaldeido
- Furaldeido
- 5 Nitro 2 Furaldeido
- Tiofenocarboxialdeido
- 5 Nitro 2 Tiofenocarboxialdeido
- Ácido Tricloro-Isocianúrico
- Trietilamina
- Hidróxido de potássio
- Ácido Sulfúrico
- Ácido Cítrico
- Anidrido Acético
- Diclorometano
- Clorofórmio
- Acetato de Etila
- Ciclohexano
- Água Destilada
- Metanol
- Etanol
- Dimetilsulfóxido (DMSO)
- Meio de cultura Ága Nutritivo
- Meio de cultura sabouraud
- Timidina Tritiada
- Soro Bovino Fetal

6.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

6.2. 1 Síntese e Caracterização estrutural

Composto 1a: 2-N-ciclohexilamina-1,4-Naftoquinona



Esquema 7: Síntese da 2-N-ciclohexilamina-1,4-Naftoquinona

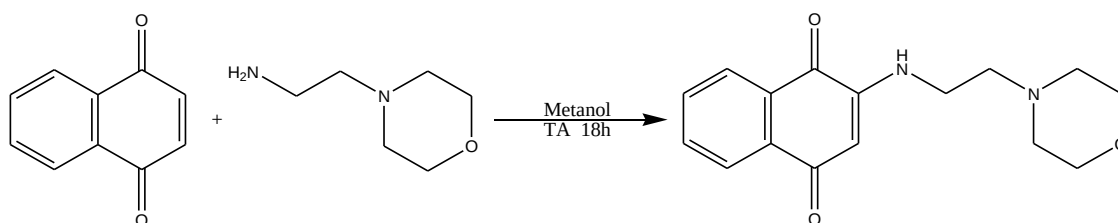
Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 1 mmols do reagente 1,4 Naftoquinona, adquirido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1,25 mmols do reagente ciclohexilamina, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi Metanol (10ml). Esta mistura foi deixada sob agitação a temperatura ambiente por 1 hora. A reação foi acompanhada por CCD. Após o término da reação, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, com posterior adição de água para a precipitação do produto, obtendo assim produto na forma de cristal vermelho escuro.

Caracterização

- **F.M:** C₁₆H₁₇NO₂
- **P.M:** 255,13g/mol
- Sólido vermelho escuro; Rendimento: 73%; Rf: 0,60 (8:2 Ciclohexano / Acetona)
- P.F: 104-105°C
- IV: 2.933,56 Cm⁻¹ (CH₂), 2.956,71 Cm⁻¹ (CH₂), 1.672,21 (C=O) , 1.597,23 Cm⁻¹ (C-C_{Arom.}), 1.453,79 Cm⁻¹ (CH₂), 974,83 Cm⁻¹ (C-N_{Axial})

- RMN ^1H : 5.732 ppm (1H,s,H₃), 7.120 ppm (1H,d,H₆, J=7,9Hz), 7.713 ppm (1H,t,H₇, J=7,6Hz e 7,2Hz), 7.657ppm (1H,t,H₈, J=7,6Hz e 7,9Hz), 7.547ppm (1H,d,H₉, J=6,4Hz), 1.867ppm (1H,m,H₁₁), 1.697ppm (2H,m,H₁₂), 1.356ppm (2H,m,H₁₃), 1.110ppm (2H,m,H₁₄), 1.229ppm (2H,m,H₁₅), 1.583ppm (2H,m,H₁₆), 2.933ppm(1H,s,N-H)
- RMN ^{13}C : (C1) 181. 756 ppm, (C2) 147. 32 ppm, (C3) 99.424 ppm, (C4) 181.353 ppm, (C5) 130.328 ppm, (C6) 125. 913 ppm, (C7) 134. 866 ppm, (C8) 134.866 ppm, (C9) 126.579 ppm, (C10)132.156 ppm, (C11) 31.058 ppm, (C12) 30.399 ppm, (C13) 24.567 ppm, (C14) 23.770 ppm, (C15) 24.459 ppm, (C16) 25.125 ppm.

Composto 1b: 2-N- (2- morfolina-propilamina)-1,4-Naftoquinona



Esquema 8: Síntese da 2-N- (2- morfolina-propilamina)-1,4-Naftoquinona

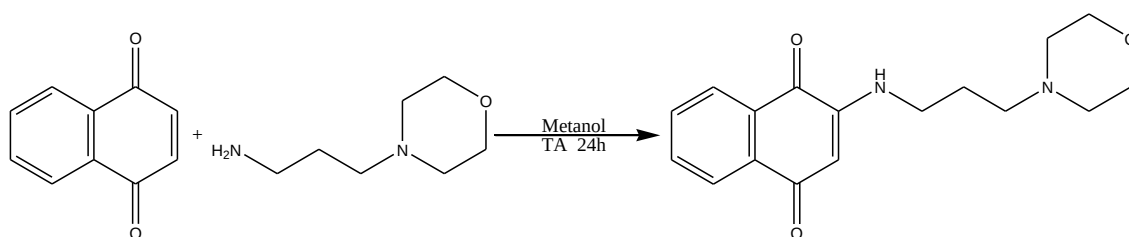
Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 1 mmols do reagente 1,4 Naftoquinona, adquirido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1,25 mmols do reagente 2 amino etil Morfolino, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi Metanol(10ml). A esta mistura foi deixando sob agitação a temperatura ambiente por 18 horas. A reação foi acompanhada por CCD. Após o termino da reação, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, com posterior adição de água para a precipitação do produto, obtendo assim produto na forma de cristal vermelho claro.

Caracterização

- **F.M:** C₁₆H₁₈N₂O₃
- **P.M:** 286,13
- Sólido vermelho claro; Rendimento:68 %; Rf: 0,51 (6:4 Ciclohexano/Acetona)

- P.F:124-125°C
- IV: 1.070 cm^{-1} (C-N), $2.968,09\text{ cm}^{-1}$ (CH₂), $2.847,7\text{ cm}^{-1}$ (CH₂), 1.267 cm^{-1} (C-O-C), 1.070 cm^{-1} (C-O-C), $1.672,1\text{ cm}^{-1}$ (C=O), $1.605,85\text{ cm}^{-1}$ (C=O), $1.570,99\text{ cm}^{-1}$ (C=C_{Arom}) e $1519,97\text{ cm}^{-1}$ (C=C_{Arom}).
- RMN ¹H: 5.695ppm (1H,s,H₃), 7.928ppm (1H,d,H₆, J=7,6Hz), 7.816ppm (1H,t,H₇, J=7,2Hz), 7.713ppm (1H,t,H₈, J=7,2Hz), 7.963ppm (1H,d,H₉, J=7,6Hz), 3.874ppm (2H,m,H₁₁), 3.267ppm (4H,t, J= 6.4Hz, H₁₄ e H₁₅), 2.553ppm (6H, t, J=5,9Hz, H₁₂, H₁₃ e H₁₆), 2.500ppm (1H,s,N-H)
- RMN ¹³C: (C1) 181.939 ppm, (C2) 148.75ppm, (C3) 100.071 ppm, (C4) 181.79 ppm, (C5) 130.758 ppm, (C6) 125.816 ppm, (C7) 133.60 ppm, (C8) 135.350 ppm, (C9) 126.358 ppm, (C10)132.65 ppm, (C11) 55.761 ppm, (C12) 40.567 ppm, (C13) 53.507 ppm, (C14) 66.666 ppm, (C15) 66.66 ppm, (C16) 53.507 ppm.

Composto 1c: 2-N-(3-morfolina-propilamina)-1,4-Naftoquinona



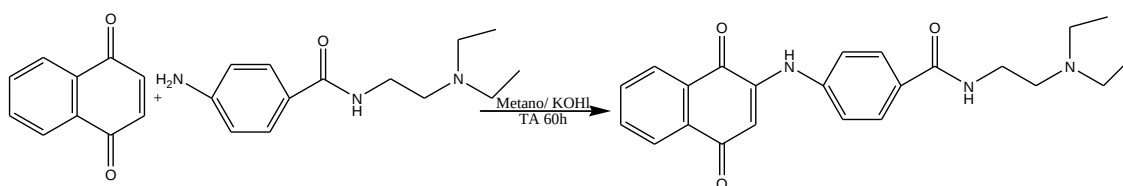
Esquema 9: Síntese da : 2-N-(3-morfolina-propilamina)-1,4-Naftoquinona

Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 1 mmols do reagente 1,4 Naftoquinona, adquirido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1,25 mmols do reagente 3 amino Propil Morfolina, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi Metanol (10ml). A esta mistura foi deixada sob agitação a temperatura ambiente por 24 horas. A reação foi acompanhada por CCD. Após o termino da reação, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, com posterior adição de água para a precipitação do produto, obtendo assim produto na forma de cristal vermelho alaranjado.

Caracterização

- **F.M:** C₁₇H₂₀N₂O₃
- **P.M:** 300,15
- Sólido vermelho alaranjado; Rendimento: 74%; Rf:0,55 (6:4 Ciclohexano / Acetona)
- P.F: 133-135°C
- IV: 3.032,3 Cm⁻¹ (CH_{Arom}), 2.967,78 Cm⁻¹ e 2.940,57 Cm⁻¹ (C-H), 2.861 Cm⁻¹ e 2.809,76 Cm⁻¹ (CH₂), 1681,56 Cm⁻¹ e 1630,54 Cm⁻¹ (C=O), 1597,20 Cm⁻¹ e 1567,40 Cm⁻¹ (C-C_{Arom}), 972,24Cm⁻¹ (C-N_{Axial})
- RMN ¹H: RMN ¹H: 5.678 ppm (1H,s,H3), 7.921ppm (1H,d,H6, J=7,9Hz), 7.807ppm (1H,t,H7, J=7,6Hz), 7.700 ppm (1H,t,H8, J=7,6Hz), 7.965ppm (1H,d,H9, J=7,9Hz), 2.370 ppm (2H,m,H11), 1.733 ppm (2H,m, H12),3,217ppm (6H, t, J=5,9Hz, H13e H17), 3.625 ppm (4H,t, J=3,9, H15 e H16), 2.495 (1H,s,N-H).
- RMN ¹³C: (C1) 181.624 ppm, (C2) 148.676 ppm, (C3) 99.208 ppm, (C4) 181.237 ppm, (C5) 130.390 ppm, (C6) 125.355 ppm, (C7) 132.132 ppm, (C8) 134.859 ppm, (C9) 125.921ppm, (C10)133.263 ppm, (C11) 56.307 ppm, (C12) 23.715 ppm, (C13) 41.142 ppm, (C14) 53.348 ppm, (C15) 66.159 ppm, (C16) 66.159 ppm, (C17) 53.348 ppm.

Composto 1d: 2-N-procainamina-1,4-Naftoquinona



Esquema 10:Síntese da : 2-N-procainamina-1,4-Naftoquinona

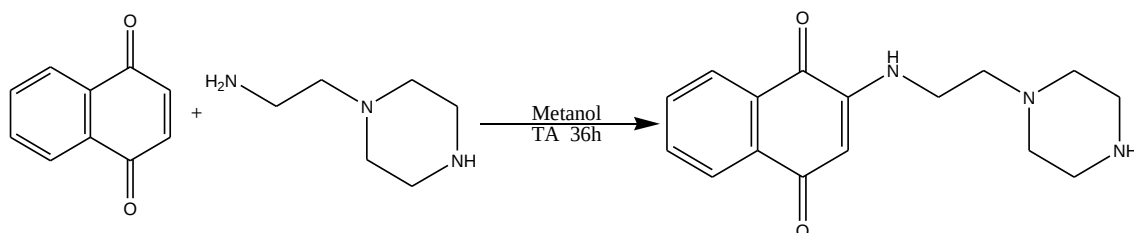
Em balão de fundo redondo com capa capacidade para 100 ml, foi adicionado 1 mmols do reagente 1,4 Naftoquinona, adquirido comercialmente, solubilizado em metanol. Em seguida foi adicionado 1,25 mmols do reagente Procainamina, adquirido comercialmente, também solubilizado em Metanol (10ml) com 2eq de KOH. Esta mistura foi deixando sob agitação a temperatura ambiente por 38 horas. A reação foi acompanhada por CCD. Após o termino da reação, o produto foi evaporado para a

retirada do solvente, com posterior adição de ácido cítrico para a neutralização do meio e precipitação do produto, que foi filtrado e lavado em funil sinterizado, obtendo assim produto na forma de cristal bordo

Caracterização

- **F.M:** $C_{23}H_{25}N_3O_3$
- **P.M:** 391,19
- Sólido Bordo; Rendimento: 56 %; Rf: 0,40 (7:3 Ciclohexano/Acetona)
- P.F: 195-196°C
- IV: $3.068,8\text{ cm}^{-1}$ (C-H_{Arom.}), $2922,6\text{ cm}^{-1}$ (CH₂), $1.644,81\text{ cm}^{-1}$ (C=O), 1.592 cm^{-1} e 1.522 cm^{-1} (C-C_{Arom.}), $1262,87\text{ cm}^{-1}$ (C-H_{Arom.}), $1,522\text{ cm}^{-1}$ (Amida)
- RMN ¹H: 6.351 ppm (1H,s,H3), 7.851 ppm (1H,d,H6, J=3,6Hz), 7.723 ppm (1H,t,H7, J=6,6Hz e 6,9Hz), 7.746 ppm (1H,t,H8, J=6,9Hz), 7.881 ppm (1H,d,H9, J=3,6Hz), 7.504 ppm (2H,d,H12, H16, J=3Hz), 7.553 ppm (2H,d, H13 e H15, J=3Hz), 2.500 ppm (2H, t, J=1,8Hz, H18), 1.191 ppm (2H, t, J=6,9Hz, H19), 2.503 ppm (4H, q, J=1,8Hz, H20 e H23) 1.218 ppm (6H, t, J=7,2Hz, H21 e H22), 1.907 ppm (1H,s,Ha), 2.883 (1H,s, Hb).
- RMN ¹³C: (C1) 179.985 ppm, (C2) 134.541 ppm, (C3) 112.548 ppm, (C4) 179.978 ppm, (C5) 125.269 ppm, (C6) 126.164 ppm, (C7) 132.028 ppm, (C8) 132.779 ppm, (C9) 126.955 ppm, (C10) 127.828 ppm, (C11) 133.760 ppm, (C12) 126.112 ppm, (C13) 130.986 ppm, (C14) 133.928 ppm, (C15) 128.901 ppm, (C16) 125.591 ppm, (C17) 136.565 ppm. (C18) 50.321 ppm, (C19) 46.796 ppm, (C20) 34.664 ppm, (C21) 8.502 ppm (C22) 8.502 (C23) 34.664 ppm

Composto 1e: 2-N- (2- piperazina-etilamina)-1,4-Naftoquinona



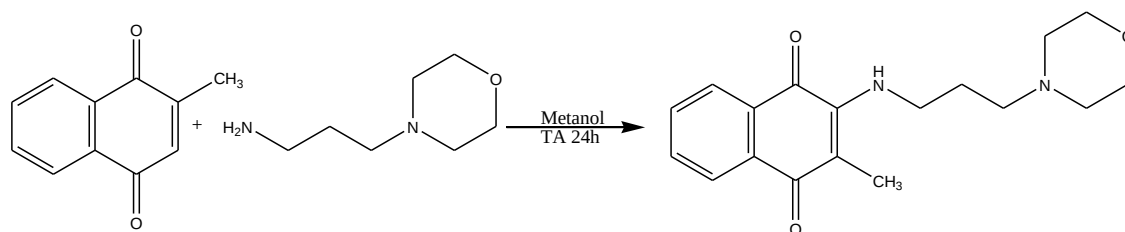
Esquema 11: Síntese da 2-N- (2- piperazina-etilamina)-1,4-Naftoquinona

Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 1 mmols do reagente 1,4 Naftoquinona, adquirido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1,25 mmols do reagente 2 aminoetil piperazina, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi Metanol (10ml). A esta mistura foi deixada sob agitação a temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, com posterior adição de água para a precipitação do produto, obtendo assim produto na forma de cristal laranja escuro.

Caracterização

- **F.M:** C₁₆H₁₉N₃O₂
- **P.M:** 285,15
- Sólido laranja escuro; Rendimento: 59%; Rf: 0,57 (7:3 Ciclohexano/Acetona)
- P.F: 187-188°C
- IV: 2.920,3 Cm⁻¹ e 2.849,4 Cm⁻¹ (CH₂), 1.671,45 Cm⁻¹ (C=O), 1.642,34(C=C_{alceno}), 1.605,39 Cm⁻¹ (N-H), 1.570,35 Cm⁻¹ (C=C_{Arom}), 1.305,10 Cm⁻¹ (C-N)
- RMN ¹H: RMN ¹H: 5.739 ppm (1H,s,H3), 8.034ppm (1H,d,H6, J=7,6Hz), 7.665ppm (1H,t,H7, J=7,2Hz), 7.718 ppm (1H,t,H8, J=7,6Hz), 8.810 ppm (1H,d,H9, J=7,6Hz), 3.567 ppm (6H,m,H11, H15 e H16), 0,878 ppm (2H,m, H12), 2.773 ppm (6H, t, J=5,56Hz, H13, H14 e H17), 2.096 ppm (1H,s,Ha), 2.690 (1H,s, Hb).

Composto 2c: 2-N-(3- morfolina-propilamina)-3-metil-1,4-Naftoquinona



Esquema 12: Síntese da 2-N-(3- morfolina-propilamina)-3-metil-1,4-Naftoquinona

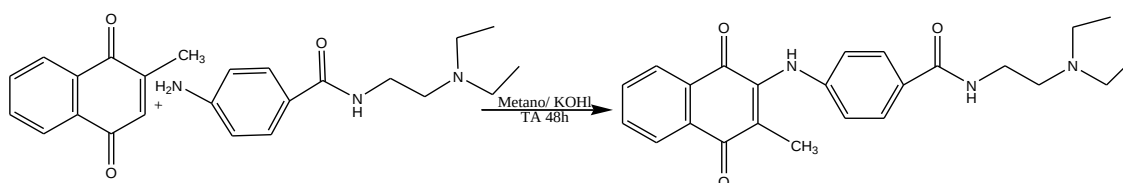
Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 1 mmols do reagente 2 metil 1,4 Naftoquinona, adquirido comercialmente. Em seguida

foi adicionado 1,25 mmols do reagente 3 amino Propil Morfolina, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi Metanol (10ml). A esta mistura foi deixando sob agitação a temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, com posterior adição de água para a precipitação do produto, obtendo assim produto na forma de cristal alaranjado.

Caracterização

- **F.M:** $C_{18}H_{22}N_2O_3$
- **P.M:** 314,16
- Sólido Alaranjado; Rendimento:63%; Rf: 0,48 (7:3 Ciclohexano/Acetona)
- P.F: 99-100°C
- IV: 2.962 cm^{-1} e 2.872 cm^{-1} ($C-H_{\text{Metil}}$), $2.823,6\text{ cm}^{-1}$ (CH_2), $1.677,02\text{ cm}^{-1}$ ($C=O$), $1.601,48\text{ cm}^{-1}$ ($N-H$), $1564,54\text{ cm}^{-1}$ ($C=C$), $1.305,19\text{ cm}^{-1}$ ($C-N$), $1.284,29\text{ cm}^{-1}$ ($C-H_{\text{Arom}}$), $1.265,74\text{ cm}^{-1}$ ($C-O-C$), $1.091,90\text{ cm}^{-1}$ ($C-C_{\text{alcano}}$)
- RMN 1H : RMN 1H : 7.982 ppm (1H,d,H6, $J=7,2\text{ Hz}$), 7.661 ppm (1H,d,H7, $J=7,6\text{ Hz}$), 7.560 ppm (1H,t,H8, $J=7,6\text{ Hz}$), 8.072 ppm (1H,d,H9, $J=7,2\text{ Hz}$), 3.807 ppm (2H,m,H11), 1.057 ppm (2H,m,H12), 1.817 ppm (6H,t, H13, H14 e H17, $J=5,9\text{ Hz}$), 3.688 ppm (4H, t, $J=5,56\text{ Hz}$, H15 e H16), 2.509 ppm (1H, s, N-H)
- RMN ^{13}C : (C1) 183.489 ppm, (C2) 146.668 ppm, (C3) 130.434 ppm, (C4) 182.575 ppm, (C5) 133.64 ppm, (C6) 125.888 ppm, (C7) 131.072 ppm, (C8) 133.897 ppm, (C9) 126.097 ppm, (C10) 134.183 ppm, (C11) 57.056 ppm, (C12) 26.385 ppm, (C13) 44.888 ppm, (C14) 53.795 ppm, (C15) 66.621 ppm, (C16) 66.121 ppm, (C17) 53.795 ppm. (C18) 11.344 ppm.

Composto 2d: 2-N-procainamina-3-metil-1,4-Naftoquinona



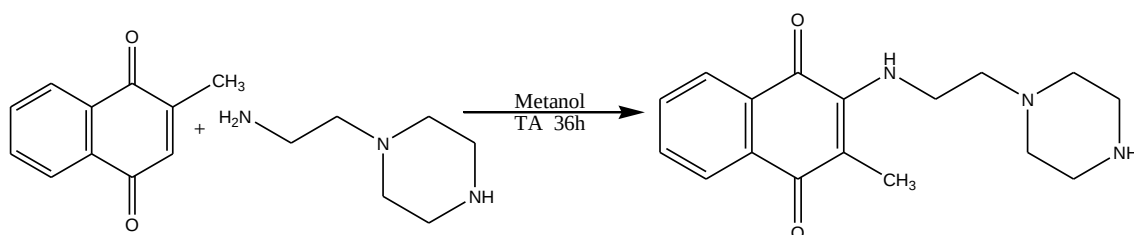
Esquema 13: Síntese da 2-N-procainamina-3-metil-1,4-Naftoquinona

Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 1 mmols do reagente 2 metil 1,4 Naftoquinona, adquirido comercialmente, solubilizada em metanol. Em seguida foi adicionado 1,25 mols do reagente Procainamia, adquirido comercialmente, também solubilizado em Metanol (10ml). A esta mistura foi deixada sob agitação a temperatura ambiente por 32 horas. A reação foi acompanhada por CCD. Após o termino da reação, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, com posterior adição de ácido cítrico para a neutralização do meio e precipitação do produto, que foi filtrado e lavada em funil sinterizado. obtendo assim produto na forma de cristal bordo.

Caracterização

- **F.M:** $C_{24}H_{27}N_3O_3$
- **P.M:** 405,21
- Sólido bordo; Rendimento:48 %; Rf: 0,42 (7:3 Ciclohexano/Acetona)
- P.F:98-100°C
- IV: $1.661,58\text{ cm}^{-1}$ (C=O), $1.593,51\text{ cm}^{-1}$ (C-C_{Arom}), $1.550,50\text{ cm}^{-1}$ (N-H_{Amida}), $1440,26\text{ cm}^{-1}$ (CH₃_{assimetrico}), $1.300,11\text{ cm}^{-1}$ (N-H), $1.264,52\text{ cm}^{-1}$ (C-H_{Arom}), $1.158,27\text{ cm}^{-1}$ (C-N_{Axial})
- RMN ^1H :

Composto 2e: 2-N-(2- piperazina-etilamina)-3-metil-1,4-Naftoquinona



Esquema 14: Síntese da 2-N-(2- piperazina-etilamina)-3-metil-1,4-Naftoquinona

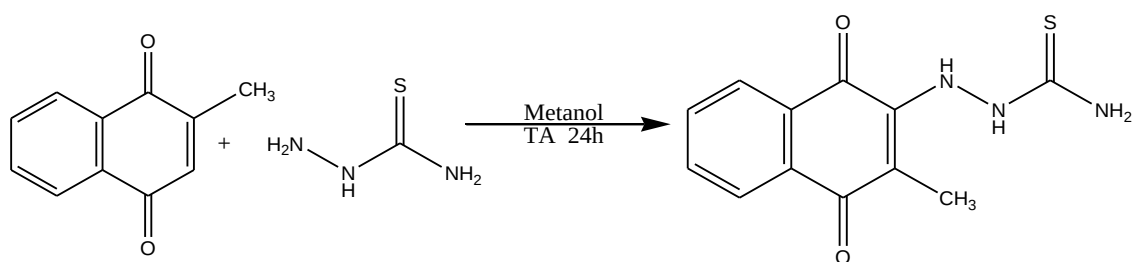
Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 1 mmols do reagente 2 metil-1,4 Naftoquinona, adquirido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1,25 mols do reagente 2 aminoetil piperazina, adquirido comercialmente,

o solvente utilizado foi Metanol (10ml). A esta mistura foi deixada sob agitação a temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, com posterior adição de água para a precipitação do produto, obtendo assim produto na forma de cristal laranja.

Caracterização

- **F.M:** $C_{17}H_{21}N_3O_2$
- **P.M:** 299,16
- Sólido laranja; Rendimento:59 %; Rf: 0,41 (5:5 Ciclohexano/Acetona)
- P.F:100-102°C
- IV: $2.920,3\text{ cm}^{-1}$ e $2.849,4\text{ cm}^{-1}$ (CH_2), $1.651,21\text{ cm}^{-1}$ ($C=O$), $1.607,04\text{ cm}^{-1}$ ($N-H$), $1.567,61\text{ cm}^{-1}$ ($C=C$), $1.442,90\text{ cm}^{-1}$ (CH_2), $1093,76\text{ cm}^{-1}$ ($C-N$), $724,74\text{ cm}^{-1}$ (CH)
- RMN 1H :), 7.987ppm (1H,d,H6, $J=8,4\text{Hz}$), 7.585ppm (1H,t,H7, $J=7,6\text{Hz}$ e $J=6,4\text{Hz}$), 7.718 ppm (1H,t,H8, $J=7,6\text{Hz}$), 8.810 ppm (1H,d,H9, $J=7,6\text{Hz}$), 3.567 ppm (1H,m,H11, H15 e H16), 0,878 ppm (2H,m, H12), 2.773 ppm (6H, t, $J=5,56\text{Hz}$, H13, H14 e H17), 2.096 ppm (1H,s,Ha), 2.690 (1H,s, Hb).

Composto 2f: 2-N-(tiossemicarbazona)-3-metil-1,4-Naftoquinona



Esquema 15: síntese da N-(tiossemicarbazona)-3-metil-1,4-Naftoquinona

Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,001 mols do reagente 2metil-1,4 Naftoquinona, adquirido comercialmente. Em seguida foi adicionado 0,00125 mols do reagente tossemicarbasida, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi Metanol (10ml). A esta mistura foi deixada sob agitação a temperatura ambiente por 26 horas. Após o termino da reação, o produto foi evaporado

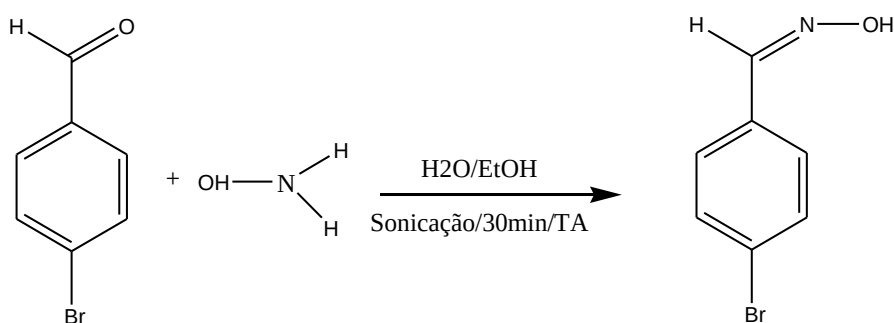
para a retirada do solvente, lavado em funil sinterizado com posterior adição de água para a precipitação do produto, obtendo assim produto na forma de cristal Amarelo.

Caracterização

- **F.M:** $C_{12}H_{11}N_3O_2S$
- **P.M:** 261,06
- Sólido Amarelo; Rendimento: 72 %; Rf: 0,62 (6:4 Ciclohexano/Acetona)
- P.F: 226-228°C
- IV: 1.644Cm^{-1} (C=O), 1.596Cm^{-1} (C=C), 1.492Cm^{-1} (C=S), $1.383,84\text{Cm}^{-1}$ e $1.450,78\text{Cm}^{-1}$ (CH_3), $1.065,16\text{Cm}^{-1}$, $861,23\text{Cm}^{-1}$ (C-H).
- RMN ^1H : 7.99 ppm (1H,s,H6, J=7,49Hz), 7.573 ppm (1H,t,H7, J=7,49 e 7.8Hz), 7.658 ppm (1H,t,H8, J=6.9Hz), 8.675 ppm (1H,d,H9, J=8.39Hz), 2.073 (1H,s, H11), 8.8 ppm (1H, s,Ha), 11,612 (1H, s,Hb), 11,5340 (1H, s,Hc), 8,311 (1H, s,Hd).
- RMN ^{13}C : (C1) 184.272 ppm, (C2) 125.407 ppm, (C3) 130.051 ppm, (C4) 179.480 ppm, (C5) 134.48 ppm, (C6) 124.472 ppm, (C7) 129.25 ppm, (C8) 132.282 ppm, (C9) 124.855 ppm, (C10) 134.480 ppm, (C11) 16.433 ppm, (C12) 138.879 ppm

Compostos intermediários aldoximas

Composto 3a: Oxima de 4-Br Benzaldeído



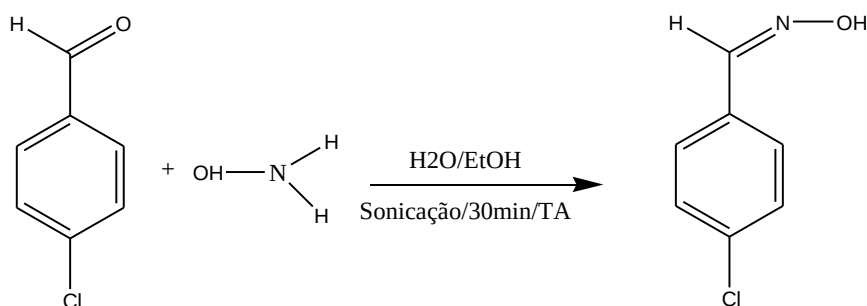
Esquema 16: Síntese da Oxima de 4-Br Benzaldeído

Em um tubo de ensaio foi feita a mistura da solução 1 (0,625mmol de hidroxilamina em 2,5ml de água) com a solução 2 (0,5mmol do aldeído 4-Br

Benzaldeído em 25ml de etanol). Identificação CCD 5:5 Hex/Acet (Um ponto abaixo do Aldeído).

- **F.M:** C_7H_6ClNO
- **P.M:** 155,01
- **Ponto de Fusão:** 109-111°C
- **Rendimento:** 60%

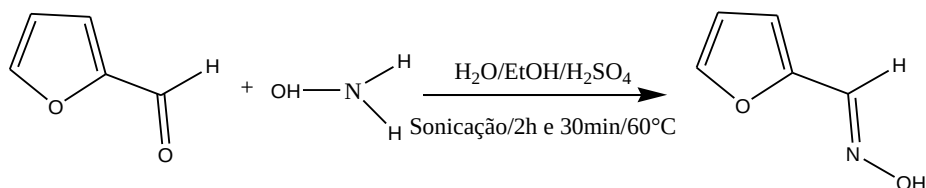
Composto 3b: Oxima de 4-Cl Benzaldeído



Esquema 17: Síntese da Oxima de 4-Cl Benzaldeído

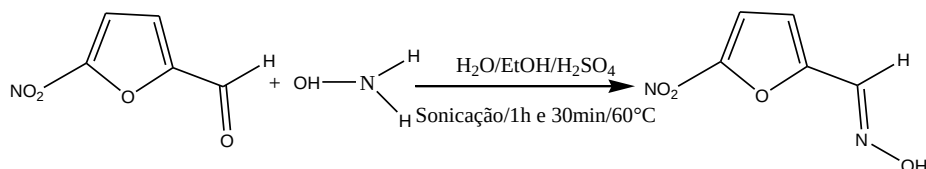
Em um tubo de ensaio foi feita a mistura da solução 1 (0,625mmol de hidroxilamina em 2,5ml de água) com a solução 2 (0,5mmol do aldeído 4-Cl Benzaldeído em 25ml de etanol). Identificação CCD 5:5 Hex/Acet (Um ponto abaixo do Aldeído).

- **F.M:** C_7H_6ClNO
- **P.M:** 155,01
- **Ponto de Fusão:** 112-113°C
- **Rendimento:** 65%

Composto 3c: Oxima de 2-furaldeído**Esquema 18:** Síntese da Oxima de 2-furaldeído

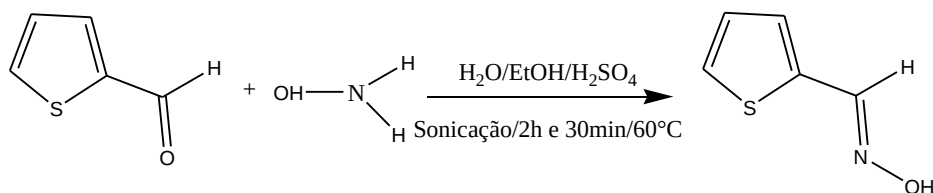
Em um tubo de ensaio foi feita a mistura da solução 1 (0,625mmol de hidroxilamina em 2,5ml de água) com a solução 2 (0,5mmol do aldeído 2-furaldeído em 25ml de etanol). Identificação CCD 5:5 Hex/Acet (Um ponto abaixo do Aldeído).

- **F.M:** $\text{C}_5\text{H}_5\text{NO}_2$
- **P.M:** 111,03
- **Ponto de Fusão:** $79-84^\circ\text{C}$
- **Rendimento:** 90%

Composto 3d: Oxima de 5-Nitro-2-furaldeído**Esquema 19:** Síntese da Oxima de 5-Nitro-2-furaldeído

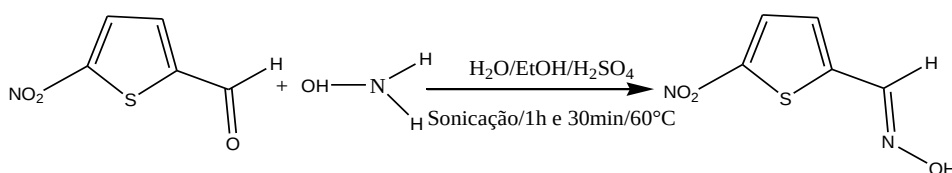
Em um tubo de ensaio foi feita a mistura da solução 1 (0,625mmol de hidroxilamina em 2,5ml de água) com a solução 2 (0,5mmol do aldeído 5-Nitro-2-furaldeído em 25ml de etanol). Chapa aquecedora por 24h/ 60°C . Identificação CCD 5:5 Hex/Acet (Um ponto abaixo do Aldeído).

- **F.M:** $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_4$
- **P.M:** 156,02g/mol
- **Ponto de Fusão:** $167-169^\circ\text{C}$
- **Rendimento:** 72%

Composto 3e: Oxima de 2-tiofenocarboxialdeído**Esquema 20:** Síntese da Oxima de 2-tiofenocarboxialdeído

Em um tubo de ensaio foi feita a mistura da solução 1 (0,625mmol de hidroxilamina em 2,5ml de água) com a solução 2 (0,5mmol do aldeído 2-*tiofenocarboxialdeído* em 25ml de etanol). Identificação CCD 5:5 Hex/Acet (Um ponto abaixo do Aldeído).

- **F.M:** $\text{C}_5\text{H}_5\text{NOS}$
- **P.M:** 127,01 g/mol
- **Ponto de Fusão:** 135-139°C
- **Rendimento:** 95%

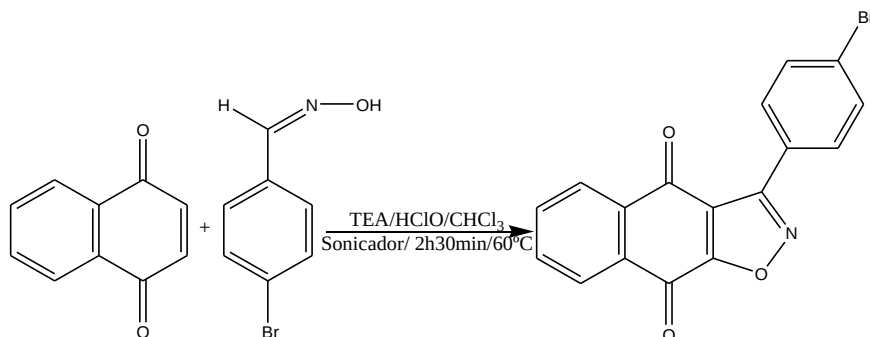
Composto 3f: Oxima de 5-Nitro-2-tiofenocarboxialdeído**Esquema 21:** Síntese da Oxima de 5-Nitro-2-tiofenocarboxialdeído

Em um tubo de ensaio foi feita a mistura da solução 1 (0,625mmol de hidroxilamina em 2,5ml de água) com a solução 2 (0,5mmol do aldeído 5-*Nitro-2-tiofenocarboxialdeído* em 25ml de etanol). Identificação CCD 5:5 Hex/Acet (Um ponto abaixo do Aldeído).

- **F.M:** $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$
- **P.M:** 171,99
- **Ponto de Fusão:** 106-108°C

- **Rendimento:** 80%

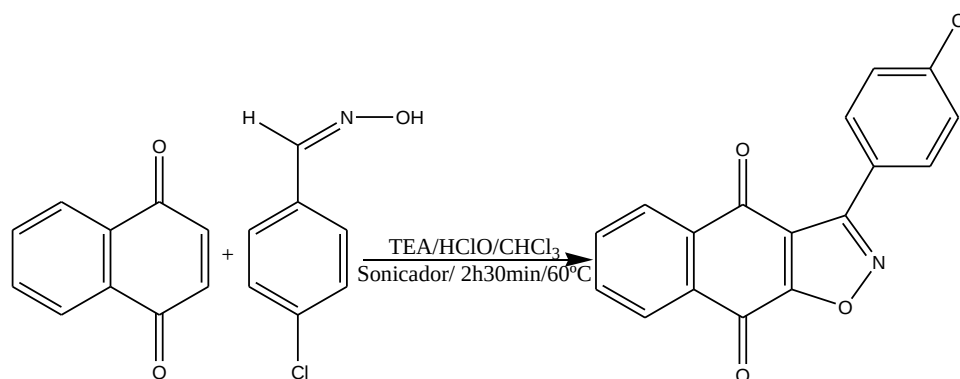
Composto 4a: 3'-(4-Br)fenil-2,3-oxazolina-1,4-Naftoquinona



Esquema 22: Síntese da 3'-(4-Br)fenil-2,3-oxazolina-1,4-Naftoquinona

Em um tubo de ensaio foi feita a mistura de 0,5ml Naftoquinona, composto 1, em 2,5ml de clorofórmio e 5gotas de trietilamina(TEA) (solução 1) e em um becker de 50 ml foi feita a mistura de 0,5mmol do aldeído 4-Br Benzaldeído em 25ml de etanol (solução 2). Com um auxílio de um funil de adição foi gotejado lentamente a solução 2 na solução 1 Identificação CCD 5:5 Hex/Acet (Um ponto abaixo do Aldeído)

- **F.M:** $C_{17}H_8BrNO_3$
- **P.M:** 352,97
- Sólido Vermelho; Rendimento: 68 %; Rf: 0,43(6:4 Ciclohexano/Acetona)
- P.F: 175-176°C
- RMN 1H : 8.008 ppm (1H,d,H6, J=7,2Hz), 7.759ppm (1H,t,H7, J=7,6Hz e j=7,2Hz), 7.440 ppm (1H,t,H8, J=7,9Hz), 7.879 ppm (1H,d,H9, J=7,2Hz), 7.075ppm (2H,d,H12 e H15, J=7,6Hz), 7.347 ppm (2H,d,H13 e H16, J= 7.345).

Composto 4a: 3'(4-Cl)fenil-2,3-oxazolina-1,4-Naftoquinona**Esquema 23:** Síntese da 3'(4-Cl)fenil-2,3-oxazolina-1,4-Naftoquinona

Em um tubo de ensaio foi feita a mistura de 0,5ml Naftoquinona, composto 1, em 2,5ml de clorofórmio e 5gotas de trietilamina(TEA) (solução 1) e em um becker de 50 ml foi feita a mistura de 0,5mmol do aldeído 4-Cl Benzaldeído em 25ml de etanol (solução 2). Com um auxilio de um funil de adição foi gotejado lentamente a solução 2 na solução 1 Identificação CCD 5:5 Hex/Acet (Um ponto abaixo do Aldeído)

- **F.M:** $C_{17}H_8ClNO_3$
- **P.M:** 309,02
- Sólido Bordo ; Rendimento: 63 %; Rf: 0,46 (7:3 Ciclohexano/Acetona)
- P.F: 182-183°C
- RMN 1H : 8.107 ppm (2H,d,H6, J=1,79Hz), 7.979 ppm (2H,t,H7 e H8,, J=1,79Hz), 7.712 ppm (2H, d, H12 e H15, J=2,39Hz), 7.683 ppm (2H,d, H13 e H14, J=2, 39Hz).

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

7 CONCLUSÕES

- Os derivados da Naftoquinona foram obtidos partindo de metodologia simples e econômica, com base no princípio da Química Verde, onde os compostos foram sintetizados em curto tempo reacional, resultando em bons rendimentos. A estrutura química foi elucidada através de espectroscopia de RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV, confirmando que a substituição ocorreu de maneira satisfatória.
- Com relação à atividade antimicrobiana os compostos apresentaram atividade frente a mostraram-se ativas para bactérias Gram positivas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* além do fungo *Candida albicans* e frente a bactéria resistente *Staphylococcus aureus* OSAR, com destaque para o derivado **1a**, que com exceção da *Pseudomonas aeruginosa*, apresentou halo de inibição nas cepas testadas. Além disso todos os derivados com exceção do **1d**, apresentaram halo de inibição para o fungo *Candida albicans*. Com isso apresentando resultados bastante promissores .
- Os testes anticâncer realizados revelaram que as substâncias sintetizadas apresentaram uma interessante atividade anticâncer. Com resultados que variam de 65% a 100% em diferentes linhagens celulares, o que nos motiva a continuar os experimentos frente a essas atividades.
- Através do teste de citotoxicidade podemos concluir que tanto a naftoquinona como seus derivados apresentaram atividade citotóxica frente a 4 linhagens de células tumorais (HL-60, MCF-7, HEP-2, NCI-292).

7.1 PERSPECTIVAS

- Otimizar os métodos de purificação dos derivados 2 amino Naftoquinona, assim como o estudo de melhora da síntese por utilização do ultrassom sem perder os princípios da química verde .
- Otimizar os métodos de purificação dos derivados da ciclo adição da naftoquinonas com aldoximas, assim como a obtenção de novos derivados.
- Submeter os compostos a testes específicos de atividade anticâncer, Determinação da viabilidade celular, Análise Morfológica e Análise da fragmentação do DNA, assim como teste de Citotoxicidade em linfócitos humanos.
- Submeter os compostos a testes de CMI eCMB dos microorganismos
- Submeter os compostos a estudo de “docking”, para análise da relação estrutura-atividade.

REFERÊNCIAS

ALI, M. H.; GREENE, S.; WIGGIN, C. J.; KHAN, S. Oxidative Cleavage of Oximes with Silica-Gel-Supported Chromic Acid in Nonaqueous Media. **Synthetic Communications**, v.36, p. 1761-1767, 2006.

ALMEIDA L. V. Síntese e determinação da atividade antimicrobiana de 2-[5-nitrotiofen-2-il]-3-acetil-5-[4-fenil-substituído]-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazolinas frente à cepa ATCC 25923 de *Sthaphylococcus aureus*. Dissertação de mestrado, USP- 2009.

ALMEIDA, E. R.; SILVA-FILHO, A. A. A.; SANTOS, E. R.; LOPES, C. A. J. Antiinflammatory action of lapachol. **Journal of Ethnopharmacology**, v.29, p. 239-241, 1990.

ANDOH, T.; ISHIDA, R. "Catalytic inhibitors of DNA topoisomerase II" **Biochem.Biophys.Acta.**, v.1400, p. 155, 1998.

ANDRICOPULO, A. D.; SALUM, L. B.; ABRAHAM, D. J. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 771-790, 2009.

ARNON, D. I., AND CRANE, F. L., in *Biochemistry of Quinones* (edit. by Morton, R. A.), 433 (Academic Press, London, 1965).

ASCHE, C. Antitumour quinones. **Mini Rev. Med. Chem.**, v. 5, p. 449-467, 2005

BABIOR, B. M. "Superoxide: a two-edged sword" **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30, p. 141, 1997.

BABULA, P.; ADAM, V.; HAVEL, L.; KIZEK, R. Noteworthy Secondary Metabolites Naphthoquinones – their Occurrence, Pharmacological Properties and Analysis. **Current Pharmaceutical Analysis**, v.5, p.47-68, 2009.

BARBOSA, T. P.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S.; MARTINS, R. M.; PINTO, A. C.; VARGAS, M. D. New 1,2,3,4-tetrahydro-1-aza-anthraquinones and 2-aminoalkyl compounds from norlapachol with molluscicidal activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 6464-6469, 2005.

BARGIOTTI, A.; MUSSO, L. DALLAVALLE, S.; MERLINI, L.; GALLO, G.; CIACCI, A.; GIANNINI, G.; CABRI, W.; PENCO, S.; VESCI, L.; CASTORINA, M.; MILAZZO, F.; CERVONI, M.; BARBARINO, M.; PISANO, C.;

GIOMMARELLI,C.;ZUCO,V. MICHELANDREA; ZUNINO, FRANCO;
ISOXAZOLO(AZA) NAPHTHOQUINONES: A new class of cytotoxic Hsp90
inhibitors- **European Journal of Medicinal Chemistry**., v. 53,p. 64-75, 2002.

BASAPPA, M., SADASHIVA, M. P., MANTELINGU K., SWAMY S. N.,
RANGAPPA, K. S. Solution-phase synthesis of novel 2-isoxazoline libraries via
1,3-dipolar cycloaddition and their antifungal properties. **Bioorganic & Medicinal
Chemistry Letters**,v. 11, p. 4539-4544, **2003**.

BAUER, A.W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J.C.; TUR,C.K. M. Antibiotic
susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am J Clin Pathol.**,v.45,
p.493-496, 1996.

BELOTSEKOVSKI, B. P.; ARIMONDO, P. B.; COZZARELLI, N. R.
“Topoisomerases Action on short DNA duplexes reveals requirements for gate and
transfer DNA segments” **J. Biol. Chem.**, v.281,p. 25407, 2006.

BENITES, J.; VALDERRAMA, J. A.; RIVERA.F.; ROJO, L.; CAMPOS, N.;
PEDRO, M.; NASCIMENTO, M. S. J. Studies on quinones. Part 42: Synthesis of
furylquinone and hydroquinones with antiproliferative activity against human tumor
cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**., v.16, p 862-868, 2008.

BENITES, J.A VALDERRAMA, K. BETTEGA, R. C. PEDROSA, P.B.
CALDERON, J. VERRAX, EUR.J. **Med. Chem.** V.45, p. 6052-6057, 2010.

BERRIDGE, M. V., TAN, A. S., MCCOY, K. D., WANG, R. The Biochemical and
Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium
Salts.**Biochemica**,v.4, p. 14-19, 1996.

BITTNER, S.; LEMPERT D. Reaction of Hydroxylamines with 1,4-Quinones: a
Direct Synthesis of New Aminoquinones, **Synthesis**, p.917-919, 1994.

BLOCK, J.B. et al. estudos clínicos iniciais com lapachol (NSC-
1905). **Câncer e Quimioterapia Relatórios** 2, v. 4, p. 27-28, 1974.

BOLTON, J.L. Role of quinones in toxicology. **Chemical Research
Toxicology**, v. 13, p. 135-160, 2000.

BONIFAZI, E.L. A atividade antiproliferativa de naftoquinonas ostentando
estruturas relacionadas com lapachol. Em primeiro lugar a síntese de 5-
hidroxylapachol. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**, v. 19 p. 828-830, 2010.

BOUAZIZ, Z.; NEBOIS, P.; FILLION, H. "AdditionsofcrotonaldehydeN,N-dimethylhydrazoneto p-quinonesunderultrasonicandthermalconditions" *Tetrahedron*,v.51, p 4057, 1995 (b) GERMERAAD, P.; WEYLER, W.; JR., MOORE, H. W. "Rearrangementsofazidoquinones. XIII. Synthesisof 2-alkenyl-2,3-dihydroindole-4,7-diones" **J.Org. Chem.**, v. 39, p. 781, 1974.

BOYLE, P. The globalisation of cancer.**Lancet**, v.368,p. 629-630, 2006.

BRUNMARK, A.; CADENAS E. Redox andadditionchemistryofquinoidcompoundsbiologicaland Its Implications. **Free Rad. Biol. Med.**, v.7, p. 435-437, 1989.

CAIRNS, R.A, KHOKHA, R.; HILL, R.P.; Molecular mechanisms of tumor invasion and metastasis: an integrated view. **Current Molecular Medicine**,v. 3 (7), p.659–671, 2003.

CAMARA, C. A.; PINTO, A. C.; ROSA, M. A.; VARGAS, M. D.; *Tetrahedron* 2001, v.57, p. 9569, 2001.

CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S.; SILVA, T. G.; MARTINS, R. M.; BARBOSA, T. P.; PINTO, A. C.; VARGAS, M. D. Molluscicidal activity of 2-hydroxy-[1,4]naphthoquinone and derivatives. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**,v.80, p; 329-334, 2008.

CARRASCO, H. A.; ESPINOZA, L. C.; CARDILE, V.; GALLARDO, C.; CARDONA, W.; LAMBARDO, L.; CATALÁN, K. M; CUELLAR, M. F.; RUSSO, A. **J. Braz. Chem.**,v.19 (3),p. 543 – 548, 2008.

CARRASCO, H. A.; ESPINOZA, L. C.; CARDILE, V.; GALLARDO, C.; CARDONA, W.; LAMBARDO, L.; CATALÁN, K. M; CUELLAR, M. F.; RUSSO, A. **J. Braz. Chem. Soc.**,v. 19 (3),p. 543 – 548, 2008.

CARRASCO, H. A.; ESPINOZA, L. C.; CARDILE, V.; GALLARDO, C.; CARDONA, W.; LAMBARDO, L.; CATALÁN, K. M; CUELLAR, M. F.; RUSSO, A. **J. Braz. Chem. Soc.**, v,19 (3),p 543 – 548,2008.

CHIANG, Y.H Chlorinationofoximes. I. Reactionandmechanismofthechlorinationofoximes incommercialchloroformandmethylenedichloride. **OrganicJournal Chemistry** , 36 (15), p. 2146-2155, 1971.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods For DilutionAntimicrobialSusceptibilityTests For BacteriaThatGrowAerobically. Approved Standard. 6.ed. Wayne: NCCLS, 2003. p.53. (NCCLS document M7-A6).

COELHO, T. S.; SILVA, R. S. F.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F. R.; SCAINI, C. J.; MOURA, K. C. G.; DA SILVA, P. A. Activity of β -lapachone derivatives against rifampicin-susceptible and -resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. **Tuberculose**, v.90, p. 203-297, 2010.

CUNHA, A. S.; LIMA, E. L. S.; PINTO, A. C.; ESTEVES-SOUZA, A.; ECHEVARRIA, A.; CAMARA, C. A.; VARGAS, M. D.; TORRES, J. C.; J. Braz. **Chem. Soc.**, v. 17, p.439, 2006. *Mol. Struct.*, v. 891, p 228, 2008

CUNHA, A. S.; LIMA, E. S.; PINTO, A. C.; ESTEVES-SOUZA, A.; ECHEVARRIA, A.; CAMARA, C. A.; VARGAS, M. D.; TORRES, J. C., **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.17, p. 439-442, 2006.

DA SILVA JÚNIOR, E. N.; SOUZA, M. C. B. V.; FERNANDES, M. C.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; PINTO, M. C. F. R.; LOPES, F. A.; DE SIMONE, C. A.; ANDRADE, C. K. Z.; PINTO, A. V.; FERREIRA, V. F.; DE CASTRO, S. L.; Synthesis and anti-trypanosomal activity of derivatives from nor-lapachones and lapachones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v.16, p. 5030– 5038, 2008 A.

DA SILVA JÚNIOR, E. N.; SOUZA, M. C. B. V.; FERNANDES, M. C.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; PINTO, M. C. F. R.; LOPES, F. A.; DE SIMONE, C. A.; ANDRADE, C. K. Z.; PINTO, A. V.; FERREIRA, V. F.; DE CASTRO, S. L.; Synthesis and anti-trypanosomal activity of derivatives from nor-lapachones and lapachones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* V.16, p 5030– 5038, 2008.

DA SILVA JÚNIOR, E. N.; SOUZA, M. C. B. V.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F. R.; FERREIRA, V. F.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; SILVA, R. S. F.; TEIXEIRA, D. V.; DE SIMONE, C. A.; DE CASTRO, S. L.; Naphthoquinoidal [1,2,3]-triazole, a new structural moiety active against *Trypanosoma cruzi*. **Eur. J. Med. Chem.** v.43, p. 1774-1780, 2008.

DA SILVA, M. N.; FERREIRA, V. F.; DE SOUZA, M. C. B. V. “Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados” **Quim. Nova.**, v. 26, p. 407, 2003.

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

DALLANOCE, C., MERONI, G., DE AMICI, M., HOFFMANN, C., KLOTZ, K., DE MICHELI, C. Synthesis of enantiopure Δ^2 -isoxazoline derivatives and evaluation of their affinity and efficacy profiles at human β -adrenergic receptor subtypes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 14, p. 4393-4401, 2006.

DE ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L.; LOPES, M. T. P. Cancer e agentes antineoplásicos específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Quim. Nova**, v. 28, p.118, 1995.

DEVI, G.S *et al* . Os radicais livres enzimas antioxidantes e peroxidação lipídica em diferentes tipos de leucemia..Dipple, adutos de DNA de A. carcinógenos químicos. **Carcinogênese**, v 16, p. 437 -441, 1995.

DODD, M. C., STILMAN, W. B., The vitro bacteriostaticactionof some simplefuranderivatives. The journalofpharmacologicaland Experimental Therapeutics, V. 82, n.4, p. 11-18. 1994.

EICHHORST, S.T.; KRAMMER, P.H.; Derangement of apoptosis in cancer.**Lancet.**, v. 358 (9279), p. 345–346, 2001

ESTEVES-SOUZA, A; FIGUEIREDO, D. V.; CAMARA, C.A.; VARGAS, M. D.; PINTO, A. C.; Cytotoxicand DNA-topoisomeraseeffectsoflapacholaminederivatives
EVAN G.I.;VOUSDEN, K.H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer.**Nature**v.411 (6835), p. 342–348, 2001.

FARINA, F .; WALLS, MC; STEFANI, V. Polyciclichydroxyquinones. XXIV. Diels-Alder reactionsof 5-amino-8-hydroxy-1,4-naphthoquinone. Novel transcycloadditionreactionswithderivativesof 1, 4-dihydro-1,4- methanoanthracene-9,10-dione. **Tetrahedron**,v. 42 (15), p.4309, 1986.

FERNANDES, I. C.; MELLO, A. A. Entendendo e Combatendo o Câncer. **Revista Tem**. Campina Grande, v. 7, n. 10-11, p. 2, 2008.

FERRAZ, P. A. L.; DE ABREU, F. C.; PINTO, A. V.; GLEZER, V.; TONHOLO, J.; GOULART, M. O. F. Electrochemicalaspectsoftheredutionofbiologicallyactive 2-hydroxy-3-alkil-1,4-naphthoquinones”**J. Electroanal. Chem.**,v. 504, p.275, 2001.

FERREIRA, V. F.; JORQUEIRA, A.; SOUZA, A. M. T.; SILVA, M. N.; SOUZA DE, M. C. B. V.; GOUVÊA, R. M.; RODRIGUES, C. R.; PINTO, A. V.; CASTRO, H. C.; SANTOS, D. O.; ARAÚJO, H. P.; BOURGUIGNON, S. C. “Trypanocidalagentswithlowcytotoxicitytomammaliancellline: A comparisonofthetheoreticalandbiologicalfeaturesoflapachone ”**Bioorg. Med. Chem.**, v.14, p. 5459, 2006.

FIDLER IJ. Critical factors in the biology of human cancer metastasis: twenty-eighth G.H.A. Clowes memorial award lecture. **Cancer Research** 50 (19), 6130–6138, 1990.

FOYE, WILLIAM. O. **Câncer quimioterápicos agentes** . 1^a ed. Washington DC: American ChemicalSociety, 1995.

FRANCISCO, A. I.; VARGAS, M. D.; CARNEIRO, J. W. M.; LANZNASTER, M.; TORRES, J. C.; CAMARA, C. A.; PINTO, A. C.; **J. Mol. Struct.**, v. 891, p. 228.2008.

FRANCISCO, A. I.; CASELLATO, A.; NEVES, A. P.; CARNEIRO, J. W. M.; VARGAS, M. D.; VISENTIN, L. C.; MAGALHÃES, A.; CÂMARA, C. A.; PESSOA, C.; COSTA-LOTUFO, L. V.; MARINHO FILHO, J. D. B.; MORAES, M. O.; J. BRAZ. **Chem. Soc.**, v.21, p.169, 2010.

FRANZI, S.A.; SILVA, P.G. Avaliação da qualidade de vida em pacientes submetidos à quimioterapia ambulatorial no Hospital Heliópolis. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.49(3), p. 153-158, 2003 .

GAFNER S; WOLFENDER JL; NIANGA M; STOECKLI-EVANS H; HOSTETTMANN, Antifungal and antibacterial naphthoquinones from New bouldialaevis roots. *Phytochemistry.*, v. 42, p. 1315-1320, 1996

GILES, G.I. A regulação redox de tiol vias de sinalização dependentes em câncer. **Curr. Pharm.**, v.12, p.4427-4443, 2007.

GOCHEVA, V.; ZENG, W.; KE, D.; KLIMSTRA, D.; REINHECKEL, T.; PETERS, C.; HANAHAN, D.; JOYCE, J.A. Distinct roles for cysteine cathepsin genes in multistage tumorigenesis. **Genes & Development.**, v.20 (5), p.543–556, 2006.

GOTHELF, K.V, JORGENSEN, K.A Asymmetric1,3 dipolarcycloadditionreactions. **ChemicalReviews** , 98 (2), p. 863-909, 1998.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.;. ROCHA, AB Morte POR celular apoptose **Rev.Bras.Cancerol.**, v. 53, n. 3, p. 335-343, 2007.

GUIRAUD, P.; STEIMAN, R.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. , SEIGLE-MURANDI F.; SIMEON DE BUOCHBERG, M. *Comparison of antibacterial and antifungal activities of lapachol and beta-lapachone.* **Planta Med.**, v. 60, p. 373-374, 1994.

GUPTE A.; cobre e oxidativoMumper R. elevados de estresse em células de câncer como uma alvo para o tratamento do **Clin. Chim. Acta**, v.293, p. 53-62, 2000câncer. **tratar o câncer. Rev.**, v.35, p. 32-46, 2009.

HALLIWELL, B.; CLEMENTE, M V.; LONG, LH O peróxido de hidrogênio no ser humano corpo. **FebbsLett.**, v.486, p. 10-13, 2000.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarksof câncer. **Cell**, v. 100, p.57-70, 2000.

HENGARTNER, M.O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, v.407 (6805),p. 770–776, 2000.

HOOKE, S.C. AConstituição de ácido Lapachic (Lapachol) e derivados. *JournalofChemicalSociety* , v. 6, p. 611-650, 1892

HUISGEN, R. OntheMechanismof 1,3 - dipolar Cycloadditions. **The Journal of OrganicChemistry**,v. 33 (6), 1968.

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMAD, V.U.; Miana, G.A. e Green, I.R.. Lapachol.: Uma visão **Arkivoc** , p. 145-171, 2007.

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMAD, V.U.; MIANA, G.A.; GREEN, I.R. LAPACHOL: an overview. *Arkivoc*, **2007**, 145-171.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Quimioterapia. Disponível em: http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=101 Acesso em: 27 de Nov de 2012.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Radioterapia. Disponível em: http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=100 acesso em: 15 de Nov de 2014.

IUPAC. GlossaryofTermsUsed in Medicinal Chemistry; 1998

JARABAK, R .; JARABAK, J. *The AscorbateEffectonthe DT-Diaphorase-mediatedredoxcyclingof 2-Methyl-1,4-naphtoquinone*. **ArchivesofBiochemistryand Biophysics**, v. 318, p. 418-423,. 1995.

JI-TAI L.I *, XIAO-LIANG L.I, TONG-SHUANG L.I; Synthesisofoximesunderultrasoundirradiation, **UltrasonicsSonochemistry**. V.13,p. 200–202. 2006.

KELLEN, J. A., Ed. ReversalofMultidrugResistance in Cancer. 1994, CRC Press, Boca Raton, F. L. (b) Bloom, B.R.; Murray, J. L. Science, 1992, 257, 1055. (c) Wolff, W. E.

KEPP, O,GALLUZZI, L.; LIPINSKI, M.; YUAN, J.; KROEMER, G. Cell death assays for drug discovery. **Nat Rev Drug Discov**.v 10, p 221–237, 2011.

KUMAGAI, Y.; ARIMOTO, T.; SHINYASHIKI, M.; SHIMOJO, N.; NAKAI, Y.; YOSHIKAWA, T.; SAGAI, M.; Generation of reactive oxygen species during interaction of diesel exhaust particles components with NADPH-cytochrome P450 reductase and involvement of the bioactivation in the DNA damage. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 22: p. 479–487, 1997.

KUMMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N.; ROBBINS & COTRAN – Pathology Basis of Disease, 7a. ed., WB Saunders: China, 2004.

LEE Y .; Shacter E. Oxidative stress inhibits apoptosis in human lymphoma cells. *J. Biol. Chem.*, v. 274, p. 19792-19798, 1999.

LEE, G.A. The Simplified synthesis of unsaturated nitrogen-heterocycles using nitrile Betaines. *Synthesis Communications* , 6, p. 508-509, 1982.

LIN, T.-S.; XU, S.-P.; ZHU, L.-Y.; COSBY, L. A.; SARTORELLI, A. C. “Synthesis of 2,3-diaziridinyl-1,4-naphthoquinone sulfonated derivatives as potential antineoplastic agents” *J. Med. Chem.*, v. 32, p. 1647, 1989.

LIU, K.J, SHELTON, B.R, HOWE, R.K A. Particularly convenient preparation of benzohydroximinoyl chlorides: nitrile oxide precursors. *Journal of Organic Chemistry* , v 45, p. 3916-3919, 1980.

LOURO, I. D.; LLERENA JR, J. C.; VIEIRA DE MELO, M. S.; ASHTON-PROLLA, P.; CONFORTI-FRÓES, N.; *Genética Molecular do Câncer*, 1a. ed., MSG Produção Editorial: São Paulo, 2002.

LUO, J.; SOLIMINI, N.L.; ELLEDGE, S.J. Principles of Cancer Therapy: Oncogene and Non-oncogene Addiction. *Cell*. v. 136(5), p. 823–837, 2009.
MANDA, G.; NECHIFOR, M.T.; NEAGU, T. Espécies reativas de oxigênio, câncer e terapias anti-câncer. *Curr. Chem. Biol.*, v.3, p. 342-366, 2009.

MARTINEZ, SABRINA T.; SILVA, BÁRBARA V.; PINTO, ANGELO C. Adição de anilinas à naftoquinona em água e em fase sólida. *Quim. Nova*, V. 35, No. 4, p.858-860, 2012.

MASUNARI, A. Planejamento, desenvolvimento e estudos de QSAR-2D e SAR-3D de derivados 5-nitro-tiofilidênicos com atividade frente a *Staphylococcus aureus* multi-resistente (CEB-clone Endêmico Brasileiro), tese de doutorado, Conjunto das Químicas-USP, 2005.

MATSUMOTO, Y.; TAKANO, H.; KUNISHIO, K.; NAGAO, S.; FOJO, T. "Expression of drug resistance genes in VP-16 and mAMSA-selected human carcinoma cells" **Jpn. J. Cancer. Res.**, v. 92, p. 778, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE- ABC do câncer : abordagens básicas para o controle do câncer / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro : Inca, 2011. 128 p. : il.

MONKS, T.J. Quinone chemistry and toxicity. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 112, p. 2-16, 1992.

MORRISON, M. ; STEELE, W. ; DANNER, D. J. Activity of Antistreptococcal MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, vol. 65, p. 55-63, 1983.

MÜLLER, K. ; Sellmer, A. ; Wiegrebe, W. Potential antipsoriatic Agents: Lapacho Compounds Potent Inhibitors of the HaCaT Cell Growth. **J. Nat. Prod.**, v. 62, p. 1134-1136, 1999.

MURPHY, G.P; Lawrence Jr., W. ; LENHARD, R. **Textbook of Clinical Oncology**. 2nd ed. [Sl]: American Cancer Society, 1995

NAGATA, K.; HIRAI, K.I.; KOYAMA, J.; WADA, Y. TAMURA, T. Atividade antimicrobiana de Novel Furanonaphthoquinone análogo. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 42 v., p. 700-702, 1998.

NASCENTE, L. C. **Síntese e Avaliação Citotóxica de Nitroderivados a partir do Safrol**. p. 8, 2009.

NETTO C. D., DA SILVA A. J. M, SALUSTIANO E. J. S., BACELAR T. S., RIÇA I. G., CAVALCANTE, M. C. M., RUMJANEK V. M., COSTA P. R. R.. New pterocarpanquinones: Synthesis, antineoplastic activity on cultured human malignant cell lines and TNF- α modulation in human PBMC cells; **Bioorganic & Medicinal Chemistry** v. 18, p. 1610-1616, fevereiro 2010.

OBERLEY, T.D Oxidative damage and cancer. **Am. J. Pathol**, v. 160, no. 2, 2002

O'BRIEN, P.J Molecular mechanisms of cytotoxicity quinine. **Chem. Biol. Interact.**, V.80, p. 1-41, 1991.

OLIVEIRA, C. G. T.; MIRANDA, F. F.; FERREIRA, V. F.; FREITAS, C. C.; RABELLO, R. F.; CARBALLIDO, J. M.; CORRÊA, L. C. D.; J. **Braz. Chem. Soc.**, v. 12, p. 339, 2001.

OLIVEIRA, M. F.; LEMOS, T. L. G.; DE MATTOS, M. C.; SEGUNDO, T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ, R.; New enamine derivatives of lapachol and biological activity. **An. Acad. Bras. Cienc.**, v. 74, p. 211-221, 2002.

PARKIN, D. M; The global health burden of infection associated cancers in the year. **IntJ Cancer**, v.118, p. 3030-3044, 2002.

PATERNÓ, E.;GAZZ. *Chim. Ital.* 1882, 12, 337. (b) Hooker, S. C. *J. Chem. Soc.* 1892, 61, 611. (c) Hooker, S. C. **J. Chem. Soc.**v 69,p. 1355,1896,.

PATRICK. *An introduction of medicinal chemistry*. São Paulo: Oxford University press, p. 397, 2001.

PELICANO, H.; Carney, D.; HUANG, P. ROS estresse no câncer de terapêutica implicações. **Resist drogas. Updat** ., v.7, p. 97 -110, 2004.

PETO J. Cancer epidemiology in the last century and the next decade.**Nature**, v.17;411(6835),p. 390-5, 2001.

PIO CORRÊA, M .; PENNA, L.A **Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das exóticas cultivadas** . 1 ed. Rio de Janeiro: IBDF, 1969.

PIRRUNG, M.C, TUMEY, N., RAETZ, C.R.H, JACKMAN J.E, SNEHALATHA, K., MCCLERREN, A.L, FIERKE, C.A, GANTT, S.L, RUSCHE, K. Inhibition of the antibacterial target UDP-(3 - O -acyl) - N -acetylglucosamine Deacetylase (LpxC): Isoxazoline Zinc Amidase Inhibitors bearing diverse metal binding groups. **Journal of Medicinal Chemistry** , 45 (19), p. 4359-4370, 2002.

PLENKIEWICZ, J., ZAGOZDA, M. Optically active nitrile oxides: synthesis and 1,3 dipolar cycloaddition reactions. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 18, p.1457-1464, 2007.

PLYTA, Z. F.; LI, T.; PAPAGEORGIOU, V. P.; MELLIDIS, A. S.; ASSIMOPOULOU, A. N.; PITSINOS, E. N.; COULADOUROS, E. A. "Inhibition of topoisomerase I by naphthoquinone derivatives" **Bioorg. Med. Chem. Lett.** v. 8, p. 3385, 1998.

RAO, K.V; MCBRIDE, T. J; OLESON, J. J. Reconhecimento e Avaliação de Lapachol como um agente antitumoral. **Cancer Research** , v. 28, p.1952-1954, 1968. RESENDE, P. Relações quantitativas estrutura-atividade de derivados 5-nitro-tiofilidênicos; Planejamento, síntese e determinação da atividade antimicrobiana frente a cepas de *Sthaphylococcus aureus*, conjunto das químicas . USP- 2002.

RODRIGUES, RC, DE Aguiar, AP A simple and efficient method for the synthesis of nitrile oxide from aldoxime using trichloroisocyanuric acid. **Synthetic Communications** , v. 31 (20), p. 3075-3080, 2001.

RÔMULO P. TENÓRIO, CRISTIANE S. CARVALHO, CARLA S. PESSANHA, JOSÉ G. DE LIMA, ANTÔNIO R. DE FARIA, CANTÔNIO J. ALVES, CEDÉSIO J. T. DE MELO, AND ALEXANDRE J. S. GÓES ,.

Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their in vitro anti-Toxoplasma gondii activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.**, v.15 p. 2575–2578, 2005.

SAIFY, Z.S. Role of the quinines moiety antitumour agents: a review **Pak. J. Pharm. Sci.**, v. 12, no.2, p. 21-23, 1999.

SALMON-CHEMIN, L. 2- and 3-Substituted 1,4-naphthoquinone Derivatives the Subversive Substrates of Trypanothione Lipoamide Reductase and Dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*: Synthesis and Correlation between Redox Cycling Activities and in Vitro Cytotoxicity. **J. Med. Chem.**, v. 44, p. 548, 2001.

SALUSTIANO, E.J.S.. Comparação do efeito citotóxico de lapachol, α -lapachona e pentacyclíco 1,4-naphthoquinonas em células leucêmicas humanas. **Invest. New Drugs**, v. 28, p. 139-144, 2009.

SANTANA, C. F.; LIMA, O.G. D'ALBUQUERQUE, I.L.; LACERDA, A.L.; MARTINS, D.G. Observações sobre as propriedades antitumorais e toxicológicas do extrato do líber e de alguns componentes do cerne do Pau d'arco (*Tabebuia avellana* edae). **Revista do Instituto de Antibióticos**, Recife/UFPE, v. 8 (1/2), p. 89 – 94, 1968.

SANTANA, C.F; SILVA, A.A. F. Primeiras observações com o emprego de lapachol em pacientes humanos portadores de neoplasias malignas. **Revista do Instituto de Antibióticos**, v. 8, p. 89-94, 1981.

SANTOS, D.A.; BARROS, M.E.S.; HAMDAN, J. *In vitro* methods for antifungal susceptibility testing of *Trichophyton* spp. **Journal of Clinical Microbiology**, v.44, p. 98–100, 2006.

SIEVEKING, IVAN; THOMAS, PABLO; ESTÉVEZ, JUAN C.; QUIÑONES, NATALIA; CUÉLLAR, MAURICIO A.; VILLENA, JUAN ; ESPINOSA-BUSTOS, CHRISTIAN; FIERRO, ANGÉLICA; TAPIA, RICARDO A. ; MAYA, JUAN D.; LÓPEZ-MUÑOZ, RODRIGO; CASSELS, BRUCE K.; ESTÉVEZ, RAMON J.; SALAS, CRISTIAN O.; 2-Phenylaminonaphthoquinones and related compounds: Synthesis, trypanocidal and cytotoxic activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** v.22 p. 4609–4620, 2014.

SILVA, M.N.; FERREIRA, V.F; SOUZA, M.C.B.V. Um panorama Atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e Derivados. **Quim. Nova**, v.26, p. 407-416, 2003.

SILVA, M.N; FERREIRA, V. F; SOUZA, M. C. B. V. Um panorama Atual da química e farmacologia de naftoquinonas com ênfase na β -lapachona e Derivados. **Química Nova**, v.26, p. 407-416, 2003.

SILVA, M.N; FERREIRA, V. F; SOUZA, M. C. B. V. Um panorama Atual da química e farmacologia de naftoquinonas com ênfase na β -lapachona e Derivados. **QuímicaNova** , v.26, p. 407-416, 2003.

SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; BARBOSA, T. P.; SOARES, A. Z.; CUNHA, L. C.; PINTO, A. C.; VARGAS, M. D.; **Bioorg. Med. Chem.**, v. 13,p. 193,2005.

SILVA, T.M.S.; CAMARA, C.A.; BARBOSA, T.P.; SOARES, A.Z.; DA CUNHA, L.C.; PINTO, A.C.; VARGAS, M.D. Molluscicidal activity of synthetic lapachol amino and hydrogenated derivatives. **Bioorg. Med.**, p. 2731-2738, 2002.

SILVERSTEIN, R.M, WEBSTER, F.X, KIEMLE, D.J Spectrometric Identification of Organic Compounds . 7th ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIMÕES, M. O; SCKENKEL, E.P; GOSMANN, G. **Pharmacognosy** : the plant medicine. 4. ed. Porto Alegre: Ed Universidade / UFRGS. Florianópolis: Ed.UFSC, 2002

SINGAL, P.K.; ILISKOVIC, N. O cloridrato de doxorubicina-cardiomiopatia induzida. **New England Jornal Medicina** , v. 300, p. 900- 905, 1998.

SKEHAN, P., STORENG, R., SCUDIERO, D., MONKS, A., MCMAHON, J., VISTICA, D., WARREN, J.T., BODESCH, H., KENNEY, S., BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 82(13), p. 1107-1112, 1990.

SOLOMONS, T.W.G, FRYHLE, C.B Organic Chemistry .v.2. 8th ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SORO Y., BAMBA F., SIAKA S., COUSTARD, J-M. One-step synthesis of diazadihydroacenaphthylene derivatives with an isoxazoline ring, starting from 1-benzylamino-1-methylsulfanyl-2-nitroethenes. **Tetrahedron letters**, v. 47, p. 3315-3319, 2006.

SPENCE, R. A. J.; JONHSTON, P. G. Em Oncology; Jonhston, P. G., ed; **Oxford University Press: Oxford**, p. 121-132, 2001.

SRIVASTAVA, V.; NEGI, J. K.; GUPTA, M.; KHANUJA, S. P. S. **Bioorg. Med. Chem.** V.13,p. 5892 , 2005.

STEWART, B.W.; KELIHUES. P. World cancer report. **International Agency for Research on Cancer**. Lyon, France, 2003.

SUH, M.-E.; PARKA, S.-Y.; LEE, C.-O.; Bioorganic and Medicinal Chemistry, , v.9,p. 2979-2986, 2001.

TANDON, V. K.; MAURYA, H. K.; MISHRA, N. N.; SHUKLA, P. K.; Design, synthesis and biological evaluation of novel nitrogen and sulfur containing hetero-1, 4-naphthoquinones as potent antifungal and antibacterial agents **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p.3130-3137, 2009.

TAPIA, R. A.; CANTUARIAS, L.; CUÉLLAR, M.; VILLENA, J.; **J. Braz. Chem. Soc.**, v.20, p.999, 2009,

THOMSON, R. H.; *Naturally Occurring Quinones*; Academic Press, London: New York, 585, 1971.

THOMSON, R. H.; *Naturally Occurring Quinones*; Academic Press, London: New York, 585, 1971.

TOMASZ, M. MITOMYCIN C., *Chemistry and Biology.*, v. 2, p.575-579, 1995.

Toxicology , v. 13, p. 135-160, 2000.

TRABULSI, L. R. , ALTERTHUM, F. GOMPERTZ, O. E, CANDEIAS, J. A. *Microbiologia*, 3ª Ed. **Edt. Atheneu**, 2002.

TRACHOOTHAM, D.; ALEXANDRE, J.; HUANG, P. Segmentação células cancerosas por ROS- mecanismos mediados: uma abordagem terapêutica radical **Discov Drogas** , v.8, p.. 579 -591, de 2009

.

VENNERSTROM, J. L.; EATON, J. W. “Oxidants, oxidant drugs, and malaria” **J. Med. Chem.**, v. 31, p. 1269, 1988.

VERMA, R.P. Anti-câncer Atividades de 1,4-Naftoquinonas: Um Estudo QSAR. *AntiCanc. Agentes Med. Chem* ., v. 6, p. 489-499, 2006.

VERMEULEN, K.; VAN BOCKSTAELE, D. R.; BERNEMAN, Z. N. Cell cycles and apoptosis. **Cell Prolif.**, v. 36, p. 131. 2003.

WANG, J. C. “DNA topoisomerases” *Annu. Rev. Biochem.*, v.65, p. 635-692, 1996.

WATSON - <http://www.cshl.edu/Article-Page/nobel-laureate-james-watson-publishes-novel-hypothesis-on-curing-late-stage-cancers-sábado>, 1 de março de 2014

WEI, P. Inibidores potenciais novos de topoisomerases de ADN, parte II: Projeto e síntese de derivados de α -lapachona sob irradiação de microondas. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 828-830, 2009.

WEIDNER-WELLS, M., WERBLOOD, H. GOLDSCHMIDT, R., BUSH, K.; FOLENO, BD, HILLIARD, JJ, MELTON, J., WIRA, E., MACIELAG, MJ The synthesis and antimicrobial evaluation of a new series of isoxazolinyl oxazolidinones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 3069-3072, 2004.

WOODWARD, R.B, HOOFMANN, R. Stereochemistry of Reactions Electrocyclic. **American Journal of the Chemical Society**, v. 87 (2), p. 395-397, 1965.

XIAOMEI, M. A.; HERBERT, Y.U. Global Burden of Cancer. **Yale J Biol Med.**, v. 79(3-4), p. 85-94, 2006.

YOON, E. Y.; CHOI, H. Y.; SHIN, K. J.; CHI, D. Y.; KIM, D. J. "The regioselectivity in the reaction of 6,7-dihaloquinoline-5,8-diones with aminonucleophiles in various solvents" **Tetrahedron Lett.**, v. 51, p. 4057, 1995
ZHOU, Z. *et al*. Estudos cinéticos e de ancoragem da interação de Quinones com a Quinona redutase do site Ativo. **Bioquímica**, v. 42, p. 1985-1994, 2003

ANEXOS

ANEXO A

ANEXO A: Espectro de RMN-1H dos derivados obtidos

COMPOSTO 1a

Jannieres
Amostra JD 14
Solicitação N. L0610-14
02.07.2013 UFPE

Sample Name:

Data Collected on:
varian400-vnmr400
Archive directory:

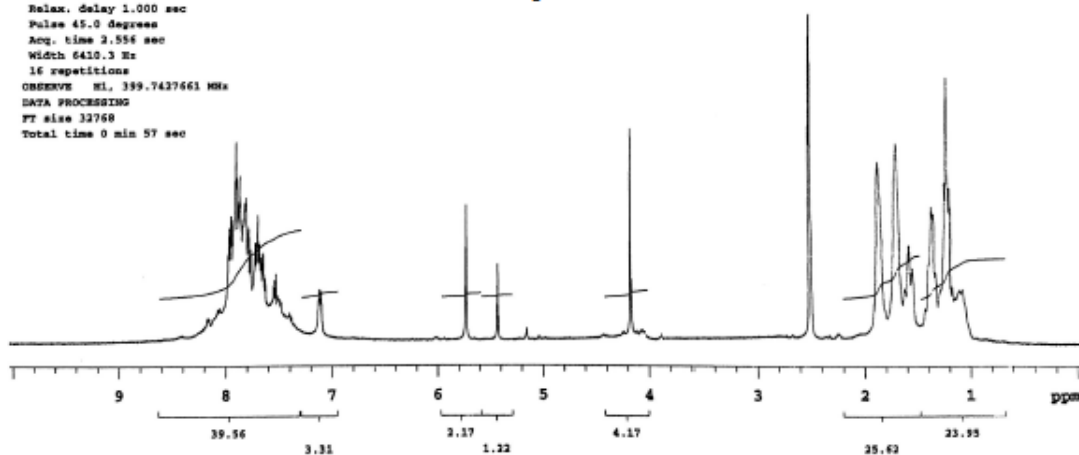
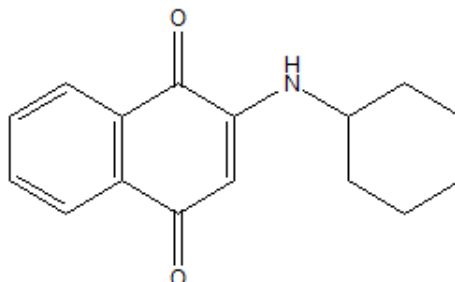
Sample directory:

Fidfile: L0610_14.1h

Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Jul 2 2013

Operator: ricardo

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1 399.7427661 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min 57 sec



COMPOSTO 1b

Jannieres
Amostra JD 16
Solicitação N. L0610-16
02.07.2013 UFPE

Sample Name:

Data Collected on:
varian400-vnmr400
Archive directory:

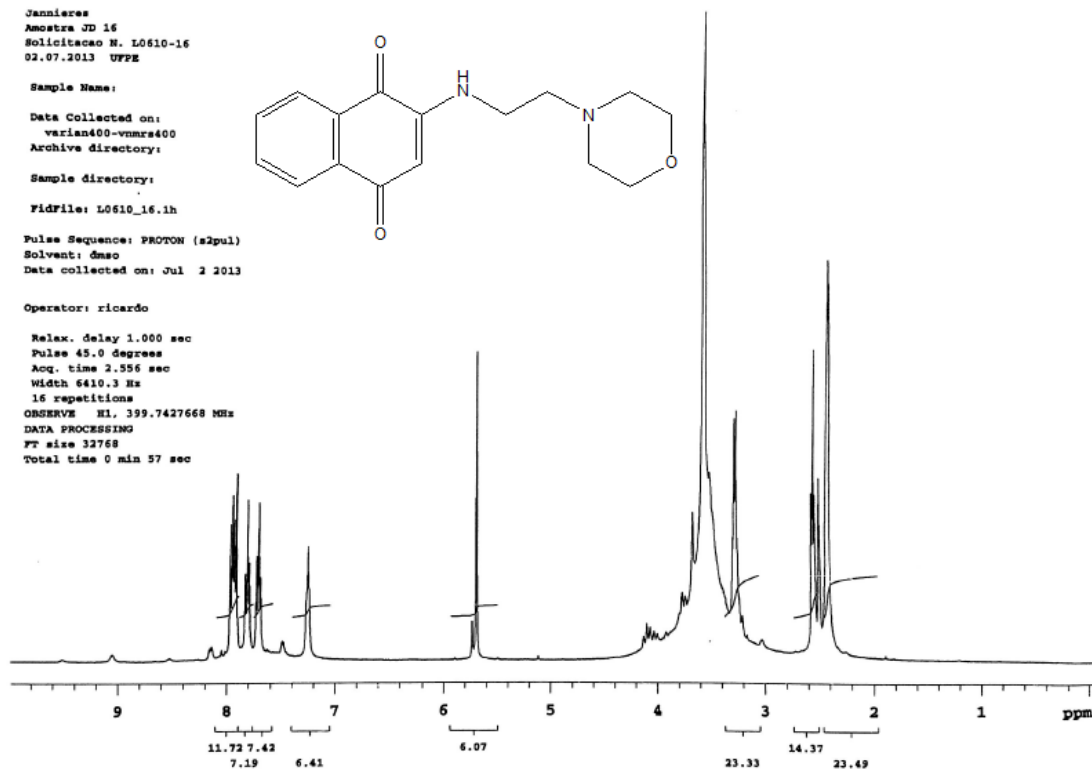
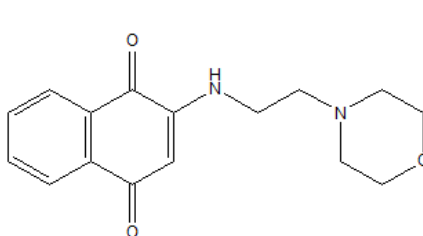
Sample directory:

Fidfile: L0610_16.1h

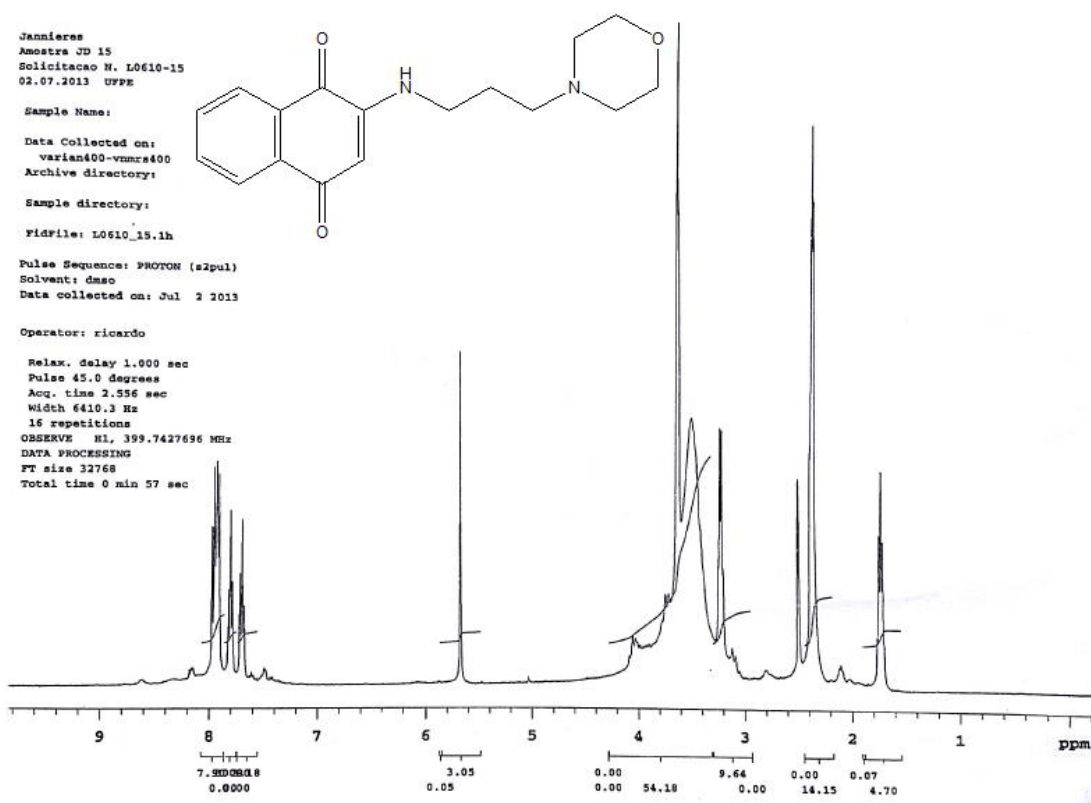
Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Jul 2 2013

Operator: ricardo

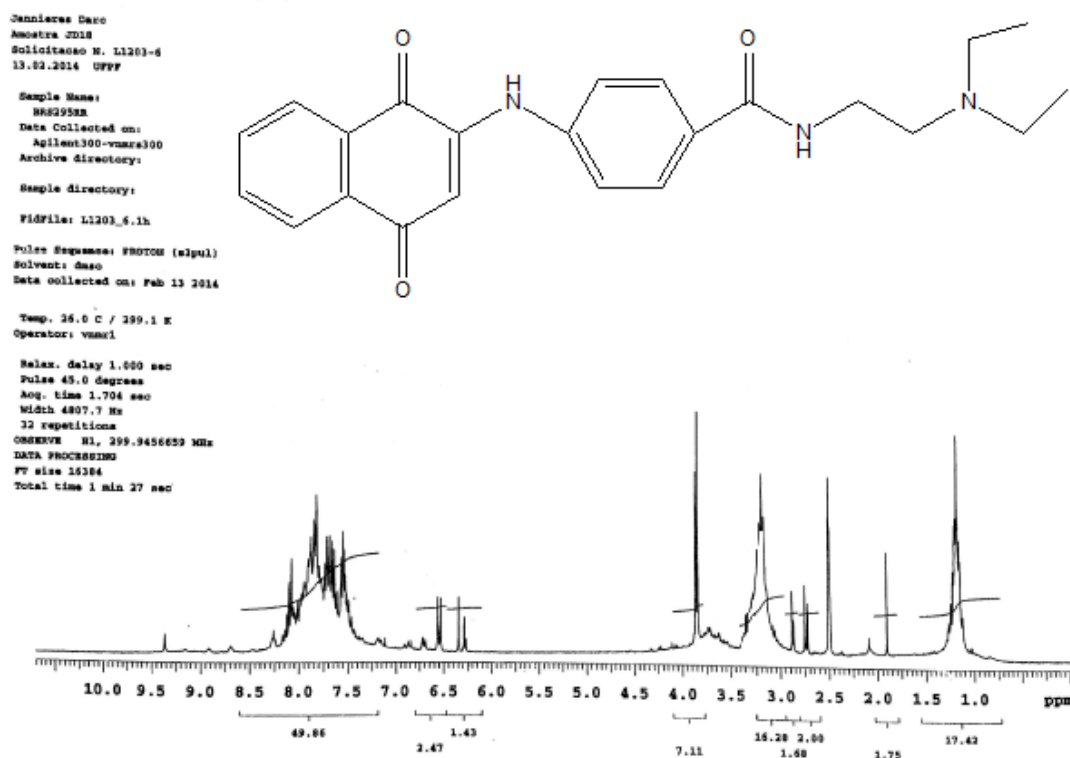
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1 399.7427668 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min 57 sec



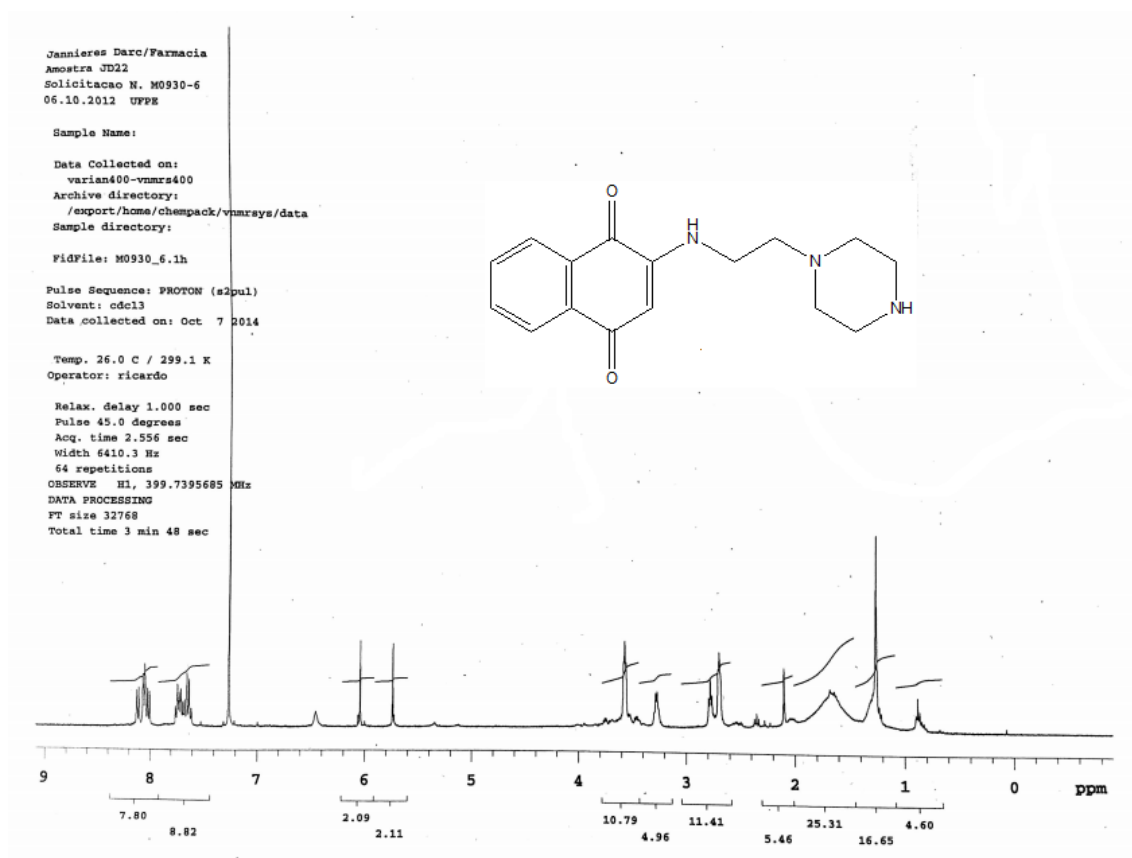
COMPOSTO 1c



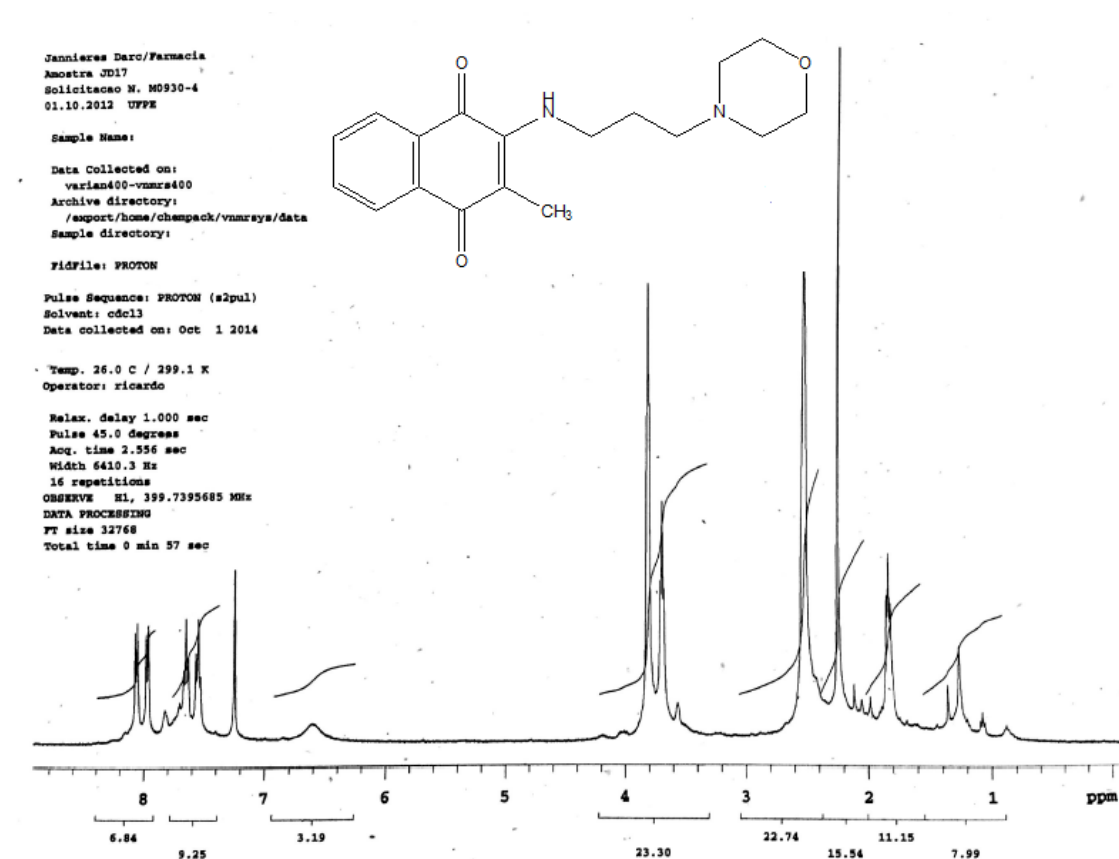
COMPOSTO 1d



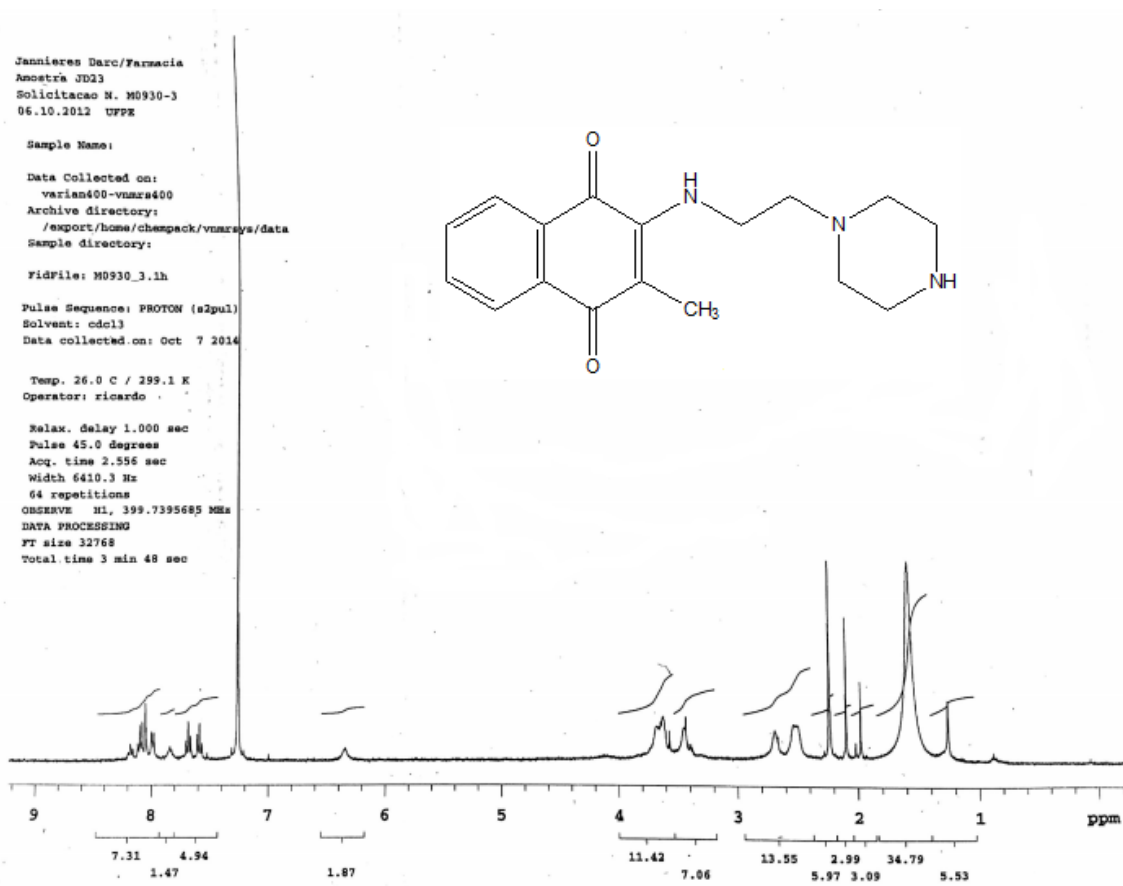
COMPOSTO 1e



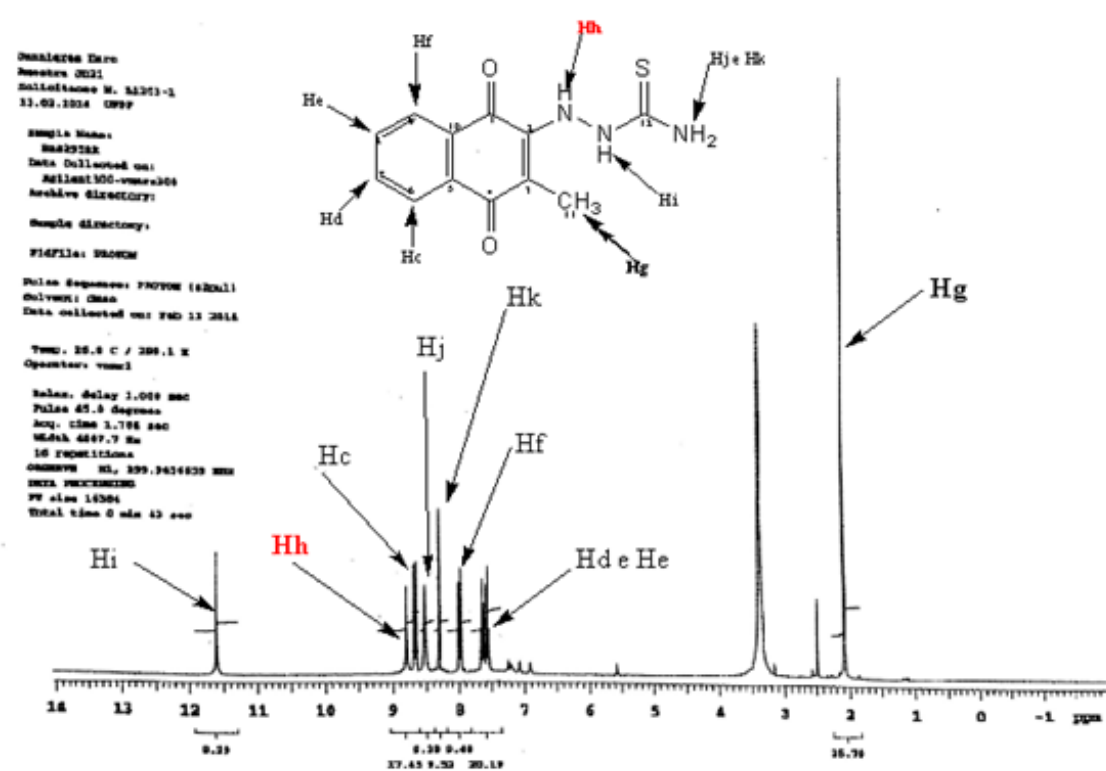
COMPOSTO 2c



COMPOSTO 2e



COMPOSTO 2f



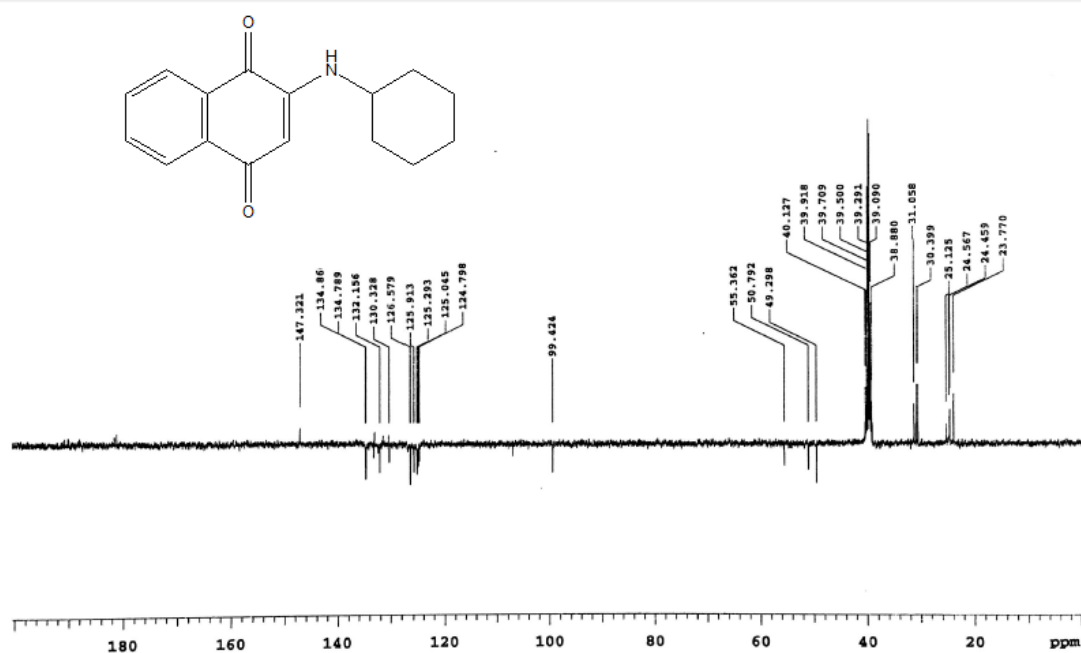
COMPOSTO 4a

JANNIERES DARC DA SILVA

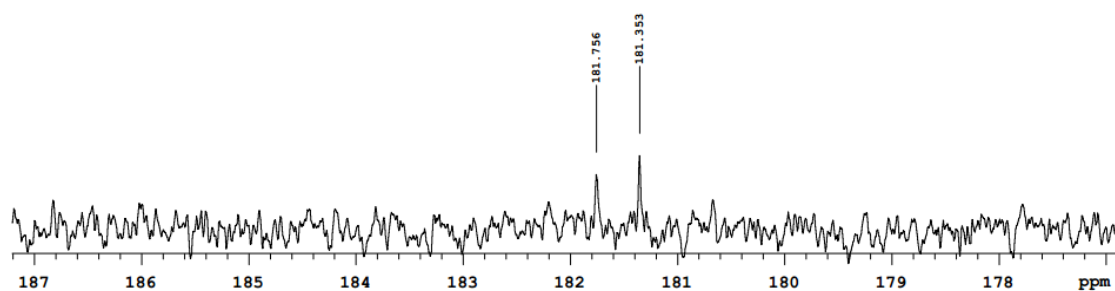
ANEXO B

ANEXO B: Espectro de RMN-13C dos derivados obtidos

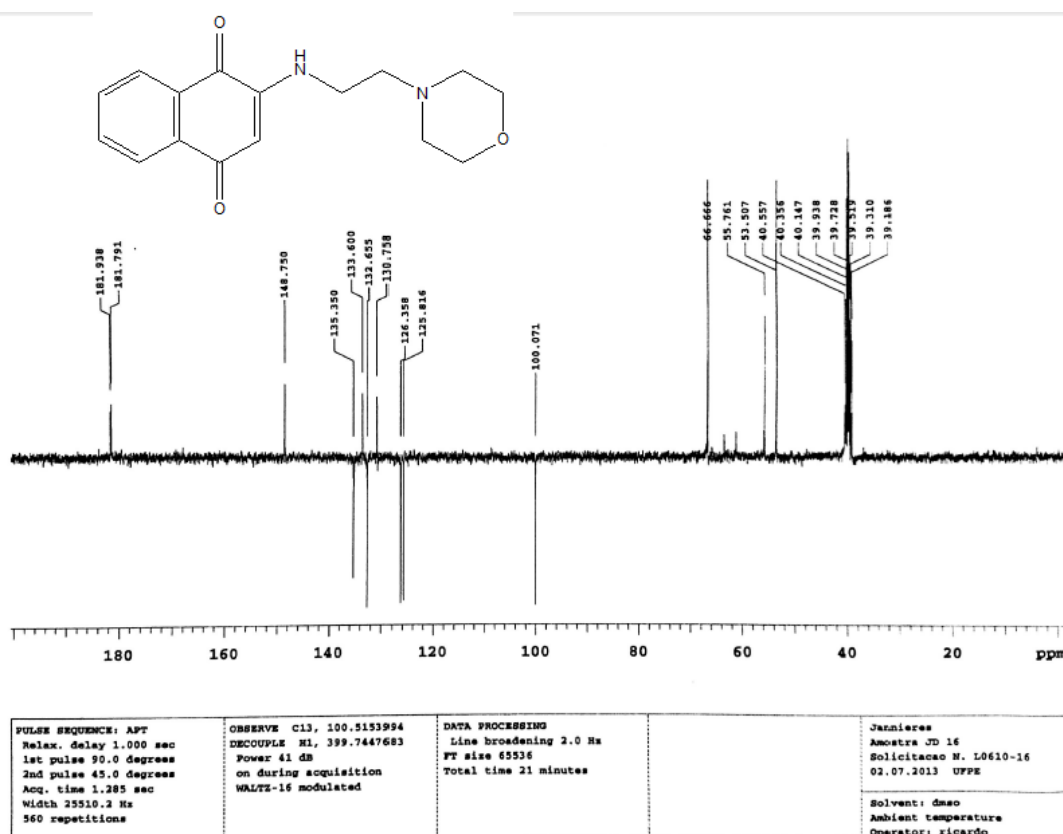
COMPOSTO 1a



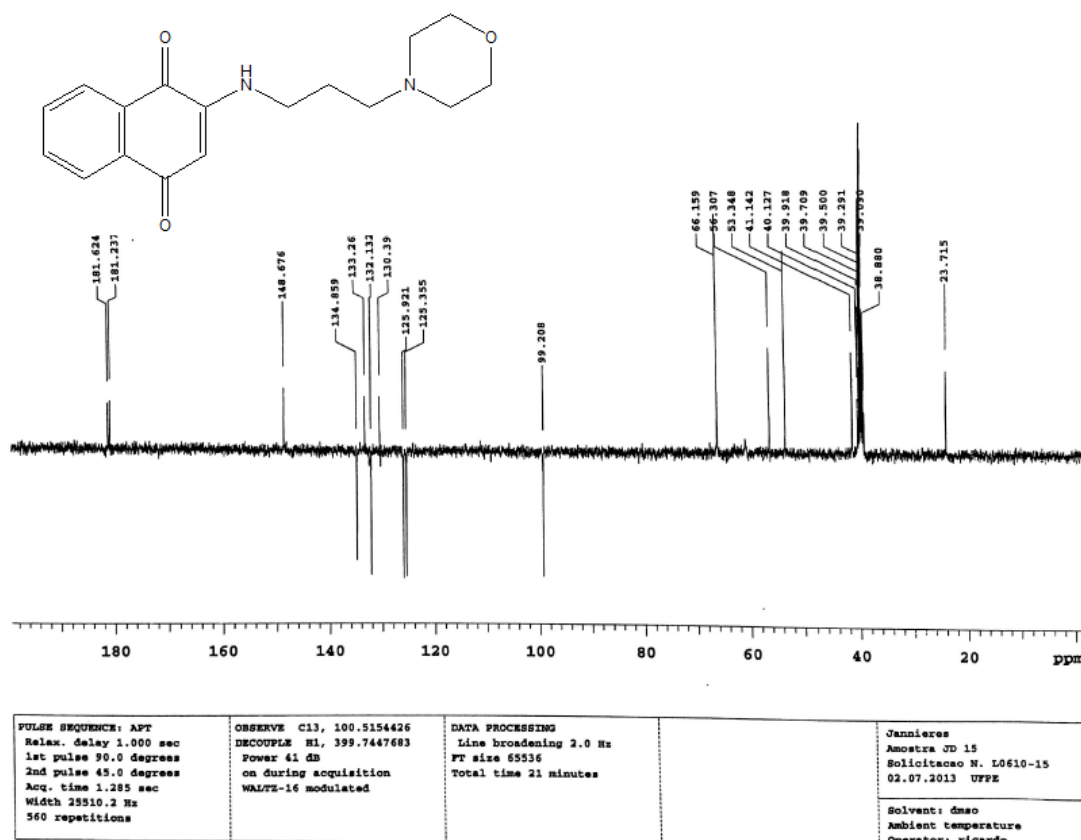
PULSE SEQUENCE: APT Relax. delay 1.000 sec 1st pulse 90.0 degrees 2nd pulse 45.0 degrees Acq. time 1.285 sec Width 25510.2 Hz 1600 repetitions	OBSERVE C13, 100.5154433 DECOUPLE H1, 399.7447683 Power 41 dB on during acquisition WALTZ-16 modulated	DATA PROCESSING Line broadening 2.0 Hz FT size 65536 Total time 61 minutes	Jannieres Amostra JD 14 Solicitacao N. L0610-14 02.07.2013 UFPE
			Solvent: dmsc Ambient temperature Operator: ricardo



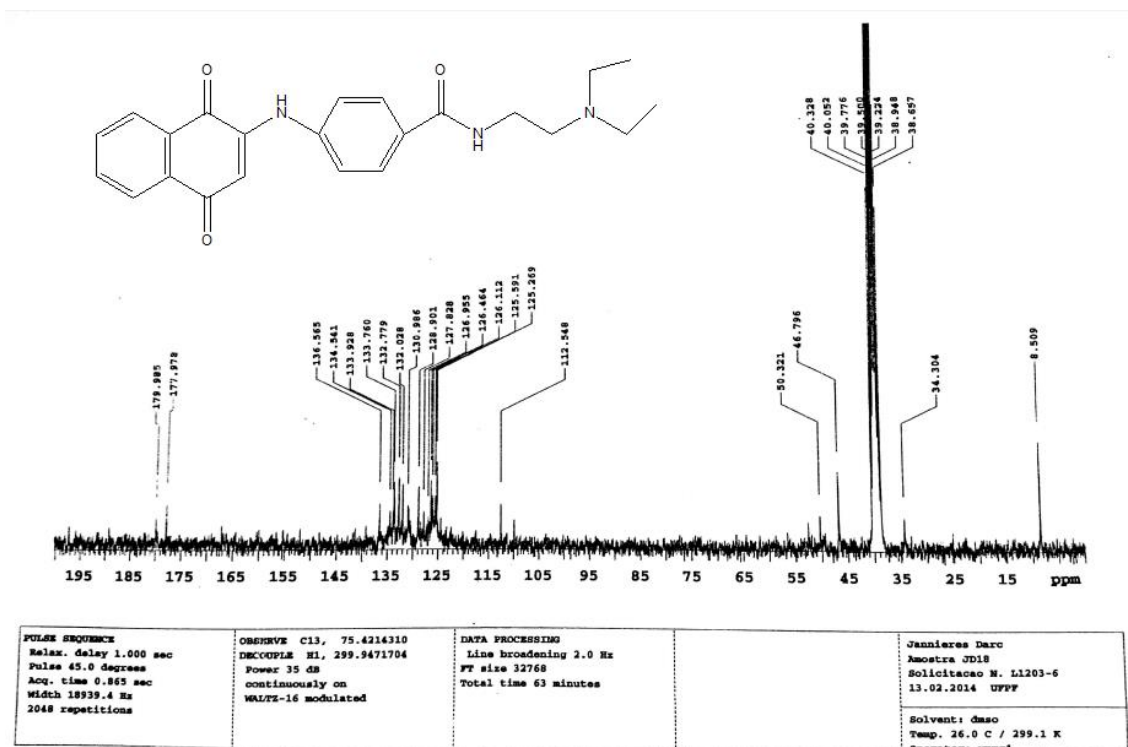
COMPOSTO 1b



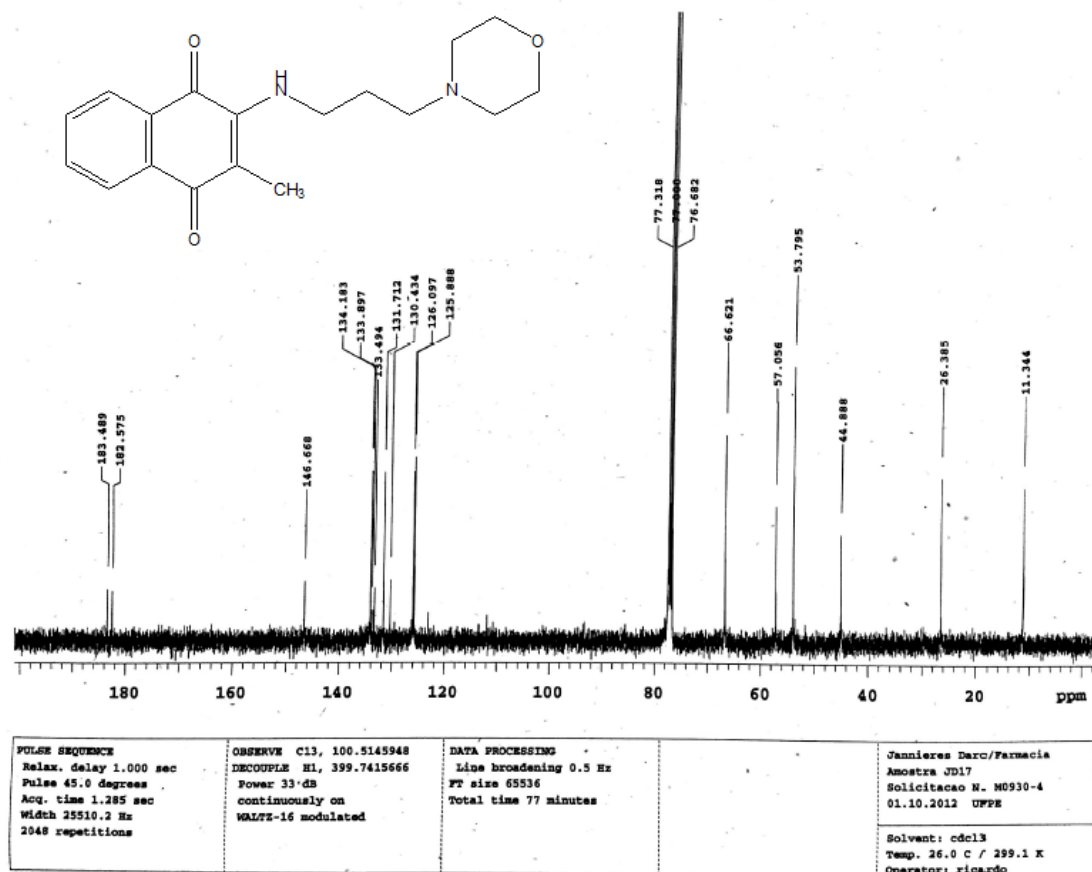
COMPOSTO 1c



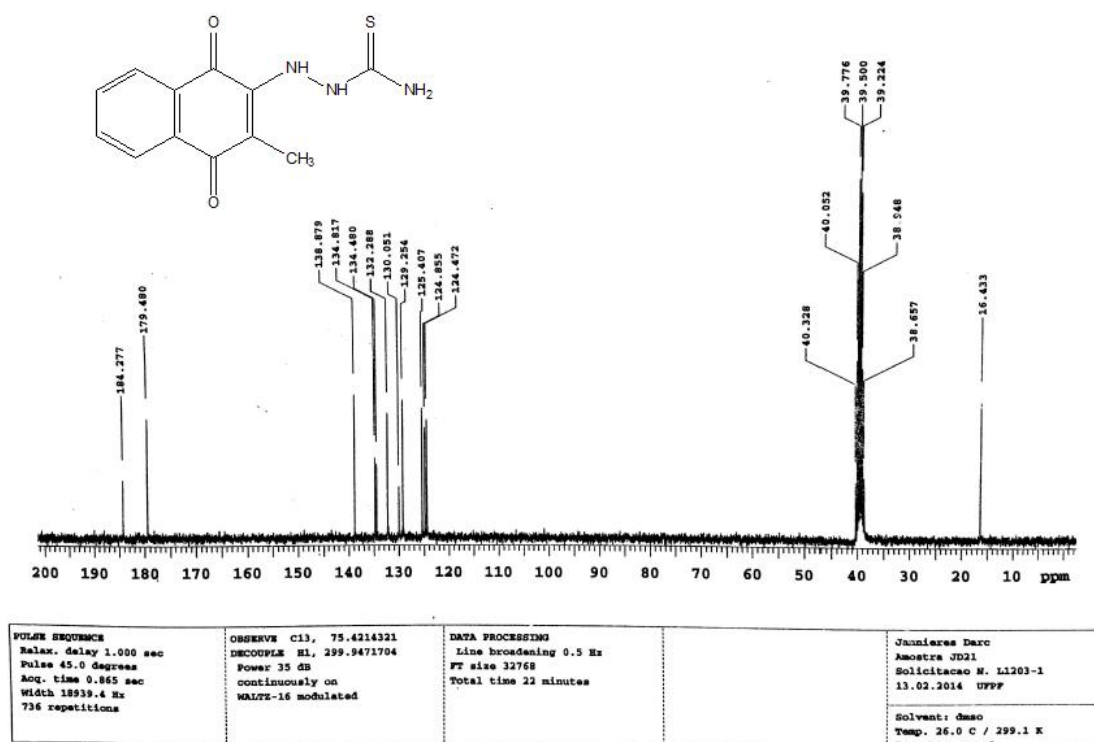
COMPOSTO 1d



COMPOSTO 2b



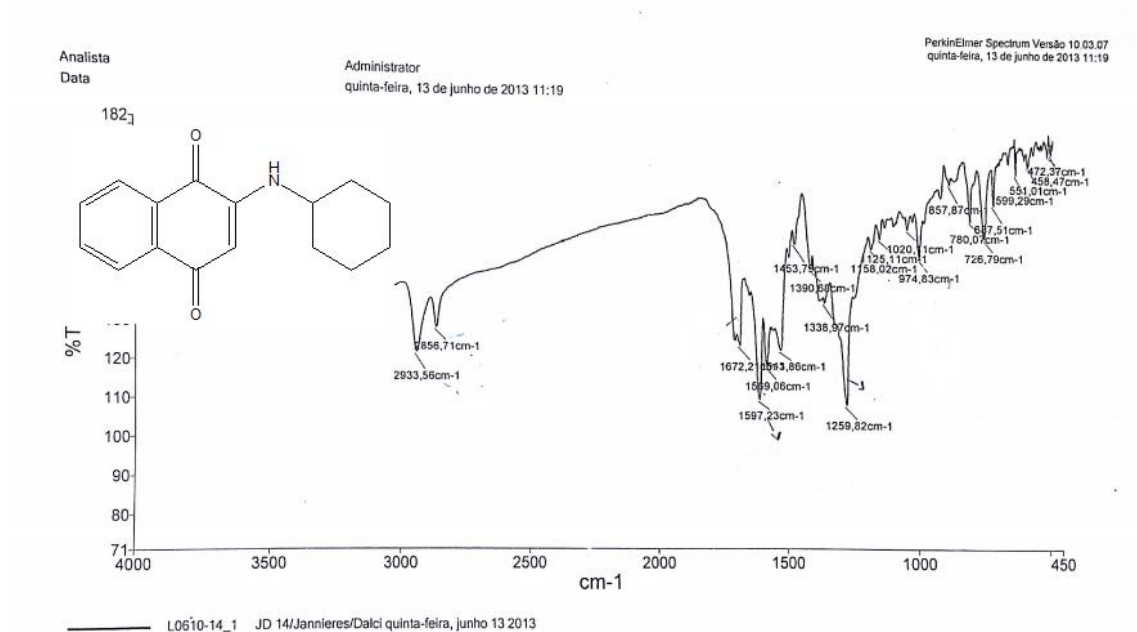
COMPOSTO 2f



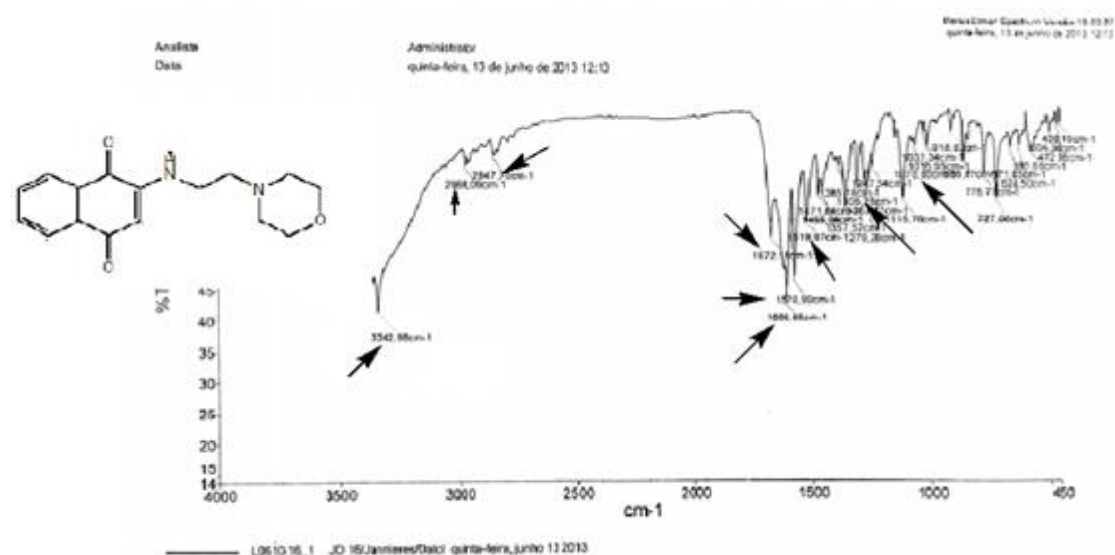
ANEXO C

ANEXO C: Espectro de IV dos derivados obtidos

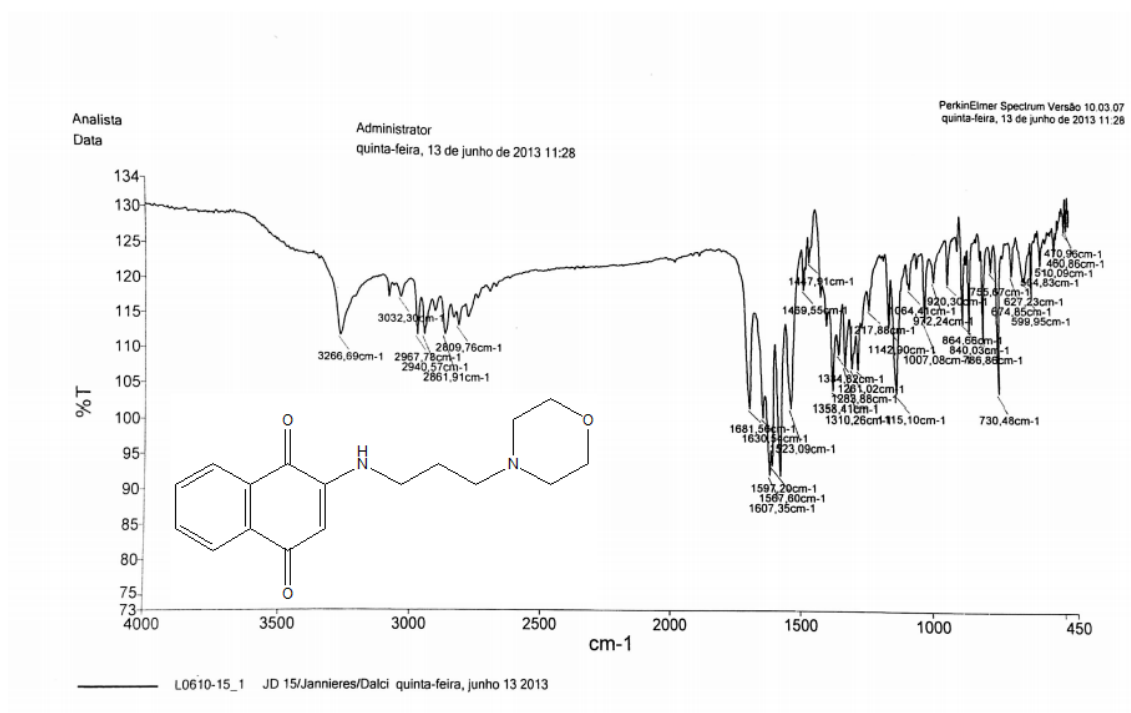
COMPOSTO1a



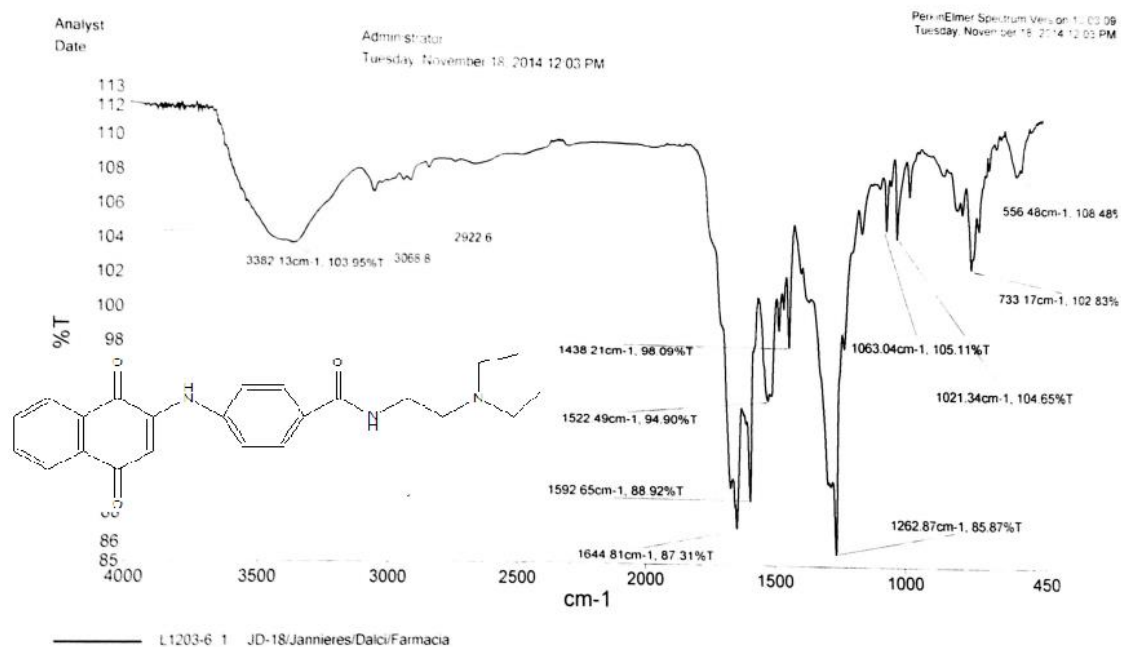
COMPOSTO1b



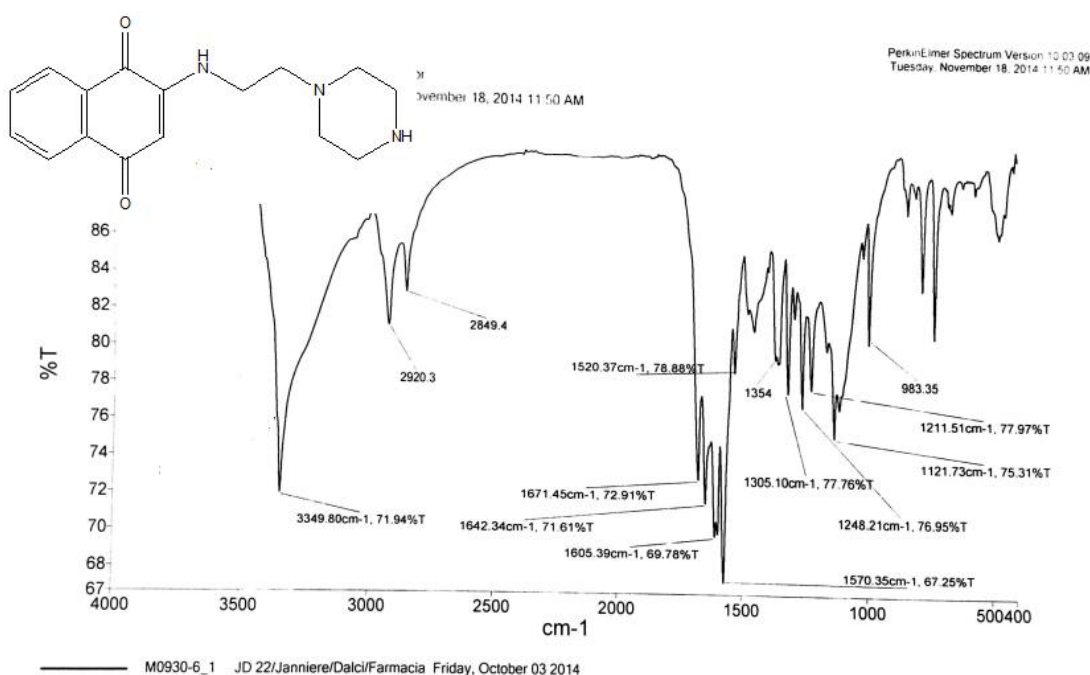
COMPOSTO1c



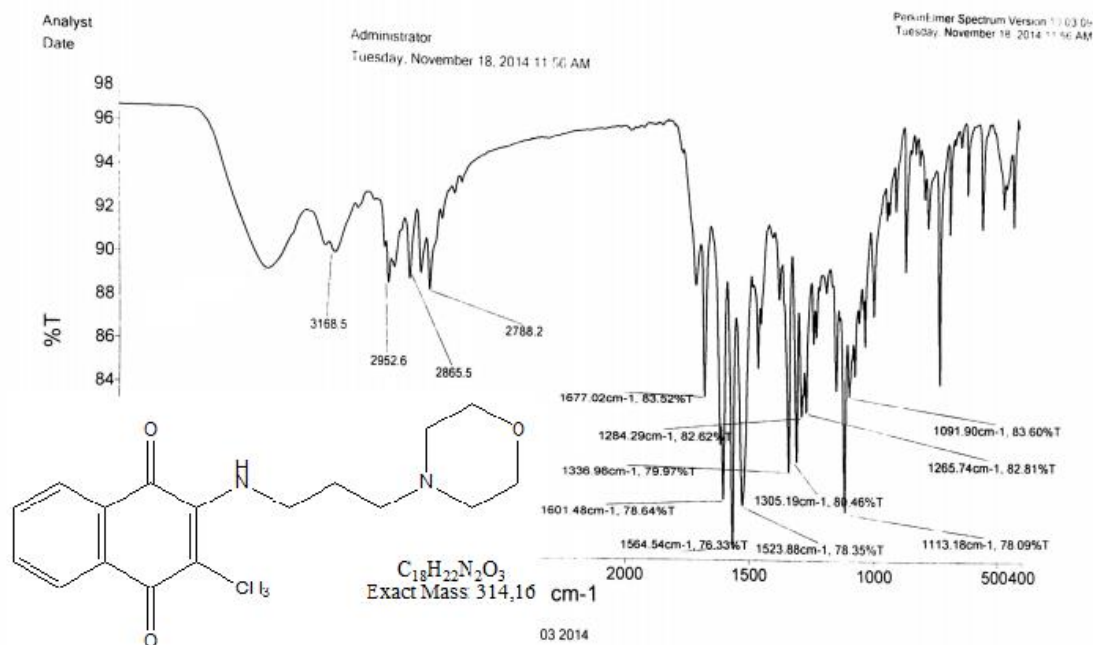
COMPOSTO1d



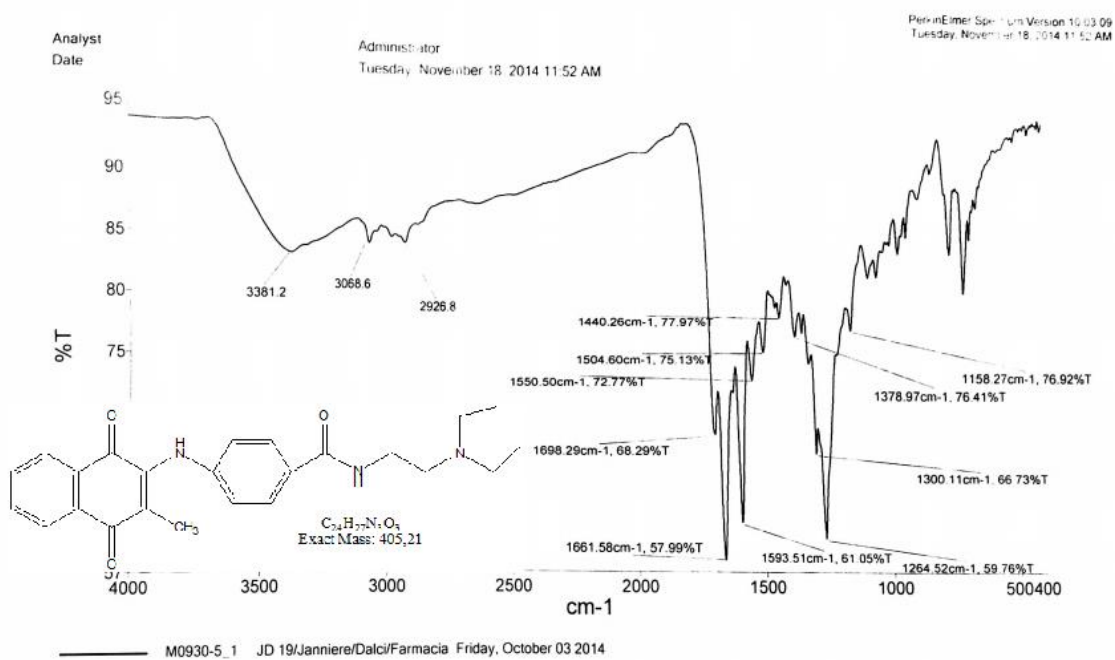
COMPOSTO1e



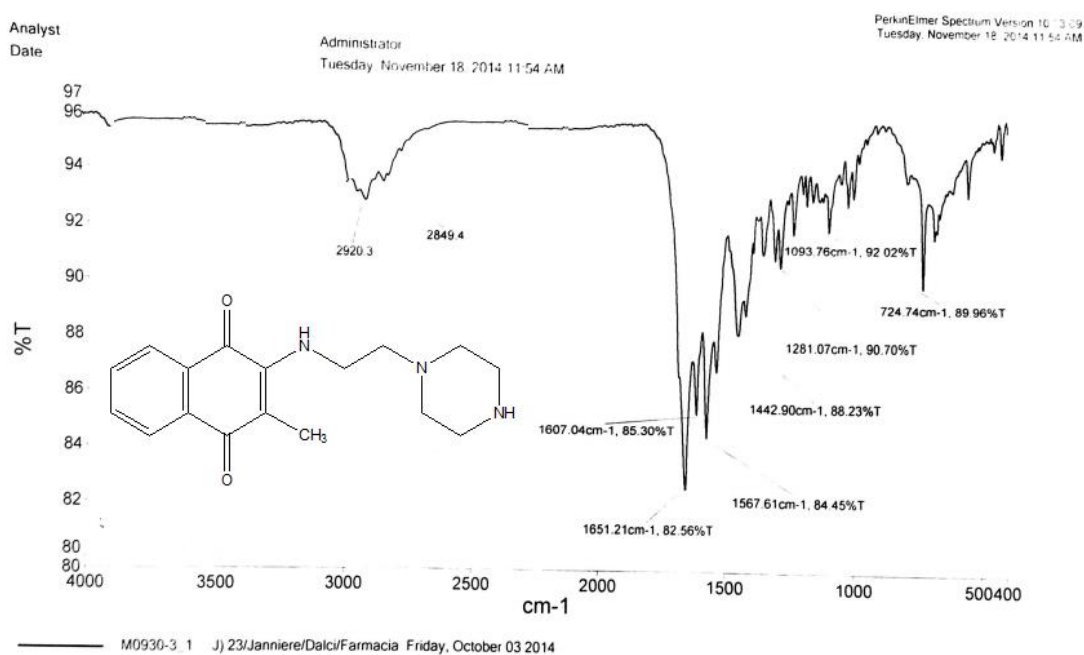
COMPOSTO2c



COMPOSTO2d



COMPOSTO2e



COMPOST02f