

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

***UTILIZAÇÃO DO SAFROL NA SÍNTESE DE
DERIVADOS DO NÚCLEO PIRROLOQUINOLINA,
POTENCIALMENTE ÚTEIS COMO
ANTINEOPLÁSICOS***

MIGUEL RASCADO FRAGUAS NETO

SOB ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR
DR. MARCO EDILSON FREIRE DE LIMA

1997

**UTILIZAÇÃO DO SAFROL NA SÍNTESE DE DERIVADOS DO
NÚCLEO PIRROLOQUINOLINA, POTENCIALMENTE ÚTEIS
COMO ANTINEOPLÁSICOS**

por

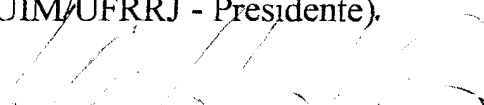
MIGUEL RASCADO FRAGUAS NETO

TESE APROVADA EM 31/10/1997.

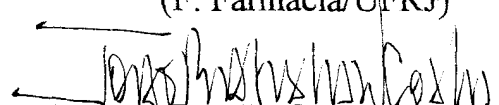
Banca Examinadora:




Prof. Dr. Marco Edilson Freire de Lima
(DEQUIM/UFRRJ - Presidente).



Prof. Dr. José Gildo de Lima
(F. Farmácia/UFRRJ)



Prof. Dr. João Batista Neves da Costa
(DEQUIM/UFRRJ)



Prof.^a Dra. Rosane Nora Castro
(DEQUIM/UFRRJ - Suplente)

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, junto ao Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Marco Edilson Freire de Lima, pela orientação e importantes discussões teóricas.

À banca, examinadora, por aceitarem meu convite.

À prof.^a Dra. Rosane Nora de Castro, pelos espectros de massa. À Áurea e à Francis, pelos espectros de RMN. Ao Eli e ao Carlão pelos espectros de IV e ao Dari pela colaboração e ajuda concedida no Cromatógrafo Gasoso.

Ao Rubem, Hélio Júnior e Porfírio por me ajudarem a resolver os inúmeros problemas com o computador.

Ao Fábio pelo concerto de algumas vidrarias em momentos de desespero.

Aos meus companheiros de laboratório, pelo bom convívio durante estes anos, e principalmente ao Olegário, pela grande ajuda que me prestou durante todo meu trabalho de tese.

Aos professores do Departamento de Química, que muito contribuíram ao longo desse aprendizado.

Aos amigos do PQ, Javier, Edson, Marcia, Raquel, Marco Antônio, Antônio Isolane, Aurilucia, Denise, Patrícia, Sílvio, Geizi, Carlão, Profeta, Margarete, Andréa e Roberto, pelo carinho e amizade.

A CAPES, pelo auxílio financeiro.

Aos meus grandes amigos, Pedro, Kleber, Roberto, Gino, Gazeta, Marinete e Filipe, pelo companheirismo e solidariedade sempre presentes.

Aos meus pais pela força e amor a mim dedicados por toda a vida.

À minha irmã e ao meu cunhado, que sem a ajuda deles seria muito difícil traçar este caminho.

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
Índice de figuras	iii
Índice de esquemas	iv
Índice de tabelas e quadros	vi
Índice de espectros	vii
Lista de abreviaturas	viii
I. Introdução	1
I.1 - O câncer no Brasil	2
I.2 - As principais formas de tratamento do câncer.	6
II. Objetivos e Justificativa	38
III. Resultados e Discussão	42
III.1 - Análise retrossintética	43
III.2 - Preparação da Indanona	44
III.3 - Tentativa de Inserção de Nitrogênio. Preparação da Lactama 7	45
III.4 - Preparação da Lactama 7 (Método 1)	47
III.5 - Preparação da Lactama 7 (Método 2)	54
III.6 - Utilização da Lactama 7 como precursor do núcleo pirroloqui- nolina	60
III.6.1 - Reação de cicloadição 1,3-dipolar da oxazolona meso- iônica, com o éster dimetílico do ácido acetileno dicar- boxílico (DMAD)	62
IV. Conclusões e Perspectivas	73

V. Parte Experimental	76
V.1 - Material e Métodos	76
V.2 - Preparação do Alil-3,4-(metilenodioxo)-6-nitro-benzeno	79
V.3 - Preparação do aldeído-(3,4-metilenodioxo-6-nitro)-fenil-acrílico	82
V.4 - Preparação do éster metílico do ácido-(3,4-metilenodioxo-6-nitro)- -fenil-acrílico em uma única etapa	85
V.5 - Preparação do éster metílico do ácido-(3,4-metilenodioxo-6-nitro)- -fenil-acrílico	88
V.6 - Preparação do 7,8-metilenodioxo-(1,2,3,4-tetraidro-2-oxo-iso- quinolina)	90
V.7 - Preparação do ácido-(3,4-metilenodioxo)-fenil-acrílico	94
V.8 -Preparação do ácido-(3,4-metilenodioxo)-fenil-propiónico	97
V.9 - Preparação do ácido-3-(3,4-metilenodioxo-6-nitro)-fenil-propió- nico	100
V.10- Preparação do 7,8-metilenodioxo-(1,2,3,4-tetraidro-2-oxo-iso- quinolina) a partir do nitroácido 11	103
V.11 -Preparação do ácido-7,8-metilenodioxo-(1,2,3,4-tetraidro-2- oxo-isoquinolina- 1-il)-ácido acético	105
V.12 - Preparação do éster dimetílico do ácido-7,8-metilenodioxo-4,5- -diidropirrólo [1,2-a]quinolina-2,3 -dicarboxílico	110
V.13- Preparação do 7,8-metilenodioxo-2,3-bis(hidrometil)-4,5-diiso- pirrólo [1,2-a]quinolina	113
V.14- Preparação do 7,8-metilenodioxo-2,3-bis(hidrometil)-4,5-diiso- pirrólo[1,2-a]quinolina bis acetato	117
VI. Referências Bibliográficas	121

RESUMO

O desenvolvimento de novas moléculas úteis no tratamento do câncer constitui-se como uma das principais frentes de trabalho dos cientistas envolvidos em pesquisas na área dos antitumorais. Estas substâncias, em sua grande maioria, inibem um determinado caminho metabólico essencial à sobrevivência ou à reprodução das células cancerosas.

Baseados numa série de compostos relatados por Anderson e cols., os quais apresentaram interessante perfil de atividade antitumoral, utilizamos o safrol como material de partida visando a preparação desses sistemas pirroloquinolina.

Foram desenvolvidas duas rotas sintéticas para obtenção do nosso intermediário-chave (lactama **7**), uma a partir do safrol e a outra a partir do piperonal. Uma vez obtido o intermediário-chave, partimos para a construção do núcleo heterocíclico pirrólico, presente no produto final **1a**.

Os resultados obtidos demonstraram a viabilidade da utilização de produtos naturais na síntese de moléculas de interesse biológico. A preparação de mais alguns derivados *bis*-eletrofílicos permitirá uma avaliação mais abrangente da atividade citotóxica destas moléculas, bem como do seu potencial antitumoral.

ABSTRACT

The search for new useful molecules for the treatment of neoplastic diseases is the main purpose of scientists involved in the area of antitumorals. The majority of these substances inhibit a metabolic pathway essential either to the survival of neoplastic cells or to their reproduction.

This work describes the utilization of natural safrole **2** isolated from Sassafras (*Ocotea pretiosa*, Benth) in the synthesis of new pyrrolequinoline derivatives **1** potentially useful as antineoplastic drugs. Two synthetic paths were developed for the preparation of the key intermediate **7** starting from safrole and from its synthetic derivative piperonal **20**. Through a 1,3-dipolar cycloaddition reaction we prepared the pyrrole moiety present in the structure of final products.

The results obtained demonstrate the feasibility of employing natural products as starting materials in the synthesis of biologically active molecules. The preparation of some bis-electrophiles from precursor **11** and the investigation of their cytotoxic activity may afford new potential antitumoral drugs.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura:

1 - Número de óbitos por câncer para o ano de 1996, segundo faixa etária - Brasil	4
2 - Estruturas de algumas mostardas nitrogenadas	15
3 - Estruturas de alguns agentes alquilantes	19
4 - Estruturas de alguns antimetabólitos	23
5 - Alcalóides da Vinca	25
6 - Epipodofilotoxinas	27
7 - Estrutura do Taxol	29
8 - Estruturas de alguns antibióticos	32
9 - Estrutura do aduto mitomicina/guanina	33
10 - Estruturas de agentes antineoplásicos diversos	35
11 - Compostos desenvolvidos por Anderson e Cols	40
12 - Estrutura da mitomicina C	40
13 - Novos <i>bis</i> -eletrófilos, derivados do núcleo pirroloquinolina 1 , a serem preparados a partir do safrol 2	41
14 - Dados espectrométricos da lactama 7	58
15 - 1,3-Dipolos relacionados aos núcleos mesoiônicos sidnona (A) e oxazolona (B)	63

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema:

1 - Mecanismo de alquilação de guaninas por um agente alquilante bifuncional	13
2 - Análise retrossintética para os derivados do tipo 1 , preparados a partir do safrol 2	43
3 - Preparação da indanona 17 , a partir do safrol 2	45
4 - Condições das reações de Beackman e Schimidt sobre a indanona 17	46
5 - Obtenção do nitroaldeído 4 , a partir do safrol 2	48
6 - Proposta mecanística para a oxidação com SeO ₂	49
7 - Esquema sintético para a obtenção da lactama 7	50
8 - Preparação da lactama 7 a partir de 6 , em duas etapas	51
9 - Exemplos da aplicação da metodologia de Corey para oxidação direta de aldeídos a ésteres	52
10 - Aplicação da metodologia de oxidação de aldeídos β,α - insaturados sobre o nitroaldeído 4	53
11 - Abordagem para a obtenção da lactama 7	54
12 -Preparação do ácido β -fenil-acrílico 9	55
13 - Preparação do nitroácido 11 , a partir do derivado acrílico 9	56
14 - Redução do nitroácido 11 . Alternativa para a obtenção da lactama 7	57
15 - Principais fragmentações do derivado 7	59
16 - Reação de alquilação do nitrogênio lactâmico	61
17 - Proposta mecanística para a etapa de cicloadição 1,3-dipolar	65
18 - Principais fragmentações do derivado 14	66
19 - Redução do diéster 14 ao diol 15	67

20	-	Preparação do <i>bis</i> -acetato 1a	68
21	-	Principais fragmentações do derivado 1a	69
22	-	Esquema geral, envolvendo as principais etapas do estudo sintético desenvolvido neste trabalho	72
23	-	Abordagens utilizadas na síntese dos derivados do tipo 1	74

ÍNDICE DE TABELAS E QUADROS

Tabela:

1 - Distribuição proporcional das principais causas de óbito - Brasil,	3
2 - Distribuição dos óbitos por câncer para 1996, segundo sexo e localizações topográficas mais frequentes - Brasil	5
3 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 3	80
4 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 4	83
5 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 6	86
6 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 7	91
7 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 9	95
8 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 10	98
9- Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 11	101
10 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 13	107
11 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 13b	109
12 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 14	111
13 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 15	114
14 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 16	118

Quadro:

1 - Drogas quimioterápicas úteis nas doenças neoplásicas	11
--	----

ÍNDICE DE ESPECTROS

1 - Espectro de RMN ^1H do nitrosafrol 3	80
2 - Espectro de RMN ^{13}C do nitrosafrol 3	81
3 - Espectro de RMN ^1H do nitroaldeído 4	83
4 - Espectro de RMN ^{13}C do nitroaldeído 4	84
5 - Espectro de RMN ^1H do nitroéster 6	86
6 - Espectro de RMN ^{13}C do nitroéster 6	87
7 - Espectro de RMN ^1H da lactama 7	91
8 - Espectro de RMN ^{13}C da lactama 7	92
8a - Espectro de massa da lactama 7	93
9 - Espectro de RMN ^1H do ácido β -fenil-acrílico 9	95
10 - Espectro de RMN ^{13}C do ácido β -fenil-acrílico 9	96
11 - Espectro de RMN ^1H do ácido β -fenil-propiónico 10	98
12 - Espectro de RMN ^{13}C do ácido β -fenil-propiónico 10	99
13 - Espectro de RMN ^1H do ácido nitro-fenil-propiónico 11	101
14 - Espectro de RMN ^{13}C do ácido nitro-fenil-propiónico 11	102
15 - Espectro de RMN ^1H da lactama alquilada 13	106
16 - Espectro de RMN ^{13}C da lactama alquilada 13	107
17 - Espectro de RMN ^1H da lactama-éster 13b	108
18 - Espectro de RMN ^{13}C da lactama-éster 13b	109
19 - Espectro de RMN ^1H do diéster 14	111
20 - Espectro de RMN ^{13}C do diéster 14	112
21 - Espectro de RMN ^1H do diol 15	114
22 - Espectro de RMN ^{13}C do diol 15	115
22a - Espectro de massa do diol 15	116

23 - Espectro de RMN ^1H do <i>bis</i> -acetato 16	118
24 - Espectro de RMN ^{13}C do <i>bis</i> -acetato 16	119
24a - Espectro de massa do <i>bis</i> -acetato 16	120

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac	Acetil
aq.	Aquoso(a)
CG	Cromatografia Gasosa
cat.	Catalítica
C.C.F.	Cromatografia em Camada Fina
conc	Concentrado(a)
δ	Deslocamento químico
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
DCC	Dicicloexilcarbodiimina
DMAD	Éster dimetílico do ácido acetilenodicarboxílico
DMF	Dimetilformamida
DMSO-d_6	Dimetilsufóxido hexadeuterado
DNA	Ácido desoxorribonucleico
E.M.	Espectrometria de massas
Et	Etila
eV	Elétron Volts
HOMO	Orbital molecular ocupado de mais alta energia
Hz	Hertz

IGF	Interconversão de grupos funcionais
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
lit.	Literatura
m	Multiplete
Me	Metila
MHz	Megahertz
Pf.	Ponto de fusão
PhCH₃	Tolueno
ppm	Parte por milhão
quant.	Quantitativo
QSAR	Relação quantitativa estrutura-atividade
q	Quarteto
Ref.	Referência
Refl.	Refluxo
RMN ¹H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ¹³C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
SAR	Relação estrutura-atividade
S	Singleto
sl	Sinal largo
sol.	Solução
t	Triplete
THF	Tetraidrofurano
TMS	Tetrametilsilano

INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

Drogas úteis na **quimioterapia do câncer** têm sido descobertas através de diferentes abordagens, que vão desde o *screening* empírico de um grande número de moléculas, até ao desenvolvimento racional de novas estruturas, com base no conhecimento acumulado sobre a relação estrutura-atividade de determinada classe de moléculas; sobre interações droga-receptor; bem como no reconhecimento da estrutura tridimensional destes bioreceptores.¹ Este conhecimento prévio impõe restrições estruturais, conformacionais e configuracionais às novas moléculas que serão sintetizadas, direcionando as pesquisas na área dos quimioterápicos.

Contudo, ao estudarmos o assunto, fica claro que o objetivo final, ou seja, a descoberta de novas moléculas úteis, é o mais importante, ficando o detalhamento das abordagens específicas utilizadas para se atingir este nobre objetivo num segundo plano. Enormes esforços e grandes quantidades de recursos têm sido aplicados nas pesquisas na área dos antineoplásicos, devido ao impacto sócio-económico crescente desta doença crónico-degenerativa, como veremos adiante.

I.1 - O Câncer no Brasil

Apesar da pouca disponibilidade de dados estatísticos sobre a incidência do câncer em nosso país, fica claro que este se coloca como uma das principais questões de saúde pública no Brasil. Em princípio, esta informação é positiva, pois revela que a expectativa de vida aumentou para o país como um todo, apesar de todos os problemas de ordem econômica e social.² Contudo, este fato coloca novos desafios para o setor de saúde, como também para os pesquisadores envolvidos na área dos antineoplásicos.

Na verdade o Brasil vive hoje uma situação especial, pois precisa adequar seus programas de saúde, não só para o aumento da incidência das doenças crônico-degenerativas, mas também para a existência, ainda, das doenças infecciosas e parasitárias, doenças ditas "do atraso".

As causas infecciosas e parasitárias vêm tendo sua importância relativa reduzida de modo constante, embora configurem-se ainda em um problema sério em algumas regiões do Brasil, enquanto as doenças crônico-degenerativas, dentre as quais destacamos as neoplasias, só aumentam sua participação proporcional entre os óbitos ocorridos³ (Tabela 1).

Tabela 1

Distribuição proporcional das principais causas de óbito - Brasil - Capitais⁽¹⁾ - 1930/1989

	1930	1940	1950	1960	1970	1980	1989
Doenças infecciosas e parasitárias	45,69	43,51	35,92	25,91	15,74	11,37	6,00
Neoplasmas	2,72	3,87	5,64	8,14	9,71	11,17	12,58
Doenças do aparelho circulatório	11,76	14,48	14,21	21,52	24,84	30,81	32,53
Doenças do aparelho respiratório	11,51	12,15	9,11	7,96	8,96	10,15	9,82
Doenças do aparelho digestivo	4,44	3,75	2,37	2,50	2,53	4,28	4,75
Parto	1,01	0,92	0,64	0,57	0,25	0,31	0,18
Causas externas ⁽²⁾	2,61	2,44	3,29	4,79	7,46	7,74	9,31
Outras	20,26	18,88	28,82	28,61	30,51	24,17	24,83
Total	100	100	100	100	100	100	100

(1) **Capitais:** Manaus, Belém, São Luís, Teresina, Fortaleza, Natal, João Pessoa, Recife, Maceió, Aracaju, Salvador, Vitória. Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba, Florianópolis, Porto Alegre, Belo Horizonte, Cuiabá. A partir de 1940, também Goiânia A partir de 1970, também Brasília. A partir de 1980, incluídas Rio Branco, Porto Velho e Campo Grande.

(2) As causas externas excluem os homicídios e suicídios, para todos os anos analisados.

Obs.: Excluídas as causas maldefinidas

Fonte: Minayo, 1995, modificado.

A maioria dos estudos sobre a saúde da população baseiam-se na análise da mortalidade, visto todas as mortes ocorridas, teoricamente, serem registradas. Recentemente, com base na análise detalhada dos dados epidemiológicos disponíveis,^{1,2} a Coordenação de Programas de Controle de Câncer, do Instituto Nacional do Câncer (INCA),⁴ liberou uma estimativa do número de novos casos para 1996. Neste estudo,³ o INCA demonstrou que apesar das neoplasias serem, como já dissemos, doenças características de faixas etárias mais avançadas, este tipo de enfermidade está assumindo importância já na faixa etária do adulto jovem (Figura 1).

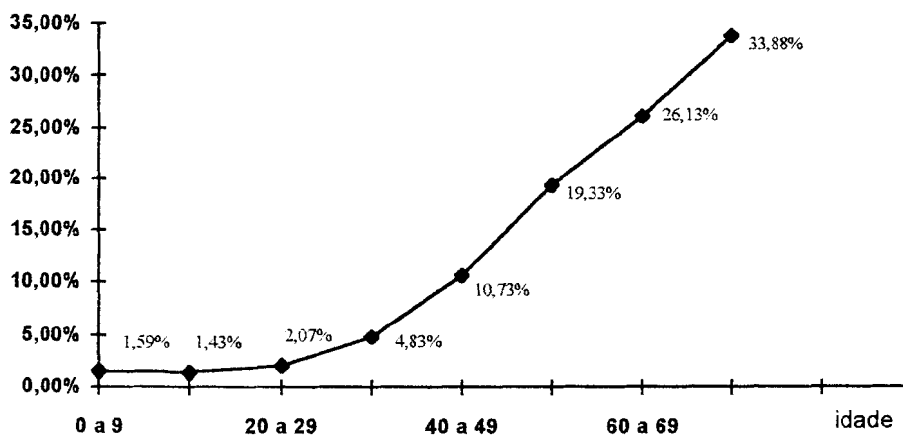


Figura 1 - Número de óbitos por câncer em 1996, segundo faixa etária - Brasil.

Os tumores responsáveis pelas mais altas taxas de incidência e mortalidade no país são, segundo as estimativas mostradas na tabela 2, de pulmão, estômago e próstata para o sexo masculino; e mama, estômago e cérvico uterino para o sexo feminino³.

Tabela 2

Distribuição dos óbitos por câncer em 1996, segundo sexo e localizações topográficas mais frequentes - (Brasil)

Homens		Mulheres	
Localização	Nº de casos	Localização	Nº de casos
Pulmão	8.650	Mama	6.450
Estômago	7.800	Estômago	4.000
Próstata	4.350	Colo do útero	3.300
Esôfago	3.700	Pulmão	2.950
Leucemias	2.100	Cólon	1.950
Laringe	2.000	Leucemias	1.700
Pâncreas	1.800	Pâncreas	1.500
Cólon	1.600	Esôfago	1.100
Reto e ânus	850	Reto e ânus	850
Boca	510	Laringe	300
Melanoma	380	Melanoma	300
Outros	17.380	Boca	150
		Outros	18500
Total	51.100	Total	43.050

Os dados apresentados demonstram a necessidade de uma política de saúde pública voltada para a prevenção, além de assinalar a premência no desenvolvimento de novas drogas e novas terapias, aplicáveis ao tratamento deste tipo de doença crônico-degenerativa, e que venham aliar-se às já existentes no arsenal terapêutico disponível.

1.2 - As principais formas de tratamento do câncer:

Dentre as principais formas no tratamento do câncer podemos citar:

- Cirurgia;
- Fotorradiação;
- Radiação;
- Imunoterapia;
- Quimioterapia.

Cirurgia:

A simples remoção cirúrgica de tumores sólidos só faz sentido se não houver metástase (disseminação sistêmica de células tumorais, oriundas do tumor primário),⁶ sendo que as intervenções cirúrgicas, na maioria dos casos, têm sua aplicação combinada com outras formas de tratamento. Um dos

inconvenientes desta forma de tratamento é a mutilação, decorrente de procedimentos mais extensos.

Fotorradiação:

Este tipo de terapia consiste na administração de uma mistura complexa de porfirinas, obtidas do tratamento da hematoporfirina com ácido acético e sulfúrico, ao portador do tumor, sendo que este material irá se concentrar no tecido tumoral. Num intervalo de 24 a 72 horas observa-se fluorescência nos tecidos tumorais, e a destruição do tumor é realizada com aplicação de luz de comprimento de onda variando de 620 a 640 nm, obtida de um laser.

Radiação:

Apresenta-se como uma alternativa interessante, e em alguns aspectos mostra-se superior à cirurgia, por permitir a destruição do tumor sem causar danos aos tecidos vizinhos. Devido a isto, a radioterapia é considerada como o tratamento de escolha em diversos casos de câncer, pois preserva as funções do órgão atingido e minimiza o efeito mutilador que uma intervenção cirúrgica pode causar. Raios gama, obtidos de elementos radiativos, como por exemplo Cobalto-60 gerados por instrumentos, são os tipos de radiação mais utilizados.

Devido ao alto poder ionizante destas radiações, estes procedimentos apresentam limitações em seu emprego.

Imunoterapia:

Consiste na estimulação das defesas do organismo visando a destruição das células tumorais remanescentes após uma intervenção cirúrgica, radioterapia ou quimioterapia. Trata-se de um tipo de tratamento que apresenta resultados extremamente promissores. O agente imunoterápico mais comumente utilizado é o BCG (*Bacilo Calmette & Guérin*), o qual promove uma ativação geral do sistema imunológico do paciente, além de estimular os macrófagos, os quais neutralizam células tumorais remanescentes.

Estudos recentes, envolvendo tentativas de imunização de pacientes com extratos de suas próprias células tumorais, apresentaram resultados promissores, principalmente em casos de leucemia, melanoma e câncer do pulmão. Este tipo de abordagem para o tratamento do câncer encontra-se ainda em fase de investigação.

Quimioterapia:

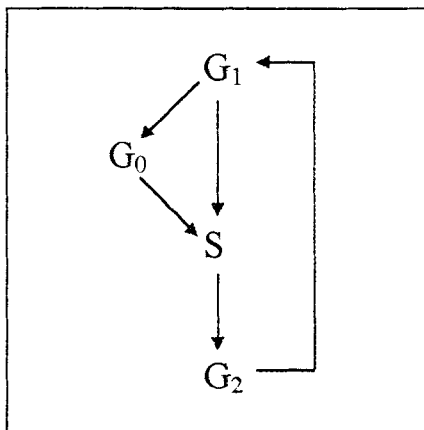
Agentes quimioterápicos são fármacos usados no tratamento de doenças infecciosas ou do câncer.

O termo *quimioterapia*, cujo significado literal é "terapia química" ou "tratamento químico", foi criado em 1913 por Paul Ehrlich, pai da quimioterapia moderna. As pesquisas de Ehrlich eram dirigidas no sentido da descoberta da "bala mágica", isto é, uma substância portadora de ação seletiva sobre o parasito, mas isenta de efeitos tóxicos para o hospedeiro.

Nos últimos anos não ocorreram progressos visíveis na área do desenvolvimento de novas moléculas úteis como agentes quimioterápicos, mas sim nos estudos de protocolos eficientes, que estão permitindo a administração simultânea de drogas. Além disso, a elucidação dos mecanismos de ação das drogas já disponíveis,⁷ combinada ao maior conhecimento de processos vitais, como o início de um tumor e a disseminação, a implantação e o crescimento das metástases,⁸ avançaram consideravelmente.

É essencial a compreensão da cinética do ciclo celular para o uso apropriado da atual geração de drogas antineoplásicas. Muitos dos mais potentes agentes citotóxicos atuam em fases específicas do ciclo celular e, portanto, têm atividade apenas contra células que estão em processo de divisão. De acordo com isso, as neoplasias malignas humanas atualmente mais susceptíveis às medidas terapêuticas são as que têm grande fração de crescimento. Da mesma forma, os tecidos normais que proliferam rapidamente (medula óssea, folículos pilosos e epitélio intestinal) estão sujeitos a danos por

alguns desses potentes agentes antineoplásicos, e tal toxicidade em geral limita a utilização dessas drogas. Por outro lado, os tumores de crescimento lento, como por exemplo, carcinomas do cólon ou pulmão, em geral não são susceptíveis a drogas citotóxicas. Embora existam diferenças na duração do ciclo celular entre células de vários tipos, todas as células apresentam um padrão similar durante o processo de divisão. Isto pode ser caracterizado do seguinte modo: (1) há uma fase pré-sintética (G_1); (2) ocorre síntese de DNA (S); (3) há um intervalo após a síntese de DNA, a



fase pós-sintética (G_2); e (4) segue-se mitose (M). A célula em G_2 contendo o complemento duplo de DNA, divide-se em duas células filhas que entram em G_1 . Cada uma delas entra novamente no ciclo ou passa por um período

não-proliferativo (G_0). As células de certos tecidos especializados podem diferenciar-se em células funcionais que não são mais capazes de divisão. Por outro lado, muitas células, especialmente as de crescimento lento, podem permanecer no estado G_0 por períodos prolongados, só entrando no ciclo de divisão muito mais tarde. É óbvio que a maior compreensão do ciclo celular e de fatores que regulam o recrutamento de células em G_0 para o ciclo deverão

ser de grande valor nas futuras tentativas de desenvolver medidas quimioterapêuticas para tumores de crescimento lento.

As drogas usadas atualmente na quimioterapia das doenças neoplásicas, as quais daremos um maior enfoque, podem ser divididas em várias classes, como mostrado no Quadro 1.

CLASSE	TIPO DE DROGA	NOMES NÃO-COMERCIAIS	
Agentes alquilantes	Mostardas nitrogenadas	mecloretamina (HN ₂) ciclofosfamida melfalano (L-sarcolisina) mostarda de uracil clorambucil	
	Sulfonatos alquílicos	bussufano	
	Nitrosouréias	carmustina (BCNU) lomustina (CCNU) semustina (metil-CCNU) estreptozocina	
	Triazenos	dacarbazina (DTIC)	
Antimetabólitos	Análogos do ácido fólico	metotrexato	
	Análogos de pirimidinas	fluorouracil citarabina	
	Análogos de purinas	mercaptopurina tioguanina	
Produtos naturais	Alcalóides da Vinca	vimblastina vincristina vindesina	
	Epipodofilotoxinas	etoposida	
	Taxanos	taxol	
	Antibióticos		teniposida dactinomicina daunorrubicina bleomicina plicamicina mitimicina
		Enzimas	l-Asparaginase

CLASSE	TIPO DE DROGA	NOMES NÃO-COMERCIAIS
Drogas diversas	Complexos de coordenação de platina	cisplatina
	Uréia substituída	hidroxiuréia
	Derivados de metildrazina	procarbazina
	Supressores adrenocorticais	mitotano aminoglutetimida
Hormônios e antagonistas	Adrenocorticosteróides	prednisona
	Estrógenos	dietilestibero etinil estradiol
	Antiestrógenos	tamoxifeno
	Andrógenos	propionato de testosterona fluoximesterona

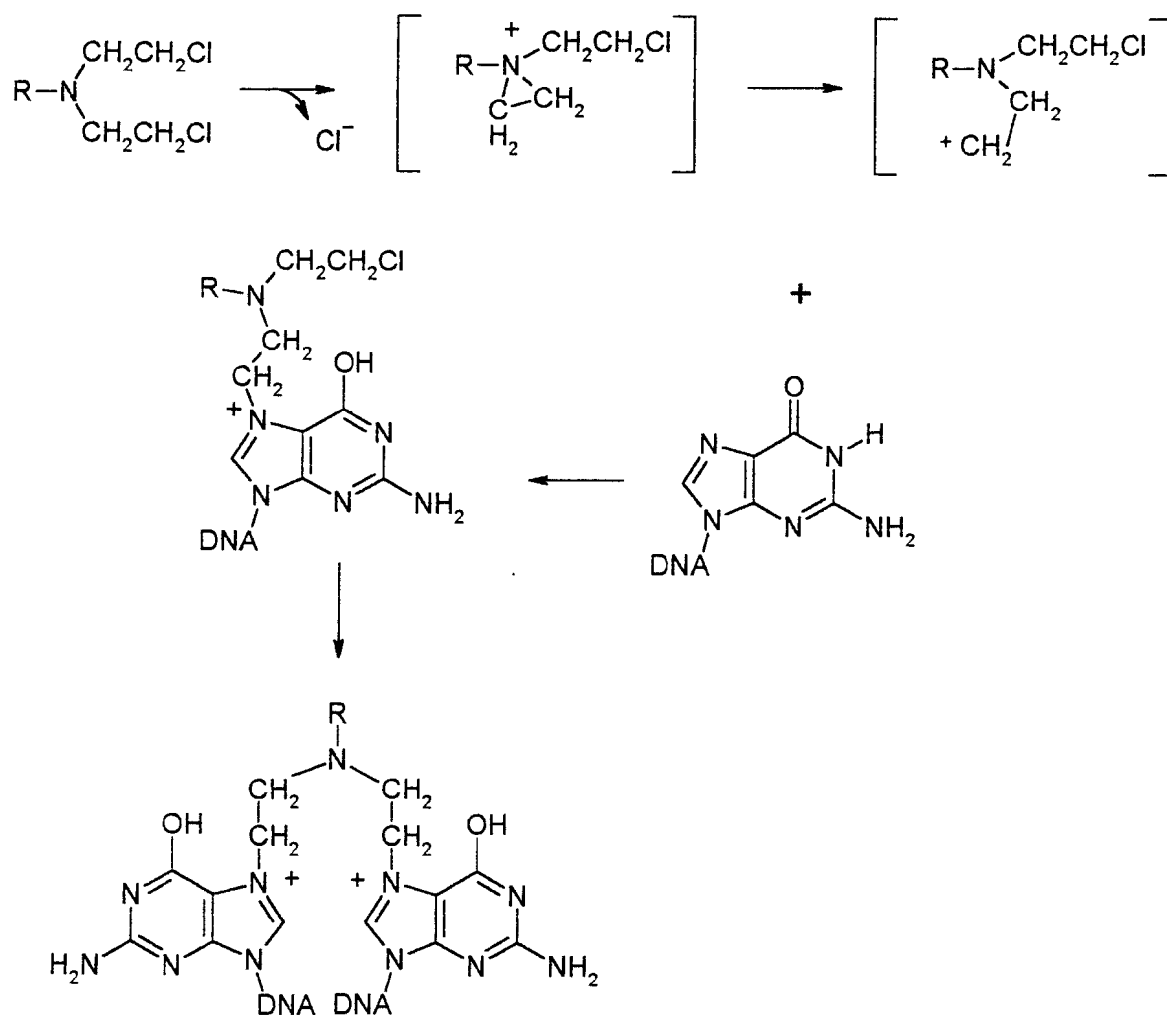
Quadro 1 - Agentes quimioterápicos úteis nas doenças neoplásicas.

AGENTES ALQUILANTES

Atualmente, usam-se quatro tipos principais de agentes alquilantes na quimioterapia das doenças neoplásicas: (1) as mostardas nitrogenadas, (2) os sulfonatos alquílicos, (3) as nitrosuréias e (4) os triazenos.

Os agentes alquilantes quimioterápicos têm em comum a propriedade de sofrerem fortes reações químicas eletrofílicas com formação de intermediários do tipo carbocátion, ou de complexos de transição com as moléculas alvo. Estas reações resultam na formação de ligações covalentes (alquilação) com várias substâncias nucleofílicas. As alquilações de componentes do DNA estão diretamente relacionadas com os efeitos citotóxicos dos agentes alquilantes.

No esquema 1, abaixo, mostramos o mecanismo de ação de um agente alquilante bifuncional, o qual forma pontes intra e inter-hélices com o DNA. A posição N-7 da guanina é o centro mais reativo frente aos agentes alquilantes. Outros centros, como o N-1 e o N-3 da adenina, N-3 da citosina, e o O-6 da guanina também podem reagir.



Esquema 1 - Mecanismo de alquilação de guaninas por um agente alquilante bifuncional.

As ações farmacológicas mais importantes dos agentes alquilantes são as que perturbam os mecanismos fundamentais envolvidos com o crescimento celular, atividade mitótica, a diferenciação e o funcionamento. A capacidade que estas drogas têm de interferir na mitose normal e na divisão celular em todos os tecidos de rápida proliferação fornece a base de suas aplicações terapêuticas e muitas de suas propriedades tóxicas.⁹ Embora alguns agentes alquilantes possam ter efeitos danosos nos tecidos com índices mitóticos normalmente baixos, como por exemplo, fígado, rins e linfócitos maduros, eles são muito citotóxicos para tecidos com rápida proliferação, nos quais uma grande porção de células está em divisão. Esses compostos podem alquilar prontamente células que não se encontrem em divisão, mas a toxicidade é vista apenas quando tais células são estimuladas a dividir-se. Assim, o próprio processo de alquilação pode ser um evento relativamente atóxico, enquanto que as enzimas de reparo do DNA podem corrigir as lesões, antes da divisão celular seguinte.^{10,11}

MOSTARDAS NITROGENADAS

Apesar da mostarda de enxofre ter sido sintetizada em 1854, suas propriedades vesicantes só foram descritas em 1887. No intervalo entre a Primeira e a Segunda Guerra Mundiais, foram realizados extensos estudos sobre as ações biológicas e químicas das mostardas nitrogenadas. A pronunciada ação citotóxica sobre o tecido linfóide levou Goodman e colaboradores a estudarem o efeito das mostardas nitrogenadas sobre o linfossarcoma transplantado em camundongos, inaugurando a era da moderna quimioterapia do câncer.^{12,13} As fórmulas estruturais de algumas mostardas nitrogenadas mais comuns usadas encontram-se na figura 2.

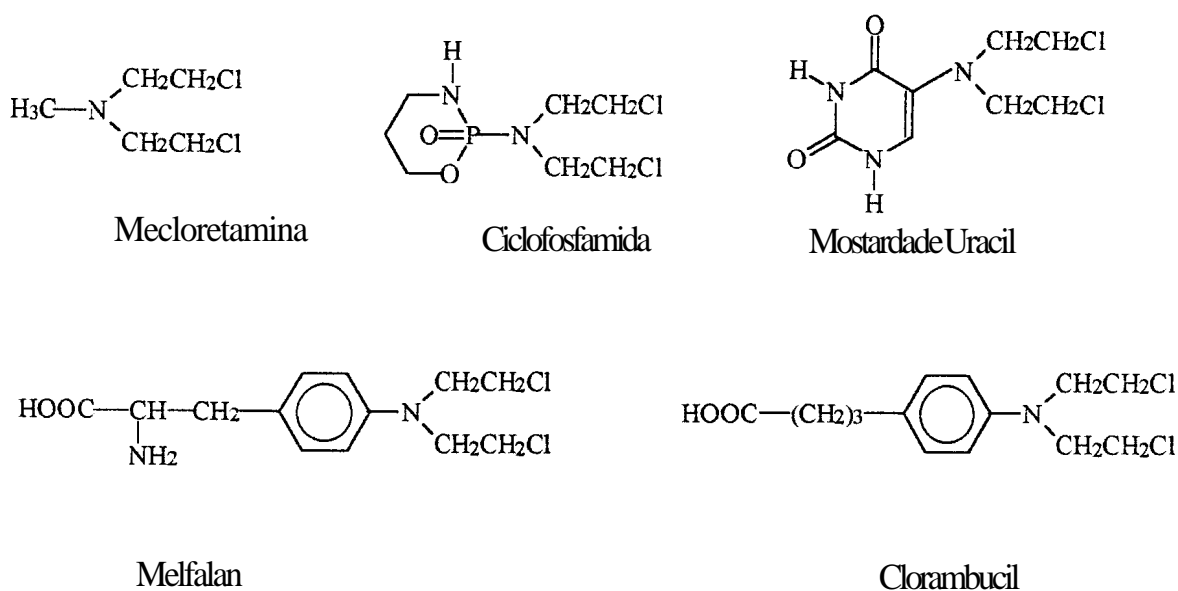


Figura 2 - Estrutura de algumas mostardas nitrogenadas

MECLORETAMINA

A mecloretamina foi a primeira das mostardas nitrogenadas a ser introduzida na medicina clínica e é a droga de ação mais rápida dessa classe.

CICLOFOSFAMIDA

Os esforços para modificar a estrutura química da mecloretamina, de modo a obter-se maior seletividade para tecidos neoplásicos, levaram ao desenvolvimento da ciclofosfamida. Estudos da atividade farmacológica da ciclofosfamida, realizados por cientistas europeus demonstraram sua eficácia em determinadas neoplasias malignas.^{14,15}

MELFALANO

Este derivado fenilalanínico da mostarda nitrogenada também é conhecido como L-sarcolisina. Os primeiros estudos clínicos demonstraram um espectro de atividade similar ao de outros agentes alquilantes.

MOSTARDA DE URACIL

A mostarda de uracil foi sintetizada na tentativa de produzir um alquilante dirigido ao local ativo, ligando o grupo bis-(2-cloroetil) à base pirimidínica uracila. Sua atividade em neoplasias experimentais foi

demonstrada logo em seguida. No entanto, não se demonstrou qualquer correlação com as funções biológicas da uracil.

CLORAMBUCIL

Os estudos clínicos iniciais desse derivado aromático da mecloretamina demonstraram resultados benéficos primariamente na leucemia linfocítica crônica, bem como na doença de Hodgkin e em linfomas malignos correlatos.¹²

SULFONATOS ALQUÍLICOS

BUSSULFANO

Durante uma pesquisa para determinar as propriedades antineoplásicas de uma série de ésteres do ácido alcanossulfônico, detectou-se a ação seletiva do bussulfano (figura 3, pág. 20). Tal achado levou ao uso da droga em pacientes com leucemia granulocítica crônica.

NITROSOUREÍAS

As Nitrosouréias (figura 3, pág. 20) são agentes antitumorais importantes que demonstram atividade contra um amplo espectro de neoplasias malignas humanas; elas parecem funcionar quimioterapeuticamente como agentes alquilantes bifuncionais. Desde sua introdução pelos pesquisadores do

Southern Research Institute,^{16,17} muitas nitrosouréias foram sintetizadas. Como ocorre com outros agentes alquilantes as nitrosouréias são carcinogênicas e mutagênicas.¹¹

CARMUSTINA (BCNU)

Este composto foi o primeiro da série das nitrosouréias a receber extensa avaliação clínica. É eficaz contra uma ampla faixa de tumores experimentais.

A carmustina é capaz de inibir a síntese de DNA, RNA e proteínas de maneira similar, mas não idêntica, à de outros agentes alquilantes.¹⁸

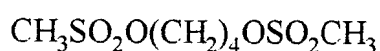
ESTREPTOZOCINA

Esta nitrosouréia de ocorrência natural é um antibiótico derivado do *Streptomyces acromogenes*. É particularmente útil no tratamento de tumores malignos das ilhotas pancreáticas. A droga é capaz de inibir a síntese de DNA de microorganismos e células de mamíferos; ela afeta todos os estágios do ciclo celular de mamíferos.

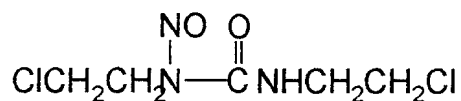
TRIAZENOS

DACARBAZINA (DTIC)

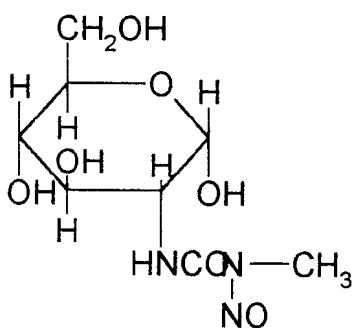
A dacarbazina (figura 3), originalmente foi considerada como antimetabólito, contudo evidências mais recentes revelam que ela funciona como agente alquilante no fígado, ativada por enzimas microsômicas. A dacarbazina parece inibir a síntese de RNA e proteínas mais que a do DNA. Ela mata lentamente as células e parece não haver fase no ciclo celular em que a sensibilidade seja maior.¹⁹ Observou-se atividade imunossupressora mínima em camundongos, mas não clinicamente.²⁰



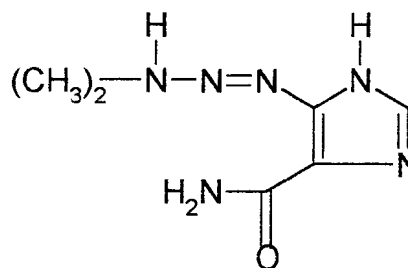
bussulfano



carmustina (BCNU)



estreptozocina



dacarbazina (DTIC)

Figura 3- Estruturas de alguns agentes alquilantes.

ANTIMETABÓLITOS

ANÁLOGOS DO ÁCIDO FÓLICO

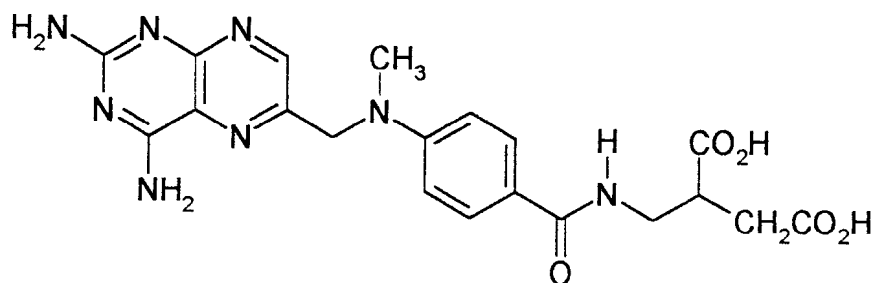
METOTREXATO

A era da chamada "quimioterapia dos antimetabólitos" teve início em 1948, com a descoberta de que a aminopterina, um análogo do ácido fólico, aminado em C-4, produzia remissões em alguns tipos de leucemias.¹⁹ A aminopterina foi substituída pelo metotrexato (pág. 22), o qual se mantém como o antifolato de maior utilização na quimioterapia do câncer. O metotrexato é também utilizado em psoríase, artrite reumatóide, além de infecções bacterianas e parasitárias, principalmente àquelas associadas com a Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. Sem dúvida alguma, esta classe de compostos representa os agentes quimioterápicos melhor caracterizados e mais versáteis em uso clínico atualmente.

O metotrexato age inibindo a diidrofolato redutase, enzima envolvida no metabolismo intracelular do folato, os quais agem como co-fatores na síntese de purinas e pirimidinas, necessárias à síntese de DNA.

Esta classe de antimetabólitos não só produziu as primeiras remissões na leucemia,²¹ mas também inclui a primeira droga que conseguiu curar carcinoma em mulheres.²²

Além disso, os antagonistas do folato são potentes inibidores de alguns tipos de reações imunes e têm sido empregados como agentes imunossupressores, por exemplo, no transplante de órgãos.^{23,24,25,26}



Metotrexato

ANÁLOGOS DE PIRIMIDINA

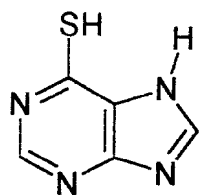
Esta classe de compostos engloba um grupo heterogêneo e interessante de drogas que têm em comum a capacidade de impedir a biossíntese de nucleotídeos pirimidínicos ou mimetizar esses metabólitos naturais, de modo a interferir em atividades celulares vitais, tais como a síntese e o funcionamento de ácidos nucléicos. Algumas das drogas desse grupo são empregadas no tratamento de várias doenças neoplásicas, psoríase e infecções causadas por fungos e vírus que encerram DNA. Quando membros selecionados do grupo são usados juntos com outros antimetabólitos, têm-se demonstrado efeitos sinérgicos contra vários tumores experimentais e alguns desses programas de tratamento estão sendo investigados clinicamente.^{27,28}

CITARABINA (CITOSINA ARABINOSÍDIO)

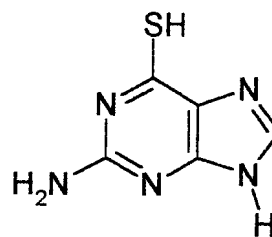
A citarabina está entre os mais importantes exemplos desta classe de antimetabólitos, análogos de pirimidina. Sua eficiência no tratamento da leucemia aguda está bem estabelecida.^{29,30,31}

ANÁLOGOS DE PURINAS

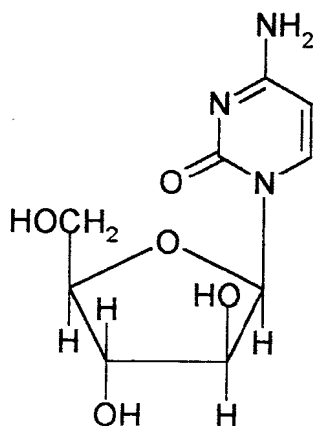
Desde os estudos pioneiros de Hitchings e colaboradores,³² foram examinados muitos análogos de bases purínicas naturais, nucleosídeos e nucleotídeos, em muitos sistemas biológicos e bioquímicos. Essas extensas investigações levaram ao desenvolvimento de várias drogas, não só de uso no tratamento de doenças malignas (mercaptopurina, tioguanina) mas também na terapia imunossupressora (azatioprina) e antiviral (aciclovir, vidarabina).^{33,34}



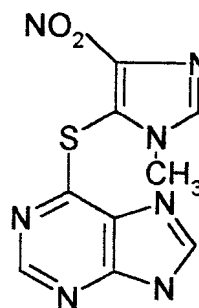
mercaptopurina



tioguanina



citarabina



azatioprina

Figura 4 - Estruturas de alguns antimetabólitos.

MERCAPTOPURINA

A introdução da mercaptopurina por Elion e colaboradores³⁵ representou um marco na história antineoplásica e imunossupressora. Hoje, essa antipurina e seu derivado, a azatioprina, estão entre drogas mais importantes e de maior utilização em clínica nesta classe de substâncias.

AZATIOPRINA

A azatioprina, um derivado de 6-mercaptopurina, é usada principalmente como agente imunossupressor.

TIOGUANINA

A síntese de tioguanina foi inicialmente descrita por Elion e Hitchings.³³ É de grande valor no tratamento da leucemia granulocítica aguda quando combinada com citarabina.

PRODUTOS NATURAIS

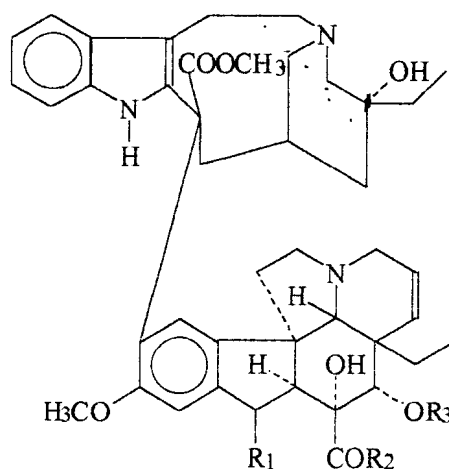
Desde a antiguidade o homem explora as propriedades biológicas de produtos naturais no tratamento de suas enfermidades.³⁶ Atualmente, estudos mais elaborados vêm sendo realizados na área do isolamento e da avaliação da atividade biológica de produtos naturais, tanto de origem terrestre quanto marinha.³⁷ A medicina alopática utiliza aproximadamente 119 drogas, estruturalmente definidas, as quais são extraídas de cerca de 90 espécies de vegetais superiores. Contudo, num panorama de 250.000 espécies, somente 10% delas já foram estudadas quimicamente, o que nos permite vislumbrar um manancial de novas substâncias, com os mais variados perfís de atividade a serem isoladas nos próximos anos. Dentro deste grupo de novas moléculas,

podemos deduzir que muitas destas deverão apresentar atividade antineoplásica.

Recentemente, Franz³⁸ disponibilizou uma revisão sobre a atividade antineoplásica de diversas classes de produtos naturais.

ALCALÓIDES DA VINCA

Os alcalóides da vinca são muito semelhantes quimicamente. São compostos diméricos assimétricos; as estruturas da vincristina, da vinblastina e da vindesina são mostradas na figura 5.



	Vincristina	Vinblastina	Vindesina
R ₁	-CHO	-CH ₃	-CH ₃
R ₂	-OCH ₃	-OCH ₃	NH ₂
R ₃	-COCH ₃	-COCH ₃	H ₂

Figura 5 - Alcalóides da vinca.

Os alcalóides da vinca são específicos do ciclo celular e agem no bloqueio da mitose, interrompendo a metáfase. A maioria das atividades biológicas dessas drogas pode ser explicada por sua capacidade de ligar-se especificamente à proteína tubulina, que é componente importante dos microtúbulos celulares. Devido ao rompimento dos microtúbulos do aparelho mitótico, a divisão celular é bloqueada na metáfase. Na ausência de um fuso mitótico intacto, os cromossomas podem dispersar-se pelo citoplasma (mitose explodida) ou formar agrupamentos incomuns, tais como bolas ou estrelas. A incapacidade de segregar corretamente os cromossomas durante a mitose, supostamente, acaba por ocasionar morte celular.

Além do seu papel importante na formação dos fusos mitóticos, os microtúbulos têm sido associados a muitas outras funções celulares. Alguns tipos de movimentos celulares, a fagocitose, e certas funções do SNC parecem envolver microtúbulos, o que pode explicar alguns dos outros efeitos dos alcalóides da vinca.³⁹

EPIPODOFILOTOXINAS

A podofilotoxina, extraída da planta mandrágora, *Podophillum peltatum*, era usada como remédio popular devido a seus efeitos eméticos, catártico e anti-helmínticos. Foram desenvolvidos dois glicosídeos a partir do princípio ativo, a etoposida e a teniposida (figura 6, pág. 28).

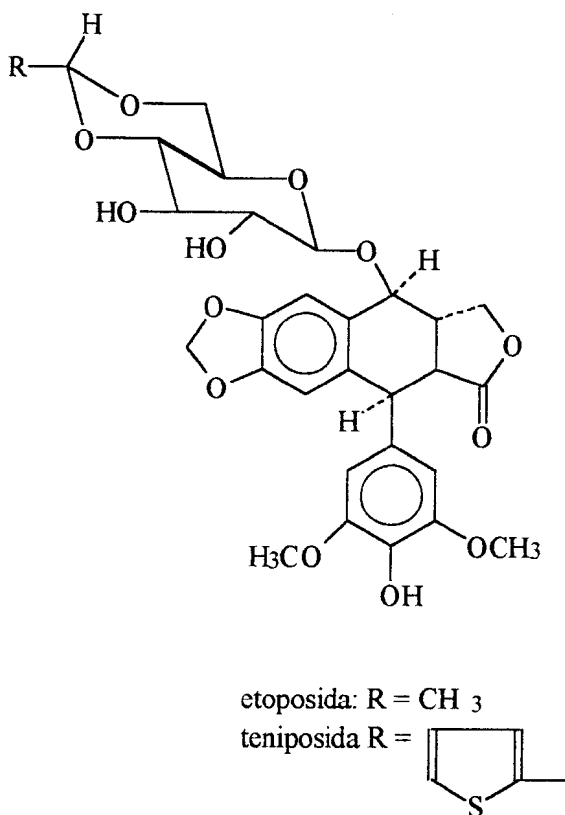


Figura 6 - Epipodofilotoxinas

As epipodofilotoxinas, em concentrações baixas, bloqueiam as células na interfase S-G₂, e em concentrações altas, causam bloqueio em G₂. A maior

letalidade é vista nas fases S e G₂. Algumas evidências indicam que as epipodofilotoxinas estimulam a enzima topoisomerase II a clivar o DNA.⁴⁰ Para revisões sobre as epipodofilotoxinas, ver Bender e Chabner;⁴¹ Vogelzang e colaboradores;⁴² Dínalci e Garattini;⁴³ O'Dwyer e colaboradores.⁴⁴

TAXANOS

TAXOL

O teixo, planta da família *Taxaceae*, é conhecido desde sua antiguidade por suas propriedades medicinais variadas (carminativo, cardiotônico, expectorante, antiespasmódico, etc).⁴⁵

Em 1962 amostras de teixo (*Taxus brevifolia Nutt*) foram coletadas nas florestas do estado de Oregon e enviadas ao "National Cancer Institute" (NCI) para estudos, e dois anos mais tarde constataram as atividades citotóxicas de seus extratos. Em 1966 Wall e col., guiados por testes sobre células KB e sistemas leucêmicos, isolaram o componente bioativo de *Taxus brevifolia*, em 0,2% a partir de extratos da casca seca,⁴⁶ o qual foi denominado taxol (figura 7, pág. 30).

Em 1979, Horwitz e col. demonstraram que o taxol atua como um agente antimitótico, através de sua ação sobre o equilíbrio tubulina-microtúbulos.⁴⁷

Os estudos de Horwitz e col. em cultura de células *in vitro*, mostraram que o taxol impede a transição da célula da interfase para a mitose.⁴⁸ Morfologicamente estas células exibem um feixe de microtúbulos e não um fuso mitótico. Estes estudos foram ampliados por outros grupos, que descobriram que o taxol afeta os microtúbulos em todas as fases do ciclo celular.

Outros processos celulares vitais, que dependem dos microtúbulos, também são impedidos ou perturbados pelo taxol.⁴⁹

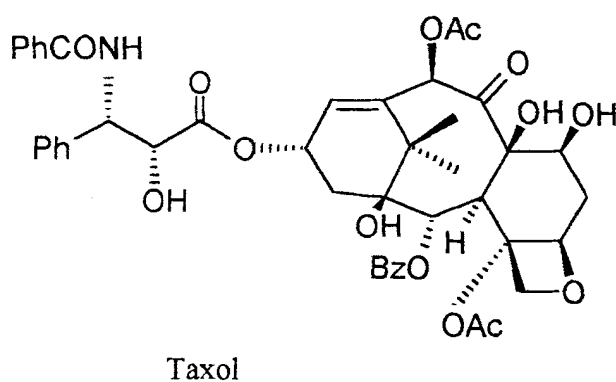


Figura 7 - Estrutura do Taxol

ANTIBIÓTICOS

DACTINOMICINA (ACTINOMICINA D)

A actinomicina A foi o primeiro agente antibiótico cristalino a ser isolado de uma cultura de uma espécie de *Streptomyces*.⁵⁰ Muitos antibióticos correlatos, inclusive a actinomicida D, foram subsequentemente obtidos.⁵¹ A dactinomicina (figura 8, pág. 33) tem efeitos benéficos no tratamento de vários tumores, em particular certas neoplasias da infância e coriocarcinoma.

As actinomicinas são cromopeptídeos e a maioria contém o mesmo cromóforo, a fenoxazona planar actinocina. Variando o conteúdo de aminoácidos do meio de cultura, é possível alterar os tipos de actinomicina produzidos. Alterações na composição de aminoácidos de ambas as cadeias polipeptídicas podem influenciar a atividade biológica da molécula.^{52,53}

A capacidade de ligação das actinomicinas com a dupla hélice do DNA é responsável por sua ação biológica e sua citotoxicidade.⁵⁴

BLEOMICINAS

As bleomicinas (figura 8, pág. 33) formam grupo importante de agentes antitumorais descobertos por Umezawa e colaboradores,⁵⁵ como produtos de fermentação do *Streptomyces verticillus*. As bleomicinas são glicopeptídios básicos hidrossolúveis, que diferem entre si em suas frações terminais

amínicas, e consiste predominantemente de dois agentes, a bleomicina A₂ e a bleomicina B₂.⁵⁶

PLICAMICINA (MITRAMICINA)

Este antibiótico citotóxico (figura 8, pág. 33) foi isolado de culturas de *Streptomyces tanashiensis*, em 1962. Embora a droga seja altamente tóxica, tem algum valor clínico no tratamento de tumores embrionários avançados dos testículos.

MITOMICINA

Este antibiótico foi isolado do *Streptomyces caespitosus* em 1958. A mitomicina (figura 8, pág. 33) contém uma uretana e um grupo quinona em sua estrutura, bem como um anel aziridina, que é essencial para a atividade antineoplásica. O importante é que ela atua por uma reação de alquilação biorredutora e pode ser seletivamente tóxica para células hipóxicas.^{57,58,42}

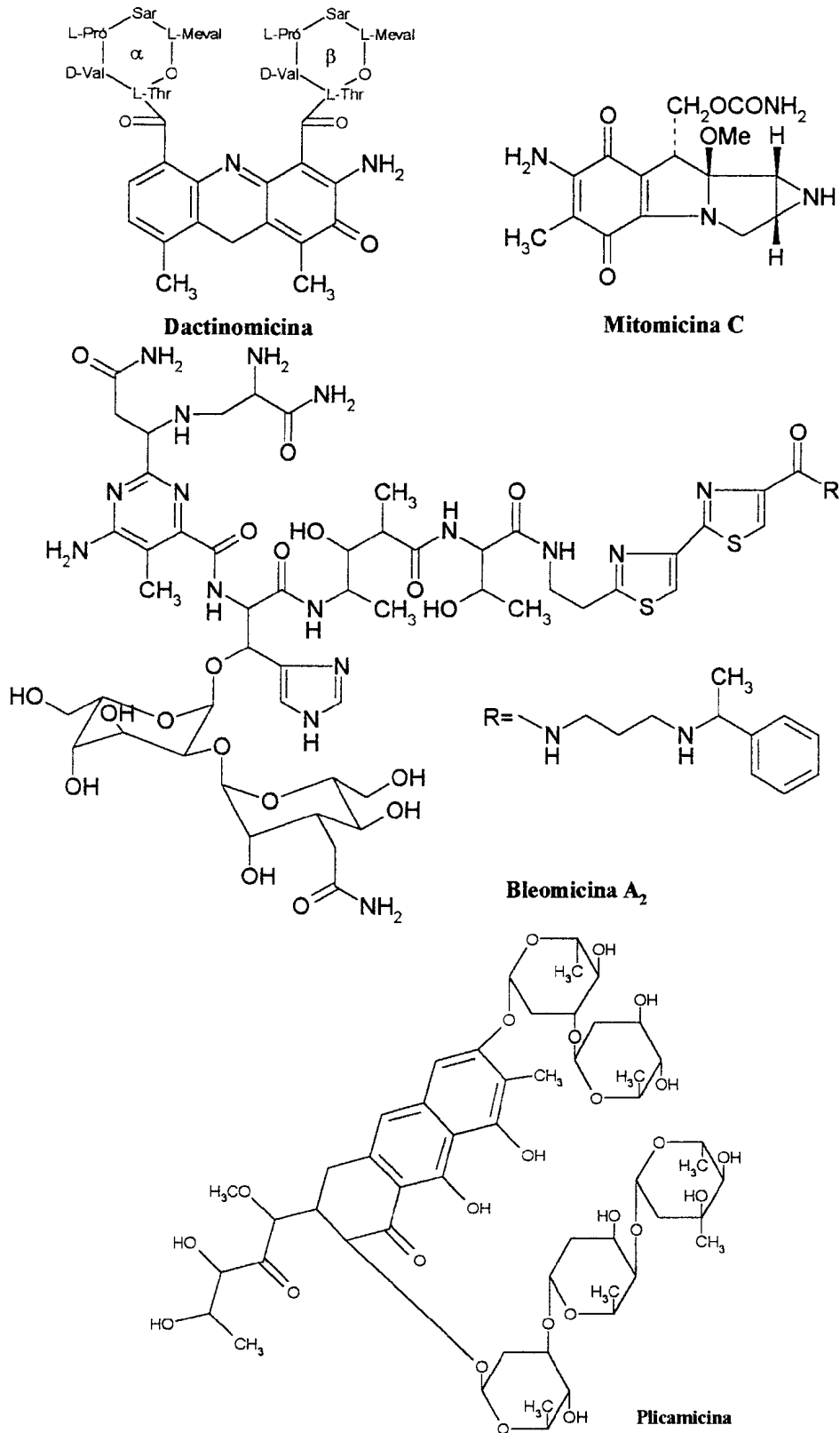


Figura 8 - Estruturas de alguns antibióticos

As funções alquilantes presentes na molécula da mitomicina C são o grupamento carbamato em C-10 e o grupo aziridina em C-1. Em condições fisiológicas a mitomicina não possui atividade alquilante, e somente após sofrerem redução enzimática as duas funções alquilantes são ativadas. O principal alvo nucleofílico na molécula do DNA, frente à mitomicina C é a função amina presente no C-2 da guanina (figura 9).

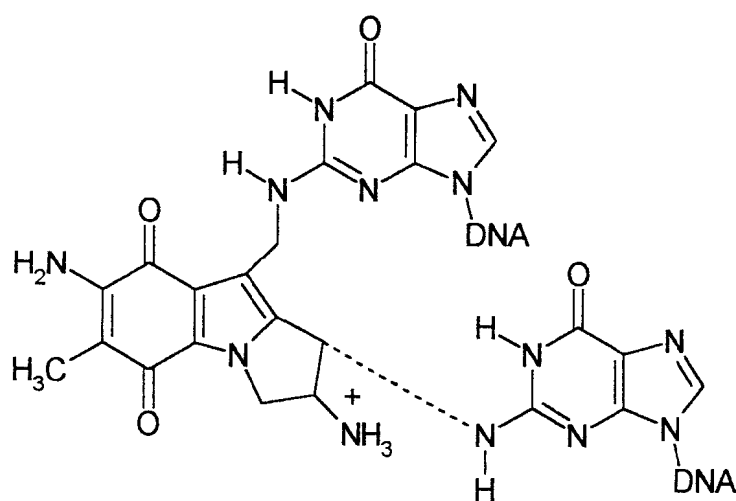


Figura 9 - Estrutura do aduto mitomicina/guanina.

AGENTES DIVERSOS

CISPLATINA

Os complexos de coordenação de platina são agentes citotóxicos que foram inicialmente identificados por Rosenberg e colaboradores em 1965.⁵⁹ Os efeitos inibidores da replicação bacteriana foram subsequentemente demonstrados como devidos à formação de compostos inorgânicos contendo platina na presença de íons amônia e cloreto.⁵⁷ A *cis*-diaminodicloroplatina (II) (cisplatina) (figura 10, pág. 36) é a mais ativa dessas substâncias em tumores experimentais e provou ter valor clínico.⁶⁰

O complexo correspondente com as amônias na configuração *trans* não tem atividade antitumoral. Recentemente, Fontes⁶¹ disponibilizou uma revisão sobre a aplicação de compostos de platina na quimioterapia do câncer.

HIDROXIURÉIA

Sintetizada pela primeira vez em 1869, a hidroxiuréia (Figura 10, pág. 36) produziu leucopenia, anemia e alterações megaloblásticas na medula óssea de coelhos.⁶² Mais tarde demonstrou-se sua atividade antineoplásica contra o sarcoma 180. Os estudos de sua atividade biológica e avaliações da eficácia foram revistos.⁶³

PROCARBAZINA

Descobriu-se um grupo de agentes antitumorais, derivados da metilidrazina, entre um grande número de hidrazina substituídas, que foram originalmente sintetizadas como potenciais inibidores de monoaminoxidase. Efeitos antineoplásicos em tumores experimentais relatados com vários compostos dessa série,⁶⁴ inclusive a procarbazina (Figura 10), droga usada clinicamente na doença de Hodgkin. Foram publicadas descrições abrangentes dos efeitos da procarbazina.^{65,66}

AMINOGLUTETIMIDA

Originalmente desenvolvida como anticonvulsivo, a aminoglutemida foi depois comprovada como inibidora da síntese de esteróides adrenocorticais.

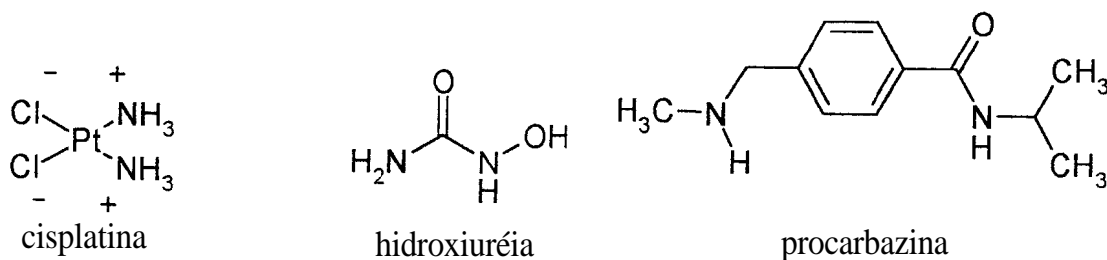


Figura 10 - Estruturas de agentes antineoplásicos diversos.

HORMÔNIOS E DROGAS CORRELATAS

ADRENOCORTICOSTERÓIDES

Devido aos seus efeitos linfóticos e à sua capacidade de suprimir a mitose nos linfócitos, o maior valor desses esteróides é no tratamento da leucemia em crianças e do linfoma maligno.

PROGESTINAS

Os agentes progesteracionais têm sido úteis no tratamento de pacientes com carcinoma endometrial previamente tratadas por cirurgia e radioterapia.

ANTIESTRÓGENOS

TAMOXIFENO

Cerca de um terço dos pacientes com carcinoma avançado de mama beneficia-se com a ablação endócrina ou tratamento hormonal. O crescimento de algumas células mamárias cancerosas depende da presença de estrógenos e, nesses casos, a ooforectomia pode suprimir o crescimento do tumor. Um novo progresso foi a introdução de drogas antiestrogênicas eficazes e relativamente atóxicas, que bloqueiam as funções periféricas dos estrógenos nos tecidos alvo. Dos vários compostos testados, o tamoxifeno foi aprovado para uso clínico nos Estados Unidos; ele é um eficaz tratamento paliativo para certas pacientes com

câncer avançado de mama. Os tumores que contém receptores de estrogênio e aqueles cujo o crescimento foi diminuído por terapia hormonal anterior tendem a responder ao tamoxifeno; outros em geral, são insensíveis.^{67,68,69,70}

OBJETIVOS
E
JUSTIFICATIVAS



II. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

Segundo Korolkovas,⁷¹ o desenvolvimento de novas moléculas, passíveis de serem utilizadas na modulação de processos biológicos, pode seguir 3 caminhos principais, quais sejam:

A triagem ao acaso ou seletiva de substâncias naturais ou sintéticas;

A síntese de análogos estruturais de substâncias cuja a atividade biológica já foi estabelecida;

O desenvolvimento racional de moléculas, através de estudos quantitativos da relação existente entre a atividade biológica e a estrutura química de determinada classe de substâncias (QSAR).

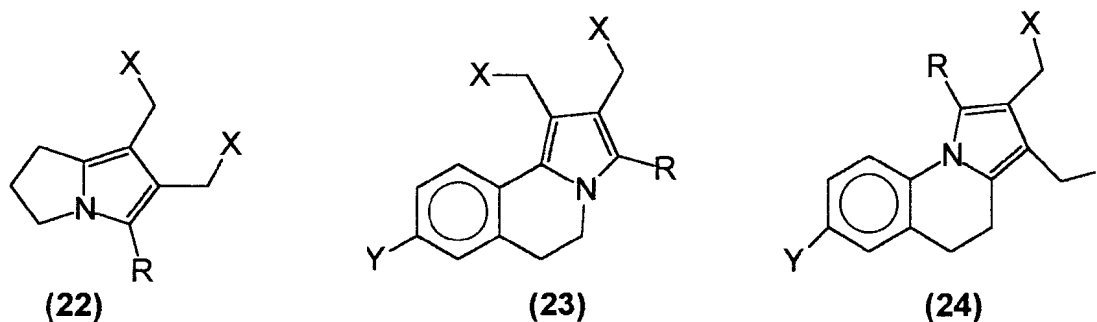
Assim, como vemos, a síntese de análogos de substâncias bioativas constitui uma ferramenta importante nas mãos dos cientistas envolvidos na área de desenvolvimento de fármacos, sendo que inúmeras moléculas, hoje utilizadas na terapêutica, foram preparadas através deste tipo de abordagem.⁷¹ Outro tipo de abordagem interessante, dentro desta mesma idéia, consiste na identificação dos requisitos estrututais mínimos, necessários à atividade biológica, o que vem dar subsídios para a preparação de análogos estruturalmente mais simples, tornando o trabalho de síntese mais objetivo.

O objetivo principal deste trabalho é agregar valor a produtos naturais abundantes e acessíveis. Sendo assim, nossa filosofia é tentar usar precursores naturais, aplicando metodologias sintéticas relativamente simples que permitam a obtenção de moléculas que, à luz de antecedentes descritos na literatura, sejam potencialmente úteis na modulação de fenômenos biológicos, enfatizando principalmente seu potencial antineoplásico.

Como matéria-prima elegemos o alilbenzeno dioximetileno natural safrol **2** (figura 13, pág. 43) como o mais adequado, visto sua versatilidade química, disponibilidade comercial e baixo custo. Além desse fato, o Brasil é um país produtor e exportador de óleo de Sassafras (*Ocotea pretiosa*, Benth, oriunda do Vale do Itajaí-SC),⁷² cujo principal componente é o safrol. Devido a importância deste produto natural como precursor de novas moléculas, estudos vem sendo feitos no sentido de se disponibilizar outras fontes vegetais para a sua obtenção, principalmente de algumas espécies de *Piper*,⁷³ abundantes na Região Amazônica.

São relatados na literatura numerosos processos de utilização do safrol em síntese de substâncias de interesse acadêmico ou mesmo econômico, dentre os quais destacamos alguns exemplos relativos à produção de aditivos para líquidos lubrificantes,⁷⁴ composições sinérgicas para inseticidas⁷⁵ e substâncias de uso terapêutico potencial.⁷⁶

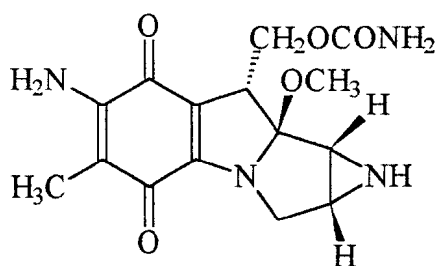
Anderson e cols.⁷⁷ relataram a descoberta de uma nova série de compostos heterocíclicos (figura 11), os quais apresentaram interessante perfil de atividade antitumoral nos testes realizados.



X = OCONHCH₃, OCONHCH(CH₃)₂
 R = H, CH₃, Ar
 Y = OCH₃, Cl, H

Figura 11- Compostos desenvolvidos por Anderson e Cols.⁷⁷

Os compostos mostrados acima, possuem similaridades com as mitomicinas (figura 12, pág. 42) ao nível de seu mecanismo de ação, pois agem como *bis-eletrófilos*, reagindo com o DNA,⁷⁸ apresentando assim um interessante perfil de atividade antineoplásica.



Mitomicina C

Figura 12 - Estrutura da Mitomicina C.

Analisando os trabalhos de Anderson⁷⁷ vemos que o raciocínio empregado no planejamento destes compostos tem, em parte, sido dependente da transmissão dos efeitos eletrônicos do anel fenil para o anel pirrol nestes sistemas biaril. Consequentemente a atividade biológica seria modulada em proporção ao grau de perturbação eletrônica do pirrol. Desta forma, o padrão de substituição do anel benzênico tem efeito sobre a atividade antitumoral destas moléculas, o que nos estimulou a propor a utilização do safrol como precursor de novos derivados com o mesmo perfil estrutural, sendo que estes terão como padrão de substituição o sistema metilenodioxil, vindo do produto natural.

Vislumbramos como alvo sintético o sistema pirroquinolina **1**, para o qual seria desenvolvida uma rota sintética conveniente, tendo o safrol **2** como matéria-prima (figura 13).

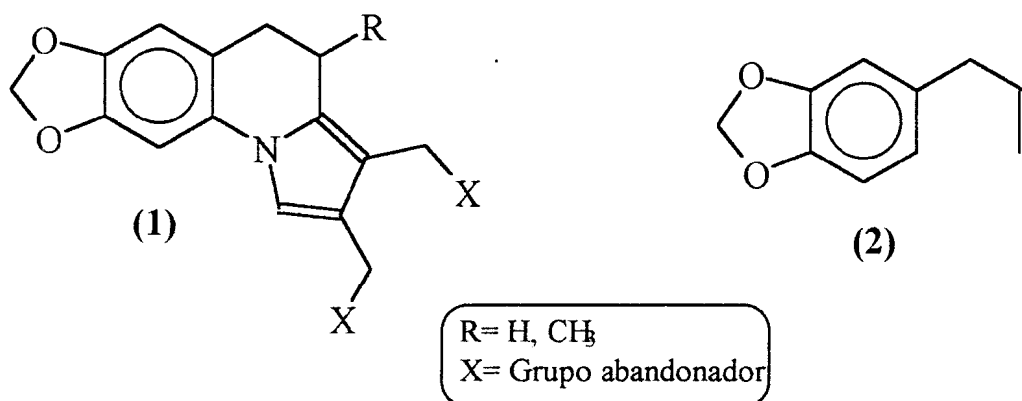


Figura 13 - Novos *bis-eletrófilos*, derivados do núcleo pirroloquinolina **1**, a serem preparados a partir do safrol **2**.

**RESULTADOS
E
DISCUSSÃO**



III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

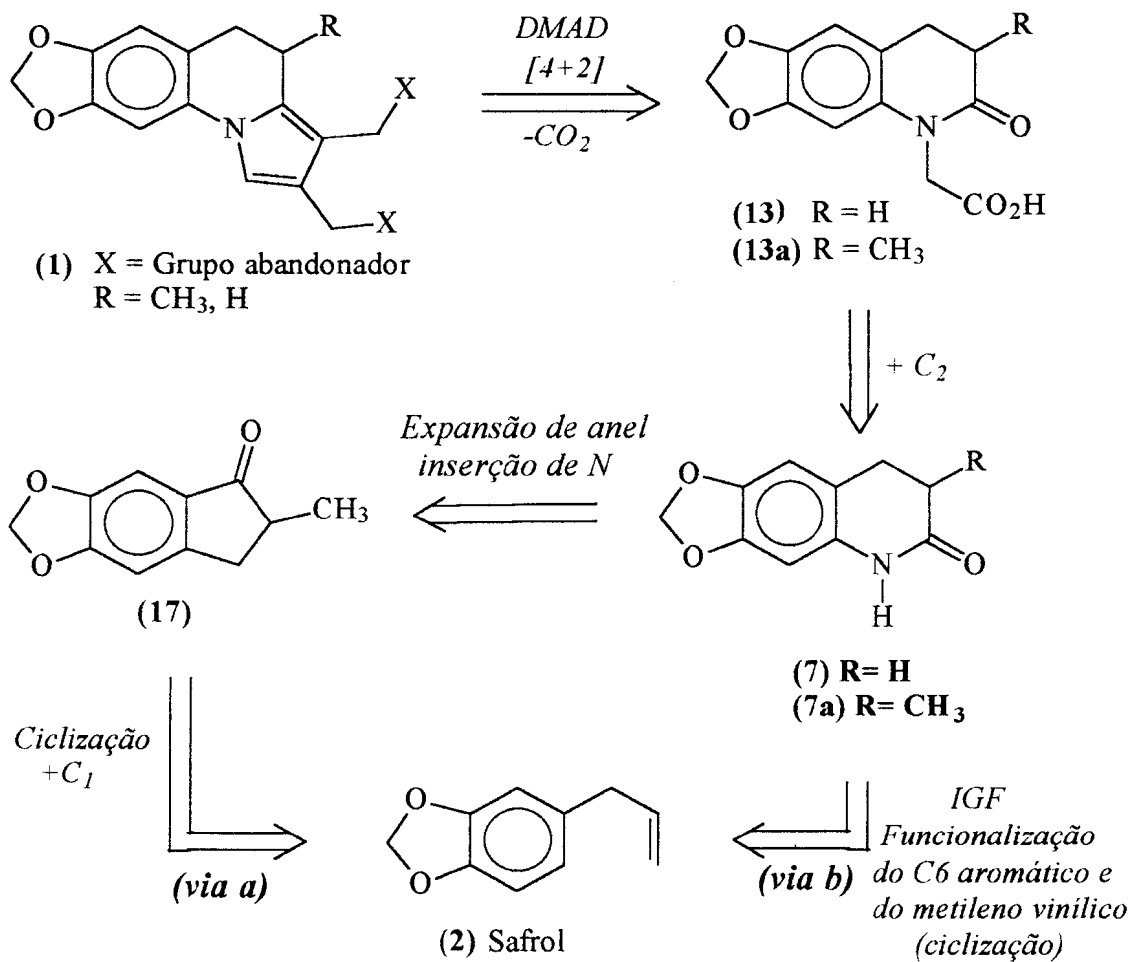
III.1. Análise Retrossintética

Discutiremos a seguir a síntese utilizada na preparação dos derivados do tipo **1**, que são os objetivos sintéticos do nosso trabalho de tese.

Como pode ser visto na análise retrossintética (esquema 2), os derivados heterocíclicos **1** (com R = CH₃) têm como precursor direto a quinolina **13**, através da reação deste intermediário com anidrido acético, gerando uma oxazolona mesoiônica intermediária, que em presença do éster dimetílico do ácido acetileno dicarboxílico (DMAD) deverá sofrer reação de cicloadição do tipo [1,3] dipolar,^{79,80} gerando os derivados do tipo **1**. Por sua vez **13a** (análise retrossintética, onde R = CH₃) poderá vir (através da *via a*) da indanona **17** através da inserção regioseletiva de um átomo de nitrogênio (reação de Beackman ou Schmidt),⁸¹ seguida de uma reação de alquilação do nitrogênio amídico. Poderíamos ainda imaginar outras alternativas para a preparação de **7** (onde R = H) a partir do safrol **2**, através da funcionalização do metileno vinílico, e da posição 6 do anel aromático do produto natural (*via b*).

A indanona **17** pode ser obtida a partir do safrol **2**, através da utilização da reação de isomerização base-catalisada deste alilbenzeno natural,⁸² gerando o isosafrol **16**, o qual é o substrato adequado para aplicação da reação descrita

na literatura por Witiak e colaboradores,⁸³ que se baseia na utilização do reativo de Vilsmeier-Haack.⁸⁴



Esquema 2 - Análise retróssintética para os derivados do tipo 1, preparados a partir do safrol 2.

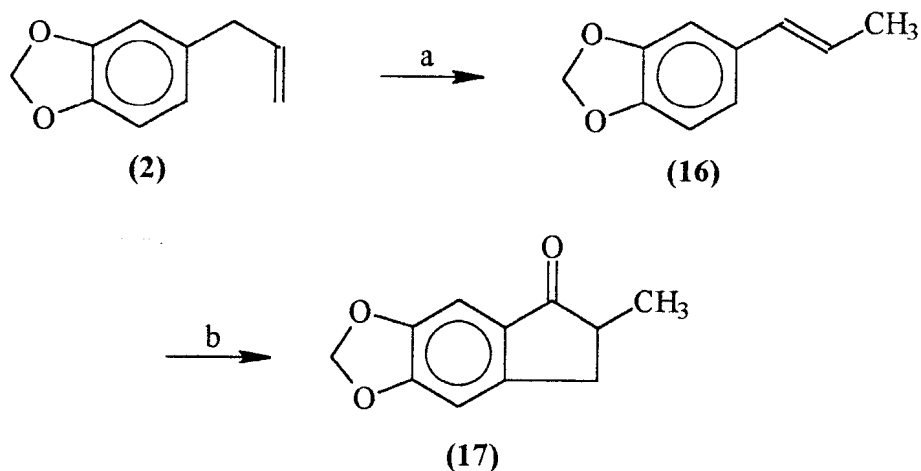
Conforme pode se visto na análise retróssintética mostrada anteriormente, nosso primeiro alvo sintético foi a lactama **7a** (R= CH₃). Uma alternativa imaginada para sua obtenção foi a passagem pela cetona **17** (*via a*, análise retróssintética).

III.2. Preparação da Indanona **17**

Esta substância pode ser obtida através de diversas metodologias multi-etapas.⁸⁵ Entretanto, a preparação da indanona **17** a partir do produto natural pode ser satisfatoriamente conduzida, como mostrado no esquema 3, através de uma adaptação da metodologia descrita por Witiak,⁸³ a qual consiste numa modificação da reação de Vilsmeier-Haack⁸⁴ sobre vinil-benzenos.

A aplicação da reação de Vilsmeier-Haack sobre derivados estirênicos foi originalmente descrita por Schmidle e Barnett,⁸⁶ como método para a obtenção de cinamaldeídos. Modificando estas condições reacionais, Witiak relatou em seu trabalho a obtenção da indanona **17** em rendimentos da faixa de 40%. Posteriormente, Freire-de-Lima,⁸⁷ em sua tese de Mestrado, otimizou a reação, elevando o rendimento para valores da faixa de 70-80%.

O substrato da reação de ciclização, o isosafrol **16**, foi preparado quantitativamente, a partir do safrol **2**, através da isomerização base-catalisada^{82,87} descrita a seguir.



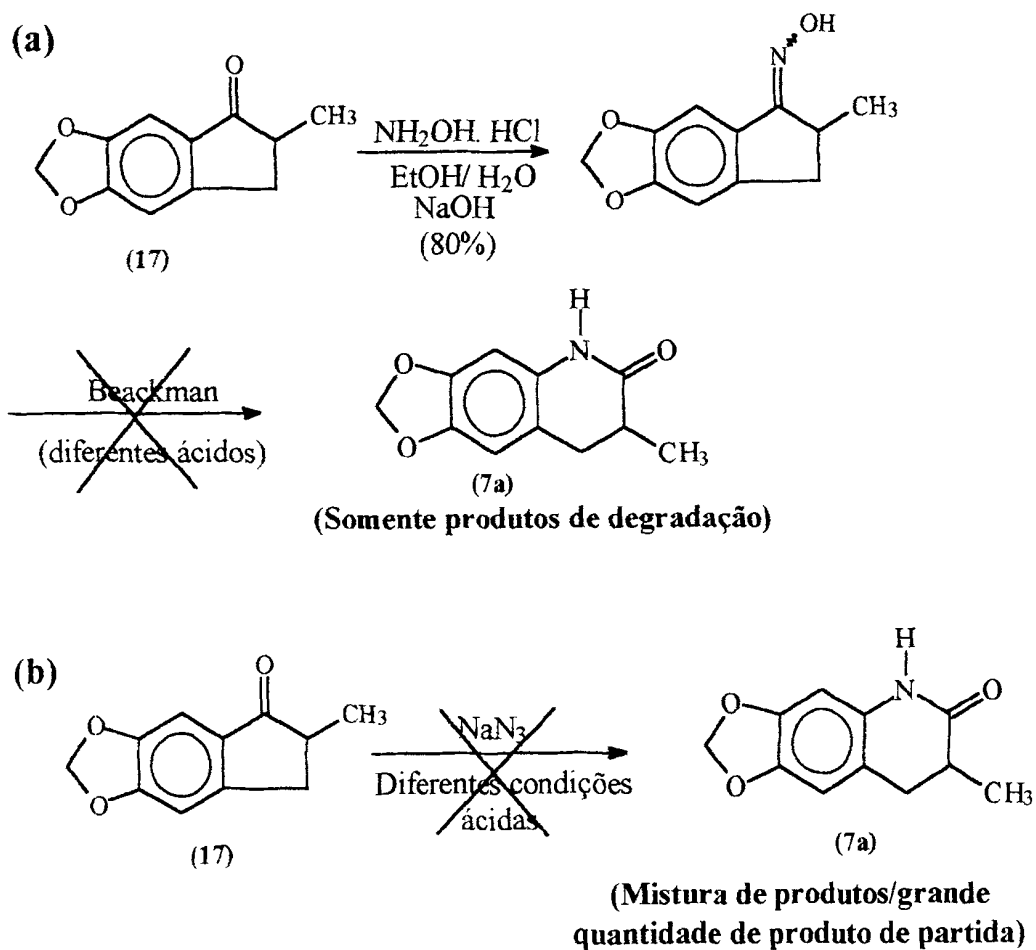
Reagentes: a) KOH, *n*-butanol, refluxo (quant.); b) DMF, POCl₃, 110-120°C; NaOH aq., t.a. (70-80%).

Esquema 3 - Preparação da indanona **17**, a partir do safrol **2**.

III.3. Tentativa de Inserção de Nitrogênio. Preparação da Lactama **7b**.

Dando prosseguimento à rota sintética preconizada (análise retrossintética; esquema 2, pág. 43), uma vez tendo em mãos a indanona **17**, partiu-se para a inserção de um átomo de nitrogênio no núcleo indânico, convertendo assim a indanona na lactama **7a** (R=CH₃). As alternativas para este tipo de transformação seriam o rearranjo nucleofílico de Beackman ou Schmidt.⁸⁸ Contudo, quando a indanona **17** foi colocada frente a condições reacionais clássicas descritas para os rearranjos de Beackman (esquema 4, entrada a) e Schmidt (esquema 4, entrada b), não obtivemos o produto esperado, que seria a lactama **7a**. Foram obtidos unicamente produtos de

degradação, quando do aumento da força do ácido utilizado (Beackman), contaminados com quantidades razoáveis do produto de partida.



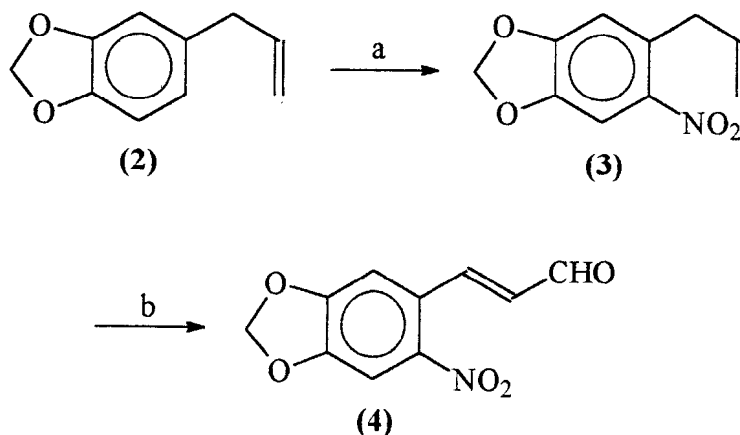
Esquema 4 - Condições das Reações de Beackman e Schmidt sobre a indanona 17.

Visto que não foi possível otimizar a sequência anterior para obtenção da lactama **7a** (R=CH₃), a qual seria o precursor do derivado heterocíclico **1** (R=CH₃), através da metodologia descrita na análise retrossintética mostrada no esquema 2 (pág. 43), nos lançamos no estudo de uma nova alternativa sintética (*via b*, análise retrossintética), que nos permitisse obter a lactama **7** (R=H), análogo *nor*-metil da lactama anterior **7a**.

III.4. Preparação da Lactama 7 (Método 1)

A sequência sintética executada consistiu primeiramente na nitração regioseletiva do anel aromático do safrol,⁸⁹ visando a introdução, já nesta etapa, do nitrogênio da lactama **7** (análise retrossintética; esquema 2, pág. 43). A nitração do safrol **2** foi conduzida em ácido acético, em presença de HNO₃ concentrado, gerando regioseletivamente o nitroderivado **3**, com excelente rendimento (esquema 5). Já havendo no nitroderivado **3**, o número adequado de átomos de carbono, necessários à construção do sistema cíclico de seis membros, a próxima transformação a ser executada consistia na reação de oxidação do carbono terminal do radical alila proveniente do produto natural (análise retrossintética, esquema 2). A funcionalização do metileno terminal do safrol pode ser executada através do tratamento do nitroderivado **3** com dióxido de selênio,^{89,90} tendo dioxana como solvente. Esta etapa de oxidação possui

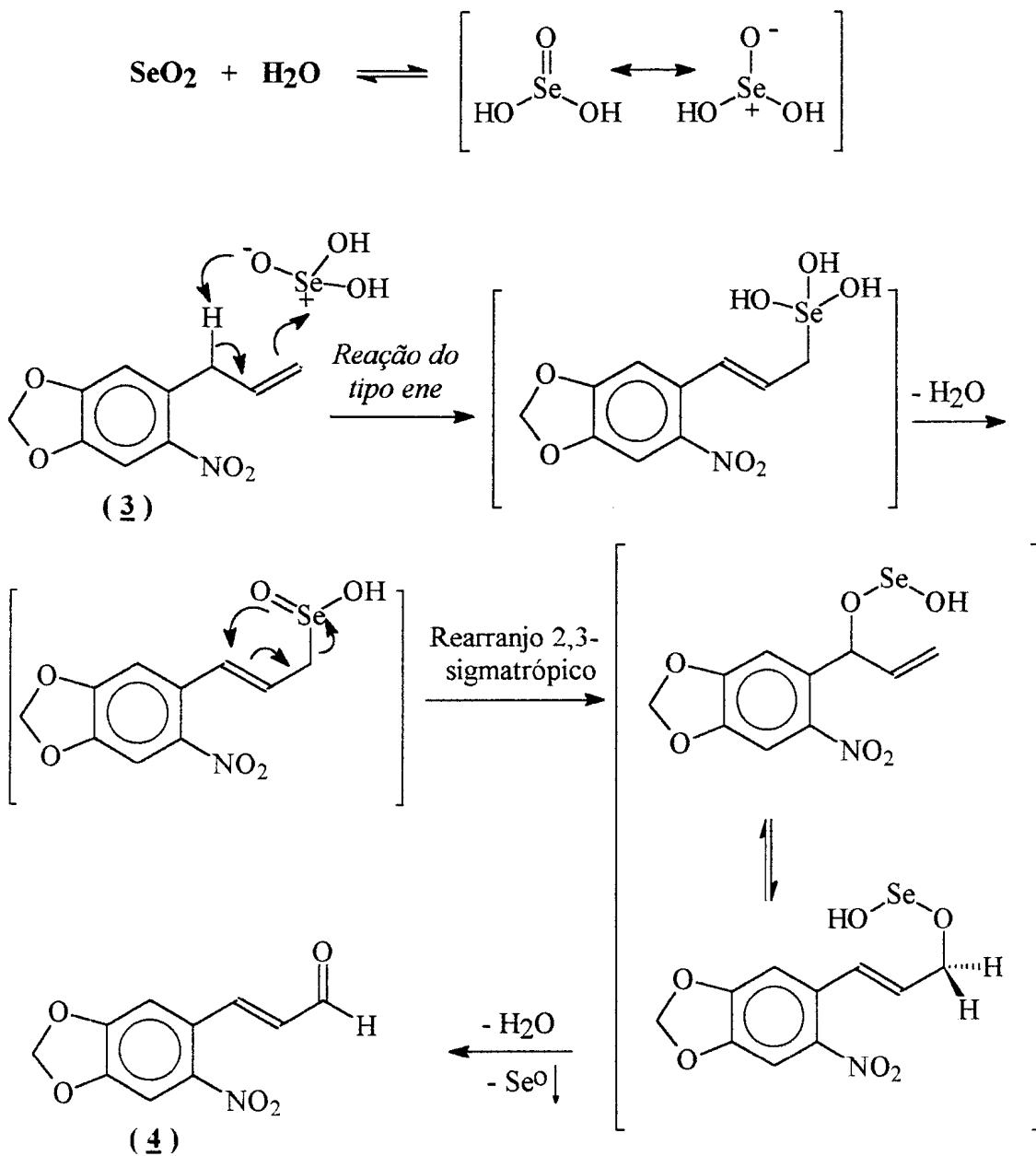
como inconveniente a contaminação constante por selênio, mesmo após purificação do produto por cromatografia. A natureza *trans* da dupla ligação foi determinada com base na constante de acoplamento dos hidrogênios olefínicos ($J=16$ Hz; espectro 3, pág. 85).



Reagentes: a) HNO_3 , AcOH ($0^\circ\text{C} \rightarrow \text{T.A.}$); b) SeO_2 , dioxana, refluxo; (50% a partir de 2)

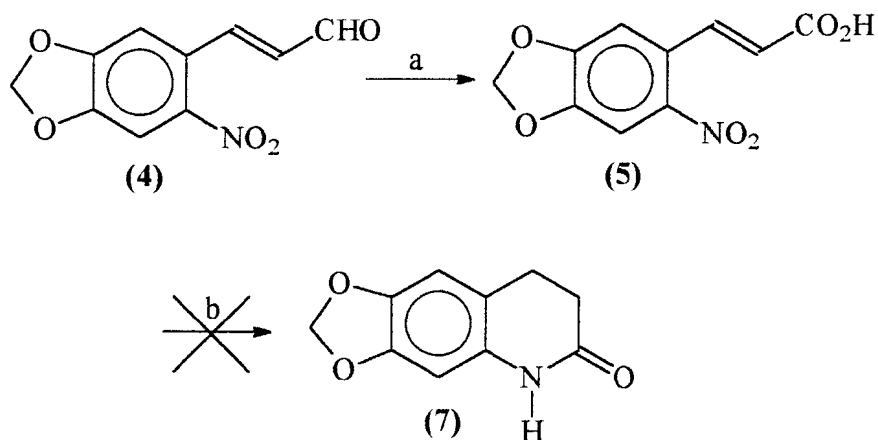
Esquema 5 - Obtenção do nitroaldeído 4 a partir do safrol 2.

Na reação de oxidação acima descrita temos, numa única etapa, a isomerização da dupla ligação, e a oxidação da posição alílica, gerando o derivado cinâmico 4. No esquema 6 descrevemos uma proposta mecanística para esta etapa de oxidação.



Esquema 6 - Proposta mecanística para a oxidação com SeO_2 .⁹⁰

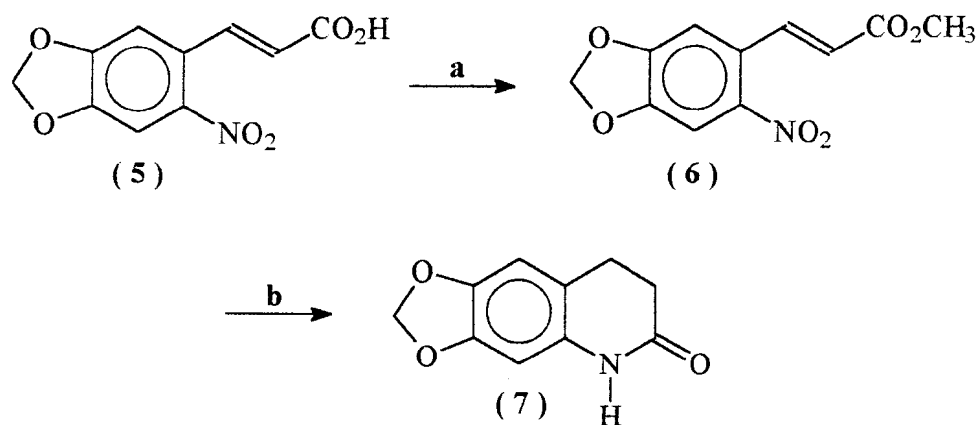
Dando continuidade ao nosso estudo, quando aldeído cinâmico **4** foi tratado com Reagente de Jones⁹¹ (esquema 7), obtivemos o nitroácido **5**, com excelente rendimento e elevado grau de pureza. Quando **5** foi colocado em condições de redução que gerariam a lactama **7** (H₂, Pd/C), obtivemos um material extremamente polar, o qual não apresentava as características do produto desejado. Além disso, outro inconveniente encontrado nesta transformação foi a reduzida solubilidade do nitroácido **5**, nos solventes usualmente utilizados na etapa de redução catalítica.



Reagentes: a) Reagente de Jones, acetona, isopropanol, (80%); b) H₂, Pd/C, CH₃OH. (material extremamente polar, não caracterizado).

Esquema 7 - Esquema Sintético Para a Obtenção da Lactama **7**.

Desta forma, face ao resultado negativo obtido na etapa de redução catalítica, resolveu-se trabalhar com o éster metílico **6**, derivado do ácido **5**, o qual foi facilmente obtido através do método clássico de Fischer (metanol, H₂SO₄ cat.). Quando o nitroéster **6** foi colocado frente às mesmas condições de redução descritas para o ácido **5**, a lactama **7** foi isolada como único produto. Nesta transformação estão envolvidas 3 etapas consecutivas: saturação da dupla ligação; redução do grupo nitro ao amino; seguida da ciclização do aminoéster intermediário, gerando assim a lactama **7** (esquema 8).

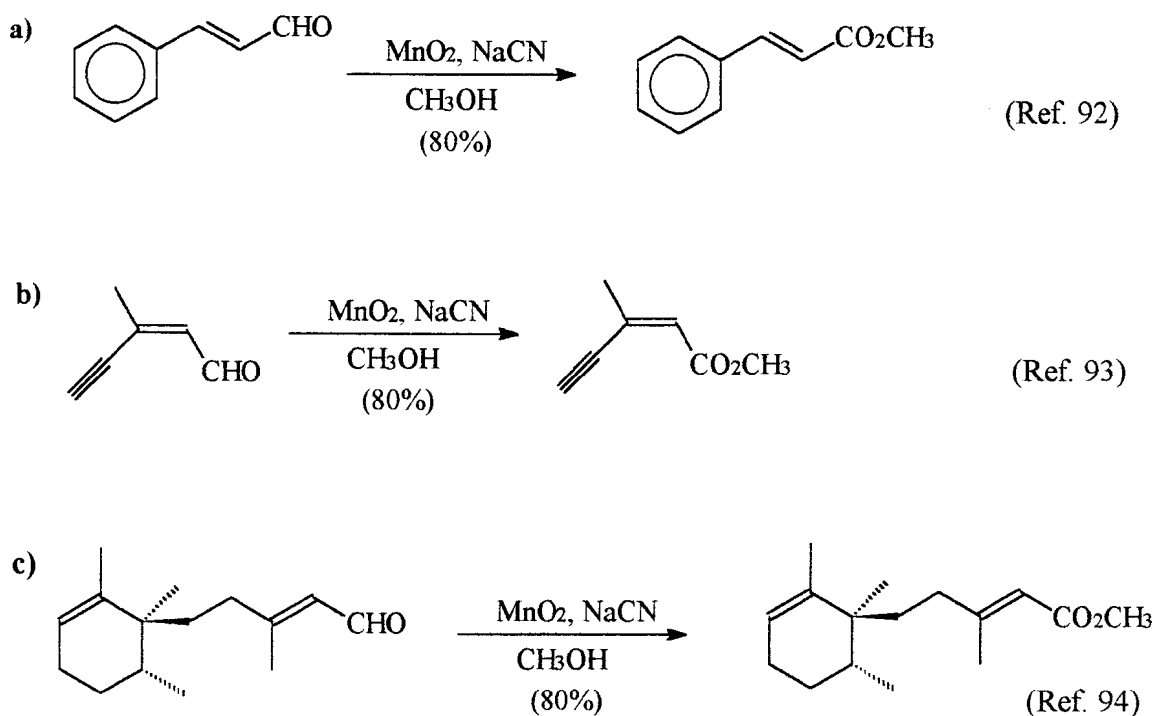


Reagentes: a) CH₃OH, H₂SO₄, refl. (87%); b) H₂, Pd/C, metanol (80%).

Esquema 8 - Preparação da lactama **7** a partir de **6**, em duas etapas.

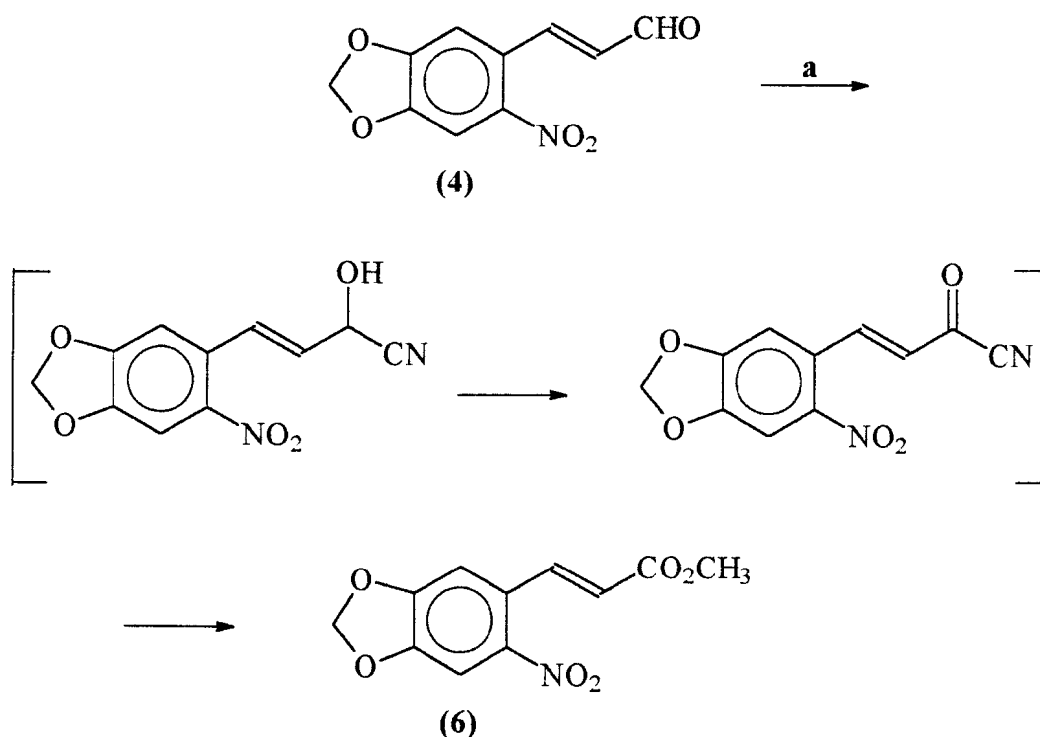
Apesar da sequência anteriormente descrita ter permitido a preparação do intermediário **7**, a necessidade de passar pelo nitroéster **6** acrescentou uma etapa à rota sintética. Com o propósito de otimizar nossa estratégia, buscou-se

na literatura um método que nos permitisse a transformação direta do aldeído **4** no éster **6**. O método descrito por Corey nos pareceu o mais adequado, no qual aldeídos α,β -insaturados, quando tratados por NaCN/MnO₂, tendo metanol como solvente geram, com excelentes rendimentos, os respectivos ésteres metílicos. Um ponto que chamou nossa atenção é que, apesar de seu potencial, encontramos na literatura poucos exemplos da aplicação desta metodologia (esquema 9).^{92,93,94}



Esquema 9 - Exemplos da aplicação da metodologia de Corey para oxidação direta de aldeídos a ésteres

A aplicação desta metodologia sobre o nitroaldeído **4**, forneceu o nitroéster **6**, em 90% de rendimento. Nesta transformação passamos por uma cianoidrina, a qual é oxidada a uma cianocetona intermediária pela ação do MnO_2 presente no meio reacional. Este intermediário sofre solvólise (metanol presente no meio reacional), gerando assim o éster desejado (esquema 10).



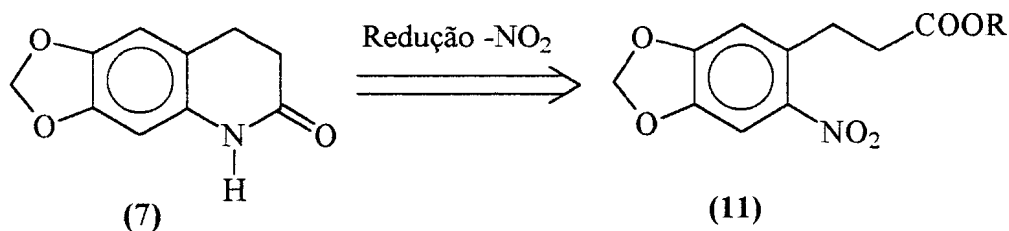
Reagentes: a) MnO_2 , $NaCN$, CH_3OH (91%).

Esquema 10 - Aplicação da metodologia de oxidação de aldeídos α,β -insaturados sobre o nitroaldeído **4**.

III.5. Preparação da Lactama 7 (Método 2)

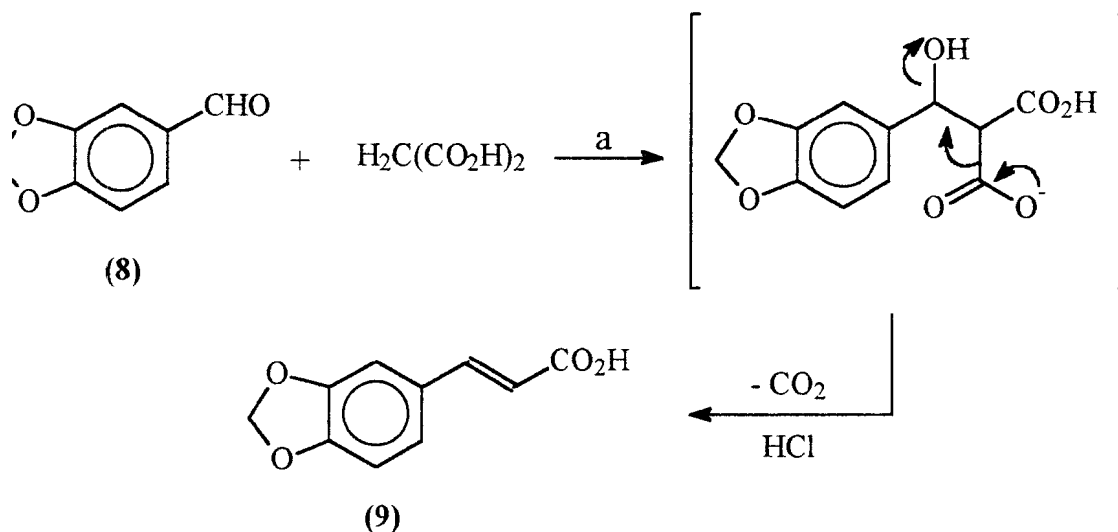
Uma limitação na rota sintética que acabamos de descrever foram os problemas encontrados quanto à reprodutibilidade da etapa de hidrogenação catalítica do nitroéster 6 (esquema 8, pág. 53). Quando conduzida sobre escalas maiores, a reação de redução fornecia mistura de produtos de difícil separação, restando ainda quantidades consideráveis de produto de partida. Esta observação experimental nos estimulou ao estudo de uma alternativa que permitisse a obtenção da lactama 7 por outro caminho, o qual necessariamente não passaria por etapas envolvendo redução catalítica.

Desta forma, imaginamos uma sequência na qual a lactama 7 viria de uma reação de redução de um nitroderivado do tipo 11 (esquema 11, a seguir), o qual não possui a dupla ligação na posição α -carbonila, o que nos permitiria imaginar outras alternativas para a reação de redução quimiosseletiva do grupamento nitroaromático (esquema 11).



Esquema 11 - Abordagem para obtenção da lactama 7.

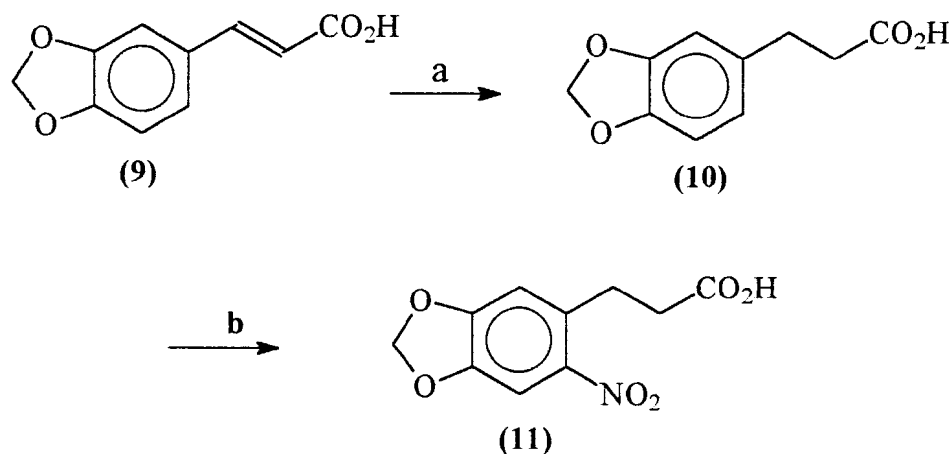
Encontramos na literatura abordagens que poderiam ser aplicadas à preparação de **11**, utilizando o safrol como material de partida.⁹⁵ Contudo a preparação do intermediário adequado à etapa de redução, o nitroderivado¹¹, foi conseguida através da utilização do piperonal **8**, um derivado do safrol,⁷² disponível comercialmente, como material de partida. A introdução dos dois átomos de carbono sobre o piperonal foi realizada utilizando-se a reação de Knoevenagel,^{96,97} a qual consiste numa reação de condensação aldólica catalizada por amina. A utilização do carbânion gerado a partir do ácido malônico nestas condições, gera um intermediário susceptível a sofrer descarboxilação-eliminação *in situ*, num processo concertado (esquema 12).



Reagentes: a) Pifidina, piperidina (95%).

Esquema 12 - Preparação do ácido β-fenil-acrílico **9**.

A redução da dupla ligação α -carbonila foi realizada através da adição de amálgama de sódio⁹⁸ sobre a solução aquosa do carboxilato do ácido insaturado, através de um processo que envolve transferência de elétrons. Quando o produto de redução **10** foi tratado com HNO₃ concentrado, em solução de ácido acético, ocorreu a nitração regioseletiva da posição 6 do núcleo aromático, gerando, em excelentes rendimentos, o nitroderivado **11** (esquema 13).

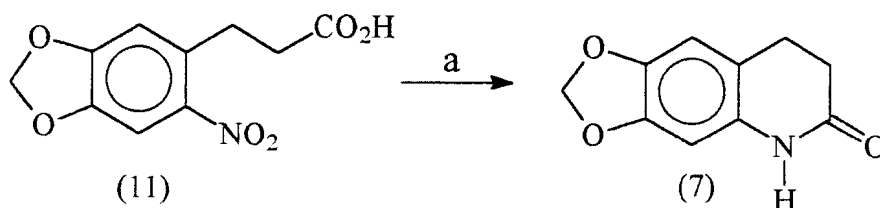


Reagentes: a) Na/Hg (5%), NaOH (sol. aquosa a 10%) (90%); b) HNO₃, AcOH (80%).

Esquema 13 - Preparação do nitroácido **11**, a partir do derivado acrílico **9**.

Encontramos na literatura diversas alternativas para efetuar a redução de grupamentos nitroaromáticos.⁹⁸ Buscamos uma alternativa que fosse aplicável ao nosso caso específico, ou seja, um método quimiosseletivo, e que

favorecesse a ciclização *in situ* do 5-aminoácido formado intermediariamente. Dentre as diversas condições reacionais testadas,⁹⁸ a que apresentou melhores resultados foi a metodologia que envolve a utilização de estanho metálico em meio ácido. Trata-se de um processo de redução por transferência de elétrons, que normalmente é utilizado para a redução de nitroaromáticos. No esquema 14 mostramos a etapa de redução do nitroácido **11**, fornecendo a lactama **7**, como único produto, em excelentes rendimentos e elevado grau de pureza.



Reagentes: a) Sn⁰, HCl *conc.*(60%).

Esquema 14 - Redução do nitroácido **11**. Alternativa para a obtenção da lactama **7**.

Os produtos obtidos através das duas rotas estudadas apresentaram espectros idênticos e está de acordo com a estrutura 7 (parte experimental, pp. 92-94). Na figura a seguir (figura 14) descrevemos alguns dados espectrométricos obtidos a partir de uma amostra pura de 7.

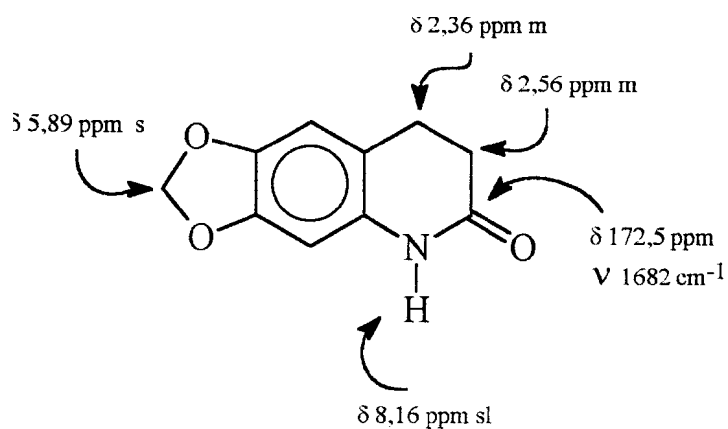
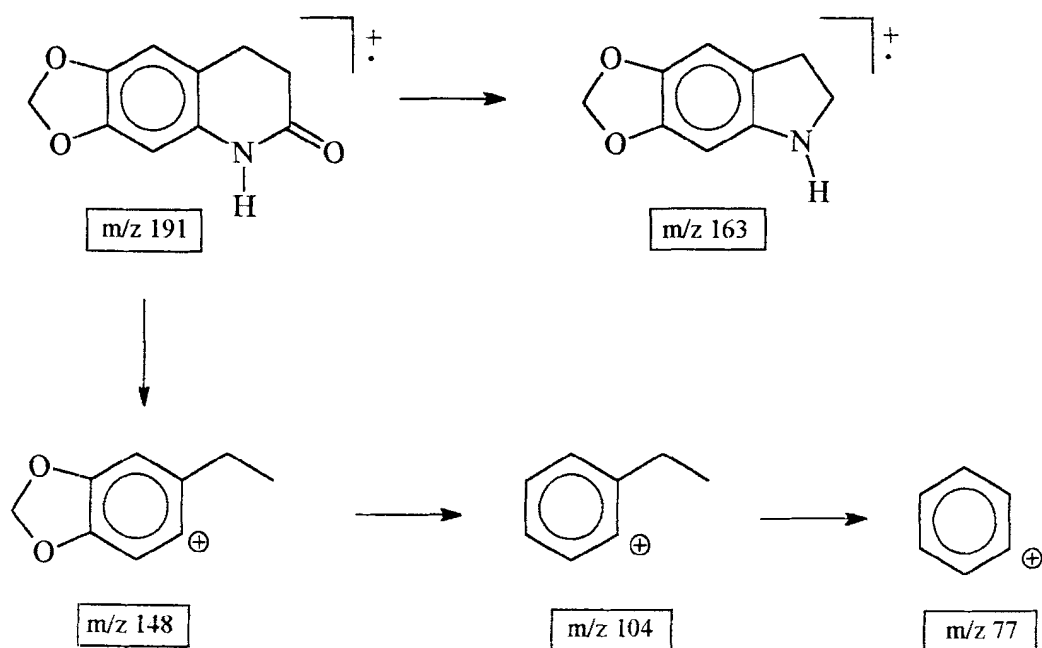


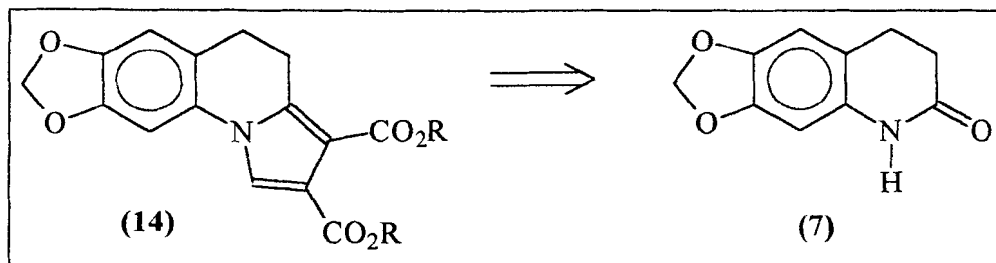
Figura 14- Dados espectrométricos da lactama 7.

No espectro de massas observamos algumas fragmentações, e destacamos as mais significantes, como mostrado no esquema 15.

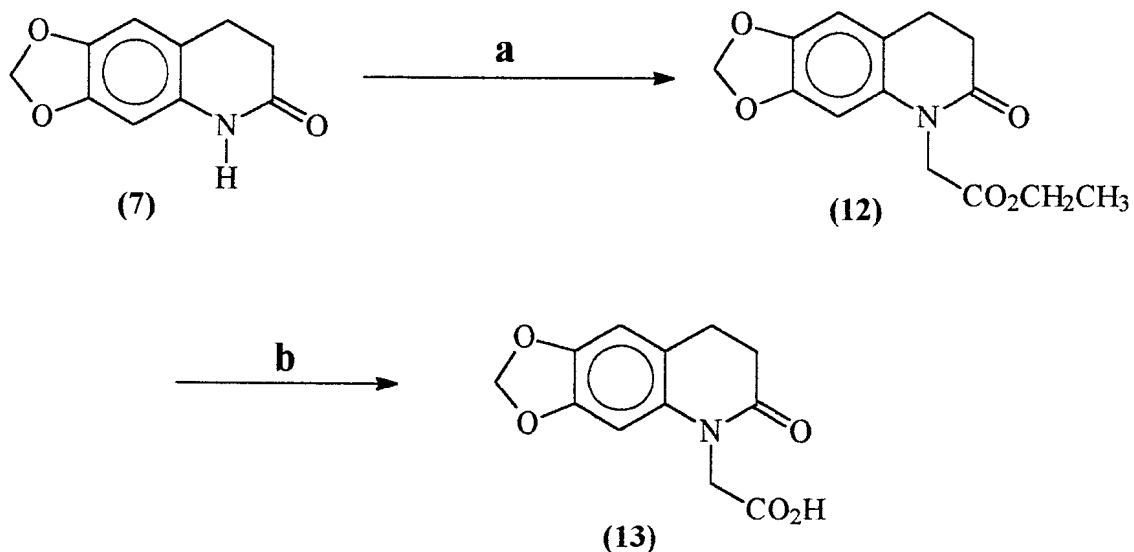


Esquema 15 - Principais fragmentações do derivado 7.

III.6. Utilização da lactama 7 como precursor do núcleo pirroloquinolina



O diéster **14** pode ser convenientemente preparado a partir de **7**, através de uma reação de cicloadição 1,3-dipolar com éster dimetílico do ácido acetilenoedicarboxílico (DMAD) e uma oxazolona intermediária.⁹⁹ O precursor direto da oxazolona, é um derivado do tipo α -amidoácido, o qual pode ser convenientemente obtido a partir da lactama **7**, através de uma reação de alquilação do nitrogênio lactâmico. Encontramos na literatura diversas alternativas que permitiriam a alquilação do nitrogênio da lactama **7**.¹⁰⁰ Dentre as alternativas testadas a que apresentou melhores resultados foi através da preparação do ânion em presença de NaH, seguido da adição do eletrófilo, gerando o α -amidoéster **12**, que após hidrólise básica gera, em excelentes rendimentos, o ácido **13**, o qual é o precursor adequado à etapa de cicloadição 1,3-dipolar (esquema 16).



Reagentes: a) NaH, PhCH₃, refl. 1h; BrCH₂CO₂CH₂CH₃; b) NaOH aq. (90%).

Esquema 16 - Reação de alquilação do nitrogênio lactâmico.

Após alguns ajustes, as duas etapas mostradas no esquema acima foram realizadas *one-pot*, através da remoção do solvente, seguido da adição, no mesmo balão reacional, de solução aquosa de hidróxido de sódio à 10%, gerando diretamente o ácido **13**, em 90% de rendimento.

III.6.1. Reação de cicloadição 1,3-dipolar da oxazolona mesoiônica, com o éster dimetílico do ácido acetileno dicarboxílico (DMAD)

As reações de cicloadição 1,3-dipolar fornecem uma excelente entrada para a construção de sistemas heterocíclicos.¹⁰¹ Na reação de Diels-Alder,¹⁰¹ o componente $\pi 4_s$ é um dieno no qual os quatro elétrons π encontram-se distribuídos sobre quatro átomos de carbono. No caso de um dipolo, os quatro elétrons π estão sobre três átomos, contudo, a simetria do HOMO é a mesma do dieno, de forma que podemos esperar que a adição concertada do tipo $[\pi 4_s + \pi 2_s]$ seja um processo permitido. Huisgen e cols.¹⁰² realizaram uma série de estudos sobre o mecanismo da reação de cicloadição 1,3-dipolar. Como pode ser visto em seus trabalhos, as evidências apontam para um processo concertado. Outro ponto interessante evidenciado nos trabalhos de Huisgen¹⁰³ é que sistemas heterocíclicos mesoiônicos, do tipo sidnonas (A) e oxazolonas (B), funcionam como 1,3-dipolos mascarados, do tipo azometino-iminas e azometino-ilídeos (figura 15), contidos num anel heterocíclico.

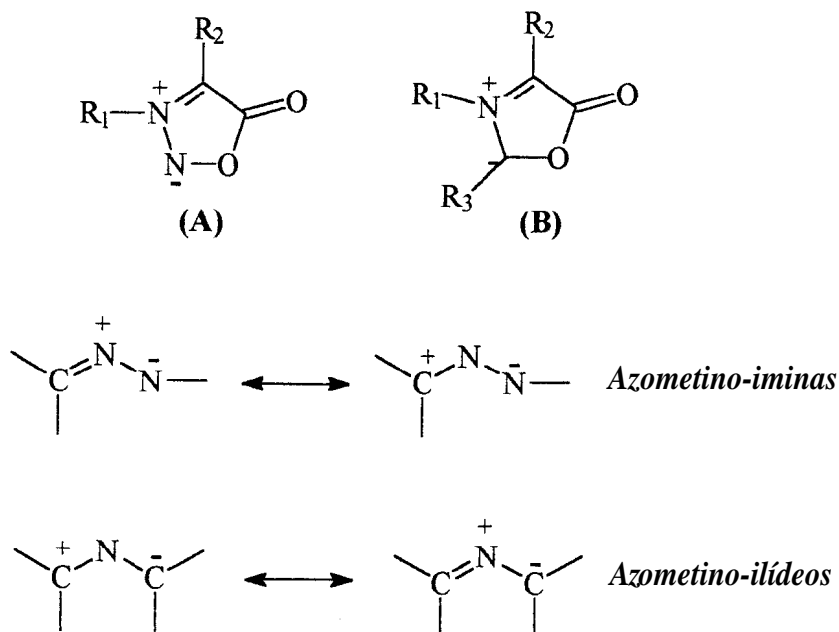
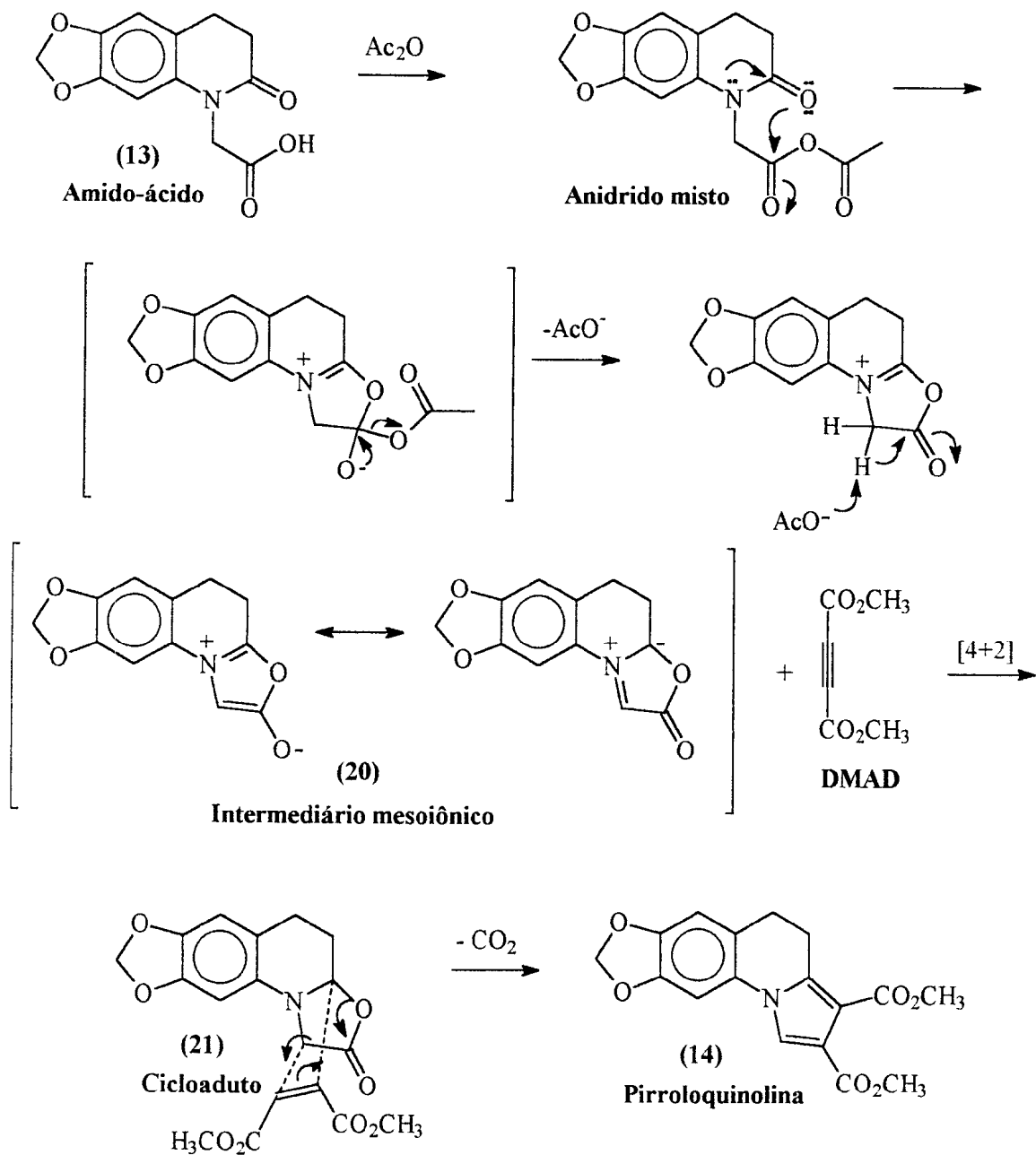


Figura 15 - 1,3-Dipolos relacionados aos núcleos mesoiônicos sidnona (A) e oxazolona (B).

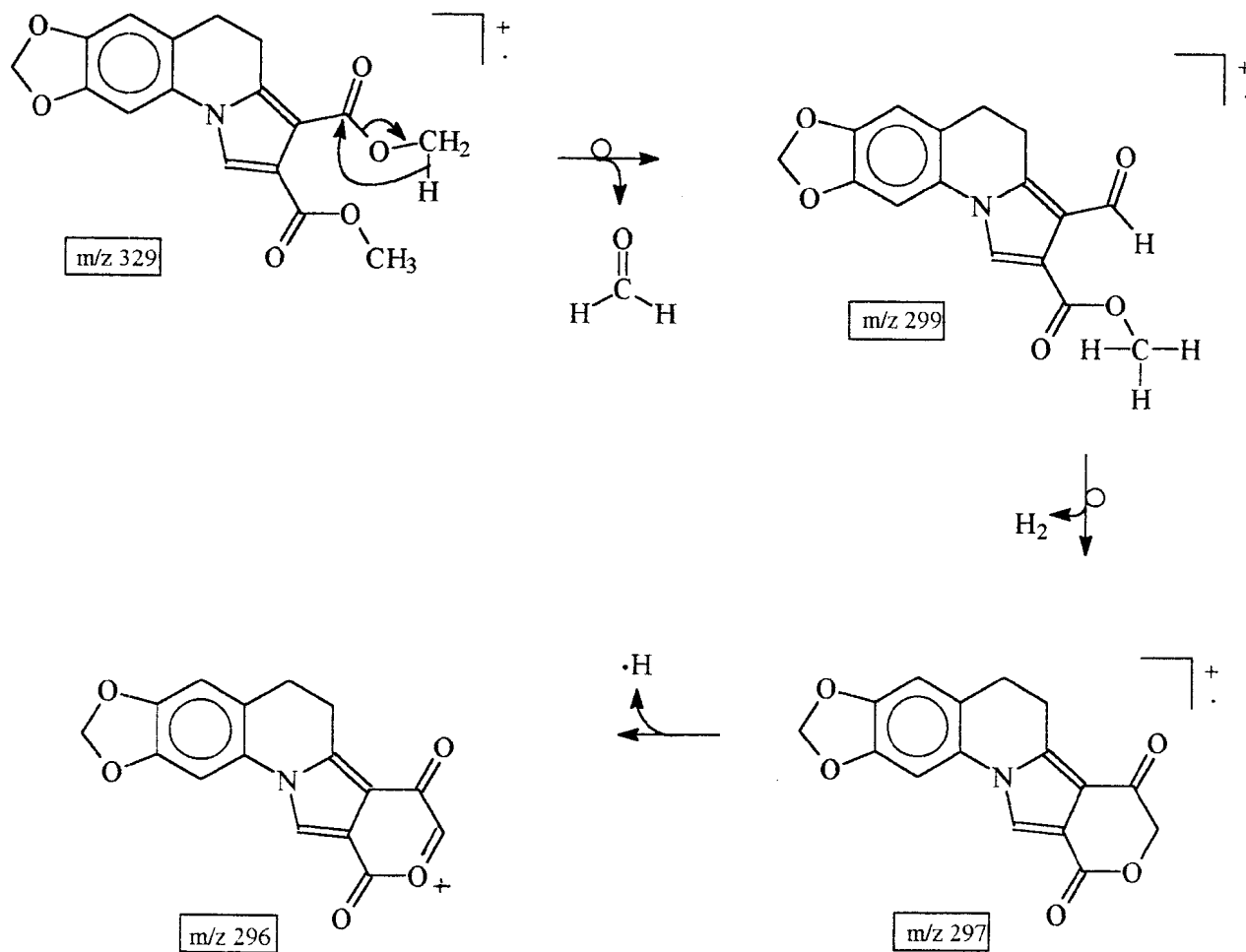
Estes intermediários, quando em presença de sistemas insaturados (duplas ou triplas ligações), geram adutos, os quais, subsequentemente à etapa de cicloadição, perdem dióxido de carbono através de uma reação do tipo *retro-Diels-Alder*.¹⁰¹ Anderson,⁷⁷ lançou mão deste tipo de reação para a preparação do núcleo pirrólico presente nos derivados preparados por ele. Como este tipo de metodologia era a que se adequava à nossa abordagem sintética, passamos então à investigação da melhor condição experimental para preparação do núcleo pirroloquinolina presente no produto final que objetivamos preparar. O amidoácido **13**, como mencionado anteriormente,

constitui-se como um precursor adequado à oxazolona mesoiônica, a qual servirá como intermediário para a preparação do núcleo pirrólico 3,4-dissubstituído presente no intermediário **14** (análise retrossintética, página 47). Dentre as condições experimentais testadas¹⁰⁴ a que se mostrou mais adequada ao nosso sistema foi o tratamento de **13** com anidrido acético (recém-distilado). No esquema 17 apresentamos uma proposta mecanística, na qual procuramos evidenciar a passagem pela oxazolona intermediária **20**, a qual em presença do dipolarófilo adequado (DMAD) gera o cicloaduto **21**, que numa etapa de descarboxilação subsequente aromatiza fornecendo o núcleo pirrólico presente em **14**. O rendimento obtido para esta etapa é compatível com os rendimentos descritos na literatura para este tipo de reação. (temperaturas superiores a 80°C, abaixam o rendimento e diminuem a pureza do produto).⁷⁸ Outra alternativa testada nesta etapa foi o uso de dicicloexilcarbodiimida (DCC)¹⁰⁵ na etapa de ativação do carbono carbonílico.



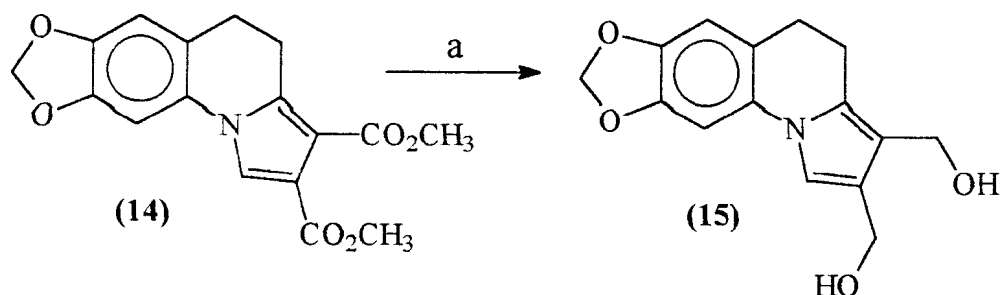
Esquema 17 - Proposta mecanística para a etapa de cicloadição 1,3-dipolar.¹⁰¹

A pirroloquinolina **14** foi devidamente caracterizada pelos métodos usuais de análise (IV, EM, RMN ^1H e ^{13}C ; parte experimental pp. 111-113), sendo que no esquema 18 mostramos os principais fragmentos do espectro de massa de **14**, obtido por impacto eletrônico a 70 eV.



Esquema 18 - Principais fragmentações do derivado **14**.

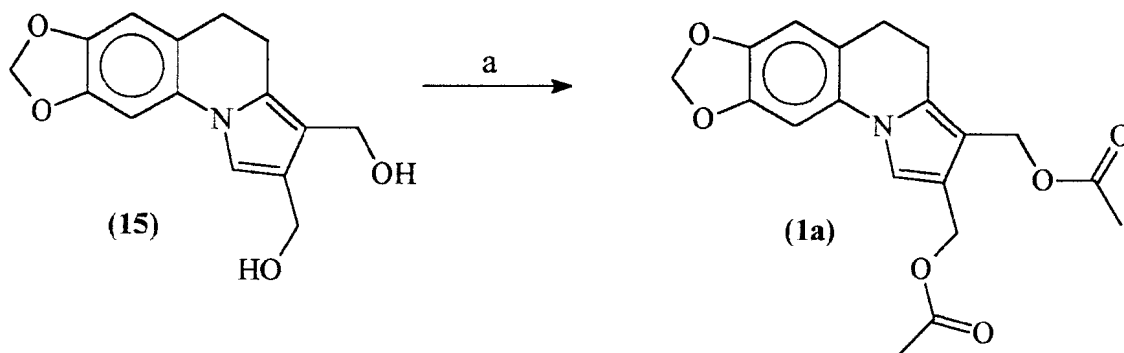
Dando continuidade ao estudo sintético preconizado (análise retrossintética, página 45), o próximo passo consistiu na transformação do precursor **14** em derivados de natureza *bis*-eletrófila. Para tanto, o diéster **14** foi reduzido ao diol correspondente pelo seu tratamento com LiAlH_4 , tendo THF como solvente (esquema 19), o qual é o método de escolha para este tipo de transformação,⁹⁸ obtendo-se o diol **15** com excelente rendimento, e com alto grau de pureza.



Reagentes: a) LiAlH_4 , THF; H_3O^+ (90%).

Esquema 19 - Redução do diéster **14** ao diol **15**.

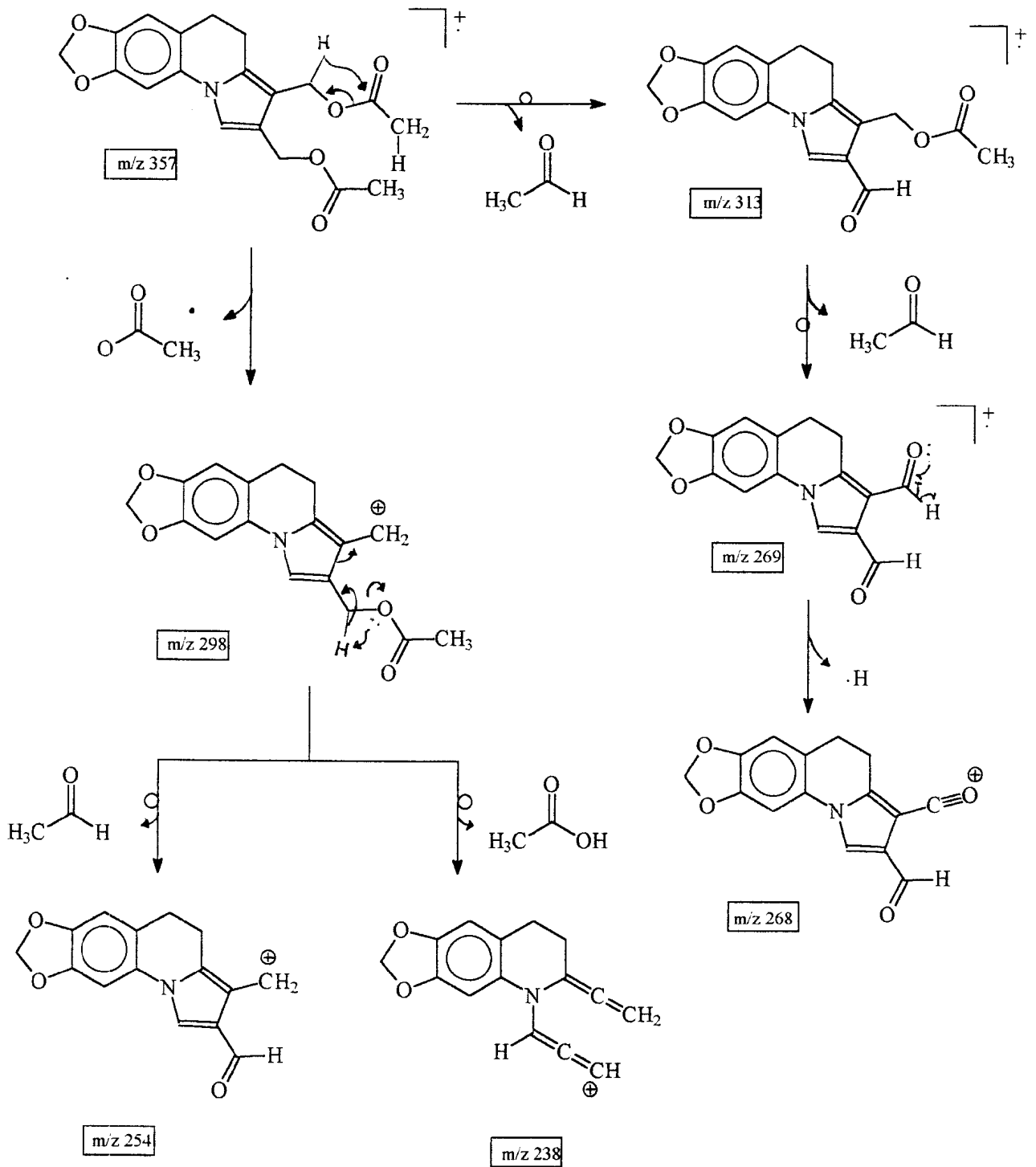
O diol **15**, uma vez obtido, foi submetido à diferentes condições reacionais visando a preparação de alguns derivados. A primeira transformação realizada foi a acetilação de **15**, realizada em anidrido acético, em presença de piridina (esquema 20), que forneceu o derivado acetilado **1a**. Este derivado serviu também para ajudar na caracterização do diol precursor.



Reagentes: a) (CH₃CO)₂O, piridina (83%).

Esquema 20 - Preparação do *bis*-acetato **1a**.

O *bis*-acetato **1a** foi devidamente caracterizado pelos métodos usuais de análise (IV, EM, RMN ¹H e ¹³C; parte experimental pp. 117-119), sendo que no esquema 21 mostramos os principais fragmentos do espectro de massa de **1a**, obtido por impacto eletrônico a 70 eV.



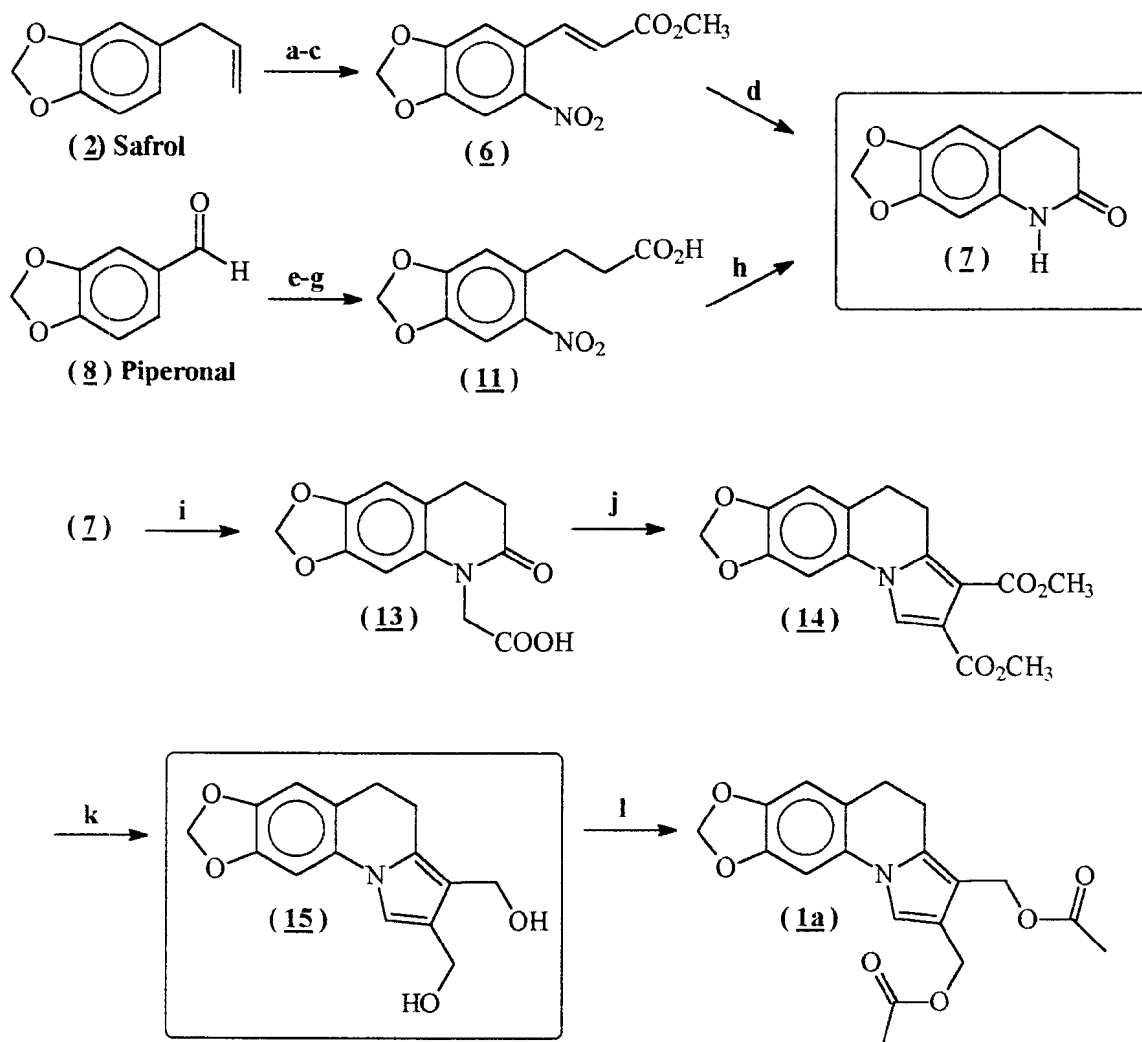
Esquema 21 - Principais fragmentações do derivado **1a**.

Tendo como objetivo variar a natureza e eficiência do grupo abandonador dos derivados sintetizados, visto o padrão de substituição do sistema aromático ser, em nosso caso, fixo e estar presente o padrão metilenodioxi, oriundo do produto natural (análise retrossintética, página 45), imaginamos a preparação de alguns derivados, além do *bis*-acetato já obtido: *bis*-halogenetos **1b**, e um *bis*-carbamato **1c**, uma vez que os derivados de Anderson⁷⁷ apresentam este perfil. Contudo, quando o diol **15** foi colocado em condições clássicas de halogenação¹⁰⁶ (SOCl₂, excesso), ocorreu a formação de um produto escuro e de natureza polimérica, o qual não foi possível caracterizar. Observamos este comportamento tanto na reação com cloreto de tionila puro, quanto em solução de tolueno. Outras alternativas de halogenação poderão ainda serem testadas.^{107,108}

Ao buscarmos na literatura as condições reacionais para a preparação de carbamatos a partir dos álcoois correspondentes, notamos que os rendimentos variam bastante, de acordo com a natureza do álcool precursor. Em álcoois alílicos, o simples tratamento com fenil-isocianato, em tetraidrofurano, gera o carbamato correspondente com excelentes rendimentos (>90%).¹⁰⁹ Contudo, os *bis*-eletrófilos do tipo carbamato, preparados por Anderson⁷⁷ são alquil-carbamatos. Outro detalhe é que neste caso os rendimentos são baixos, sendo necessária a utilização de um catalisador (diacetato de *n*-butil estanho). Assim,

uma vez tendo em mãos os alquil-isocianatos adequados, será possível, a partir do precursor avançado **15**, a preparação de alguns derivados do tipo *bis*-carbamato.

No esquema geral mostrado a seguir procuramos resumir os resultados obtidos em nossos estudos.¹¹⁰



Reagentes: **a)** HNO₃, AcOH (0°C → t.a.); **b)** SeO₂, dioxana, refluxo; **c)** NaCN, MnO₂, CH₃OH; (ca. 50% para as 3 etapas); **d)** H₂, Pd/C (80%); **e)** H₂C(CO₂H)₂, piridina, piperidina (95%); **f)** NaOH, 10%; amálgama de sódio a 5% (90%); **g)** HNO₃, AcOH (80%); **h)** Sn⁰, HCl *conc.* (60%); **i)** NaH, tolueno, BrCH₂CO₂Et; NaOH aq. (90 %); **j)** Anidrido acético; DMAD, 70-80°C (40-50%) **k)** LiAlH₄, THF; AcOEt; **l)** Anidrido acético, piridina (90%).

Esquema 22 - Esquema geral, envolvendo as principais etapas do estudo sintético desenvolvido neste trabalho.

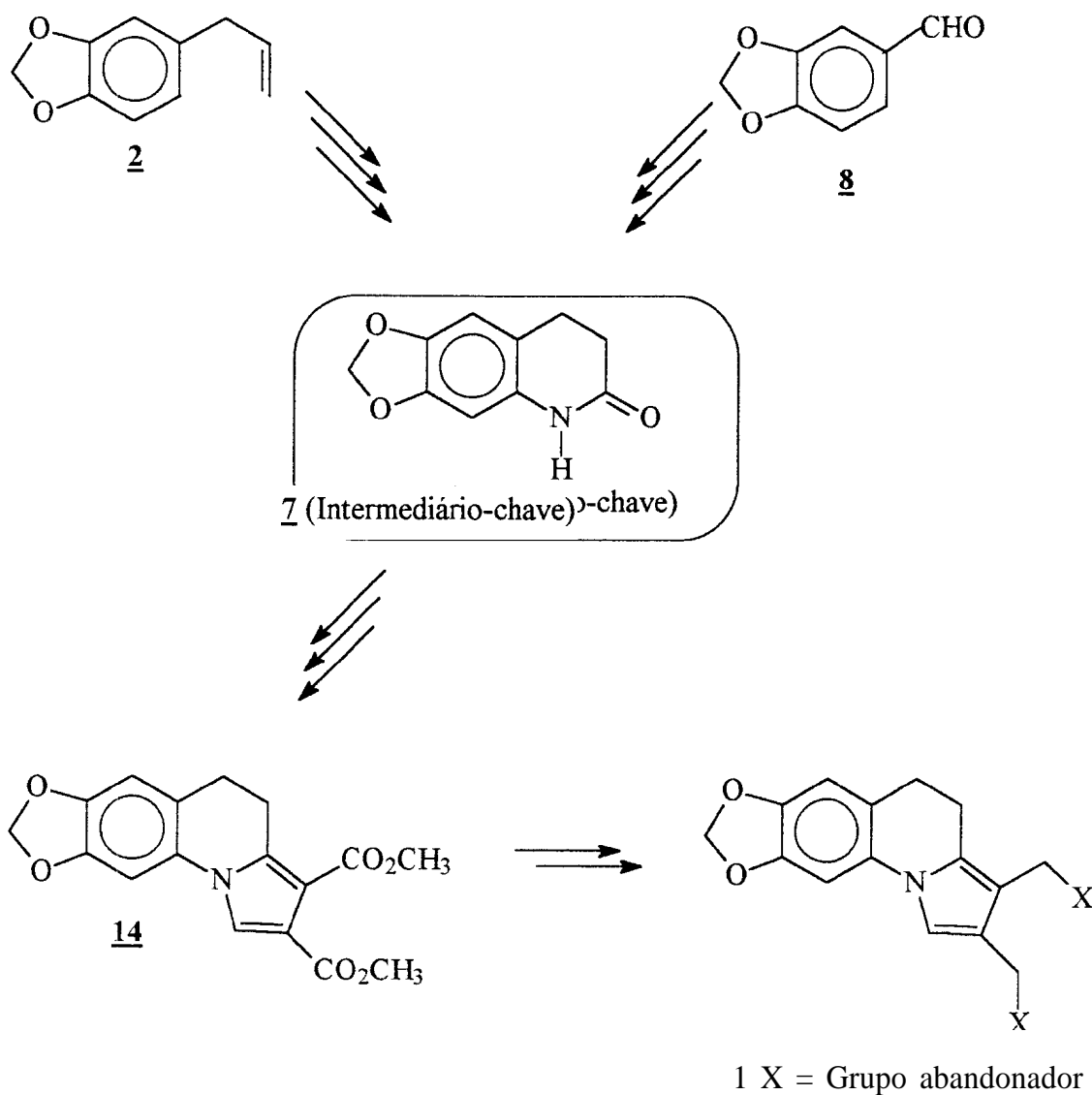
**CONCLUSOES
E
PERSPECTIVAS**



IV. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho demonstramos a viabilidade da utilização do safrol **2**, principal componente do óleo de Sassafras (*Ocotea pretiosa*) na síntese de derivados do núcleo heterocíclico piroloquinolina, úteis na preparação de compostos de natureza *bis*-eletrofílica **1**, com potencial atividade anti-tumoral. Desta forma, demonstramos a importância deste produto natural como matéria-prima na síntese de moléculas farmacologicamente úteis, o que vem respaldar os estudos que vêm sendo realizados no sentido de se evidenciar novas fontes deste alilbenzeno natural.⁷³

Partindo do safrol **2**, ou do piperonal **8** (derivado do safrol), foram colocadas em evidência duas abordagens diferentes para a preparação da 2-*oxo*-quinolina **7**, intermediário-chave na síntese do sistema piroloquinolina presente em **14**, através de uma sequência que envolve uma reação de cicloadição do tipo 1,3-dipolar (Esquema 23).



Esquema 23 - Abordagens utilizadas na síntese dos derivados do tipo **1**.

Uma vez tendo em mãos algumas substâncias com diferentes grupamentos X (Esquema 23), ou seja, com diferentes graus de eficiência como grupo abandonador, poderemos subsidiar um estudo de SAR que virá a determinar, nesta classe de derivados, que tipo de substituinte confere à molécula um melhor perfil de atividade antitumoral, visto que variando a

natureza dos grupos X podemos vislumbrar uma possível modulação da atividade citotóxica/antitumoral.

PARTE
EXPERIMENTAL

.....

V. PARTE EXPERIMENTAL

V.1 - Material e Métodos

Cromatografia:

- *Camada fina (CCF)*: utilizou-se sílica gel depositada sobre folha de alumínio Merck 60F 254. As placas foram reveladas em lâmpada de UV ultralight.

- *Coluna*: foram utilizados como adsorventes a sílica Merck (70 - 230 mesh) e Florisil Aldrich (60 - 100 mesh). A coluna sempre foi empacotada seca.

- *Cromatografia em fase gasosa* : os aparelhos utilizados foram um Varian 2400 e um Varian 3300. O gás carreador foi o nitrogênio.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN):

Grande parte dos produtos foram solubilizados em clorofórmio deuterado (CDCl_3), e utilizou-se o tetrametilsilano (TMS) como referência. Será mencionado na parte experimental o solvente utilizado para os experimentos nos quais não se utilizou CDCl_3 como solvente. O aparelho usado foi um Bruker AC - 200 com magneto supercondutor (^1H : 200 MHz, ^{13}C : 50,3 MHz).

Espectrometria de Massas

Os espectros de massas acoplados a cromatografia gasosa foram obtidos em um aparelho HP-QP-2000A.

Infravermelho:

Os produtos oleosos foram analisados na forma de filmes entre discos de cloreto de sódio. Para os produtos sólidos foram feitas pastilhas de KBr. Os aparelhos utilizados foram um Perkin-Elmer 1420 e um Perkin-Elmer PE-420.

Pontos de fusão:

Os pontos de fusão foram medidos em capilar em um aparelho Büchi-Tottoli e não foram corrigidos.

Hidrogenação:

As reações de hidrogenação catalítica foram feitas em um hidrogenador a 60 psi.

Solventes utilizados:¹¹¹

De forma geral, as reações foram feitas com solventes destilados, sob atmosfera de nitrogênio, em vidraria previamente seca.

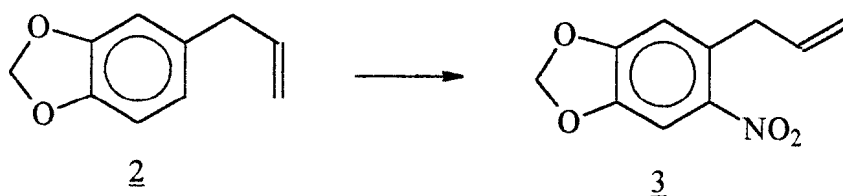
O THF, o éter etílico, o DMF e o tolueno foram destilados sobre sódio/benzofenona, ou eventualmente sobre NaH. A piridina e o diclorometano sobre CaH₂. Os reagentes disponíveis comercialmente foram utilizados diretamente, sem purificação prévia.

Por "tratamento habitual" entende-se: a fase orgânica após extração da mistura reacional é neutralizada (por solução de HCl 5%, ou solução saturada de NaHCO₃), e em seguida é lavada várias vezes com solução saturada de NaCl. Após secagem da fase orgânica sobre Na₂SO₄, os solventes são removidos no rotavapor, sob pressão reduzida.

Material de partida

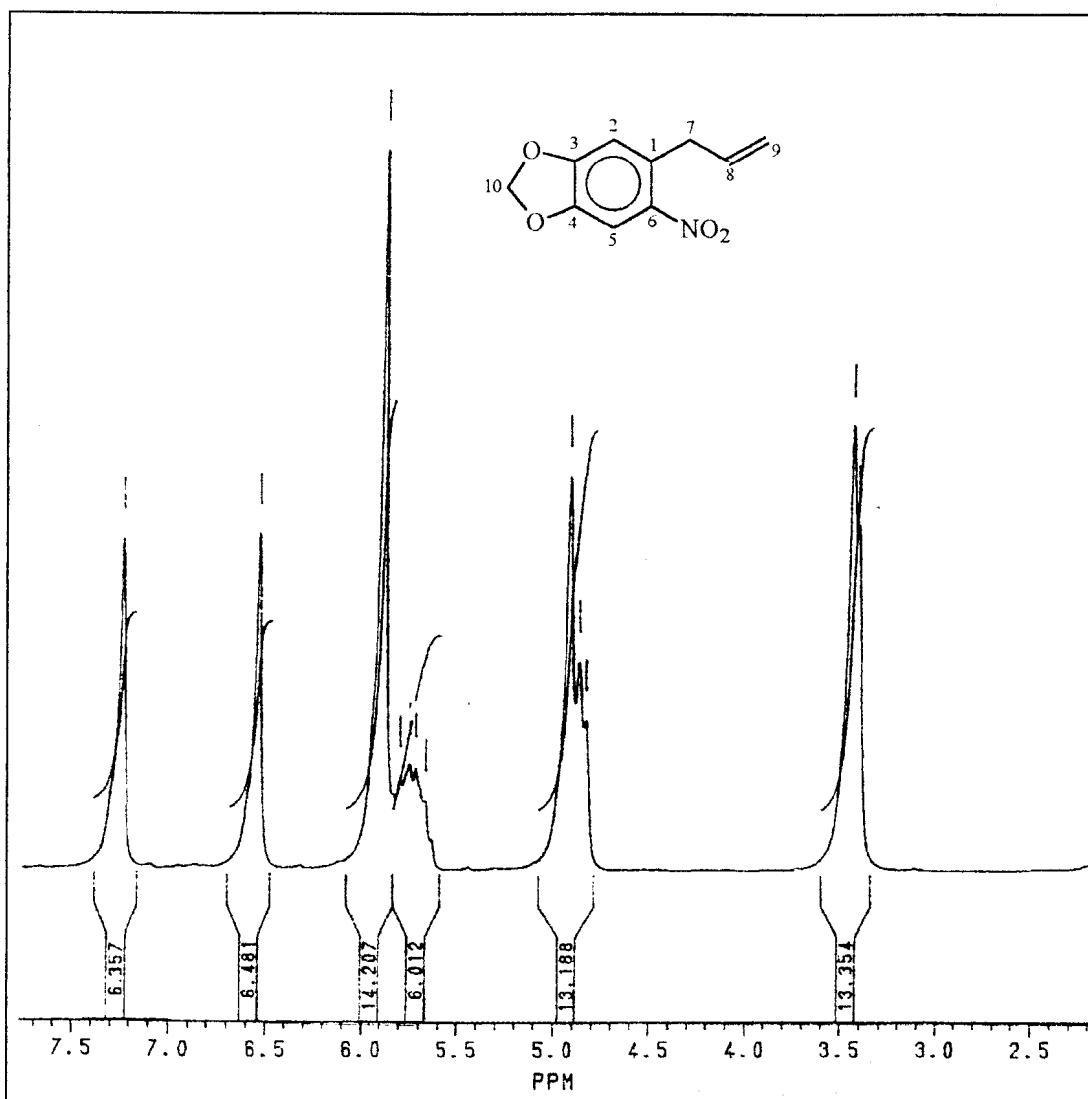
O safrol **1** que foi utilizado como material de partida, foi obtido do óleo Sassafras (*Ocotea pretiosa*), através de destilação fracionada sob pressão reduzida. O grau de pureza do produto obtido por destilação foi determinado por cromatografia gasosa de alta resolução ($\geq 98\%$, área relativa).

V.2 - Preparação do Alil-3,4-(metilenodioxi)-6-nitro-benzeno.^{82,89}



A uma solução de 15,0g de safrol **2** (92,6 mmol) em ácido acético glacial (70,0 ml) mantida sob agitação magnética a 0°C, foram adicionados, gota a gota, 13 ml (346,2 mmol) de HNO₃ conc.. Após 3 horas a 0°C a mistura reacional atingiu a temperatura ambiente, sendo transferida para um funil de decantação e particionada entre acetato de etila (500 ml) e água (4x300 ml). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio, seca com Na₂SO₄, filtrada e evaporada, fornecendo um resíduo oleoso avermelhado, o qual após purificação por cromatografia em coluna empacotada com sílica gel (eluente: hexano/acetato de etila 20%), gerou 11,2 g (75%) do nitrosafrol **3**, na forma de um óleo amarelado, que cristalizou no refrigerador.

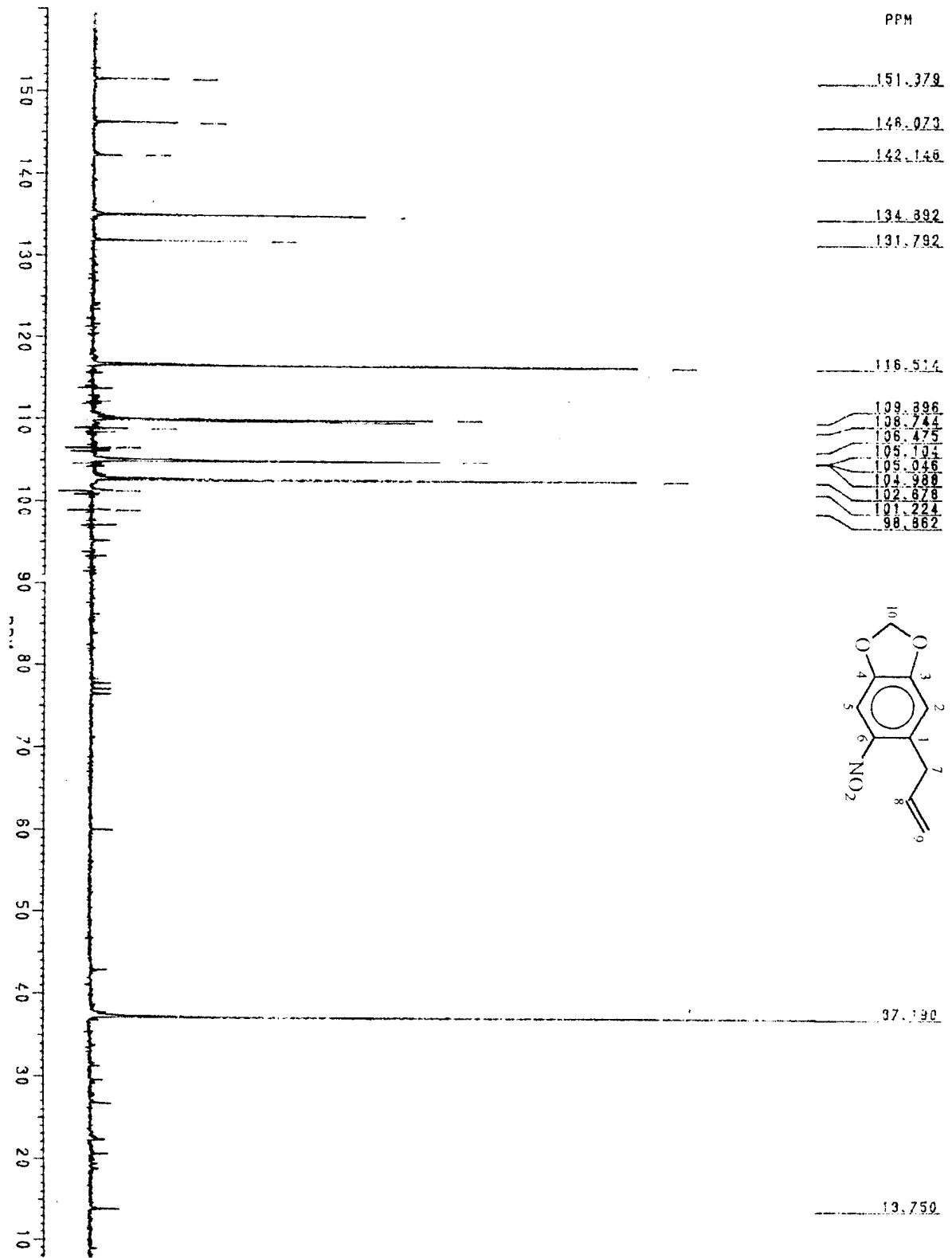
IV (filme) $\nu_{\text{máx.}}$: 3081; 2979; 2914; 1520; 1483; 1332 cm⁻¹.



Espectro 1 - RMN ¹H do nitrosafrol **3**.

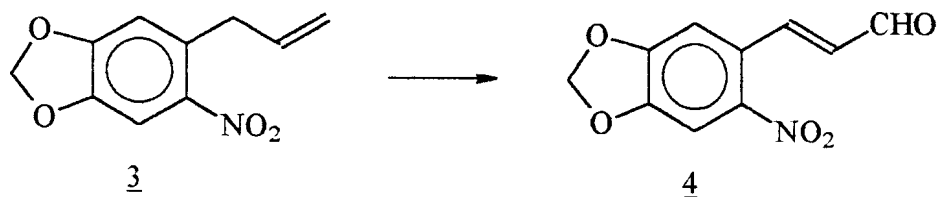
Tabela 3 - Dados de RMN ¹H e RMN ¹³C do produto **3**.

C	RMN ¹ H δ(ppm)	RMN ¹³ C δ(ppm)
1	-	131,79
2	6,53 (s)	109,89
3	-	146,03
4	-	151,37
5	7,24 (s)	105,01
6	-	134,89
7	3,41 d (J= 6 Hz)	37,19
8	5,77 (m)	142,35
9	4,87 (m)	116,51
10	5,88 (s)	102,67



Espectro 2 - Espectro de RMN ¹³C do nitrosafrol 3.

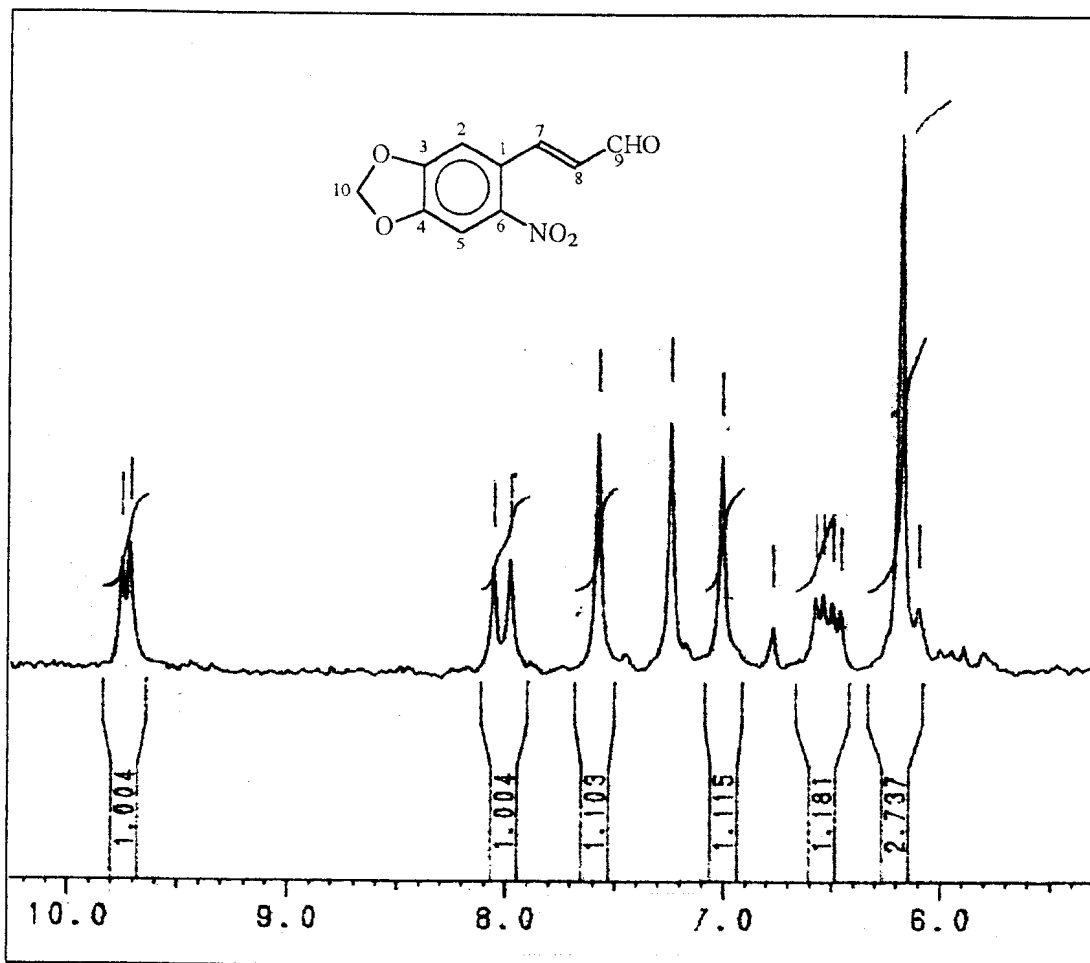
V.3 - Preparação do aldeto-(3,4-metilenodioxi-6-nitro)-fenil-acrílico^{89,90}



A uma solução de 1,31 g (6,36 mmol) de nitrosafrol **3** em dioxana (25 ml), mantida num balão de 50 ml de capacidade, equipado com condensador de refluxo e agitação magnética, adicionaram-se 0,7 g (6,39 mmoles) de SeO₂. A mistura foi refluxada por 5 horas e em seguida deixada por 72 horas em repouso à temperatura ambiente. O selênio metálico depositado foi filtrado, e o filtrado evaporado forneceu um resíduo avermelhado. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna empacotada com florisil (eluente: hexano/acetato de etila 20%), fornecendo 0,70 g (50%) do produto **4**, na forma de um sólido amarelo contendo traços de selênio. Uma amostra analítica foi obtida após uma segunda cromatografia, nas mesmas condições.

Pf: 180°C (Pf. lit.: 149 °C)⁸⁹

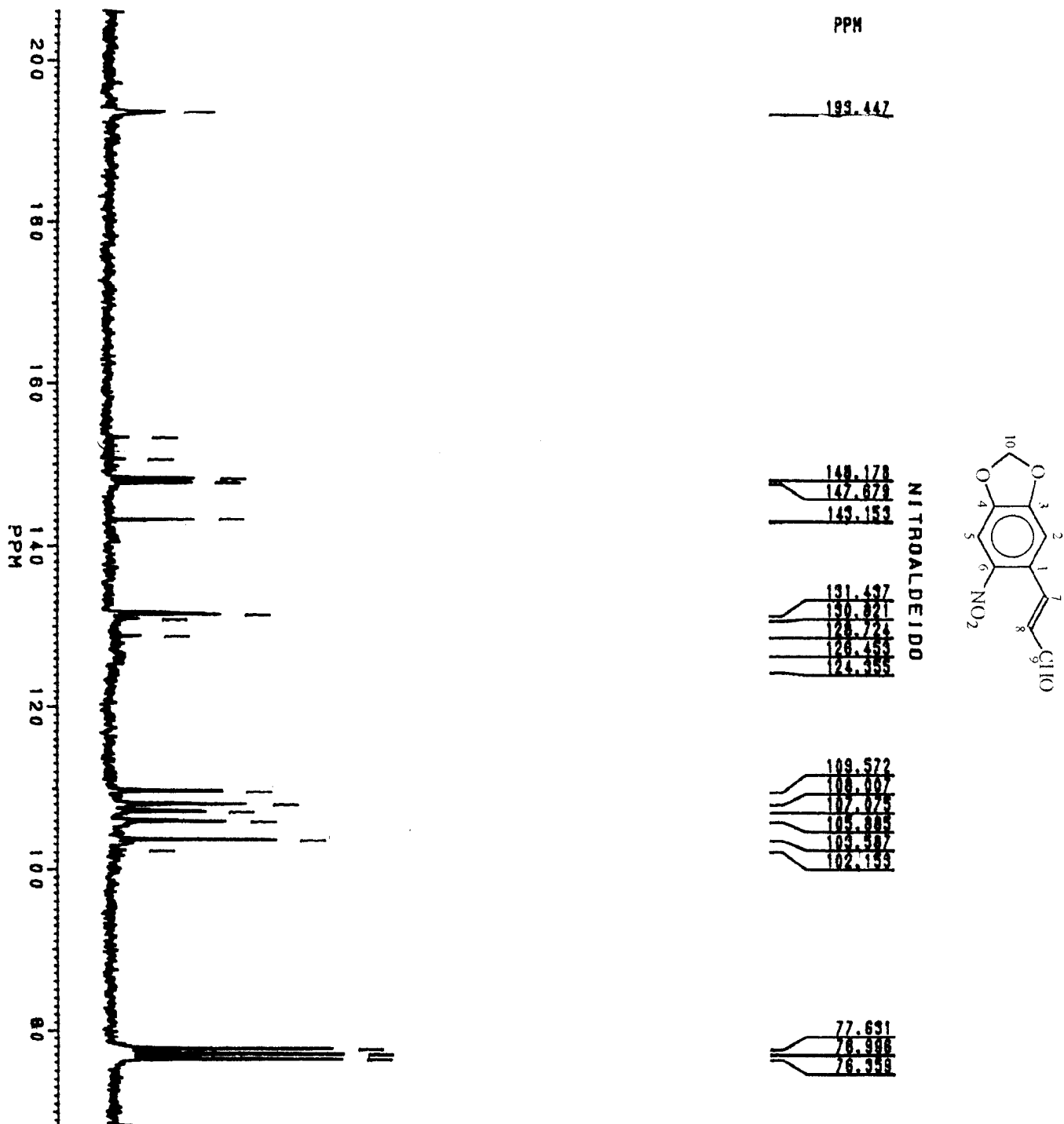
IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 2856; 1679; 1603 cm⁻¹.



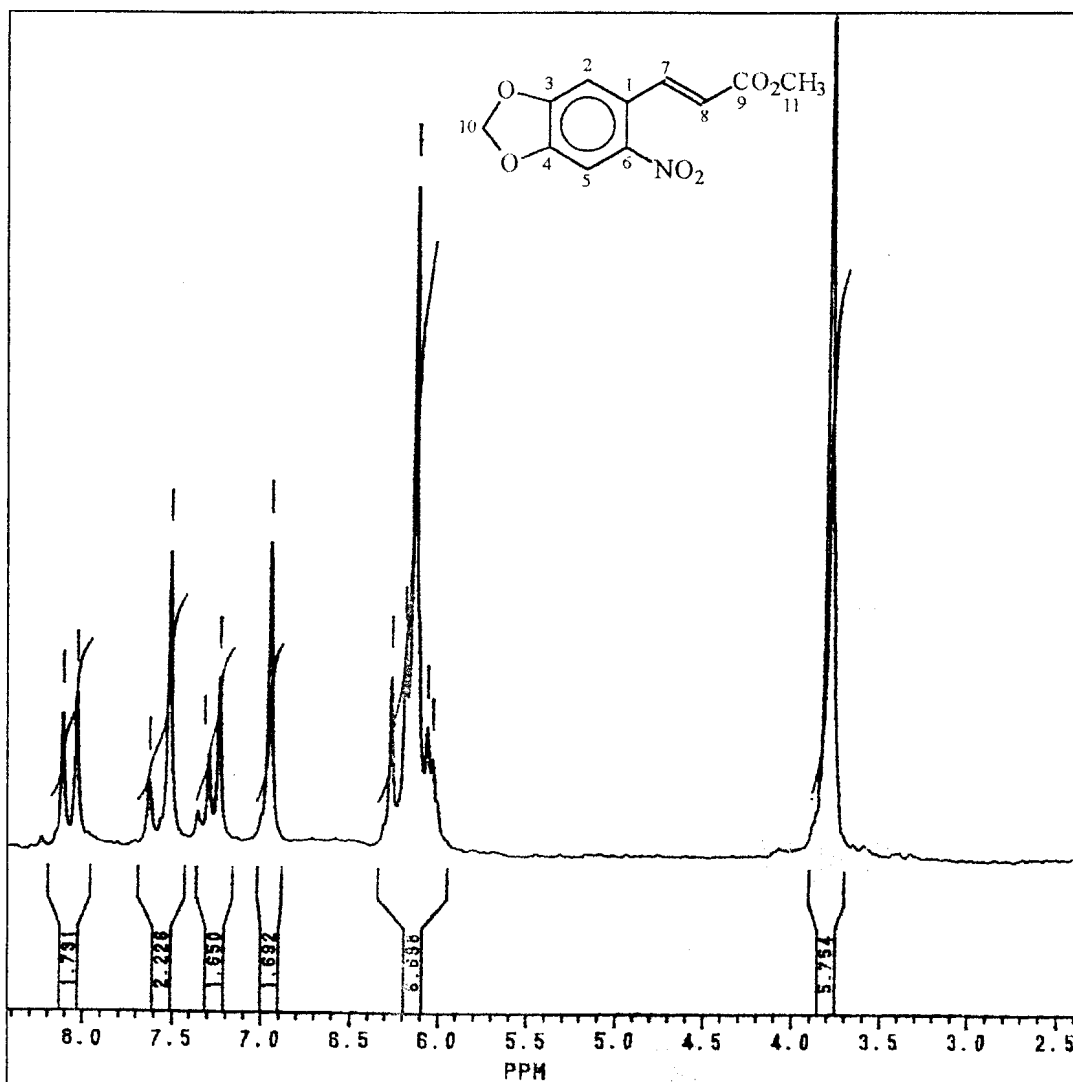
Espectro 3 - RMN ¹H do nitroaldeído **4**.

Tabela 4 - Dados de RMN ¹H e RMN ¹³C do produto **4**.

C	RMN ¹ H δ(ppm)	RMN ¹³ C δ(ppm)
1	-	131,4
2	7,01 (s)	109,6
3	-	147,7
4	-	148,2
5	7,58 (s)	105,9
6	-	143,1
7	8,02 d (J=16Hz)	128,7
8	6,52 dd (J ₇₋₈ =16Hz; J ₈₋₉ =8Hz)	130,8
9	9,53 d (J=8Hz)	193,3
10	6,18 (s)	103,6



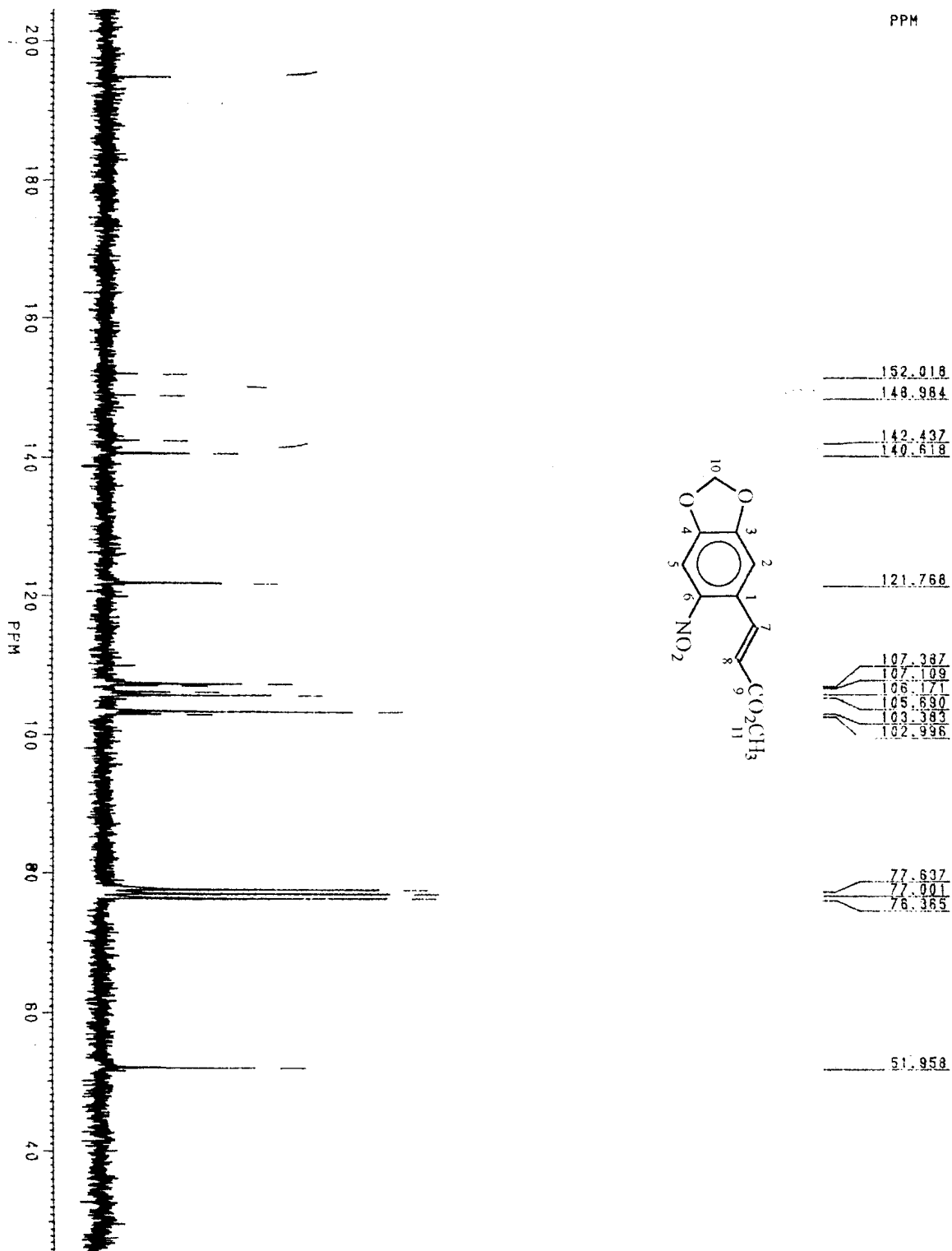
Espectro 4 - Espectro de RMN ¹³C do nitroaldeído **4**.



Espectro 5 - RMN ¹H do nitroéster **6**.

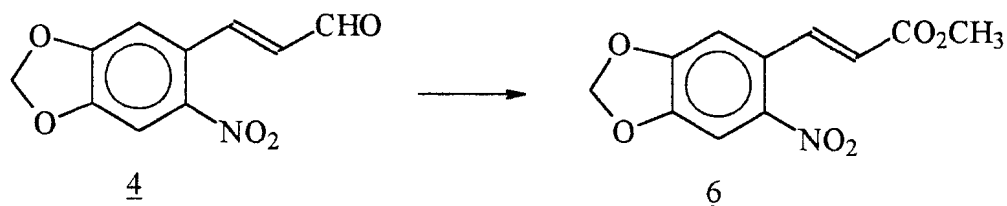
Tabela 5 - Dados de RMN ¹H e RMN ¹³C do produto **6**.

C	RMN ¹ H δ(ppm)	RMN ¹³ C δ(ppm)
1	-	140,6
2	6,95 (s)	107,4
3	-	148,9
4	-	152,0
5	7,56 (s)	105,7
6	-	142,4
7	8,08 d (J=16Hz)	121,7
8	6,23 d (J=16Hz)	126,2
9	-	195,5
11	3,79 (s)	51,9
10	6,14 (s)	103,4



Espectro 6 - Espectro de RMN ^{13}C do nitroéster **6**.

V.5 - Preparação do éster metílico do ácido-(3,4-metilenodioxi-6-nitro)-fenil-acrílico a partir de **4**.⁹¹

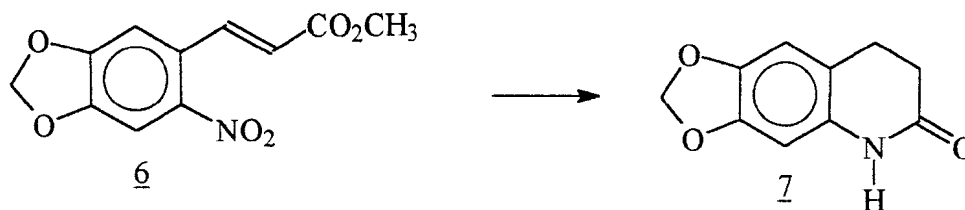


A uma solução de 2,4 g (1,086 mol) do nitroaldeído **4** em acetona, mantida sob agitação e a 0°C, foi adicionada, gota a gota, uma solução 2,68 M de CrO₃ em acetona/ácido sulfúrico concentrado (Reagente de Jones). A reação foi acompanhada por C.C.F., após 1h de agitação, a 0°C, observa-se total conversão do aldeído **4** ao produto **6**. Terminada a reação, gotejou-se isopropanol, que foi convertido em acetona. O material foi filtrado e o resíduo foi lavado com água e reunido à solução orgânica, que foi extraída exaustivamente com acetato de etila, e em seguida lavada com solução saturada de cloreto de sódio, seca em Na₂SO₄, e filtrada. Após a evaporação do solvente, obteve-se 2,25 g do nitroácido **5**, na forma de um sólido marron, o qual foi identificado por espectro de IV. Através deste, podemos observar a substituição das bandas ν 2856 e 1679 cm⁻¹ referentes ao nitroaldeído pela banda ν 1719 cm⁻¹ referente ao nitroácido.

Estes 2,25g de de nitroácido **5** foram dissolvidos em metanol, e em seguida, foram adicionadas cinco gotas de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi deixada sob refluxo durante 3,5 horas. Após o término da reação, a mistura foi concentrada em evaporador rotatório, gerando 2,21 g de material bruto. O produto foi purificado por cromatografia em coluna empacotada conforme descrito no experimento 3 (pág. 88), sendo obtidos 1,92 g (71%) do nitroéster **6**, na forma de um sólido amarelado.

Os dados espectrométricos (IV, RMN¹H, RMN¹³C e P.f.) obtidos a partir do produto gerado foram idênticos aos descritos nas págs. 87-89.

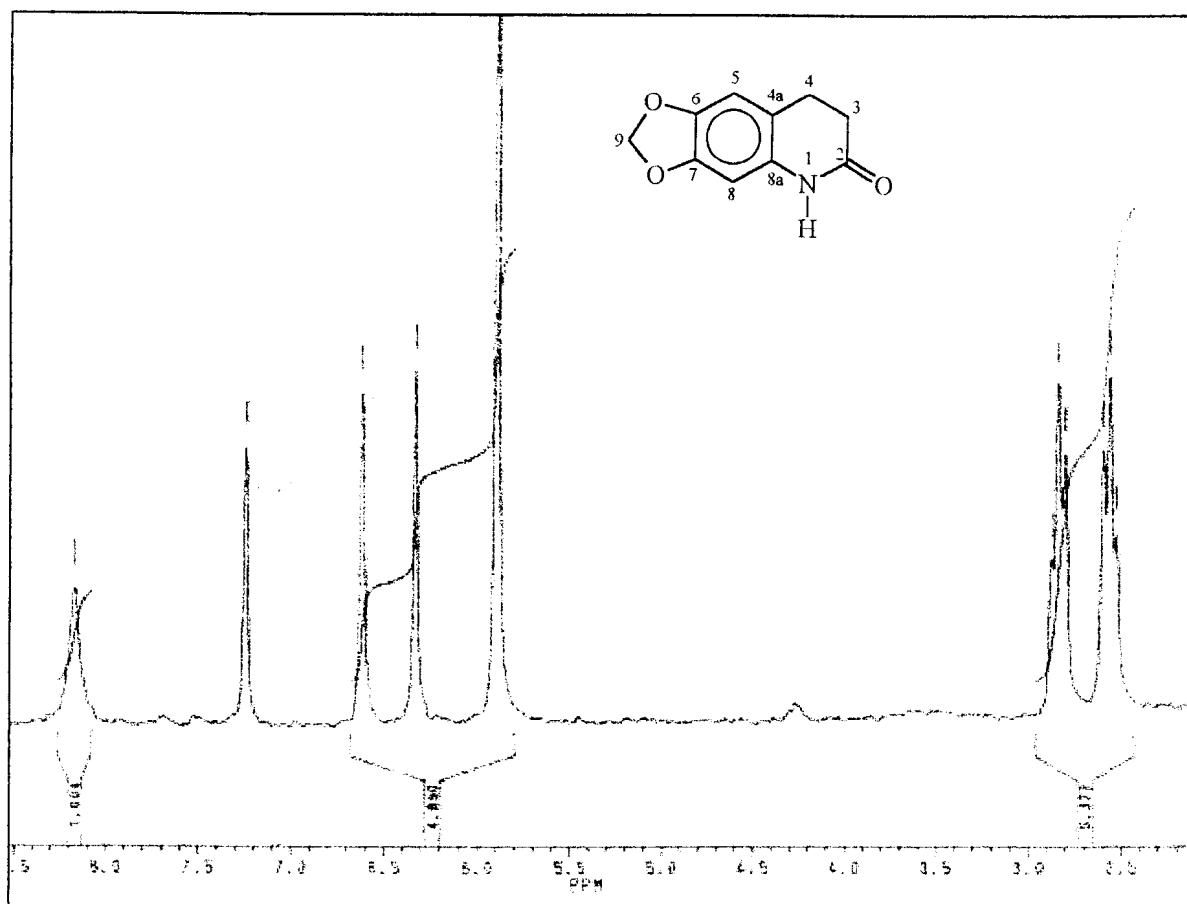
V.6 - Preparação do 7,8-metilenodioxi-(1,2,3,4-tetraidro-2-oxo-iso-quinolina)



A uma solução de 113 mg (0,45 mmol) do éster **6** em 15 ml de metanol, contida num reator para hidrogenação catalítica, foram adicionados cerca de 10 mg de catalisador de paládio sobre carvão (10%). O material foi levado ao hidrogenador regulado a 60 psi, sendo deixado sob agitação durante duas horas. Em seguida o material foi filtrado e o resíduo lavado exhaustivamente com metanol. Após remoção dos voláteis o produto bruto obtido foi purificado por cromatografia em coluna empacotada com florisil (eluente: clorofórmio/éter etílico 5%) fornecendo 68,8 mg (80%) da lactama **7**, na forma de um sólido levemente amarelado

P.F: 190 °C

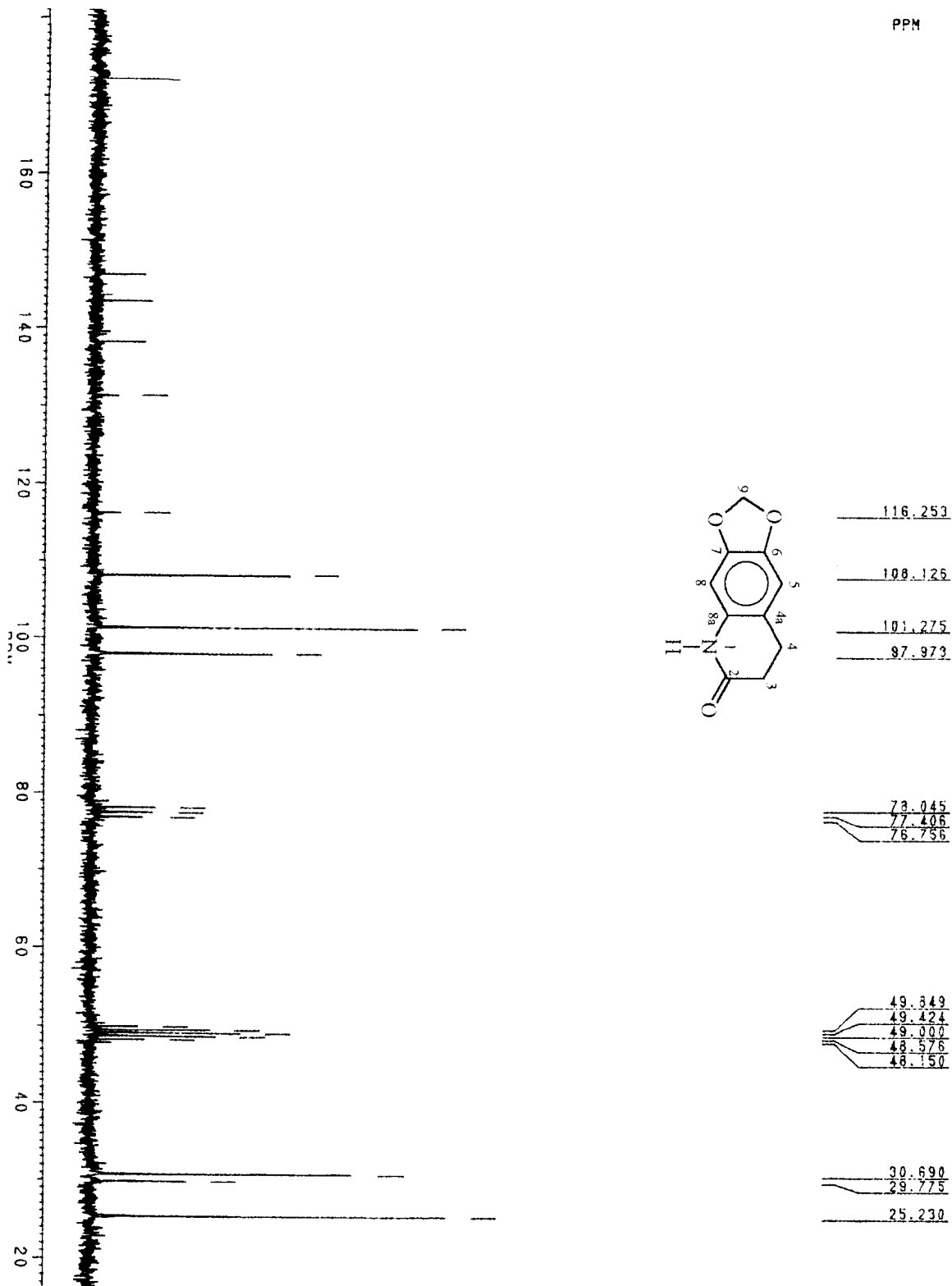
IV(KBr) $\nu_{\text{máx.}}$: 3196, 3110, 1682, 1481, 1383, 1225, 1195, 1158, 939, 864 cm^{-1}



Espectro 7 - RMN ^1H da lactama 7.

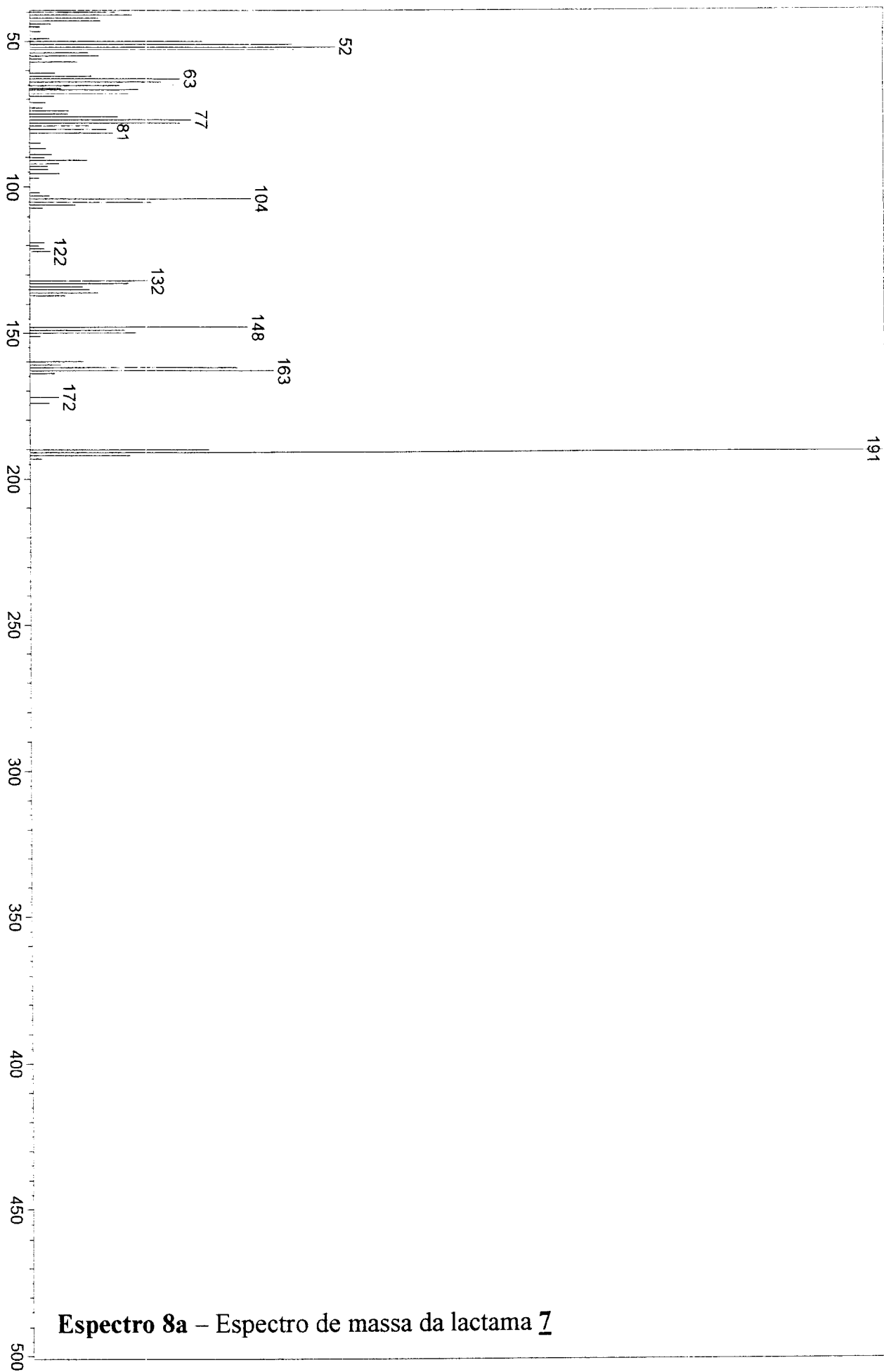
Tabela 6 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 7.

C	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)
1	8.16 (sl)	-
2	-	172.5
3	2.56 (t)	30.7
4	2.36 (t)	25.2
4a	-	116.2
5	6.32 (s)	97.9
6	-	143.5
7	-	146.8
8	6.61 (s)	108.1
8a	-	138.3
9	5.89 (s)	101.3



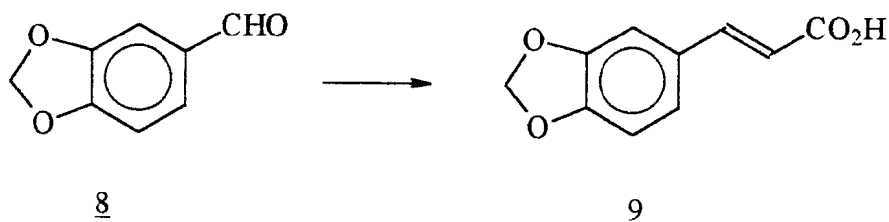
Espectro 8 - Espectro de RMN ^{13}C da lactama 7.

Scan # : (3595 - 3629)
Mass Peak # : 76 Ret. Time : (32.350 - 32.633)
Base Peak : 191.10 (2029902)



Espectro 8a – Espectro de massa da lactama 7

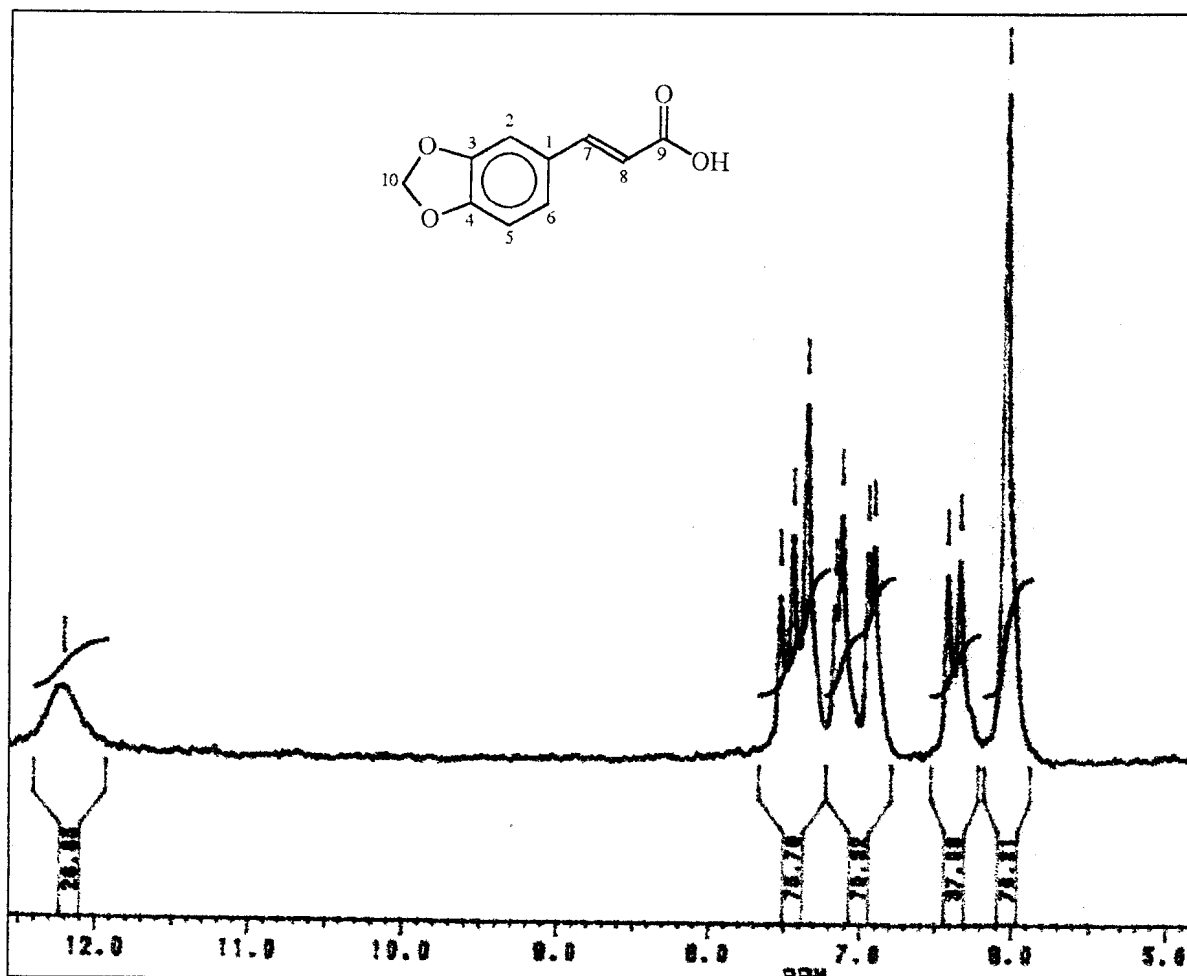
V.7 - Preparação do ácido-(3,4-metilenodioxi)-fenil-acrílico^{96,97}



Em um balão de 50 ml de capacidade, equipado com condensador de refluxo, foram dissolvidos 5g (33,3 mmol) de piperonal e 7,5g (72 mmol) de ácido malônico numa mistura de 15 ml de piridina e 0,25 ml (2,53 mmol) de piperidina. Em seguida, a mistura foi aquecida sob refluxo por cerca de 1,5 h em banho-maria. Ocorreu um rápido desprendimento de CO₂. A reação se completou após ebulição por 10 minutos adicionais, e em seguida, após resfriar foi vertida em 5,7 ml de solução de HCl em excesso de água, o suficiente para neutralizar a piridina, ocorrendo a precipitação do produto. O ácido β-piperonilacrílico, foi filtrado, lavado com água, éter e seco ao ar. Após recristalização com ácido acético glacial, o produto em sua forma pura, foi obtido na forma de um sólido branco (6,1 g) com 96% de rendimento.

P.F. : 238 °C.

I.V. (Kbr) $\nu_{\text{máx.}}$:2919, 1693, 1626, 1496, 1449, 1308, 1246 cm⁻¹

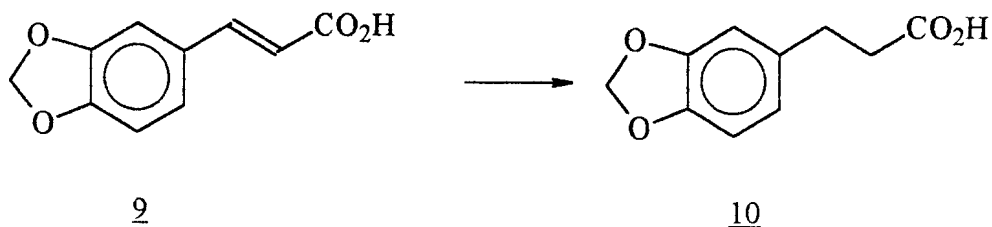


Espectro 9 - Espectro de RMN ^1H do ácido β -fenil-acrílico 9.

Tabela 7 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 9.

C	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)
1	-	128,7
2	7,36 (s)	108,5
3	-	148,1
4	-	149,2
5	7,15 d (J= 8 Hz)	106,7
6	6,94 d (J= 8 Hz)	143,9
7	7,49 d (J= 16 Hz)	117,1
8	6,38 d (J= 16 Hz)	124,7
9	-	167,3
10	6,06 (s)	101,8
OH	12,22 (sl)	-

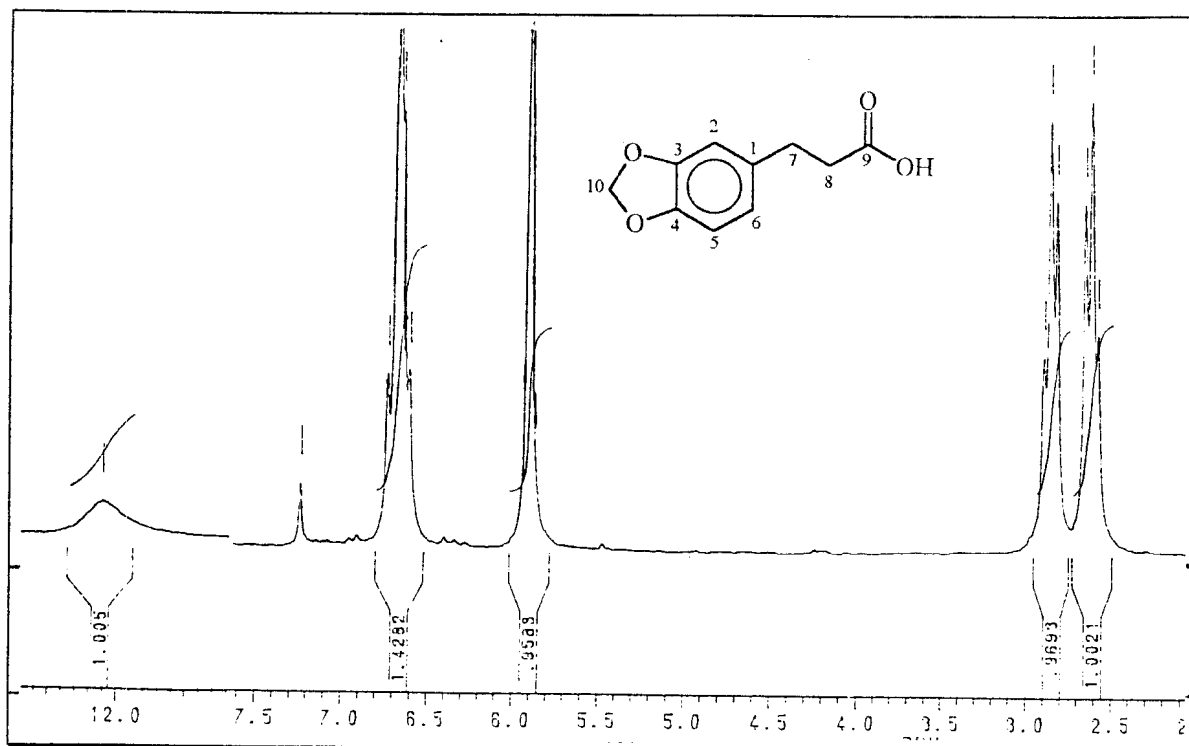
V.8 - Preparação do ácido-(3,4-metilenodioxi)-fenil-propiónico⁹⁸



À uma solução de 0,15g (3,5 mmol) de NaOH em 4,5 ml de água destilada contida em um balão de 25 ml foram adicionados 0,67g (3,49 mmol) do ácido β -piperonilacrílico **9**, tomando o cuidado de verificar o pH da solução para garantir que esteja básico. Em seguida, sob agitação, 11 g de amálgama de sódio foram lentamente adicionados. A mistura reacional foi então aquecida à 70°C durante 15 minutos. O refluxo não é necessário. Após o término da redução, o material foi decantado em um funil de separação e a solução acidificada com HCl, havendo precipitação de 0,66 g (98%) do ácido **10** na forma de um sólido branco, o qual apresentou grau de pureza adequado, tendo sido utilizado na etapa subsequente sem purificação prévia.

Pf.: 65 °C (Pf. lit.: 65 °C).^{95a}

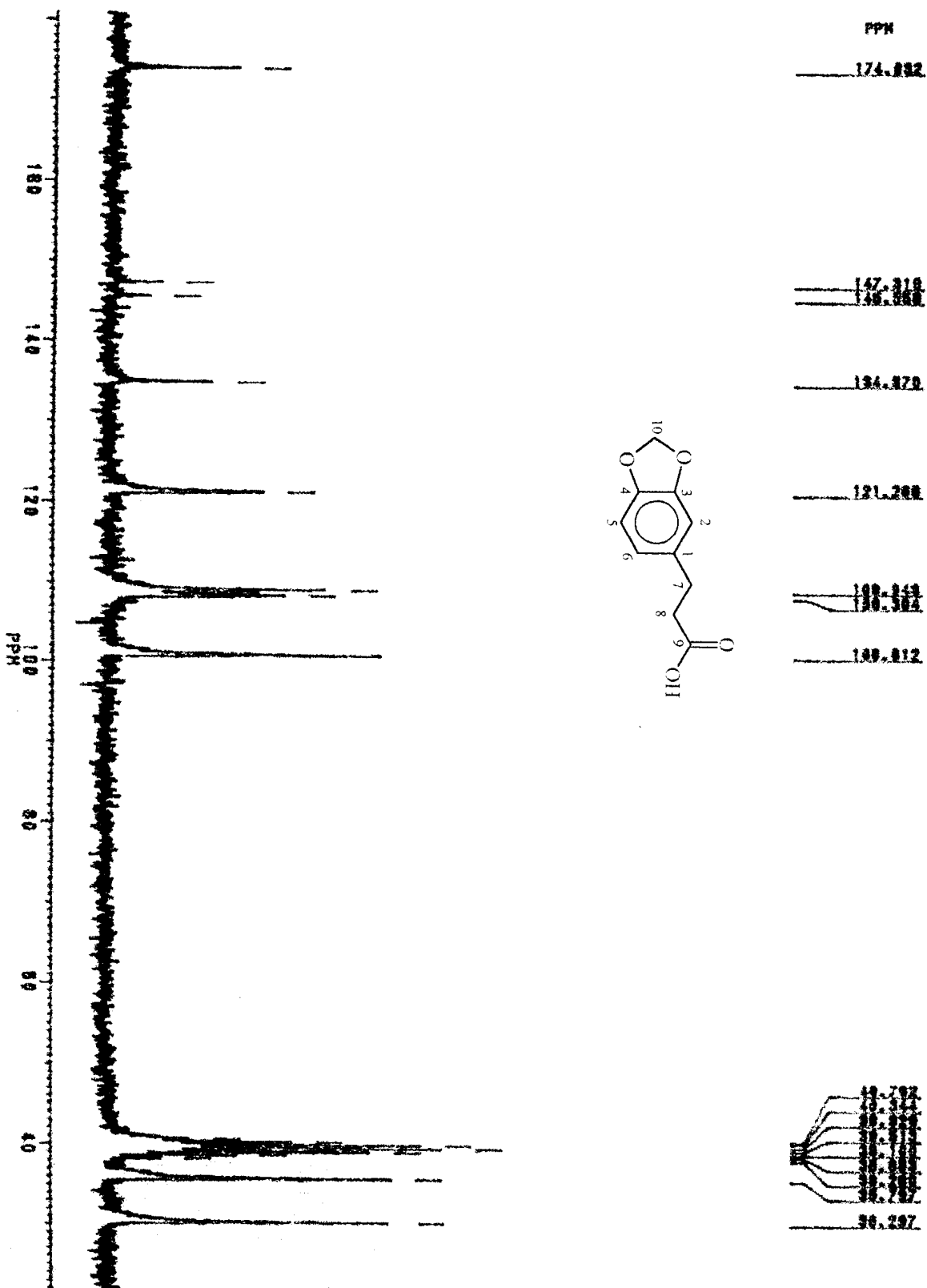
I.V. (Kbr) $\nu_{\text{máx.}}$: 3300, 2908, 1498, 1441, 1308, 1236 cm^{-1} .



Espectro 11 - Espectro de RMN ¹H do ácido β-fenil-propionico 10.

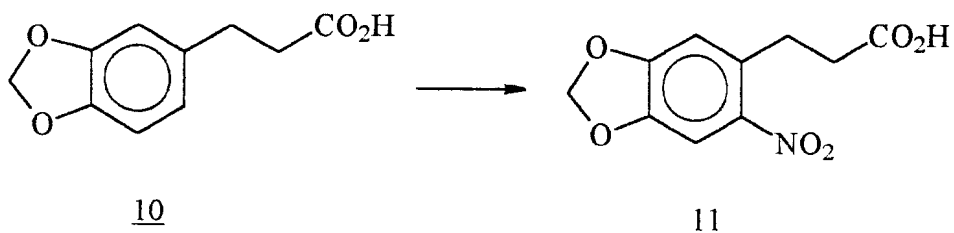
Tabela 8 - Dados de RMN ¹H e RMN ¹³C do produto 10.

C	RMN ¹ H δ(ppm)/CDCl ₃	RMN ¹³ C δ(ppm) /DMSO-d ₆
1	-	134,9
2	6,61-6,73 (m)	108,3
3	-	147,3
4	-	145,6
5	6,61-6,73 (m)	109,0
6	6,61-6,73 (m)	121,3
7	2,61 (d, J= 8 Hz)	30,3
8	2,85 (d, J= 8 Hz)	35,8
9	-	174,0
10	5,94 (s)	100,8
OH	12,10 (sl)	-



Espectro 12 - Espectro de RMN ^{13}C do ácido β -fenil-propiónico 10.

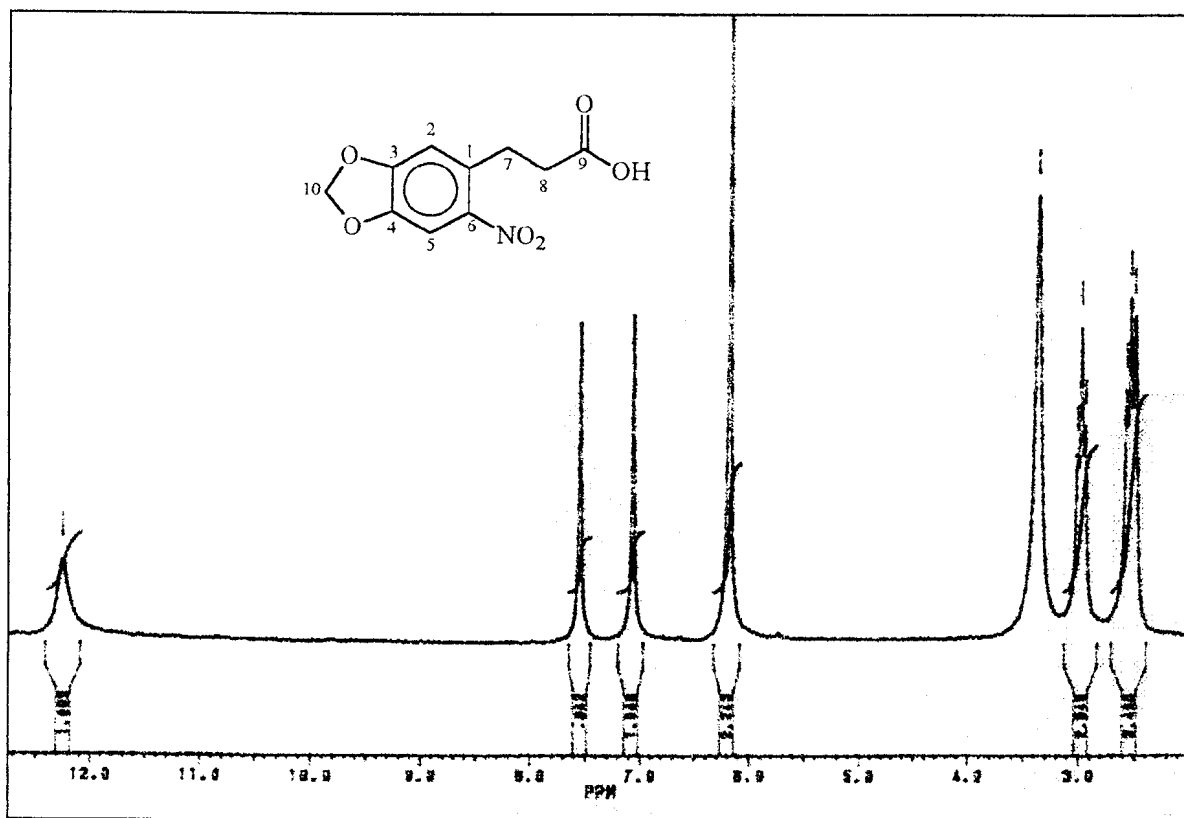
V.9 - Preparação do ácido 3-(3,4-metilenodioxi-6-nitro)-fenil-propiónico.⁸⁹



Em um balão de 50 ml de capacidade, foram dissolvidos 6g (30,92 mmol) do intermediário **10** em 25 ml de ácido acético glacial. A solução foi mantida a 0°C, sob agitação magnética, e, então, foram adicionados, gota-a-gota, 4,5 ml de HNO₃ conc.. Após 3 horas a 0°C, a mistura reacional foi deixada atingir a temperatura ambiente, sendo transferida para um funil de decantação e particionada entre acetato de etila e água. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl, seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada e evaporada, fornecendo um sólido alaranjado **11**, que quando recristalizado em hexano-acetato de etila gerou o ácido, na forma de um sólido amarelo, com rendimento quantitativo.

P.F.: 153 °C.

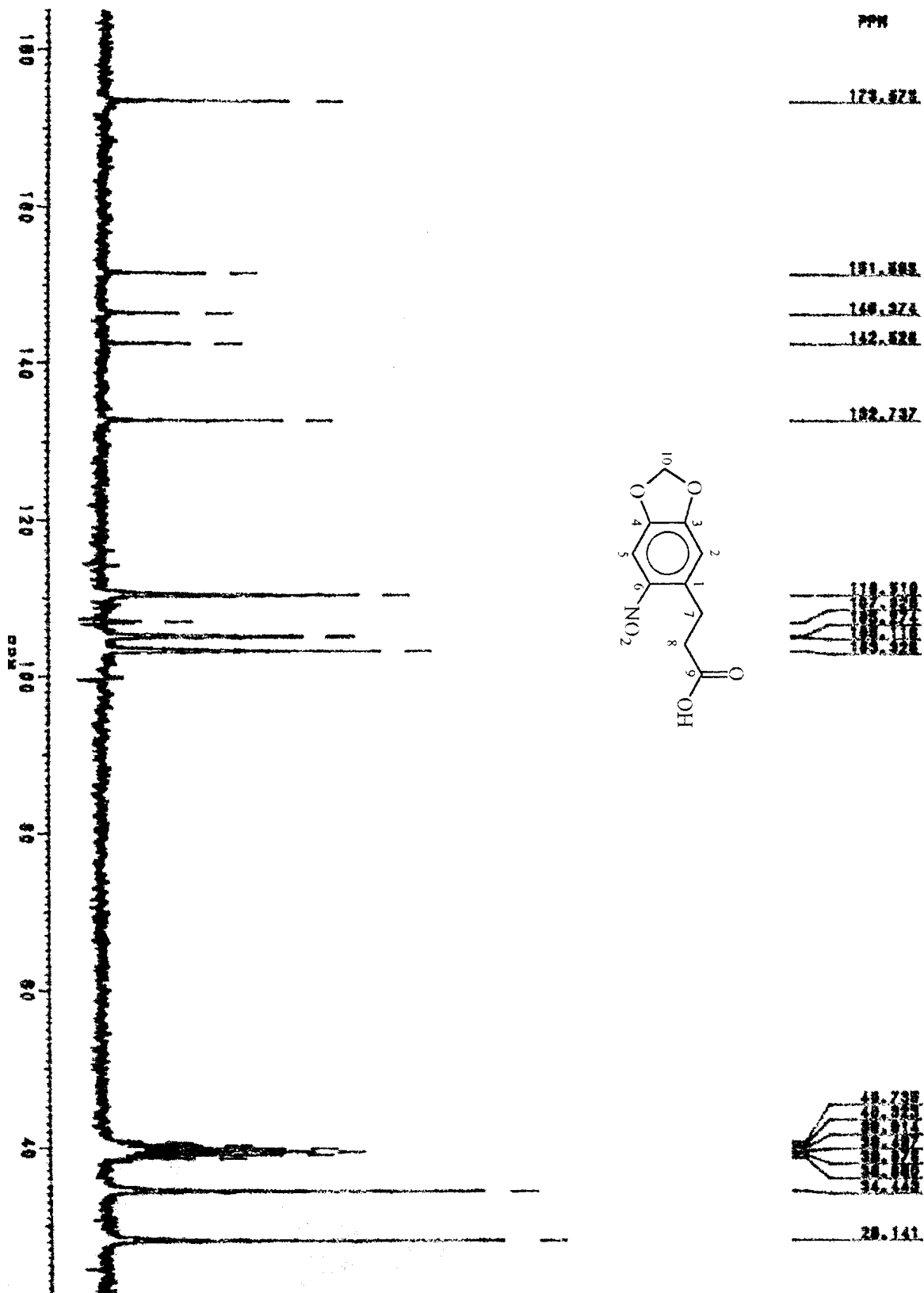
I.V.(Kbr) ν_{\max} : 3300, 2905, 1712, 1520, 1460, 1445, 1330, 1250 cm⁻¹.



Espectro 13 - Espectro de RMN ¹H do ácido nitrofenil-propiónico 11.

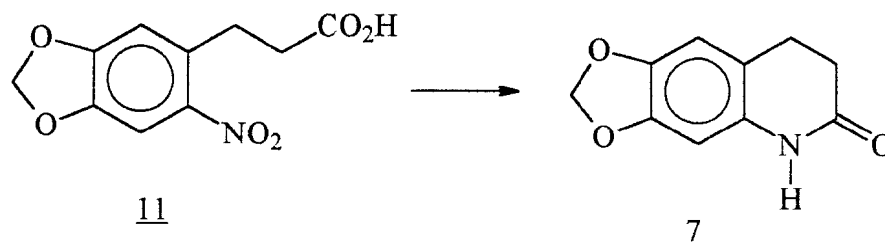
Tabela 9- Dados de RMN ¹H e RMN ¹³C do produto 11.

C	RMN ¹ H δ(ppm)/DMSO-d ₆	RMN ¹³ C δ(ppm) /DMSO-d ₆
1	-	132,8
2	7,06 (s)	110,5
3	-	151,6
4	-	146,4
5	7,54 (s)	105,2
6	-	142,5
7	2,53 (t)	28,1
8	2,97 (t)	34,5
9	-	173,6
10	6,18 (s)	103,3
OH	12,25 (sl)	-



Espectro 14 - Espectro de RMN ^{13}C do ácido nitrofenil-propiónico 11.

V.10 - Preparação do 7,8-metilenodioxi-(1,2,3,4-tetraidro-2-oxo-isoquinolina) a partir do nitroácido⁹⁸

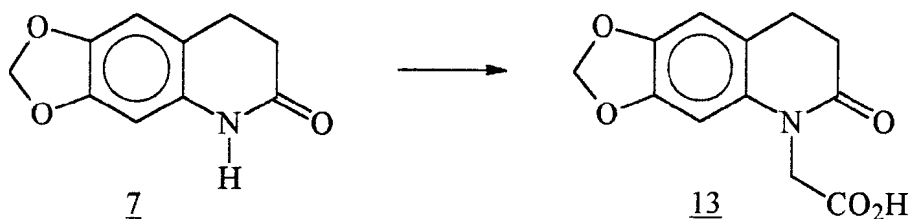


Em um balão de 50 ml de capacidade, equipado com condensador de refluxo e agitador magnético, foram adicionados 0,2g (0,836 mmol) de nitroácido e 0,20g de estanho granulado. Em seguida, cerca de 8 ml de HCl (conc.), foram adicionados aos poucos pelo condensador, o conteúdo do balão foi agitado ininterruptamente. Após a adição de todo o volume de ácido, a mistura foi aquecida em banho de óleo (90-110 °C) por 1,5 h. A reação foi acompanhada por C.C.F. Após o meio reacional atingir a temperatura ambiente, a mistura foi vertida em um funil de extração e particionada entre acetato de etila e água, exaustivamente. A fase orgânica foi lavada com solução de HCl 10%, em seguida com água, solução de NaHCO₃ 5% (3 x 10 ml) e solução saturada de NaCl. Após secagem sobre Na₂SO₄ anidro e evaporação do solvente, a lactama **7** foi obtida em rendimento de 60% na

forma de cristais, levemente amarelados, em elevado grau de pureza, tendo sido utilizada na etapa subsequente sem purificação prévia.

Os dados espectrométricos (IV, RMN¹H, RMN¹³C, EM e P.f.) obtidos a partir do produto gerado foram idênticos aos descritos nas págs. 92-94.

V.11 - Preparação do ácido-7,8-metilenodioxi-1-(1,2,3,4-tetraidro-2-oxo-isoquinolina- 1-il)ácido acético.¹⁰⁰

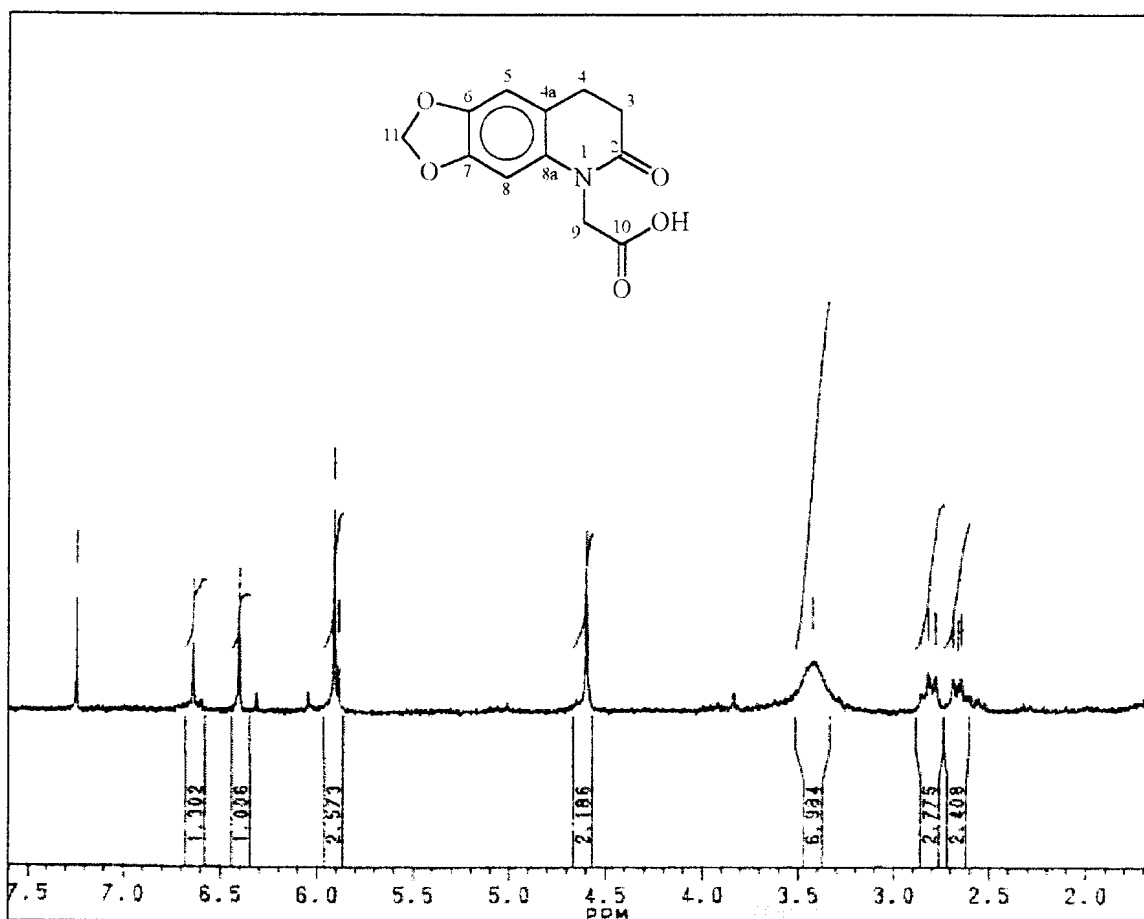


A uma solução de 40 mg (0,21 mmoles) da lactama em tolueno anidro, mantida a 0°C, contida em um balão bitubulado de 50 ml de capacidade, equipado com condensador de refluxo, adicionou-se, cuidadosamente, 0,7 mg (0,03mmol) de NaH (50% em óleo mineral), sob atmosfera inerte de N₂. Após o término da adição, manteve-se a mistura sob refluxo por 1 hora e depois resfriada. Em seguida, foram adicionados 16 µl de α-Bromoacetato de etila, e a mistura resultante foi refluxada por 5 horas. Após o término da reação, a qual foi acompanhada por CCF, a mistura reacional foi resfriada e filtrada, os sais inorgânicos precipitados foram lavados com tolueno, e os filtrados combinados foram levados à secura sob vácuo. O resíduo obtido foi dissolvido em metanol e tratado com uma solução de NaOH (120 mg) em água (0,2ml). A mistura foi aquecida sob refluxo por 45 minutos. O meio reacional foi então concentrado à vácuo, adicionou-se mais água e procedeu-se a extração com

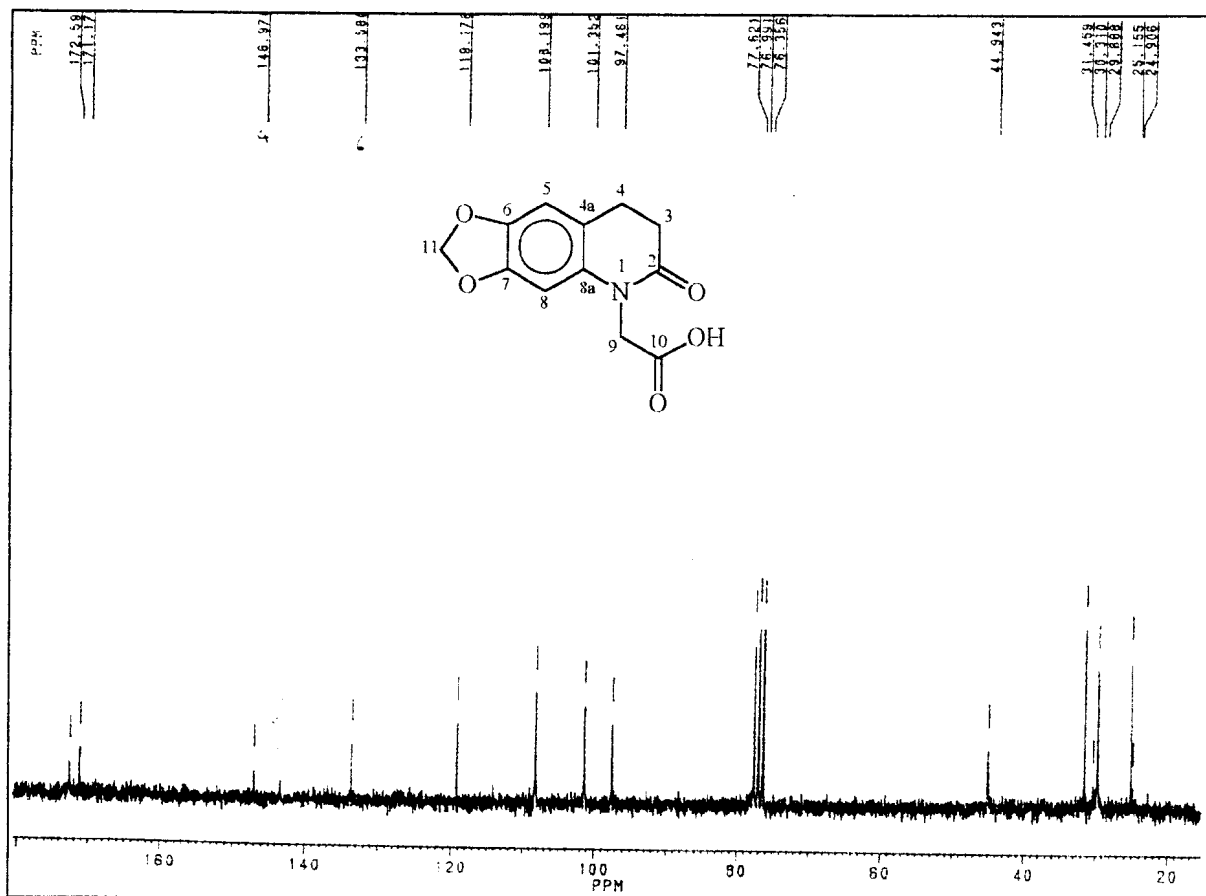
CH₂Cl₂. A fase aquosa foi acidificada com HCl concentrado, e novamente extraída com CH₂Cl₂. As fases orgânicas reunidas foram lavadas com água, sêcas sobre NaSO₄ e concentradas levando à obtenção de um sólido castanho que foi purificado por cromatografia em coluna, empacotada com sílica gel (gradiente de eluição: acetato/hexano 10% - acetato/metanol 50%) fornecendo 36,5 mg (70%) do amidoácido **13**, na forma de um sólido amarelado.

P.F.: 250 °C

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 3459, 3422, 3391, 2856, 1733, 1641, 1460, 1236, 1195, 930 cm⁻¹



Espectro 15 - Espectro de RMN ¹H da lactama alquilada **13**.



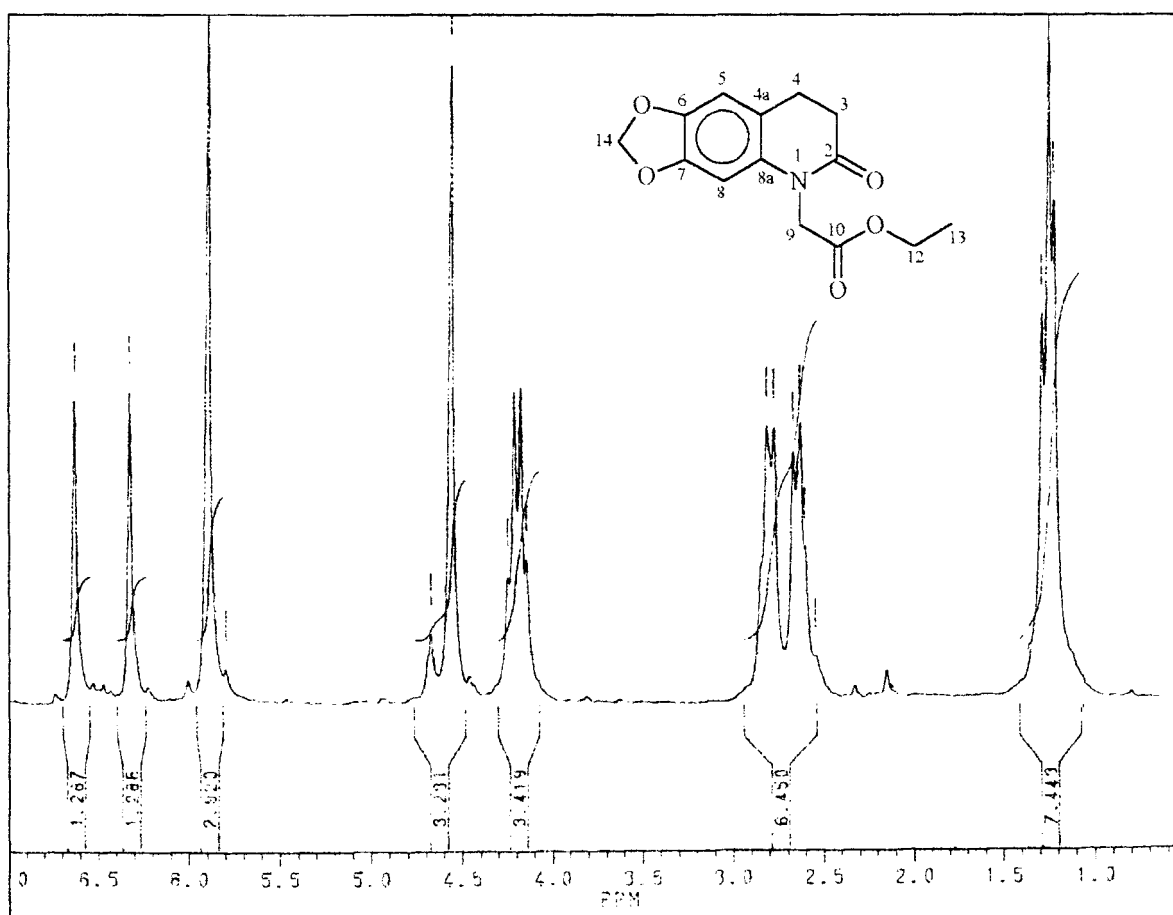
Espectro 16 - Espectro de RMN ^{13}C da lactama alquilada **13**.

Tabela 10 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto **13**.

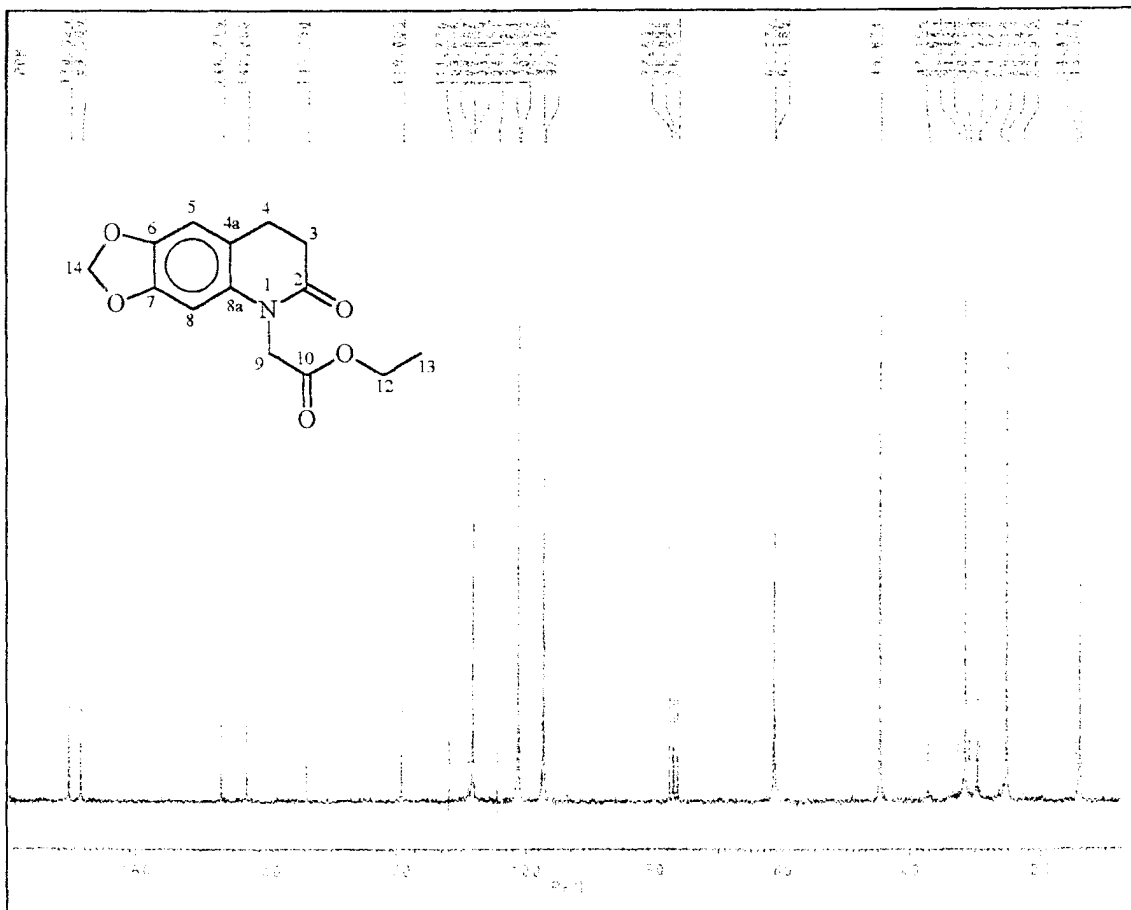
C	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)
2	-	173.6
3	2.77 (t)	29.7
4	2.66 (t)	25.1
4a	-	119.2
5	6.40 (s)	97.4
6	-	142.2
7	-	146.4
8	6.63 (s)	108.2
8a	-	135.3
9	4.59 (s)	44.9
10	-	171.2
11	5.90 (s)	101.3
OH	3.42 (sl)	-

Obs.: Nestes espectros foi usado DMSO- d_6 como solvente.

A preparação do derivado amidoácido **13** foi otimizada, conforme descrito no experimental anterior, sem isolamento prévio do éster etílico intermediário (processo "one-pot"). Contudo, num experimento preliminar o processo foi executado em duas etapas, tendo sido feito o isolamento e a caracterização do éster etílico intermediário (dados espectrométricos descritos a seguir).



Espectro 17- Espectro de RMN ¹H da lactama-éster, **13b**.

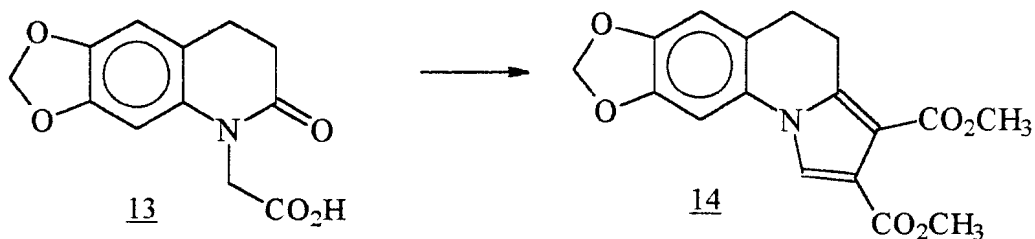


Espectro 18 - Espectro de RMN ^{13}C da lactama-éster **13b**.

Tabela 11 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto **13b**.

C	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)
2	-	170,3
3	2,79 (t)	30,7
4	2,65 (t)	25,1
4a	-	119,0
5	6,32 (s)	97,3
6	-	145,9
7	-	146,7
8	6,63 (s)	108,1
8a	-	133,7
9	4,56 (s)	44,7
10	-	168,5
12	4,19 (q)	61,3
13	1,25 (t)	14,2
14	5,90 (s)	101,1

V.12 - Preparação do éster dimetílico do ácido-7,8-metilenodioxi-4,5-diidropirrolo[1,2-a]quinolina-2,3-dicarboxílico,^{101,102,103,104}

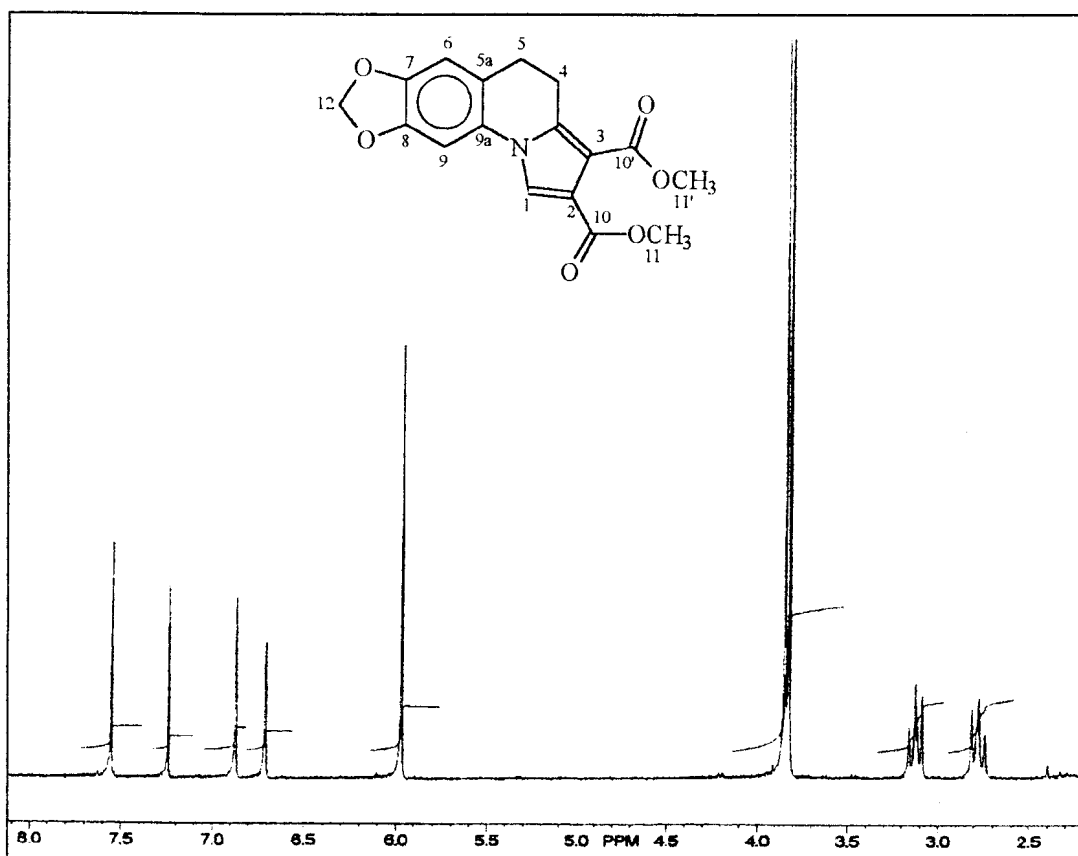


A uma mistura de 110 mg (0,44 mmol) do amidoácido **13** em 0,6 ml de anidrido acético recentemente destilado, foi adicionado 0,056 ml (0,46 mmol) de DMAD, e a mistura reacional foi aquecida em banho de óleo na faixa de temperatura de 90-110°C*, por 3,5 h. Após este tempo, a mistura foi resfriada e concentrada à vácuo até a secura. A mistura foi recristalizada em metanol gerando 54 mg (40%) do heterociclo **14** na forma de um sólido amarelo.

* Esta temperatura foi estabelecida após diversas experiências em diferentes temperaturas. A literatura descreve que altas temperaturas levam a obtenção de baixos rendimentos, além de provocarem o aparecimento de sub-produtos indesejáveis.

P.F.: 142 °C.

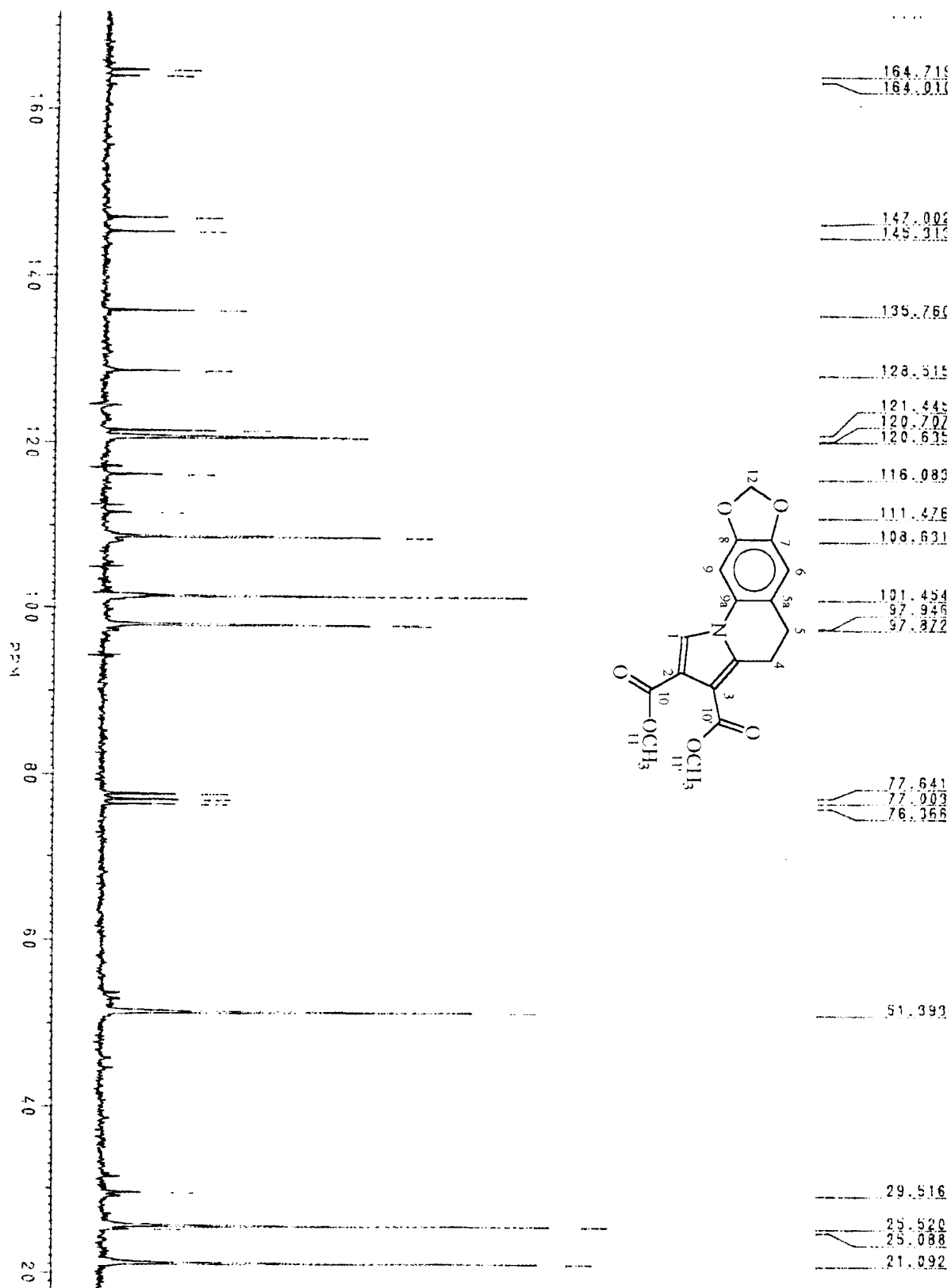
I.V. (Kbr) $\nu_{\text{máx.}}$: 2930, 1730, 1682, 1650, 1490, 1222 cm^{-1} .



Espectro 19 - Espectro de RMN ^1H do diéster 14.

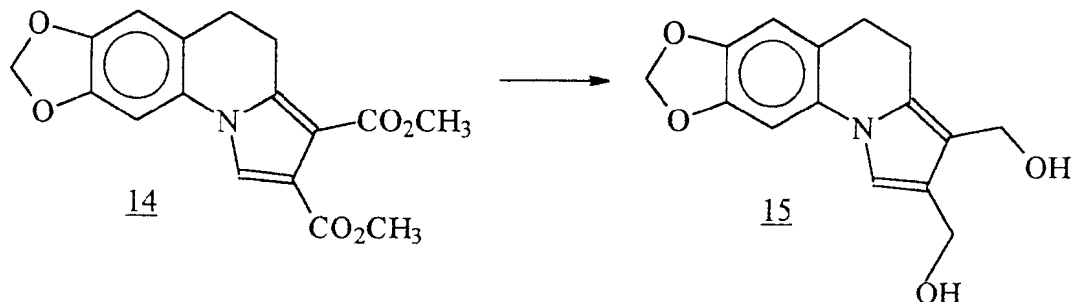
Tabela 12 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto 14.

C	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)
1	7.54 (s)	111.5
2	-	116,1
3	-	121,5
4	3.13 (t)	25.5
5	2.77 (t)	21.1
5a	-	120.6
6	6.70 (s)	97.8
7	-	145,3
8	-	147.0
9	6.87 (s)	108.6
9a	-	135.7
10	-	164.0
10'	-	164.7
11	3.80 (s)	51.4
11'	3.82 (s)	51.4
12	5.96 (s)	101.5



Espectro 20 - Espectro de RMN ^{13}C do diéster 14.

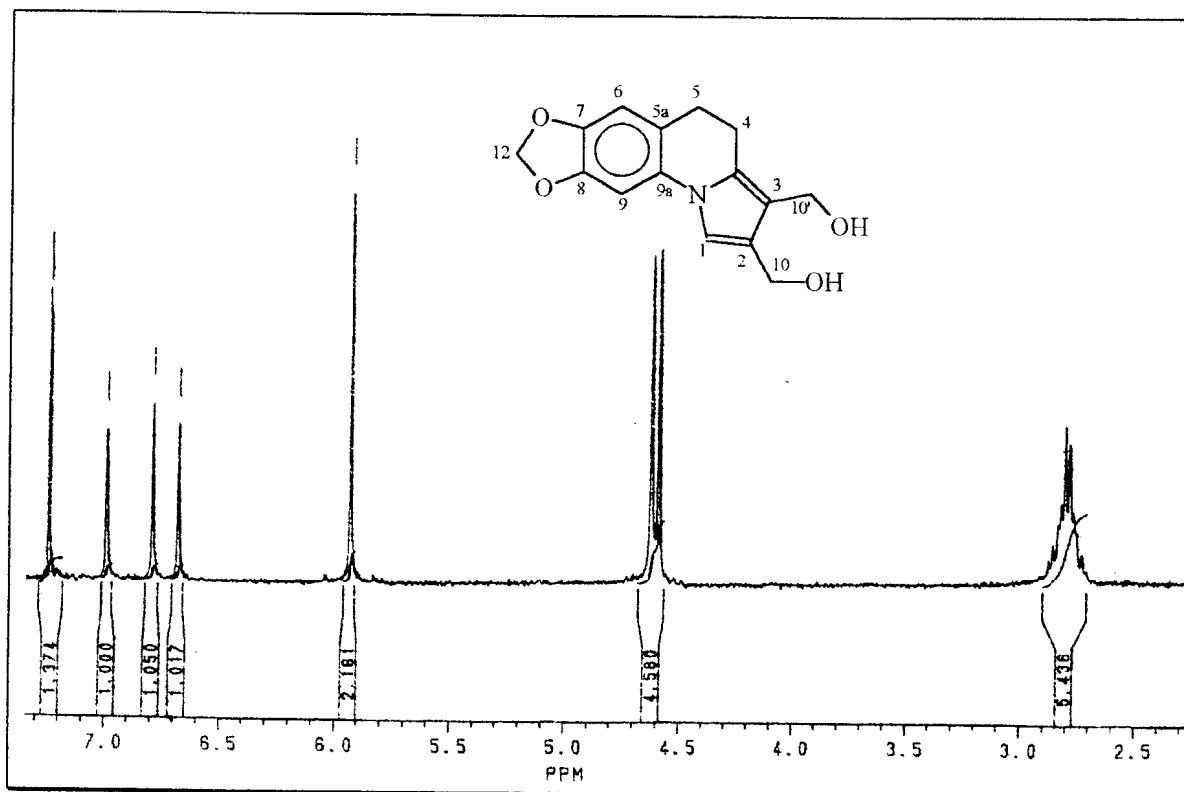
V.13 - Preparação do 7,8-metilenodioxi-2,3-bis(hidroximetil)-4,5-diisopropirroló [1,2-a] quinolina.⁹⁸



Num balão de 5ml de capacidade, contendo 100 mg (0,33 mmol) do diéster **14**, dotado de um agitador magnético e sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados 1,6 ml de THF seco, e a seguir, em banho de gelo, foram adicionados 46 mg (1,21 mmol) de LiAlH_4 . Após a adição de todo LiAlH_4 , a reação foi mantida a temperatura ambiente por 5 horas. O fim da reação foi confirmado por C.C.F. e a solução foi então diluída com aproximadamente 2 ml de acetato de etila e filtrada com éter etílico. O filtrado foi evaporado à vácuo, sem aquecimento, obtendo-se 80 mg (97%) do diol **15**, na forma de cristais levemente amarelados, com elevado grau de pureza.

P.F.: 135 °C

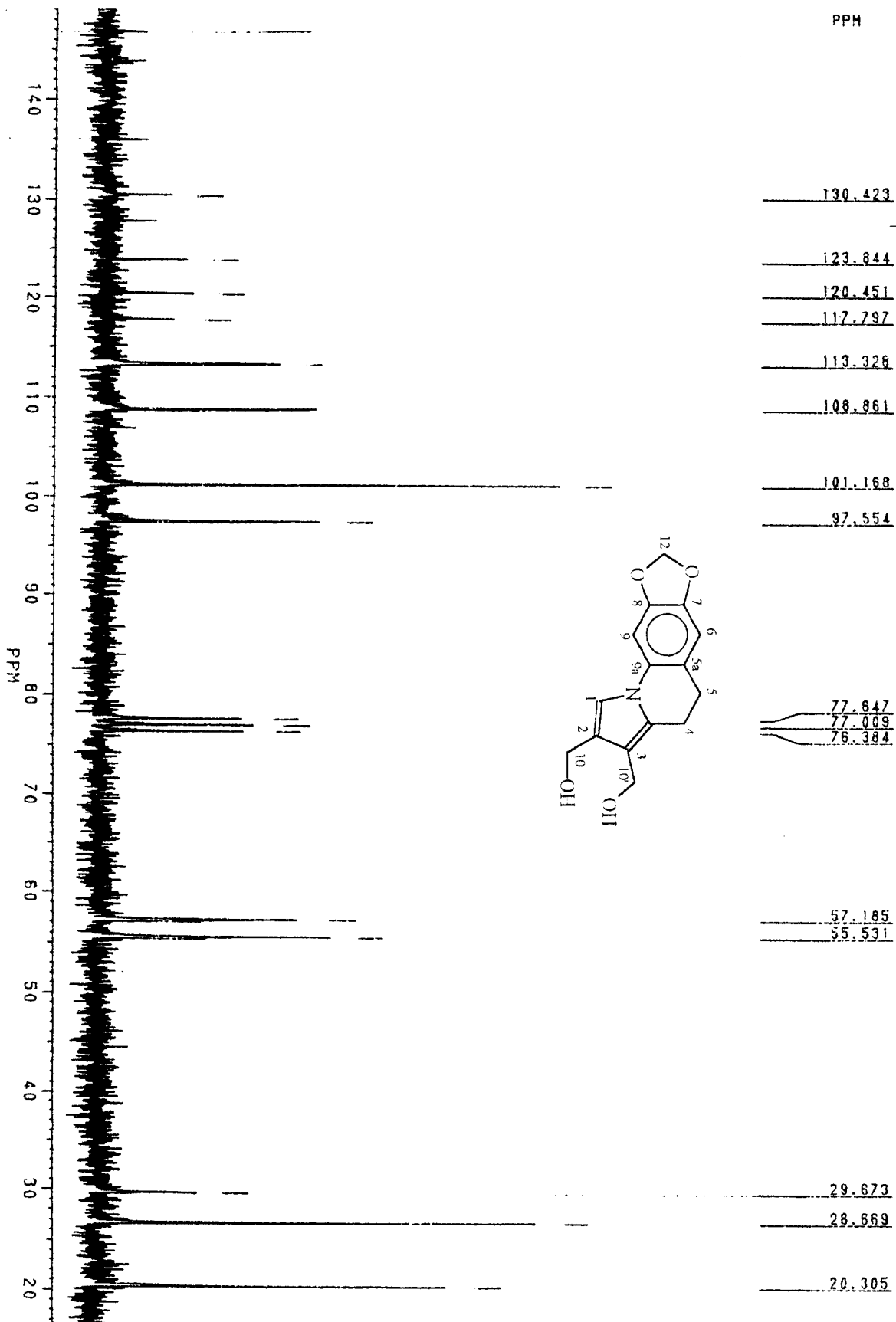
I.V.(KBr) $\nu_{\text{máx.}}$: 3420, 2930, 1480, 1460, 1240, 1200 cm^{-1}



Espectro 21 - Espectro de RMN ^1H do diol **15**.

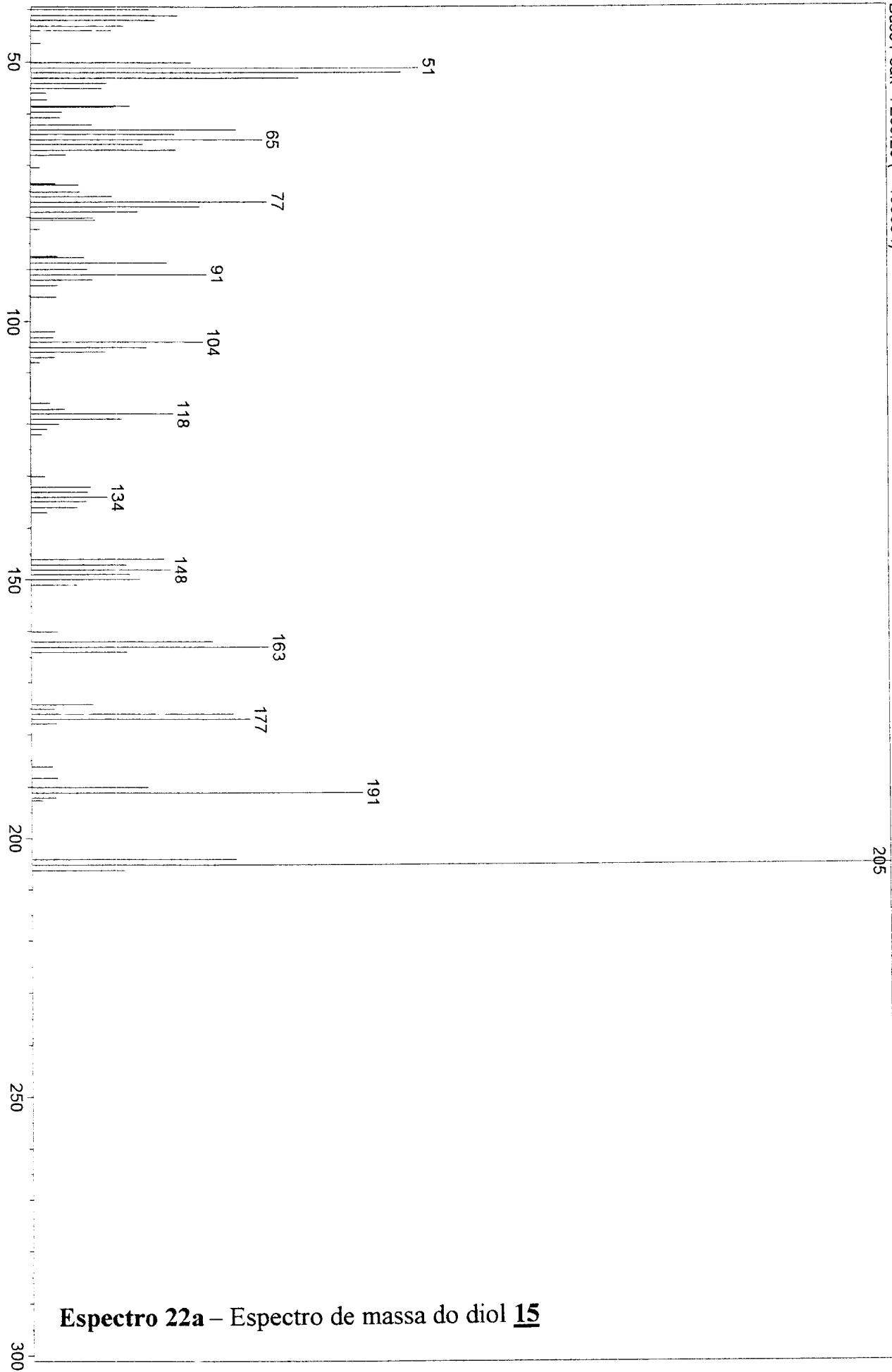
Tabela 13 - Dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C do produto **15**.

C	RMN ^1H δ (ppm)	RMN ^{13}C δ (ppm)
1	6.99 (s)	113.3
2	-	117.8
3	-	123.8
3a	-	130.4
4	2.78-2.80 (m)	26.7
5	2.78-2.80 (m)	20.3
5a	-	120.5
6	6.68 (s)	97.5
7	-	145.2
8	-	146.8
9	6.79 (s)	108.9
9a	-	136.0
10	4.59 (s) ou 4.62 (s)	57.1 ou 55.5
10'	4.59 (s) ou 4.62 (s)	57.1 ou 55.5
12	5.93 (s)	101.2
OH	7.25	-



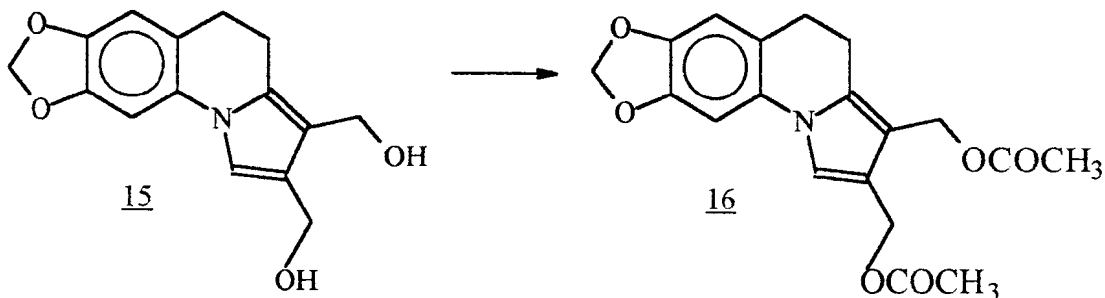
Espectro 22 - Espectro de RMN ^{13}C do diol 15.

Scan # : (3702 - 3705)
Mass Peak # : 89 Ret. Time : (33.241 - 33.259)
Base Peak : 205.25 (136884)



Espectro 22a – Espectro de massa do diol 15

V.14 - Preparação do 7,8-metilenodioxi-2,3-bis(hidrometil)-4,5-diisopirrólo [1,2-a]quinolina bis-acetato.

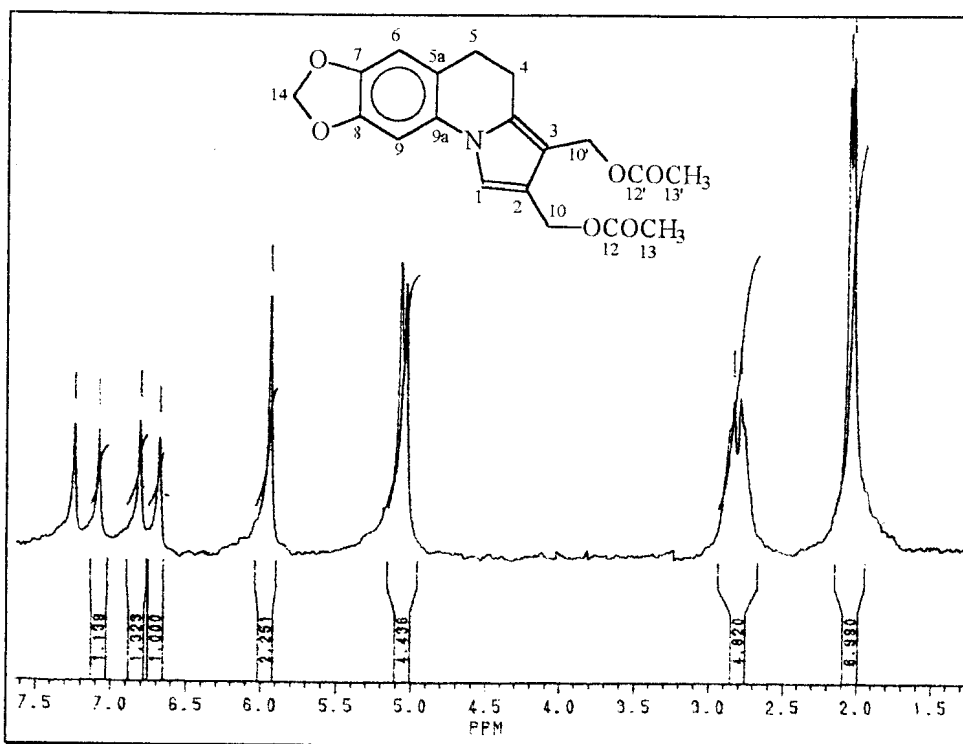


Em um balão de 5 ml de capacidade foram dissolvidos 60 mg (0,22 mmol) de **15** em 1,0 ml de piridina, ao qual foi adicionado 0,5 ml de anidrido acético. O balão foi colocado sob atmosfera de nitrogênio, e a mistura foi mantida sob agitação por uma noite (cerca de 12 horas) à temperatura ambiente. A mistura foi vertida sobre 2-10 ml de água gelada e em seguida foi extraída três vezes com 10 ml de clorofórmio em um funil de separação. O extrato clorofórmico foi lavado 2 a 3 vezes com HCl 1N, e em seguida, com água destilada.

A solução clorofórmica depois de separada, foi tratada com Na₂SO₄ anidro, foi filtrada e concentrada a vácuo, gerando 60 mg (83%) do bis-acetato **16** na forma de um sólido amarelado.

P.F.: 113 °C

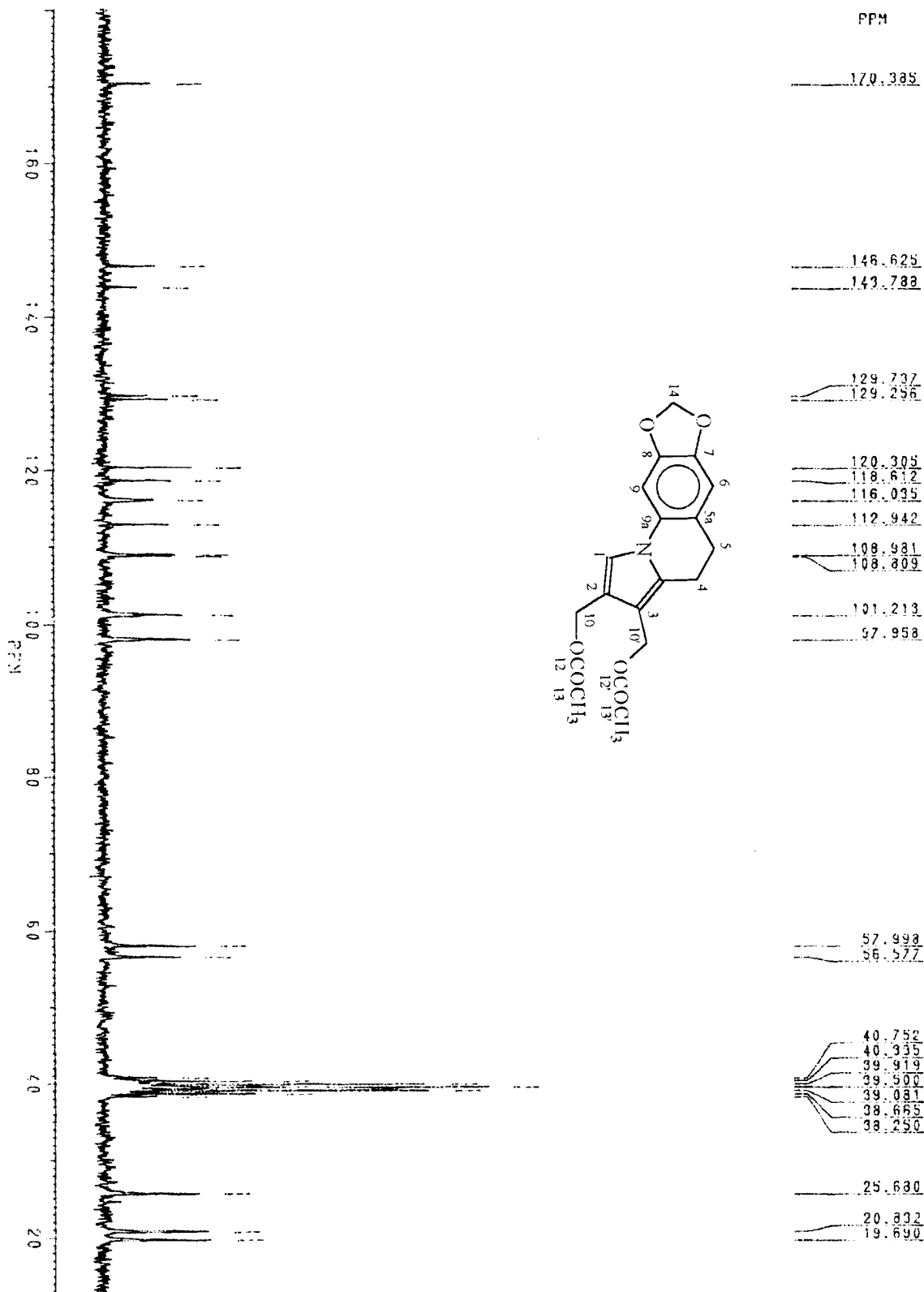
I.V. (Kbr) $\nu_{\text{máx.}}$: 3442, 2923, 1731, 1623, 1500, 1369, 1238 cm⁻¹



Espectro 23 - Espectro de RMN ¹H do bis-acetato **16**.

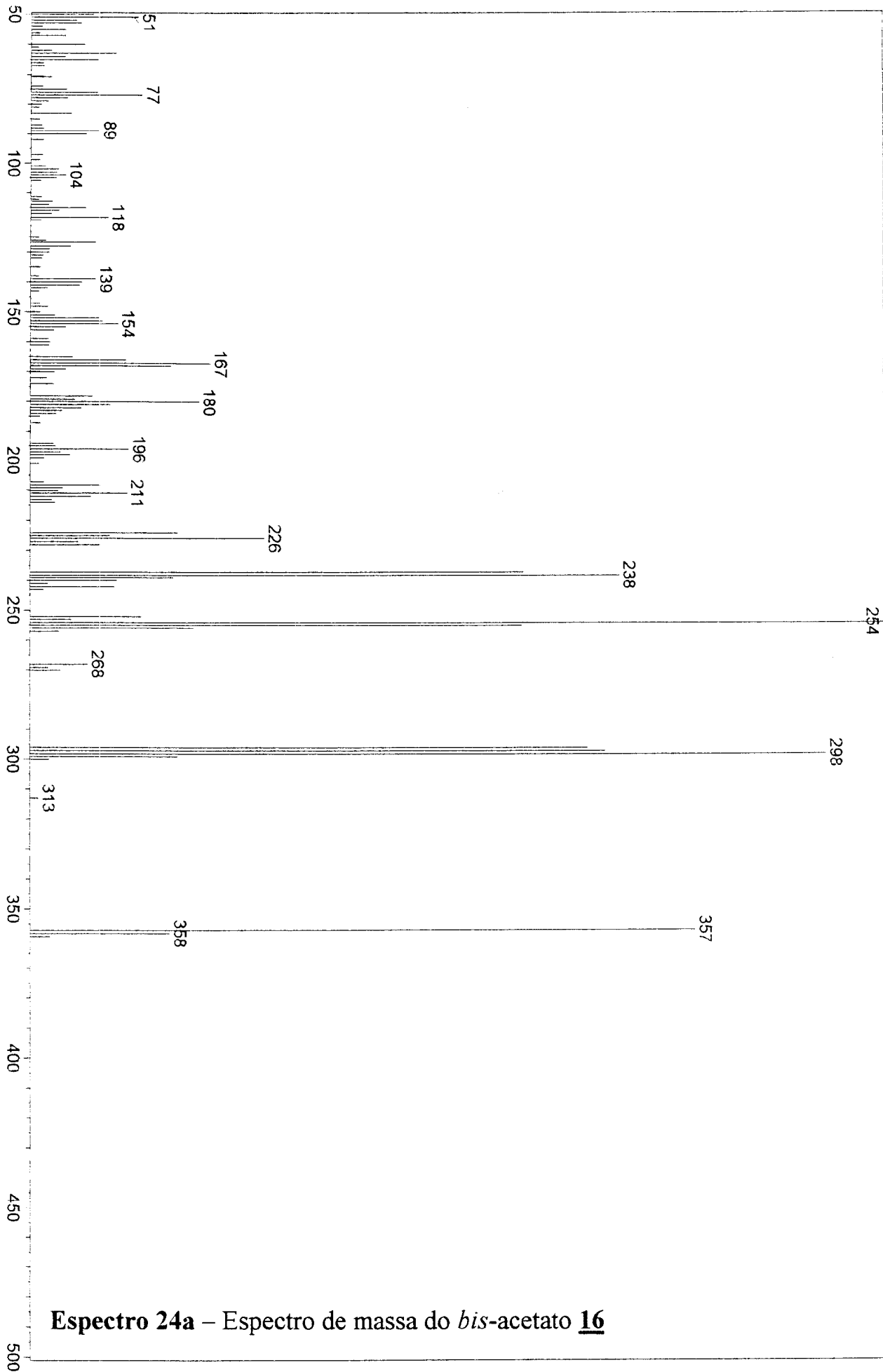
Tabela 14 - Dados de RMN ¹H e RMN ¹³C do produto **16**.

C	RMN ¹ H δ(ppm)/CDCl ₃	RMN ¹³ C δ(ppm)/DMSO-d ₆
1	7.08 (s)	112.9
2	-	116.0
3	-	120.3
3a	-	129.7
4	2.83 (t)	25.7
5	2.78 (t)	20.8
5a	-	120.3
6	6.68 (s)	97.9
7	-	143.8
8	-	146.6
9	6.80 (s)	108.8
9a	-	136.0
10	5.04 ou 5.07 (s)	57.9 ou 56.5
10'	5.04 ou 5.07 (s)	57.9 ou 56.5
12	-	170.3
12'	-	170.3
13	2.04 ou 2.06 (s)	39.5
13'	2.04 ou 2.06 (s)	39.5
14	5.93 (s)	101.2



Espectro 24 - Espectro de RMN ^{13}C bis-acetato 16.

Scan # : (542 - 567)
Mass Peak # : 144 Ret. Time : (5.003 - 5.215)
Base Peak : 254.10 (4169693)



Espectro 24a – Espectro de massa do *bis*-acetato 16

**REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schepartz, S.A. In: *Cancer Chemoterapeutic Agents*. Foye, W.O. Ed.; ACS Professional Reference Book; Washington, DC, **1995**.
2. Minayo, M. C. S. (Org.) Os muitos Brasis: Saúde e população na década de 80. São Paulo - Rio de Janeiro: Editora Hucitec-Abrasco, **1995**.
3. BRASIL, Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Câncer no Brasil. Dados dos Registros. Base populacional (volume II) - Rio de Janeiro, **1995**.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Programas de Controle de Câncer - Pro-Onco. Estimativa da Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, **1996**.
5. Kauffman, J. M.; Sengupta, S. K. e Foye, W. O. In: "Principles of Medicinal Chemistry". Foye, W. O. (Ed.). Sea & Febiger, Pennsylvania, **1989**.
6. Para uma discussão detalhada sobre mecanismos de metástese, veja: Liotta, L. A. e Stetler Stevenson, W. In: *Cancer Principles and Practice of Oncology*, DeVita, V.T. , Ed.: Philadelphia: J. B. Leppencott Co., **1993**, pp. 134-149.
7. Para uma interessante e completa revisão sobre o mecanismo de ação dos agentes antitumorais veja:

- Sablon, A.J. In, *Pharmacologie Moleculaire*. Laudry, Y. e Gies, J.P. (Eds); Medsi / Mc Graw - Hill, Paris (1990).
8. Calabresi, P. e Dexter, D. L. In: *Tumor Cell*. Academic Press, Inc., New York, 1982, pp. 181-201.
9. Weller, G.P. *Fed. Proc.*, 1967, 26, 885-892.
10. Connors, T.A. In: *Antineoplastic and Immunosuppressive Agents*, Pt. II. (Sartorelli, A.C., and Johns, D.G., eds.) *Handbuch der Experimentellen Pharmakologie*, Vol.38. Springer-Verlang, Berlin, 1975, pp. 18-34.
11. Colvin, M. In: *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1982, pp. 276-308.
12. Goodman, L.S.; Wintrobe, M.M.; Dameshek, W.; Goodman, M.J.; Gilman, A. e McLennan. *J.A.M.A.* , 1946, 132, 126-132.
13. Gilman, A. The initial Clinical trial of nitrogen mustard. *Am. J. Surg.* ,1963, 105, 574-578.
14. Calabresi, P., and Welch, A.D. *Annu. Rev. Med.*, 1962, 13, 147-202.
15. Symposium. (Various authors). *Cancer Chemother. Rep.*, 1967, 51, 315-412.

16. Johnston, T.P.; McCaleb, G.S.;and Montgomery, J.A. *J. Med. Chem.*, **1963**, 6, 669-681.
17. Schabel, F.M., Jr.. *Cancer Chemother. Rep.*, **1973**, 4, Part 3, No. 3, 3-6.
18. Livingston, R.B.,and Carter, S.K. *Plenum Press*. New York, **1970**.
19. Bono, V.H., Jr. *Cancer Treat. Rep.*, **1976**, 60, 141-148.
20. Chabner, B.A. In: *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, **1982d**, pp. 340-362.
21. Farber,S.; Diamond, L.K.; Mercer, R.D.; Sylvester, R.F.; and Wolff, V. A. *N. Engl. J. Med.*, **1948**, 238, 787-793.
22. Hertz, R. *Ann. Intern. Med.*, **1963**, 59, 931-956.
23. Symposium. (Various authors.) *Cancer Treat. Rep.*, **1981b**, 65, Suppl. 1, 1-189.
24. Chabner, B. A. In: *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, **1982c**, pp. 229-255.
25. Johns, D. G., and Bertino, J.R. In: *Cancer Medicine*, 2nd ed Lea & Febiger, Philadelphia, **1982**, pp. 775-789.
26. Jackson, R. C. *Pharmacol. Ther.*, **1984**, 25, 61-82.

27. Maley, F. In: *Cancer 5: A Comprehensive Treatise*. Plenus Press, New York, **1977**, pp. 327-353.
28. Chabner, B.A. In: *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, **1982e**, pp. 183-212.
29. Chabner, B.A. In: *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, **1982b**, pp. 387-401.
30. Kufe, D. W. e Major, P. P. *Med. Pediatr. Oncol.*, **1982**, Suppl. 1, 49-67.
31. Pallavicini, M. G. *Pharmacol. Ther.*, **1984**, 25, 207-235.
32. Hitchings, G. H. *Progress in Cancer Research and Therapy*, Vol. 28. Raven Press, New York, **1983**, pp. 227-238.
33. Loo, T. L., and Nelson, J. A. In: *Cancer Medicine*, 2nd ed. Lea & Febiger, Philadelphia, **1982**, pp. 790-800.
34. McCormack, J. J., and Johns, D. G. In: *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. Saunders Co., Philadelphia, **1982**, pp. 213-228.
35. Elion, G. B., and Hitchings, G. H. *Adv. Chemother.*, **1965**, 2, 91-177.
36. Fleurentin, J. e Pelt, J. M., *La Recherche*, 21, **1990**, 811-818.
37. Chadwick, D. J.; Marsh, T.; *Bioactive Compounds from Plants*, John Wiley, New York, **1990**.

38. Franz, G. *Pharm. Pharmacol. Lett.*, 5, **1995**, 154-158.
39. Creasey, W. A. Vinca alkaloids and colchicine. In, *Antineoplastic and Immunosuppressive Agents*, Pt. II, (Sartorelli, A.C., and Johns, D. G., eds.) *Handbuch der Experimentellen Pharmakologie*, Vol. 38. Springer-Verlag, Berlin, **1975**, pp. 670-694.
40. Tewey, K. M.; Rowe, T. C.; Yang, L.; Halligan, B. D.; and Liu, L. F. *Science*, **1984**, 226, 466-468.
41. Bender, R. A., and Chabner, B. A. Tubulin binding agents. In, *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. Saunders Co., Philadelphia, **1982**, pp. 256-268.
42. Vogelzang, N. J.; Raghavan, D.; and Kennedy, B. J. *Am. J. Med.*, **1982**, 72, 136-144.
43. D'incalci, M., e Gaattini, S. In: *The Cancer Pharmacology Annual*. Excerpta Medica, Amsterdam, **1983**, pp. 87-94.
44. O'Dwyer, P. J.; Leyland-Jones, B.; Alonso, M. T.; Marsoni, S.; and Wittes, R. E. *N. Engl. J. Med.*, **1985**, 312, 692-700.
45. Corrêa, A. G. *Quimica Nova*, **1995**, 18(5), 460-466.

46. Wani, M. C.; Taylor, M. E.; Coggon, O.; Mc Phail, A. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, 2325.
47. Horwitz, S. B.; Fant, J.; Schiff, P. B.; *Nature*, **1979**, 277, 665.
48. Schiff, P. B.; Horwitz, S. B.; *Proc. Natl. acad. Sci. USA*, **1981**, 77, 1561.
49. Ball, R. L.; Carney, D. H.; Albrecht, T.; *Exp. Cell. Res.*, **1990**, 191, 37.
50. Waksman, S. A., and Woodruff, H. B. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **1940**, 45, 609-614.
51. Waksman Conference on Actinomycins: *Cancer Chemother. Rep.*, **1974**, 58, 1-123.
52. Glaubiger, D.; and Ramu, A. In: *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. Saunders Co., Philadelphia, **1982**, pp. 402-415.
53. Crooke, S. T. In: *The Cancer Pharmacology Annual*. Excerpta Medica, Amsterdam, **1983**, pp. 869-79.
54. Sobell, H. M. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **1973**, 13, 153-190.
55. Umezawa, H. *Biomedicine*, **1973**, 18, 459-475.
56. Oppenheimer, N. J.; Rodrigues, L. O.; and Hecht, S. M. *Biochemistry*, **1979**, 18, 3439-3445.
57. Crooke, S.T. and Bradner, W. T. *Cancer Treat. Rev.*, **1976**, 3, 121-139.

58. Kennedy, K. A.; Rockwell, S.; and Sartorelli, A. C. *Cancer Res.*, **1980**, 40, 2356-2360.
59. Rosenberg, B.; VanCamp, L.; and Krigas, T. *Nature*, **1965**, 205, 698-699.
60. Rosenberg, B. *Naturwissenschaften*, **1973**, 60, 399-406.
61. Fontes, A.P.S.; Almeida, S.G. e Nader, L.A. *Química Nova*, **1997**, 20 (4), 398-406.
62. Rosenthal, F.; Wislicki, L.; and Koller, L. *Klin. Wochenschr.*, **1928**, 7, 972.
63. Donehower, R. C. In: *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. Saunders Co., Philadelphia, **1982**, pp. 269-275.
64. Bollag, W. *Cancer Chemother. Rep.*, **1963**, 33, 1-4.
65. Oliveiro, V. T. In: *Cancer Medicine*, 2nd ed. Lea & Febiger, Philadelphia, **1982**, pp. 850-860.
66. Weinkam, R. J.; Shiba, D. A.; and Chabner, B. In: *Pharmacologic Principles of Cancer Treatment*. Saunders Co., Philadelphia, **1982**, pp. 340-362.
67. Tormey, D. C.; Simon, R. M.; Lippman, M. E.; Bull, J. M.; and Myers, C. E. *Cancer Treat. Rep.*, **1976**, 60, 1451-1459.

68. Kiang, D. T.; and Kennedy, B. J. *Ann. Intern. Med.*, **1977**, *87*, 687-690.
69. Moseson, D. L.; Sasaki, G. H.; Kraybill, W. G.; Leung, B. S.; Davenport, C. E.; and Fletcher, W. S. *Cancer*, **1978**, *41*, 797-800.
70. Jordan, V. C. *Breast Cancer Res. Treat.*, **1982**, *2*, 123-138.
71. Korolkovas, A. e Ferreira, E.J. *Química Nova* , **1988**, *11*, 320.
72. a) French, L.G. *J.Chem. Ed.* **1995**, *72*, 484.
- b) Mors, W.B. e Rizzini, C.T. *Botânica Econômica*, Epu, São Paulo, SP. **1976**, pág. 149.
73. Maia, J.G.S.; Silva, M.L.; Luz, A.I.R.; Zoghbi, M.G.B. e Ramos, L.S. *Química Nova* , 1987, **10**, 200.
74. Watanabe, S.; Fujida, T.; Sugz,K. e Inaba,A. *Mater. Chem. Phys.* **1983**, *8*, 573.
75. Ayad, H.M. *Eur. Pat. Appl.* EP 917756.
76. a) Barreiro, E.J.; Costa, P.R.R.; Coelho, F.A.S. e Farias, F.M.C. *J. Chem. Res.(S)*, **1985**, 220.
- b) Barreiro, E.J.; Costa, Lima, M.E.F. *J. Pharm. Sc. (S)*, **1992**, 1219, e referências citadas no trabalho.
77. a) Anderson, W.K. e Corey, P.F. *J.Org.Chem.* **20** 812 (1977).

b) Anderson, A.K.; McPherson, H.L.; New, J.S. e Ric *J. Med. Chem.* **1984**, 27
1321.

c) Anderson, W.K.; Heider, A.R.; Rayer, N. e Yucht, J.A. *J. Med. Chem.*
1988, 31, 3097.

78. Witty, T.R. e Remers, W.A. *J. Med. Chem.* **1973**, 16, 1286.

79. a) Gilbert, T.L. e Storr, R.C. *Organic Reactions and Orbital Symmetry*,
William Clowes & Sons, **1972**.

b) Carruthers, W. *Cycloaddition Reactions in Organic Synthesis*, Pergamon
Press, **1991**.

80. Para uma revisão sobre as cicloadições 1,3-dipolares veja:

Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Eng.*, **1963**, 2, 565.

81. Para referências sobre preparação de lactamas (via rearranjos de Beckman
e Schmidt) veja: March, J. In: *Advanced Organic Chemistry*. March, J. Ed.
Wiley Interscience, New York, N. Y. 3ª Edição, **1985**, p. 1168.

82. a) Kaiser, E. *J. Org. Chem.* **1964**, 1242;

b) Amorim, M. B. *Tese de Mestrado*, NPPN-UFRJ, Rio de Janeiro, **1989**.

83. Witiak, D.T.; Willians, D.R.; Kakodkar, S.V. *J. Org. Chem.* **1974**, 39,
1242-1247.

84. Maheas, M.R. *Bull Soc. Chim. France* **1962**, 1989.
85. Para exemplos de métodos clássicos de preparação de indanonas a partir de alilbenzenos veja: Greene, A.E.; Coelho, F.; Barreiro, E.J.; Costa, P.R.R. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 4250-4253.
86. Schimidle, C.J.; e Barnett, P.G. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 3209.
87. a) Lima, M.E.F. *Tese de Mestrado*, IQ-UFRJ, Rio de Janeiro, **1989**
- b) Barreiro, E.J. e Lima, M.E.F. *J. Pharm. Sc.* **1992**, 81, 1219.
88. a) Donaruma, L.G.; Heldt, W.Z. *The Beckmann Rearrangement*. In: *Organic Reactions*, **1960**, 11, 1-156.
- b) Wolf, H. *The Schmidt Reaction*. In: *Organic Reactions*, **1946**, 307-336.
89. a) Brandão Torres, L.M. *Tese de Mestrado*, Núcleo de Pesquisa de Produtos naturais, UFRJ.
- b) Costa, P.R.R.; Barros, P.R.V.R.; Queiroz, W.M.; Lima, M.E.F.; Celestino, M.T. *Química Nova*, **1982**, 112-114.
90. March, J. In: *Advanced Organic Chemistry*. March, J. Ed. Wiley Interscience, New York, N. Y. 3ª Edição, **1985**, p. 698.
91. a) Bowers, A.; Halsall, T.G.; Jones, E.R.H.; Lemin, A.J. *J. Chem. Soc.*, 25480953

- b) Rodig, O.R.; Bell, Jr., C.E. e Clark, A.K. In: *Organic Chemistry Laboratory*, Saunder HBJ - **1990**, pág. 215.
92. Corey, E.J.; Gilman, N.M. e Ganem, B.E. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 5616.
93. Constantino, M.G.; Donate, P.M. and Petraghani, N. *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 253-254.
94. Angers, P. and Canonne, P., *Tetrahedron Letters*, **1995**, 36, 2397-2400.
95. Costa, P.R.R.; Ferreira, V.F.; Filho, H.C.A. e Pinheiro, S., *J. Braz. Chem. Soc.*, **1996**, 1, 67-73.
96. G. Jones, *Org. React.*, **1967**, 15, 204.
97. Furniss, B.S.; Hannaford, A.J.; Smith, P.W.G. e Tatchell, A.R. In: VOGEL's \textbook of Pratical Organic Chemistry, Logman Scientific & Technical, **1989**, p. 1040.
98. Hudlicky, M. In: *Reductions in Organic Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc. London, **1986**
99. a) Popp, F.D.; Soto, A. *J. Chem. Soc.* **1963**, 1760.
- b) Padbury, J.J.; Lindwall, H.G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1945**, 67, 1268.
- c) Solomon, W. *J. Chem. Soc.* **1947**, 129.

100. Carey, F.A.; Sundberg, R.J. In: *Advanced Organic Chemistry*, 3ª edição, parte B, **1993**, págs. 132-133.
101. a) Gilbert, T.L. e Storr, R.C. *Organic Reactions and Orbital Symmetry*, Willian Clowes & Sons, **1972**.
- b) Carruthers, W. *Cycloaddition Reactions in Organic Synthesis*, Pergamon Press, **1991**.
102. Para uma revisão sobre as cicloadições 1,3-dipolares veja:
- Huisgen, R. *Angew.Chem.Int.Eng*, **1963**., 2, 565.
103. a) Huisgen, R. e Gotthard, H. *Chem. Berichte*, **1968**, 101, págs: 552, 839,1059.
- b) Huisgen, R., Gotthard, H. e Grashey, *Chem. Berichte*, **1968**, 101, págs: 536, 829.
- c) Gotthard, H., Huisgen, R. e Knorr, R. *Chem. Berichte*, **1968**, 101, 1056.
104. Carruthers, W. *Cycloaddition Reactions in Organic Synthesis*, Pergamon Press, **1991**.
105. Potts, K.T. and Yao, S.J. *Org. Chem.*. **1979**, 44(6), 977-979,
106. Eliel, E.L.; Fisk, M.T. e Prosser, T. *Org. Syn*. **1963**, 4, 169-172.

107. Collington, E.W. e Meyers, A.I. *J. Org. Chem.* **1971**, 36, 3044-3047.
108. Correy, E.J.; Kim, C.U. e Takeda M. *Tetrahedrom Letters*, **1972**, 42, 4339-4342.
109. Coelho, F.A.S. *Tese de Doutorado*, Université Joseph Fourier de Grenoble (LEDSS-3), Grenoble-França, **1988**.
110. a) Fraguas, M.R.; Fernande, O.; Rocha, A.C.; Lima, M.E.F., *20ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Caxambú, 1996. Livro de Resumos QO-055*.
- b) Fraguas, M.R.; Fernande, O.; Rocha, A.C.; Lima, M.E.F., *Resumos da VI Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ, 1996*.
111. Perrin, D.D, Amarego, W.L.F., Perrin, D.R. *Purification of Laboratory Chemicals*, 2nd ed. Pergamon Press Inc., New York, **1980**.