



**Emanuel Jorge
Ferreira Balsa**

**Síntese de adutos de benzopiranos com
potencial atividade canabinoide**

**Synthesis of benzopyran adducts with
potential cannabinoid activity**



**Emanuel Jorge
Ferreira Balsa**

**Síntese de adutos de benzopiranos com
potencial atividade canabinoide**

**Synthesis of benzopyran adducts with
potential cannabinoid activity**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor Artur Manuel Soares da Silva, Professor Catedrático, do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, e da Doutora Diana Cláudia Gouveia Alves Pinto, Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro



universidade
de aveiro



COMPETE



QUADRO
DE REFERÊNCIA
ESTRATÉGICO
NACIONAL



UNIÃO EUROPEIA
Fundo Europeu
de Desenvolvimento Regional

FCT

Fundação para a Ciência e a Tecnologia
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR

o júri

Presidente Professor Doutor Artur Manuel Soares da Silva
Professor catedrático, Departamento de Química, Universidade de Aveiro

Doutora Clementina Maria Moreira dos Santos
Professora Adjunta, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança

Doutora Raquel Sofia Grevy Ribeiro Seixas
Investigadora de Pós-doutoramento, Departamento de Química, Universidade
de Aveiro

Agradecimentos

Aos meus orientadores, Doutor Artur Silva e Doutora Diana Pinto, pelo excelente acompanhamento, partilha de ideias e pela grande ajuda na realização deste trabalho.

À Universidade de Aveiro, ao Departamento de Química e a todos os seus funcionários por proporcionarem o ambiente necessário à conclusão de mais uma etapa académica.

Aos colegas de laboratório, que puderam acompanhar o meu trabalho, pela camaradagem, entreaajuda e convivência que se pode e fez-se sentir dentro do laboratório.

Aos meus amigos pelo companheirismo durante o dia e pela sabedoria da noite, foram uma grande ajuda na realização deste trabalho. Principalmente no final do trabalho, pela motivação final que me ajudou a concluir este projeto.

Aos meus Pais deixo um dos maiores agradecimentos, pois eles tornaram isto possível, para além da sabedoria, experiência, conselhos e ideias partilhadas, sei que tenho todo o apoio que eles podem dar.

Aos meus Irmãos pela irmandade que existe entre nós, um pela partilha de ensinamentos e outro por conseguir manter a casa numa correria constante.

Não podia deixar de dizer que: “Depressa e bem, há pouco quem”

Palavras-Chave

Adutos de benzopiranos, cumarinas, indóis, díades indolcumarina, recetores canabinoides

Resumo

O sistema canabinoide endógeno compreende os recetores canabinoides CB1 e CB2, que estão acoplados à proteína G. Os recetores CB1 encontram-se predominantemente no cérebro, enquanto os CB2 se encontram no sistema imunitário e em células tumorais, estando, conseqüentemente, associados a doenças cerebrais, cardiovasculares e cancerígenas. Assim, os recetores canabinoides constituem um alvo atrativo para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos e têm suscitado grande interesse junto da comunidade científica.

As cumarinas são compostos naturais, contendo um núcleo benzopirano, que apresentam uma grande variedade de atividades biológicas, o que faz com que esta unidade estrutural seja amplamente usada na síntese de novos derivados com interesse biológico. Por outro lado, os indóis também são compostos com potencial aplicação na indústria farmacêutica e têm sido alvo de intensa pesquisa. Deste modo a síntese de díades contendo estas duas unidades heterocíclicas afigura-se como uma aposta interessante na procura de novos compostos bioativos.

Assim sendo, neste trabalho foram sintetizados vários derivados de cumarinas e efetuados estudos de halogenação de indóis. A falta de regioselectividade na reação de halogenação de indóis levou a uma alteração na estratégia de síntese de moléculas híbridas. Foram, por isso, desenvolvidos métodos de síntese de adutos a partir de 2-*aril*-4-cloro-3-formil-2*H*-cromenos. Tendo sido possível sintetizar, usando métodos simples e eficientes, adutos de indol e 3,4-dimetoxianilina.

Todos os novos compostos sintetizados foram caracterizados estruturalmente recorrendo a estudos de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), incluindo espectros de ^1H e ^{13}C e estudos bidimensionais de correlação espectroscópica heteronuclear (HSQC e HMBC). Foram também efetuados, sempre que possível, espectros de massa.

Keywords

Benzopyrans adducts, coumarin, indole, dyads indole-coumarin, cannabinoid receptors

Abstract

The endogenous cannabinoid system comprises the cannabinoid receptors CB1 and CB2, which are G-protein coupled. CB1 receptors are found predominantly in the brain, while the CB2 are found in the immune system and tumour cells, consequently the cannabinoid receptors are associated with brain, cardiovascular disorders and cancer. Cannabinoid receptors are an attractive target for the development of new therapeutic agents and have aroused great interest among the scientific community.

Coumarins are natural compounds, having the benzopyran ring system, that present a wide variety of biological activities, which makes this structural unit widely used in the synthesis of new derivatives with biological interest. On the other hand, indoles are also compounds with potential application in pharmaceutical industry, therefore have been highlighted as targets to the scientific community. Thus, the synthesis of dyads having these units is a good approach to find new bioactive compounds.

In this work, the synthesis of coumarin derivatives have been performed as well as halogenation studies of indoles. To circumvent the lack of regioselectivity in the halogenation of indoles, a strategic modification to synthesize hybrid molecules was implemented, which consists in the synthesis of new adducts of 2-aryl-4-chloro-3-formyl-2*H*-chromenes. It was also possible the development of simple and efficient methodologies to obtain adducts with indole and 3,4-dimethoxyaniline.

All the new synthesized compounds were structurally characterized using nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR), including ^1H and ^{13}C spectra and two-dimensional studies of heteronuclear correlation spectroscopy (HSQC and HMBC). Mass spectra were also performed whenever possible.

Índice

Palavras-Chave	
Resumo	
Keywords	
Abstract	
Abreviaturas	iii
Índice de Figuras	vii
Índice de Esquemas	xi
Capítulo 1. Introdução	1
1. Sistema endocanabinoide	3
1.1. Recetores canabinoides	3
1.2. Canabinoides	9
1.2.1. Canabinoides naturais	9
1.2.2. Endocanabinoides	9
1.2.3. Canabinoides sintéticos	10
2. Cumarinas	13
2.1. Ocorrência natural e atividade biológica	13
2.2. Métodos de síntese	15
3. Indóis	17
3.1. Ocorrência e atividade biológica	17
3.2. Métodos de síntese	19
4. Díades Indolcumarinas	21
Capítulo 2. Objetivos	25
1. Síntese das unidades estruturais do tipo cumarinas	27
2. Derivados de indóis	28
3. Síntese de díades indolcumarina	29

Capítulo 3. Resultados e Discussão	31
1. Síntese de derivados de 2 <i>H</i> -cromen-2-onas	33
2. Halogenação de indóis	45
3. Síntese de 3,3'-[(4-cloro-2-fenil-2 <i>H</i> -cromen-3-il)metileno]bis(1 <i>H</i> -indol)	47
4. Síntese de 6-aryl-10,11-dimetoxi-6 <i>H</i> -cromeno[3,4- <i>c</i>]quinolina.....	56
Capítulo 4. Conclusões e perspectivas futuras	63
Capítulo 5. Materiais e Métodos.....	67
1. Síntese de 2-fenilacetato de 2-acetilfenilo.....	70
2. Síntese de cumarinas	70
2.1. Método 1	70
2.2. Método 2	71
2.3. Método 3	72
3. Síntese de 2,6-dibromo-3-metil-indol.....	75
4. Síntese de 2- ou 3-iodo-indol.....	76
5. Síntese de 4-[di(1 <i>H</i> -indol-3-il)metil]fenol	76
6. Síntese de <i>p</i> -hidroxicinamato de etilo	77
7. Síntese de 2'-hidroxicalconas	77
8. Síntese de 4-aryl-4 <i>H</i> -croman-4-onas.....	77
9. Síntese de 2-aryl-4-cloro-2 <i>H</i> -cromeno-3-carbaldeído	78
10. Síntese de díades indolcromeno	78
11. Síntese de 6-aryl-10,11-dimetoxi-6 <i>H</i> -cromeno[3,4- <i>c</i>]quinolina.....	80
Capítulo 6. Bibliografia	85

Abreviaturas

9-iodo-9-BBN – 9-Iodo-9-borobiciclo[3,3,1]nonano

δ – Desvio químico

η – Rendimento

2-AG – 2-Araquidonoilglicerol

A β – Péptido β -amilóide

AM-1714 – 1,9-Di-hidroxi-3-(2-metiloctan-2-il)-6*H*-benzo[*c*]cromen-6-ona

AMB-15 – Amberlite-15

cAMP – Monofosfato cíclico de adenosina

CB1 – Recetor canabinoide 1

CB2 – Recetor canabinoide 2

d - Duplete

DA – Doença de Alzheimer

DCM – Diclorometano

dd – Duplo duplete

ddd – Duplo duplete de dupletos

DDQ - 5,6-Diciano-2,3-diclorobenzoquinona

DH – Doença de Huntington

DME – Éter dimetilíco

DMF – Dimetilformamida

DMSO – Dimetilsulfóxido

DP – Doença de Parkinson

dt – Duplo tripleto

equiv – Equivalentes

ESI – Ionização eletrospray

FAAH – Hidrolase de amida de ácido gordo

GABA – Ácido γ -aminobutírico

GDP – Guanosina difosfato

G_{i/o} – Proteína acoplada G inibidora

GPe – Globo pálido lateral (*Lateral Globus Pallidus*)

GPCR – Recetor acoplado à proteína G

GTP – Guanosina trifosfato

h – Horas

HMBC – Correlação espectroscópica heteronuclear a longa distância, bidimensional em RMN (*Heteronuclear Multiple Bond Coherence*)

HSQC – Correlação espectroscópica heteronuclear bidimensional em RMN (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*)

HU-210 – 11-Hidroxi- Δ^8 -THC-dimetil-heptilo

IP₃ – 1,4,5-Trisfosfato de inositol

J – Constante de acoplamento

JWH-018 – Naftalen-1-il-(1-pentilindol-3-il)metanona

m – Multipleteo

MAPK – Proteína cinase ativada por mitogénio

min – Minutos

m/z – Razão massa/carga

NADA – *N*-Araquidonoildopamina

NBS – *N*-Bromosuccinimida

PLC – Fosfolipase C

ppm – Partes por milhão

RMN de ¹H – Ressonância magnética nuclear do protão

RMN de ¹³C – Ressonância magnética nuclear do carbono 13

ROS – Espécies reativas de oxigénio

s – Singuleto

sl – Singuleto largo

SNC – Sistema nervoso central

SNr – *Substantia nigra pars reticulada*

t - Tripleto

TFA – Ácido trifluoroacético

THC – Tetra-hidrocanabinol

THF – Tetra-hidrofurano

tl – Tripleto largo

TLC – Cromatografia de camada fina

TMEDA – 1,2-Bis(dimetilamino)etano

TMS – Tetrametilsilano

UV – Ultravioleta

Índice de Figuras

Figura 1 – Estrutura do Δ^9 -tetra-hidrocanabinol 1.	4
Figura 2 – Representações das estruturas dos recetores canabinoides 1 e 2. Adaptado Hurst et al, 2013. ²⁰	5
Figura 3 – Esquema geral da atividade dos recetores canabinoide. Retirada Di Marzo et al, 2004. ²	5
Figura 4 – Vias de sinalização: a) adinilato ciclase; b) MAPK. Retirada Cabral et al, 2009. ¹⁵	6
Figura 5 – Exemplos de canabinoides naturais.	9
Figura 6 – Exemplos de endocannabinoides.	10
Figura 7 – Estruturas da cumarina e derivados que apresentam atividade biológica.	14
Figura 8 – Estrutura básica da molécula de indol e estruturas dos compostos que levaram à primeira síntese do indol.	18
Figura 9 – Exemplos de compostos com o núcleo do indol que apresentam importante atividade biológica.	19
Figura 10 – Derivados de indóis a serem usados neste trabalho.	28
Figura 11 – Ampliação do espectro de RMN de ¹ H da 3-fenil-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona 130.	34
Figura 12 – Identificação dos carbonos não ligados a prótons através das correlações de HMBC.	34
Figura 13 – Ampliação do espectro de RMN de ¹ H de 7-hidroxi-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona 114.	37
Figura 14 – Espectro de RMN de ¹ H de 7-hidroxi-6-(7-hidroxi-4-metil-2-oxocroman-4-il)-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona 133.	38
Figura 15 – Correlações mais significativas detetadas nos espectros de HMBC; A) detetadas no espectro da 7-hidroxi-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona 114; B) detetadas no espectro da 7-hidroxi-6-(7-hidroxi-4-metil-2-oxocroman-4-il)-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona 133.	39
Figura 16 – Ampliações das zonas aromática e alifática do espectro de RMN de ¹ H da (<i>E</i>)-3-fenil-1-(2,4-di-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona 135.	41
Figura 17 – Ampliações das zonas aromática e alifática do espectro de RMN de ¹ H do cinamato de 3-hidroxifenilo 134a.	42

Figura 18 – Ampliações das zonas aromática e alifática do espectro de RMN de ^1H da 2-fenil-7-hidroxi-4 <i>H</i> -croman-4-ona 136.	42
Figura 19 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 5-hidroxi-4-(4-metoxifenil)-2 <i>H</i> -croman-2-ona 137b.	43
Figura 20 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 7-hidroxi-4-(4-metoxifenil)-2 <i>H</i> -croman-2-ona 132b.	44
Figura 21 – Correlações mais significativas detetadas nos espectros de HMBC; A) detetadas no espectro das di-hidrocurmarinas 137; B) detetadas no espectro das di-hidrocurmarinas 132.	44
Figura 22 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H do 2,6-dibromo-3-metil-indol 138.	46
Figura 23 – Espectro de RMN de ^1H do 2- ou 3-iodo-indol.	47
Figura 24 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H de 4-[di(1 <i>H</i> -indol-3-il)metil]fenol 143.	50
Figura 25 – Representação das correlações mais importantes detetadas no espectro de HMBC do 4-[di(1 <i>H</i> -indol-3-il)metil]fenol 143.	50
Figura 26 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H do p-hidroxicinamato de etilo 144.	51
Figura 27 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da díade 150c, (Cro = unidade de cromo; Ind = unidade de indol)	54
Figura 28 – Correlações mais relevantes do espectro de HMBC das díades indol-cromenos.	54
Figura 29 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da díade 150b, (Cro = unidade de cromo; Ind = unidade de indol).	55
Figura 30 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da díade 150a, (Cro = unidade de cromo; Ind = unidade de indol).	56
Figura 31 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 1-[4-cloro-2-(4-nitrofenil)-2 <i>H</i> -cromen-3-il]- <i>N</i> -(3,4-dimetoxifenil)metanimina 152c.	58
Figura 32 – Correlações detetados no espectro bidimensional HMBC da díade 152c para os prótons H-1 e H-2'.	58
Figura 33 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 10,11-dimetoxi-6-(4-nitrofenil)-6 <i>H</i> -cromeno[3,4- <i>c</i>]quinolina 153c.	59

Figura 34 – Correlações detetados no espectro bidimensional de HMBC da 10,11-dimetoxi-6-(4-nitrofenil)-6 <i>H</i> -cromeno-[3,4- <i>c</i>]quinolina 153c.....	60
Figura 35 – Ampliações do espectro de RMN de ¹ H da 10,11-dimetoxi-6-(4-metoxifenil)-6 <i>H</i> -cromeno[3,4- <i>c</i>]quinolina 153b.....	61
Figura 36 – Ampliações do espectro de RMN de ¹ H da 1-(4-cloro-2-fenil-2 <i>H</i> -cromen-3-il)- <i>N</i> -(3,4-dimetoxifenil)metanimina 152a.....	61
Figura 37 – Ampliações do espectro de RMN de ¹ H da 6-fenil-10,11-dimetoxi-6 <i>H</i> -cromeno[3,4- <i>c</i>]quinolina 153a.....	62

Índice de Esquemas

Esquema 1 – Síntese da <i>d</i> - e <i>l</i> -9-amil-7-hidroxi-2,2,6-trimetilbenzo[<i>c</i>]cromeno....	11
Esquema 2 – Síntese de HU-210.	12
Esquema 3 – Síntese de JWH-018.....	12
Esquema 4 – Síntese de AM-1714. ⁷	13
Esquema 5 – Síntese de cumarinas através do método de Pechmann.	15
Esquema 6 – Vias possíveis de síntese de cumarinas. Adaptado de Thakur et al., 2015. ⁸¹	16
Esquema 7 – Várias rotas sintéticas de cumarinas a partir do salicilaldeído.	17
Esquema 8 – Síntese de cumarinas a partir da 2'-hidroxiacetofenona.	17
Esquema 9 – Vários tipos de síntese de indóis. Adaptado de Taber e Tirunahari, 2011. ¹⁰¹	20
Esquema 10 – Exemplo da síntese de Fischer.....	20
Esquema 11 – Exemplo da síntese de Mori.....	20
Esquema 12 – Síntese do anel de indol via acoplamento Mizoroki-Heck/aminação C-H, numa estratégia <i>one-pot</i> usando ultrassons.....	21
Esquema 13 – Síntese do derivado de indol 95.	21
Esquema 14 – Síntese de uma díade indolcumarina 98.....	22
Esquema 15 – Síntese de uma díade indolcumarina 101.....	22
Esquema 16 – Síntese de uma díade indolcumarina 105.....	23
Esquema 17 – Síntese de uma díade indolcumarina 107.....	23
Esquema 18 – Síntese de uma díade indolcumarina 109.....	23
Esquema 19 – Esquema de síntese de cumarinas neste trabalho.....	27
Esquema 20 – Síntese de derivados da 7-hidroxi-4-metilcumarina 114.	28
Esquema 21-Síntese de díades através de reação de Wittig.	29
Esquema 22-Síntese de díades através de condensação aldólica.	29
Esquema 23-Síntese de moléculas híbridas através da reação de Petasis.	30
Esquema 24 – Síntese da 3-fenil-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona 130.....	33
Esquema 25 – Estruturas de ressonância do 3-fenil-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona 130.	34
Esquema 26 – Via sintética idealizada para as cumarinas 114 e 132a.	35
Esquema 27 – Síntese da 7-hidroxi-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona 114.	36

Esquema 28 – Reação do resorcinol 113 com derivados de ácido cinâmico 131...	40
Esquema 29 – Síntese do 2,6-dibromo-3-metil-indol 138.	45
Esquema 30 – Síntese do 2- ou 3-iodo-indol.	46
Esquema 31 – Síntese da díade indolcumarina 140.	47
Esquema 32 – Proposta de síntese da díade indolcumarina 140.	48
Esquema 33 – Proposta de síntese da 6-formil-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona 142.....	48
Esquema 34 – Síntese do 4-[di(1 <i>H</i> -indol-3-il)metil]fenol 143.	49
Esquema 35 – Síntese do <i>p</i> -hidroxicinamato de etilo 144.	51
Esquema 36 – Síntese de 2-aryl-4-cloro-2 <i>H</i> -cromeno-3-carbaldeídos 149a-c.	52
Esquema 37 – Síntese de díades cromeno-indol 150.	53
Esquema 38 – Síntese da 10,11-dimetoxi-6-(4-nitrofenil)-6 <i>H</i> -cromeno[3,4- c]quinolina 153c.....	57

Capítulo 1. Introdução

1. Sistema endocanabinoide

O sistema endógeno canabinoide, ou endocanabinoide, consiste em recetores canabinoides (incluindo os recetores canabinoide 1 e canabinoide 2), ligandos endógenos e várias enzimas responsáveis pela síntese, transporte e hidrólise de ligandos.^{1,2} A pesquisa feita nesta área mostrou o envolvimento do sistema endocanabinoide em vários processos fisiológicos importantes incluindo a regulação da libertação de neurotransmissores,^{3,4} dor e a falta de sensibilidade à dor, homeostase energética, e controlo da função das células imunitárias.⁵ Também foi estudado o envolvimento deste sistema endógeno em várias doenças do Sistema Nervoso Central (SNC), tais como a doença de Alzheimer, Parkinson, Huntington, epilepsia, esclerose múltipla, entre outras. O sistema endocanabinoide está também envolvido em doenças cardiovasculares e respiratórias, inflamação, e cancro, para citar alguns exemplos.⁶

1.1. Recetores canabinoides

Os recetores canabinoides 1 e 2 (CB1 e CB2) são recetores associados às proteínas G (GPCR)^{5,7,8}. O recetor CB1 foi clonado pela primeira vez em 1990 por Matsuda *et al.*,⁹ mostrando uma boa afinidade com canabinoides clássicos.⁹ Encontra-se preferencialmente no SNC, mais especificamente no cérebro e também em tecidos periféricos, encontrando-se a maior quantidade no hipocampo, cerebelo e no corpo estriado. O comprometimento cognitivo (e psicoativo) induzido pelo Δ^9 -tetra-hidrocanabinol **1** (Δ^9 -THC) (Figura 1) é mediado pelo CB1 no isocórtex e no allocórtex (isto é, no hipocampo).^{1,10} Com o passar do tempo este recetor, que era conhecido devido à sua atividade na área da dependência de droga, passou a ser estudado na área das neurociências.¹¹ O recetor canabinoide 2 (CB2) foi clonado pela primeira vez em 1993 por Munro *et al.*¹² e encontra-se maioritariamente nos tecidos imunitários, como baço, monócitos, e linfócitos B e T, pode também ser encontrado no SNC.^{1,13} Os recetores CB1 e CB2 têm a estrutura típica das GPCR, sete domínios transmembranares conetados por seis “*loops*”, três domínios extracelulares e três domínios intracelulares, um grupo terminal-N extracelular e um grupo terminal-C intracelular (Figura 2).^{14,15} O CB1 é constituído por 473 aminoácidos,^{14,15} enquanto o CB2 contém 360 aminoácidos.¹⁵ O grupo terminal-C tem um papel importante no CB2, pois regula a dessensibilização e internalização em vesículas de endocitose.¹⁶

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

A função do CB1 é inibir a fosforilação dos canais de potássio do tipo A através da proteína acoplada G inibidora ($G_{i/o}$), a qual resulta numa corrente contínua de potássio que pode prevenir a neurotransmissão. Os canais de cálcio do tipo N são também inibidos pelo CB1 através da interação direta com a proteína G inibidora ($G_{i/o}$). O CB2 atua através da iniciação das vias de sinalização da fosfolipase C e do 1,4,5-trisfosfato de inositol (IP_3), o que resulta num aumento dos níveis de cálcio intracelular.¹⁷

Os recetores CB1 e CB2 estão envolvidos na ativação de várias vias de sinalização, incluindo a adenilato ciclase, proteína cinase ativada por mitogénio (MAPK), e modulação dos níveis de cálcio e potássio intracelulares (Figura 3).^{15,17} Após a interação do ligando com o recetor canabinoide, a GPCR faz com que a forma inativa do nucleótido de guanina GDP passe para a sua forma ativa GTP e a proteína G heterotrimérica dissocia-se na subunidade α e subunidade $\beta\gamma$. A subunidade $\beta\gamma$ faz parte de vias de sinalização diferentes das da subunidade α , tal como a regulação de isoformas da fosfolipase C (PLC) e ativação da rede de sinais da MAPK.¹⁸ A subunidade α liga-se à adenilato ciclase inibindo a sua atividade, prevenindo assim a síntese do mensageiro monofosfato cíclico de adenosina (cAMP) e fazendo com que os sinais dependentes desse mensageiro não ocorram (Figura 4).^{15,17,19} A diminuição de cAMP está ligada a um mecanismo no qual o CB1 previne a libertação de neurotransmissores e mantém a integridade homeostática do SNC. A diminuição de cAMP pode também representar o modo como o sinal do CB2, na resposta aos endocanabinoides, mantém a homeostase imunológica, ou na resposta a canabinoides exógenos, como Δ^9 -THC **1**, em que sobrepõe um efeito imunossupressor.¹⁷

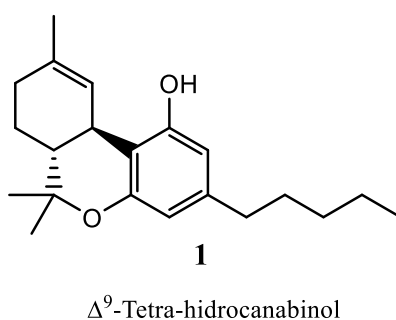


Figura 1 – Estrutura do Δ^9 -tetra-hidrocanabinol **1**.

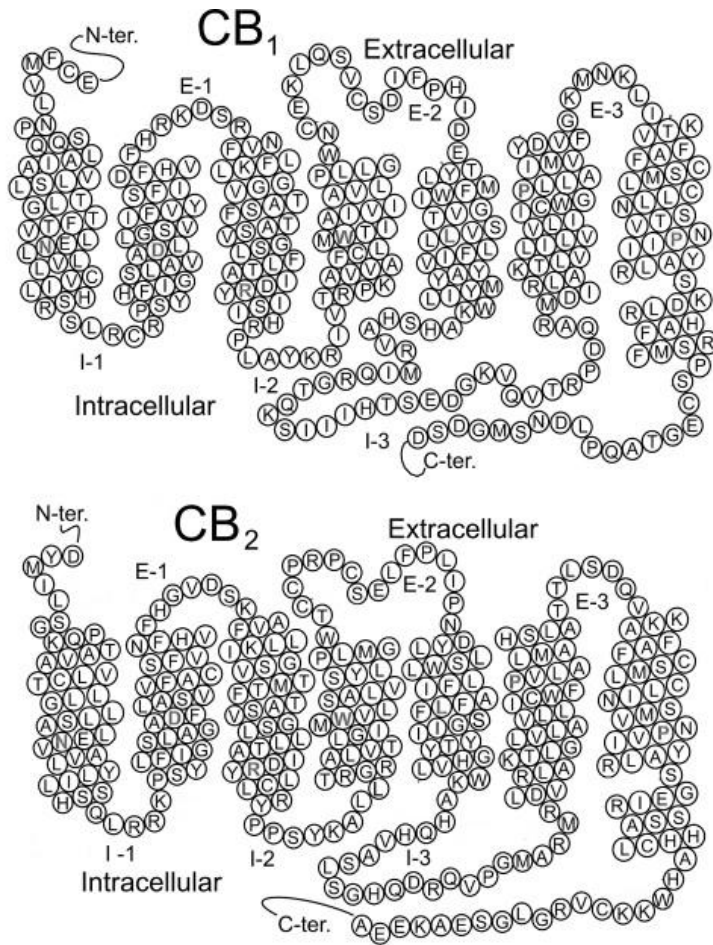


Figura 2 – Representações das estruturas dos receptores canabinoides 1 e 2. Adaptado Hurst *et al*, 2013.²⁰

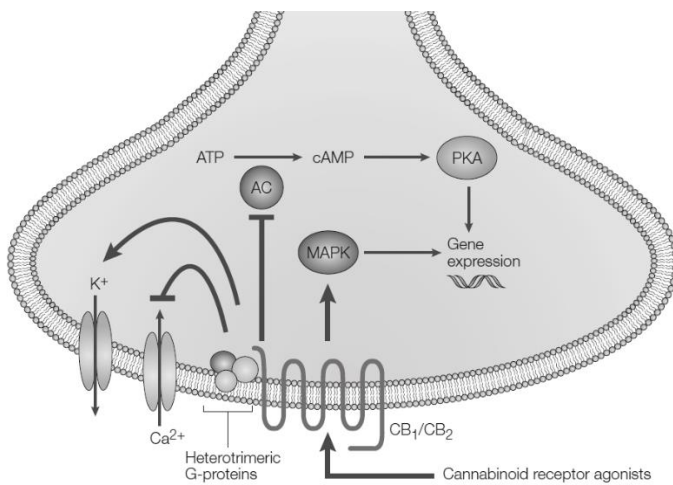
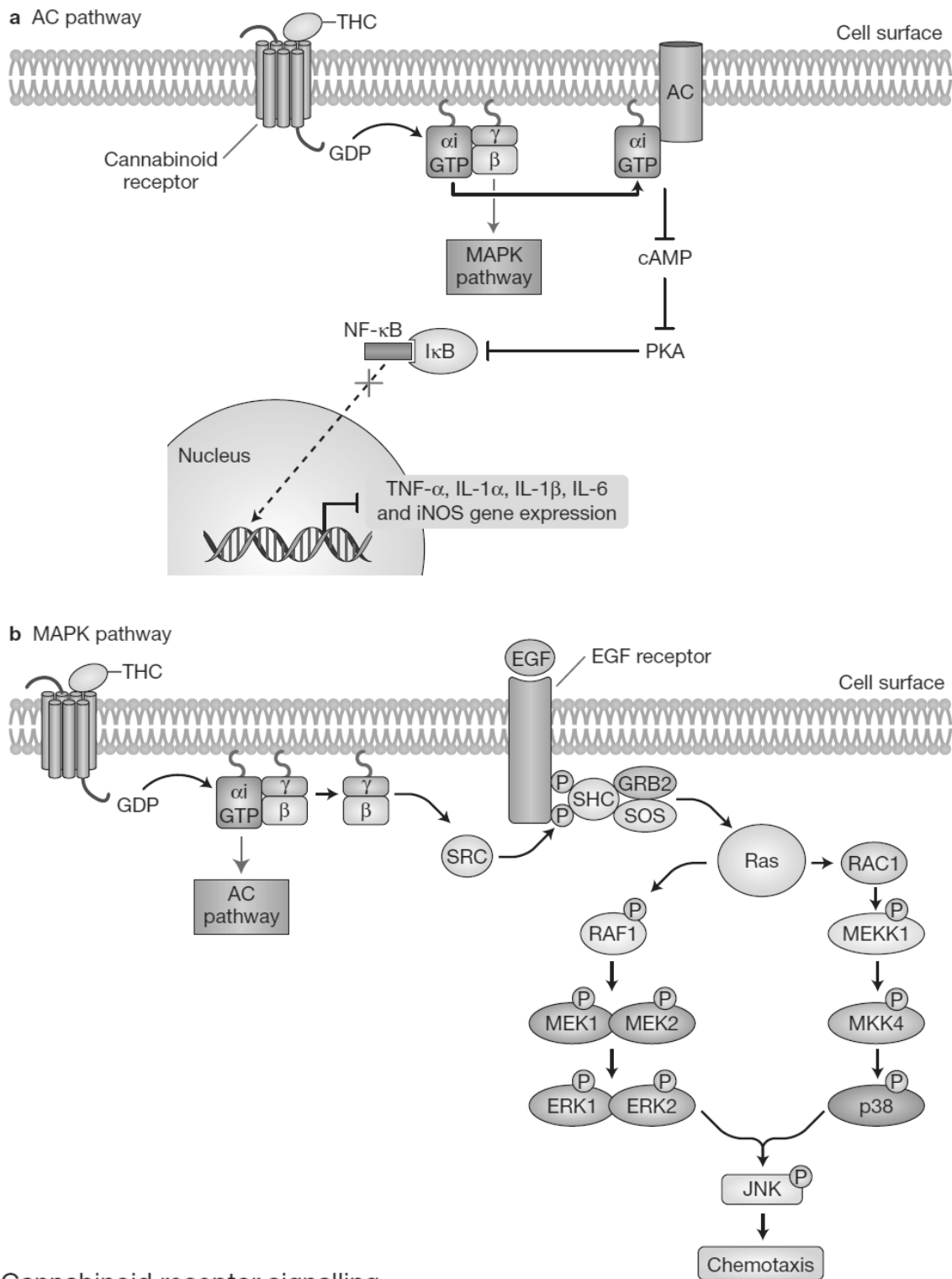


Figura 3 – Esquema geral da atividade dos receptores canabinoide. Retirada Di Marzo *et al*, 2004.²



Cannabinoid receptor signalling

Figura 4 – Vias de sinalização: a) adinilato ciclase; b) MAPK. Retirada Cabral *et al*, 2009.¹⁵

O interesse nos recetores CB1 e CB2 deve-se ao facto de ambos serem “usados” no tratamento de náuseas e vómitos durante o tratamento de quimioterapia. Tem-se também

vindo a constatar que os recetores CB1 e CB2 têm particular importância em doenças do SNC, das quais destacamos as seguintes:^{5,6,10}

Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum entre adultos,²¹ provocada pela perda severa de neurónios dopaminérgicos na SNr (“*substantia nigra pars reticulada*”), o que leva a uma redução dos níveis de dopamina e a uma perda dos neurotransmissores dopaminérgicos no corpo estriado, que interfere com a função motora e a coordenação.^{22,23} Têm sido ainda implicados na patogénese da DP a excitotoxicidade, o *stress* oxidativo, a inflamação, a disfunção mitocondrial e os fatores ambientais e hereditários, mas a causa exata da perda dos neurónios dopaminérgicos ainda é elusiva. A DP é caracterizada pelo tremor de repouso, a rigidez muscular e a lentidão de movimentos ou imobilidade postural, e as terapias envolvem a reposição oral de dopamina através do seu precursor levodopa, agentes anticolinérgicos e inibidores da monoamina B oxidase.²⁴

A hiperatividade da transmissão de endocanabinoides está refletida num aumento dos níveis de endocanabinoides e dos recetores CB1 nos tecidos, bem como a diminuição da taxa de endocanabinoides e degradação por FAAH. Tem havido um grande consenso de que o sistema endocanabinoide torna-se hiperativo nos núcleos de base (“*basal ganglia*”) na DP, embora alguns estudos reportam que não há alteração ou há redução da expressão do recetor CB1.²⁵ Se o sinal aumentado do recetor CB1 do corpo estriado é visto como uma tentativa de normalizar a função do corpo estriado, então a amplificação farmacológica do sinal pode aliviar sintomas de DP. Por outro lado, o sinal aumentado do CB1, se for focado noutra parte do circuito, pode levar a um aumento da transmissão de GABA e conseqüente inibição de GPe, o que leva à contribuição dos sintomas de DP.⁶

Doença de Huntington

A doença de Huntington (DH) é uma doença hereditária e neuropsíquica progressiva, causada pela expansão instável da repetição do trinucleótido de poliglutamina no domínio do grupo N-terminal da proteína huntingtina, o que leva à degeneração dos neurónios da *basal ganglia* e das regiões corticais.⁶

Foi demonstrado que a redução do nível de CB1 e da atividade do sinal na *basal ganglia* é uma das alterações mais precoces na DH, precedendo a degeneração dos neurónios e dos sintomas clínicos.⁶ Além disso, na DH há uma diminuição dos níveis de anandamida

5 e 2-araquidonoilglicerol **6** (2-AG) no corpo estriado e um aumento de anandamida **5** no mesencéfalo ventral, onde a *substantia nigra* está localizada.²⁶ O sinal endocanabinoide no *basal ganglia* é hipofuncional na DH, o que pode contribuir para a hiperkinesia que está associada à doença. Estes estudos sugerem que o sistema endocanabinoide está envolvido na patogénese e/ou progressão da DH, então canabinoides agonistas podem ter um benefício terapêutico significativo na DH devido aos seus efeitos neuroprotetivos.²⁷ Esta constatação aumenta a intrigante possibilidade de que estas células podem ser uma fonte de substituição das células perdidas devido à doença neurodegenerativa.²⁸

Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa progressiva caracterizada pela formação de plaquetas de péptidos β -amilóides (A β), emaranhados neurofibrilares, ricos em proteínas τ hiperfosforiladas, e por uma resposta neuro-inflamatória que envolve astrócitos e microglia, levando a um declínio progressivo global cognitivo.²⁹ Alguns estudos dizem que o papel do sistema endocanabinoide nos processos neurodegenerativos está associado com a inflamação, incluindo a inflamação da DA.^{30,31}

Em 2002, Milton³² usou uma cultura celular para servir de modelo *in vitro* da DA, e demonstraram que a anandamida **5** previne a neuro-toxicidade provocada pelas A β através da ativação da MAPK e é mediada pelo recetor CB1. Há um aumento significativo na expressão do recetor CB2 e FAAH na microglia associado às plaquetas neuríticas no cérebro de pacientes com DA.³³ As placas senis em pacientes com DA expressam ambos os recetores CB1 e CB2, juntamente com marcadores de ativação microglial, e neurónios CB1-positivo, os quais estão presentes em números elevados nos casos de controlo, mas muito reduzidas em áreas de ativação microglial.³⁴ Os níveis do recetor CB1 e da proteína acoplada G também diminuem significativamente em cérebros com DA, juntamente com o aumento da nitração dos recetores CB1 e CB2.³⁴ Uma hipótese proposta por Pacher *et al.*,⁶ em 2009, considerava que se a deposição de A β induzir a libertação de endocanabinoides dos neurónios e da glia, que ativa os caminhos neuroprotetivos mediados pelo CB1 e regula a libertação de mediadores inflamatórios na microglia através dos recetores CB2, então os efeitos benéficos de agonistas CB1/CB2 e antagonistas FAAH poderiam ser explorados.

1.2. Canabinoides

1.2.1. Canabinoides naturais

Há cerca de 113 “canabinoides” que já foram encontrados na planta *Cannabis sativa* L.#, ^{35,36} um deles o Δ^9 -tetra-hidrocanabinol **1** (Δ^9 -THC). Este grupo de canabinoides são, normalmente, do tipo benzo[*c*]cromenos ABC-tricíclicos, mas não todos e temos como exemplo o composto **3**. Os canabinoides clássicos mais investigados são Δ^9 -THC **1**,³⁷ Δ^8 -tetra-hidrocanabinol **2** (Δ^8 -THC), canabidiol **3** e o canabinol **4** (Figura 5), os quais apresentam um comportamento agonista tanto *in vitro* como *in vivo*.³⁸ Alguns destes já são usados na medicina, tal como Δ^9 -THC **1** (Marinol[®]) e o Δ^9 -THC **1** em conjunto com o canabidiol **3** (Savitex[®]), que também é um composto que se obtém da planta de canábis.³⁹

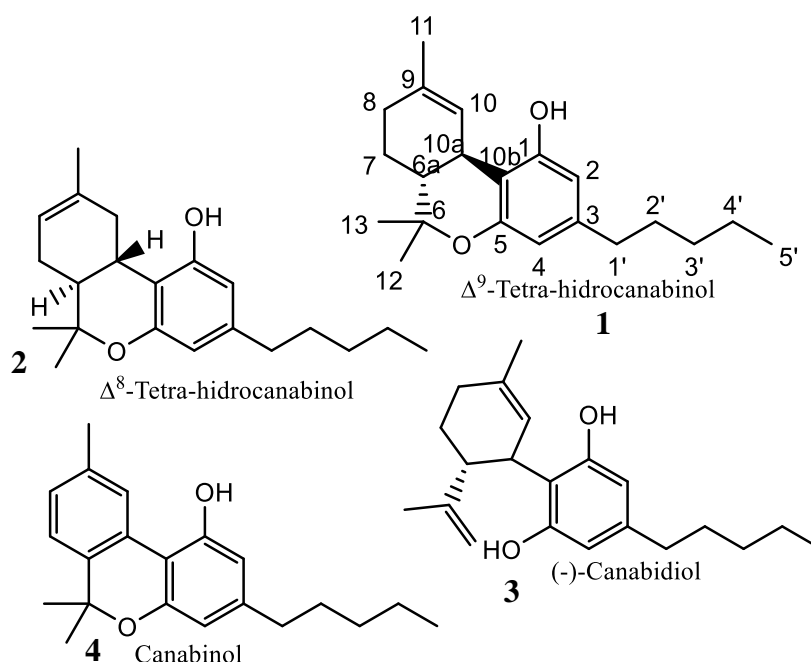


Figura 5 – Exemplos de canabinoides naturais.

1.2.2. Endocanabinoides

Aquando da descoberta dos recetores CB1 e CB2, começou-se a pensar se haveria ligandos, para além dos canabinoides naturais da planta *Cannabis sativa*, que fossem sintetizados pelo próprio organismo e interatuassem com os recetores.

O primeiro endocanabinoide, descoberto por Devane *et al.*⁴⁰ em 1992 e o mais bem estudado, foi o *N*-araquidonoiletanolamida **5** (anandamida), liga-se aos recetores CB1 e CB2⁴¹ e é um composto agonista para ambos os recetores.⁴² É conhecido pela sua habilidade de ativar proteínas G,⁴³ tendo uma maior afinidade para com o recetor CB1 do que para o

#Nota: O nome da espécie da planta referida foi conferido no sítio “The Plant List”
 – <http://www.theplantlist.org>
<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Cannabis+sativa> – 28/12/2015

CB2.⁴⁴ A anandamida **5** é sintetizada pelos neurónios pós-sinápticos e atua como molécula mensageira retrógrada para modular a libertação de neurotransmissores a partir de terminais pré-sinápticos que expressam o recetor CB1.⁴⁵ Outros endocanabinoides foram também descobertos, tais como: i) 2-araquidonoilglicerol **6** (2-AG),^{46,47} que se liga a ambos os recetores, é um composto agonista potente para o recetor CB1 e agonista para CB2;^{42,48} ii) éter 2-araquidonoilglicerilo **7** (“*noladin ether*”),⁴⁹ que apresenta um comportamento agonista para ambos os recetores;⁵⁰ iii) *O*-araquidonoiletanolamina **8** (“*virodhamine*”), que atua como antagonista para o recetor CB1 e como agonista para CB2;⁵¹ iv) o *N*-araquidonoildopamina **9** (NADA),⁵² que é um agonista seletivo para o recetor CB1 (Figura 6).⁵³

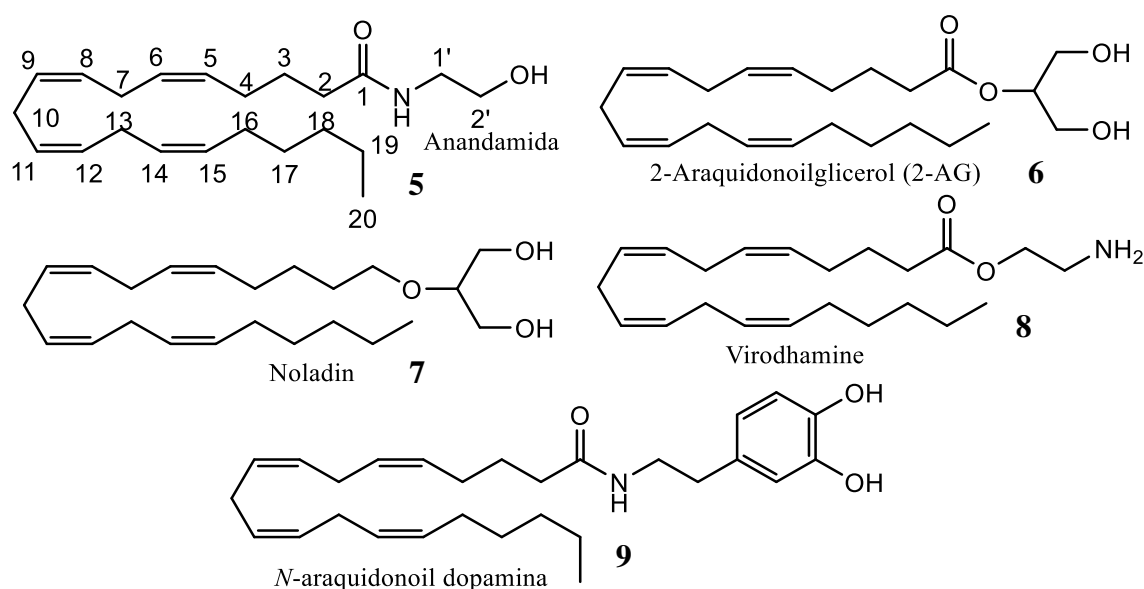
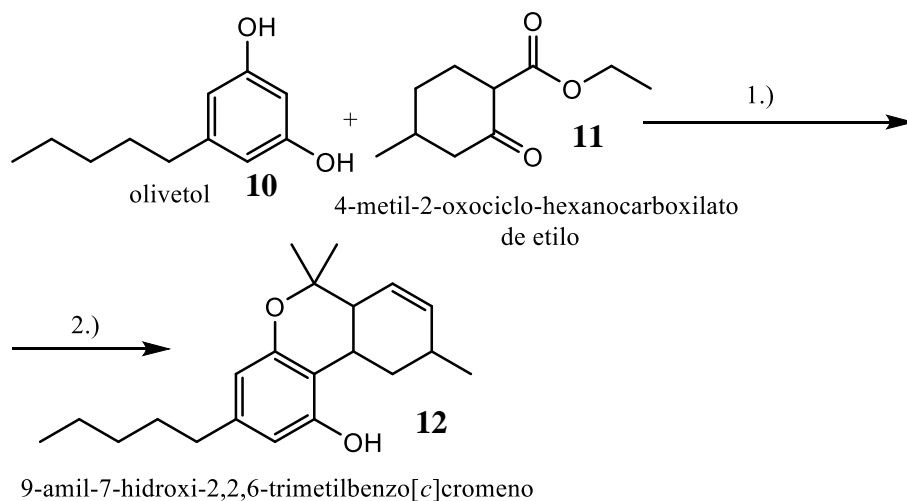


Figura 6 – Exemplos de endocanabinoides.

1.2.3. Canabinoides sintéticos

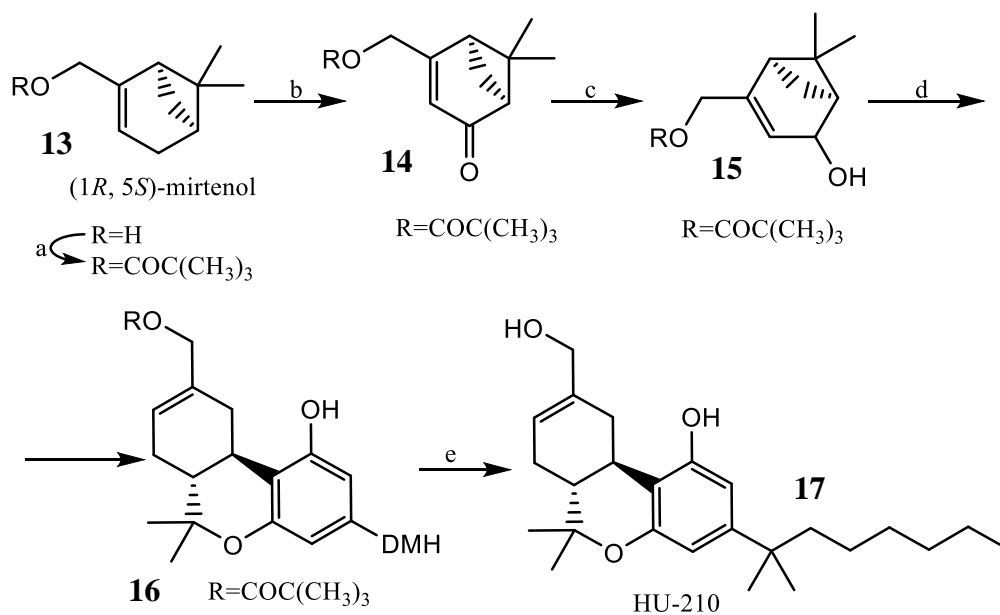
Os canabinoides sintéticos são compostos usados para ter os mesmos efeitos ou efeitos opostos aos canabinoides naturais. Os primeiros canabinoides sintéticos, sintetizados por Roger Adams *et al.*,⁵⁴ em 1942, foram a *d*- e *l*-9-amil-7-hidroxi-2,2,5-trimetilbenzo[*c*]cromeno **12**. Estes foram obtidos a partir da condensação do 4-metil-2-oxociclohexanocarboxilato de etilo **11** com olivetol **10**, seguido de tratamento da respetiva pirona com iodeto de metilmagnésio (Esquema 1).⁵⁴



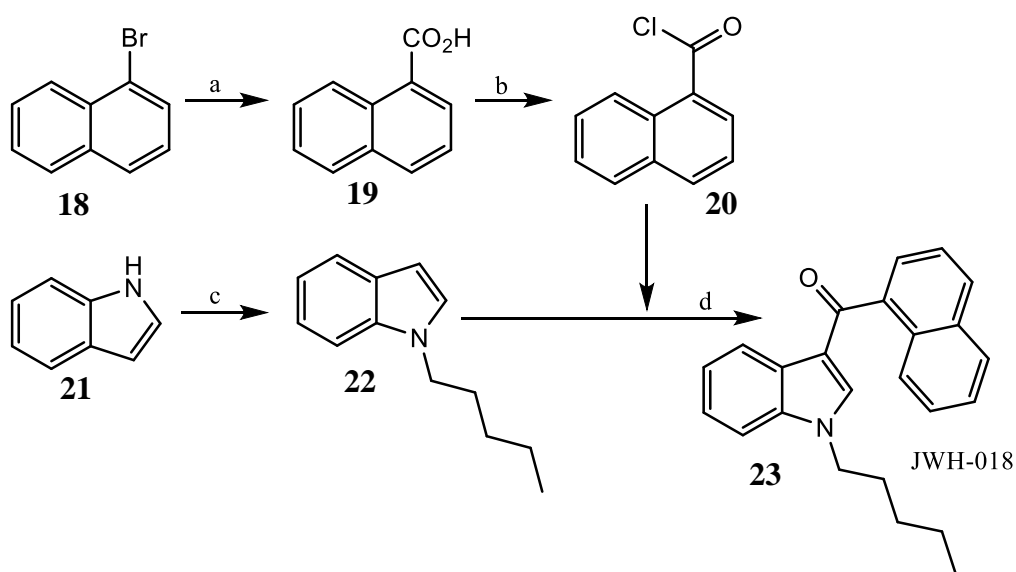
Esquema 1 – Síntese da *d*- e *l*-9-amil-7-hidroxi-2,2,6-trimetilbenzo[*c*]cromeno. Reagentes e condições: 1.) POCl₃, benzeno seco, refluxo, 3 h; 2.) MeMgI, éter etílico seco/benzeno seco, refluxo, 20 h.

Além desse, outros canabinoides foram sintetizados como HU-210 **17**, JWH-018 **23**, AM-1714 **27**. O HU-210 **17** foi sintetizado a partir da condensação, catalisada por ácido, do (1*R*,5*S*)-mirtenol **13** e do 1,1-dimetil-heptilresorcinol (Esquema 2).⁵⁵ O JWH-018 **23** foi conseguido a partir de uma estratégia usada na síntese de naftoilindóis, onde é feita uma *N*-alquilação, depois uma acilação de Friedel-Crafts regioselectiva em C-3 (Esquema 3).⁵⁶ O passo mais importante na síntese do AM-1714 **27** é o acoplamento de Suzuki de um ácido arilborônico com um brometo de arilo (Esquema 4).⁵⁷

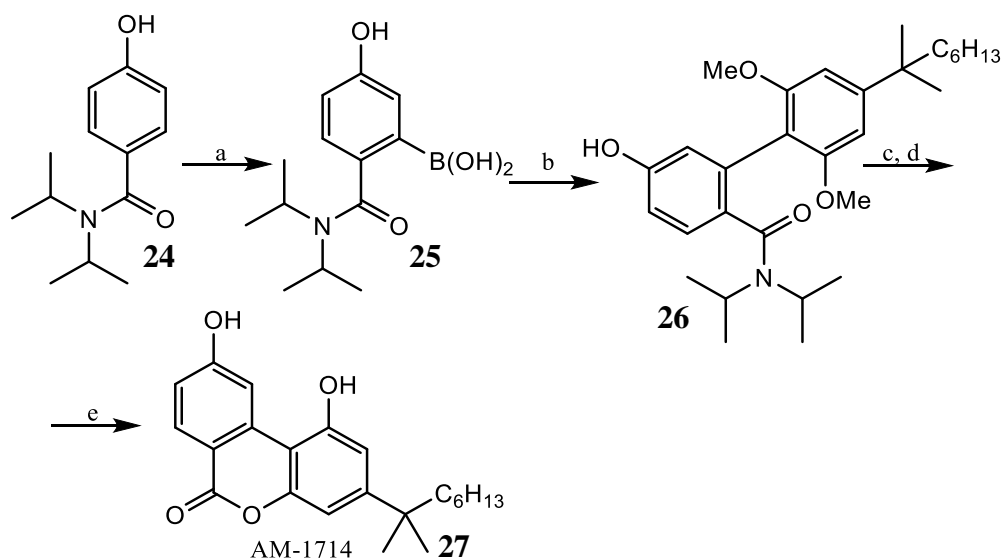
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO



Esquema 2 – Síntese de HU-210. Reagentes e condições: (a) esterificação com $(\text{CH}_3)_3\text{CCOCl}$; (b) Na_2CrO_4 anidro, 35°C , 72 h, em ácido acético anidro; (c) $\text{LiAlH}[\text{OC}(\text{CH}_3)_3]_3$, em THF anidro; (d) 5-(1,1-dimetil-heptil)resorcinol, $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, -20°C , em CH_2Cl_2 anidro; (e) LiAlH_4 . (DMH= 1,1-dimetil-heptilo).⁵⁵



Esquema 3 – Síntese de JWH-018. Reagentes e condições: (a) Mg , CO_2 ; (b) SOCl_2 ; (c) $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$, KH/DMSO ; (d) éter etílico, refluxo.⁵⁶



Esquema 4 – Síntese de AM-1714. Reagentes e condições: (a) i. *s*-BuLi, TMEDA, THF, -78°C; ii. B(OCH₃)₃; iii. H₃O⁺; (b) 2-bromo-5-(1',1'-dimetil-heptil)-1,3-dimetoxibenzeno, Pd(PPh₃)₄, Ba(OH)₂, DME, H₂O; (c) BBr₃ ou 9-iodo-9-BBN, CH₂Cl₂; (d) AcOH, refluxo; (e) BBr₃, CH₂Cl₂.⁵⁷

2. Cumarinas

2.1. Ocorrência natural e atividade biológica

A cumarina **28**, isolada pela primeira vez por Vogel em 1820 da planta *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd^{58,59}. Os derivados de cumarina são compostos, naturais ou sintéticos, pertencentes a uma grande família de compostos heterocíclicos tendo como unidade principal o núcleo de benzo- α -pirona (Figura 7).⁶⁰ As cumarinas ocorrem naturalmente como metabolitos secundários de várias plantas e apresentam grande diversidade estrutural. As cumarinas podem ter substituições simples, mas também podem ser polissubstituídas, policíclicas ou mesmo resultantes da fusão de dois núcleos. Como exemplo, apresenta-se a cumarina natural menos substituída, a herniarine **29**, e a cumarina mais substituída, a Surangin B **31** (Figura 7).⁵⁹ As cumarinas sintéticas apresentam também uma grande variedade estrutural (Figura 7), a qual confere às cumarinas amplas aplicações farmacológicas.⁶¹ Por exemplo, a varfarina **32**, inicialmente usada como pesticida e mais tarde como anticoagulante,⁶² o cloricromeno **33**, que é um dos compostos mais estudados devido à sua atividade anti-inflamatória (Figura 7).⁶³ Outro derivado com aplicação clínica é a himecromona **34**, que é usada como agente colerético e antiespasmódico. Por outro lado temos a escopoletina **35**, isolada de várias espécies de plantas e que tem propriedade antioxidante, hepatoprotetora, anti-inflamatória e antifúngica⁶⁴⁻⁶⁶ e o carbocromeno **38**, que tem um efeito benéfico em doenças coronárias.⁶¹ Além da varfarina **32**, outros derivados de

4-hidroxicumarina, como acenocomarol **37**, femprocumona **30**, difenacume **39**, e brodifacume **36** são agentes anticoagulantes que atuam como antagonistas da vitamina K (Figura 7).⁶¹

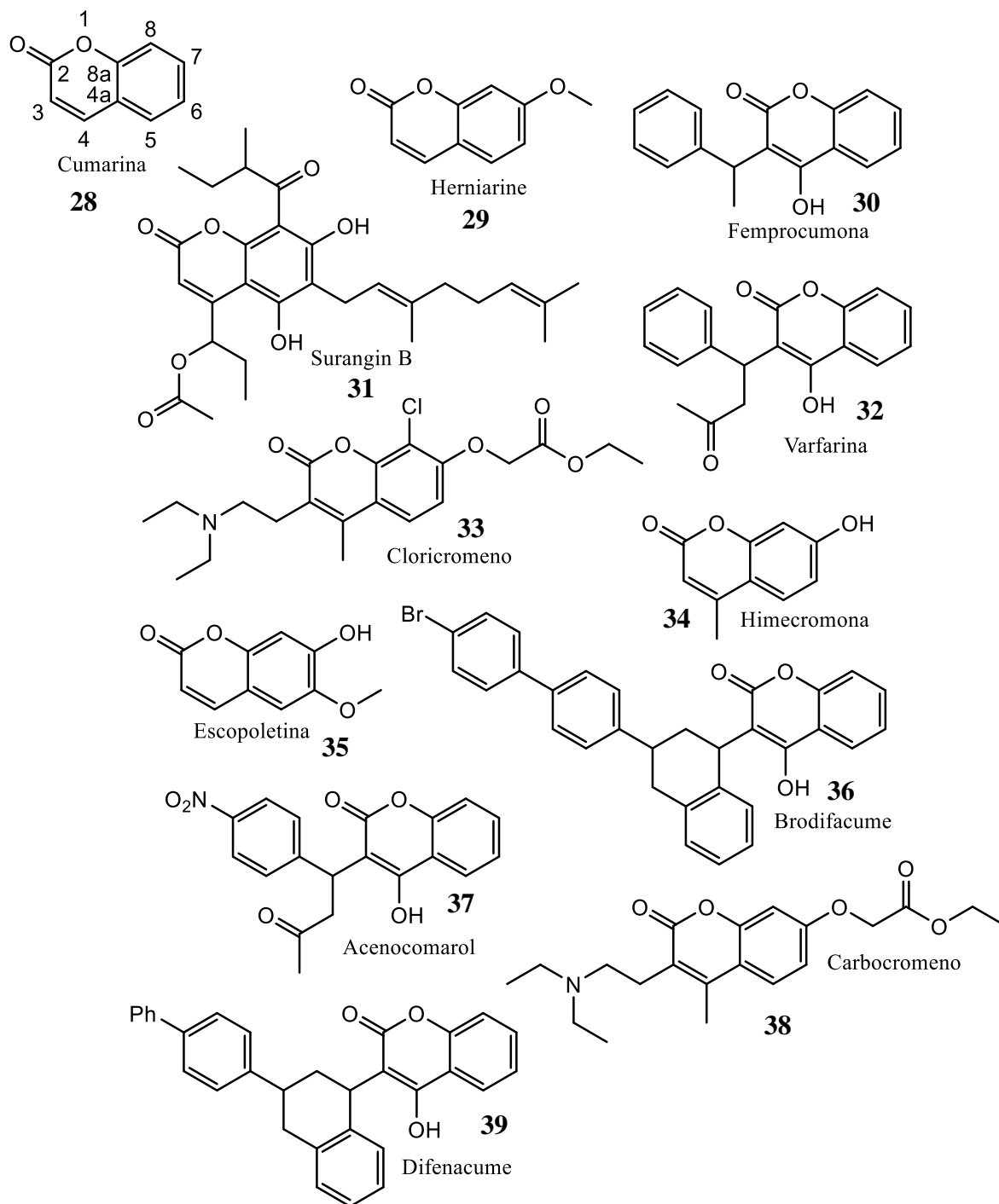
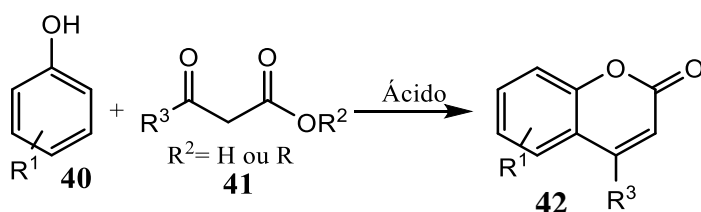


Figura 7 – Estruturas da cumarina e derivados que apresentam atividade biológica.

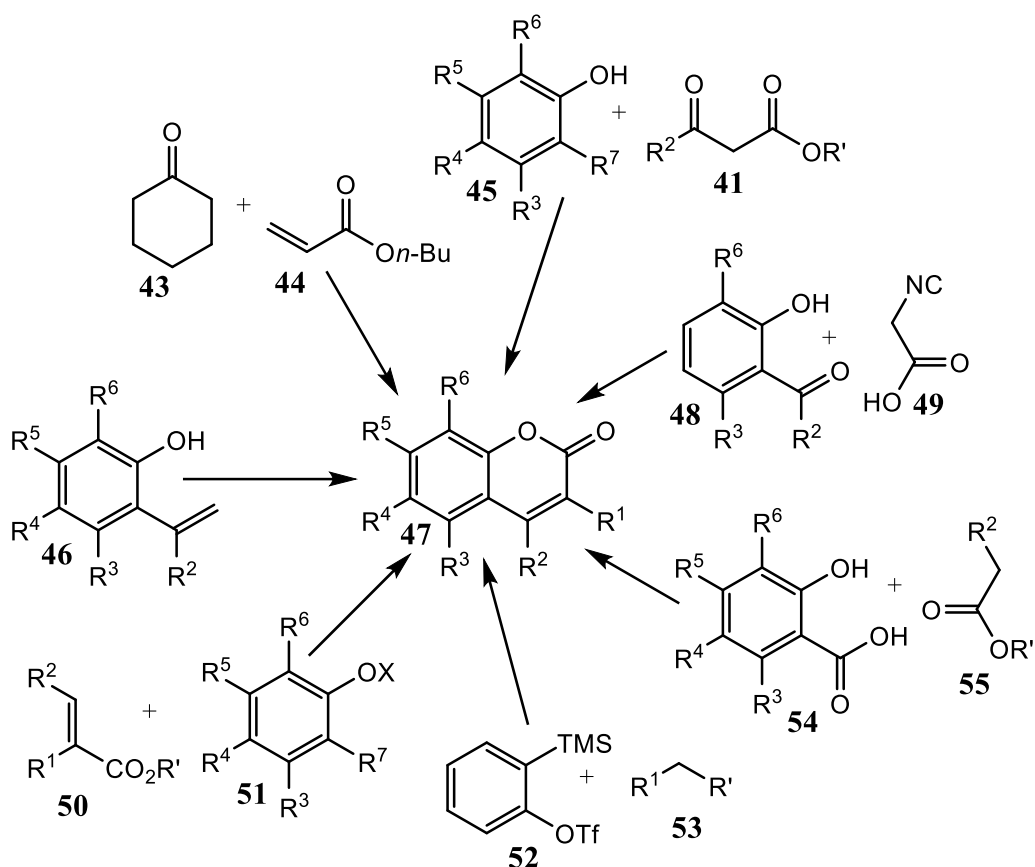
Os compostos anteriormente referidos são exemplos elucidativos da importância das cumarinas, pois a sua utilização percorre as indústrias alimentar, cosmética, farmacêutica e agroquímica. Para além disso têm sido reportadas na literatura diversas atividades biológicas, como a atividade anti-inflamatória,⁶⁷ antioxidante,⁶⁸ antinociceptivo,⁶⁹ hepatoprotetor,⁷⁰ antitrombótico,⁷¹ antiviral,⁷² antimicrobiana,⁷³ antituberculose,⁷⁴ anticarcinogénico,⁷⁵ antidepressivo,⁷⁶ anti-hiperlipidémico⁷⁷ e anticolinesterase.⁷⁸ As cumarinas também podem afetar a formação e a eliminação de substâncias reativas de oxigénio (ROS), tal como influenciar os processos que envolvem lesões mediadas por radicais-livres.⁷⁹ Esta larga aplicação das cumarinas nas várias atividades biológicas, faz com estas sejam estudadas mais profundamente e haja um grande interesse na sua interação com os recetores canabinoides.

2.2. Métodos de síntese

Após a descoberta da ocorrência natural das cumarinas iniciaram-se os estudos de desenvolvimentos de métodos eficientes para a sua obtenção laboratorial. O método mais usado para a síntese de cumarinas é a reação de Pechmann, pois são usados reagentes simples e comercialmente disponíveis e origina bons rendimentos na síntese de cumarinas substituídas na posição 4. A reação de Pechmann consiste na reação de fenóis com um ácido carboxílico ou um éster que contém um grupo β -carbonilo (Esquema 5).⁸⁰ O Esquema 6, que é uma adaptação do apresentado por Thakur *et al.*,⁸¹ mostra uma diversidade de condições que foram desenvolvidas entre os anos 2011 e 2014, e que possibilitaram a síntese de diversas cumarinas.

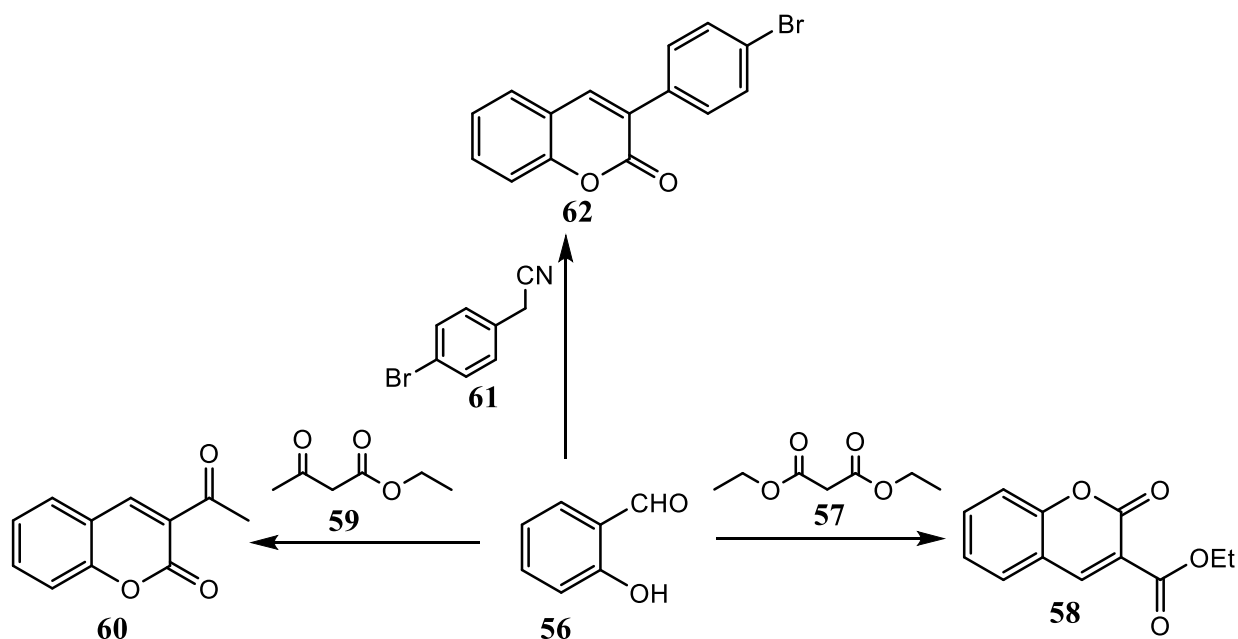


Esquema 5 – Síntese de cumarinas através do método de Pechmann.

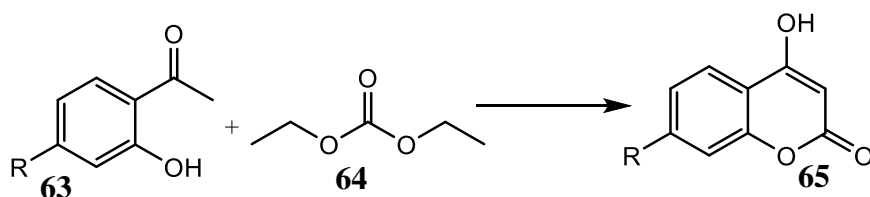


Esquema 6 – Vias possíveis de síntese de cumarinas. Adaptado de Thakur *et al.*, 2015.⁸¹

Recentemente, têm sido desenvolvidos diversos métodos de síntese de cumarinas, onde é usado o salicilaldeído **56** como reagente de partida (Esquema 7). Por exemplo, i) Vekariya *et al.* fizeram reagir o salicilaldeído **56** com acetoacetato de etilo **59**, sem solvente, na presença de ácido sulfúrico celulósico, previamente preparado (Esquema 7);⁸² ii) Ghanei-Nasab *et al.* fizeram reagir o salicilaldeído **56** com malonato de dietilo **57** na presença de piperidina em etanol a refluxo (Esquema 7);⁸³ iv) Zhang *et al.* fizeram reagir o salicilaldeído **56** com o 4-bromofenilacetonnitrilo **61**, em etanol, na presença de piperidina (Esquema 7).^{84,85} Muito recentemente Zhang *et al.* usaram como precursor a 2'-hidroxiacetofenona **63**, que por reação com carbonato de dietilo **64**, origina derivados de cumarinas (Esquema 8).⁸⁶



Esquema 7 – Várias rotas sintéticas de cumarinas a partir do salicilaldeído. Reagentes e condições usados na síntese de cumarinas a partir do salicilaldeído. Reagentes e condições: i) celulose ou amido, H_2SO_4 , $100^\circ C$, 4 h; ii) piperidina, etanol, refluxo, 14-16 h; iii) piperidina, etanol, refluxo, 48 h.⁸²⁻⁸⁴



Esquema 8 – Síntese de cumarinas a partir da 2'-hidroxiacetofenona. Reagentes e condições: tolueno seco, N_2 , NaH, refluxo, 3 h.⁸⁶

3. Indóis

3.1. Ocorrência e atividade biológica

Em 1866, Baeyer e Knopp,⁸⁷ no decorrer do estudo da estrutura do indigo **66**, reduziram a isatina **67** e obtiveram dois novos produtos, dioxindol **68** e oxindol **69** (Figura 8). Os produtos obtidos foram considerados como derivados oxigenados de C_8H_7N , composto a que mais tarde recebeu o nome de “indol” **21** (Figura 8).⁸⁸ O trabalho continuou com Baeyer e Emmerling⁸⁹ que, em 1869, propuseram a estrutura química do indol **21** (Figura 8).

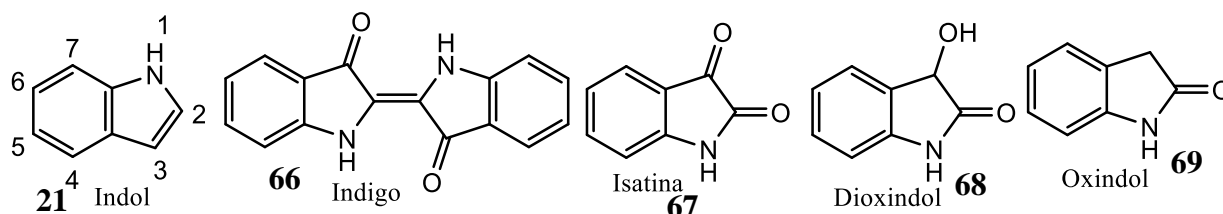


Figura 8 – Estrutura básica da molécula de indol e estruturas dos compostos que levaram à primeira síntese do indol.

Os derivados de indol ocorrem na natureza, e o indol não substituído também foi isolado de extratos de algumas plantas como, por exemplo, *Robinia pseudoacacia* L.* No entanto, alguns autores defendem que não é de ocorrência natural do indol mas sim da decomposição de derivados.⁸⁸ Este tipo de compostos também são encontrados depois de ocorrerem processos putrefactivos, como a putrefação do leite, da fibrina do sangue, da albumina e também já foi encontrado em pus (no fígado e pâncreas, no cérebro e na bÍlis).⁸⁸ Existem também indicações de que derivados de indóis podem ser sintetizados por bactérias,⁹⁰ como por exemplo por *Bacillus coli* (*Escherichia coli*) e cólera-asiática (*Vibrio cholerae*) durante uma fase estacionária de crescimento celular.⁹¹ Apresentam várias atividades biológicas como anti-inflamatória,⁹² antimicrobiana,⁹³ anticancerígena,⁹⁴ antiviral.⁹⁵ A ajmalicina **70** (Figura 9) é um alcaloide do tipo indol encontrada em várias plantas, e é usada como agente anti-hipertensivo.^{96,97} A reserpina **71** (Figura 9) é usada no tratamento da pressão arterial elevada e na agitação severa em pacientes com doenças mentais.^{97,98} A vimblastina **72** (Figura 9) é usada no tratamento de vários tipos de cancro, incluindo a doença de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, o linfoma do tipo não-Hodgkin e cancro da mama e dos testículos.^{97,99}

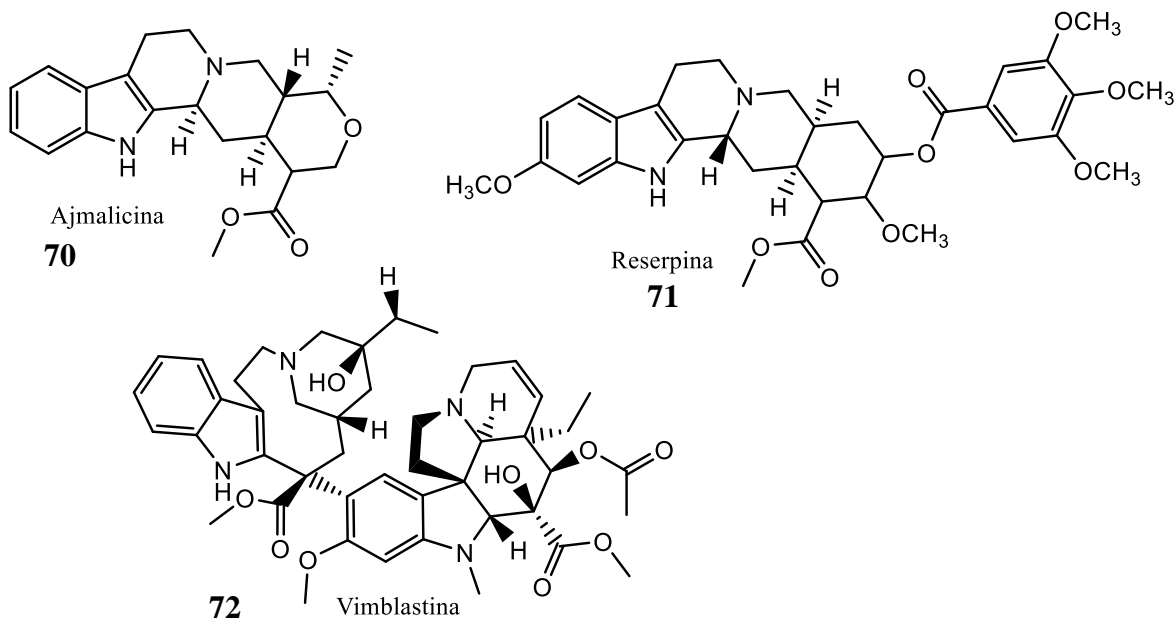


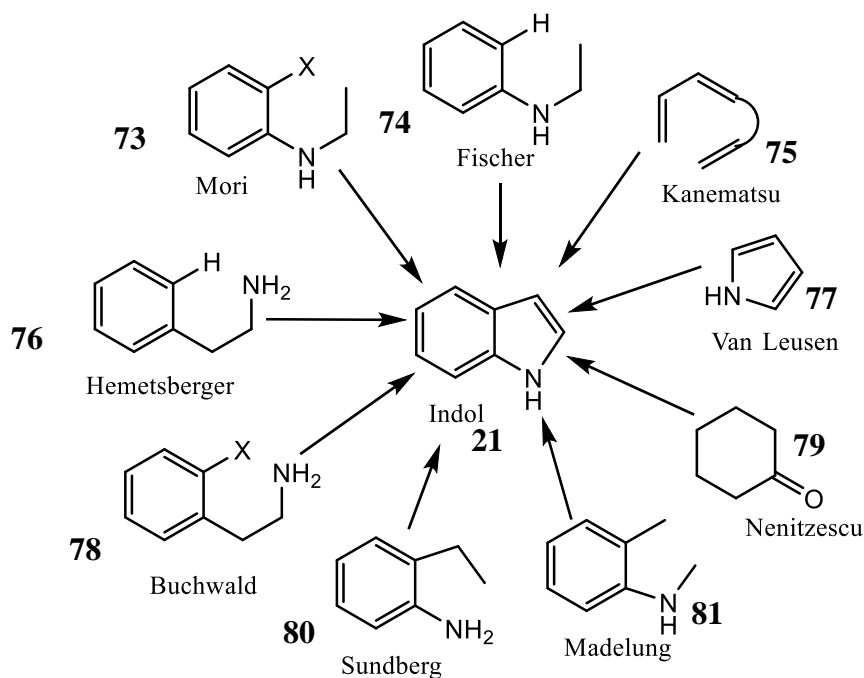
Figura 9 – Exemplos de compostos com o núcleo do indol que apresentam importante atividade biológica.

A estrutura dos indóis é uma das mais importantes na descoberta de novas drogas, pois são capazes de atuarem como ligandos para vários tipos de recetores. Os seus derivados possuem a propriedade única de imitarem a estrutura dos péptidos e ligarem-se reversivelmente às enzimas, esta propriedade abre oportunidades para a descoberta de novas drogas com diferentes modos de ação.⁹⁷

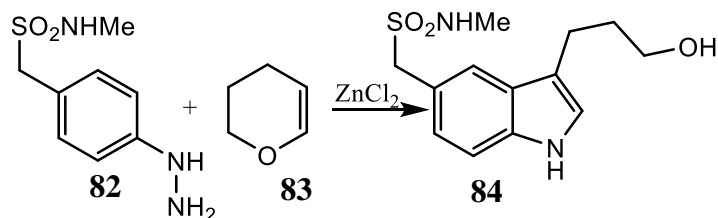
3.2. Métodos de síntese

Devido às várias aplicações dos indóis, foi necessário desenvolver métodos para a sua síntese. A primeira síntese, realizada por Baeyer,¹⁰⁰ em 1866, foi levada a cabo por um processo de oxidação do indigo **66**, obtendo-se como produto a isatina **67**. Nesse processo foi usado pó de zinco que atuou como redutor da isatina originando dioxindol **68** e oxindol **69** (Figura 8). Por fim, obteve-se o indol **21** por redução do oxindol **69** passando os seus vapores por óxido de zinco a quente.⁸⁸ Com o passar do tempo vários métodos de síntese foram desenvolvidos, tais como síntese de Fischer, Kanematsu, Van Leusen, Nenitzescu, Madelung, Sundberg, Buchwald, Hemetsberger, Mori (Esquema 9).¹⁰¹ Na síntese de Fischer, usa-se uma aril-hidrazina **82** com di-hidropirano **83** e cloreto de zinco como catalisador para obter (3-hidroxipropil)indol **84** (Esquema 10). Na síntese de Mori é possível realizar uma

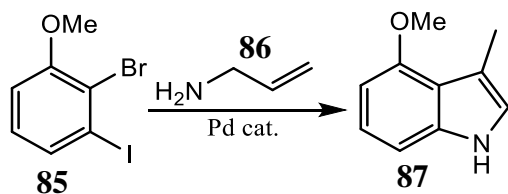
adição oxidativa de iodetos de arilo para fazer uma *N*-arilação sequencial e uma ciclização de Heck, por exemplo converter **85** num derivado de indol **87** (Esquema 11).¹⁰¹



Esquema 9 – Vários tipos de síntese de indóis. Adaptado de Taber e Tirunahari, 2011.¹⁰¹



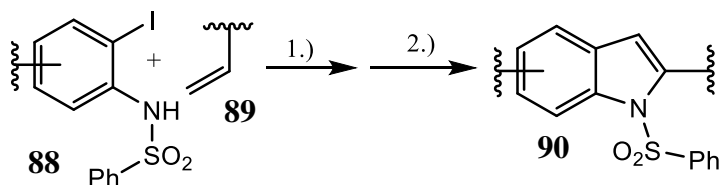
Esquema 10 – Exemplo da síntese de Fischer.



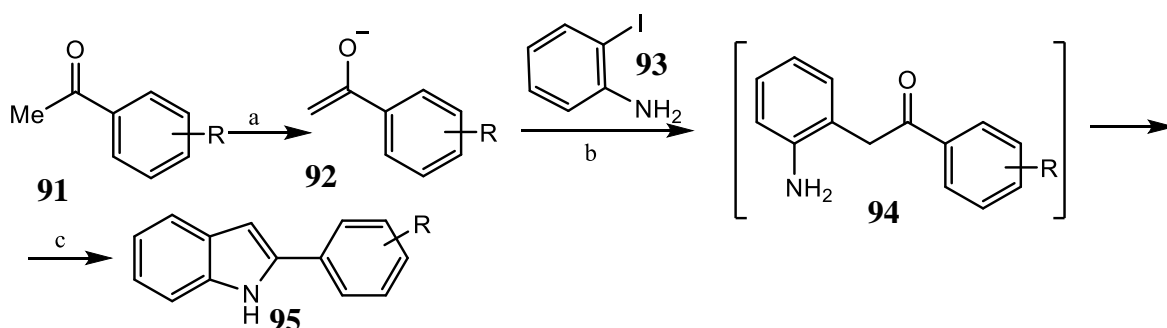
Esquema 11 – Exemplo da síntese de Mori.

Prasad *et al.* fizeram uma reação de Mizoroki-Heck *one-pot* usando a iodoamina **88** e um alceno **89**, mediado pelo catalisador paládio/carvão ativado, em presença de trietilamina, seguido da formação do anel de indol por tratamento com DDQ (5,6-diciano-

2,3-diclorobenzoquinona) (Esquema 12).¹⁰² Fortes *et al.* sintetizaram aril-indóis **95**, por tratamento do anião da acetofenona **92** com a 2-iodoanilina **93** sob irradiação com luz UV. A ciclização *in situ* ocorreria espontaneamente (Esquema 13).¹⁰³



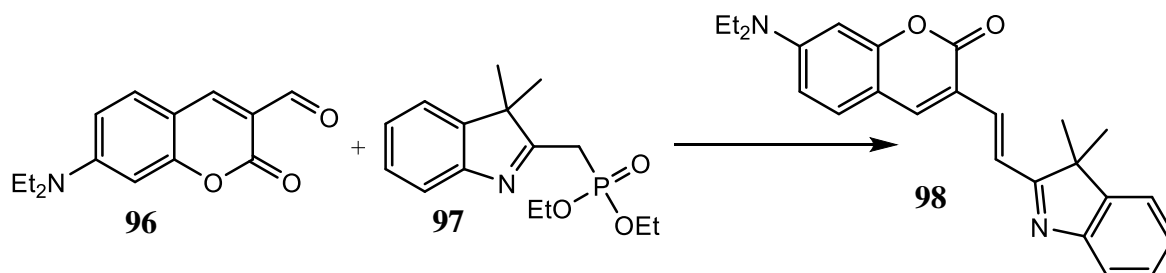
Esquema 12 – Síntese do anel de indol via acoplamento Mizoroki-Heck/aminação C-H, numa estratégia *one-pot* usando ultrassons. Reagentes e condições: 1.) Pd/C, PPh₃, Et₃N, Ultrassons, 50°C, 2 h; 2.) DDQ, 1,4-dioxano, 50°C, 4 h.¹⁰²



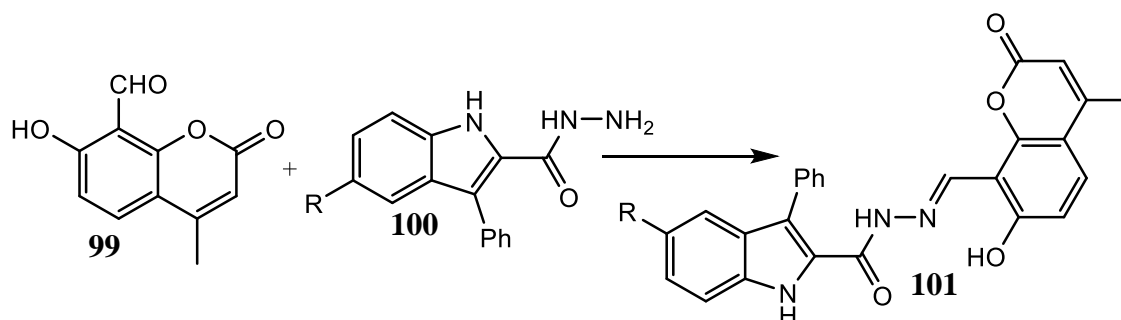
Esquema 13 – Síntese do derivado de indol **95**. Reagentes e condições: a) *t*-BuOK, DMSO, temperatura ambiente, 15 min.; b) 2-iodoanilina; c) hv (254 nm, 400 W), temperatura ambiente, 3 h. (R=4-H, 4-Me, 4-MeO).¹⁰³

4. Díades Indolcumarinas

As díades indolcumarinas são moléculas híbridas que contêm dois farmacóforos importantes, o núcleo indol, um dos mais usados em compostos biologicamente ativos, e o núcleo cumarina, que contém uma vasta gama de aplicações biológicas. Liu *et al.*,¹⁰⁴ em 2013, demonstraram que a díade **98**, obtida por reação de Wittig entre a cumarina **96** e o indol **97** (Esquema 14), pode gerar imagens intracelulares em microambientes ácidos. Mahendra *et al.* obtiveram por condensação aldólica da cumarina **99** com o indol **100**, uma díade com ligação do tipo hidrazona **101** (Esquema 15), que apresenta propriedades antimicrobiana e antioxidante.¹⁰⁵ Noutro estudo foi demonstrado que este tipo de compostos também apresentam propriedades anticancerígenas.¹⁰⁶

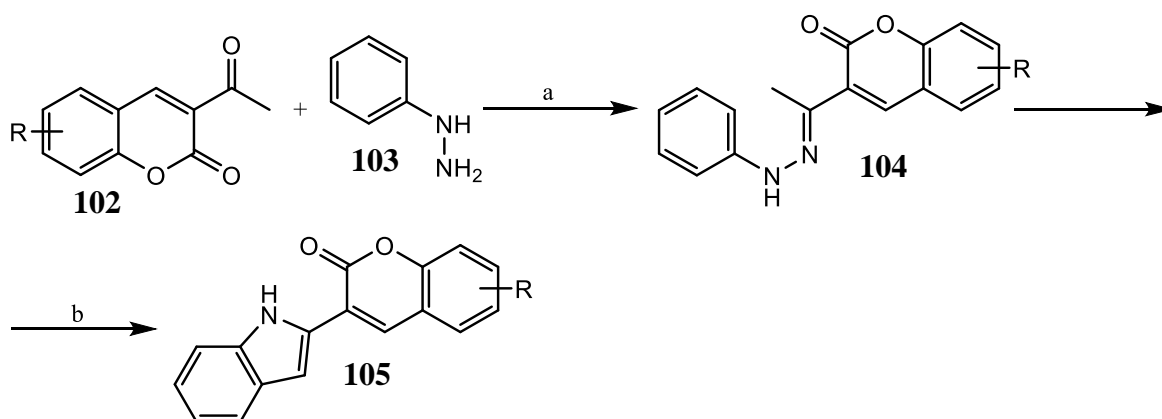


Esquema 14 – Síntese de uma díade indolcumarina **98**. Reagentes e condições: *t*-BuOK, THF, 65°C, 12 h.¹⁰⁴

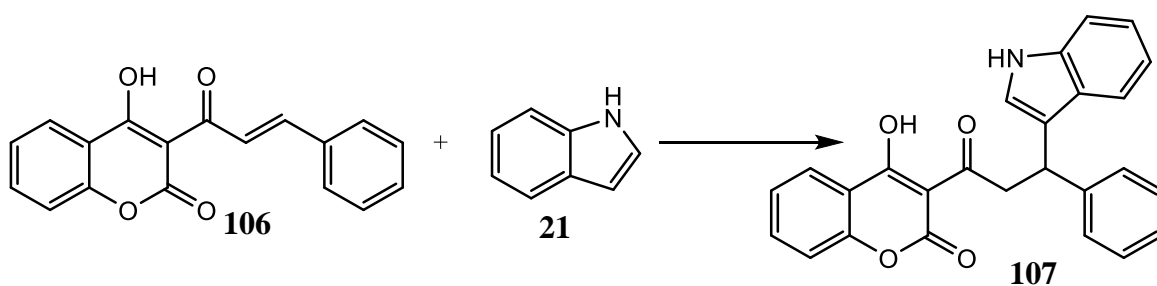


Esquema 15 – Síntese de uma díade indolcumarina **101**. Reagentes e condições: Ácido acético glacial, metanol, refluxo, 4-5 h.¹⁰⁵

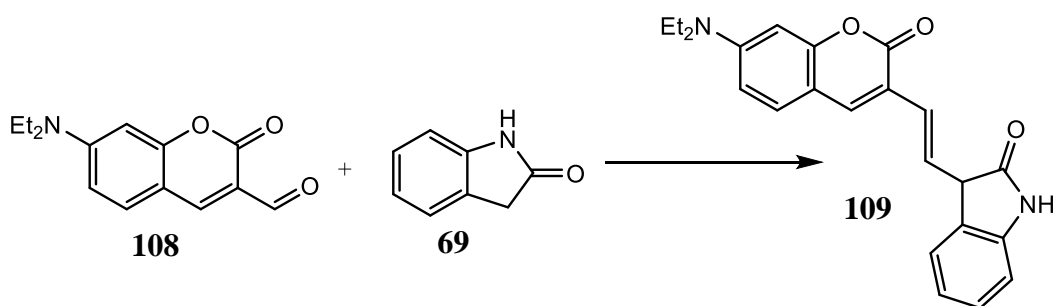
Os métodos de síntese para este tipo de compostos variam desde o uso de solventes orgânicos a catalisadores com nanopartículas e do acoplamento do indol à síntese intramolecular do indol. Kamath *et al.* acoplaram a fenil-hidrazina **103** à cumarina **102** para depois proceder a uma síntese de Fischer na presença dos reagentes de Eaton (Esquema 16).¹⁰⁶ Sangshetti *et al.* realizaram uma reação do tipo de Michael para sintetizar díades de indolcumarina, usando nanopartículas para a síntese do produto desejado **107**, usando etanol como solvente à temperatura ambiente (Esquema 17).¹⁰⁷ Xu *et al.* fizeram reagir, através da condensação aldólica do oxindol **69** com a 3-formilcumarina **108**, na presença de piperidina, em etanol em refluxo, para obter o produto a díade indolcumarina **109** (Esquema 18).¹⁰⁸



Esquema 16 – Síntese de uma díade indolcumarina **105**. Reagentes e condições: a) CH_3COOH , EtOH; b) P_2O_5 , $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$.¹⁰⁶



Esquema 17 – Síntese de uma díade indolcumarina **107**. Reagentes e condições: EtOH; 5 mol% $\text{Ho}_x\text{CoFe}_{2-x}\text{O}_4$, temperatura ambiente.¹⁰⁷



Esquema 18 – Síntese de uma díade indolcumarina **109**. Reagentes e condições: EtOH, piperidina, refluxo, 6 h.¹⁰⁸

Capítulo 2. Objetivos

O interesse no desenvolvimento de metodologias de síntese eficientes em condições ambiental e economicamente favoráveis e na obtenção de compostos biologicamente ativos com potenciais aplicações medicinais, tem levado à procura de novas rotas sintéticas eficientes para a obtenção de heterociclos nitrogenados, como por exemplo quinolonas, acridonas,¹⁰⁹⁻¹¹¹ e pirazois.¹¹² Em consequência dos resultados recentes na síntese de recetores canabinoides^{10,112} é considerado relevante o desenvolvimento de novos métodos de síntese para preparar novos heterociclos nitrogenados e avaliar as suas potencialidades como canabinoides.

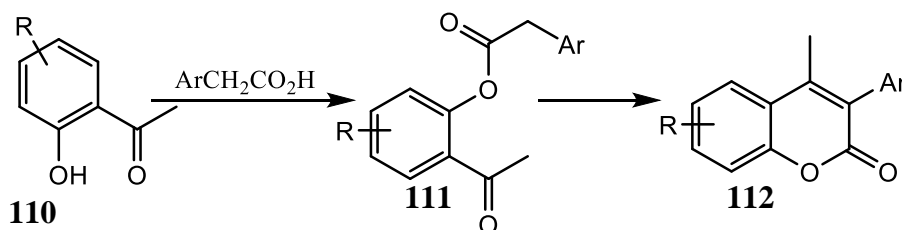
A estratégia de hibridização molecular tem vindo a introduzir novas abordagens que envolvem a conglomeração de dois ou mais farmacóforos num só esqueleto molecular para desenvolver moléculas híbridas multifuncionais. Estas últimas moléculas podem apresentar múltiplas atividades biológicas, podendo ter dois modos de ação e/ou reduzir efeitos secundários indesejáveis por causa da mistura de farmacóforos numa só molécula.⁶³

O objetivo principal deste projeto consiste na preparação de novos heterociclos nitrogenados com características estruturais adequadas para poderem ser utilizados como agentes canabinoides.

Deste modo, o projeto é composto por várias tarefas que se descrevem em seguida:

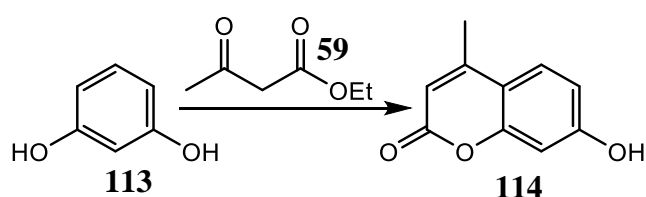
1. Síntese das unidades estruturais do tipo cumarinas

Métodos conhecidos serão aplicados na síntese dos derivados oxigenados com padrões de substituição adequados às transformações seguintes e interessantes do ponto de vista biológico. Ou seja, iremos procurar ter presentes grupos que facilitem o transporte das moléculas nos meios biológicos e que facilitem a interação com os recetores canabinoides. Deste modo, serão preparados diferentes derivados de cumarinas, que podem ter também a designação de 2*H*-cromen-2-onas, (compostos do tipo **112**), usando 2'-hidroxiacetofenonas como reagentes de partida **110** (Esquema 19). O substituinte R será adequadamente escolhido para possibilitar futuras reações de Wittig, Heck, Suzuki e Petasis.



Esquema 19 – Esquema de síntese de cumarinas neste trabalho.

Poderão ser usados derivados do fenol **113** (Esquema 20), que possibilitarão a síntese de outros derivados de cumarinas **114**. Recentemente Vishwakarma *et al.*¹¹³ publicaram a síntese de cumarinas a partir de derivados do floroglucinol. Atendendo a que se trata de um procedimento simples e que os derivados de floroglucinol podem ser transformados em derivados com substituintes carbonílicos, interessantes para reações de Wittig e/ou Petasis, iremos também usar este tipo de reagente de partida.



Esquema 20 – Síntese de derivados da 7-hidroxi-4-metilcumarina **114**.

2. Derivados de indóis

A síntese das díades indolcumarina será iniciada usando derivados de 1*H*-indol comerciais, como 1*H*-indol **21**, 3-metil-1*H*-indol **117** e o 1*H*-indol-3-carbaldeído **120**. O 1*H*-indol **21** e 3-metil-1*H*-indol **117** iriam permitir a síntese de outros intermediários (**115**, **116**, **118**, **119**) que por sua vez permitirão a síntese das díades de benzopirano (Figura 10).

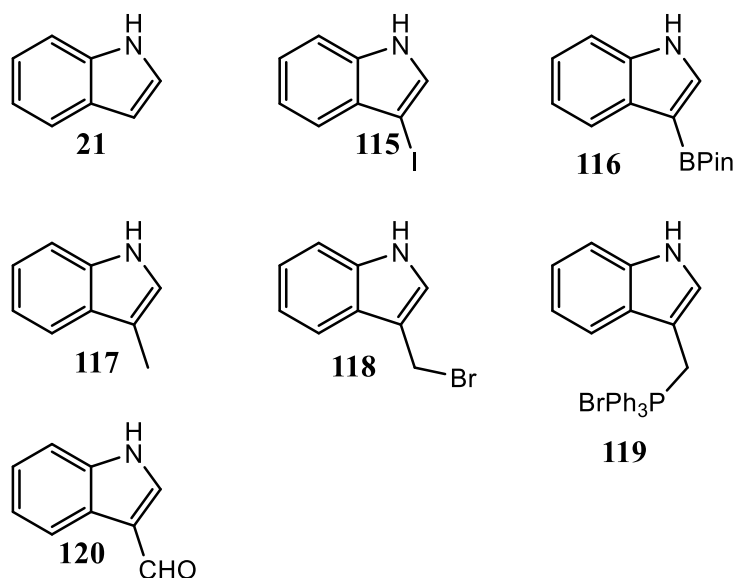
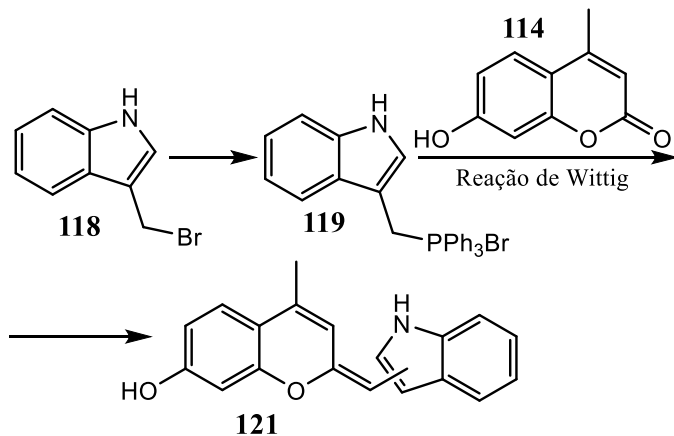


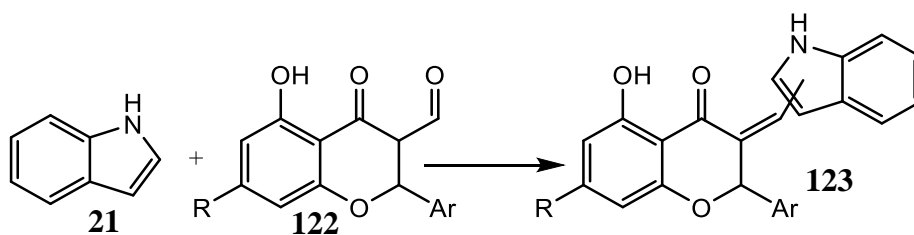
Figura 10 – Derivados de indóis a serem usados neste trabalho.

3. Síntese de díades indolcumarina

A síntese dos indóis e das estruturas do tipo de cumarina permitirá a síntese de díades via reações de Wittig (Esquema 21) e condensação aldólica (Esquema 22) entre outras.

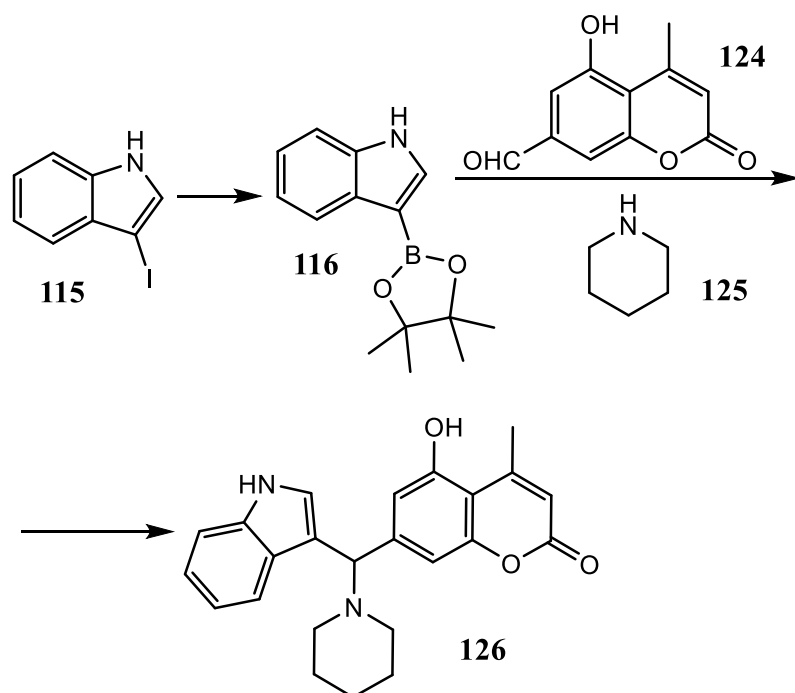


Esquema 21-Síntese de díades através de reação de Wittig.



Esquema 22-Síntese de díades através de condensação aldólica.

Não havendo muitos derivados de ácidos indol-borônicos comerciais, neste trabalho irão ser sintetizados derivados de boronatos **116** necessários para posterior síntese de díades indolcumarinas (Esquema 23). Este tipo de composto borônico **116** tem sido usado com sucesso em reações de Petasis¹¹⁴ com diferentes aldeídos e aminas muito interessantes, como exemplo a piperidina e a morfolina, unidades muito comuns em compostos biologicamente ativos. Assim, com este tipo de reação será possível sintetizar, como por exemplo díades do tipo **126** (Esquema 23), entre outras.



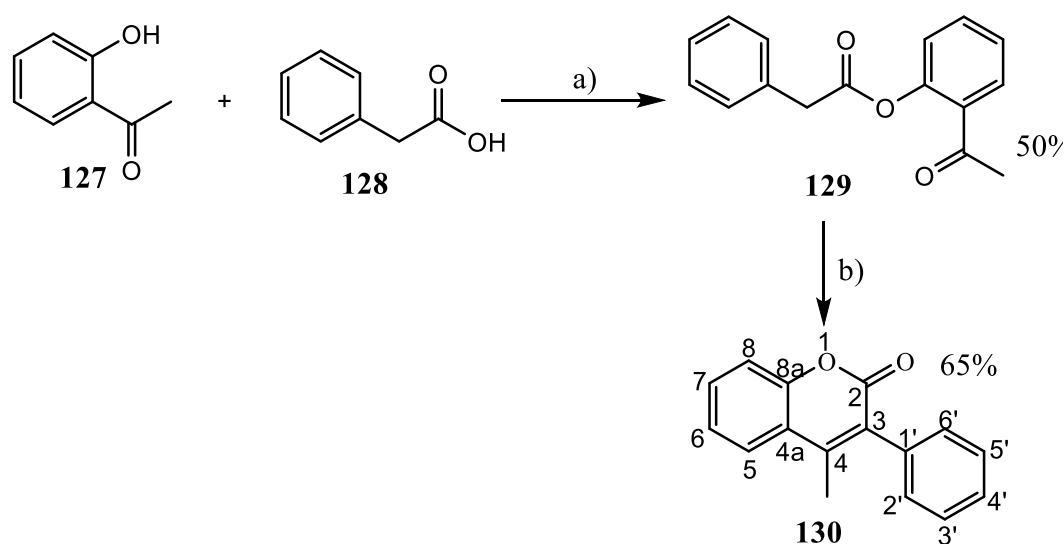
Esquema 23-Síntese de moléculas híbridas através da reação de Petasis.

É também pretendido avaliar a atividade biológica dos compostos sintetizados e encontrar compostos com potencial aplicação na indústria farmacêutica. Deste modo as potencialidades como ligandos dos recetores CB1 e CB2 dos compostos obtidos serão avaliadas. Pretende-se também avaliar as potencialidades dos compostos sintetizados como agentes citotóxicos contra células cancerígenas humanas.

Capítulo 3. Resultados e Discussão

1. Síntese de derivados de 2H-cromen-2-onas

Programou-se a síntese da cumarina **130** a partir da 2'-hidroxiacetofenona **127** e do ácido fenilacético **128**. O primeiro passo da transformação envolve a esterificação da 2'-hidroxiacetofenona **127**, obtendo-se o éster pretendido, o 2-fenilacetato de 2-acetilfenilo **129**, em rendimentos razoáveis (Esquema 24). A reação de esterificação é assistida pelo tricloreto de fosforilo (POCl_3), que *in situ* origina o cloreto de fenilacetilo a partir do ácido fenilacético, que em seguida reage com a 2'-hidroxiacetofenona **127**. Posteriormente uma solução do éster **129**, em piridina seca, foi aquecida na presença de carbonato de potássio (K_2CO_3) originando ao fim de 20 h a cumarina **130** pretendida e com bom rendimento (Esquema 24).



Esquema 24 – Síntese da 3-fenil-4-metil-2H-cromen-2-ona **130**. Reagentes e condições: a) POCl_3 , piridina, temperatura ambiente, 24 h; b) K_2CO_3 , piridina seca, N_2 , refluxo, 20 h.

A análise do espectro de RMN de ^1H da 3-fenil-4-metil-2H-cromen-2-ona **130** mostra a δ 2,32 ppm um sinal em forma de singuleto, correspondente aos prótons do grupo metilo (4- CH_3). Na zona de ressonância dos prótons aromáticos (Figura 11) é possível identificar inequivocamente o sinal em forma de duplo duplete correspondente ao próton do H-5, a δ 7,69 ppm, e o sinal em forma de duplo duplete de dupletos correspondente ao próton do H-7, a δ 7,55 ppm. Estes dois prótons surgem com maior desvio químico em consequência do efeito mesomérico desprotetor do grupo carbonilo (Esquema 25). Os restantes prótons aromáticos são difíceis de distinguir, pois encontram-se sob a forma de um multiplete correspondente aos 7 prótons em falta.

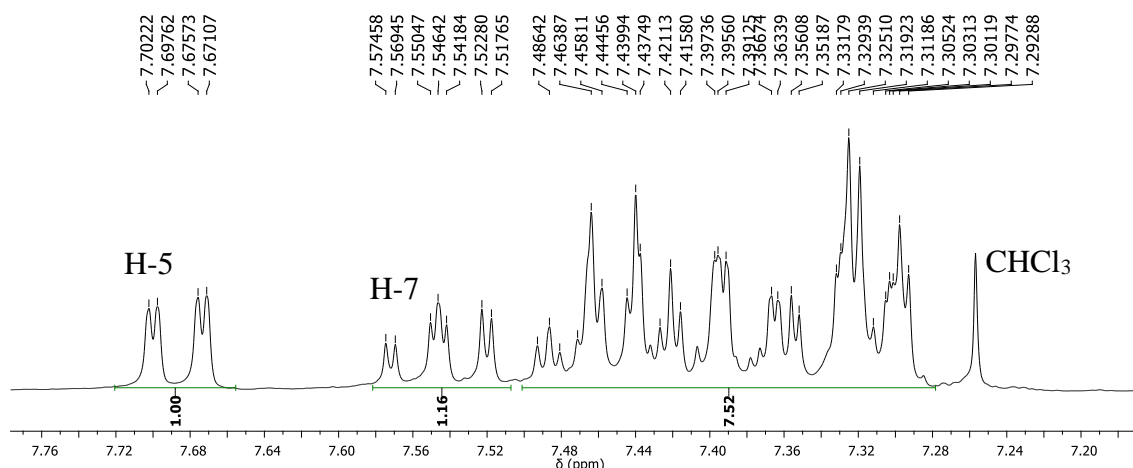
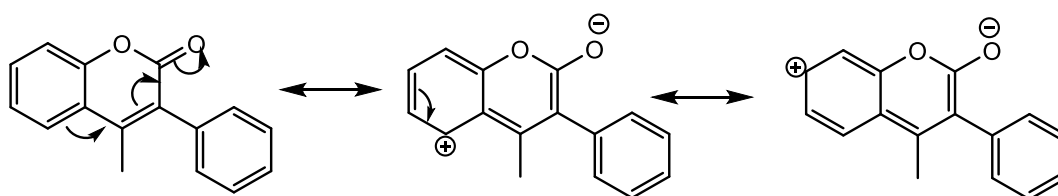


Figura 11 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da 3-fenil-4-metil-2H-cromen-2-ona **130**.



Esquema 25 – Estruturas de ressonância do 3-fenil-4-metil-2H-cromen-2-ona **130**.

Para uma caracterização inequívoca foram obtidos espectros de RMN de ^{13}C e bidimensionais (HSQC e HMBC). Com a ajuda do espectro bidimensional HSQC foi possível assinalar os sinais correspondentes aos carbonos ligados a prótons, bem como confirmar que a ressonância dos prótons H-6, H-8 e os do grupo 3-fenilo que surgem entre δ 7,29 e 7,49 ppm. As correlações observadas no espectro bidimensional HMBC (Figura 12) possibilitaram o assinalamento dos carbonos não ligados a prótons.

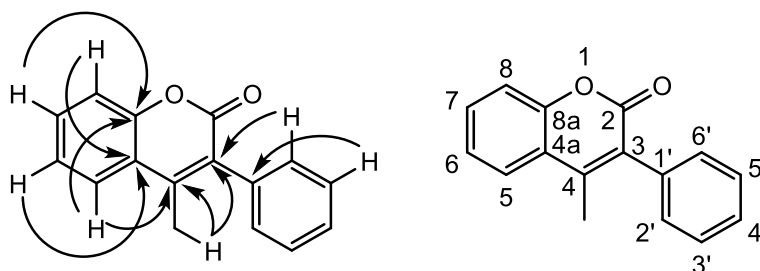
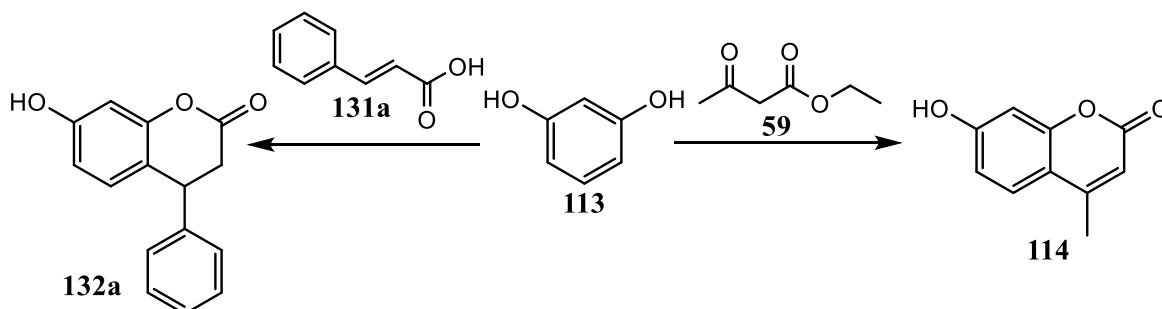


Figura 12 – Identificação dos carbonos não ligados a prótons através das correlações de HMBC.

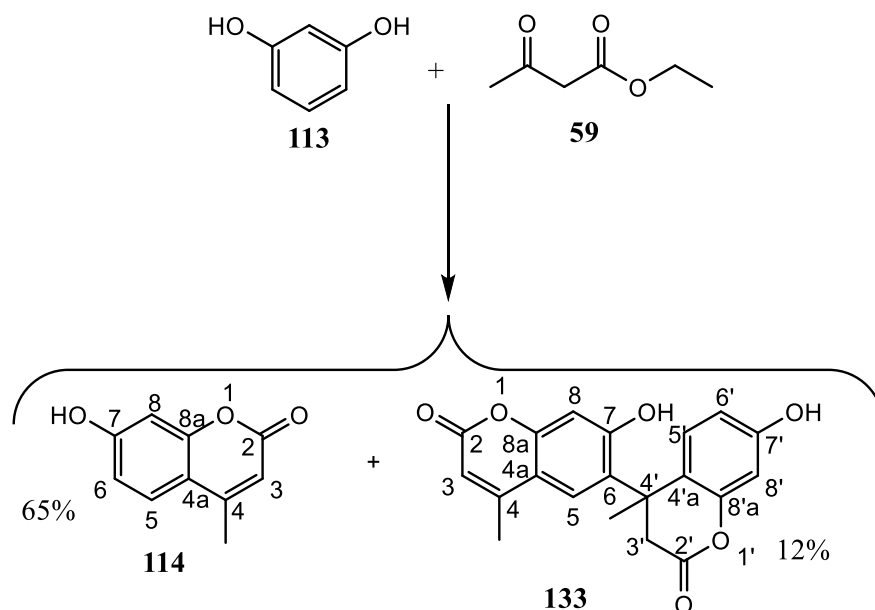
Em seguida idealizou-se a síntese das cumarinas **114** e **132a** (Esquema 26). Iniciou-se o estudo com a síntese da 7-hidroxi-4-metil-2H-cromen-2-ona **114**, seguindo o método de

síntese proposto por Hoefnagel *et al.*,¹¹⁵ em que se faz reagir o resorcinol **113** com acetoacetato de etilo **59**, em tolueno e usando amberlite-15 (AMB-15) como catalisador.



Esquema 26 – Via sintética idealizada para as cumarinas **114** e **132a**.

Inicialmente, faz-se reagir o resorcinol **113** (0,045 mol) com o acetoacetato de etilo e a purificação da mistura reacional possibilitou a obtenção da cumarina **114** em bom rendimento (65%). No entanto foi isolado um produto secundário, que identificou-se como 7-hidroxi-6-(7-hidroxi-4-metil-2-oxocroman-4-il)-4-metil-2H-cromen-2-ona **133**, com um rendimento de 12% (Esquema 27). Esta transformação foi estudada com o intuito de otimizar as condições de obtenção da cumarina pretendida **114**, mas também com o objetivo de encontrar condições de obtenção do dímero **133**. A utilização de atmosfera de nitrogénio ou o aumento da quantidade de acetoacetato de etilo, de 1,1 equiv para um excesso de 72 equiv, ou a diminuição da escala possibilitam a obtenção seletiva da cumarina **114** em melhor rendimento (89%). Já o aumento de escala da reação parece levar a que haja formação do composto **133**.



Esquema 27 – Síntese da 7-hidroxi-4-metil-2*H*-cromen-2-ona **114**. Reagentes e condições: AMB-15, tolueno, refluxo, 24 h.

O espectro de RMN de ^1H da 7-hidroxi-4-metil-2*H*-cromen-2-ona **114** (Figura 13), permite a identificação do sinal correspondente ao grupo metilo, a δ 2,36 ppm, prótons alifáticos que sentem um ligeiro efeito anisotrópico desprotetor da ligação dupla. O sinal surge sob a forma de um duplete devido ao acoplamento a longa distância com o próton H-3, o qual por sua vez surge a δ 6,11 ppm, também sob a forma de um quarteto e também desprotegido pelo efeito anisotrópico da ligação dupla.

O próton H-5 surge sob a forma de um duplete, pois acopla com o próton H-6, a δ 7,58 ppm e é o mais desprotegido, devido aos efeitos anisotrópico do anel aromático e mesomérico do grupo carbonilo. Por sua vez, o próton do H-6, cujo sinal surge a δ 6,80 ppm, além de acoplar com o próton H-5 também acopla a longa distância com o próton H-8, daí surgir sob a forma de duplo duplete. O sinal do próton H-8 surge como duplete a δ 6,70 ppm (Figura 13). Estes dois últimos prótons surgem a menores valores de frequência devido ao efeito protetor do grupo hidroxilo.

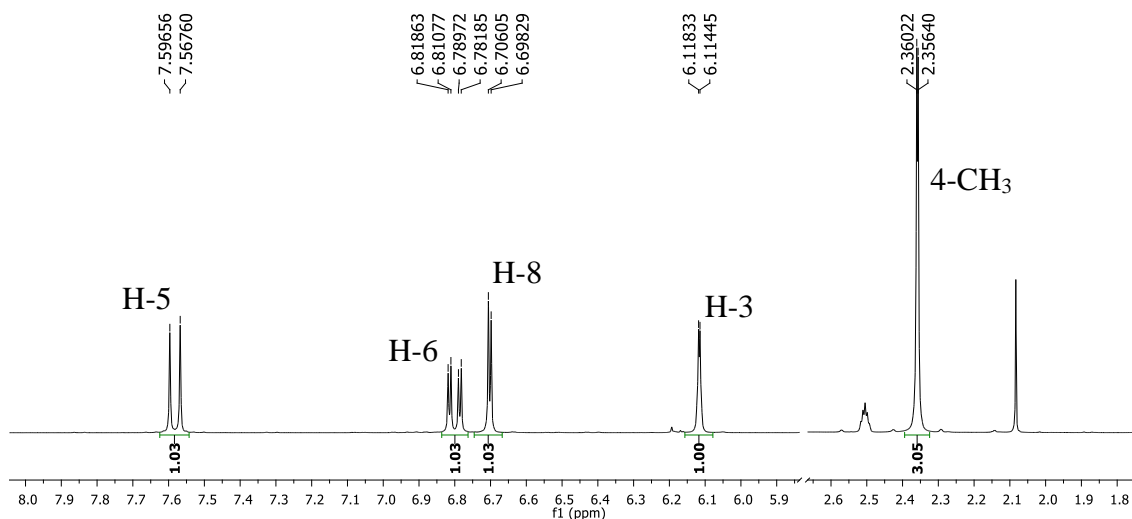


Figura 13 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H de 7-hidroxi-4-metil-2H-cromen-2-ona **114**.

A caracterização completa do dímero **133** foi facilitada pelo facto de o seu espectro de RMN de ^1H apresentar sinais semelhantes aos da cumarina **114** (Figura 14), sendo por isso possível identificar a presença de um núcleo estrutural semelhante a uma 7-hidroxi-4-metil-2H-cromen-2-ona. Os sinais correspondentes aos prótons do grupo metilo e ao H-3 são facilmente identificáveis (Figura 14), enquanto os sinais correspondentes aos prótons H-5 e H-8, que surgem com os desvios químicos esperados (δ 6,95 e 6,74 ppm, respetivamente) apresentam-se, no entanto, cada um sob a forma de singuleto. Isto é indicativo de ter ocorrido uma substituição em C-6. A presença na zona aromática do espectro de mais três sinais, dois dupletos e um duplo dupletto, são indicativos de estarmos na presença de um dímero. Assim sendo, esses sinais correspondem aos prótons H-5', H-6' e H-8' (Figura 14). A presença de um sinal a δ 1,75 ppm, sob a forma de singuleto e correspondente a três prótons, sugere que a ligação entre as duas unidades de cumarina seja entre C-6 e C-4'.

Por fim, na zona alifática do espectro surgem dois sinais em forma de dupletto, a δ 2,79 e 3,76 ppm, atribuídos aos dois prótons diastereotópicos H-3'. Sendo que um deles sentirá mais o efeito desprotetor do grupo carbonilo.

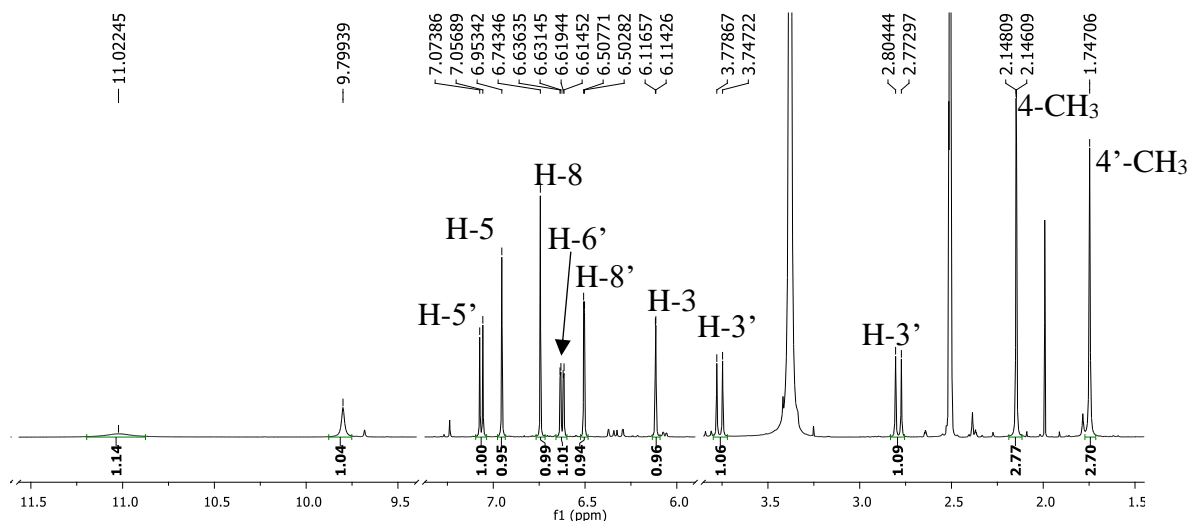


Figura 14 – Espectro de RMN de ^1H de 7-hidroxi-6-(7-hidroxi-4-metil-2-oxocroman-4-il)-4-metil-2H-cromen-2-ona **133**.

As estruturas propostas no Esquema 27 para os compostos **114** e **133** foram, também comprovadas pela análise dos respectivos espectros de RMN bidimensional de HMBC, nos quais foi possível detetar correlações importantes (Figura 15) que confirmam a estrutura e também possibilitaram o assinalamento inequívoco dos sinais dos respectivos espectros de RMN de ^{13}C . Os aspetos mais importantes a salientar são as correlações entre o próton H-5 e o carbono C-4' e entre os prótons H-3' e o carbono C-6, que confirmam a ligação entre as duas unidades do dímero **133** (Figura 15). Como tal os sinais dos carbonos do 4-CH₃ e 4'-CH₃ aparecem a δ 17,6 e 25,2 ppm, respetivamente; o C-3' encontra-se entre δ 38,7 e 40,3 ppm devido a estarem sob os sinais do solvente; os carbonos carbonílicos C-2 e C-2' surgem a δ 160,1 e 168,0 ppm, respetivamente.

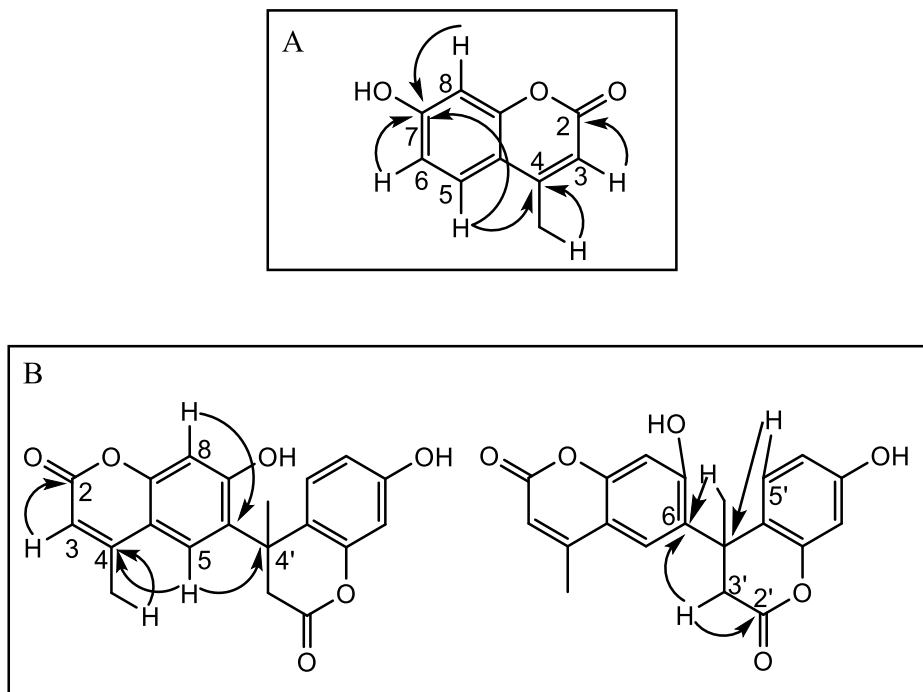
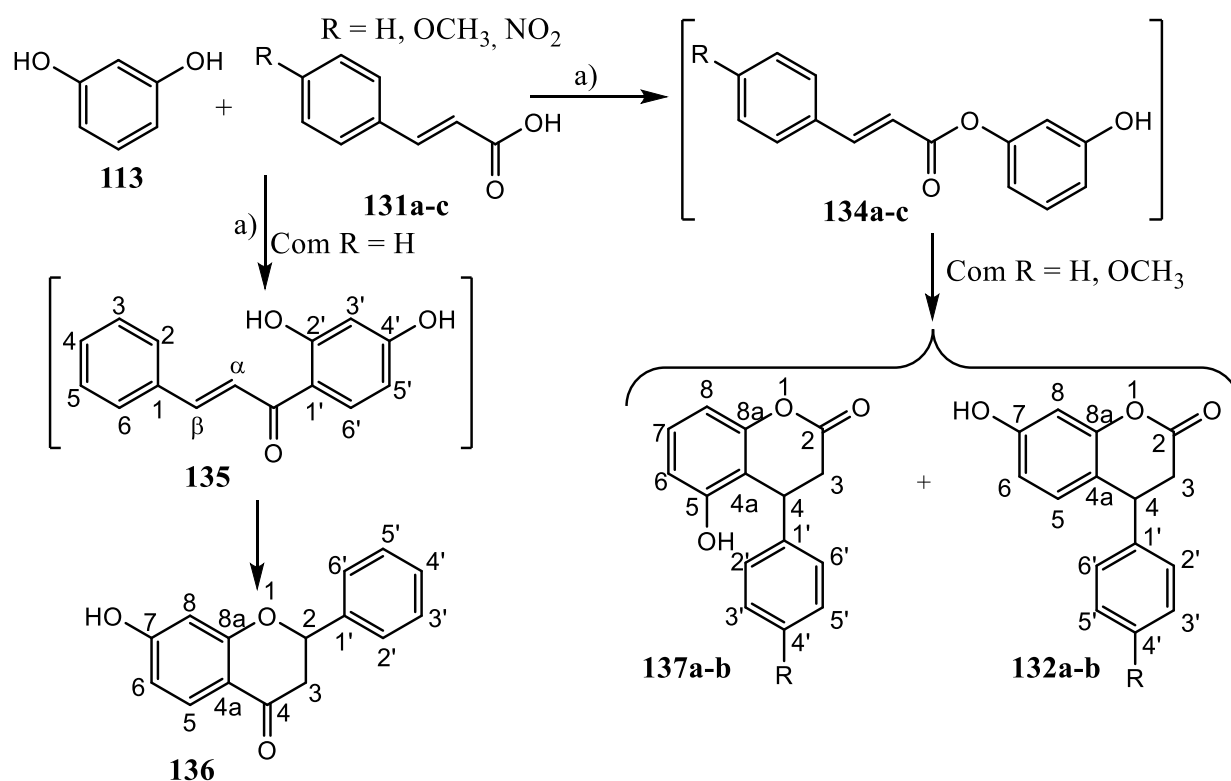


Figura 15 – Correlações mais significativas detetadas nos espectros de HMBC; A) detetadas no espectro da 7-hidroxi-4-metil-2*H*-cromen-2-ona **114**; B) detetadas no espectro da 7-hidroxi-6-(7-hidroxi-4-metil-2-oxocroman-4-il)-4-metil-2*H*-cromen-2-ona **133**.

Usou-se um método similar para sintetizar a cumarina **132a**, tratando-se o resorcinol **113** com AMB-15, mas na presença do ácido cinâmico **131a-c** adequado. A análise da mistura reacional revelou que se formaram vários produtos. Após purificação por cromatografia em camada fina e análise por RMN foi possível identificar o cinamato de 3-hidroxifenilo **134a** e a (*E*)-3-fenil-1-(2,4-di-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona **135**, para o composto **131a**, com rendimentos de 25% e 14% respetivamente. Foram também obtidos a 5-hidroxi-4-(4-metoxifenil)-2*H*-croman-2-ona **135b** e 7-hidroxi-4-(4-metoxifenil)-2*H*-croman-2-ona **132b**, para o composto **131b**, com rendimentos de 9% e 30% respetivamente (Esquema 28). Com o aumento de quantidade de AMB-15, de 0,9 equiv para 3,5 equiv, para a reação com o composto **131a**, já foi possível obter di-hidroocumarina pretendida, a 4-fenil-7-hidroxi-2*H*-croman-2-ona **132a**, mas também outros produtos, tais como, a 4-fenil-5-hidroxi-2*H*-croman-2-ona **137a** e a 2-fenil-7-hidroxi-4*H*-croman-4-ona **136** (Esquema 28). Estes resultados sugerem que se formam primeiramente os produtos **135** e **134a**, que por ciclização intramolecular catalisada pela AMB-15 originam, respetivamente a flavanona **136** e as di-hidroocumarinas **132a** e **137a**. No caso da 2',4'-di-hidroxicalcona **135** teremos uma adição conjugada intramolecular do oxigénio do grupo hidroxilo ao carbono C- β (mais

eletrófilo). Enquanto no caso do éster **134a** temos a reação de substituição aromática eletrofílica, que ocorre nas posições *orto* e *para*, em relação ao grupo hidroxilo, pois são as mais ativadas. Estes interessantes resultados levaram-nos a utilizar derivados do ácido cinâmico contendo um grupo dador de elétrons (ácido *p*-metoxicinâmico **131b**) e outro sacador de elétrons (ácido *p*-nitrocinâmico **131c**). Foi interessante verificar que nestes casos não há formação dos derivados de calcona e flavanona, o que sugere que nestes ácidos o carbono carbonílico será menos eletrofílico. Por outro lado, na reação com o composto **131c** só há formação do *p*-nitrocinamato de 3-hidroxifenilo **134c** e qualquer que fosse as condições usadas anteriormente, verificou-se que no caso do *p*-nitrocinamato de 3-hidroxifenilo **134c** a ciclização não ocorre, ou seja, o carbono C- β também estará menos eletrofílico. E devido ao tempo de retenção ser bastante parecido ao do composto **131c**, não foi possível a sua purificação, nem o cálculo do seu rendimento.



Esquema 28 – Reação do resorcinol **113** com derivados de ácido cinâmico **131**. Reagentes e condições: a) AMB-15, tolueno, 24 h.

No RMN de ¹H da 2',4'-di-hidroicalcona **135** (Figura 16) pode identificar-se os sinais dos prótons H- α , que surge a δ 7,58 ppm, e H- β , que surge a δ 7,88 ppm. Este último

aparece a maior valor e frequência do que H- α , devido ao efeito mesomérico desprotetor do grupo carbonilo. É possível observar os prótons H-3' e H-5' a δ 6,45-6,50 ppm, na forma de multipletto, pois sofrem os efeitos anisotrópico do anel aromático e mesomérico protetor dos dois grupos hidroxilos. O próton H-6' aparece a δ 7,83 ppm, na forma de dupletto, por sentir o efeito mesomérico do grupo carbonilo; sendo também possível observar um singuleto a δ 13,37 ppm que corresponde ao próton do grupo hidroxilo envolvido numa ligação de hidrogénio com o átomo de oxigénio do grupo carbonilo. No RMN de ^{13}C , o carbono do grupo carbonilo surge a δ 191,9 ppm.

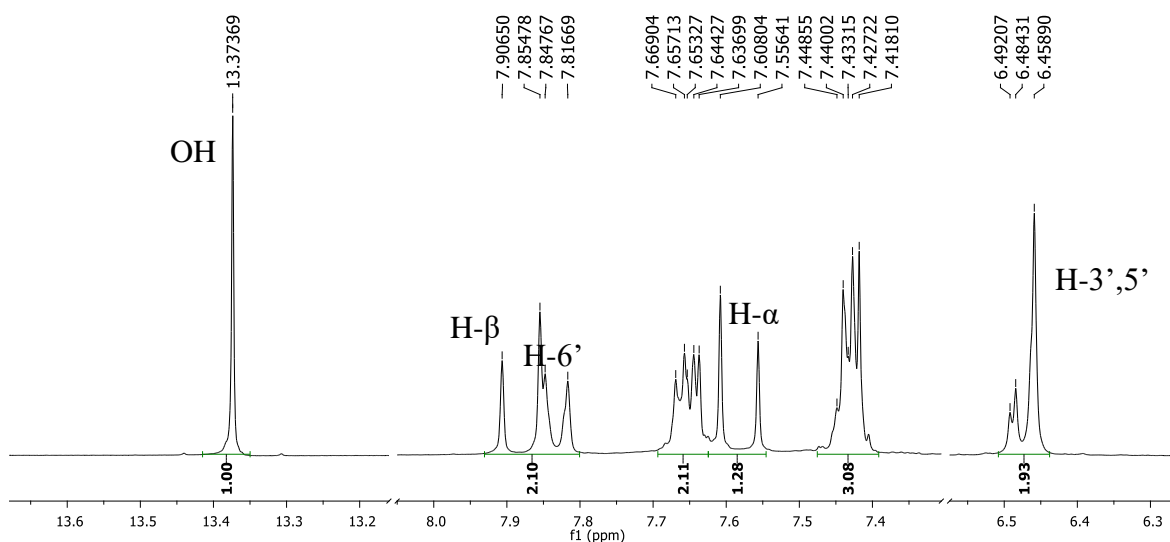


Figura 16 – Ampliações das zonas aromática e alifática do espectro de RMN de ^1H da (*E*)-3-fenil-1-(2,4-di-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona **135**.

No RMN de ^1H do éster **134a** (Figura 17) é de salientar também a ligação insaturada entre os carbonos C- α e C- β , em que H- α surge a δ 6,62 ppm e, devido ao efeito mesomérico desprotetor do grupo carbonilo, o H- β surge a maior valor de frequência δ 7,87 ppm. É também possível observar os prótons H-2', H-4' e H-6' a δ 6,70, 6,73 e 6,76 ppm. O próton H-5' aparece a δ 7,26 ppm e encontra-se debaixo do sinal do solvente clorofórmio. No RMN de ^{13}C o carbono do grupo carbonilo aparece a δ 165,3 ppm.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

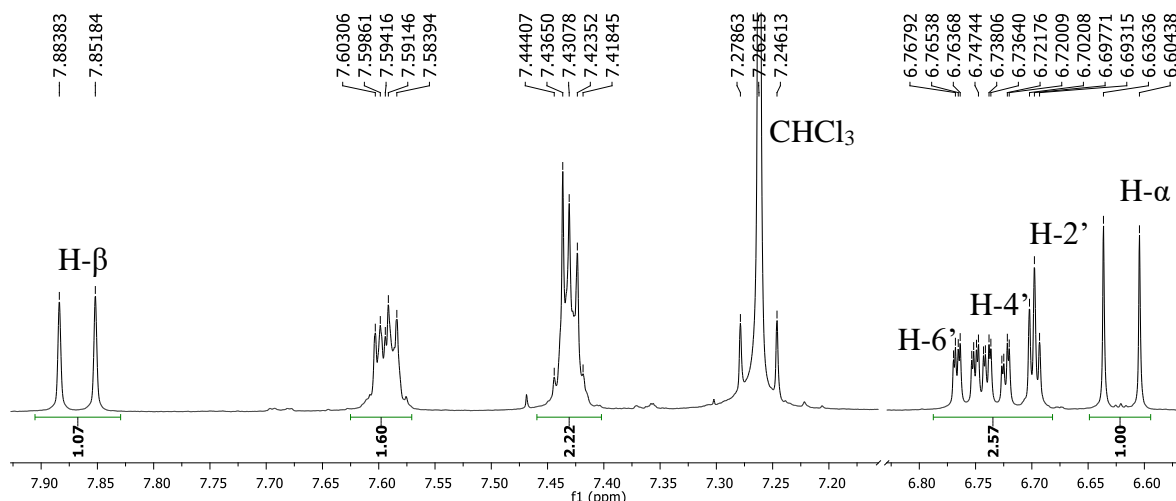


Figura 17 – Ampliações das zonas aromática e alifática do espectro de RMN de ^1H do cinamato de 3-hidroxifenilo **134a**.

No RMN de ^1H da flavanona **136** (Figura 18) é possível identificar os sinais correspondentes aos prótons aromáticos do anel A (H-5 a δ 7,86 ppm, H-6 a δ 6,56 ppm e H-8 a δ 6,48 ppm), que apresentam as multiplicidades e os desvios químicos esperados. A zona alifática mostra-nos o sinal correspondente ao próton H-2, a δ 5,47 ppm, sob a forma de um duplo duplete. O elevado valor de frequência é devido ao efeito indutivo desprotetor do átomo de oxigênio e o desdobramento resulta do acoplamento com os prótons diastereotópicos H-3. Estes surgem a menores valores de frequência e na forma de duplos dupletos (Figura 18). A caracterização total foi efetuada com recurso aos espectros de RMN de ^{13}C e bidimensionais HSQC e HMBC.

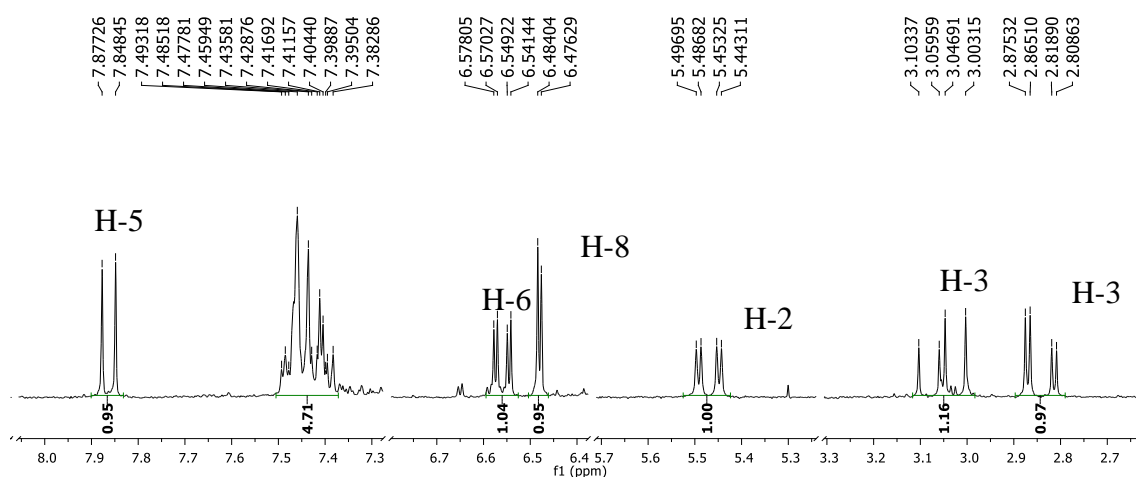


Figura 18 – Ampliações das zonas aromática e alifática do espectro de RMN de ^1H da 2-fenil-7-hidroxi-4H-croman-4-ona **136**.

A título de exemplo discute-se a caracterização das di-hidrocurmarinas **132b** e **137b**. Naturalmente, sendo estes derivados metoxilados em C-4', em ambos os espectros de RMN de ^1H surge um sinal em forma de singuleto correspondente aos prótons deste grupo (Figura 19 e Figura 20). Também de forma semelhante surge nos dois espectros os sinais em forma de duplete característicos de um anel aromático *para*-substituído, 4-metoxifenilo (Figura 19 e Figura 20).

O anel aromático do sistema benzopirano da di-hidrocurmarina **137b** apresenta um padrão de substituição que possibilita a sua diferenciação rápida, pois os sinais correspondentes aos prótons H-6, H-8 surgem como duplos dupletos e encontram-se numa zona de maior proteção devido ao efeito protetor do grupo hidroxilo, enquanto o sinal correspondente ao próton H-7 surge sob a forma de triplete e não tão protegido (Figura 19). No caso da di-hidrocurmarina **132b** o padrão de substituição é semelhante ao da curmarina **114**, pelo que os sinais encontrados no espectro são semelhantes (Figura 20).

Na zona alifática do espectro da di-hidrocurmarina **137b** podem ser encontrados dois sinais, um em forma de triplete a δ 4,57 ppm e outro em forma de duplo duplete distorcido a δ 3,02 ppm. Estes sinais correspondem, respetivamente ao próton H-4 e aos prótons H-3, sendo que o próton H-4 se encontra mais desprotegido devido ao efeito anisotrópico do anel aromático.

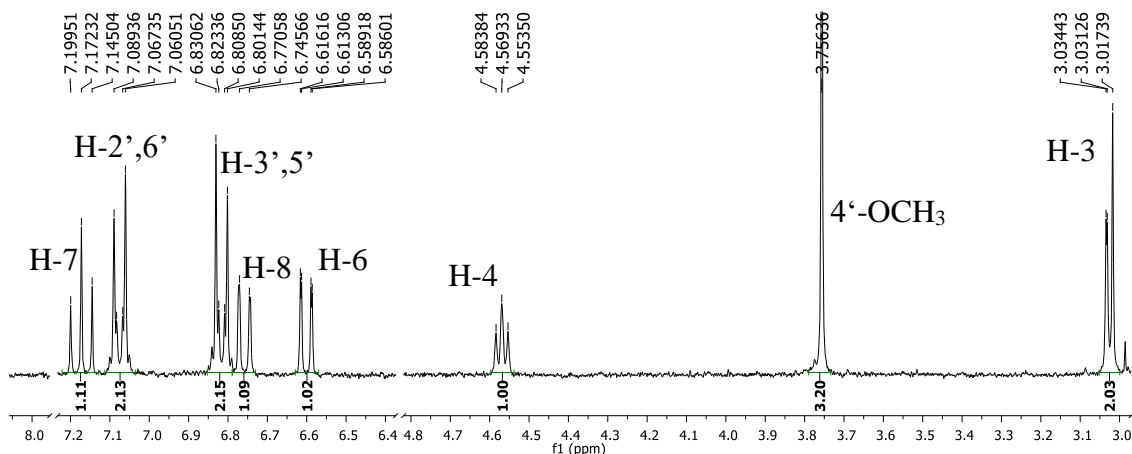


Figura 19 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 5-hidroxi-4-(4-metoxifenil)-2H-croman-2-ona **137b**.

No caso da zona alifática da di-hidrocurmarina **132b** o próton H-4 surge sob a forma de duplo duplete, enquanto os prótons H-3 já não são equivalentes, por isso apresentam

valores de ressonância iguais e, os seus sinais, surgem sob a forma de duplo duplete (Figura 20).

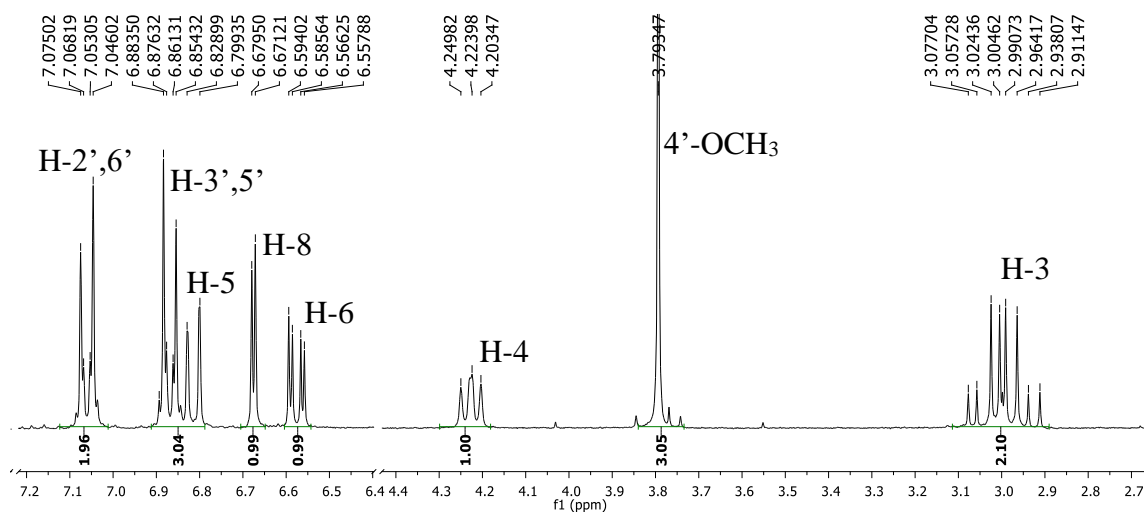


Figura 20 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 7-hidroxi-4-(4-metoxifenil)-2H-croman-2-ona **132b**.

A caracterização total destes derivados de di-hidrocurmarinas **132a-b** e **137a-b**, isto é o assinalamento de todos os sinais presentes nos respetivos espectros de RMN de ^{13}C e a comprovação inequívoca da estrutura aqui proposta, foi possível através dos espectros bidimensionais HSQC e HMBC. As correlações detetadas no espectro de HMBC, e das quais se destacam as apresentadas pelo protão H-4 (Figura 21), possibilitam a distinção inequívoca destes isómeros: i) H-4 no isómero **137** correlaciona-se com o carbono C-5 (que está ligado ao grupo hidroxilo) e também com o carbono do carbonilo (Figura 21A), enquanto no isómero **132**, se verifica que o protão H-5 correlaciona com o carbono C-4 (Figura 21B).

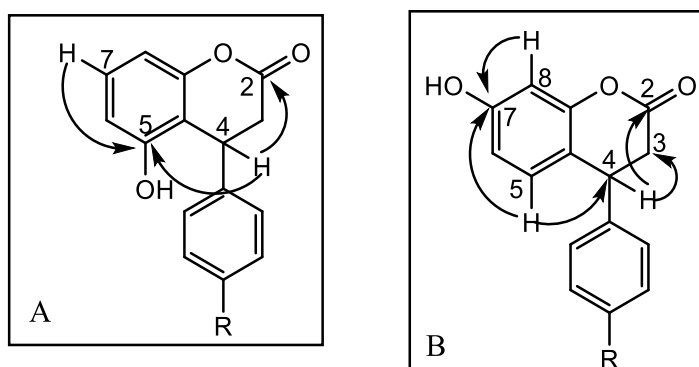
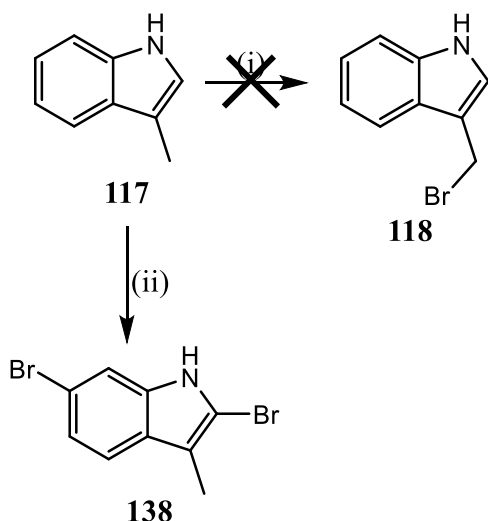


Figura 21 – Correlações mais significativas detetadas nos espectros de HMBC; A) detetadas no espectro das di-hidrocurmarinas **137**; B) detetadas no espectro das di-hidrocurmarinas **132**.

2. Halogenação de indóis

Tal como foi referido nos objetivos deste trabalho, era essencial a síntese de alguns derivados de indóis (Figura 10) e iniciou-se essa tarefa com a bromação do 3-metil-indol **115** usando *N*-bromosuccinimida (NBS) na presença de peróxido de benzoílo (Esquema 29). As primeiras tentativas, seguindo o protocolo descrito na literatura,¹¹⁶ não foram frutíferas. Alterações sequenciais nas quantidades de reagentes e na sequência de adição também não produziram resultados positivos. No entanto, o aumento do tempo de reação para 24 h em conjunto com o aumento da quantidade de NBS (1,3 equiv para 2,5 equiv), possibilitou detetar a formação de um novo produto. Após purificação e análise do espectro de RMN de ¹H (Figura 22) foi possível verificar que não era o produto pretendido, o 3-bromometil-indol **118**, mas antes o 2,6-dibromo-3-metil-indol **138** (Esquema 29). A característica mais evidente é a presença de um sinal a δ 2,23 ppm, em forma de singuleto, que integra para três prótons, ou seja, correspondente à ressonância dos prótons do grupo 3-metilo (Figura 22). Observam-se também a falta dos sinais correspondentes aos prótons aromáticos do 3-metil-indol **115**, enquanto os sinais a δ 7,34 e 7,42 ppm (Figura 22) são condizentes com a ocorrência de substituições nas posições 2 e 6 no núcleo do 3-metil-indol. Ou seja, o produto sintetizado seria o 2,6-dibromo-3-metil-indol **138** (Esquema 29). Os espectros de RMN de ¹³C e bidimensionais HSQC e HMBC permitiram comprovar esta conclusão.



Esquema 29 – Síntese do 2,6-dibromo-3-metil-indol **138**. Reagentes e condições: i) NBS, peróxido de benzoílo, α,α,α -trifluorotolueno, refluxo, 7 h; ii) NBS, peróxido de benzoílo, α,α,α -trifluorotolueno, refluxo, 24 h.

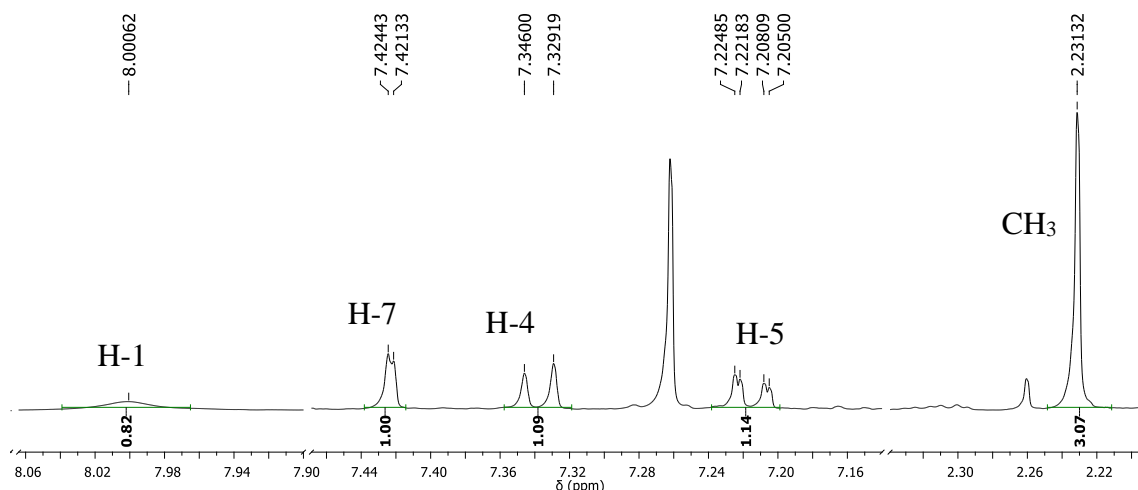
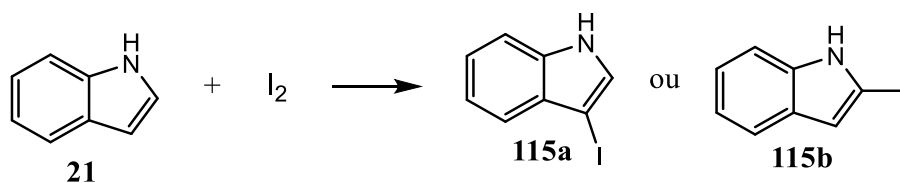


Figura 22 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H do 2,6-dibromo-3-metil-indol **138**.

Em seguida tentou-se a 3-iodação do indol **21**, usando o método de síntese descrito por Bhavani *et al.*¹¹⁷, em que se faz reagir o indol com iodo, em dimetilformamida (DMF), à temperatura ambiente. Não se tendo observado a formação de novos produtos com este método, foi testado o método descrito por Rocha,¹¹⁶ que envolve o tratamento com iodo na presença de K_2CO_3 (Esquema 30). Neste caso detetou-se a formação de um novo produto, que não foi possível isolar após várias tentativas de purificação. Esta fraca estabilidade do produto levou-nos a obter um espectro de RMN de ^1H da mistura reacional (Figura 23), que mostra ter ocorrido a substituição de um dos átomos de hidrogénio, podendo ser o H-2 ou o H-3.



Esquema 30 – Síntese do 2- ou 3-iodo-indol. Reagentes e condições: K_2CO_3 , tolueno, temperatura ambiente, 7 h.

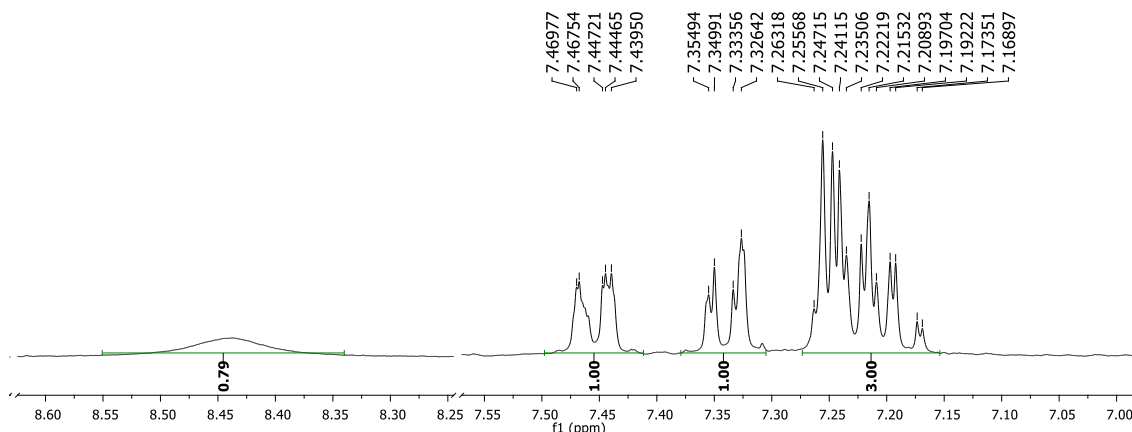
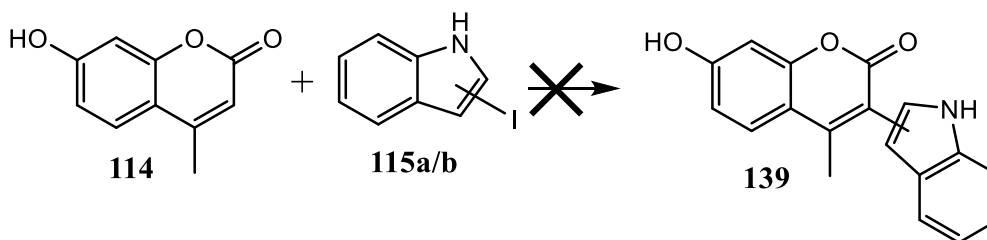


Figura 23 – Espectro de RMN de ^1H do 2- ou 3-iodo-indol.

A possibilidade de ocorrência de degradação durante a purificação levou-nos a tentar a reação de acoplamento com a cumarina **114** sem purificação do iodo-indol **115a/b**. Foi testado o método de síntese de Bhavani *et al.*,¹¹⁷ e posteriores modificações, contudo em nenhuma das condições foi obtido o híbrido **140** pretendido (Esquema 31).

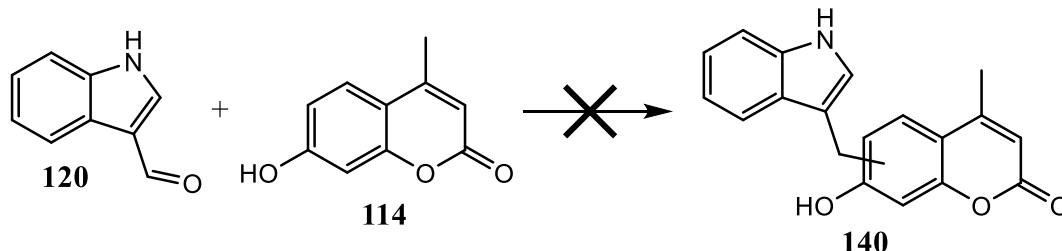


Esquema 31 – Síntese da díade indolcumarina **140**. Reagentes e condições: Pd/C(10%), PPh₃, Et₃N, em DMF.

3. Síntese de 3,3'-[(4-cloro-2-fenil-2H-cromen-3-il)metileno]bis(1H-indol)

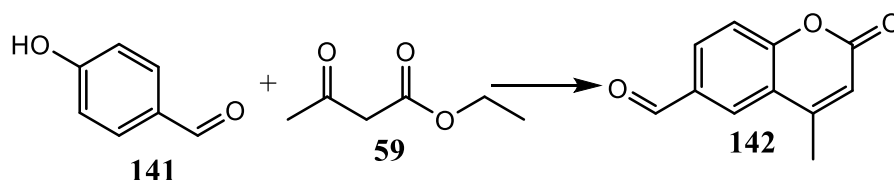
Tendo em conta a impossibilidade de sintetizar os indóis halogenados, tentaram-se vias alternativas para preparar as díades pretendidas, como sendo usar o 3-formil-indol **120** e testar a sua reatividade com a cumarina **114**. Inicialmente, tentou-se fazer reagir o composto **120** (1 equiv) com o composto **114** (3 equiv), a 130°C e em DMSO, e obtiveram-se só os reagentes de partida. Tentou-se então realizar a reação em meio básico para ativar as posições favorecidas pelos grupos hidroxilos. Começou-se por tratar o composto **114** (3 equiv) com K₂CO₃ (3 equiv), em DMSO e à temperatura ambiente, e depois foi adicionado o composto **120** (1 equiv) e deixou-se a agitar a 130°C, e também se obtiveram só os reagentes de partida. Então, mantendo o procedimento anterior, decidiu-se usar NaH (2 equiv), no qual, se obteve então os mesmos resultados. Por fim, decidiu-se aumentar a

quantidade de NaH na reação, de 2 equiv para 4 equiv, mas também só se obtiveram os reagentes de partida (Esquema 32). Infelizmente, e pelo que foi aferido, todas as tentativas, envolvendo variações de temperatura, catálise e tempo de reação não resultaram.

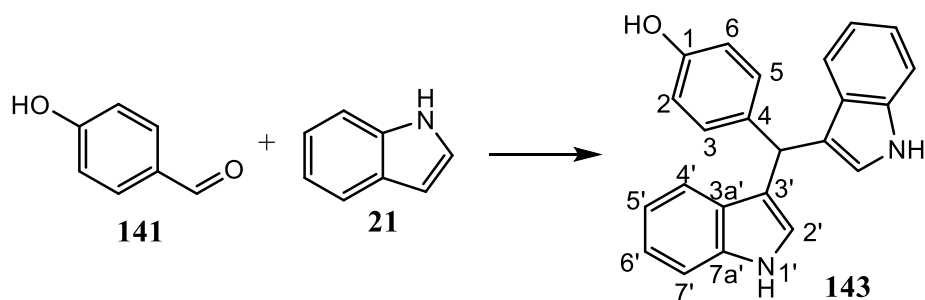


Esquema 32 – Proposta de síntese da díade indolcumarina **140**. Reagentes e condições: NaH, DMSO, 130°C.

Tendo em conta estes resultados, decidiu-se alterar a estratégia, fazendo reagir o indol **21** com uma formilcumarina. O *p*-hidroxibenzaldeído **141** pode ser usado na síntese da 6-formilcumarina **142**, usando a AMB-15 como catalisador (Esquema 33). No entanto, antes de testar a síntese da cumarina **142**, era importante verificar se o indol **21** reagia com compostos do tipo benzaldeído. Deste modo, foi usado o *p*-hidroxibenzaldeído **141** para testar a reação com o indol **21**, seguindo as condições reacionais propostas por Sosnovskikh *et al.*¹¹⁸ Após algumas alterações ao método e otimização de condições de reação foi possível obter um novo produto, cuja caracterização revelou ser o 4-[di(1*H*-indol-3-il)metil]fenol **143** e obteve-se com um rendimento de 60% (Esquema 34).



Esquema 33 – Proposta de síntese da 6-formil-4-metil-2*H*-cromen-2-ona **142**. Reagentes e condições: AMB-15, tolueno.



Esquema 34 – Síntese do 4-[di(1*H*-indol-3-il)metil]fenol **143**. Reagentes e condições: DMSO, 130°C, 24 h.

A análise da estrutura do derivado de fenol **143** mostra que apresenta um eixo de simetria, pelo que o espectro de RMN de próton é bastante simples de analisar (Figura 24). Destacam-se os sinais correspondentes aos prótons da unidade do fenol, dois dupletos a δ 6,76 e 7,22 ppm, característicos de um anel *para*-substituído, estando os prótons H-2,6 mais protegidos devido ao efeito protetor do grupo hidroxilo (Figura 24). Os sinais correspondentes aos prótons das unidades de indol surgem com os desvios químicos e multiplicidades esperados e a integração demonstra a presença de duas unidades. Podemos observar os sinais em forma de duplo duplete de dupletos correspondentes aos prótons H-5' e H-6', os em forma de duplo duplete correspondentes aos prótons H-4' e H-7' (Figura 24), sendo que estas multiplicidades resultam de acoplamentos *orto* e *meta*. O sinal correspondente ao próton H-2' surge a δ 6,79 ppm sob a forma de um duplete devido ao acoplamento com o próton metínico. Também se observa o sinal do próton H-1', característico de um próton lábil e bastante desprotegido (Figura 24). Por fim, resta referir o sinal em forma de singuleto largo a δ 5,83 ppm, correspondente ao próton metínico [4-CH(Indol)₂] (Figura 24).

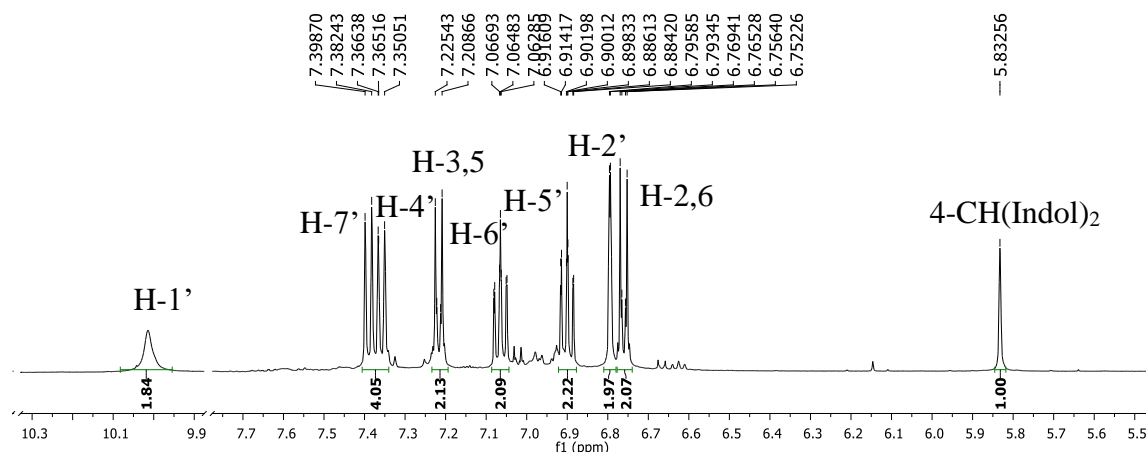


Figura 24 – Ampliação do espectro de RMN de ¹H de 4-[di(1*H*-indol-3-il)metil]fenol **143**.

A caracterização total e o assinalamento inequívoco de todos os sinais do espectro de RMN de ¹³C do 4-[di(1*H*-indol-3-il)metil]fenol **143** foi possível com a obtenção dos espectro bidimensionais HSQC e HMBC. Neste último foram detetadas correlações importantes que, não só possibilitaram confirmar a estrutura proposta, mas também assinalar os sinais correspondentes aos carbonos não ligados a prótons (Figura 25). Em particular destacam-se as correlações do próton H-2' que provam a substituição em C-3'.

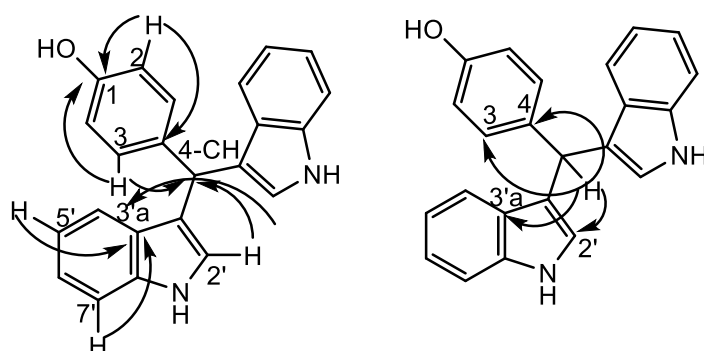
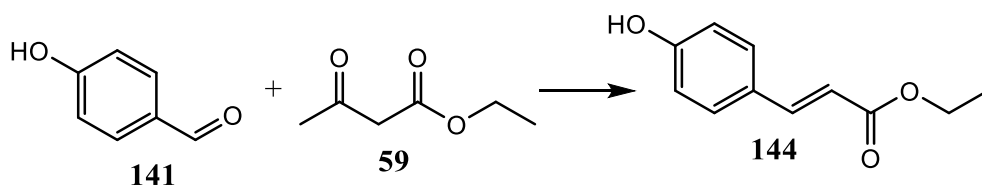


Figura 25 – Representação das correlações mais importantes detetadas no espectro de HMBC do 4-[di(1*H*-indol-3-il)metil]fenol **143**.

Tendo ocorrido com relativo sucesso a reação do indol **21** com o *p*-hidroxibenzaldeído **141**, resolveu-se tentar a reação para obter 6-formil-4-metilcumarina **142** (Esquema 33). Ao fim de 24 h de reação foi isolado e caracterizado o novo produto obtido, o *p*-hidroxicinamato de etilo **144**, cujo rendimento foi de 55% (Esquema 35). Ou seja, ocorreu uma reação tandem, envolvendo uma condensação aldólica do grupo metileno do acetoacetato de etilo **59** com o benzaldeído e uma desacetilação.



Esquema 35 – Síntese do *p*-hidroxicinamato de etilo **144**. Reagentes e condições: AMB-15, tolueno, refluxo, 24 h.

A caracterização do *p*-hidroxicinamato de etilo **144** foi feita por RMN. No espectro de RMN de ^1H (Figura 26) são bem visíveis os dupletos correspondentes ao sistema vinílico, a δ 6,30 e 7,64 ppm, que apresentam uma constante de acoplamento $J = 16,0$ Hz, característica de uma configuração *E*. São também visíveis os sinais em forma de dupletos, a δ 6,86 e 7,42 ppm, correspondentes aos prótons do anel aromático *para*-substituído, respetivamente atribuídos aos prótons H-3',5' e H-2',6', tendo em conta o efeito protetor do grupo hidroxilo. Por fim, temos os sinais característicos do grupo etilo, um sinal em forma de quarteto a δ 4,26 ppm, correspondente aos prótons H-1'', e o sinal em forma de triplete a δ 1,34 ppm, correspondente aos prótons H-2'' (Figura 26). Naturalmente foram efetuados outros estudos por RMN, incluindo RMN de ^{13}C e espectro bidimensionais, que garantiram a estrutura aqui proposta.

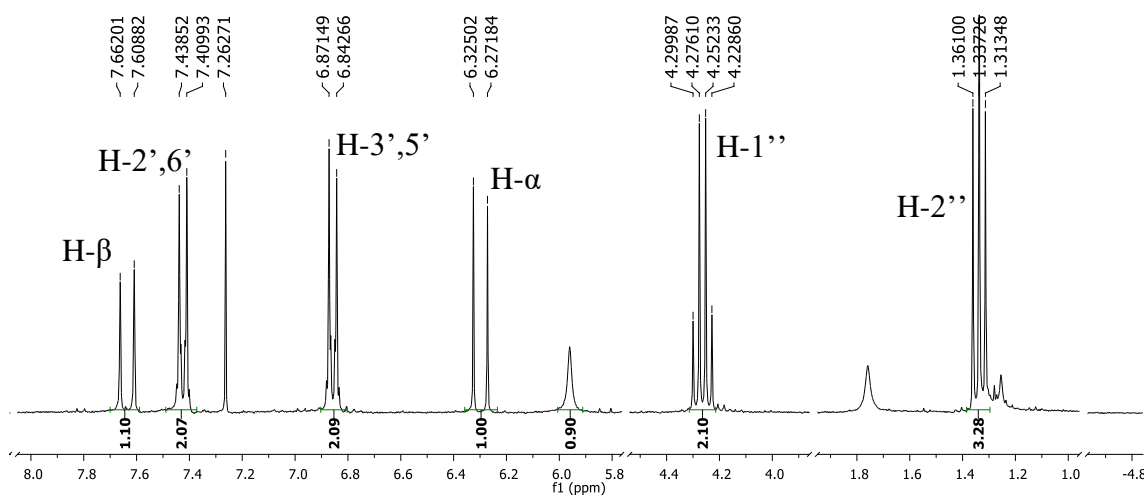
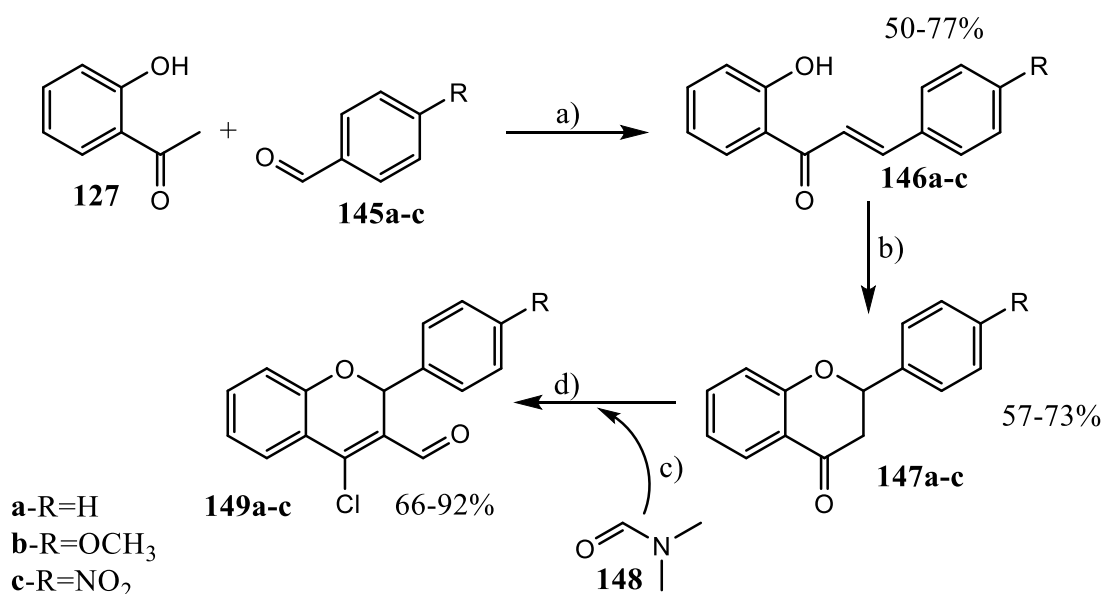


Figura 26 – Ampliações do espectro de RMN de próton do *p*-hidroxicinamato de etilo **144**.

A existência no grupo de competências na síntese de outros derivados de benzopiranos formilados aliada ao bom resultado da reação do indol **21** com o *p*-hidroxybenzaldeído **141**, levou-nos à síntese desses benzopiranos seguindo protocolos eficientes que envolvem a síntese de derivados de 2'-hidroxicalcona **146a-c**, por

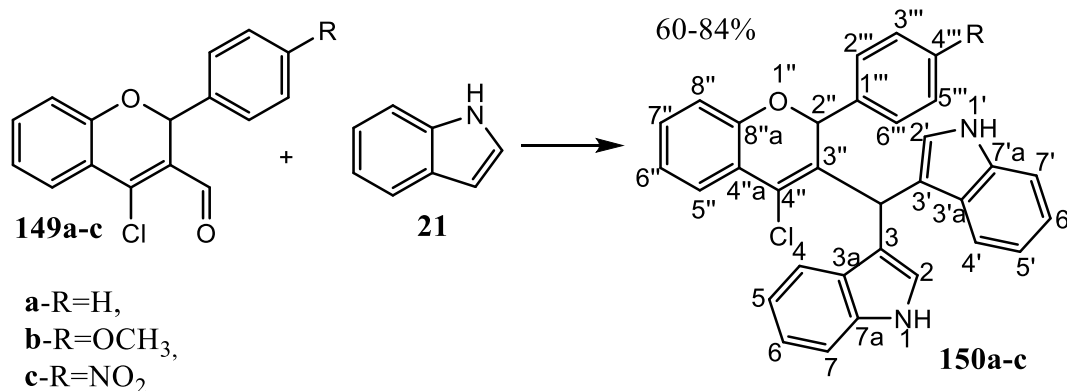
condensação aldólica entre a 2'-hidroxiacetofenona **127** e benzaldeídos **145a-c**, e posterior ciclização em flavanonas **147a-c**, por tratamento das primeiras com esponja de protões. Por fim, a formilação das flavanonas para obtenção dos 2-aryl-4-cloro-3-formil-2*H*-cromenos **149a-c** (Esquema 36). A 2'-hidroxicalcona **146a**, a 2'-hidroxi-4-metoxicalcona **146b** e a 2'-hidroxi-4-nitrocalcona **146c** foram sintetizados usando o método descrito por Barros *et al.*¹¹⁹ As flavanonas **147a-c** foram sintetizadas a partir das respectivas 2'-hidroxicalconas **146a-c** e formiladas usando métodos descritos na tese de Rocha,¹¹⁶ para sintetizar os respectivos 2-aryl-4-cloro-3-formil-2*H*-cromenos **149a-c** (Esquema 36). Todos os compostos foram obtidos com rendimentos idênticos aos reportados na literatura e a caracterização por RMN comprovou as estruturas correspondentes.



Esquema 36 – Síntese de 2-aryl-4-cloro-2*H*-cromeno-3-carbaldeídos **149a-c**. Reagentes e condições: a) R = H, OCH₃ - NaOH (60%), em metanol, 4 h; R = NO₂ - NaH, em THF, sob atmosfera de nitrogénio, 8 h; b) Esponja de protões, em CH₃OH/CH₂Cl₂ (1:1), sob atmosfera de nitrogénio, 29 h; c) DMF seco, POCl₃, sob atmosfera de nitrogénio, 15 min; d) 60°C, sob atmosfera de nitrogénio, 12 h.

Iniciou-se o estudo da reação dos derivados de benzopirano formilados **149** com o indol **21**, usando o derivado não substituído, o 2-fenil-3-formil-4-cloro-2*H*-cromeno **149a** e otimizando as condições reacionais (Esquema 37). Deste modo, a uma solução de **149a**, em DMSO (2 mL), foi adicionado um excesso de indol **21** (3,5 equiv) e esta mistura foi aquecida a 130°C durante 24 h. Após purificação e análise do espectro de RMN de ¹H verificou-se que foi obtida a díade cromeno-indol, 3,3'-[(4-cloro-2-fenil-2*H*-cromen-3-il)metileno]bis(1*H*-indol) **150a** pretendida e em bom rendimento (79%) (Esquema 37). As condições ótimas

foram usadas com sucesso na síntese das restantes díades **150b-c**, tendo algumas grupos dadores e sacadores de eletrões, cujos rendimentos foram de 84% para **150b** e 60% para **150c**. Verificou-se que a presença destes grupos pode afetar a reatividade do grupo 3-formilo dos cromenos **149**, principalmente grupos sacadores de eletrões.



Esquema 37 – Síntese de díades cromeno-indol **150**. Reagentes e condições: 130°C, DMSO, 24 h.

O espectro de RMN de ^1H do 3,3'-[[4-cloro-2-(4-nitrofenil)-2*H*-cromen-3-il]metileno]bis(1*H*-indol) **150c** (Figura 27) apresenta a δ 10,61 e 11,16 ppm os sinais em forma de duplete correspondentes às ressonâncias dos prótons NH das unidades de indol. Estes prótons apresentam elevados desvios químicos devido a estarem ligados ao átomo de nitrogénio e o seu sinal em forma de duplete é devido ao acoplamento com os prótons H-2 e H-2', respetivamente. Estes, por sua vez surgem, também sob a forma de dupletos a δ 6,75 e 7,56 ppm, respetivamente, sendo que o próton H-2', além do desprotetor anisotrópico da ligação dupla sente também o efeito desprotetor do anel aromático 4-nitrofenilo. Outros dois sinais característicos são os singuletos a δ 6,14 e 6,26 ppm correspondentes, respetivamente, ao próton metínico (3-CHC*ro*Ind) e ao próton H-2''. Há ainda outros sinais fáceis de assinalar, pois surgem com as multiplicidades e desvios esperados, como sejam os dos prótons H-5'', H-4, H-4', H-7'' e H-8'' (Figura 27). Os restantes prótons da molécula apresentam ressonâncias muito próximas, pelo que surgem sob a forma de multipletos. No entanto, é possível detetar nesses multipletos dois dupletos, um a cerca de δ 6,9 ppm e outro a cerca de δ 7,4 ppm, correspondentes aos prótons do anel 4-nitrofenilo, estando os prótons H-3''',5''' *orto* em relação ao grupo nitro mais desprotegidos (Figura 27). Estes dados sugerem que ao contrário do derivado de fenol **143** (Esquema 34) estas díades **150** (Esquema

37) não apresentam nenhum eixo de simetria, provavelmente devido à impossibilidade de livre rotação do C-3''-CH(Indol)₂ e à presença do carbono quiral C-2''.

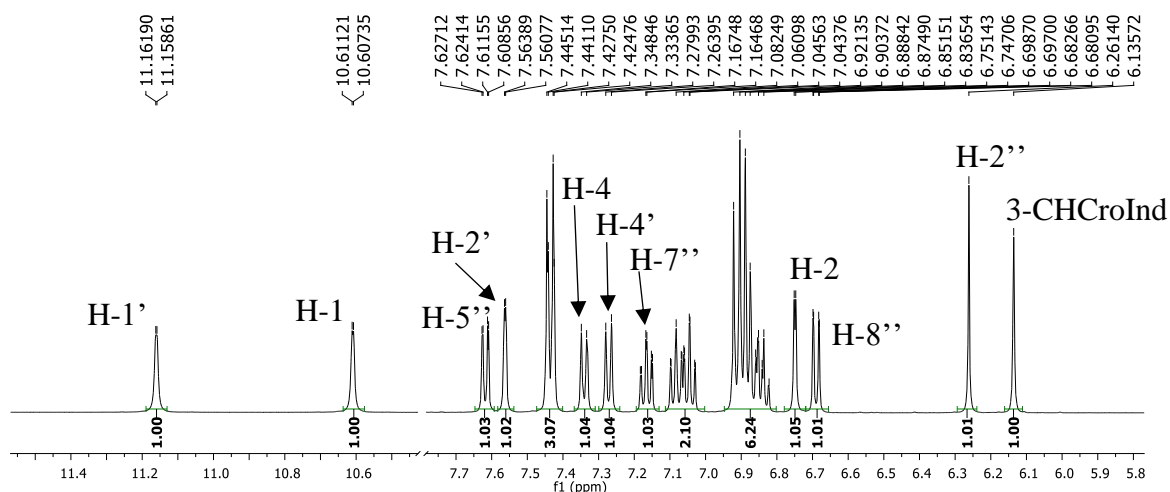


Figura 27 – Ampliações do espectro de RMN de ¹H da díade **150c**, (Cro = unidade de cromo; Ind = unidade de indol)

Naturalmente a caracterização das díades indol-cromenos envolveu a obtenção do espectro de RMN de ¹³C e assinalamento de todos os sinais, tal como se apresenta na secção “Materiais e Métodos”. Esse assinalamento foi possível com a obtenção dos espectros bidimensionais HSQC e HMBC. O espectro bidimensional HMBC foi particularmente útil para o assinalamento dos carbonos não ligados a protões e para detetar as correlações do protão H-2'' e do protão metínico (Figura 28). A obtenção do espectro de massa possibilitou, não só confirmar a massa molecular do composto, mas também confirmar a presença do átomo de cloro, devido aos picos a m/z 554 e 556 característicos do padrão isotópico do cloro (salienta-se que estes picos correspondem aos iões fragmento [M+Na]⁺, respetivamente para o ³⁵Cl e ³⁷Cl).

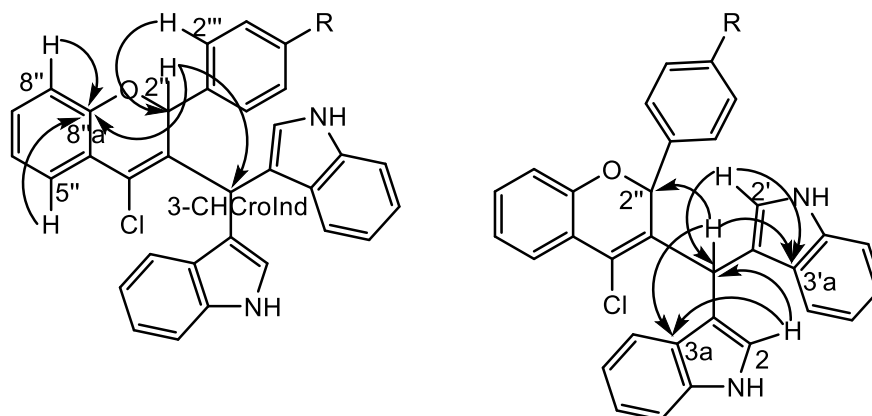


Figura 28 – Correlações mais relevantes do espectro de HMBC das díades indolcromenos.

No caso do espectro de RMN de ^1H do 3,3'-[[4-cloro-2-(4-metoxifenil)-2*H*-cromen-3-il]metileno]bis(1*H*-indol) **150b** (Figura 29) há apenas a salientar o aparecimento do sinal em forma de singuleto, a δ 3,50 ppm, correspondente à ressonância dos prótons do grupo metoxilo do 4-metoxifenilo. Por outro lado, a ressonância dos prótons deste anel sofre desvios acentuados, devido à presença de um grupo protetor (ver sinais, em forma de duplete, correspondentes aos prótons H-2''',6''' e H-3''',5''', Figura 26).

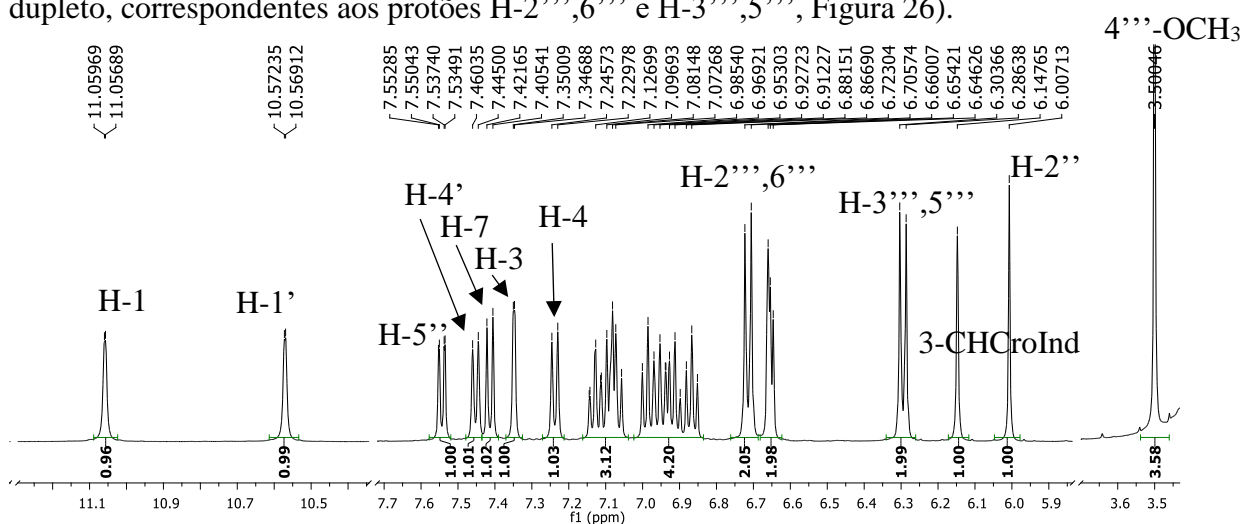


Figura 29 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da díade **150b**, (Cro = unidade de cromeno; Ind = unidade de indol).

No caso do 3,3'-[(4-cloro-2-fenil-2*H*-cromen-3-il)metileno]bis(1*H*-indol) **150a** o espectro de RMN de ^1H (Figura 30) é mais complicado de analisar pois os prótons apresentam ressonâncias com desvios químicos muito semelhantes pelo que surgem sob a forma de multipletos. No entanto, os sinais mais característicos, como o próton H-2'' e o próton metínico são facilmente identificados (Figura 27, Figura 29 e Figura 30). Os restantes sinais de ^1H , tal como os do espectro de RMN de ^{13}C , foram assinalados com recurso aos espectros bidimensionais HSQC e HMBC.

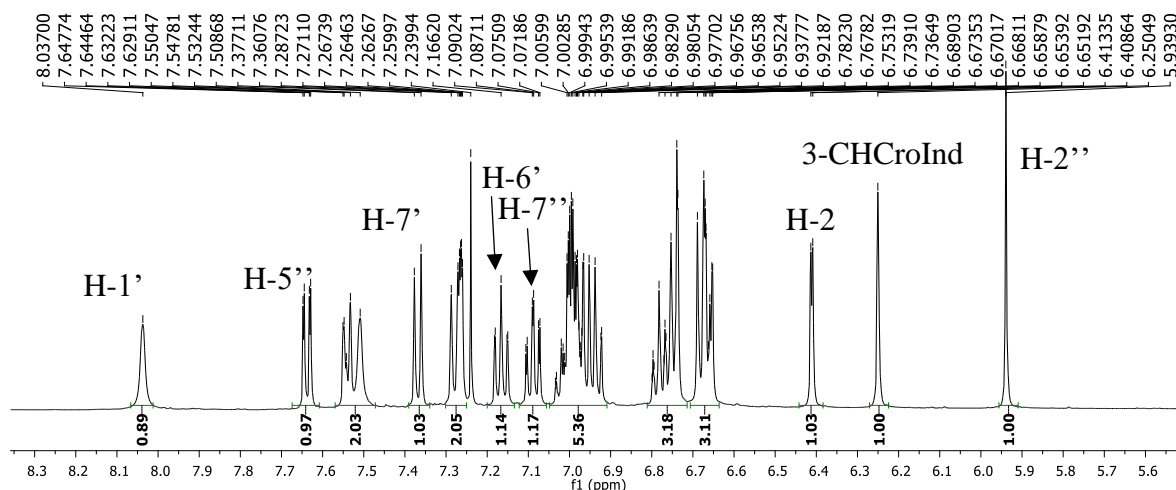


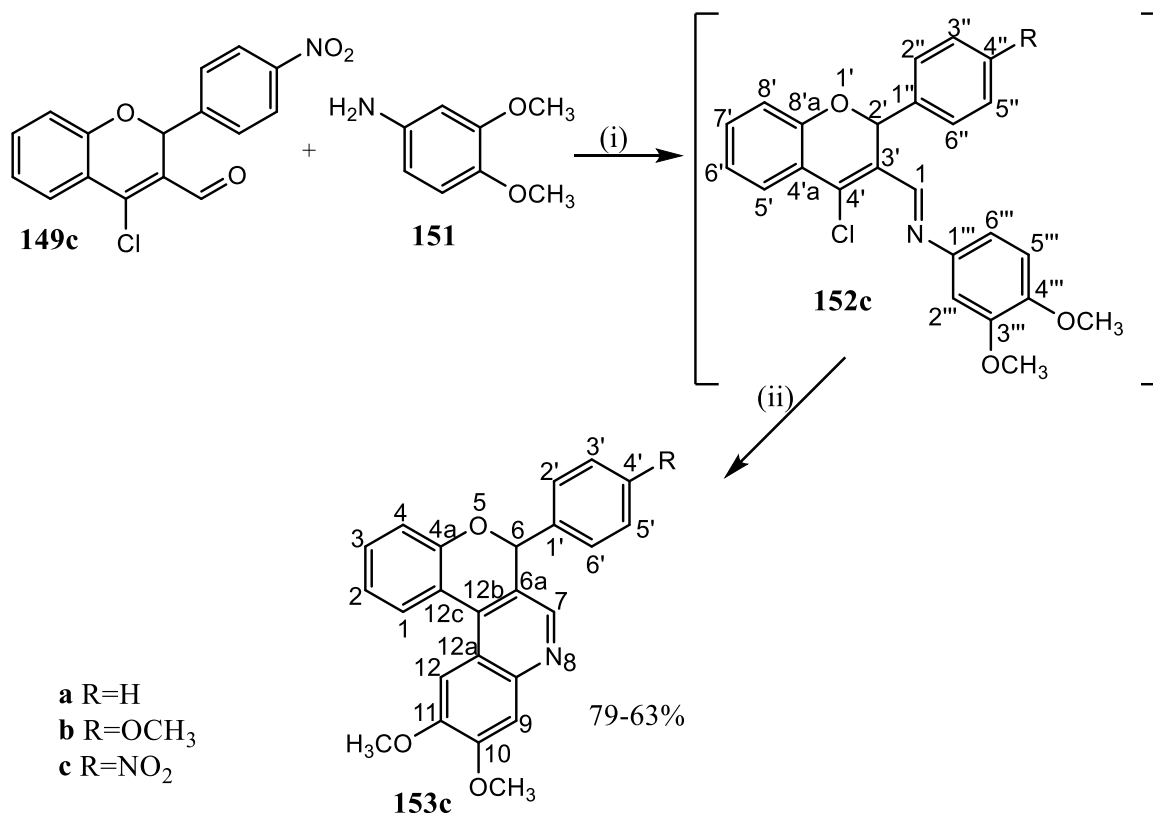
Figura 30 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da díade **150a**, (Cro = unidade de croeno; Ind = unidade de indol).

4. Síntese de 6-aryl-10,11-dimetoxi-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolina

No seguimento do estudo da reatividade dos 2-aryl-3-formil-4-cloro-2*H*-cromenos **149** (Esquema 36), foi decidido estudar a sua reação com derivados de anilina. Iniciou-se o estudo fazendo reagir o 4-cloro-3-formil-2-(4-nitrofenil)-2*H*-cromeno **149c** com a 3,4-dimetoxianilina **151** (Esquema 38), seguindo um protocolo reportado na literatura para a síntese de compostos heterocíclicos nitrogenados a partir de derivados de aldeídos e aminas.¹²⁰ Este consistiu no tratamento de uma solução de 4-cloro-3-formil-2-(4-nitrofenil)-2*H*-cromeno **149c** em diclorometano (DCM) com a 3,4-dimetoxianilina **151** à temperatura ambiente durante 30 min. Após esse período foi adicionado ácido trifluoroacético (TFA) e a mistura ficou a agitar durante 48 h. A análise por tlc da mistura reacional indicou a presença de dois novos produtos e do benzocromeno **149c**. Após purificação e análise dos espectros de RMN os produtos foram identificados como sendo a 1-[4-cloro-2-(4-nitrofenil)-2*H*-cromen-3-il]-*N*-(3,4-dimetoxifenil)metanimina **152c**, com um rendimento de 9%, e a 10,11-dimetoxi-6-(4-nitrofenil)-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolina **153c**, com um rendimento de 50% (Esquema 38).

As características estruturais do derivado de imina **152c** e o facto de ainda se ter recuperado benzocromeno **149c** por reagir, sugerem que o tempo de cada um dos passos reacionais deveria ser maior e que a quantidade de TFA fosse aumentada, para que, no segundo passo, houvesse uma maior transformação de **152a-c** para **153a-c**. Deste modo, as condições foram otimizadas, por forma a ter uma transformação total do benzocromeno **149c**

em imina **152c**, que de seguida, *in situ* e por catálise ácida, sofrer uma ciclização intramolecular (Esquema 38). O método foi aplicado aos outros benzocromeno **149a,b** e, aparentemente com sucesso, embora, na reação com **149a** ainda se tenha obtido a imina **152a**, com um rendimento de 17%.



Esquema 38 – Síntese da 10,11-dimetoxi-6-(4-nitrofenil)-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolina **153c**, Reagentes e condições: (i) DCM, 1,5 h; (ii) TFA, 72 h.

O composto **152c** foi caracterizado por RMN, e no espectro de ¹H (Figura 31) foram identificados os prótons dos dois grupos metoxilo, os dois singuletos que aparecem a δ 3,90 e 3,92 ppm. A δ 8,87 ppm surge um sinal em forma de singuleto típico de prótons ligados a carbonos envolvidos numa ligação imina, sendo, por isso, atribuído ao próton H-1. São facilmente detetados os sinais correspondentes aos prótons do núcleo benzocromeno, que surgem com as multiplicidades e os desvios químicos esperados (Figura 31). O sistema AB característico de um anel aromático *para*-substituído foi também observado, estando o sinal em forma de duplete correspondente aos prótons H-3'',5'' a δ 8,11 ppm, pois sente o efeito desprotetor do grupo nitro. Por fim, entre δ 6,81 e 6,87 ppm surgem sinais em forma de

multiplete com uma integração correspondente a quatro prótons, isto é, aos que faltam e pertencem ao anel 3,4-dimetoxifenil e ao próton H-2' (Figura 31).

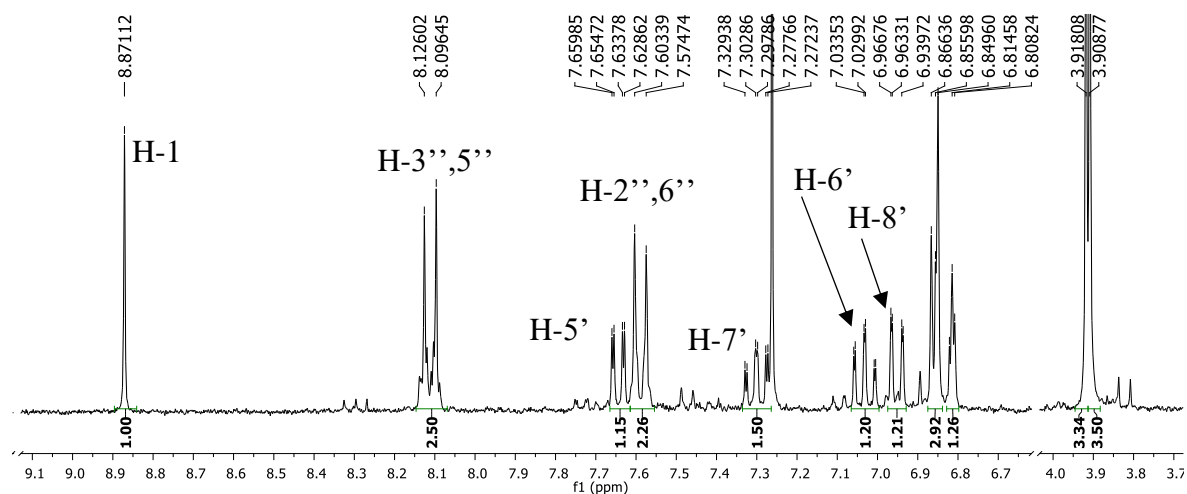


Figura 31 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 1-[4-cloro-2-(4-nitrofenil-2H-cromen-3-il)]-N-(3,4-dimetoxifenil)metanimina **152c**.

O espectro de RMN de ^{13}C , cujo assinalamento inequívoco foi possível com a ajuda dos espectros bidimensionais HSQC e HMBC, veio comprovar a estrutura proposta para este composto. É possível identificar os carbonos dos quais se pode salientar o C-2' que aparece a δ 75,0 ppm por ser um carbono alifático e estar ligado a um átomo eletronegativo, o C-3''' e C-4''' que surgem a δ 148,8 e 149,5 ppm, respetivamente, por serem aromáticos e ambos estarem ligados a átomos eletronegativos, e o C-1, carbono olefínico e ligado a um átomo eletronegativo, surge a δ 152,5 ppm.

A análise do espectro HMBC, não só possibilita o assinalamento dos carbonos não ligados a prótons, como também mostra correlações importantes que comprovam a estrutura proposta (Figura 32), como sejam as correlações entre o próton H-1 e os carbonos C-2', C-3' e C-1'''.

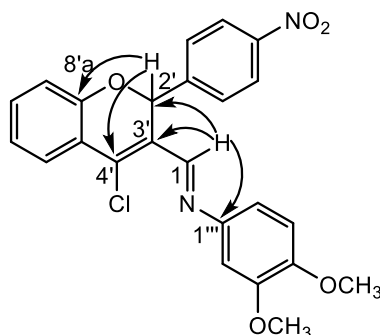


Figura 32 – Correlações detetados no espectro bidimensional HMBC da diáde **152c** para os prótons H-1 e H-2'.

O espectro de RMN de ^1H da 10,11-dimetoxi-6-(4-nitrofenil)-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolina **154c** (Figura 33) mostra, a δ 3,97 e 4,08 ppm os sinais em forma de singuleto correspondentes aos grupos metoxilo, 11-OCH₃ e 10-OCH₃, respectivamente. Os sinais em forma de duplete do sistema AB correspondentes aos prótons do grupo 6-(4-nitrofenilo) também são facilmente identificados a δ 7,65 e 8,28 ppm, respectivamente para os prótons H-2',6' e H-3',5', estando estes últimos mais desprotegidos pelo grupo nitro. Também são facilmente assinalados os sinais do núcleo benzocromeno, pois são semelhantes aos encontrados no espectro do derivado **149c**, sendo que neste caso o sinal em forma de singuleto correspondente ao próton H-6 é facilmente detetado a δ 6,44 ppm (Figura 33).

Os sinais em forma de singuleto a δ 6,93, 7,32 e 7,50 ppm, são muito provavelmente dos mais importantes, pois correspondem às ressonâncias dos prótons H-9, H-7 e H-12, respectivamente, prótons estes que caracterizam o núcleo quinolina. Salienta-se que o próton H-9 apresenta menor desvio químico devido ao efeito protetor do grupo metoxilo, enquanto o próton H-12 está sob a influência do efeito desprotetor do anel aromático do núcleo benzocromeno e daí surgir a maior desvio químico.

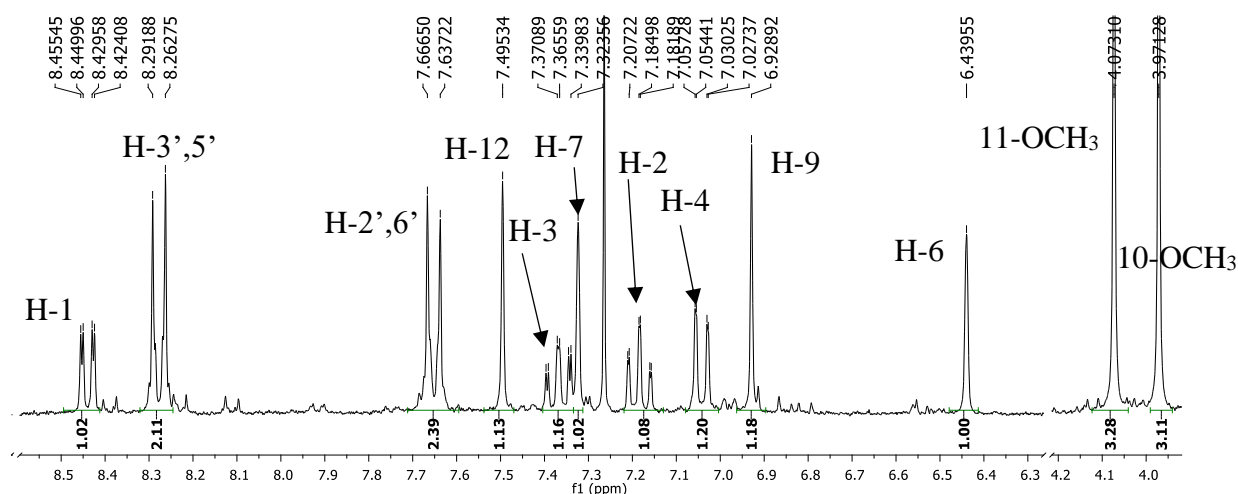


Figura 33 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 10,11-dimetoxi-6-(4-nitrofenil)-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolina **153c**.

O espectro de RMN de ^{13}C , cujo assinalamento inequívoco foi possível com a ajuda dos espectros bidimensionais HSQC e HMBC, veio comprovar a estrutura proposta para este composto. É de salientar alguns sinais de carbono como por exemplo, o C-6 surge a δ 78,9 ppm, por ser um carbono alifático e está ligado a um átomo eletronegativo, o C-9 e o C-12

são carbonos aromáticos e por isso surgem a δ 105,2 e 107,9 ppm, respectivamente, o C-7 que além de ser um carbono olefínico está ligado diretamente a um átomo eletronegativo aparecendo a δ 131,0 ppm e os C-10 e C-11, que são carbonos aromáticos, estão ligados diretamente a um átomo eletronegativo e por isso aparecem a δ 150,0 e 153,0 ppm, respectivamente.

A análise do espectro HMBC, não só possibilita o assinalamento dos carbonos não ligados a prótons, como também mostra correlações importantes que comprovam a estrutura proposta, como sejam as correlações entre o próton H-6 e os carbonos C-4a e C-12b e as do próton H-7 e os carbonos C-6, C-8a e C-12b (Figura 34).

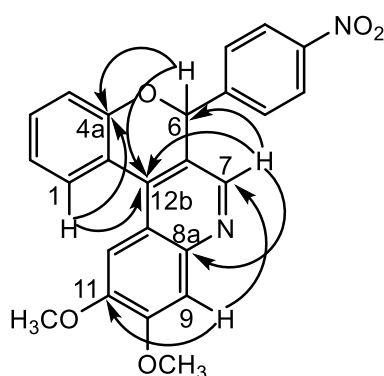


Figura 34 – Correlações detetados no espectro bidimensional de HMBC da 10,11-dimetoxi-6-(4-nitrofenil)-6H-cromeno-[3,4-c]quinolina **153c**.

No caso do espectro de RMN de ¹H da 10,11-dimetoxi-6-(4-metoxifenil)-6H-cromeno[3,4-c]quinolina **153b** (Figura 35) há apenas a salientar o aparecimento do sinal em forma de singuleto, a δ 3,82 ppm, correspondente à ressonância dos prótons do grupo metoxilo do 4-metoxifenilo. Por outro lado, a ressonância dos prótons deste anel sofre desvios acentuados, pois estamos na presença de um grupo protetor. E neste caso, ambos os dupletos, correspondentes aos prótons H-2',6' e H-3',5', encontram-se sobrepostos com outros sinais.

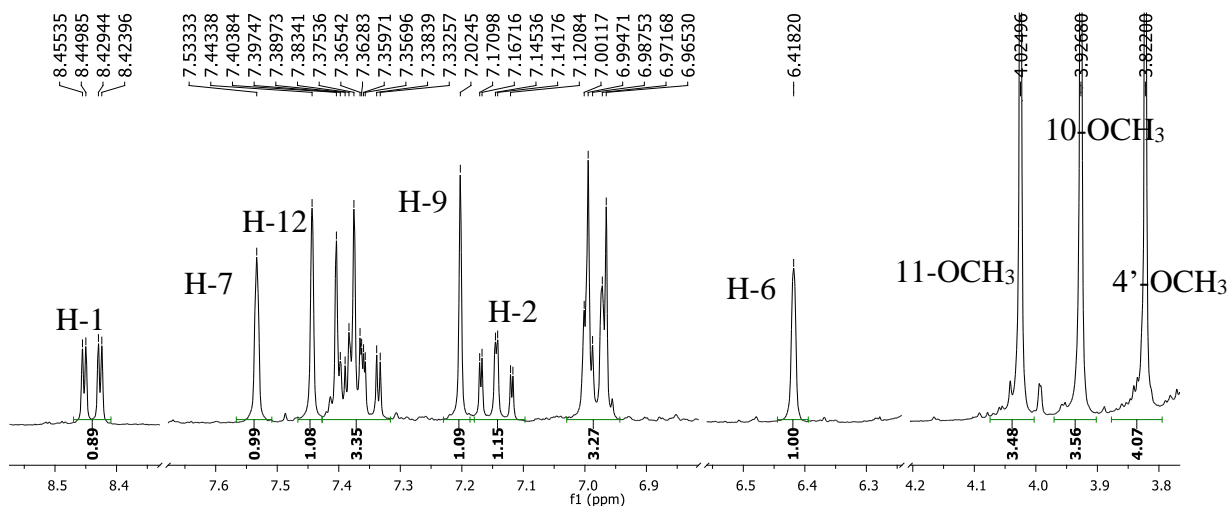


Figura 35 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 10,11-dimetoxi-6-(4-metoxifenil)-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolina **153b**.

Na reação entre o composto **149a** e o composto **151**, nas mesmas condições, foram obtidos os dois compostos **152a** e **153a**. Isto quer dizer que a posição do C-4' do composto **152a** não está tão ativado como nos restantes, senão tinha ocorrido a ciclização para formar o composto **153a**. O composto **152a** foi identificado principalmente por RMN: i) no RMN de ^1H (Figura 36) surge um singuleto a δ 8,84 ppm correspondente ao H-1 e que sente o efeito de anisotropia da ligação dupla e da eletronegatividade do átomo de nitrogénio. Este desvio químico é comum ao composto **152c**.

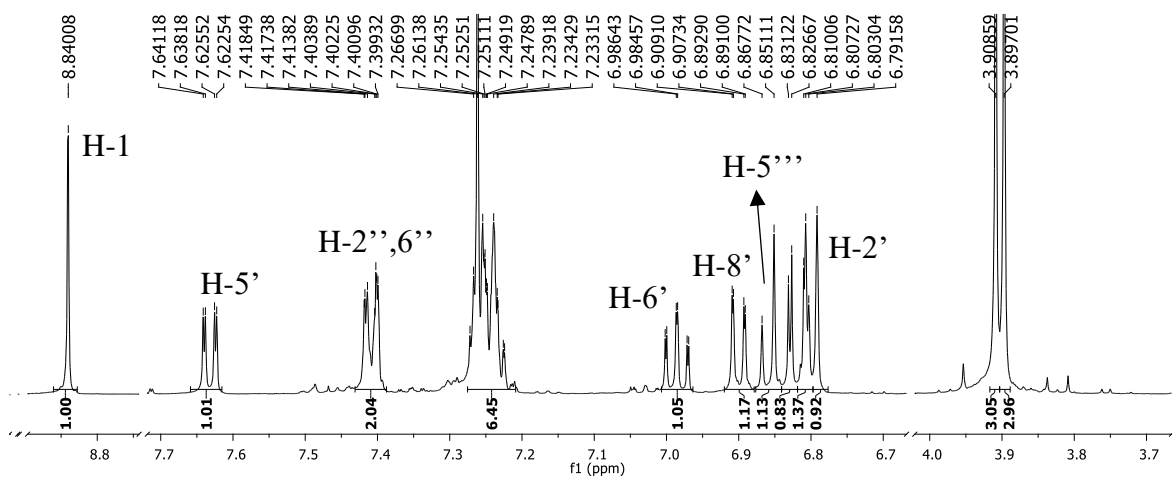


Figura 36 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 1-(4-cloro-2-fenil-2*H*-cromen-3-il)-*N*-(3,4-dimetoxifenil)metanimina **152a**.

No RMN de ^1H da 6-fenil-10,11-dimetoxi-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolina **153a** (Figura 37) pode-se salientar o desaparecimento do sinal que surgia a δ 8,84 ppm (Figura 36), e o aparecimento de quatro singletos pertencentes aos prótons H-6, H-7, H-9 e H-12, que surgem a δ 6,44; 7,30; 6,91 ppm, respectivamente, o sinal do H-12 está no multipeto a δ 7,40 – 7,52 ppm. É de salientar também o sinal a δ 8,45 ppm, que por comparação com os espetros de RMN de ^1H dos compostos **153b** e **153c** (Figura 33 e Figura 35), podemos atribuí-lo ao próton H-1.

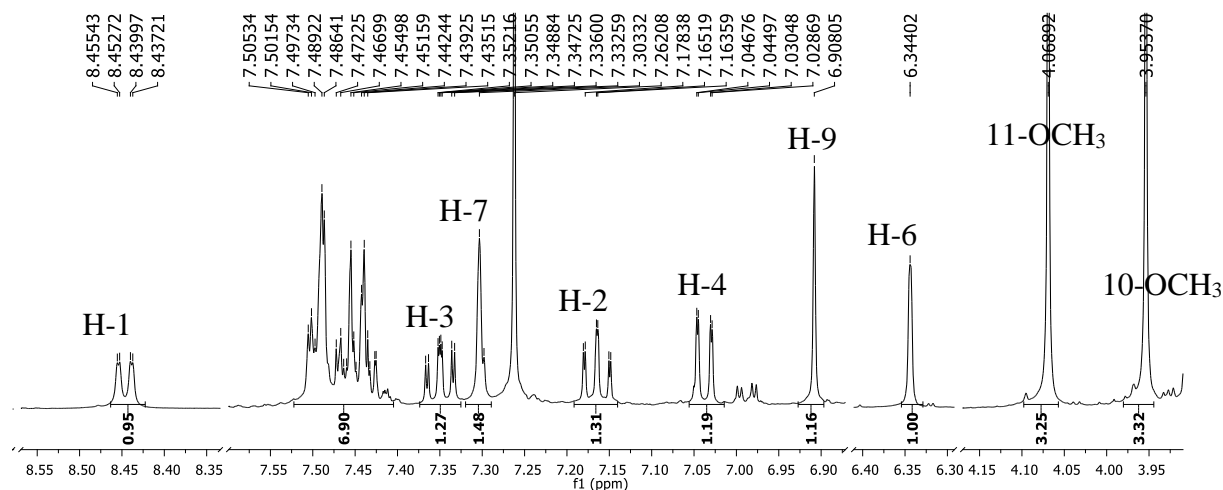


Figura 37 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da 6-fenil-10,11-dimetoxi-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolina **153a**.

Capítulo 4. Conclusões e perspectivas futuras

Ao longo deste trabalho foram sendo planeadas diversas rotas sintéticas cujo objetivo era a síntese de díadas contendo unidades estruturais de cumarinas (benzopireno) e indóis.

Após a realização deste trabalho conclui-se que as metodologias idealizadas para a síntese de derivados de benzopirano funcionaram com sucesso, pois foram obtidos vários derivados em bons rendimentos, dos quais se salientam a 3-fenil-4-metil-2*H*-cromen-2-ona **130**, a 7-hidroxi-4-metil-2*H*-cromen-2-ona **114** e os 2-aril-4-cloro-3-formil-2*H*-cromenos **149**. Além disso, foram encontradas as condições ideais de obtenção da 7-hidroxi-6-(7-hidroxi-4-metil-2-oxocroman-4-il)-4-metil-2*H*-cromen-2-ona **133**, um dímero com uma estrutura bastante interessante, e dos isómeros 4-aril-5-hidroxi-2*H*-croman-2-ona **137** e 4-aril-7-hidroxi-2*H*-croman-2-ona **132**.

A derivatização de derivados de indóis não foi bem-sucedida, razão pela qual se alterou a rota sintética inicialmente prevista para a preparação de díades indolcumarina. Deste modo, foi usado o indol comercial e foi desenvolvido um método eficiente de síntese de díades do tipo 3,3'-[(2-aril-4-cloro-2*H*-cromen-3-il)metileno]bis(1*H*-indol) **150** a partir de 2-aril-4-cloro-3-formil-2*H*-cromenos **149**.

Aproveitando a grande reatividade dos derivados de 2-aril-4-cloro-3-formil-2*H*-cromeno **149** também se desenvolveu um método de síntese de 6-aril-10,11-dimetoxi-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolinas **153**.

Dando continuidade ao trabalho aqui iniciado, será de grande interesse estudar a síntese de mais derivados dos compostos do tipo 4-aril-5-hidroxi-2*H*-croman-2-ona **137** e 4-aril-7-hidroxi-2*H*-croman-2-ona **132**, isto é estudar a reatividade de outros fenóis e/ou ácidos cinâmicos. Por outro lado, o método de síntese de derivados de 6-aril-10,11-dimetoxi-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolinas **153** também pode ser mais explorado, nomeadamente usando outras anilinas.

Por fim, também seria importante avaliar a atividade biológica dos compostos obtidos, em especial a atividade canabinoide, o que não foi possível durante o decurso deste trabalho.

Capítulo 5. Materiais e Métodos

Durante o desenvolvimento deste projeto, foram considerados alguns aspectos em relação às condições e qualidade dos reagentes e equipamentos:

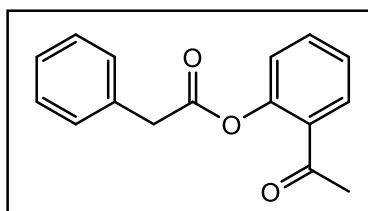
- ✓ Os reagentes comerciais foram usados sem nenhuma purificação prévia;
- ✓ Os solventes usados nas reações e processos de purificação são analiticamente puros ou eram, sempre que necessário, purificados por processos de destilação;
- ✓ Tetra-hidrofurano (THF) foi seco à temperatura de refluxo, na presença de sódio metálico, até à obtenção de uma solução de cor azul, devido à ação da benzofenona, seguiu-se então a sua destilação. A piridina e a dimetilformamida (DMF) foram secas, e para isso foram usados peneiros ativados (*molecular sieves* 4Å) na secagem;
- ✓ A evolução da reação foi controlada com recurso à cromatografia de camada fina (TLC), usando placas laminadas cobertas por sílica gel 60 F254 (Merck), com 0,25mm de espessura e com indicador incorporado. As placas de TLC eram observadas recorrendo ao uso de uma lâmpada ultravioleta (UV) de 254/366nm;
- ✓ As purificações por cromatografia de camada fina preparativa foram conduzidas em placas de vidro (20 x 20cm), previamente cobertas com sílica gel 60 GF254 (Merck), com 0,5mm de espessura e ativadas a 120°C durante 12h. Após a eluição da mistura dos compostos, as placas eram observadas com recurso à lâmpada UV;
- ✓ Os espectros de ressonância magnética nuclear de protão (RMN ¹H), carbono (RMN ¹³C) e estudos bidimensionais de correlação espectroscópica heteronuclear (HSQC e HMBC) foram obtidos num espectrómetro Bruker Avance 300 (300,13 MHz e 75,47 MHz para RMN de ¹H e de ¹³C, respetivamente) e num espectrómetro Bruker DRX 500 (500,13 MHz e 125,77 MHz para RMN de ¹H e de ¹³C, respetivamente). Para a análise dos compostos foram usados solventes deuterados como clorofórmio, acetona e dimetilsulfóxido (DMSO). E foi usado como padrão interno tetrametilsilano (TMS). Os desvios químicos indicados (δ , ppm) foram obtidos à temperatura ambiente nos solventes deuterados referidos nas caracterizações correspondentes.
- ✓ O espectro de massa foi obtido por ionização em electrospray e adquirido usando o instrumento quadropólo – tempo de voo. As soluções das amostras com uma concentração de 1mg/L foram preparadas dissolvendo o composto numa

mistura de 1:1 de MeOH/CHCl₃. As amostras da análise de ESI foram preparadas diluindo 2μL da solução em 200μL de metanol/ácido fórmico (0,1%). Nitrogénio foi usado como gás nebulizador e árgon como gás de colisão. As amostras foram introduzidas no espectrómetro de massa com um caudal de 10μL/min, a voltagem da agulha foi colocada a 3000V, com a fonte de iões a 80°C e a temperatura de solvatação a 150°C. O espetro foi adquirido com um cone de voltagem de 30V. Os espetros foram adquiridos pelo grupo de espectrometria de massa do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

1. Síntese de 2-fenilacetato de 2-acetilfenilo

A um balão com 2-hidroxiacetofenona **127** (4,15 mmol) adicionou-se ácido fenilacético **128** (4,48 mmol). E adicionou-se piridina (10 mL) à mistura. Colocou-se o balão num banho de gelo e foi adicionado, gota a gota, POCl₃ (8,02 mmol). Deixou-se reagir durante 24 h à temperatura ambiente. Verteu-se a reação para um copo com gelo e acidificou-se até pH<2. Procedeu-se a uma extração líquido-líquido usando DCM (3x30 mL) e purificou-se através de cromatografia em camada fina preparativa, usando como eluente DCM, ao removeu-se a segunda mancha da placa, e procedeu-se à sua extração da sílica, é possível obter o composto **129** com um rendimento de 50%.

2-fenilacetato de 2-acetilfenilo 129, líquido amarelo.



RMN de ¹H (CDCl₃, 300,13 Hz): δ (ppm) 2,34 (3H, CH₃, s); 3,90 (2H, H-2, s); 7,00 (1H, H-6'', dd, *J* 0,8 e 8,1 Hz); 7,15 (1H, H-4'', dt, *J* 0,8 e 7,5 Hz); 7,21 – 7,39 (6H, H-5'', 2', 3', 4', 5', 6', m); 7,68 (1H, H-3'', dd, *J* 1,6 e 7,5 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 75.47 Hz): δ (ppm) 29,3 (CH₃); 41,1 (C-2); 123,8 (C-6''); 126,2 (C-4''); 127,4 (C-4'); 128,7 (C-3', 5'); 129,8 (C-2', 6'); 130,5 (C-3''); 130,7 (C-2''); 133,5 (C-5''); 133,5 (C-1'); 149,2 (C-1''); 170,1 (C-1); 197,5 (C-7').

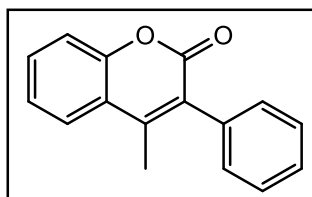
2. Síntese de cumarinas

2.1. Método 1

Num balão com 2-fenilacetato de 2-acetilfenilo **129** (1,97 mmol), sob atmosfera de nitrogénio, adicionou-se piridina seca (15 mL) até dissolução. Adicionou-se então K₂CO₃ anidro (7,24 mmol) e colocou-se à temperatura de refluxo. Após 20 h, ver-teu-se a solução

para um copo com gelo e acidificou-se até obter um $\text{pH} < 2$. Purificou-se por cromatografia em camada fina, usando como eluente uma mistura de hexano/diclorometano (5:2). Removeu-se a segunda mancha da placa, e procedeu-se à sua extração da sílica, é possível obter o composto **130** com um rendimento de 65%.

3-fenil-4-metil-2H-cromen-2-ona 130, sólido branco



RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 Hz): δ (ppm) 2,32 (3H, 4- CH_3 , s); 7,29 – 7,49 (7H, H-6, 8, 2', 3', 4', 5', 6', m); 7,55 (1H, H-7, ddd, J 1,5; 7,7 e 9,0 Hz); 7,69 (1H, H-5, dd, J 1,5 e 8,0 Hz).

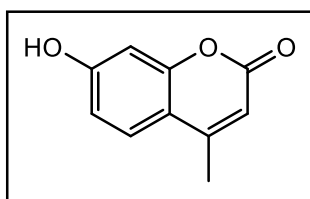
RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,47 Hz): δ (ppm) 16,6 (4- CH_3); 116,9 (C-8); 120,6 (C-3); 124,3 (C-4'); 125,1 (C-5); 127,4 (C-4a); 128,2 (C-6); 128,5 (C-2', 6'); 130,0 (C-3', 5'); 131,4 (C-7); 134,5 (C-1'); 147,7 (C-4); 152,7 (C-8a); 161,0 (C-2).

2.2. Método 2

A um balão com resorcinol **113** (0,60 mmol) adicionou-se acetoacetato de etilo **59** (0,66 mmol) e amberlite-15 de troca iónica (0,06 g). Juntou-se como solvente tolueno (10 mL), colocou-se a agitar e à temperatura de refluxo. Ao fim de 24 h deixou-se arrefecer e evaporou-se o solvente à securo. Dissolveu-se o precipitado em acetona e purificou-se por cromatografia de camada fina preparativa, usando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etilo (5:1). Removeu-se a segunda mancha que correspondia ao composto **114** com um rendimento de 89%.

Ao aumentar a escala da reação de 0,60 mmol para 0,045 mol de resorcinol **113** e mantendo o procedimento acima referido, obtém-se um precipitado. Purificou-se por cromatografia de camada fina preparativa, usando como eluente DCM/acetato de etilo (9:1). Removeu-se a segunda mancha e a terceira correspondente aos compostos **114** e **133**, respetivamente. Foi necessário proceder a uma nova purificação, pois os tempos de retenção são bastante próximos. Obteve-se o composto **114** com um rendimento de 61% e o composto **133** com um rendimento de 12%.

7-hidroxi-4-metil-2H-cromen-2-ona 114, sólido branco

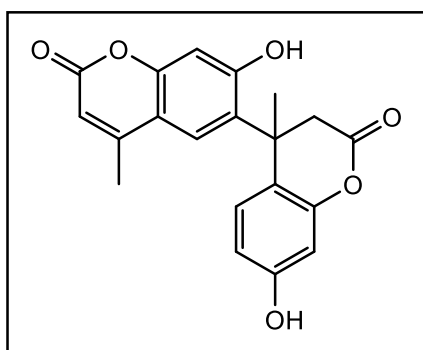


RMN de ^1H (DMSO- D_6 ; 300,13 Hz): δ (ppm) 2,35 (3H, 4- CH_3 , d, J 1,2 Hz); 6,11 (1H; H-3, q, J 1,2 Hz); 6,69 (1H, H-8, d, J 2,4 Hz); 6,79 (1H, H-6, dd, J 2,4 e 8,7 Hz); 7,57 (1H, H-5, d, J 8,7 Hz); 10,54 (1H, OH, sl).

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 ; 75,47 Hz): δ (ppm) 18,1 (4- CH_3); 102,2 (C-8); 110,3 (C-3); 112,0 (C-4a); 112,9 (C-6); 126,6 (C-5); 153,6 (C-4); 154,9 (C-8a); 160,9 (C-2); 161,2 (C-7).

MS (ESI $^+$) m/z (%): 353,0 [2M+H] $^+$ (100).

7-hidroxi-6-(7-hidroxi-4-metil-2-oxocroman-4-il)-4-metil-2H-cromen-2-ona 133, sólido branco



RMN de ^1H (DMSO- D_6 , 500,13 MHz): δ (ppm) 1,75 (3H, 4'- CH_3 , s); 2,15 (3H, 4- CH_3 , d, J 1,1 Hz); 2,79 (1H, H-3', d, J 15,8 Hz); 3,76 (1H, H-3', d, J 15,8 Hz); 6,12 (1H, H-3, q, J 1,1 Hz); 6,50 (1H, H-8', d, J 2,4 Hz); 6,62 (1H, H-6', dd, J 2,4 e 8,4 Hz); 6,74 (1H, H-8, s); 6,95 (1H, H-5, s); 7,06 (1H, H-5', d, J 8,4 Hz); 9,80 (1H, OH', sl); 11,03 (1H, OH, sl).

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , 75,47 MHz): δ (ppm) 17,6 (4-C); 25,2 (4'-C); 38,7-40,3 (C-3', 4'); 103,2 (C-8); 103,4 (C-8'); 110,7 (C-3); 111,2 (C-4a); 111,7 (C-6'); 120,5 (C-4'a); 124,3 (C-5); 127,3 (C-5'); 127,8 (C-6); 151,2 (C-7', 8'a); 153,1 (C-4); 153,7 (C-7, 8a); 157,6 (C-7', 8'a); 159,2 (C-7, 8a); 160,1 (C-2); 168,0 (C-2').

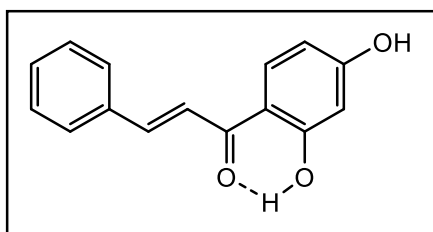
2.3. Método 3

A um balão com resorcinol **113** (0,96 mmol) adicionou-se ácido cinâmico **131a-c** (1,10 mmol) e amberlite-15 de troca iônica (0,090g). Juntou-se como solvente tolueno (20 mL) e colocou-se a agitar e à temperatura de refluxo. Ao fim de 24 h deixou-se arrefecer e evaporou-se o solvente à secura. Dissolveu-se o precipitado em acetona e purificou-se por cromatografia de camada fina preparativa, usando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etilo (7:1). Obtiveram-se os compostos **134a** e **135**, com uns rendimentos de 14% e 25%, respetivamente. Quando o substituinte é o grupo metoxilo, obtiveram-se

diretamente os compostos **137b** e **132b**, cujos rendimentos são de 7% e 30%. O composto **134c** não foi possível purificar, pois tem um tempo de retenção bastante próximo do composto **131c**.

A um balão com resorcinol **113** (0,26 mmol) adicionou-se ácido cinâmico **131a** (0,30 mmol) e amberlite-15 de troca iônica (0,100g). Juntou-se como solvente tolueno (10 mL) e colocou-se a agitar e à temperatura de refluxo. Ao fim de 24 h deixou-se arrefecer e evaporou-se o solvente à secura. Dissolveu-se o precipitado em acetona e purificou-se por cromatografia de camada fina preparativa, usando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etilo (7:1). Obtiveram-se os compostos **137a** e **132a** e **136**, cujos rendimentos são de 9%, 28% e 8%, respetivamente.

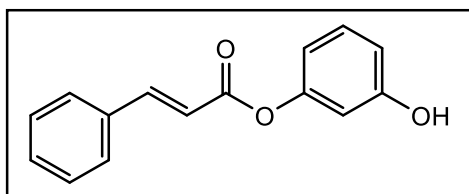
(E)-3-fenil-1-(2,4-di-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona 135, sólido amarelo



RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ (ppm) 6,43 – 6,52 (2H, H-3',5', m), 7,39 – 7,48 (3H, H-3,4,5, m), 7,58 (1H, H- α , d, J 15,5 Hz), 7,63 – 7,70 (2H, H-2,6, m), 7,83 (1H, H-6', d, J 9,3 Hz), 7,88 (1H, H- β , d, J 15,5 Hz), 13,37 (1H, 2'-OH, s).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,47 MHz): δ (ppm) 103,7 (C-3',5'), 108,1 (C-3',5'), 114,1 (C-1'), 120,4 (C- α), 128,5 (C-3,5), 129,0 (C-2,6), 130,7 (C-4), 132,0 (C-6'), 134,8 (C-1), 144,2 (C- β), 163,8 (2',4'-OH), 166,6 (2',4'-OH), 191,7 (C=O).

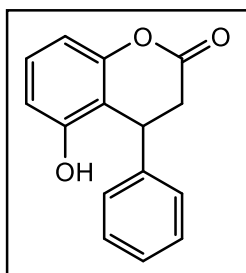
cinamato de 3-hidroxifenilo 134a, sólido branco



RMN ^1H (CDCl_3 , 500,13 MHz): δ (ppm) 6,60 – 6,65 (1H, H- α , J 16,0 Hz), 6,70 (1H, H-2', t, J 2,2 Hz), 6,73 (1H, H-4',6', ddd, J 0,9; 2,2 e 8,2 Hz), 6,76 (1H, H-4',6', ddd, J 0,9; 2,2 e 8,2 Hz), 7,23 – 7,29 (1H, H-5', m), 7,40 – 7,46 (3H, H-3,4,5, m), 7,57 – 7,62 (2H, H-2,6, m), 7,87 (1H, H- β , d, J 16,0 Hz, 1H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126,77 MHz): δ (ppm) 109,3 (C-2'), 113,0 (C-4'), 114,0 (C-6'), 117,2 (C- α), 128,3 (C-2,6), 129,0 (C-3,5), 130,1 (C-5'), 130,8 (C-4), 134,1 (C-1), 146,8 (C- β), 151,8 (C-3'), 156,5 (C-1'), 165,3 (C=O).

4-fenil-5-hidroxi-2H-croman-2-ona 137a, sólido branco

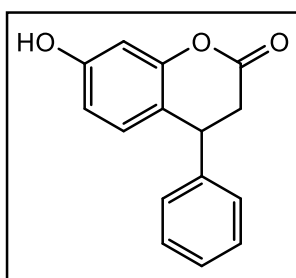


RMN ¹H (CDCl₃, 300,13 MHz): δ (ppm) 3,06 (2H, H-3, d, *J* 4,7 Hz); 4,62 (1H, H-4, t, *J* 4,7 Hz); 6,60 (1H, H-6, 8, dd, *J* 0,9 e 8,2 Hz); 6,77 (1H, H-6, 8, dd, *J* 0,9 e 8,2 Hz); 7,14 – 7,32 (6H, H-7, 2', 3', 4', 5', 6', m).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,47 MHz): δ (ppm) 35,2 (C-4); 36,9 (C-3); 109,8 (C-6, 8); 111,6 (C-6, 8); 112,4 (C-4a); 126,9 (C-2', 6'); 127,5 (C-4'); 129,1 (C-3', 5'); 129,2 (C-7); 140,6 (C-1'); 152,9 (C-5, 8a); 153,1 (C-5, 8a); 167,5 (C-2).

129,1 (C-3', 5'); 129,2 (C-7); 140,6 (C-1'); 152,9 (C-5, 8a); 153,1 (C-5, 8a); 167,5 (C-2).

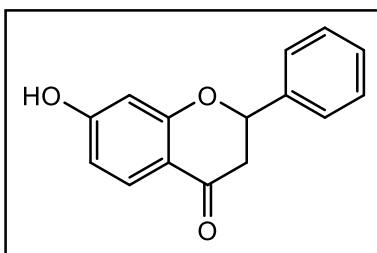
4-fenil-7-hidroxi-2H-croman-2-ona 132a, sólido branco



RMN de ¹H (CDCl₃, 300,13 MHz): δ (ppm) 2,99 (1H, H-3, dd, *J* 7,0 e 15,9 Hz); 3,07 (1H, H-3, dd, *J* 7,0 e 15,9 Hz); 4,27 (1H, H-4, t, *J* 7,0 Hz); 6,58 (1H, H-6, dd, *J* 2,5 e 8,4 Hz); 6,70 (1H, H-8, *J* 2,5 Hz); 6,81 (1H, H-5, d, *J* 8,4 Hz); 7,13 – 7,16 (2H, H-2', 6', m); 7,25 – 7,37 (3H, H-3', 4', 5', m).

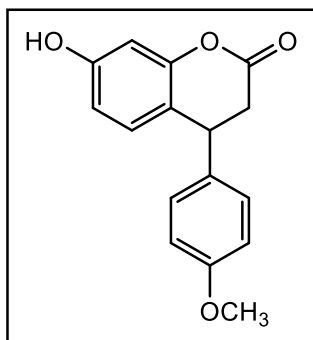
RMN de ¹³C (CDCl₃, 75,47 MHz): δ (ppm) 37,3 (C-3); 40,0 (C-4); 104,3 (C-8); 112,1 (C-6); 117,5 (C-4a); 127,5 (C-2', 6'); 127,6 (C-4'); 129,1 (C-3', 5'); 129,2 (C-5); 140,6 (C-1'); 152,3 (C-8a); 159,3 (C-7); 168,5 (C-2).

2-fenil-7-hidroxi-4H-croman-4-ona 136, sólido branco



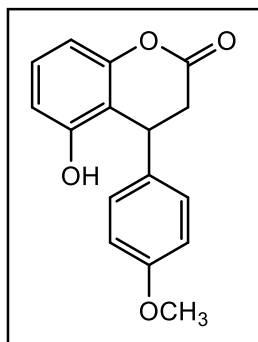
RMN de ¹H (CDCl₃, 300,13 MHz): δ (ppm) 2,84 (1H, H-3, dd, *J* 3,1 e 16,9 Hz); 3,05 (1H, H-3, dd, *J* 13,1 e 16,9 Hz); 5,47 (1H, H-2, dd, *J* 3,1 e 13,1 Hz); 6,48 (1H, H-8, d, *J* 2,3 Hz); 6,56 (1H, H-6, dd, *J* 2,3 e 8,6 Hz); 7,38 – 7,49 (5H, H-2', 3', 4', 5', 6', m); 7,86 (1H, H-5, d, *J* 8,6 Hz)

RMN de ¹³C (CDCl₃, 75,47 MHz): δ (ppm) 44,3 (C-3); 79,9 (C-2); 103,5 (C-8); 110,7 (C-6); 115,0 (C-4a); 126,2 (C-2', 6'); 128,8 (C-4'); 128,9 (C-3', 5'); 129,4 (C-5); 138,7 (C-1'); 163,0 (C-8a, 7); 163,6 (C-7, 8a); 191,0 (C-4).

7-hidroxi-4-(4-metoxifenil)-2H-croman-2-ona 132b, sólido branco

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ (ppm) 2,95 (1H, H-3, dd, J 7,9 e 15,8 Hz); 3,04 (1H, H-3, dd, J 6,1 e 15,8 Hz); 3,79 (3H, OCH_3 , s); 4,23 (1H, H-4, dd, J 6,1 e 7,9 Hz); 6,58 (1H, H-6, dd, J 2,5 e 8,7 Hz); 6,68 (1H, H-8, d, J 2,5 Hz); 6,81 (1H, H-5, d, J 8,7 Hz); 6,87 (2H, H3', 5', d, J 8,8 Hz); 7,06 (2H, H-2', 6', d, J 8,8 Hz).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,47 MHz): δ (ppm) 37,5 (C-3); 39,3 (C-4); 55,3 (OCH_3); 104,3 (C-8); 112,0 (C-6); 114,5 (C-3', 5'); 118,0 (C-4a); 128,6 (C-2', 6'); 129,1 (C-5); 132,6 (C-1'); 152,2 (C-8a); 156,2 (C-7); 158,9 (C-4'); 168,4 (C-2).

5-hidroxi-4-(4-metoxifenil)-2H-croman-2-ona 137b, sólido branco

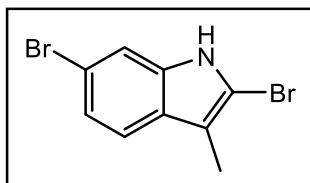
RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ (ppm) 3,02 (2H, H-3, d, J 4,6 Hz); 3,76 (3H, OCH_3 , s); 4,57 (1H, H-4, t, J 4,6 Hz); 6,60 (1H, H-6, 8, dd, J 0,9 e 8,2 Hz); 6,76 (1H, H-6, 8, dd, J 0,9 e 8,2 Hz); 6,82 (2H, H3', 5', d, J 8,8 Hz); 7,07 (2H, H-2', 6', d, J 8,8 Hz); 7,17 (1H, H-7, t, J 8,2 Hz).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,47 MHz): δ (ppm) 34,4 (C-4); 37,1 (C-3); 55,3 (OCH_3); 109,71 (C-6, 8); 111,7 (C-6, 8); 112,7 (C-4a); 114,5 (C-3', 5'); 127,2 (C-2', 6'); 129,1 (C-7); 132,6 (C-1'); 152,8 (C-5, 8a); 153,1 (C-5, 8a); 158,9 (C-4'); 167,6 (C-2).

3. Síntese de 2,6-dibromo-3-metil-indol

Adicionou-se a uma mistura de 3-metilindol **115** (1,14 mmol), em α,α,α -trifluorotolueno (20 mL), peróxido de benzoílo (0,34 mmol) e NBS (1,63 mmol). Deixou-se à temperatura de refluxo durante 7 h. Deixou-se arrefecer e evaporou-se o solvente. Dissolveu-se em acetato de etilo e lavou-se com água destilada (3x30 mL). Purificou-se por cromatografia de camada fina preparativa usando como eluente uma mistura de DCM/hexano (5:2). Removeu-se a segunda mancha, obtendo-se o composto **138** com um rendimento de 1%.

2,6-bromo-3-metil-indol 138, sólido castanho



RMN de ^1H (CDCl_3 , 500,13 MHz): δ (ppm) 2,23 (3H, H- CH_3 , s); 7,22 (1H, H-5, dd, J 1,6 e 8,4 Hz); 7,34 (1H, H-4; d, J 8,4 Hz); 7,42 (1H, H-7, d, J 1,6 Hz); 8,00 (1H, H-1; sl).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125,77 MHz): δ (ppm) 9,4 (CH_3); 108,5 (C-2); 111,8 (C-3); 113,2 (C-7); 115,8 (C-6); 119,5 (C-4); 123,2 (C-5); 127,3 (C-3a); 136,6 (C-7a).

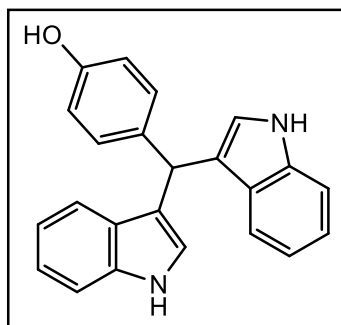
4. Síntese de 2- ou 3-iodo-indol

Num balão com indol **21** (0,22 mmol) adicionou-se iodo (0,41 mmol) e K_2CO_3 (0,35 mmol) e dissolveu-se em THF seco (10 mL). Manteve-se à temperatura ambiente e sob atmosfera de nitrogénio durante 7 h. A solução foi vertida para uma solução saturada de tiosulfato de sódio e procedeu-se à extração líquido-líquido com DCM (3x30 mL). Devido à degradação durante a purificação, não foi possível proceder à caracterização completa do composto **139**. Foi então realizado o RMN ^1H da mistura reacional, em que só se pode identificar que ocorreu a iodação.

5. Síntese de 4-[di(1*H*-indol-3-il)metil]fenol

Num balão com o 4-hidroxibenzaldeído **141** (0,25 mmol) adicionou-se um excesso de indol **21** (0,74 mmol) e dissolveu-se em DMSO (2,5 mL). Colocou-se a mistura a agitar e aqueceu-se a 130°C. Ao fim de 24 h verteu-se a solução para um copo com gelo e procedeu-se à extração líquido-líquido com diclorometano (3x30 mL). Evaporou-se o solvente e purificou-se por TLC preparativo usando como eluente hexano/DCM (1.1). Removeu-se a primeira mancha e obteve-se o composto **143**, cujo rendimento foi 64%.

4-[di(1*H*-indol-3-il)metil]fenol 143, sólido branco



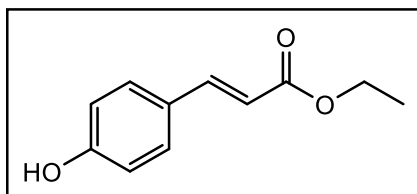
RMN ^1H (Acetona- D_6 , 500,13 MHz): δ (ppm) 5,83 (1H, 4- $\text{CH}(\text{Indol})_2$, s), 6,76 (2H, H-2,6, d, J 8,5 Hz), 6,79 (2H, H-2', d, J 1,2 Hz), 6,90 (2H, H-5', ddd, J 1,0; 7,1 e 8,1 Hz), 7,06 (2H, H-6', ddd, J 1,1; 7,1 e 8,0 Hz), 7,22 (2H, H-3,5, d, J 8,5 Hz), 7,36 (2H, H-4', dd, J 1,1 e 8,0 Hz), 7,39 (2H, H-7', dd, J 1,0 e 8,1 Hz), 10,01 (2H, H-1', sl).

RMN ^{13}C (Acetona- D_6 , 75,47 MHz): δ (ppm) 40,3 (4-CH(Indol) $_2$), 112,0 (C-7'), 115,6 (C-2,6), 119,2 (C-5'), 120,3 (C-3'), 120,4 (C-4'), 121,9 (C-6'), 124,4 (C-2'), 128,1 (C-3'a), 130,3 (C-3,5), 136,7 (C-4), 138,1 (C-7'a), 156,3 (C-1).

6. Síntese de *p*-hidroxicinamato de etilo

A um balão com 4-hidroxibenzaldeído **141** (0,26 mmol) adicionou-se acetoacetato de etilo **59** (0,54 mmol) e amberlite-15 de troca iônica (0,03 g). Juntou-se como solvente tolueno (10 mL), colocou-se a agitar e à temperatura de refluxo. Ao fim de 24 h deixou-se arrefecer e evaporou-se o solvente à securo. Dissolveu-se o precipitado em acetona e purificou-se por cromatografia de camada fina preparativa, usando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etilo (8:1). Removeu-se a segunda mancha que correspondia ao composto **144** com um rendimento de 61%.

***p*-hidroxicinamato de etilo 144**, sólido branco



RMN ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ (ppm) 1,34 (3H, H-2'', t, J 7,1 Hz), 4,26 (2H, H-1'', q, J 7,1 Hz), 5,96 (1H, 4'-OH, s), 6,30 (1H, H- α , d, J 16,0 Hz), 6,86 (2H, H-3',5', d, J 8,7 Hz), 7,42 (2H, H-2',6', d, J 8,7 Hz), 7,64 (1H, H- β , d, J 16,0 Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 14,3 (C-2''), 60,6 (C-1''), 115,4 (C- α), 115,9 (C-3',5'), 127,0 (C-1'), 130,0 (C-2',6'), 144,7 (C- β), 158,0 (C-4'), 167,9 (C=O).

7. Síntese de 2'-hidroxicalconas

O método de síntese utilizado para a obtenção das 2'-hidroxicalconas **146a-c** encontra-se descrito na literatura.^{116,119} A caracterização destes compostos também se encontra na literatura.¹¹⁶

8. Síntese de 4-aryl-4*H*-croman-4-onas

O método de síntese utilizado para a obtenção das 4-aryl-4*H*-croman-4-onas **147a-c** encontra-se descrito na literatura.¹¹⁶ A caracterização destes compostos também se encontra na literatura.¹¹⁶

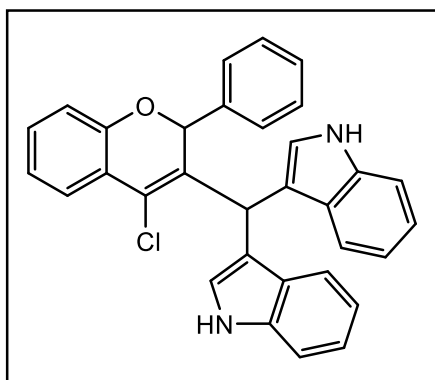
9. Síntese de 2-aryl-4-cloro-2*H*-cromeno-3-carbaldeído

O método de síntese utilizado para a obtenção dos 2-aryl-4-cloro-2*H*-cromeno-3-carbaldeído **149a-c** encontra-se descrito na literatura.¹¹⁶ A caracterização destes compostos também se encontra na literatura.¹¹⁶

10. Síntese de díades indolcromeno

Num balão com o 2-aryl-4-cloro-2*H*-cromeno-3-carbaldeído **149a-c** (0,26 mmol) adequado adicionou-se um excesso de indol **21** (0,80 mmol) e dissolveu-se em DMSO (2,5 mL). Colocou-se a mistura a agitar e aqueceu-se a 130°C. Ao fim de 24 h verteu-se a solução para um copo com gelo e procedeu-se à extração líquido-líquido com diclorometano (3x30 mL). Evaporou-se o solvente e purificou-se por TLC preparativo usando como eluente DCM. Removeu-se a terceira mancha e obteve-se os compostos **150a-c**, cujos rendimentos foram 79%, 84% e 60%, respetivamente.

3,3'-[(4-cloro-2-fenil-2*H*-cromen-3-il)metileno]bis(1*H*-indol) 150a, sólido amarelo

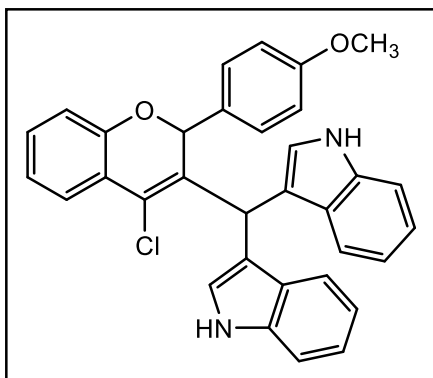


RMN de ¹H (CDCl₃, 500,13 MHz): δ (ppm) 5,94 (1H, H-2'', s); 6,25 (1H, H-CHCroInd, s); 6,41 (1H, H-2, d, *J* 2,35 Hz); 6,65 – 6,69 (3H, H-8'', 3''', 5''', m); 6,73–6,80 (3H, H-2''', 4''', 6''', m); 6,92 – 7,03 (5H, H-6'', 5, 6, 7, 5', m); 7,89 (1H, H-7'', dt, *J* 1,6 e 7,8 Hz); 7,17 (1H, H-6', dt, *J* 1,0 e 7,9 Hz); 7,25 – 7,29 ppm (2H, H-2',4', m); 7,37 (1H, H-7', d, *J* 7,9 Hz); 7,50 – 7,56 (2H, H-1, 4, m); 7,64 (1H, H-5'', dd, *J* 1,6 e 7,8 Hz); 8,04

(1H, H-1', sl).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125,77 MHz): δ (ppm) 36,2 (C-CHCroInd); 79,0 (C-2''); 110,6 (C-7); 111,2 (C-7'); 114,0 (C-3); 115,7 (C-3'); 116,7 (C-8''); 119,2 (C-5, 5'); 119,2 (C-5, 5'); 119,3 (C-4); 120,6 (C-4'); 121,5 (C-6); 121,8 (C-6''); 122,2 (C-6'); 122,8 (C-2'); 123,1 (C-4''a); 123,7 (C-2); 124,8 (C-5''); 125,0 (C-4''); 126,9 (C-3'a); 127,2 (C-3''', 5''', 3a); 127,4 (C-2''', 6'''); 127,6 (C-4'''); 130,0 (C-7''); 132,1 (C-3''); 135,9 (C-7a); 136,6 (C-1'''); 136,9 (C-7'a); 152,4 (C-8''a).

3,3'-[(4-cloro-2-fenil-2H-cromen-3-il)metileno]bis(1H-indol) 150b, sólido avermelhado

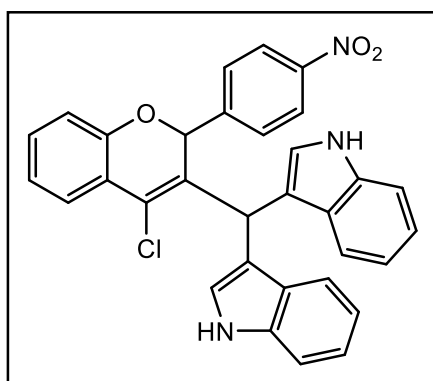


RMN de ^1H (DMSO- D_6 , 500,13 MHz): δ (ppm) 3,50 (3H, OCH₃, s); 6,01 (1H, H-2'', s); 6,15 (1H, H-CHCromInd, s); 6,30 (2H, H-3''', 5''', d, J 8,6 Hz); 6,64 – 6,67 (2H, H-8'', 2, m); 6,71 (2H, H-2''', 6''', d, J 8,6 Hz); 6,87 (1H, H-5', t, J 7,5 Hz); 6,89 – 7,01 (3H, H-6'', 5, 6, m); 7,04 – 7,10 (2H, H-7,6', m); 7,13 (1H, H-7'', dt, J 1,0 e 7,7 Hz); 7,24 (1H, H-4', d, J 8,0 Hz); 7,35 (1H, H-2', d, J 1,5 Hz); 7,41 (1H, H-7', d, J 8,1 Hz); 7,45 (1H, H-4, d, J 8,1 Hz); 7,54 (1H, H-5'', dd, J 1,0 e 7,7 Hz); 10,57 (1H, H-1, d, J 1,6 Hz); 11,06 (1H, H-1', d, J 1,5 Hz).

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , 125,77 MHz): δ (ppm) 35,6 (C-CHCromInd); 54,8 (C-OCH₃); 77,5 (C-2''); 111,1 (C-7); 111,6 (C-7'); 112,0 (C-3) 112,5 (C-3''', 5'''); 114,3 (C-3'); 116,5 (C-8''); 118,2 (C-4'); 118,2 (C-5); 118,4 (C-5'); 119,0 (C-4); 120,7 (C-6); 121,2 (C-6'); 121,6 (C-6''); 122,6 (C-4''); 122,7 (C-4''a); 123,2 (C-2'); 124,3 (C-5'', 2); 126,5 (C-3'a); 127,0 (C-3a); 128,6 (C-2''', 6'''); 128,8 (C-1'''); 130,1 (C-7''); 133,6 (C-3''); 135,8 (C-7a); 136,6 (C-7'a); 151,8 (C-8''a); 158,6 (C-4''').

MS (ESI⁺) m/z (%): 539,2 ³⁵Cl [M+Na]⁺ (29); 541,2 ³⁷Cl [M+Na]⁺ (12)

3,3'-[(4-cloro-2-fenil-2H-cromen-3-il)metileno]bis(1H-indol) 150c, sólido amarelo



RMN de ^1H (DMSO- D_6 , 500,13 MHz): δ (ppm) 6,14 (1H, H-CHCromInd, s); 6,26 (1H, H-2'', s); 6,69 (1H, H-8'', dd, J 0,8 e 8,0 Hz); 6,75 (1H, H-2, d, J 2,1 Hz); 6,82 – 6,94 (6H, H-2''', 6''', 5, 6, 7, 5', m); 7,03 – 7,11 (2H, H-6'', 6', m); 7,17 (1H, H-7'', dt, J 1,6 e 8,0 Hz); 7,27 (1H, H-4', d, J 8,0 Hz); 7,34 (1H, H-4, d, J 7,4 Hz); 7,41 – 7,46 (3H, H-3''', 5''', 7', m); 7,56 (1H, H-2', d, J 1,6 Hz); 7,62 (1H, H-5'', dd, J 1,6 e 7,8 Hz); 10,61 (1H, H-1, d, J 2,1 Hz); 11,16 (1H, H-1', J 1,6 Hz).

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , 125,77 MHz): δ (ppm) 35,7 (C-CHC_{ro}Ind); 77,1 (C-2''); 111,4 (C-7); 112,1 (C-3); 112,1 (C-7'); 113,8 (C-3'); 116,9 (C-8''); 118,6 (C-4); 118,9 (C-5, 5'); 119,6 (C-4'); 121,3 (C-6); 121,7 (C-6'); 122,2 (C-3''', 5'''); 122,4 (C-6''); 122,6 (C-4''a); 123,3 (C-2'); 123,8 (C-4''); 125,0 (C-5''); 125,2 (C-2); 126,9 (C-3'a); 127,1 (C-3a); 128,3 (C-2''', 6'''); 131,0 (C-7''); 133,5 (C-3''); 136,2 (C-7a); 137,0 (C-7'a); 143,2 (C-1'''); 146,4 (C-4'''); 151,7 (C-8''a).

MS (ESI⁺) m/z (%): 554,2 ^{35}Cl [M+Na]⁺ (8); 556,2 ^{37}Cl [M+Na]⁺ (3)

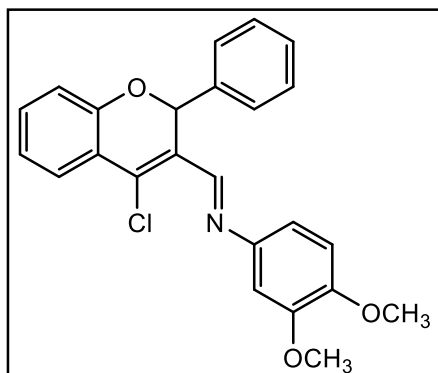
11. Síntese de 6-aryl-10,11-dimetoxi-6H-cromeno[3,4-c]quinolina 153

Num balão com 2-aryl-4-cloro-2H-cromeno-3-carbaldeído **149c** (0,10 mmol) e diclorometano (7 mL), adicionou-se 3,4-dimetoxianilina (0,27 mmol) **151** e ficou a agitar durante 30 min, ao fim do qual se adicionou ácido TFA (0,26 mmol). A mistura resultante ficou com agitação magnética durante 48 h, à temperatura ambiente. Por fim, o solvente foi evaporado no evaporador rotativo e purificou-se a mistura por TLC preparativo usando como eluente DCM. Removeu-se a segunda mancha, obtendo-se o composto **152c** com um rendimento de 9%, e a terceira mancha das placas, nas quais se obteve o composto **153c** com um rendimento de 50%.

Ao procedimento anterior, e com o composto **149a-c** apropriado, foi aumentado o tempo de reação do primeiro passo, de 30 min para 1,5 h, e aumentou-se, no segundo passo, a quantidade de TFA de 0,26mmol para 2,6 mmol e o tempo de reação de 48 h para 72 h. Removeu-se a segunda mancha, obtendo-se o composto **152a** com um rendimento de 17%, e a terceira mancha das placas, nas quais se obtiveram os compostos **153a**, **153b** e **153c**, cujos rendimentos foram de 63%, 70% e 73%, respetivamente

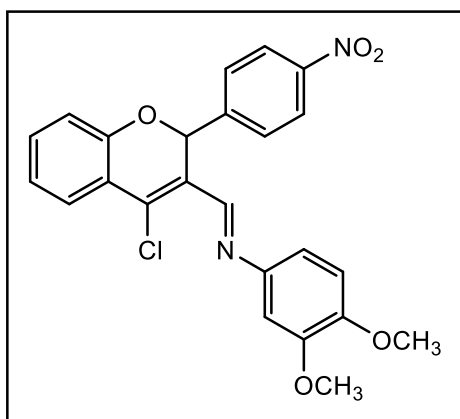
1-[4-cloro-2-fenil-2H-cromen-3-il]-N-(3,4-dimetoxifenil)metanimina 152a,

sólido amarelo



RMN ¹H (CDCl₃, 500,13 MHz): δ (ppm) 3,90 (3H, 4'''-OCH₃, s), 3,91 (3H, 3'''-OCH₃, s), 6,79 (1H, H-2', s), 6,81 (1H, H-6''', dd, *J* 2,3 e 6,0 Hz), 6,83 (1H, H-2''', d, *J* 2,3 Hz), 6,86 (1H, H-5''', d, *J* 6,0 Hz), 6,90 (1H, H-8', dd, *J* 1,1 e 8,1 Hz), 6,99 (1H, H-6', td, *J* 1,0 e 7,8 Hz), 7,41 (2H, H-2'',6'', d, *J* 8,8 Hz), 7,21 – 7,28 (4H, H-7',3'',4'',5'', m), 7,63 (1H, H-5', dd, *J* 1,5 e 7,8 Hz), 8,84 (1H, H-1, s).

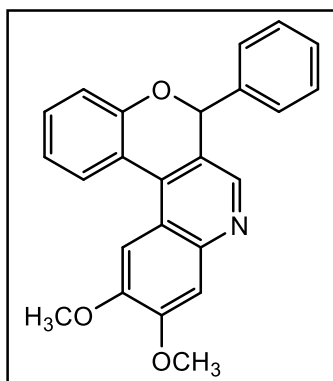
RMN ¹³C (CDCl₃, 125,77 MHz): δ (ppm) 56,0 (3''',4'''-OCH₃), 56,1 (3''',4'''-OCH₃), 76,0 (C-2'), 105,7 (C-6'''), 111,2 (C-5'''), 112,9 (C-2'''), 117,2 (C-8'), 121,5 (C-4'a), 121,7 (C-6'), 125,6 (C-5'), 127,3 (C-2'',6''), 127,9 (C-3'), 128,3 (C-3'',4'',5''), 132,2 (C-7'), 134,8 (C-4'), 138,8 (C-1''), 144,7 (C-1'''), 148,4 (C-4'''), 149,3 (C-3'''), 153,0 (C-1), 154,2 (C-8'a).

1-[4-cloro-2-(4-nitrofenil)-2H-cromen-3-il]-N-(3,4-dimetoxifenil)metanimina**152c**, sólido amarelo

RMN de ¹H (CDCl₃, 300,13 MHz): δ (ppm) 3,91 (3H, 3''',4'''-OCH₃, s), 3,92 (3H, 3''',4'''-OCH₃, s), 6,81 (1H, H-2''', t, *J* 2,0 Hz), 6,84 – 6,87 (3H, H-2',6''',5''', m), 6,95 (1H, H-8', dd, *J* 1,1 e 7,9 Hz), 7,03 (1H, H-6', dt, *J* 1,1 e 7,9 Hz), 7,30 (1H, H-7', dt, *J* 1,6 e 7,9 Hz), 7,59 (2H, H-2'',6'', d, *J* 8,8 Hz), 7,64 (1H, H-5', dd, *J* 1,6 e 7,9 Hz), 8,11 (1H, H-3'',5'', d, *J* 8,8 Hz), 8,87 (1H, H-1, s).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 75,47 MHz): δ (ppm) 56,0 (3''',4'''-CH₃), 56,1 (3''',4'''-CH₃), 75,0 (C-2'), 105,5 (C-6'''), 111,3 (C-5'''), 113,2 (C-2'''), 117,1 (C-8'), 121,1 (C-4'a), 122,3 (C-6'), 123,5 (C-3'',5''), 125,9 (C-5'), 127,1 (C-3'), 128,1 (C-2'',6''), 132,7 (C-7'), 135,4 (C-4'), 144,1 (C-1'''), 146,1 (C-1''), 147,7 (C-4''), 148,8 (C-3'''), 149,5 (C-4'''), 152,5 (C-1), 153,7 (C-8'a).

10,11-dimetoxi-6-fenil-6H-cromeno[3,4-c]quinolina 153a, sólido amarelo



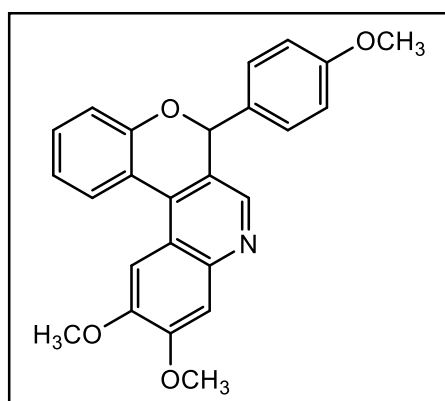
RMN ¹H (CDCl₃, 500,13 MHz): δ (ppm) 3,95 (3H, 10-OCH₃, s), 4,07 (3H, 11-OCH₃, s), 6,34 (1H, H-6, s), 6,91 (1H, H-9, s), 7,04 (1H, H-4, dd, *J* 1,0 e 8,1 Hz), 7,16 (1H, H-2, td, *J* 1,0 e 7,6 Hz), 7,30 (1H, H-7, s), 7,35 (1H, H-3, ddd, *J* 1,6; 7,6 e 8,1 Hz), 7,40 – 7,52 (6H, H-12,2',3',4',5',6', m), 8,45 (1H, H-1, dd, *J* 1,6 e 7,6 Hz).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,77 MHz): δ (ppm) 56,0 (10-OCH₃), 56,2 (11-OCH₃), 80,4 (C-6), 105,0 (C-12a), 105,3 (C-9), 107,9

(C-12), 117,6 (C-4), 122,5 (C-2), 123,1 (C-12c), 125,0 (C-1), 126,7 (C-6a), 128,3 (C-2',6'), 128,8 (C-3',5'), 128,9 (C-4'), 131,2 (C-7), 131,4 (C-3), 139,0 (C-1'), 145,1 (C-8a), 146,8 (C-12b), 149,7 (C-10), 152,7 (C-11), 156,1 (C-4a).

10,11-dimetoxi-6-(4-metoxifenil)-6H-cromeno[3,4-c]quinolina 153b, sólido

amarelo

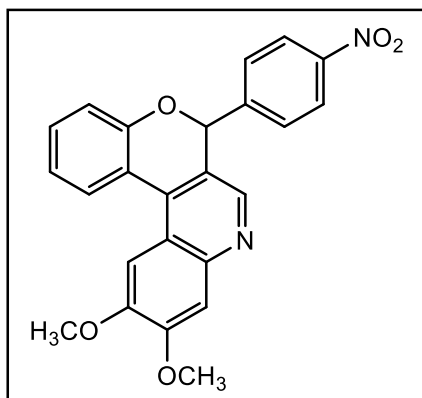


RMN de ¹H (acetona-D₆, 300,13 MHz): δ (ppm) 3,82 (3H, 4'-OCH₃, s), 3,93 (3H, 10-OCH₃, s), 4,02 (3H, 11-OCH₃, s), 6,42 (1H, H-6, s), 6,94 – 7,02 (3H, H-4,3',5', m), 7,14 (1H, H-2, td, *J* 1,1 e 7,7 Hz), 7,20 (1H, H-9, s), 7,32 – 7,43 (3H, H-3,2',6', m), 7,44 (1H, H-12, s), 7,53 (1H, H-7, s), 8,44 (1H, H-1, dd, *J* 1,6 e 7,7 Hz).

RMN de ¹³C (acetona-D₆, 75,47 MHz): δ (ppm) 55,5

(4'-OCH₃). 56,1 (10,11-OCH₃), 80,2 (C-6), 106,4 (C-9), 108,5 (C-12), 114,7 (C-3',5'), 118,3 (C-4), 122,8 (C-2), 124,1 (C-12a), 124,5 (C-12c), 125,6 (C-1), 127,3 (C-6a), 130,3 (C-2',6'), 131,9 (C-3,7), 132,5 (C-1'), 145,9 (C-8a), 146,8 (C-12b), 151,0 (C-10), 154,0 (C-11), 156,9 (C-4a), 160,8 (C-4').

10,11-dimetoxi-6-(4-nitrofenil)-6*H*-cromeno[3,4-*c*]quinolina 153c, sólido amarelo



RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ (ppm) 3,97 (3H, 10-OCH₃, s); 4,07 (3H, 11-OCH₃, s); 6,44 (1H, H-6, s); 6,93 (1H, H-9, s); 7,04 (1H, H-4, dd, J 1,0 e 7,8 Hz); 7,18 (1H, H-2, dt, J 1,0 e 7,8 Hz); 7,32 (1H, H-7, s); 7,37 (1H, H-3, dt, J 1,6 e 7,8 Hz); 7,50 (1H, H-12, s); 7,65 (2H, H-2',6', d, J 8,8 Hz); 8,28 (2H, H-3',5', d, J 8,8 Hz); 8,44 (1H, H-1, dd, J 1,6 e 7,8 Hz).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,47 MHz): δ (ppm) 56,1 (10-OCH₃); 56,3 (11-OCH₃); 78,9 (C-6); 105,2 (C-9); 107,9 (C-12); 117,6 (C-4); 123,0 (C-8a); 123,0 (C-2); 123,3 (C-12c); 123,9 (C-3',5'); 125,0 (C-6a); 125,1 (C-1); 128,9 (C-2',6'); 131,0 (C-7); 131,6 (C-3); 145,4 (C-12a); 146,1 (C-1'); 146,2 (C-12b); 148,1 (C-4'); 150,0 (C-10); 153,0 (C-11); 155,3 (C-4a).

Capítulo 6. Bibliografía

- 1 P. Diaz, J. Xu, F. Astruc-diaz, H. Pan, D. L. Brown e M. Naguib, *J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 433–444.
- 2 V. Di Marzo, M. Bifulco e L. De Petrocellis, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2004, **3**, 771–784.
- 3 T. Ohno-Shosaku, T. Maejima e M. Kano, *Neuron*, 2001, **29**, 729–738.
- 4 R. I. Wilson e R. A. Nicoll, *Nature*, 2001, **410**, 588–592.
- 5 E. S. Graham, J. C. Ashton e M. Glass, *Front. Biosci. (Landmark Ed.)*, 2009, **14**, 944–957.
- 6 L. Pacher e N. Ba, 2006, **58**, 389–462.
- 7 K. Mackie, *J. Neuroendocrinol.*, 2008, **20**, 10–14.
- 8 A. C. Howlett, *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, 2002, **68–69**, 619–631.
- 9 L. A. Matsuda, S. J. Lolait, M. J. Brownstein, A. C. Young e T. I. Bonner, *Nature*, 1990, **346**, 561–564.
- 10 J. Cumella, L. Hernández-Folgado, R. Girón, E. Sánchez, P. Morales, D. P. Hurst, M. Gómez-Cañas, M. Gómez-Ruiz, D. C. G. A. Pinto, P. Goya, P. H. Reggio, M. I. Martin, J. Fernández-Ruiz, A. M. S. Silva e N. Jagerovic, *ChemMedChem*, 2012, **7**, 452–463.
- 11 P. H. Reggio, Ed., *The Cannabinoid Receptors*, Humana Press, 1ª Ed., 2009.
- 12 S. Munro, K. L. Thomas e M. Abu-Shaar, *Nature*, 1993, **365**, 61–65.
- 13 M. D. Van Sickle, *Science*, 2005, **310**, 329–332.
- 14 M. R. Elphick e M. Egertova, *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, 2001, **356**, 381–408.
- 15 G. A. Cabral e L. Griffin-Thomas, *Expert Rev. Mol. Med.*, 2009, **11**, e3.
- 16 M. Bouaboula, D. Dussosoy e P. Casellas, *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**, 20397–20405.
- 17 C. Zoratti, D. Kipmen-Korgun, K. Osibow, R. Malli e W. F. Graier, *Br. J. Pharmacol.*, 2003, **140**, 1351–1362.
- 18 A. C. Howlett e S. Mukhopadhyay, *Chem. Phys. Lipids*, 2000, **108**, 53–70.
- 19 G. A. Cabral, E. S. Raborn, L. Griffin, J. Dennis e F. Marciano-Cabral, *Br. J. Pharmacol.*, 2008, **153**, 240–251.
- 20 D. P. Hurst, M. Schmeisser e P. H. Reggio, *Chem. Phys. Lipids*, 2013, **169**, 46–56.
- 21 D. Twelves, K. S. M. Perkins e C. Counsell, *Mov. Disord.*, 2003, **18**, 19–31.
- 22 N. Hattori e Y. Mizuno, *Lancet*, 2004, **364**, 722–724.
- 23 J. L. Eriksen, Z. Wszolek e L. Petrucelli, *Arch. Neurol.*, 2005, **62**, 353–357.
- 24 S. Horn e M. B. Stern, *Neurology*, 2004, **63**, S7-12.
- 25 M. A. Silverdale, S. McGuire, A. McInnes, A. R. Crossman e J. M. Brotchie, *Exp. Neurol.*, 2001, **169**, 400–406.

CAPÍTULO 6. BIBLIOGRAFIA

- 26 I. Lastres-Becker, F. Fezza, M. Cebeira, T. Bisogno, J. A. Ramos, A. Milone, J. Fernandez-Ruiz e V. Di Marzo, *Neuroreport*, 2001, **12**, 2125–2129.
- 27 I. Lastres-Becker, R. De Miguel e J. J. Fernández-Ruiz, *Curr. Drug Targets. CNS Neurol. Disord.*, 2003, **2**, 335–347.
- 28 M. A. Curtis, R. L. M. Faull e M. Glass, *J. Chem. Neuroanat.*, 2006, **31**, 210–215.
- 29 M. E. Weksler, G. Gouras, N. R. Relkin e P. Szabo, *Immunol. Rev.*, 2005, **205**, 244–256.
- 30 L. Walter e N. Stella, *Br. J. Pharmacol.*, 2004, **141**, 775–785.
- 31 M. R. Pazos, E. Núñez, C. Benito, R. M. Tolón e J. Romero, *Life Sci.*, 2004, **75**, 1907–1915.
- 32 N. G. . Milton, *Neurosci. Lett.*, 2002, **332**, 127–130.
- 33 C. Benito, E. Núñez, R. M. Tolón, E. J. Carrier, A. Rábano, C. J. Hillard e J. Romero, *J. Neurosci.*, 2003, **23**, 11136–11141.
- 34 B. G. Ramirez, *J. Neurosci.*, 2005, **25**, 1904–1913.
- 35 M. A. ElSohly e W. Gul, in *Handbook of Cannabis*, ed. R. Pertwee, Oxford University Press, 2014, vol. 37, pp. 3–22.
- 36 S. A. Ahmed, S. A. Ross, D. Slade, M. M. Radwan, I. A. Khan e M. A. ElSohly, *Phytochemistry*, 2015, **117**, 194–199.
- 37 Y. Gaoni e R. Mechoulam, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 1646–1647.
- 38 A. C. Howlett, F. Barth, T. I. Bonner, G. Cabral, P. Casellas, W. A. Devane, C. C. Felder, M. Herkenham, K. Mackie, B. R. Martin, R. Mechoulam e R. G. Pertwee, *Pharmacol. Rev.*, 2002, **54**, 161–202.
- 39 R. G. Pertwee, *Br. J. Pharmacol.*, 2009, **156**, 397–411.
- 40 W. A. Devane, L. Hanus, A. Breuer, R. G. Pertwee, L. A. Stevenson, G. Griffin, D. Gibson, A. Mandelbaum, A. Etinger e R. Mechoulam, *Science*, 1992, **258**, 1946–1949.
- 41 M. Glass e J. K. Northup, *Mol. Pharmacol.*, 1999, **56**, 1362–1369.
- 42 S. R. Childers e C. S. Breivogel, *Drug Alcohol Depend.*, 1998, **51**, 173–187.
- 43 C. S. Breivogel e S. R. Childers, *Neurobiol. Dis.*, 1998, **5**, 417–431.
- 44 C. C. Felder, K. E. Joyce, E. M. Briley, J. Mansouri, K. Mackie, O. Blond, Y. Lai, A. L. Ma e R. L. Mitchell, *Mol. Pharmacol.*, 1995, **48**, 443–450.
- 45 M. Egertová e M. R. Elphick, *J. Comp. Neurol.*, 2000, **422**, 159–171.
- 46 R. Mechoulam, S. Ben-Shabat, L. Hanus, M. Ligumsky, N. E. Kaminski, A. R. Schatz, A. Gopher, S. Almog, B. R. Martin, D. R. Compton, R. G. Pertwee, G. Griffin, M. Bayewitch, J. Barg e Z. Vogel, *Biochem. Pharmacol.*, 1995, **50**, 83–90.
- 47 T. Sugiura, S. Kondo, A. Sukagawa, S. Nakane, A. Shinoda, K. Itoh, A. Yamashita e K. Waku, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995, **215**, 89–97.

- 48 I. Svizenska, P. Dubovy e A. Sulcova, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2008, **90**, 501–511.
- 49 L. Hanus, S. Abu-Lafi, E. Fride, A. Breuer, Z. Vogel, D. E. Shalev, I. Kustanovich e R. Mechoulam, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2001, **98**, 3662–3665.
- 50 M. Duncan, P. Millns, D. Smart, J. E. Wright, D. A. Kendall e V. Ralevic, *Br. J. Pharmacol.*, 2004, **142**, 509–518.
- 51 A. C. Porter, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2002, **301**, 1020–1024.
- 52 S. M. Huang, T. Bisogno, M. Trevisani, A. Al-Hayani, L. De Petrocellis, F. Fezza, M. Tognetto, T. J. Petros, J. F. Krey, C. J. Chu, J. D. Miller, S. N. Davies, P. Geppetti, J. M. Walker e V. Di Marzo, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2002, **99**, 8400–8405.
- 53 T. Bisogno, D. Melck, M. Y. Bobrov, N. M. Gretskaya, V. V Bezuglov, L. De Petrocellis e V. Di Marzo, *Biochem. J.*, 2000, **351 Pt 3**, 817–824.
- 54 R. Adams, C. M. Smith e S. Loewe, *J. Am. Chem. Soc.*, 1942, **64**, 2087–2089.
- 55 R. Mechoulam, N. Lander, A. University e J. Zahalka, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1990, **1**, 315–318.
- 56 G. Appendino, A. Minassi e O. Tagliatalata-Scafati, *Nat. Prod. Rep.*, 2014, **31**, 880–904.
- 57 A. D. Khanolkar, D. Lu, M. Ibrahim, R. I. Duclos, Jr., G. A. Thakur, T. P. Malan, Jr., F. Porreca, V. Veerappan, X. Tian, C. George, D. A. Parrish, D. P. Papahatjis e A. Makriyannis, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 6493–6500.
- 58 A. Vogel, *Ann. der Phys. und der Phys. Chemie*, 1820, **64**, 161–166.
- 59 F. Borges, F. Roleira, N. Milhazes, L. Santana e E. Uriarte, *Curr. Med. Chem.*, 2005, **12**, 887–916.
- 60 F. G. Medina, J. G. Marrero, M. Macías-Alonso, M. C. González, I. Córdova-Guerrero, A. G. Teissier García e S. Osegueda-Robles, *Nat. Prod. Rep.*, 2015, **32**, 1472–1507.
- 61 S. Emami e S. Dadashpour, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **102**, 611–630.
- 62 I. Piatkov, C. Rochester, T. Jones e S. Boyages, *Toxins (Basel)*, 2010, **2**, 2584–2592.
- 63 S. Sandhu, Y. Bansal, O. Silakari e G. Bansal, *Bioorg. Med. Chem.*, 2014, **22**, 3806–3814.
- 64 L. Wu, X. Wang, W. Xu, F. Farzaneh e R. Xu, *Curr. Med. Chem.*, 2009, **16**, 4236–4260.
- 65 M. Kulkarni, G. Kulkarni, C.-H. Lin e C.-M. Sun, *Curr. Med. Chem.*, 2006, **13**, 2795–2818.
- 66 L. Heide, *Nat. Prod. Rep.*, 2009, **26**, 1241–1250.
- 67 K. Fylaktakidou, D. Hadjipavlou-Litina, K. Litinas e D. Nicolaidis, *Curr. Pharm. Des.*, 2004, **10**, 3813–3833.
- 68 I. Kostova, S. Bhatia, P. Grigorov, S. Balkansky, V. S. Parmar, A. K. Prasad e L.

CAPÍTULO 6. BIBLIOGRAFIA

- Saso, *Curr. Med. Chem.*, 2011, **18**, 3929–3951.
- 69 M. Alipour, M. Khoobi, S. Emami, S. Fallah-Benakohal, S. F. Ghasemi-Niri, M. Abdollahi, A. Foroumadi e A. Shafiee, *Daru*, 2014, **22**, 1–9.
- 70 M. Atmaca, H. M. Bilgin, B. D. Obay, H. Diken, M. Kelle e E. Kale, *J. Physiol. Biochem.*, 2011, **67**, 569–576.
- 71 X.-M. Peng, G. L.V. Damu e C.- He Zhou, *Curr. Pharm. Des.*, 2013, **19**, 3884–3930.
- 72 M. Curini, F. Epifano, F. Maltese, M. C. Marcotullio, S. P. Gonzales e J. C. Rodriguez, *Aust. J. Chem.*, 2003, **56**, 59–60.
- 73 D. A. Ostrov, J. A. Hernandez Prada, P. E. Corsino, K. A. Finton, N. Le e T. C. Rowe, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 3688–3698.
- 74 A. Manvar, A. Bavishi, A. Radadiya, J. Patel, V. Vora, N. Dodia, K. Rawal e A. Shah, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011, **21**, 4728–4731.
- 75 R. V Nair, E. P. Fisher, S. H. Safe, C. Cortez, R. G. Harvey e J. DiGiovanni, *Carcinogenesis*, 1991, **12**, 65–69.
- 76 K. V. Sashidhara, A. Kumar, M. Chatterjee, K. B. Rao, S. Singh, A. K. Verma e G. Palit, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011, **21**, 1937–1941.
- 77 B. Yuce, O. Danis, A. Ogan, G. Sener, M. Bulut e A. Yarat, *Arzneimittelforschung*, 2011, **59**, 129–134.
- 78 M. Alipour, M. Khoobi, A. Moradi, H. Nadri, F. Homayouni Moghadam, S. Emami, Z. Hasanpour, A. Foroumadi e A. Shafiee, *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **82**, 536–544.
- 79 A. S. Abd-El-Aziz, H. M. Mohamed, S. Mohammed, S. Zahid, A. Ata, A. H. Bedair, A. M. El-Agrody e P. D. Harvey, *J. Heterocycl. Chem.*, 2007, **44**, 1287–1301.
- 80 M. M. Heravi, S. Khaghaninejad e M. Mostofi, in *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Elsevier, 2014, vol. 112, 1–50.
- 81 A. Thakur, R. Singla e V. Jaitak, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **101**, 476–495.
- 82 R. H. Vekariya, K. D. Patel, D. P. Rajani, S. D. Rajani e H. D. Patel, *J. Assoc. Arab Univ. Basic Appl. Sci.*, 2016, **23**, 10–19.
- 83 S. Ghanei-Nasab, M. Khoobi, F. Hadizadeh, A. Marjani, A. Moradi, H. Nadri, S. Emami, A. Foroumadi e A. Shafiee, *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, **121**, 40–46.
- 84 H. Zhang, H. Tong, Y. Zhao, T. Yu, P. Zhang, J. Li e D. Fan, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2015, **150**, 316–320.
- 85 H. Zhang, T. Yu, Y. Zhao, D. Fan, Y. Xia e P. Zhang, *Synth. Met.*, 2010, **160**, 1642–1647.
- 86 R.-R. Zhang, J. Liu, Y. Zhang, M. Hou, M.-Z. Zhang, F. Zhou e W.-H. Zhang, *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, **116**, 76–83.
- 87 A. Baeyer e C. A. Knop, *Ann. der Chemie und Pharm.*, 1866, **140**, 1–38.
- 88 R. B. Van Order e H. G. Lindwall, *Chem. Rev.*, 1942, **30**, 69–96.
- 89 A. Baeyer e A. Emmerling, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 1869, **2**, 679–

- 682.
- 90 B. Smith e T. Smith, *J. Exp. Med.*, 1897, **2**, 543–547.
- 91 J.-H. Lee e J. Lee, *FEMS Microbiol. Rev.*, 2010, **34**, 426–444.
- 92 M. A. A. Radwan, E. A. Ragab, N. M. Sabry e S. M. El-Shenawy, *Bioorg. Med. Chem.*, 2007, **15**, 3832–3841.
- 93 H. Panwar, R. S. Verma, V. K. Srivastava e A. Kumar, *Indian J. Chem. B*, 2007, **45**, 2099–2104.
- 94 M. T. Macdonough, T. E. Strecker, E. Hamel, J. J. Hall, D. J. Chaplin, M. L. Trawick e K. G. Pinney, *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, **21**, 6831–6843.
- 95 E. Abele, R. Abele, O. Dzenitis e E. Lukevics, *Chem. Heterocycl. Compd.*, 2003, **39**, 3–35.
- 96 W. G. Kurz, K. B. Chatson, F. Constabel, J. P. Kutney, L. S. Choi, P. Kolodziejczyk, S. K. Sleight, K. L. Stuart e B. R. Worth, *Planta Med.*, 1981, **42**, 22–31.
- 97 M.-Z. Zhang, Q. Chen e G.-F. Yang, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **89**, 421–441.
- 98 F.-E. Chen e J. Huang, *Chem. Rev.*, 2005, **105**, 4671–4706.
- 99 H. Ishikawa, D. A. Colby e D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 420–421.
- 100 A. Baeyer, *Ann. der Chemie und Pharm.*, 1866, **140**, 295–296.
- 101 D. F. Taber e P. K. Tirunahari, *Tetrahedron*, 2011, **67**, 7195–7210.
- 102 A. S. G. Prasad, T. B. Rao, D. Rambabu, M. V. B. Rao e M. Pal, *Arab. J. Chem.*, 2016, 1-11.
- 103 M. P. Fortes, B. N. Paulo, G. Teresinha, T. S. Kaufman e G. C. G. Milit, *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, **118**, 5–10.
- 104 X.-D. Liu, Y. Xu, R. Sun, Y.-J. Xu, J.-M. Lu e J.-F. Ge, *Analyst*, 2013, **138**, 6542–6551.
- 105 K. Mahendra Raj, B. Vivekanand, G. Y. Nagesh e B. H. M. Mruthyunjayaswamy, *J. Mol. Struct.*, 2014, **1059**, 280–293.
- 106 P. R. Kamath, D. Sunil, A. A. Ajees, K. S. R. Pai e S. Das, *Bioorg. Chem.*, 2015, **63**, 101–109.
- 107 J. N. Sangshetti, F. A. Kalam Khan, A. A. Kulkarni, R. H. Patil, A. M. Pachpinde, K. S. Lohar e D. B. Shinde, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2015, **26**, 829–835.
- 108 Y. Xu, X. Dai e B.-X. Zhao, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2015, **138**, 164–168.
- 109 A. I. S. Almeida, V. L. M. Silva, A. M. S. Silva, D. C. G. A. Pinto e J. A. S. Cavaleiro, *Synlett*, 2008, **2008**, 2593–2596.
- 110 R. S. G. R. Seixas, A. M. S. Silva, D. C. G. A. Pinto e J. A. S. Cavaleiro, *Synlett*, 2008, **2008**, 3193–3197.
- 111 A. I. S. Almeida, V. L. M. Silva, A. M. S. Silva, D. C. G. A. Pinto e J. A. S. Cavaleiro,

CAPÍTULO 6. BIBLIOGRAFIA

- Synlett*, 2012, **23**, 889–892.
- 112 V. L. M. Silva, A. M. S. Silva, D. C. G. A. Pinto, P. Rodríguez, M. Gómez, N. Jagerovic, L. F. Callado, J. A. S. Cavaleiro, J. Elguero e J. Fernández-Ruizb, *Arkivoc*, 2010, **2010**, 226–247.
- 113 S. B. Bharate, R. Mudududdla, J. B. Bharate, N. Battini, S. Battula, R. R. Yadav, B. Singh e R. A. Vishwakarma, *Org. Biomol. Chem.*, 2012, **10**, 5143–5150.
- 114 H. Jourdan, G. Gouhier, L. Van Hijfte, P. Angibaud e S. R. Piettre, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 8027–8031.
- 115 A. J. Hoefnagel, E. A. Gunnewegh, R. S. Downing e H. Van Bekkum, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1995, **105**, 225–226.
- 116 D. H. A. Rocha, Tese de Douturamento, Universidade de Aveiro, 2015.
- 117 S. Bhavani, M. A. Ashfaq, D. Rambabu, M. V. Basaveswara Rao e M. Pal, *Arab. J. Chem.*, 2016, 1-11.
- 118 V. Y. Sosnovskikh, R. A. Irgashev and A. A. Levchenko, *Tetrahedron*, 2008, **64**, 6607–6614.
- 119 A. I. R. N. A. Barros, A. M. S. Silva, I. Alkorta and J. Elguero, *Tetrahedron*, 2004, **60**, 6513–6521.
- 120 G. A. L. F. Silva, trabalho realizado no âmbito da unidade curricular de Seminários de Metodologias de Investigação II do Doutoramento em Farmácia, especialidade em Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, 2017.

Estes anexos só estão disponíveis para consulta através do CD-ROM.
Queira por favor dirigir-se ao balcão de atendimento da Biblioteca.

Serviços de Biblioteca, Informação Documental e Museologia
Universidade de Aveiro