



**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências

Carla Santana Francisco

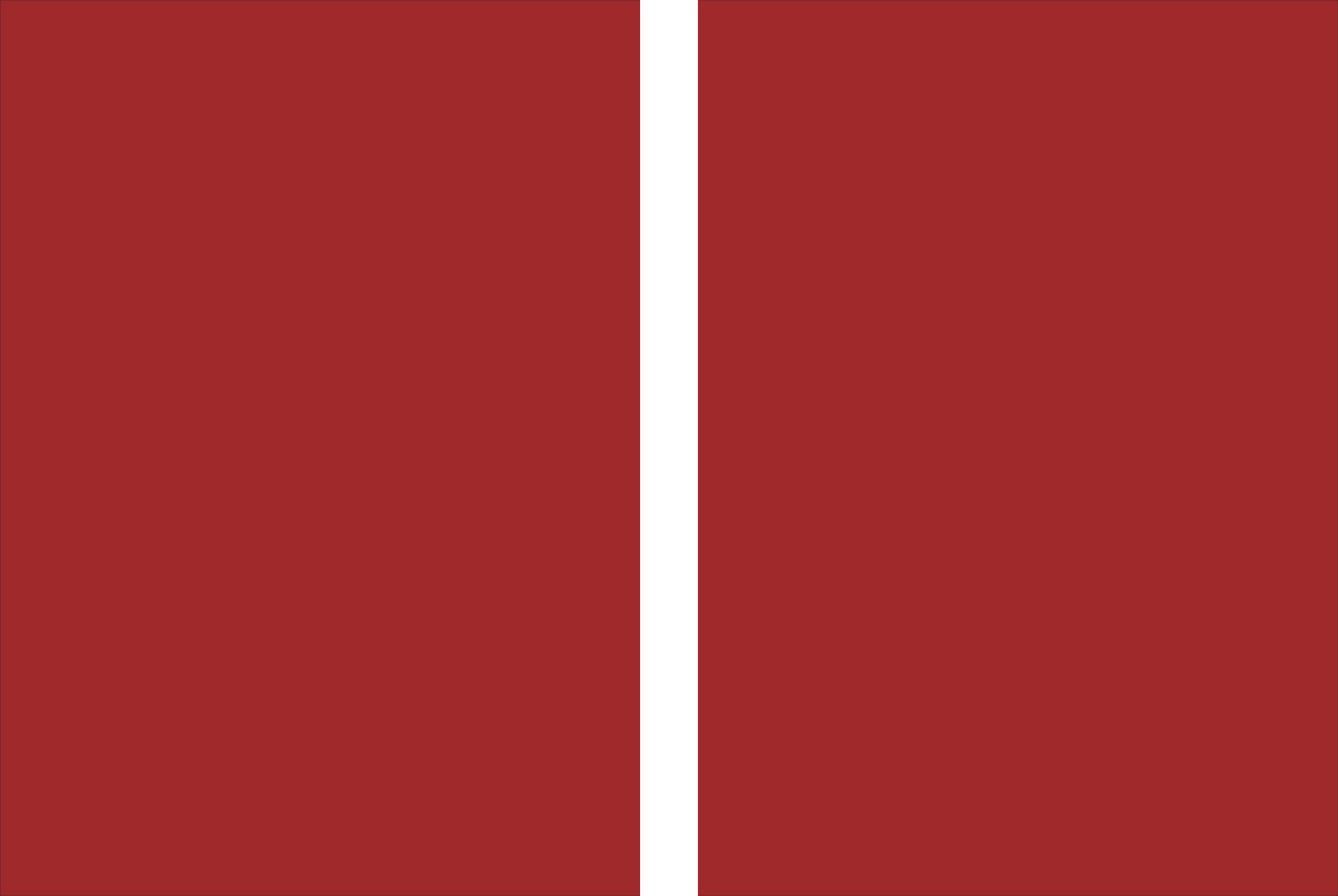
## Síntese e actividade antitumoral de compostos análogos do psoraleno

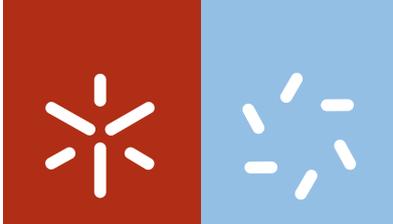
Síntese e actividade antitumoral de  
compostos análogos do psoraleno

Carla Santana Francisco

UMinho | 2013

novembro de 2013





**Universidade do Minho**

Escola de Ciências

Carla Santana Francisco

**Síntese e actividade antitumoral de  
compostos análogos do psoraleno**

Tese de Doutoramento em Ciências  
Especialidade em Química

Trabalho realizado sobre a orientação da  
**Doutora Ana Paula da Assunção Esteves**

Nome

Carla Santana Francisco

Endereço electrónico: carla.iq@gmail.com

Título

Síntese e actividade antitumoral de compostos análogos do psoraleno

Orientador:

Doutora Ana Paula da Assunção Esteves

Ano de conclusão:

2013

Designação do Doutoramento:

Doutoramento em Ciências - Especialidade em Química

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE, APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE;

Universidade do Minho, 05/11/2013

Assinatura: \_\_\_\_\_

*Dedico esta Tese com todo o carinho,  
Aos meus pais, José e Madalena, e  
À minha irmã, Cristina.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Doutora Ana Paula Esteves, pela orientação científica, pela dedicação, disponibilidade e todo o apoio prestado que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À Doutora Lígia Rodrigues, também orientadora deste trabalho até outubro de 2012, agradeço toda a dedicação, incentivo e acompanhamento ao longo destes anos, e também a amizade demonstrada.

À Professora Doutora Ana Oliveira-Campos, agradeço a colaboração, apoio e amizade demonstrados durante este percurso.

À Doutora Lígia R. Rodrigues (DEB – Universidade do Minho) e ao Doutor Nuno Cerqueira (REQUIMTE – UPorto) agradeço a disponibilidade e boa disposição com que me acompanharam durante este período e também pelos testes de atividade biológica e estudos de modelação molecular realizados.

À Universidade do Minho, ao Departamento de Química e ao Centro de Química da Escola de Ciências, pelo acolhimento e condições oferecidas, que permitiram a realização deste trabalho.

À FCT, pelo apoio financeiro e pela atribuição de uma Bolsa de Doutoramento (SFRH/BD/48636/2008), que me permitiu a dedicação a este trabalho.

À Dra Elisa Pinto e a Dra Vânia Azevedo pela rapidez e eficiência com que sempre executaram os espetros de RMN e análises elementares.

Um agradecimento muito especial às minhas amigas Joana Veloso, Sandra Cunha (Lis), Catarina Lopes, Goreti Pereira, Sandrina Heleno e Rafaela Guimarães. Obrigada pela vossa amizade e por me acompanharem e incentivarem neste percurso.

Ao António Teixeira, obrigada pela tua amizade, pelo teu carinho, incentivo e boa disposição. Muito obrigada por fazeres parte da minha vida.

À minha irmã Cristina por todo o carinho e pela tua amizade sincera e reconfortante. Muito obrigada por seres quem és e como és.

Aos meus pais, José e Madalena, muito obrigada pelos ensinamentos e por terem sempre uma palavra de conforto quando mais preciso. Por me apoiarem em todos os momentos e pela certeza que me dão que tudo vai correr bem. Amo-vos por tudo o que são para mim.

O objetivo definido para esta tese consistia na síntese de compostos análogos de psoraleno com núcleos de dibenzofurano, carbazole e dibenzotiofeno e no estudo da sua atividade anti-tumoral contra algumas linhas celulares de cancro humano.

As estratégias de síntese utilizadas para a preparação destes análogos foram baseadas em métodos descritos na literatura para reações de compostos aromáticos e heteroaromáticos. O objetivo último das sínteses é a formação do anel de piranona pelo que a sequência reacional utilizada requer substratos adequados à sua formação. Para a síntese de alguns análogos são necessários substratos do tipo *o*-hidroxialdeídos como compostos de partida pelo que foi necessário proceder à sua síntese por introdução do grupo aldeído, em posição *orto* relativamente ao grupo hidroxilo, por reação de formilação de Reimer-Tiemann. A formação do anel de piranona foi realizada por reação destes substratos com malonato de dietilo (condensação de Knoevenagel) ou com um fosforano (reação de Wittig). Destas reações obtiveram-se os análogos de estrutura angular.

Alguns análogos foram obtidos por reação de Pechmann utilizando como precursores reagentes comerciais hidroxilados (2-hidroxidibenzofurano e 2-hidroxicarbazole) que por reação com compostos  $\beta$ -cetoéster (acetoacetato de etilo e 2-cloroacetoacetato de etilo) originaram os produtos pretendidos, com estrutura linear e/ou angular.

Para os análogos com núcleo de enxofre, o composto hidroxilado não estava disponível comercialmente pelo que foi necessário proceder à reação de hidroxilação do dibenzotiofeno com vista à obtenção do precursor que, sob condições de Pechmann, conduziu à formação dos análogos de psoraleno.

Também foram realizadas reações de acoplamento, sob condições de Ullmann, entre a 7-hidroxi-4-metilcumarina (comercial) e brometos de arilo para obtenção de éteres difenílicos. Estes éteres foram submetidos a reações de oxidação, catalisadas por paládio e/ou cobre, mas de modo geral estas reações não foram bem sucedidas, dado que os isómeros obtidos, por possuírem polaridade e solubilidades muito próximas, não puderam ser isolados.

Alguns dos análogos sintetizados foram submetidos a ensaios de atividade biológica para avaliar as suas capacidades de inibição *in vitro* da proliferação de três linhas celulares de cancro humano, nomeadamente, MDA-MB231 (cancro de mama), HeLa (cancro de colo do útero) e TCC-SUP (cancro de bexiga). Para todos os compostos estudados foi observada uma elevada capacidade anti-proliferativa, mesmo para a concentração mais baixa em estudo (0,5  $\mu$ M).

Os estudos de modelação molecular não constituíam um objetivo deste projeto mas, dado que alguns psoralenos têm demonstrado ser inibidores potentes de várias enzimas do citocromo P450, alguns destes estudos foram realizados (no REQUIMTE – FCUP).

## ABSTRACT

---

The aim defined for this thesis consists on the synthesis of analogue compounds of psoralen with dibenzofuran, carbazole and dibenzothiophene skeleton and on the study of their antitumor activities against some human cancer cell lines.

The synthetic strategy used for the preparation of these analogues is based on methods described in the literature for reactions of aromatic and heteroaromatic compounds. The ultimate objective of these syntheses is the formation of the pyranone by a reaction sequence that needs appropriate substrates for the cyclisation to occur.

For the synthesis of some analogues *o*-hydroxyaldehydes as starting compounds are required. Their preparations were carried out by Reimer-Tiemann formylation to introduce the aldehyde group in an ortho position to the hydroxyl group. The pyranone ring formation was performed with these substrates by reaction with diethyl malonate (Knoevenagel condensation) or a phosphorane (Wittig reaction). These reactions afforded angular analogues.

Some analogues were obtained by Pechmann reaction using as precursors hydroxylated commercial reagents (2-hydroxydibenzofuran and 2-hydroxycarbazole) that were reacted with  $\beta$ -ketoester compounds (ethyl acetoacetate and 2-chloroacetoacetate) affording the desired products with linear and/or angular structures.

For analogues with dibenzothiophene nucleus, the hydroxylated compound was not commercially available. Hence, the hydroxy dibenzothiophene was synthesized and used as reactant under Pechmann conditions for the formation of psoralen analogues. Coupling reactions were carried out under Ullmann conditions between the 7-hydroxy-4-methylcoumarin (commercial) and aryl bromides to prepare diphenyl ethers. These ethers were submitted to oxidation reactions catalyzed by palladium and / or copper. Generally, these reactions have not been successful, since the isomers obtained could not be isolated due to their very close polarity and solubility.

Some of the synthesized analogues were tested for biological activity to assess their ability to inhibit *in vitro* proliferation of three human cancer cell lines, including MDA-MB231 (breast cancer), HeLa (cervical cancer) and TCC-SUP (bladder cancer). For all the compounds studied a high anti-proliferative capacity was observed, even for the lowest concentration studied (0.5 mM).

Although the molecular modeling studies were not defined as an objective of this project since some of the psoralens which were obtained have been shown to be potent inhibitors of various cytochrome P450 enzymes some of these studies were performed (in REQUIMTE - FCUP).

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT .....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	ix
<b>Capítulo I - Introdução.....</b>	<b>1</b>
1. Os psoralenos e suas propriedades .....	2
2. Derivados de psoralenos e suas propriedades .....	4
2.1 Derivados com núcleo de carbazole, furano e tiofeno.....	4
2.2 Derivados com núcleo de acridona .....	8
3. Sínteses de análogos de psoraleno .....	9
3.1 Métodos de acoplamento.....	9
3.2 Métodos de ciclização.....	12
3.3 Métodos de formilação em compostos aromáticos.....	13
3.3.1 Formilação de Reimer-Tiemann .....	14
3.3.2 Formilação de Vilsmeier-Haack.....	16
3.3.3 Formilação via litiação de carbamatos.....	18
3.4 Métodos de formação do anel de piranona .....	20
3.4.1 Reações de Pechmann e Perkin.....	20
3.4.2 Condensação de Knoevenagel.....	23
3.4.3 Reação com alquinos.....	26
<b>Capítulo II - Discussão dos Resultados .....</b>	<b>29</b>
A. SÍNTESE.....	30
1. Preparação de análogos a partir de 2-hidroxidibenzofurano .....	30
1.1 Formilação de Reimer-Tiemann para obtenção do precursor 67 .....	31
1.2 Por reação de Wittig e por condensação de Knoevenagel.....	33
1.2.1 Reação de Wittig.....	33
1.2.2 Condensação de Knoevenagel.....	35
1.3 Por reação de Pechmann .....	36
2. Preparação de análogos a partir de 7-hidroxi-4-metilcumarina.....	39

3.	Preparação de análogos a partir de 3-hidroxicarbazole .....	43
3.1	Síntese do precursor 3-hidroxicarbazole (133).....	44
3.1.1	Reação de acoplamento .....	44
3.1.2	Reações a partir de acetanilida .....	45
3.1.3	Reações a partir de nitroindoles .....	46
3.1.4	Reações a partir de 3-bromocarbazole .....	49
3.1.5	Reações a partir de tetra-hidrocarbazole.....	49
4.	Preparação de análogos a partir de 2-hidroxicarbazole .....	56
5.	Preparação de análogos a partir de acridonas .....	65
6.	Preparação de análogos a partir de 2-dibenzotiofeno .....	70
B.	ESTUDOS BIOLÓGICOS .....	74
C.	MODELAÇÃO MOLECULAR.....	78
	<b>Capítulo III - Parte Experimental</b> .....	86
	Procedimentos Gerais .....	87
	Descrição Experimental.....	89
1.	Análogos do psoraleno a partir de 2-hidroxidibenzofurano.....	89
2.	Análogos do psoraleno a partir de 7-hidroxi-4-metilcumarina .....	97
3.	Análogos do psoraleno a partir de 3-hidroxicarbazole .....	99
3.1	Por reações de acoplamento .....	99
3.2	A partir de acetanilida.....	100
3.3	A partir de nitroindoles.....	102
3.4	A partir de tetra-hidrocarbazole.....	105
4.	Análogos do psoraleno a partir de 2-hidroxicarbazole.....	110
5.	Análogos do psoraleno a partir de acridona.....	121
6.	Análogos do psoraleno a partir de dibenzotiofeno .....	127
	<b>Referências Bibliográficas</b> .....	131

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

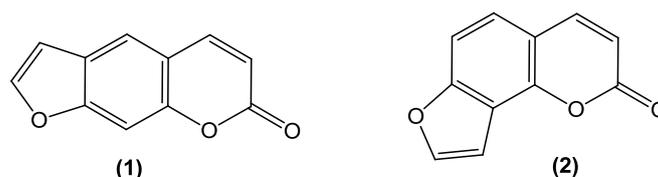
Abreviaturas e símbolos	Nome completo
Ap	aparente
AcOEt	acetato de etilo
AChE	acetilcolinesterase
BChE	butirilcolinesterase
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butil lítio
Calc.	calculado
d	duplete
dd	duplete de dupletos
ddd	duplo duplete de dupletos
dt	duplete de tripletos
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCC	<i>N,N'</i> -diciclocarbodiimida
DCM	diclorometano
DDQ	5,6-diciano-2,3-dicloro-1,4-benzoquinona
DMEM	meio de cultura para as células ( <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i> )
DMF	dimetilformamida
DMSO- $d_6$	sulfóxido de dimetilo deuterado
DNA	ácido desoxirribonucleico ( <i>deoxyribonucleic acid</i> )
equiv.	equivalente(s)
Et	grupo etilo (-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )
Exp.(s)	experiência(s)
FBS	soro ( <i>Fetal Bovine Serum</i> )
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HeLa	linha celular de cancro humano do colo do útero
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> (correlação espectroscópica heteronuclear bidimensional)
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i> (correlação espectroscópica heteronuclear bidimensional)
HOBt	1-hidroxibenzotriazole
<i>J</i>	constante de acoplamento (em Hz)
lit.	literatura

m	multipleteo
Me	grupo metilo (-CH <sub>3</sub> )
MDA-MB231	linha celular de cancro humano da mama
MOP	metoxipsoraleno
MW	microondas ( <i>microwave</i> )
NBS	<i>N</i> -bromossuccinimida
<i>N</i> -MFA	<i>N</i> -metilformanilida
<i>o</i> -DCB	<i>orto</i> -diclorobenzeno
Obt.	obtido
TBS	tributilsililo
TMS	trimetilsililo
p.e.	ponto de ebulição
p.f.	ponto de fusão
ppm	partes por milhão
PPA	ácido polifosfórico
Ph	grupo fenilo (-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
q	quarteto
RMN de <sup>13</sup> C	espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de <sup>1</sup> H	espectroscopia de ressonância magnética nuclear de protão
RNA	ácido ribonucleico ( <i>ribonucleic acid</i> )
s	singleto
<i>sec</i> -BuLi	<i>sec</i> -butil lítio
sl	singleto largo
t.a.	temperatura ambiente
TCC-SUP	linha celular de cancro humano da bexiga
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetra-hidrofurano
TLC	cromatografia em camada fina ( <i>Thin Layer Chromatography</i> )
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -tetrametilenodiamina
δ	desvio químico (em ppm)
δ <sub>C</sub>	desvio químico de carbono
δ <sub>H</sub>	desvio químico de protão
Δ	aquecimento

## ***Capítulo I - Introdução***

## 1. Os psoralenos e suas propriedades

Os psoralenos ou furocumarinas, como também são conhecidos, são compostos aromáticos tricíclicos que incorporam na sua estrutura um anel de furano fundido com uma cumarina. Baseadas na sua estrutura, as furocumarinas podem ser classificadas em duas sub-classes: os compostos conhecidos por tipo-psoraleno, que possuem uma estrutura linear, e os compostos conhecidos por tipo-angelicina, que apresentam estrutura angular (Figura 1).



**Figura 1.** Estrutura do psoraleno **1** e da angelicina **2**.

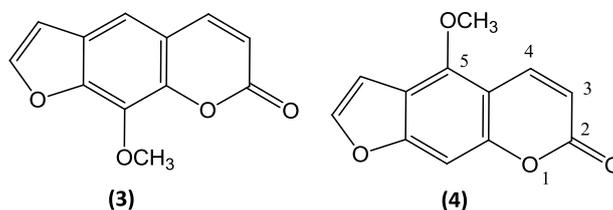
As furocumarinas são constituintes naturais que se encontram presentes em vários tipos de plantas, em particular nas famílias das *Umbelliferae* e *Apicaceae* principalmente em espécies como *Ammi*, *Pimpinella*, *Angelica* e *Heracleum*, na *Fabaceae*, e nas plantas cítricas pertencente às *Rutaceae* (Lohr, 2010).

As furocumarinas são utilizadas na alimentação e em fitomedicina, chás e cosméticos (Messer, 2011). Nos alimentos estão presentes, por exemplo, na cenoura (*Daucus carota* L.), aipo (*Apium graveolens* L.), lima (*Citrus aurantiifolia*), limão (*Citrus limon*), chervilha (*Pastinaca sativa*), salsa (*Petroselinum crispum*) (Lohr, 2010; Baumgart, 2005), toranja (*Citrus paradisi*), laranja doce (*Citrus sinensis* L.) (Lohr, 2010) e laranja azeda (*Citrus aurantium* L.) (Baumgart, 2005), entre outros.

Devido às suas propriedades fototóxicas e fotomutagénicas, as furocumarinas ganharam considerável interesse do qual resultaram vários estudos em relação aos riscos toxicológicos que apresentam através da alimentação. Estes compostos são também importantes agentes fotoquimioterapêuticos e apresentam atividades antitumoral, antioxidante e anti-inflamatória.

Além da exposição humana através de plantas e dos seus extratos, o psoraleno e o 8-metoxipsoraleno (8-MOP, xantotoxina, **3**) (Figura 2) em combinação com irradiação UV-A, conhecida por terapia PUVA (psoraleno + UV-A), são usados como

fármacos para o tratamento de doenças da pele (Messer, 2011). Esta técnica foi introduzida nos Estados Unidos como um tratamento para o vitiligo e, de imediato, introduzida como um novo tratamento para a psoríase (Matz, 2010).



**Figura 2.** Estrutura de 8-metoxipsoraleno **3** e 5-metoxipsoraleno **4**.

O desenvolvimento da fotoquimioterapia extracorporal (ECP), também chamada fotofereze, permitiu a cura do linfoma de células T (Salvador, 2013; Barraja, 2011). Esta técnica, que foi aprovada pela FDA para a cura do linfoma de células T, também é eficaz contra vários tumores, doenças auto-imunes e na prevenção de rejeição de órgãos transplantados (Barraja, 2011).

Quando ativados por irradiação UV-A, os compostos furocumarínicos induzem muitos efeitos biológicos, tais como fotocicloadições ao DNA, modulação do sistema imunitário, reações com proteínas, RNA e lípidos (Salvador, 2013).

A técnica PUVA, que proporciona tratamentos bem sucedidos contra muitas doenças, é conhecida por ter um duplo mecanismo terapêutico: a) a capacidade das furocumarinas para induzirem fotossensibilização por reação com timina formando adutos, interferindo assim na replicação do DNA da célula afetada; b) possibilidade destes compostos também interagirem com oxigênio molecular no seu estado fundamental tripleto (<sup>3</sup>O<sub>2</sub>) para produzir o estado singleto excitado do oxigênio (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), uma espécie extremamente reativa e citotóxica, a par com a formação simultânea de outros radicais tais como O<sub>2</sub><sup>-</sup> ou HO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Serrano-Pérez, 2009).

O fígado é o principal órgão responsável pela biotransformação de fármacos no organismo. A família do citocromo P450 (CYP450) é uma importante classe de mono-oxigenases do cofator heme e constitui o principal sistema enzimático hepático humano (Wang, 2012).

O mecanismo de inativação do citocromo P450 por psoralenos não está completamente compreendido, mas pensa-se que pode ocorrer de três modos

diferentes: (a) ligação do inibidor à apoproteína, (b) ligação do inibidor ao grupo heme e (c) reação do inibidor com a indução de fragmentação do heme. Uma vez que estes processos tenham sido desencadeados, a morte celular pode ocorrer a menos que haja reparação por mecanismos celulares (Gambari, 2007; Koenigs, 1998).

O bergapteno (5-metoxipsoraleno, 5-MOP, **4**) (Figura 2) é um inibidor suicida de CYP3A4 humano, e a xantotoxina, catalisada por CYP3A4, inibe competitivamente uma variedade de metabolitos de fármacos (Ho, 2001).

Vários estudos demonstraram o efeito antiproliferativo da xantotoxina e do bergapteno em linhas celulares de cancro humano, incluindo células de melanoma (B16-F10), adenocarcinoma gástrico (MK-1), cancro da mama (células MCF-7 e T47D) e carcinoma hepatocelular (Panno, 2009; Kawaii, 2001; Fujioka, 1999; Lambertini, 2004). O bergapteno evidenciou também o efeito citotóxico contra HeLa (Fujioka, 1999; Abdel, 2009; Chaya, 2004) e MDA-MB231 (Lambertini, 2004; Setzer, 2000). Por sua vez, a xantotoxina foi avaliada contra a linha celular de carcinoma da bexiga (E-J), mas os resultados preliminares não foram muito promissores (Yang, 2007). Na pesquisa bibliográfica efetuada não se encontraram dados sobre o efeito da xantotoxina e do bergapteno sobre células TCC-SUP.

## **2. Derivados de psoralenos e suas propriedades**

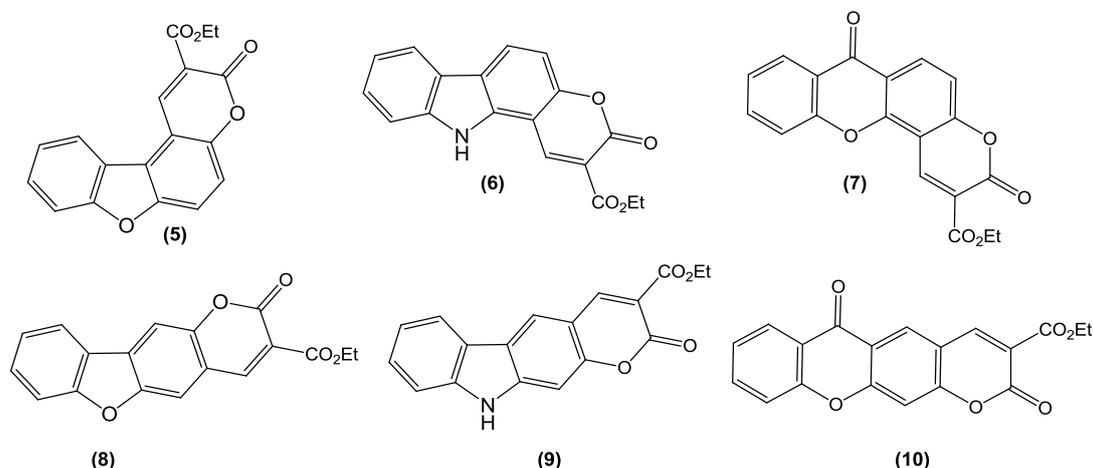
### **2.1 Derivados com núcleo de carbazole, furano e tiofeno**

Vários grupos de pesquisa estão envolvidos na síntese e avaliação de muitas propriedades biológicas de derivados de psoraleno (Bariamis *et al.*, 2013).

As cumarinas são fluoróforos, podendo ser úteis para a visualização de processos durante a síntese, bem como para monitorizar o curso da reação e, assim, permitir o rastreio da localização de moléculas dentro de células vivas por meio de técnicas de fluorescência (Litinas, 2010).

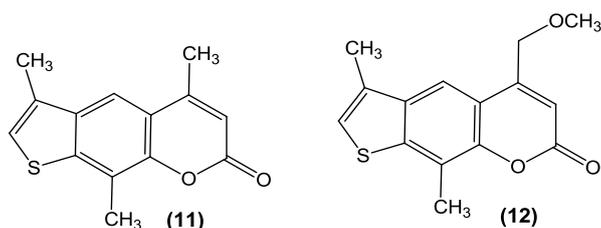
Oliveira *et al.* (2006 e 2007) referem que, em geral, alguns derivados de psoraleno com estruturas angulares, tais como **5 – 7**, apresentam melhor atividade

biológica *in vitro* quando comparados com os seus análogos lineares **8** – **10** (Figura 3). Os estudos foram realizados em três linhas celulares de cancro humano: cancro da mama (MCF-7), cancro do sistema nervoso central (SF-268) e cancro do pulmão (NCI-460).



**Figura 3.** Estruturas de alguns análogos de psoraleno com potencial atividade antiproliferativa.

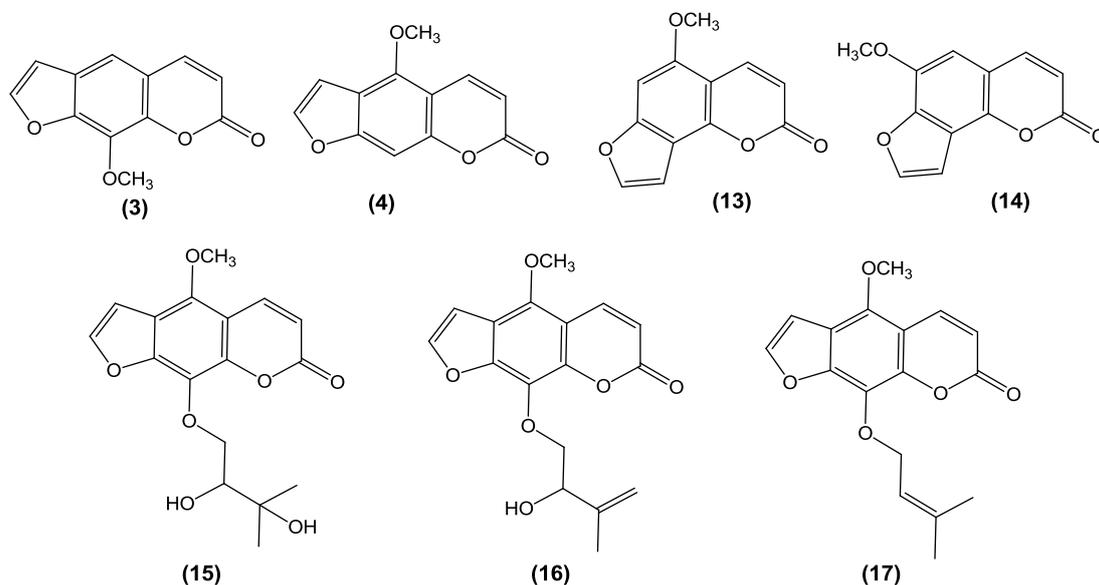
Na figura 4 apresentam-se dois exemplos de derivados de tienocumarinas (**11** e **12**), descritos por Gia *et al.* (2000), e avaliados *in vitro* para três linhas celulares de cancro humano: HeLa, HL-60 (células leucémicas mielóides humanas) e A-431 (carcinoma de células epitelióides). Os estudos realizados mostraram que estes compostos apresentam propriedades antiproliferativas superiores (20 vezes mais eficientes) ao 8-MOP.



**Figura 4.** Estrutura dos derivados **11** e **12** com propriedades antiproliferativas, contra células HeLa, HL-60 e A-431.

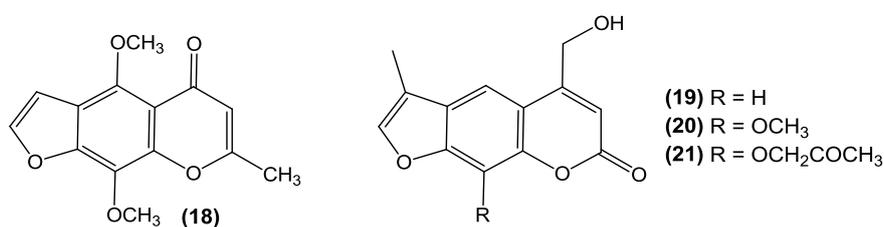
Sumiyoshi *et al.* (2013) estudaram 17 metoxi- e hidroxifurocumarinas, extraídas de duas espécies de plantas da família *Umbelliferae*: *Angelica* (raízes ou sementes) e *Cnidium* (frutos). Deste estudo, concluíram que apenas as sete

metoxicumarinas **3**, **4** e **13** – **17** apresentadas na Figura 5 possuem atividade antiproliferativa em células de cancro humano de pele (B16F10). Nenhuma das hidroxycumarinas que estudaram revelou capacidade antiproliferativa.



**Figura 5.** Estruturas de metoxifurocumarinas com atividade antiproliferativa, contra células de B16F10.

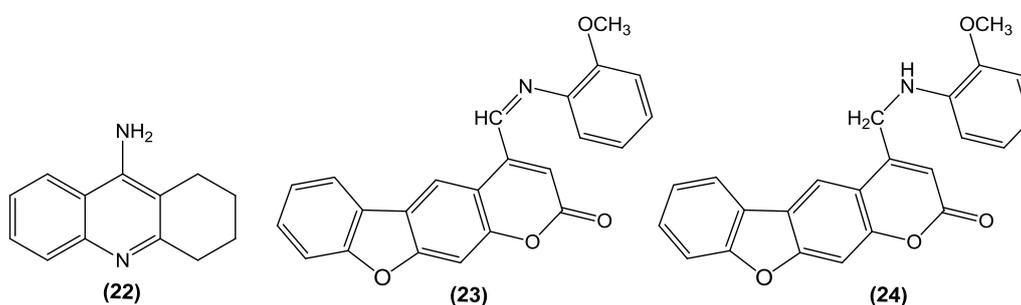
As propriedades cardiovasculares de alguns derivados de cumarina são referidas na literatura. Campos-Toimil *et al.* (2002) descrevem alguns derivados de psoraleno **19** – **21** que, quando comparados com um vasodilatador comercial (Khellin, **18**), apresentam resultados considerados de grande interesse para o desenvolvimento de novos e mais eficientes fármacos vasodilatadores (Figura 6).



**Figura 6.** Estrutura do Khellin e alguns exemplos de derivados de psoraleno com propriedades vasodilatadoras.

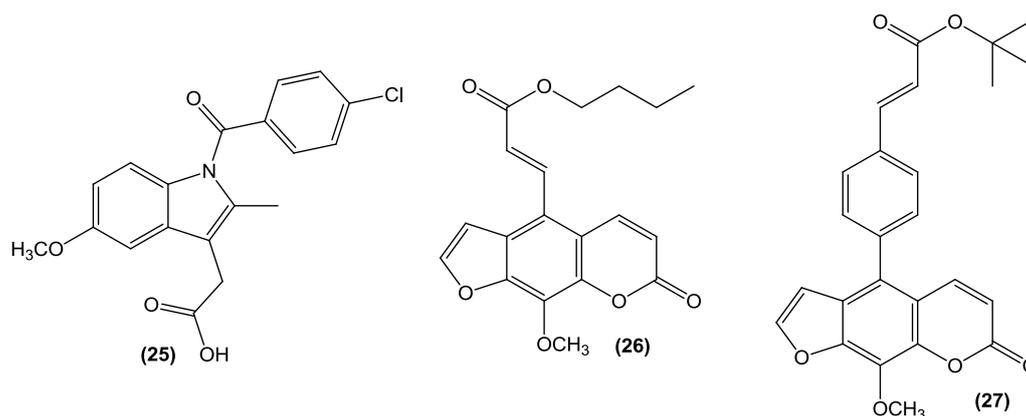
Uma propriedade biológica importante associada a alguns derivados de psoraleno é a sua capacidade de inibição das enzimas AChE e BChE. A AChE é uma das

enzimas que está envolvida na degeneração do cérebro, sendo o uso de seus inibidores uma das estratégias usadas presentemente para o tratamento da Doença de Alzheimer (DA). Alguns estudos mostram que a inibição da AChE pode diminuir a deposição de placas  $\beta$ -amilóides no cérebro. Shen *et al.* (2005) descrevem o composto **23** como um potencial inibidor da AChE. Por sua vez, o composto **24**, quando comparado com a tacrina **22**, apresenta uma elevada capacidade de inibição da enzima AChE e uma elevada seletividade para esta em relação a BChE (Figura 7). Esta característica é de grande importância para o desenvolvimento de novos fármacos inibidores da AChE.



**Figura 7.** Estrutura da tacrina e dos derivados **23** e **24**, potenciais inibidores da DA.

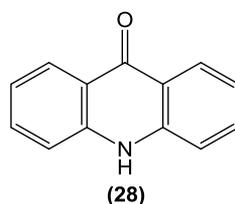
Muitos produtos naturais que possuem na sua estrutura o esqueleto cumarínico apresentam importantes propriedades biológicas, pelo que têm sido alvo de interesse por parte dos cientistas e originado diversas referências na literatura. Bariamis *et al.* (2013) reportaram a síntese e os resultados de estudos realizados com vários metoxipsoralenos, dos quais se destacam dois, os compostos **26** e **27** como agentes anti-inflamatórios, quando comparados com o composto de referência indometacina **25** (Figura 8). Dos dados obtidos, concluíram que o composto **26** era o melhor candidato para estudos adicionais e possíveis aplicações biomédicas, os quais já estão em andamento.



**Figura 8.** Estruturas da indometacina e de dois derivados de metoxipsoraleno.

## 2.2 Derivados com núcleo de acridona

Na revisão bibliográfica realizada no decurso deste trabalho não foi encontrada qualquer referência a análogos de psoraleno com esqueleto acridona. No entanto, o nosso interesse em derivados da acridona (Figura 9, **28**) deve-se às importantes propriedades e aplicações que esta classe de compostos apresenta.



**Figura 9.** Estrutura da 9-acridin-(10H)-ona.

Uma característica importante das acridonas é a sua fluorescência, a qual tem despertado interesse devido ao potencial para aplicação em várias áreas, tais como química ambiental e diagnóstico médico, entre outras (Móczár, 2010). Para além destas aplicações, os derivados de acridona apresentam ação terapêutica como agentes anti-virais (Delmas, 2004; Kumar 2011), anti-alérgicos, antileucémicos (Gao, 2008), anti-microbianos, anti-cancerígenos (Kumar, 2011), e, recentemente, contra o parasita da malária (*Plasmodium falciparum*) (Fernández-Calienes, 2011).

Gao e colaboradores (2010) citam a acridona e seus derivados como potentes

antitumorais em ensaios *in vitro* / *in vivo* sendo que alguns deles funcionam como intercaladores do DNA, devido à sua estrutura planar (Delmas, 2004), e como inibidores da topoisomerase.

Os métodos de síntese de análogos de psoraleno descritos na literatura são diversos, alguns dos quais são referidos neste trabalho.

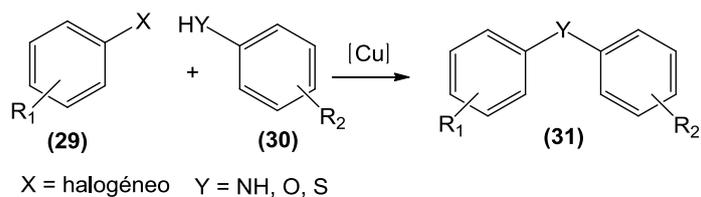
### **3. Sínteses de análogos de psoraleno**

A síntese deste tipo de compostos pode ser realizada mediante procedimentos sintéticos comuns para compostos aromáticos incluindo heteroaromáticos, partindo de compostos aromáticos “simples” mediante uma sequência reacional que envolve acoplamento, fecho de anel, formilação e, por fim, a síntese do anel de piranona. Esta etapa final requer precursores do tipo hidroxialdeído, *orto*-formilados ou *orto*-acetilados.

#### **3.1 Métodos de acoplamento**

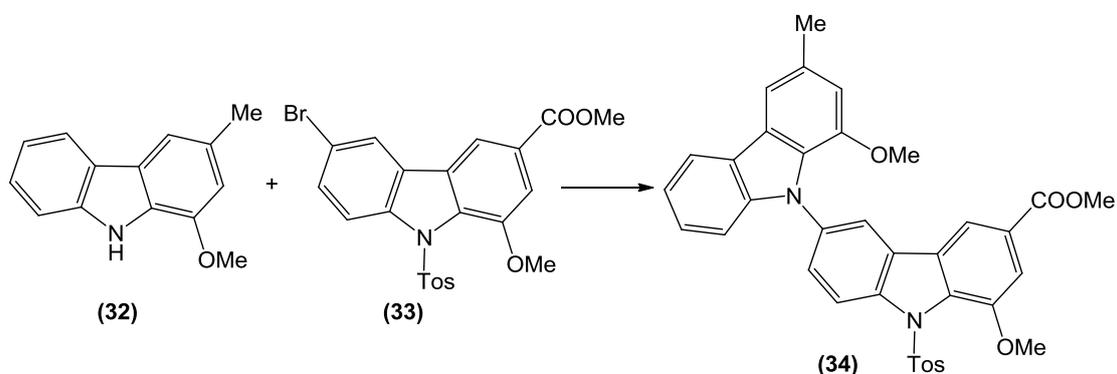
As reações de substituição nucleofílica aromática, mediadas por cobre, desenvolvidas por Fritz Ullmann e Irma Goldberg são ainda hoje muito utilizadas. Estas reações requerem o uso de quantidades estequiométricas de cobre e, geralmente, temperaturas elevadas (> 200 °C) e longos tempos de reação (Sperotto, 2010).

Na “condensação de Ullmann” a reação ocorre entre um haleto de arilo **29** e uma amina, um fenol ou um tiofenol do tipo **30**, na presença de cobre, originando como produto uma aril-amina, -éter ou -tioéter do tipo **31** (Esquema 1) (Sperotto, 2010).



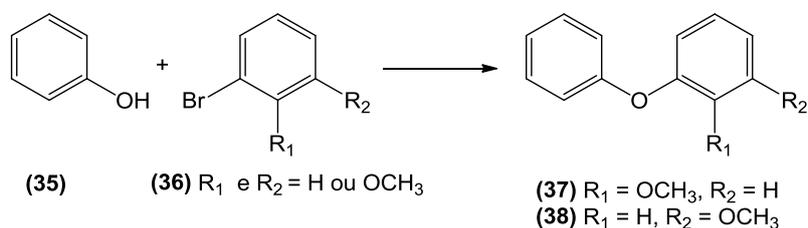
**Esquema 1.** Condensação de Ullmann.

Börger *et al.* (2012) descreveram a síntese do biscarbazole **34**, por acoplamento de Ullmann, entre o carbazole **32** (3,0 equiv.) e o bromocarbazole **33**, na presença de cobre,  $K_2CO_3$  (2,5 equiv.) em nitrobenzeno, 170 °C, 112 h (Esquema 2).



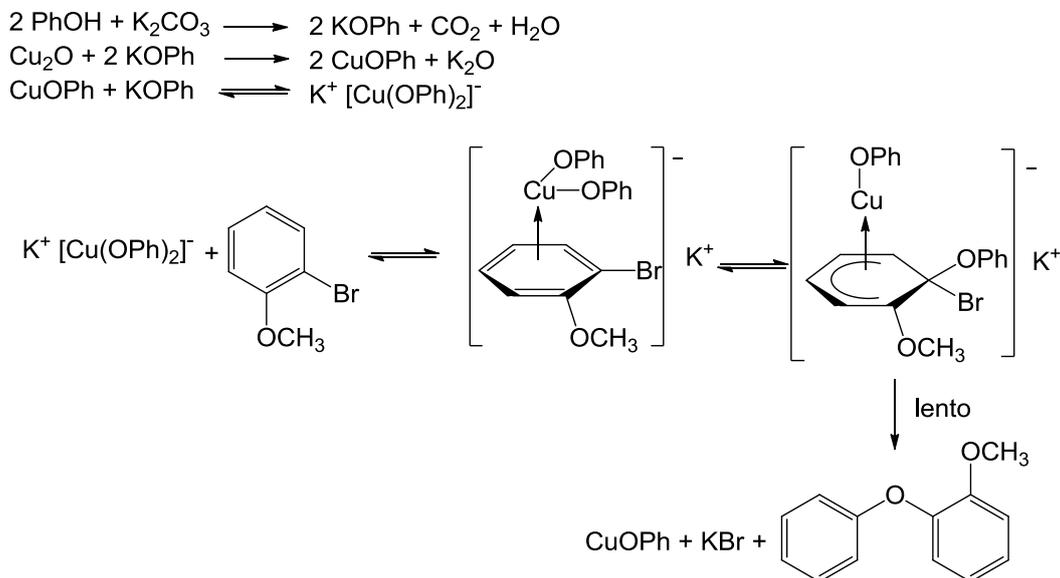
**Esquema 2.** Acoplamento de Ullmann para obtenção do biscarbazole **34**.

Oliveira *et al.* (2003) descreveram a síntese de dois difeniléteres **37** e **38** por reação entre o fenol **35** (2,8 mmol) e o bromoanisole (bromo-metoxibenzeno) **36** (2 mmol),  $K_2CO_3$  (1 mmol),  $Cu_2O$  (3 mmol), sob refluxo durante 2h 30 min (Esquema 3). Os éteres **37** e **38** foram obtidos com rendimentos de 93 e 78%, respetivamente.



**Esquema 3.** Obtenção dos éteres **37** e **38**.

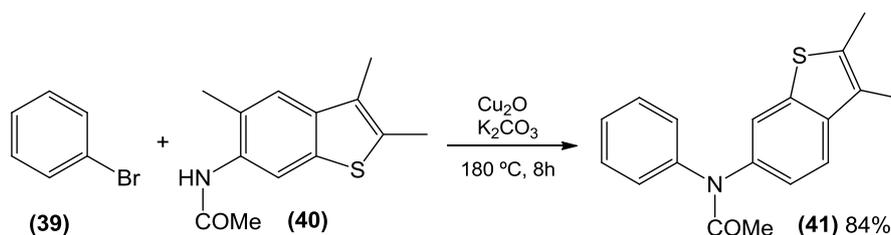
Um mecanismo proposto e aceite para a formação de difeniléteres, por reação de Ullmann, é a formação de um complexo de fenóxido de cobre(I) que reage com o bromobenzeno, de acordo com o Esquema 4 (Oliveira, 2005).



**Esquema 4.** Mecanismo de Ullmann para formação de difeniléteres.

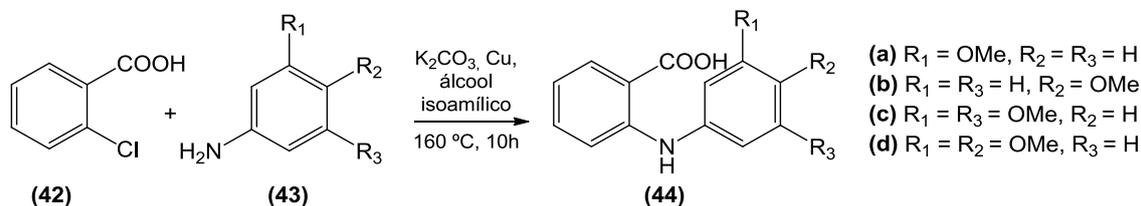
Existem dois tipos de reações relacionadas com esta: o acoplamento de Goldberg e a reação de Hurtley. O acoplamento de Goldberg ocorre entre um haleto de arilo e uma amina ou amida aromáticas, para formar uma ligação C(arilo)–N. Por sua vez, a reação de Hurtley ocorre entre ácidos 2-halobenzóicos e 1,3-dicetonas.

A amida **41** foi obtida com bom rendimento, por acoplamento de Goldberg entre bromobenzeno **39** e o composto **40** na presença de uma quantidade estequiométrica de  $\text{Cu}_2\text{O}$  (Esquema 5) (Ferreira, 2002).



**Esquema 5.** Acoplamento de Goldberg para obtenção da amida **41**.

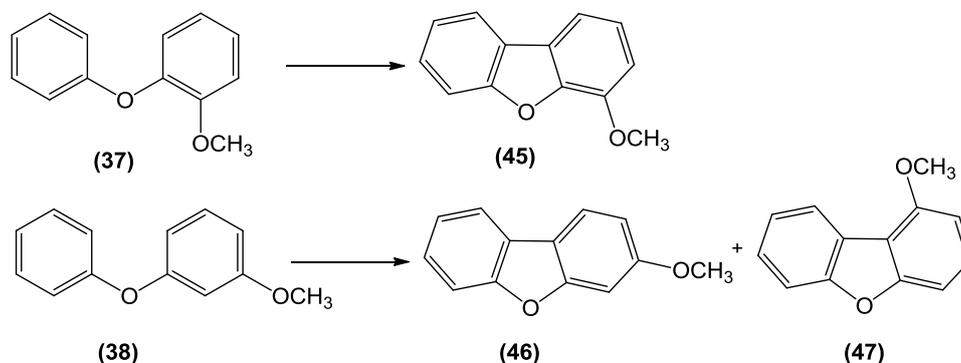
A literatura refere a preparação de precursores de acridona **44** a partir da reação de acoplamento entre o ácido 2-clorobenzóico e aminas substituídas (Esquema 6). A reação ocorre na presença de  $K_2CO_3$ , cobre e álcool isoamílico, a  $160\text{ }^\circ\text{C}$  durante 10 h (Boumendjel, 2007).



Esquema 6. Síntese de precursores de acridona.

### 3.2 Métodos de ciclização

Oliveira *et al.* (2003) descrevem a formação dos metoxidibenzofuranos **45 – 47** por ciclização dos éteres difenílicos **37** e **38** com acetato de paládio ou por via fotoquímica (Esquema 7, Tabela 1).

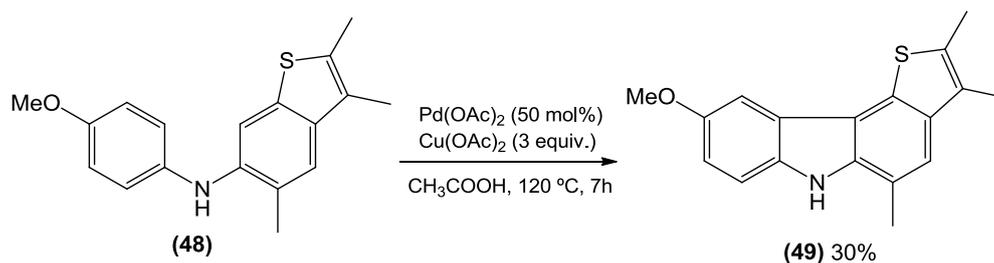


Esquema 7. Síntese de metoxidibenzofuranos.

Tabela 1. Condições experimentais utilizadas na obtenção dos dibenzofuranos **45 – 47**.

Éter difenílico	Condições experimentais	Dibenzofurano (%)
<b>37</b>	$Pd(OAc)_2$ , $CH_3COOH$ glacial, refluxo, 7h	<b>45</b> (15)
	$Pd(OAc)_2$ , TFA, refluxo, 1h	<b>45</b> (12)
	UV (150 W), iodo, ciclo-hexano	não reagiu
<b>38</b>	$Pd(OAc)_2$ , $CH_3COOH$ glacial, refluxo, 7h	<b>46</b> (22)
	UV (150 W), iodo, ciclo-hexano, 17h	<b>46</b> (9) + <b>47</b> (30)

Na literatura há também referência à ciclização de carbazole efetuada na presença de acetato de paládio(II) e acetato de cobre(II) (Ferreira, 2002) (Esquema 8).



**Esquema 8.** Reação de ciclização em presença de Pd(OAc)<sub>2</sub>/Cu(OAc)<sub>2</sub>.

### 3.3 Métodos de formilação em compostos aromáticos

O método mais comum de preparação de compostos aromáticos substituídos envolve uma reação de substituição eletrofílica aromática. A introdução de um substituinte num anel aromático monossustituído depende do efeito de orientação do primeiro podendo verificar-se a formação de vários isómeros dependendo das condições reacionais.

Os aldeídos aromáticos revestem-se de particular importância dado serem intermediários versáteis usados na indústria química e farmacêutica. Por conseguinte, as reações de formilação e de formação de uma nova ligação C-C permanecem como um desafio atual.

A estratégia para a introdução de um grupo formilo num anel aromático baseia-se numa reação de substituição eletrofílica aromática e pode realizar-se mediante duas vias distintas (Bagno, 2001; Kantlehner, 2003; Oliveira, 2005):

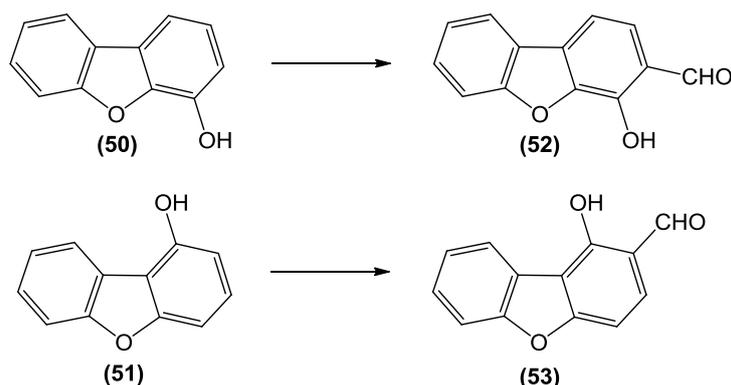
i) reações envolvendo a introdução do catião formilo (ou seus precursores) no núcleo aromático, geralmente em meio ácido, nomeadamente a reação de Vilsmeier-Haack (DMF ou *N*-MFA com POCl<sub>3</sub> ou COCl<sub>2</sub>).

ii) reações em que ocorre a formação de uma ligação C-C originando derivados com um grupo halometilo ou hidroximetilo que sofrem de imediato oxidação a aldeído, como por exemplo, as reações de Reimer-Tiemann (CHCl<sub>3</sub>, NaOH) e de Duff (hexametenotetramina, ácido acético ou TFA).

### 3.3.1 Formilação de Reimer-Tiemann

Este método de formilação, que ainda hoje é muito utilizado, data de 1876, e consiste na introdução de um grupo aldeído em anéis aromáticos. É um método útil apenas para fenóis e certos compostos heterocíclicos, tais como, pirroles e indoles. É realizado em meio básico e conduz a rendimentos baixos, raramente superiores a 50%. O grupo que entra é direcionado para a posição *orto* a menos que ambas as posições *orto* estejam ocupadas, caso em que o ataque é *para*. A primeira reação foi realizada entre o fenol e o clorofórmio em condições básicas (NaOH) (Wynberg, 1982).

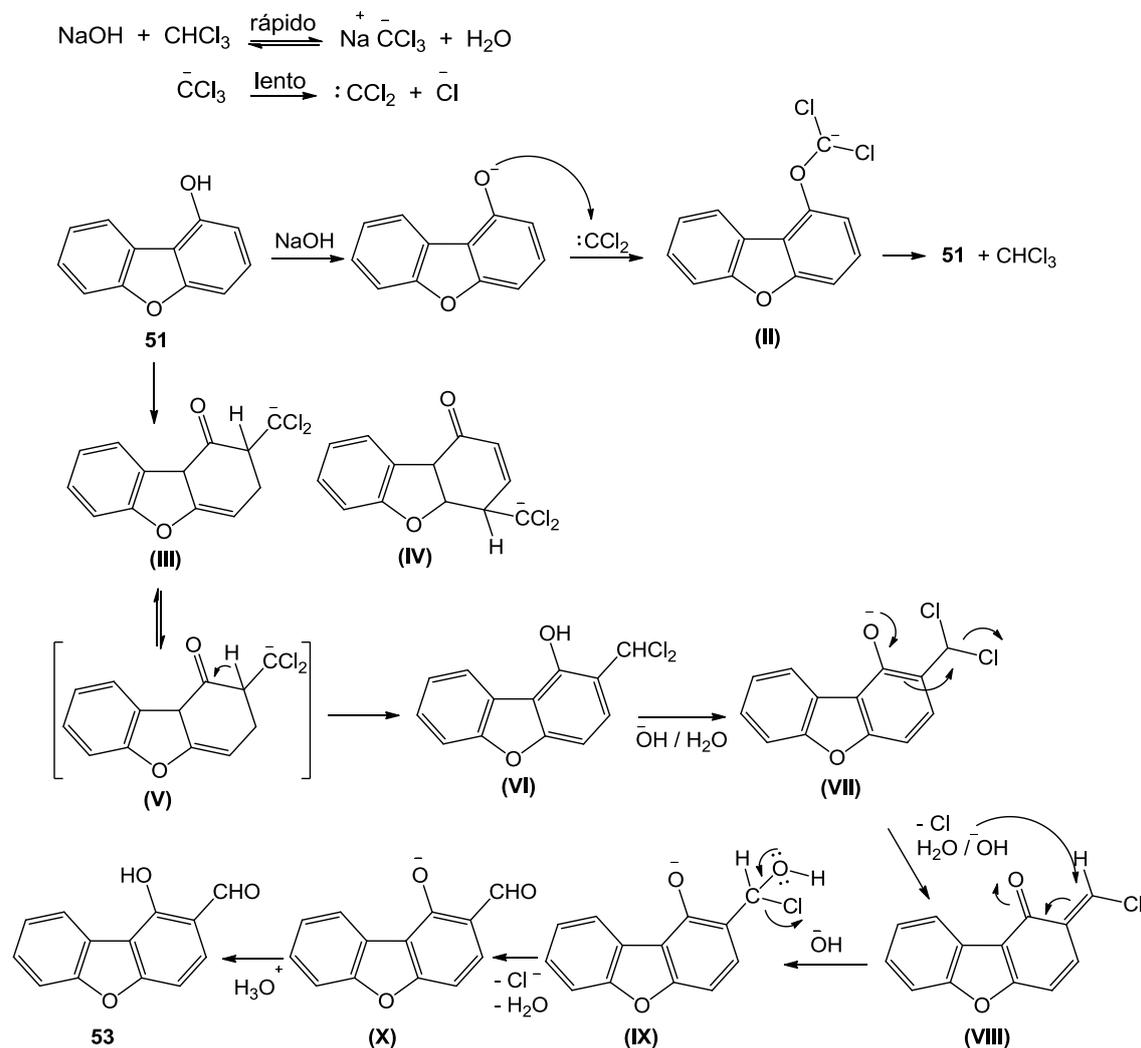
A formilação dos hidroxidibenzofuranos **50** e **51**, sob condições de Reimer-Tiemann (CHCl<sub>3</sub>, NaOH, H<sub>2</sub>O e aquecimento), originou os *orto*-hidroxialdeídos **52** e **53**, com rendimentos de 13 e 17%, respetivamente (Esquema 9) (Oliveira, 2003).



**Esquema 9.** Síntese de *orto*-hidroxialdeídos.

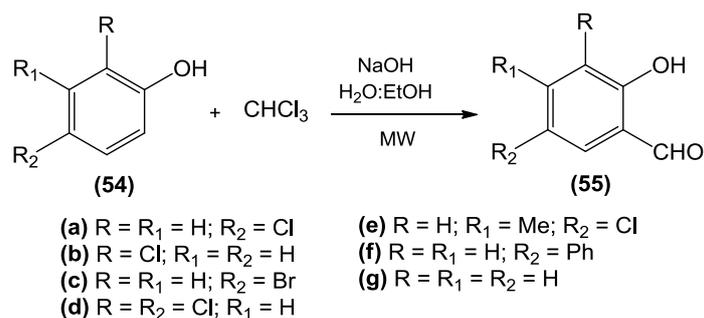
No Esquema 10 apresenta-se uma proposta de mecanismo para a reação de formilação de Reimer-Tiemann do 4-hidroxidibenzofurano. Os halocarbenos são espécies eletrofílicas e quando reagem com um composto onde existe um heteroátomo nucleofílico pode ocorrer uma competição entre a inserção do carbeno nas posições *orto* ou *para* em relação a esse heteroátomo e o próprio heteroátomo. O ataque ocorre geralmente na posição *orto* a menos que esta esteja ocupada. Na reação com 1-hidroxidibenzofurano **51** pode admitir-se que a espécie **II** se forma por adição do carbeno ao oxigénio, e que por decomposição pode originar o composto de

partida ou produtos secundários (Wynberg, 1982). Do ataque do carbeno às posições *orto* ou *para* podem resultar, respetivamente, as espécies **III** e **IV**.



**Esquema 10.** Proposta de mecanismo para a reação de formilação de Reimer-Tiemann.

A preparação de *orto*-hidroxialdeídos aromáticos também pode ser realizada pelo método de Reimer-Tiemann sobre irradiação de microondas. Nestas condições os aldeídos **55** foram obtidos com rendimentos moderados de 52 a 65% (Esquema 11), a partir dos fenóis **54**, por irradiação de microondas, a 450 W em ciclos de 40 s, num tempo total de 4 min. (Vibhute, 2007).



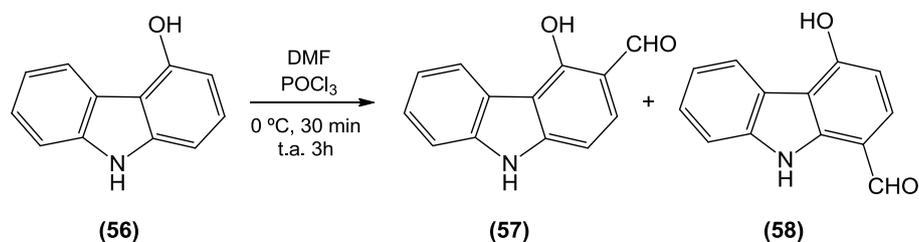
**Esquema 11.** Preparação de aldeídos *orto*-hidroxilados em condições de Reimer-Tiemann e sob irradiação de microondas.

Um método relacionado com a reação de Reimer-Tiemann é a reação de Duff na qual a hexametilenotetramina é usada em vez de clorofórmio. Esta reação pode ser aplicada a fenóis e aminas ocorrendo geralmente substituição em *orto* e conduzindo a rendimentos baixos (J. March, 1985).

### 3.3.2 Formilação de Vilsmeier-Haack

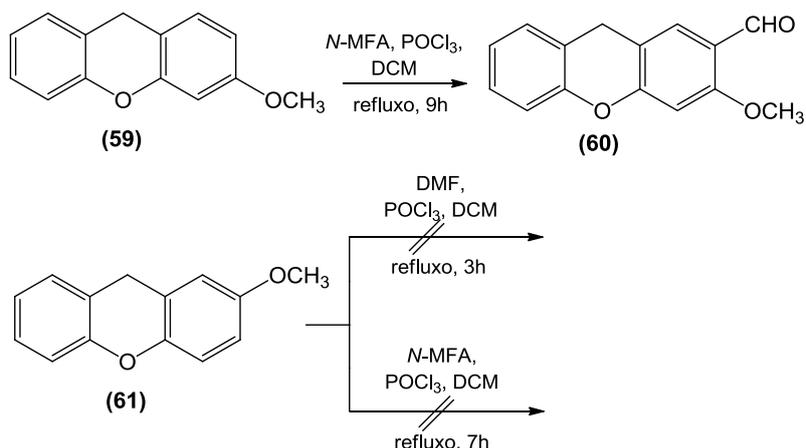
Este método de formilação é dos mais comuns para a introdução de um grupo aldeído em anéis aromáticos ou heteroaromáticos desde que estejam ativados. O reagente de Vilsmeier-Haack (POCl<sub>3</sub>/DMF) é eficiente, económico e origina condições suaves de reação. A formilação de um anel aromático constitui uma via sintética útil para a formação de muitos compostos heterocíclicos.

A formilação do 4-hidroxicarbazole **57** segundo as condições de Vilsmeier-Haack (POCl<sub>3</sub>, DMF) originou uma mistura 3:1 dos derivados *orto* e *para* formilados **58** e **59** (Esquema 12) (Bhosale, 2012).



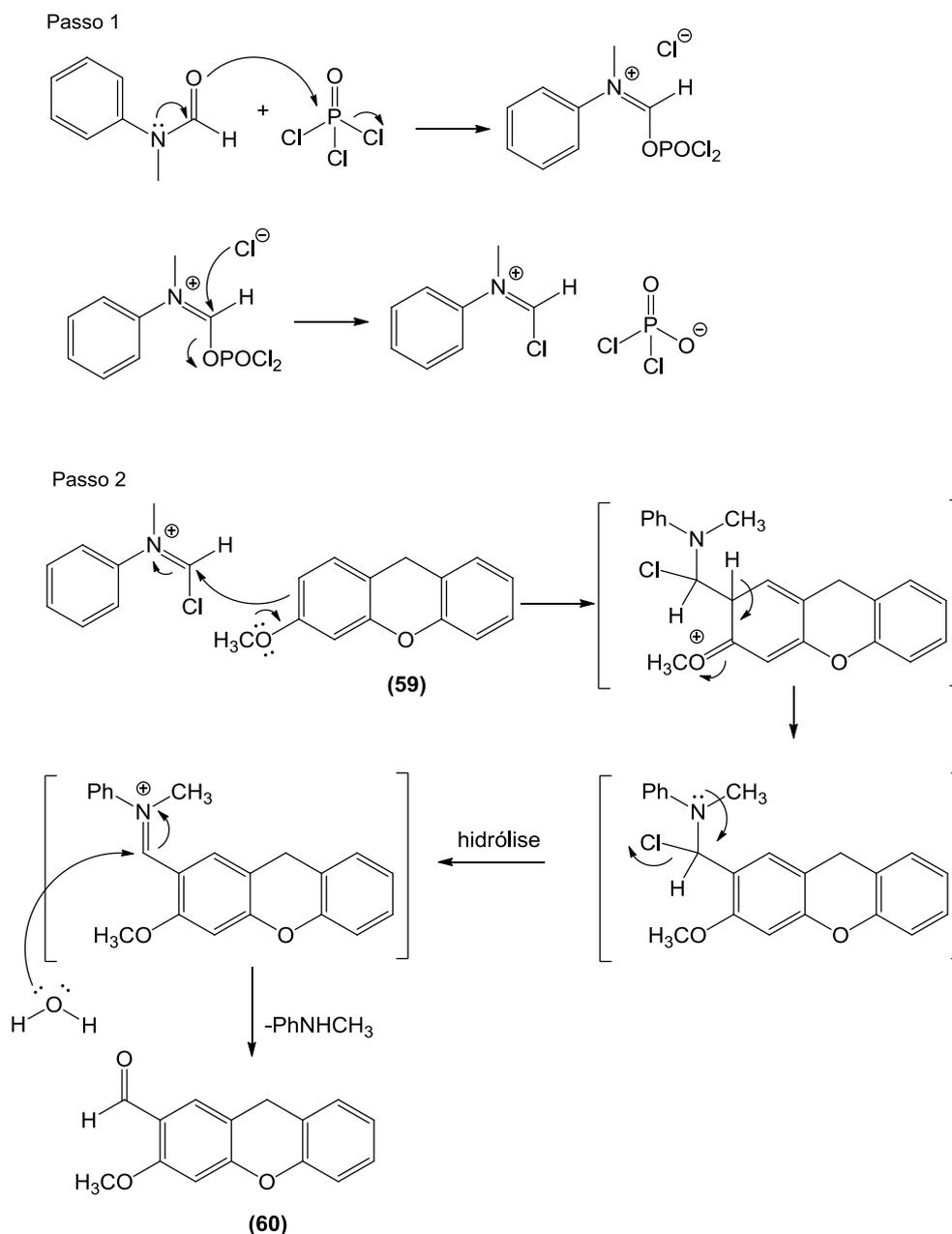
**Esquema 12.** Reação de formilação do 4-hidroxicarbazole sob condições de Vilsmeier-Haack.

Os metoxixantenos **59** e **61** foram submetidos a condições de formilação de Vilsmeier- Haack (Oliveira, 2005) tendo ocorrido reação apenas com o composto **59** (Esquema 13). Apesar do método de Vilsmeier-Haack ser útil, e muito usado, apenas resulta em compostos suficientemente ativados. De facto, o composto **59** está ativado nas posições 2 e 4 pelos dois grupos com oxigénio, enquanto que o composto **61** está ativado nas posições 1 e 3 apenas pelo grupo metoxilo.



**Esquema 13.** Reação de formilação do metoxixanteno **59** em condições de Vilsmeier-Haack.

No esquema 14 apresenta-se uma proposta de mecanismo para a formilação de Vilsmeier-Haack do 3-metoxixanteno **59** envolvendo dois passos reacionais: a formação do reagente de Vilsmeier (passo 1) e a substituição eletrofílica seguida de hidrólise (passo 2). No passo 1 ocorre a formação de um sal de imínio, obtido pela reação entre a amina, neste caso a *N*-MFA, e o POCl<sub>3</sub>. Este sal é um eletrofílo relativamente fraco, razão pela qual são necessários anéis ativados. Ocorre a substituição eletrofílica e a hidrólise, obtendo-se o aldeído **60**.



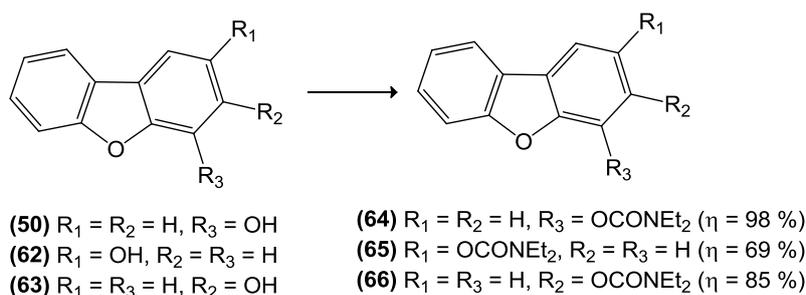
**Esquema 14.** Mecanismo de formilação de Vilsmeier-Haack do metoxixanteno **59**.

### 3.3.3 Formilação via litação de carbamatos

Quando um heteroátomo, tal como N, S, O ou halogéneo está presente numa molécula contendo um anel aromático a litação é geralmente regioseletiva. O lítio liga-se ao átomo de carbono  $sp^2$  mais próximo do heteroátomo, devido provavelmente

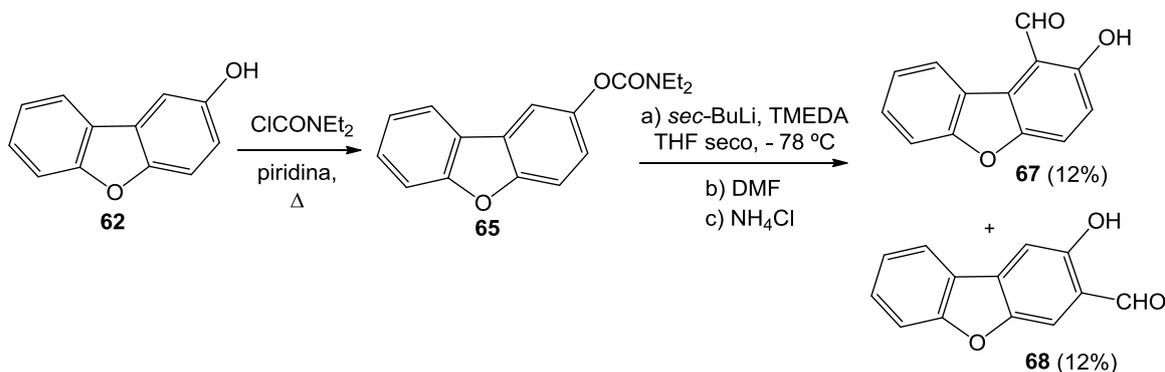
à espécie atacante coordenar com o heteroátomo. No caso de anéis aromáticos isto significa ataque à posição *orto*.

Para a síntese de aldeídos, Oliveira *et al.* (2003) seguiram a metodologia de litição de carbamatos. Por reação dos hidroxidibenzofuranos **50**, **62** e **63** com cloreto de *N,N'*-dietilcarbamoilo (ClCONEt<sub>2</sub>), na presença de piridina e aquecimento (100 °C), obtiveram os carbamatos **64** – **66** (Esquema 15).



**Esquema 15.** Síntese dos carbamatos **64** – **66**.

A litição dos carbamatos **64** – **66** foi realizada usando como fonte de lítio a base *sec*-BuLi, em presença de TMEDA (Esquema 16) (Oliveira, 2003). Porém, verificaram que por este método não foi possível a formilação dos carbamatos **64** e **66**. Para o composto **65** obtiveram como produtos os aldeídos **67** e **68**, após purificação por cromatografia em coluna.



**Esquema 16.** Reação de formilação por litição do carbamato **65**.

### 3.4 Métodos de formação do anel de piranona

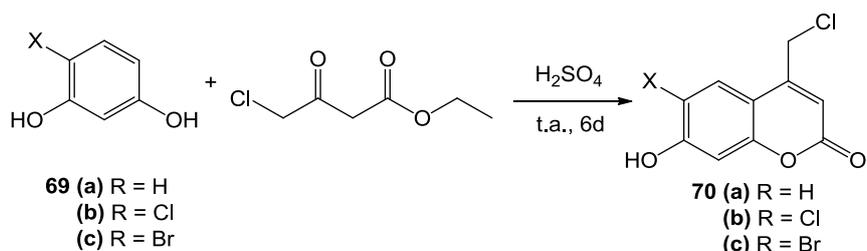
Como referido anteriormente, uma das etapas da síntese de análogos de psoraleno consiste na formação de um anel de piranona fundido com um anel heteroaromático. Para que a reação ocorra é necessário que o precursor aromático (ou um intermediário formado na reação) apresente grupos substituintes adequados e vicinais, nomeadamente um grupo hidroxilo e um substituinte com um grupo carbonilo. Na literatura há referência a diferentes métodos de formação do anel de piranona.

#### 3.4.1 Reações de Pechmann e Perkin

A reação de Pechmann envolve a condensação de fenóis com  $\beta$ -cetoésteres. Esta reação é um método versátil dado que ocorre com uma grande variedade de fenóis substituídos e de  $\beta$ -cetoésteres, originando cumarinas com bons rendimentos e com substituintes no núcleo fenólico e/ou no anel heterocíclico. Como agentes de condensação podem ser usados cloretos metálicos e  $\text{POCl}_3$ , sendo a reação geralmente realizada em álcoois ou éter. Contudo, requer, geralmente, catálise ácida e temperaturas elevadas (Manhas, 2006), e por vezes, formam-se produtos secundários tais como cromonas (Valizadeh, 2005).

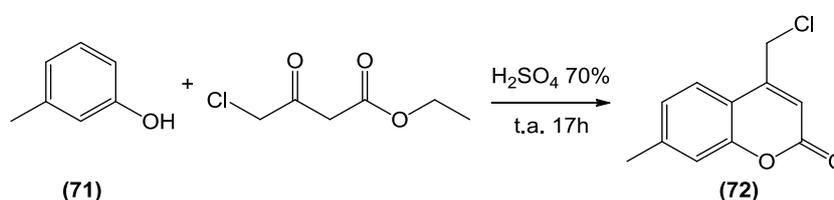
A reação de Perkin ocorre entre aldeídos aromáticos e anidridos, e se estes tiverem dois hidrogénios  $\alpha$  ocorre desidratação. A base usada é geralmente o sal de sódio ou potássio do ácido correspondente ao anidrido, podendo ocorrer a descarboxilação do sal do  $\beta$ -hidroxiácido inicial em vez de desidratação simples (J. March, 1985).

Por reação de Pechmann entre os fenóis do tipo **69** e 4-cloroacetoacetato de etilo, sob agitação à temperatura ambiente durante 6 dias, Furuta *et al.* (1999) obtiveram as cumarinas **70** com rendimentos moderados a bons (59 a 99 %) (Esquema 17).



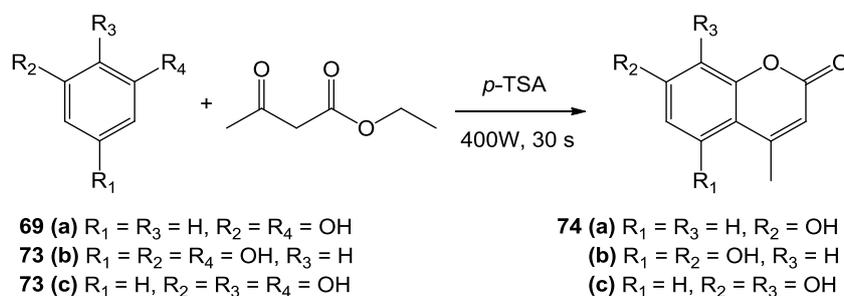
**Esquema 17.** Preparação de cumarinas sob condições de Pechmann.

Numa reação análoga entre 3-metilfenol e 4-cloroacetoacetato de etilo (1,5 equiv.) Fonseca e colaboradores (2010) obtiveram a cumarina **72** com rendimento de 90 % (Esquema 18).



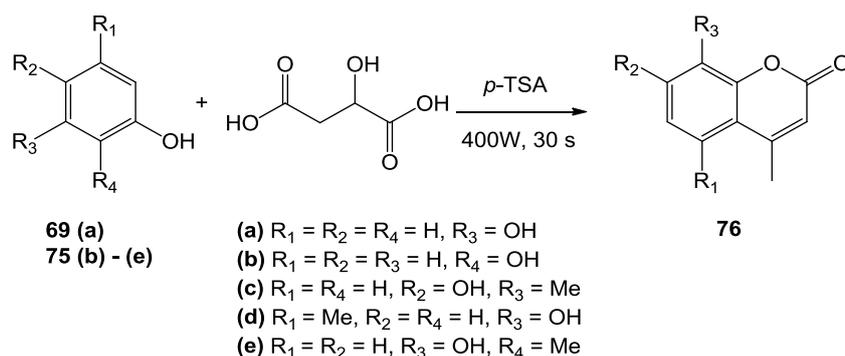
**Esquema 18.** Obtenção da cumarina **72** por condições de Pechmann.

A reação de Pechmann entre diversos fenóis e acetoacetato de etilo foi realizada em microondas, originando alguns derivados de cumarina **74** com bons rendimentos (86 a 96 %) (Manhas, 2006) (Esquema 19).



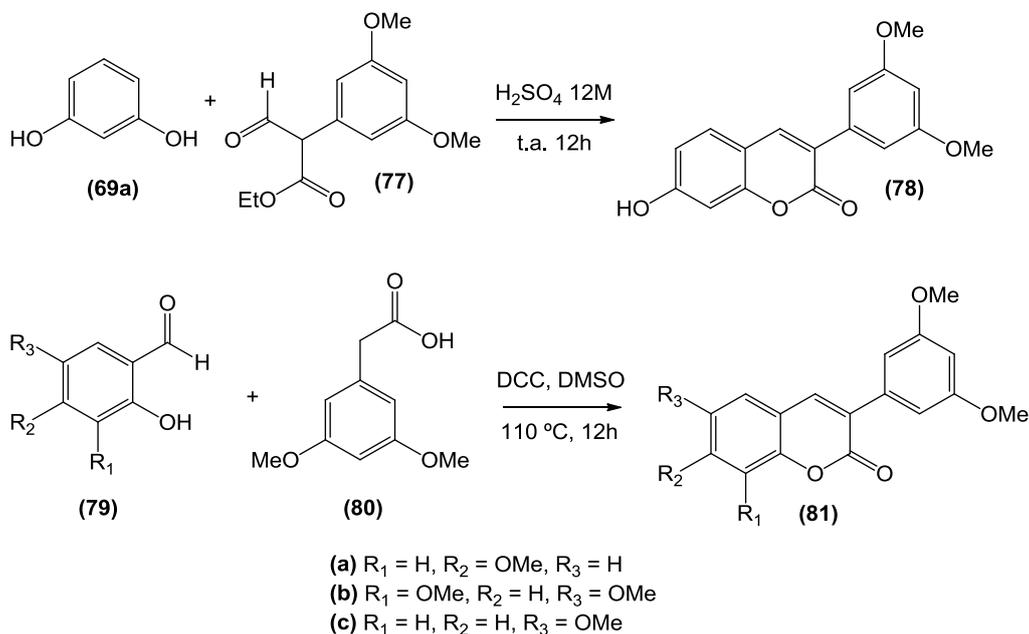
**Esquema 19.** Preparação de cumarinas do tipo **74** por condições de Pechmann sob irradiação de microondas.

Symeonidis e colaboradores (2009) realizaram a síntese de derivados de cumarina do tipo **76** por reação entre ácido málico e os fenóis correspondentes, sob irradiação de microondas, as quais originaram rendimentos moderados a bons (52 a 92%) (Esquema 20).



**Esquema 20.** Síntese das cumarinas do tipo **76** por reação entre diferentes fenóis e ácido málico.

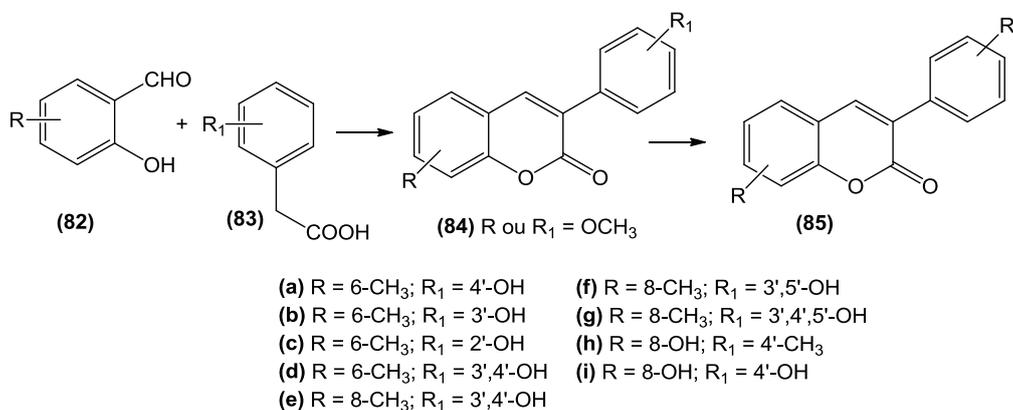
Vilar *et al.* (2006) descreveram a síntese de cumarinas pelos métodos de Pechmann e de Perkin (Esquema 21). A fenilcumarina **78** foi preparada, utilizando condições de Pechmann, a partir do resorcinol **69a** e do  $\beta$ -oxoéster **77**, com rendimento de 42 %. Por reação de Perkin entre os compostos do tipo **79** e o ácido 3,5-dimetoxifenilacético **80** obtiveram as fenilcumarinas **81** com rendimentos de 31, 47 e 20 %, respetivamente.



**Esquema 21.** Preparação de cumarinas por reação de Pechmann e de Perkin.

Uma série de derivados de cumarinas (3-hidroxi-arilcumarinas) foram sintetizados por Matos *et al.* (2013) e as suas propriedades antioxidantes avaliadas

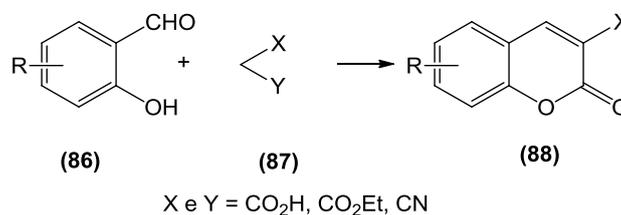
(Esquema 22). Por condensação de Perkin dos *orto*-hidroxibenzaldeídos **82** com ácidos arilacéticos **83** e DCC em DMSO, sob aquecimento a 110 °C durante 24 h, obtiveram as 3-metoxi-arilcumarinas **84** correspondentes. Os derivados hidroxilados **85** foram obtidos por hidrólise ácida com ácido iodídrico a 57 %, na presença de ácido acético e anidrido acético.



**Esquema 22.** Síntese de diversas 3-hidroxi-arilcumarinas.

### 3.4.2 Condensação de Knoevenagel

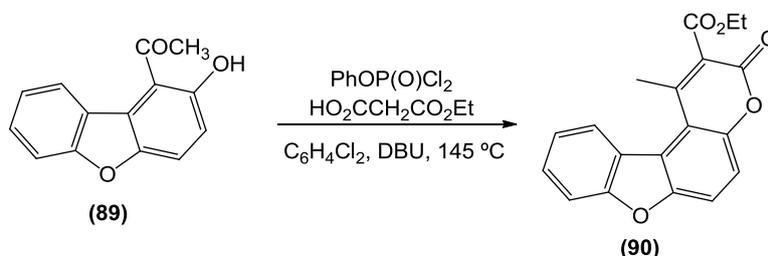
Esta reação envolve um *orto*-hidroxibenzaldeído do tipo **86** e um composto com um grupo metileno ativado **87** que, em presença de uma amina originam cumarinas **88** substituídas na posição 3, com grupos ácido carboxílico, éster ou nitrilo, por exemplo (Cerqueira, 2003).



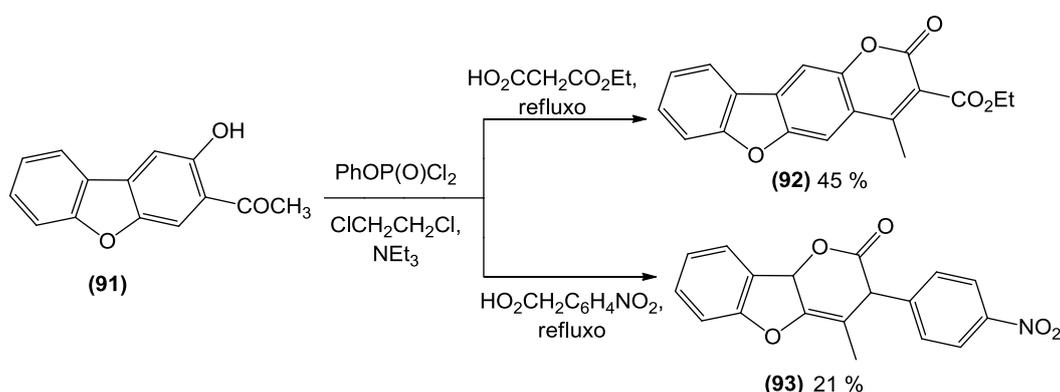
**Esquema 23.** Síntese de cumarina *via* condensação de Knoevenagel.

Oliveira *et al.* (2006) realizaram, pelo método de Knoevenagel, a síntese das cumarinas **90**, **92** e **93** a partir de cetonas aromáticas *orto*-hidroxiladas, com

rendimentos de 21 a 45%, usando diferentes condições experimentais. Para o composto **90** utilizaram DBU e malonato de monoetilo e como solvente 1,2-diclorobenzeno, (Esquema 24). Para os compostos **92** e **93** usaram como solvente 1,2-dicloroetano e, como reagente de condensação, utilizou-se malonato de monoetilo e ácido *para*-nitrofenilacético, respectivamente, em presença de  $\text{NEt}_3$  (Esquema 25).

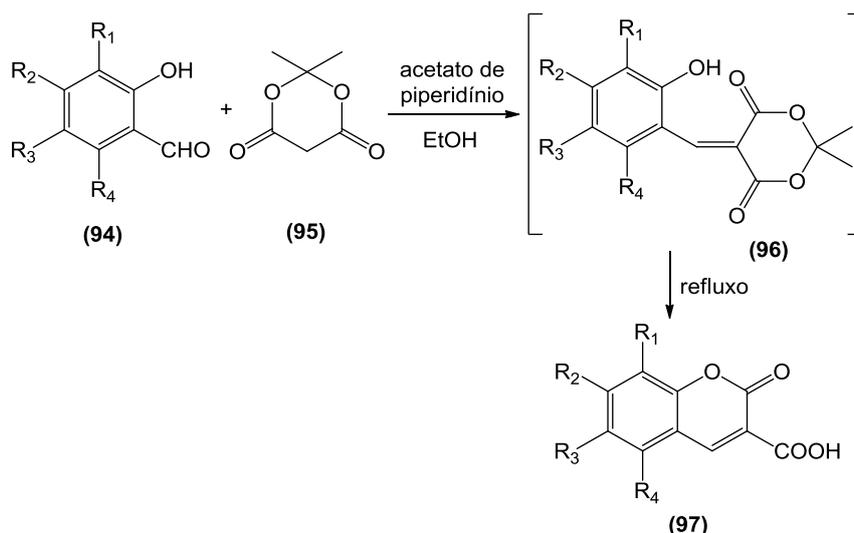


**Esquema 24.** Preparação da cumarina **90** pelo método de condensação de Knoevenagel.



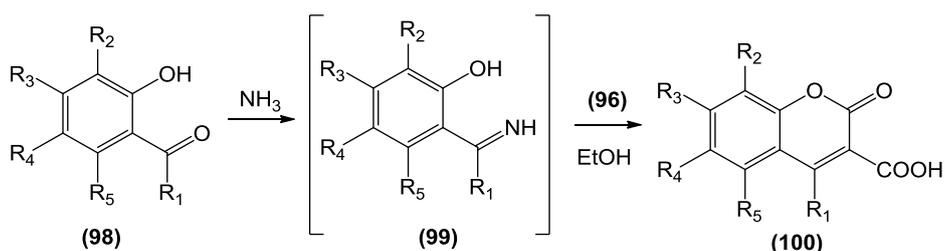
**Esquema 25.** Preparação das cumarinas **92** e **93** pelo método de condensação de Knoevenagel.

Song *et al.* (2003) reportaram a síntese de uma série de derivados de cumarina (do tipo 3-ácido carboxílico) partindo de *orto*-hidroxiarilaldeídos ou cetonas, por condensação de Knoevenagel, utilizando ácido de Meldrum (2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona) (**95**) como reagente de condensação (Esquema 26). Assim, uma mistura de 2-hidroxibenzaldeídos do tipo **94** e ácido de Meldrum **95**, em quantidades equimolares e na presença de acetato de piperidínio (quantidade catalítica), foi primeiramente agitada à temperatura ambiente. A seguir, a mistura foi refluxada em etanol gerando cumarinas do tipo **97**, com rendimentos que variam de 61 a 98 %.



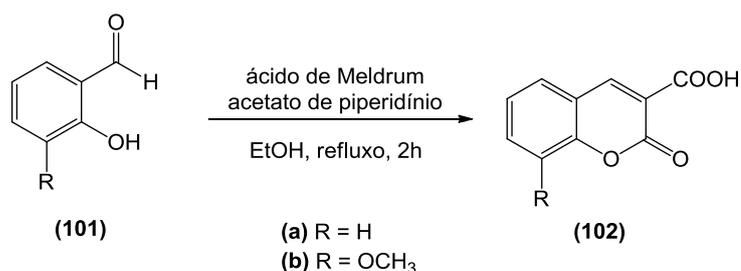
**Esquema 26.** Síntese de derivados de cumarinas, por condensação de Knoevenagel, utilizando ácido de Meldrum.

Os derivados de cumarinas do tipo **100** foram obtidos a partir de *orto*-hidroxiaril-cetonas **98** com ácido de Meldrum **95** (Esquema 27). A mistura da cetona **98** com uma solução de amónia em metanol (7M) foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. O solvente e o excesso de amónia foram removidos a pressão reduzida. A remoção do excesso de amónia é importante para evitar a decomposição do ácido de Meldrum. O resíduo obtido foi refluxado com **95** na presença de etanol gerando as cumarinas do tipo **100**, com rendimentos que variam de 12 a 66 % (Song, 2003).



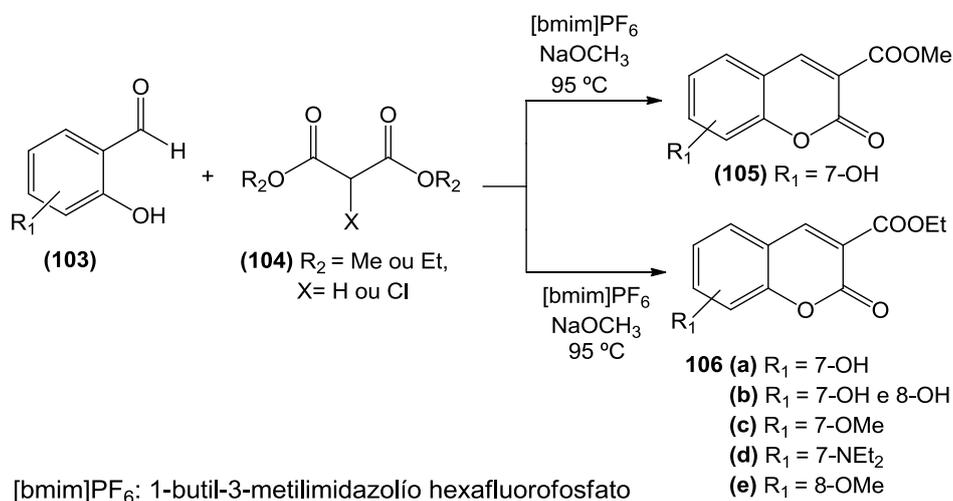
**Esquema 27.** Preparação de derivados da cumarina do tipo **100**, na presença de ácido de Meldrum.

Garino *et al.* (2006) reportaram a síntese de cumarinas do tipo **102** a partir de *orto*-hidroxiaril-cetonas **101** por reação com ácido **95**, sob refluxo, em etanol (Esquema 28).



**Esquema 28.** Síntese de derivados de cumarina do tipo **102**.

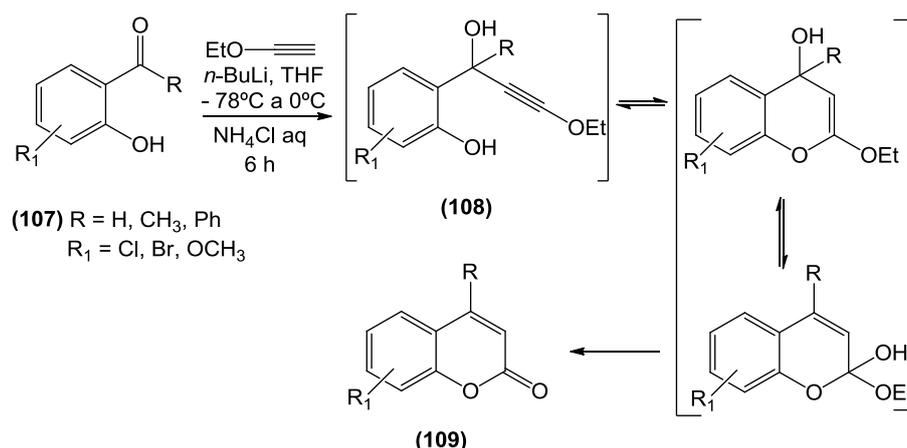
Valizadeh *et al.* (2009) estudaram a condensação de Knoevenagel entre alguns *orto*-hidroxibenzaldeídos **103** e compostos 1,3-dicarbonilo do tipo **104** em líquidos iônicos, em água ou sem solvente (Esquema 29).



**Esquema 29.** Síntese de derivados de cumarina por condensação de Knoevenagel.

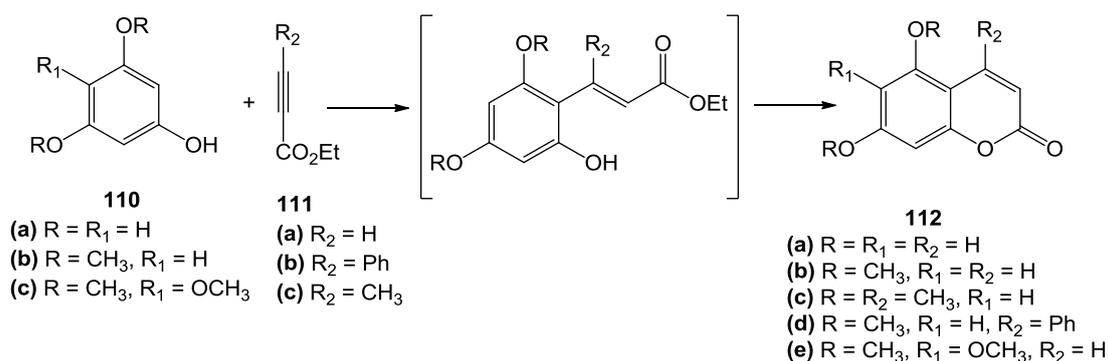
### 3.4.3 Reação com alquinos

Uma estratégia de síntese de cumarinas descrita por Reddy e colaboradores (2012) baseia-se na reação de cicloisomerização de alquinos com fenóis substituídos **107**. Os produtos **109** foram obtidos por reação do substrato com etoxiacetileno (2 equiv.) e *n*-BuLi (0,25M em THF) com bons rendimentos (68 – 89 %). A proposta de mecanismo para este tipo de reação é apresentada no Esquema 30.



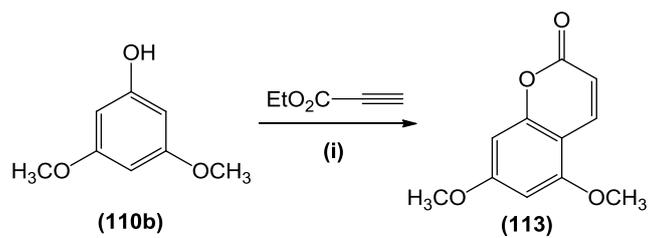
**Esquema 30.** Síntese de cumarinas por cicloisomerização de **108**.

Trost e Toste (1996) descreveram a síntese de diversas cumarinas **112**, por modificação da reação de Pechmann, em que usaram um alquino **111** em substituição do “típico” β-cetoéster (Esquema 31). Os autores relataram que o uso de complexos de Pd(0) na presença de ácidos carboxílicos é um sistema catalítico interessante.



**Esquema 31.** Derivados de cumarinas obtidos por modificação da reação de Pechmann.

Trost *et al.* (2003) reportaram a síntese de diversas cumarinas por reação entre compostos fenólicos substituídos e diferentes alquinos, na presença de ácido (acético ou fórmico) e em reações catalisadas por paládio (Pd(OAc)<sub>2</sub> e Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>.CHCl<sub>3</sub>). Quando realizaram a reação entre o composto **110b** e o alquino **111a**, em ácido acético e Pd(OAc)<sub>2</sub>, não ocorreu reação (Esquema 32). Em presença de ácido fórmico, obtiveram o composto **113** com rendimento de 62 %. Porém, a troca de Pd(OAc)<sub>2</sub> por Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>.CHCl<sub>3</sub>, aumentou significativamente o rendimento da reação para 88 %.



(i) Pd(OAc)<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, 50 °C (não reagiu)

Pd(OAc)<sub>2</sub>, HCOOH, 50 °C (η = 62%)

Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>.CHCl<sub>3</sub>, HCOOH, 50 °C (η = 88%)

**Esquema 32.** Preparação do derivado de cumarina **113**.

## ***Capítulo II - Discussão dos Resultados***

## A. SÍNTESE

Este trabalho tem por objetivo a síntese de análogos do psoraleno derivados de carbazole, de dibenzofurano, de dibenzotiofeno e de acridona e também a avaliação da respetiva atividade antitumoral para algumas linhas celulares de cancro humano (MDA MB-231, HeLa e TCC-SUP) *in vitro*.

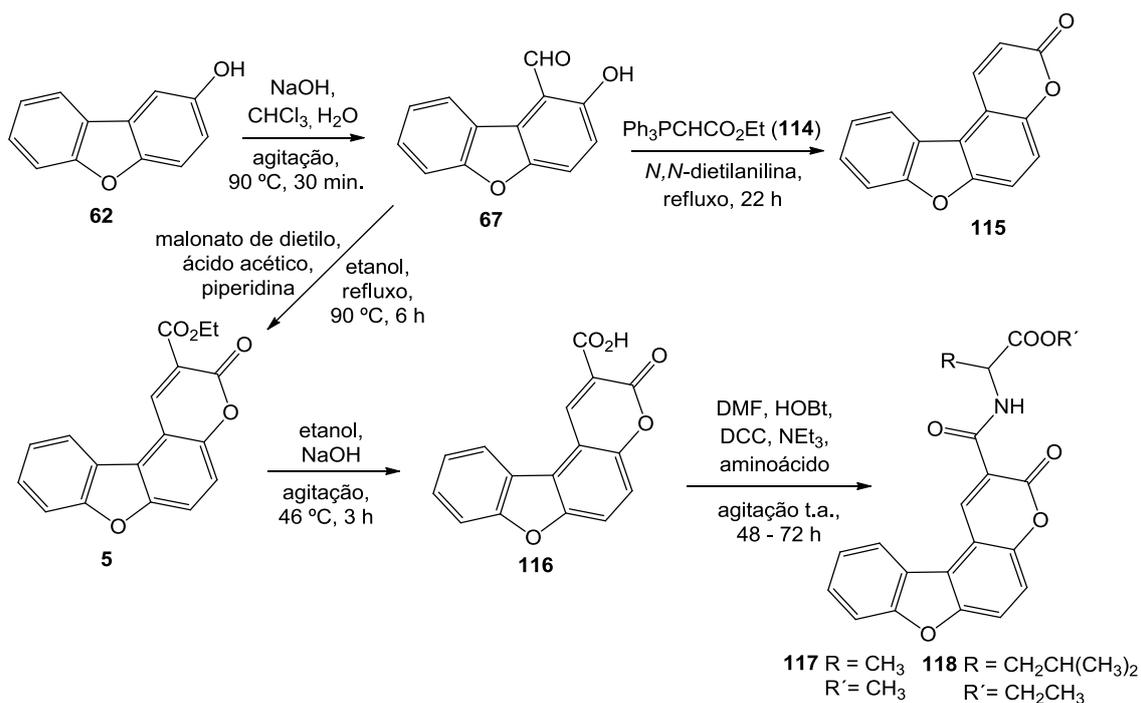
A síntese de análogos de psoraleno envolve precursores heteroaromáticos hidroxilados indispensáveis para a formação do anel de piranona. Em alguns casos estes precursores estavam disponíveis comercialmente, tendo-se prosseguido diretamente para a formação do anel de piranona mediante reação de Pechmann ou procedido à reação de formilação, seguida por reação de Wittig ou Knoevenagel com vista à formação do anel de piranona. Porém, em alguns casos foi necessário sintetizar primeiro o esqueleto heterocíclico hidroxilado e a seguir proceder à formação do anel de cumarina, quer por reação de Pechmann quer pela sequência reacional formilação, Wittig ou Knoevenagel.

### 1. Preparação de análogos a partir de 2-hidroxidibenzofurano

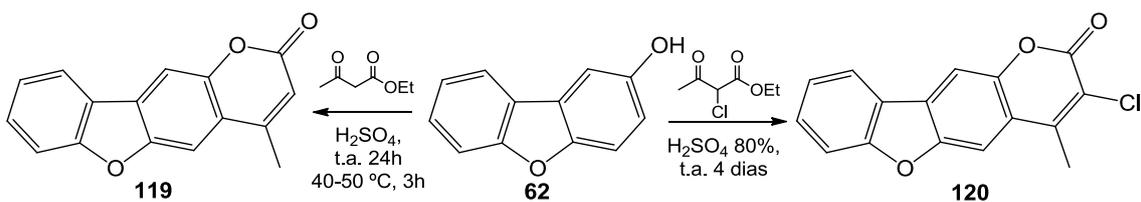
A síntese destes análogos foi realizada por diversos métodos, envolvendo condensação de Knoevenagel, reação de Wittig e reação de Pechmann.

O composto **67** foi preparado por reação de formilação de Reimer-Tiemann de 2-hidroxidibenzofurano **62** e foi usado como precursor quer na reação de Wittig, para a síntese do composto **115**, quer na condensação de Knoevenagel, para a preparação do éster **5**. O ácido **116** foi obtido por hidrólise básica de **5**, e utilizado em reações de acoplamento com aminoácidos, originando os compostos **117** e **118** (Esquema 33).

Os análogos **119** e **120** foram sintetizados por reação de Pechmann entre 2-hidroxidibenzofurano **62** e acetoacetato de etilo ou 2-cloroacetoacetato de etilo, respetivamente (Esquema 34).



Esquema 33. Análogos do psoraleno preparados.

Esquema 34. Análogos do psoraleno **119** e **120** preparados por reação de Pechmann.

### 1.1 Formilação de Reimer-Tiemann para obtenção do precursor **67**

O composto **67** já havia sido preparado anteriormente no nosso grupo de investigação pelo método de formilação de Snieckus (*sec*-BuLi e TMEDA/THF,  $-78^\circ\text{C}$ ) (Oliveira, 2003), conforme referido na Introdução. O primeiro passo reacional consiste na proteção do grupo hidroxilo de 2-hidroxidibenzofurano pela formação do carbamato ( $-\text{CONEt}_2$ ), seguida pela formilação, via litação, deste carbamato. Porém, por este método, que envolve mais um passo reacional, em comparação com a

formilação de Reimer-Tiemann, foi obtida uma mistura de dois aldeídos **67** e **68** (Esquema 16).

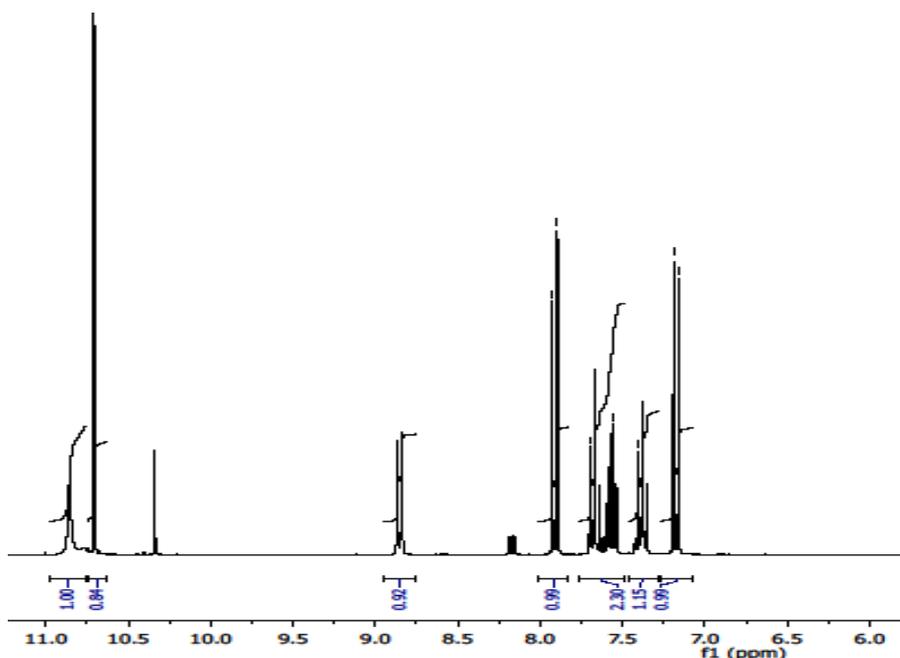
Com o objetivo de obter o composto **67** com melhor rendimento do que o descrito anteriormente seguiu-se o método de formilação de Reimer-Tiemann. Fez-se reagir 2-hidroxi-dibenzofurano **62** com NaOH, CHCl<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O, sob agitação e aquecimento. Foram realizadas algumas modificações reacionais, variando-se tempo, temperatura e quantidade de base utilizada, na tentativa de aumentar a extensão da reação e obter melhor rendimento do composto pretendido. Após purificação e isolamento o composto foi sempre obtido com rendimentos baixos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Tentativas de formilação do 2-hidroxi-dibenzofurano

Entrada	NaOH (equiv.)	Condições	η (%)
1	5	90 °C, 3h	9
2	10	90 °C, 3h 30 min	17
3	10	90 °C, 1h	18
4	10	90 °C, 30 min	17 – 19
5	12	90 °C, 1h	15

As condições reacionais inicialmente usadas (Tabela 2, entrada 1) originaram o composto pretendido com apenas 9 % de rendimento. Com intenção de melhorar o rendimento, decidiu-se duplicar a quantidade de base (Tabela 2, entrada 2). Nestas condições obteve-se uma duplicação no rendimento da reação. Estas reações foram controladas por TLC e por comparação das manchas referentes ao composto de partida e ao composto **67**, verificou-se que estas mantinham a mesma intensidade relativa desde uma etapa inicial de reação. Por isso realizou-se esta reação para tempos menores (Tabela 2, entradas 3 e 4) e obtiveram-se rendimentos análogos ao anterior. Uma maior quantidade de base (Tabela 2, entrada 5) não afetou de modo significativo o rendimento da reação. Após purificação por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 95:5) obteve-se o composto **67** com rendimento de 19 %. Pelo espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 10) observa-se nitidamente a presença do singlete a 10,70 ppm correspondente ao próton aldeídico. Os sinais

correspondentes aos prótons 3 e 4 aparecem respectivamente a 7,17 e 7,91 ppm, como dupletos com constante de acoplamento 9,0 Hz, permitindo confirmar a formação do composto **67** (Exp. 1.1). O composto de partida foi detetado por TLC como sendo o menos polar, e pela mancha observada, o que estava presente em maior quantidade, porém nunca foi isolado nem quantificado.



**Figura 10.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **67**.

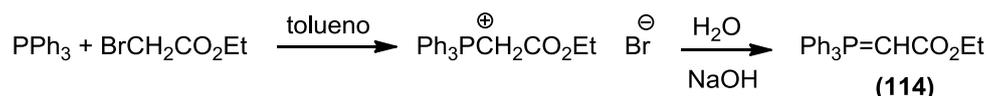
## 1.2 Por reação de Wittig e por condensação de Knoevenagel

### 1.2.1 Reação de Wittig

A síntese de cumarinas pode ser realizada por reação de Wittig entre *orto*-hidroxibenzaldeídos ou salicilaldeídos e carbetoximetilenotrifetilfosforano em *N,N'*-dietilanilina (p.e. 216 °C), sob refluxo (Harayama, 1994a e 1994b). Esta reação de Wittig conduz à formação de uma dupla ligação carbono-carbono com configuração *trans* dado este fosforano ser do tipo estabilizado. Para que possa ocorrer a ciclização

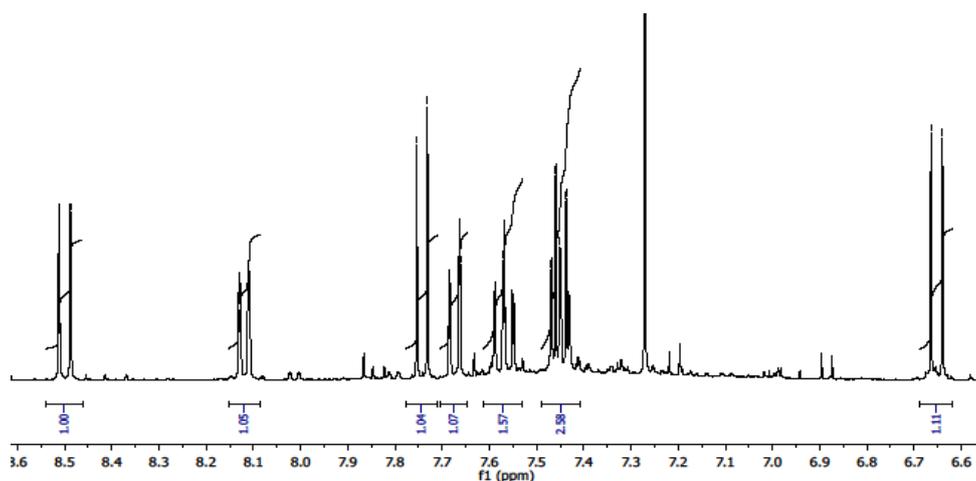
com formação do anel de cumarina é necessário que ocorra a isomerização *trans-cis* desta ligação o que requer temperaturas elevadas podendo conduzir à degradação quer dos reagentes quer do produto.

Neste trabalho o composto **67** foi usado na preparação do composto **115** (Esquema 33) por reação de Wittig, com carbetoximetileno-trifenilfosforano **114**, o qual foi obtido com 82% de rendimento (Exp. 1.2) a partir do sal de fósforo correspondente (Esquema 35).



**Esquema 35.** Método de preparação do carbetoximetileno-trifenilfosforano **114**.

A reação de Wittig entre **67** e **114** originou um resíduo que consistia numa mistura complexa de compostos, como foi possível verificar por análise do TLC. Após purificação por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 95:5) obteve-se o composto **115** com rendimento de 16 % (Exp. 1.3). Por RMN de protão (Figura 11) observaram-se dois dupletos com constante de acoplamento 9,6 Hz a 8,50 (H-1) e 6,65 (H-2) ppm, característicos do anel de cumarina, e que complementados com o sinal (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) do carbono carbonílico a 160,53 ppm permitiram confirmar a formação do composto pretendido. O baixo rendimento obtido pode ser devido à formação de muitos produtos secundários na reação, os quais não foram isolados nem identificados.



**Figura 11.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **115**.

### 1.2.2 Condensação de Knoevenagel

Por reação de condensação de Knoevenagel entre o composto **67** e malonato de dietilo, na presença de piperidina e ácido acético (Esquema 33), obteve-se o composto **5** com 54 % de rendimento. A formação deste composto foi confirmada por RMN de  $^1\text{H}$ , onde se pode observar o desaparecimento dos dois singletos correspondentes aos grupos  $-\text{OH}$  e  $-\text{CHO}$  do composto **67** e o aparecimento de um novo singlete a 9,13 ppm de H-1 do anel de cumarina formado. Para além deste apareceram também os sinais do grupo éster: um quarteto a 4,34 ppm correspondente aos dois prótons do grupo  $-\text{OCH}_2$  e um triplo a 1,35 ppm do grupo metilo (Exp. 1.4).

A hidrólise do grupo éster permite obter um ácido carboxílico livre que terá tendência a aumentar a solubilidade do composto em água e também constitui um local de ligação para modificação estrutural, nomeadamente com aminoácidos. A introdução de uma unidade aminoácido implica um aumento no volume da cadeia lateral o que, conjugado com a introdução de mais um grupo NH e um grupo carbonilo, se pode refletir na atividade biológica.

Por hidrólise básica do composto **5** obteve-se o composto **116** com rendimento de 67 %. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  verificou-se o desaparecimento dos sinais dos prótons do grupo éster, embora o sinal do próton do ácido carboxílico não tenha sido observado (Exp. 1.5).

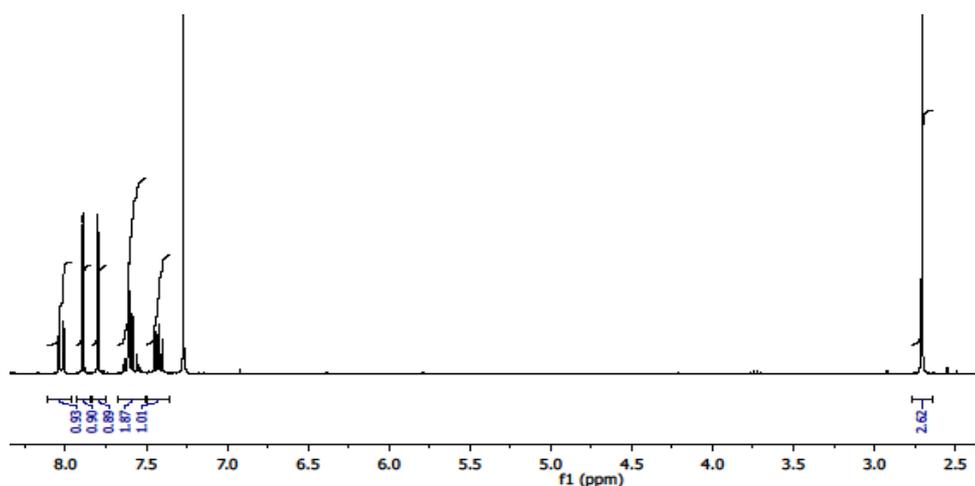
O composto **116** foi utilizado em reações de acoplamento com aminoácidos (cloridrato do éster metílico da alanina e cloridrato do éster etílico da leucina) (Esquema 33) na presença de HOBt, DCC e trietilamina em DMF, sob agitação e à temperatura ambiente, durante 48 e 72 h, tendo-se obtido os produtos **117** e **118** com rendimentos de 93 e 38 %, respetivamente (Exps. 1.6 e 1.7). A formação destes compostos foi confirmada por RMN de  $^1\text{H}$ , com base nos sinais a 9,35 e 9,25 ppm, ambos dupletos com  $J = 6,9$  e  $7,2$  Hz respetivamente, correspondentes ao próton da função amida (NH). Para o composto **117** foi ainda verificado o aparecimento de um duplete a 1,61 ppm com  $J = 7,5$  Hz, correspondente ao grupo metilo da posição  $\beta$  da

alanina. O espectro do composto **118** evidenciou um duplete a 1,02 ppm com  $J = 6,9$  Hz correspondente aos dois grupos metilo da leucina.

Os testes de atividade biológica realizados para os compostos **117** e **118** para algumas linhas celulares de cancro humano (MDA MB-231, HeLa e TCC-SUP), a par com os resultados obtidos de estudos de modelação molecular, mostraram que a substituição na posição 2 do anel de piranona, por grupos volumosos, diminui a capacidade de inibição destes substratos no crescimento das células. Face a estes resultados, não se prosseguiu com a síntese envolvendo aminoácidos.

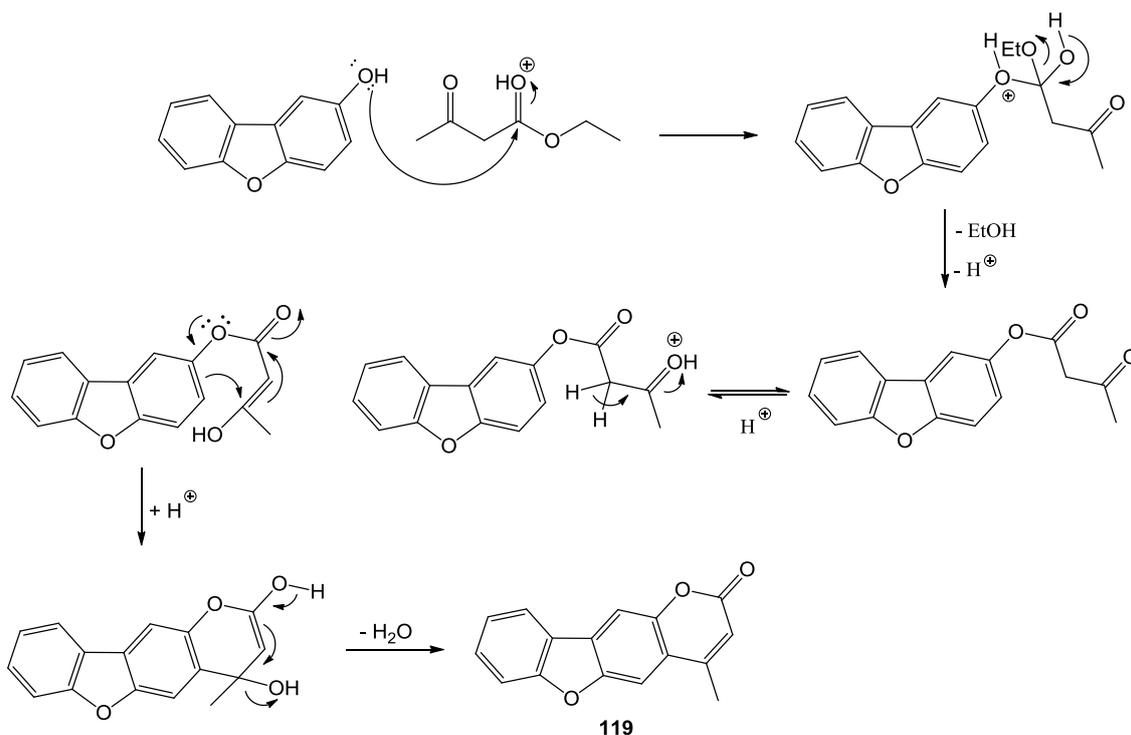
### 1.3 Por reação de Pechmann

Para obtenção dos análogos **119** e **120** fez-se reagir 2-hidroxidibenzofurano **62** sob condições de Pechmann (Esquema 34), com acetoacetato de etilo e com 2-cloroacetoacetato de etilo na presença de ácido sulfúrico. Estes compostos foram obtidos com rendimentos de 27 e 14 %, respetivamente, e a sua formação confirmada pela análise dos espectros de RMN (protão e carbono) (Exps. 1.8 e 1.9). Para o composto **119** pode-se observar a presença dos singletos: 8,22 (H-11), 8,10 (H-5), 6,47 (H-3) e 2,53 (CH<sub>3</sub>) ppm. Observou-se também o sinal correspondente ao carbono carbonílico, que aparece a 159,91 ppm. De igual modo, para o composto **120** verificou-se a presença dos singletos a 7,89 (H-11), 7,79 (H-5) e 2,70 (CH<sub>3</sub>) ppm (Figura 12).



**Figura 12.** Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto **120**.

O desaparecimento do singleto correspondente a H-3, em comparação com o composto **120**, confirma a presença da substituição no anel, neste caso pelo átomo de cloro. O carbono carbonílico originou um sinal a 157,88 ppm. No Esquema 36 apresenta-se uma proposta de mecanismo para a formação do anel de piranona mediante a ciclização de Pechmann.



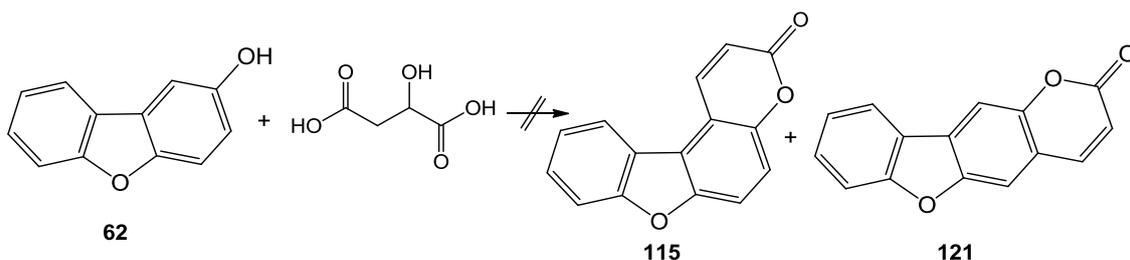
**Esquema 36.** Mecanismo proposto para a ciclização de Pechmann.

Por reação de **62** com acetoacetato de etilo e 2-cloroacetoacetato de etilo obtiveram-se dois derivados lineares do psoraleno, 4-substituído **119** e 3,4-dissubstituído **120**, embora com rendimentos relativamente baixos. Por reação de Wittig, e tal como referido anteriormente, obteve-se um derivado angular **115** sem qualquer substituição no anel de cumarina. A reação de Pechmann entre o ácido málico e compostos fenólicos, sob irradiação de microondas, originou derivados de cumarinas com rendimentos moderados a bons (52 – 92 %) e com tempos reduzidos de reação (0,5 a 4 min.) (Symeonidis, 2009). Assim, na tentativa de sintetizar o análogo de **115**, mas de estrutura linear, fez-se a reação de **62** com ácido málico sob condições de Pechmann.

A reação de Pechmann entre 2-hidroxi-2-benzofurano **62** e ácido málico com vista à obtenção de **115** e/ou **121** foi realizada em diferentes condições experimentais (Tabela 3, Esquema 37). Em nenhuma das tentativas se obteve o produto esperado. As reações foram seguidas por TLC que, para cada caso, apresentava apenas o composto de partida.

**Tabela 3.** Tentativas de reação de Pechmann com ácido málico

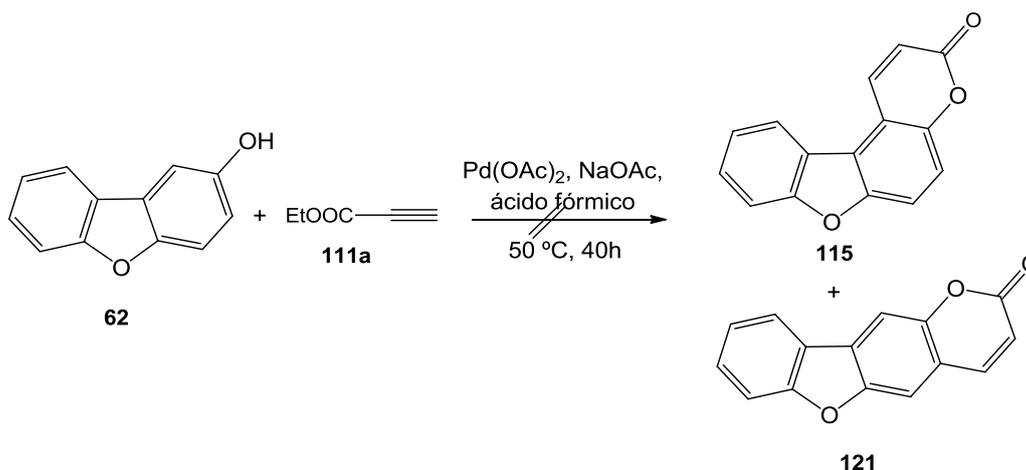
Entrada	Condições
1	t.a., 36 h
2	60 °C, 6 h
3	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 80 %, t.a., 24 h
4	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 80 %, 40 °C, 20 h
5	TiCl <sub>4</sub> , 5 min.
6	TiCl <sub>4</sub> , DCM, 5 min.



**Esquema 37.** Tentativa de reação de Pechmann com ácido málico.

Atendendo a que as condições experimentais usadas em diversas tentativas não resultaram (Tabela 3, entradas 1 – 4) decidiu-se experimentar a catálise com cloreto de titânio(IV). Na literatura há referência à reação entre um composto fenólico e um  $\beta$ -cetoéster, na presença de TiCl<sub>4</sub>, com formação de derivados de cumarinas com bons rendimentos (60 a 97 %). Estas reações foram realizadas à temperatura ambiente, ficando concluídas imediatamente após a adição de TiCl<sub>4</sub> (40 a 80 s) (Valizadeh, 2005). Embora os resultados na literatura fossem promissores a reação de **62** com ácido málico em presença de TiCl<sub>4</sub> (Tabela 3, entradas 5 e 6) não ocorreu.

Perante a não reatividade do ácido málico com 2-hidroxidibenzofurano nas diferentes condições reacionais testadas (Tabela 3), e ainda com vista à obtenção dos análogos **115** e **121**, seguiu-se o método descrito por Trost *et al* (1996, 2003), uma modificação da reação de Pechmann. Assim, fez-se reagir o composto **62** com propiolato de etilo **111a**, na presença de paládio e com aquecimento, mas a reação não ocorreu (Esquema 38). Pela análise do TLC efetuada no decurso da reação, apenas se detetou o composto de partida, o que foi confirmado por RMN de  $^1\text{H}$ .



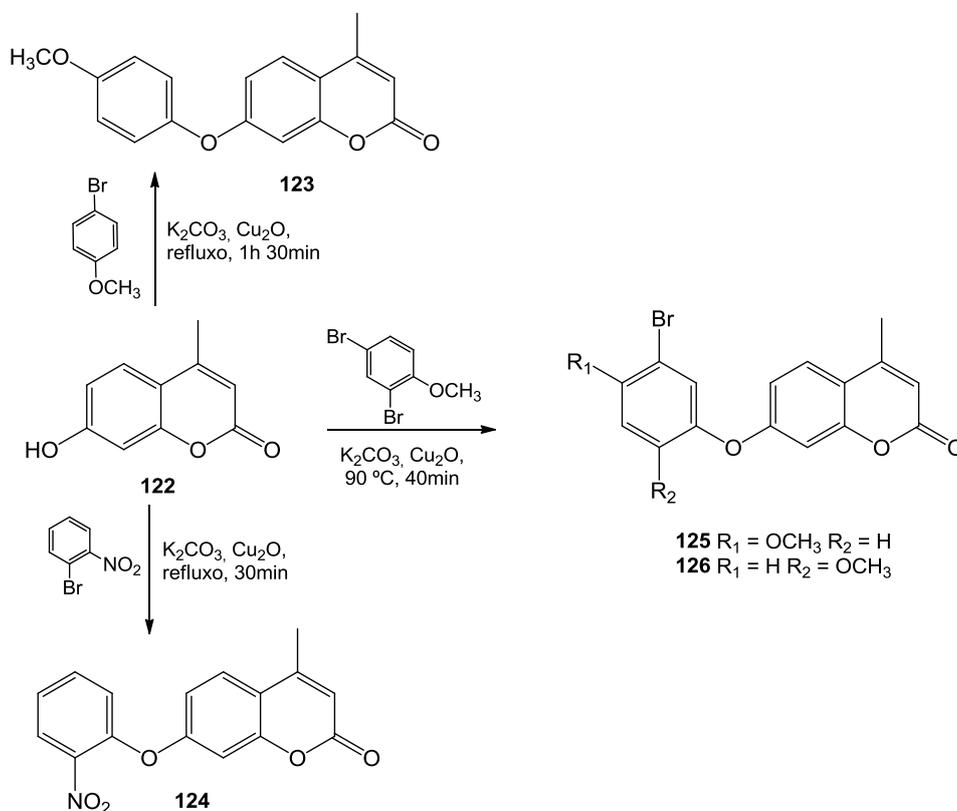
**Esquema 38.** Reação entre o 2-hidroxidibenzofurano e o propiolato de etilo **111a**.

## 2. Preparação de análogos a partir de 7-hidroxi-4-metilcumarina

As reações conducentes aos análogos lineares e angulares do psoraleno com núcleo de furano, por construção do anel de piranona foram parcialmente bem sucedidas na medida em que conduziram aos compostos desejados, mas com rendimentos baixos a moderados.

Com vista à obtenção de melhores rendimentos destes compostos decidiu-se fazer uma abordagem sintética diferente na qual se usa como compostos de partida uma hidroxicumarina e um haleto de arilo e se constrói o anel de furano numa sequência reacional que envolve a reação de Ullmann e uma ciclização intramolecular.

Neste trabalho, por reação da 7-hidroxi-4-metilcumarina **122** e com brometos de arilo (4-bromoanisole, 2-bromonitrobenzeno e 2,4-dibromoanisole), por condições de Ullmann, obtiveram-se os éteres diarílicos **123** – **126** (Esquema 39).



**Esquema 39.** Éteres difenólicos **123** – **126** obtidos por acoplamento de Ullmann.

Da reação com 4-bromoanisole obteve-se o composto **123** com rendimento de 35 % após purificação por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/AcOEt, 100  $\rightarrow$  85 %). Pela análise do espectro de RMN de próton verifica-se a presença de um duplete aparente a 6,16 ppm do anel cumarínico (H-3) e os dois dupletos com constantes  $J = 9,2$  Hz, a 7,03 ppm (H-2' e H-6') e a 6,94 ppm (H-3' e H-5') (Exp. 2.1).

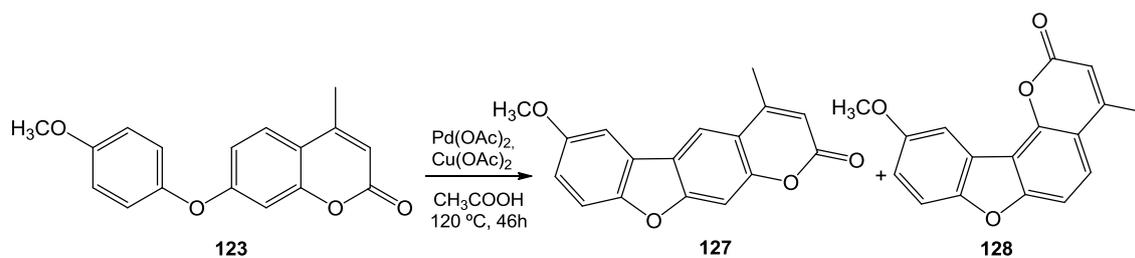
Na reação de acoplamento entre a cumarina **122** e 2-bromonitrobenzeno, obteve-se o composto **124**, após precipitação com éter de petróleo, com rendimento de 71 %. Verifica-se pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a presença dos dupletos com  $J = 1,2$  Hz, a  $\delta$  6,22 ppm (d ap, H-3) e 2,43 ppm ( $\text{CH}_3$ ), para além dos demais sinais. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  observa-se a presença do carbono carbonílico a 160,53 ppm

do anel cumarínico (Exp. 2.2).

Para a reação entre a cumarina **122** e o 2,4-dibromoanisole obtiveram-se dois produtos esperados, devido às substituições 2,4 do anisole. Os compostos **125** e **126** foram identificados por RMN de  $^1\text{H}$ , porém por possuírem uma solubilidade e polaridades muito próximas, não se conseguiu isolar os dois isómeros utilizando várias técnicas de cromatografia: “flash” seca, cromatografia em coluna ou cromatografia em camada preparativa (eluente: éter de petróleo/AcOEt, 2:1). O espectro de RMN de próton evidencia a mistura dos compostos **125** e **126** pela presença de dois singletos a 3,92 e 3,79 ppm correspondentes a dois grupos metoxilos de cada um dos compostos e ainda dois singletos a 6,18 e 6,17 ppm correspondentes aos prótons H-3 do anel de piranona. Estes dois produtos formaram-se na proporção de 2:3, como calculado com base no RMN de  $^1\text{H}$ .

A etapa seguinte na estratégia de síntese seguida neste trabalho consiste no fecho do anel de furano por reação de oxidação. Estas reações conduziram, em todos os casos, à mistura de compostos angular e linear, cujas polaridades e solubilidade próximas não permitiram, de modo geral, a sua separação mesmo após cromatografia.

A reação de oxidação do éter difenílico **123**, foi realizada na presença de  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$  (3,0 equiv.),  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (0,5 equiv.) em ácido acético, a 120 °C durante 46 h (Esquema 40). A reação foi seguida por TLC, e quando não se observou mais evolução, fez-se o tratamento Exp. 2.3). A análise do espectro de RMN de próton do resíduo evidenciou uma mistura de 3 componentes (o que já havia sido detetado por TLC) identificados como sendo o composto de partida **123** (15 %), o composto linear **127** (30 %) e o composto angular **128** (55 %). Após purificação por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo /éter dietílico), obteve-se o composto **128** na forma de um óleo. O composto linear foi apenas quantificado com base no espectro de RMN de próton porque foi eluído em mistura com o composto angular.



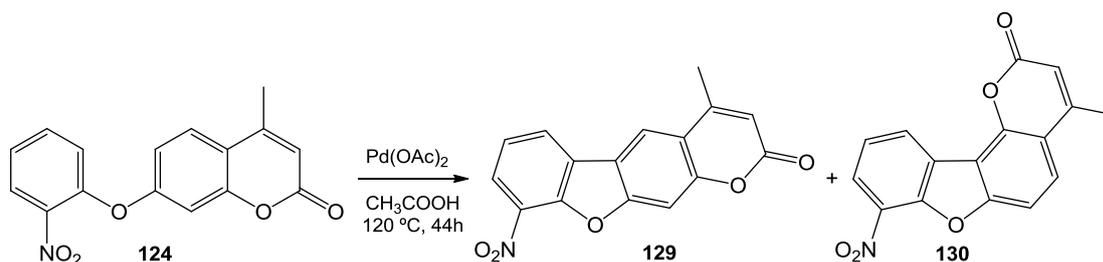
**Esquema 40.** Reação de oxidação para o éter difenílico **123**.

A reação de oxidação do éter **124** foi realizada em diferentes condições experimentais (Tabela 4). Apenas nas condições da entrada 3 (Tabela 4) se verificou, por TLC, a presença de 3 componentes na mistura reacional (Esquema 41). Pela análise do espectro de RMN de próton do resíduo confirmou-se que, para além do composto de partida **124** (50 %), estava presente uma mistura dos dois produtos possíveis, linear **129** (20 %) e angular **130** (30 %). Porém, não se conseguiu isolar os dois isómeros **129** e **130**, mesmo após cromatografia em coluna seguida por cromatografia em camada preparativa (eluente: éter de petróleo/AcOEt, 2:1).

**Tabela 4.** Condições experimentais utilizadas na reação de oxidação do composto **124**

Entrada	Condições experimentais	$\eta$ (%)
<b>1</b>	Cu(OAc) <sub>2</sub> (3,0 equiv.), Pd(OAc) <sub>2</sub> (0,5 equiv.), CH <sub>3</sub> COOH, 120 °C, 84 h	não reagiu
<b>2</b>	Cu(OAc) <sub>2</sub> (3,0 equiv.), Pd(OAc) <sub>2</sub> (0,5 equiv.), CH <sub>3</sub> COOH, 120 °C, forno HACH, 35 h	não reagiu
<b>3</b>	Pd(OAc) <sub>2</sub> (2,5 equiv.), CH <sub>3</sub> COOH, refluxo, 44 h	mistura*

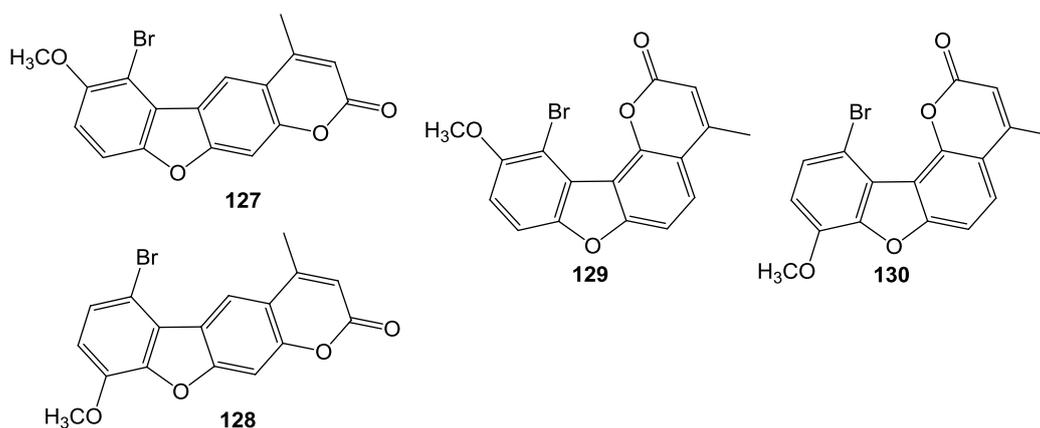
\*mistura de 3 componentes: composto de partida, produtos angular e linear.



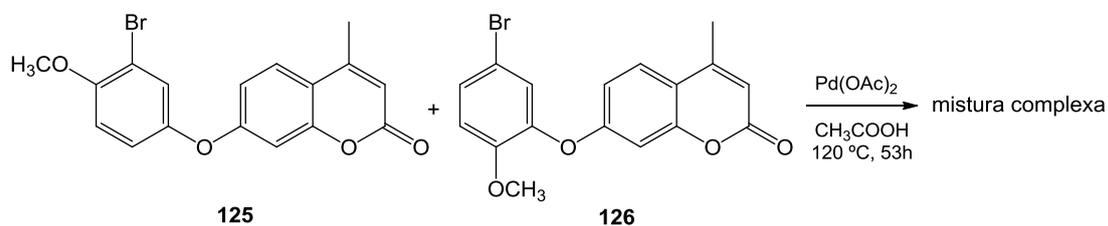
**Esquema 41.** Reação de oxidação para o éter difenílico **124**.

Com vista à obtenção dos análogos de psoraleno (**127** – **130**, Figura 13), realizou-se a reação de ciclização da mistura dos éteres difenílicos **125** e **126** na

presença de  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  e ácido acético, sob refluxo, durante 53 h. Pela análise do TLC verificou-se uma mistura complexa de compostos, a qual foi confirmada pelo espectro de RMN de próton. Os componentes não puderam ser identificados, embora da análise do espectro de RMN de próton, se tenha detetado a presença de um dos compostos de partida (30 %) e a formação de dois produtos ciclizados lineares numa proporção de 3:2 (quatro singletos a 8,11; 7,85; 7,84 e 7,82 ppm).



**Figura 13.** Estrutura dos quatro possíveis produtos obtidos na reação de oxidação dos éteres difenílicos **125** e **126**.



**Esquema 42.** Reação de oxidação para os éteres difenílicos **125** e **126**.

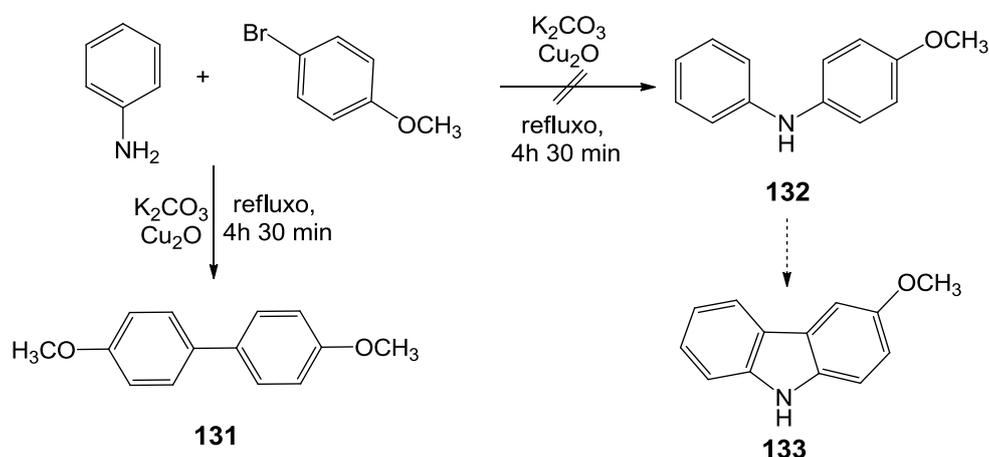
### 3. Preparação de análogos a partir de 3-hidroxicarbazole

Tal como referido anteriormente, nem todos os compostos de partida estavam disponíveis comercialmente pelo que foram sintetizados no decurso deste trabalho nomeadamente o 3-hidroxicarbazole.

### 3.1 Síntese do precursor 3-hidroxicarbazole (133)

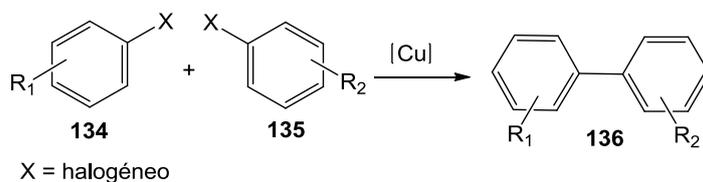
#### 3.1.1 Reação de acoplamento

Para a obtenção dos análogos do psoraleno a partir de 3-hidroxicarbazole, iniciou-se o trabalho com uma tentativa de acoplamento de Ullmann da anilina com 4-bromoanisole, utilizando  $K_2CO_3$  e  $Cu_2O$  sob refluxo durante 4h 30 min (Esquema 43) (Exp. 3.3.1). Pela análise do espectro de RMN de próton verificou-se que o produto formado foi o composto **131**, com base nos dois dupletos observados a 7,38 e 6,79 ppm que integram para dois prótons cada e um singletto a 3,79 ppm correspondente ao grupo metoxilo.



**Esquema 43.** Tentativa de preparação do 3-hidroxicarbazole **133**.

Este produto **131** poderá ser uma hipótese plausível atendendo a que a reação de Ullmann “clássica” conduz à formação de um compostos de diarilo, por reação entre dois haletos de arilo em presença de cobre (Esquema 44) (Sperotto, 2010).

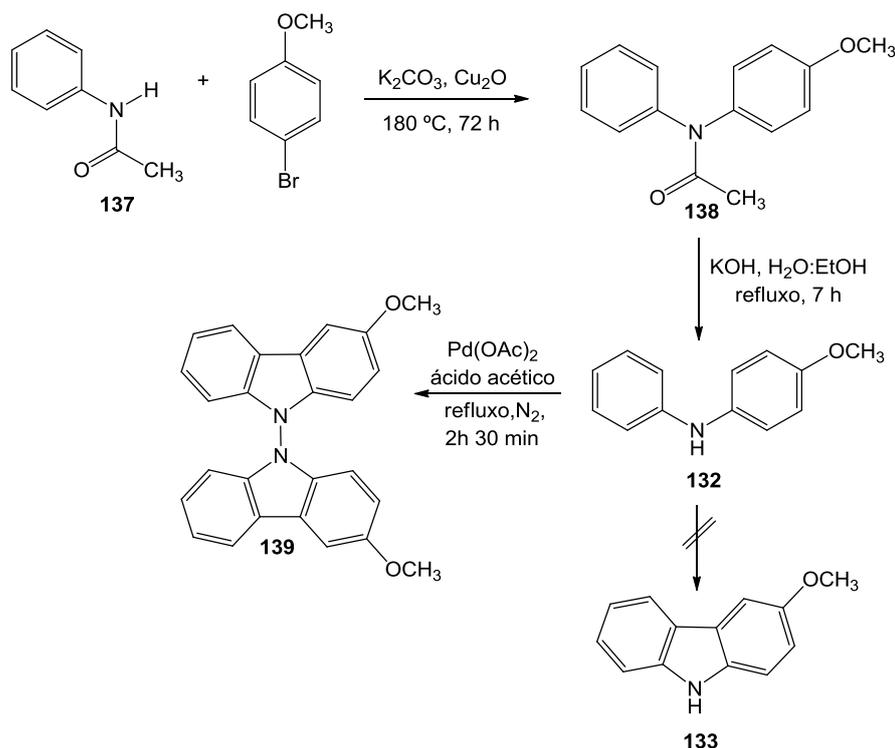


**Esquema 44.** Representação de reação de Ullmann.

### 3.1.2 Reações a partir de acetanilida

Perante os resultados obtidos na metodologia anterior, optou-se por seguir uma via sintética alternativa, utilizando a acetanilida **137** (comercial) em que o grupo acetilo está ligado ao nitrogénio, mas pode ser facilmente removido. Fez-se reagir a acetanilida com 4-bromoanisole (2,0 equiv.), sob condições de Ullmann, na presença de  $K_2CO_3$  e  $Cu_2O$  sem solvente, a  $180\text{ }^\circ\text{C}$  durante 72 h. Após purificação por cromatografia em “flash” seca (eluente: AcOEt/éter de petróleo, 1:1) obteve-se o composto **138** com rendimento de 54 % (Esquema 44) (Exp. 3.2.1).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  apresenta os sinais mal definidos, porém a integração está de acordo com a estrutura proposta. Os sinais correspondentes aos grupos metoxilo e metilo aparecem a 3,82 e 1,97 ppm, respetivamente. Esta má definição dos sinais, que se traduz num alargamento dos mesmos, poderá ser devida à proximidade do átomo de nitrogénio (núcleo quadrupolar) da ligação amida.



**Esquema 44.** Condições experimentais utilizadas para síntese dos derivados de psoraleno a partir da acetanilida **137**.

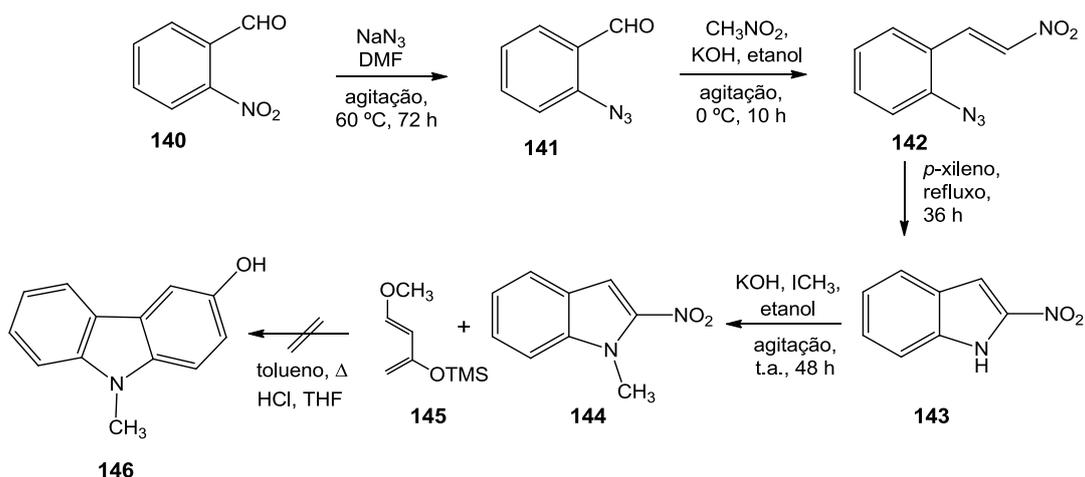
Por hidrólise básica (KOH em EtOH aquoso), sob refluxo, o composto **138** originou a diarilamina **132** com rendimento de 92 %. Pode-se verificar pelo RMN de  $^1\text{H}$  o desaparecimento do sinal a  $\delta$  1,97 correspondente ao metilo do grupo acetilo e o aparecimento de um singlete a  $\delta$  7,80 devido ao  $-\text{NH}$  (Exp. 3.2.2).

A síntese do carbazole **133** foi tentada por reação de fecho do anel do composto **132** com acetato de paládio e acetato de cobre em ácido acético. Contudo, obteve-se uma mistura complexa, não se tendo observado por RMN de próton indícios do produto pretendido. Quando se utilizou apenas acetato de paládio em ácido acético, sob refluxo, o produto final foi identificado como sendo o composto **139**, com base na análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Exp. 3.2.3). Efetivamente, neste espectro foram identificados dois sinais referentes a  $-\text{OCH}_3$  integrando na proporção de 1:1. Deste modo foi proposta para este composto a estrutura apresentada a qual é compatível com a integração referente a todos os outros sinais do espectro. Por análise efetuada por espectrometria de massa de alta resolução (ESI-TOF) obteve-se o ião  $m/z$  a 393,15975 ( $\text{MH}^+$ ) correspondente à fórmula molecular  $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2$ , o que confirma a estrutura proposta ( $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ ).

A formação deste dímero pode ser interpretada com base num mecanismo envolvendo um intermediário do tipo catião radicalar centrado no átomo de nitrogénio o qual dará origem à formação da ligação N-N.

### 3.1.3 Reações a partir de nitroindoles

Face aos resultados obtidos na tentativa de acoplamento de Ullmann decidiu seguir-se a metodologia descrita por Gribble e Pelkey (1997) para a preparação de 3-hidroxicarbazole, de acordo com a sequência reacional apresentada no esquema 45.



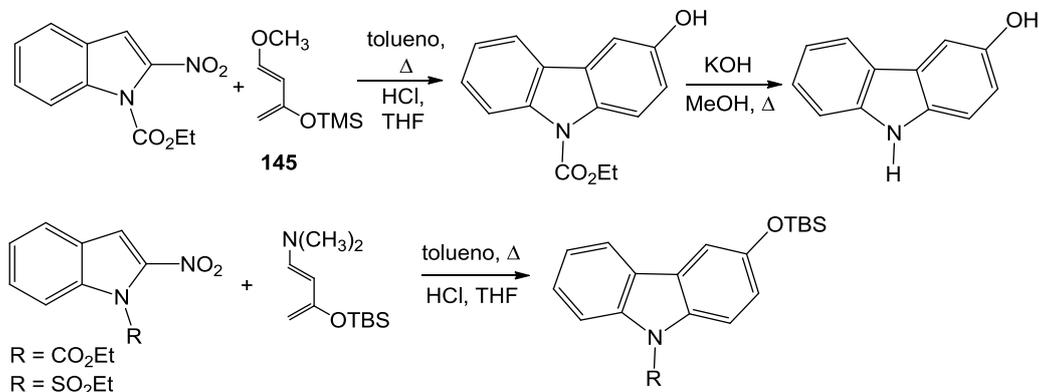
**Esquema 45.** Condições experimentais utilizadas para a preparação de análogos do psoraleno a partir de nitroindoles.

Por reação de 2-nitrobenzaldeído **140** com azida de sódio (3,0 equiv.) em DMF e após purificação por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo) obteve-se a azida **141** com rendimento de 71 % (Exp. 3.3.1), a qual por reação com nitrometano, na presença de KOH, originou o composto **142** com rendimento de 64 % (Exp. 3.3.2). O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  evidenciou o desaparecimento do singlete correspondente ao aldeído a  $\delta$  10,36 ppm e o aparecimento de dois dupletos correspondentes aos dois prótons do alceno, com constante de acoplamento de 14,0 Hz (compatível com um alceno *trans*) e desvios de  $\delta$  8,24 ppm e 8,12 ppm.

A reação de ciclização intramolecular do composto **142** ocorreu em refluxo de *p*-xileno e após purificação por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 95:5) obteve-se o indole **143** com rendimento de 28%. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  observou-se a presença do sinal a  $\delta$  9,29 ppm do próton do –NH (Exp. 3.3.3).

A *N*-alquilação do indole **143** realizada com  $\text{ICH}_3$  na presença de KOH, sob agitação à temperatura ambiente, originou o composto **144** com rendimento quantitativo. Verificou-se por RMN de  $^1\text{H}$  o desaparecimento do sinal de –NH a  $\delta$  9,29 ppm e o aparecimento do sinal correspondente ao grupo metilo do – $\text{NCH}_3$  a  $\delta$  2,64 ppm, na forma de singlete (Exp. 3.3.4).

A literatura reporta a síntese de derivados de carbazoles por reação de Diels-Alder entre o dieno de Danishefsky **145** (ou um dieno análogo) e nitroindoles, como dienófilos (Kishbaugh, 2001) (Esquema 46).



**Esquema 46.** Síntese de derivados de carbazoles.

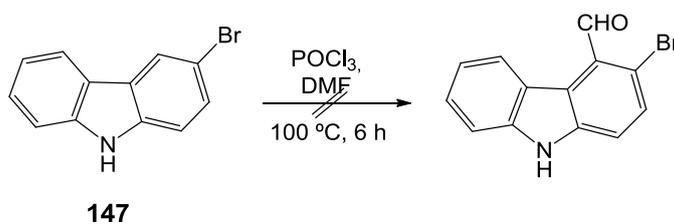
Em face destes resultados, seguiu-se a mesma estratégia de síntese para a obtenção do composto **146**, por reação entre o nitroindole **144** e o dieno de Danishefsky **145**. Esta reação foi realizada em tolueno (p.e. 112 °C), sob refluxo, durante 10 h, tempo ao fim do qual o TLC revelava a presença dos reagentes. Evaporou-se o tolueno e retomou-se a reação em *p*-xileno (p.e. 138 °C). Após 15 h em refluxo não se verificou qualquer evolução por TLC.

Em face dos resultados obtidos e, comparando com os descritos na literatura e referidos anteriormente, esta diferença de reatividade pode ser explicada com base na menor eletrofilia do nitroindole usado neste trabalho. Efetivamente, o composto **144** apresenta um grupo metilo como substituinte do átomo de nitrogénio o qual exerce um efeito indutivo dador de elétrons. Por sua vez, os nitroindoles do Esquema 46 têm como *N*-substituintes grupos fortemente eletro-retiradores o que os torna melhores dienófilos para reações de Diels-Alder. Esta reação que constitui um método de síntese versátil para a preparação de anéis de seis membros, é facilitada pela presença de grupos eletro-dadores no dieno e grupo eletro-retiradores no dienófilo.

### 3.1.4 Reações a partir de 3-bromocarbazole

Em face destes resultados, recorreu-se a outra via sintética partindo-se do 3-bromocarbazole **147** que já fora previamente preparado no nosso laboratório.

Para a formilação do 3-bromocarbazole seguiu-se o método de formilação de Vilsmeier-Haack ( $\text{POCl}_3$ , DMF,  $100^\circ\text{C}$ , 6h) (Esquema 47). Após purificação por cromatografia em camada preparativa (éter de petróleo/éter dietílico 1:2) isolou-se uma mistura de dois compostos. Por RMN de  $^1\text{H}$  vê-se nitidamente que os componentes dessa mistura estão na proporção 1:1. Um deles foi identificado como sendo o composto de partida, por comparação com o espectro de RMN de protão do composto puro **147**, porém o outro produto formado durante a reação não foi identificado.



**Esquema 47.** Tentativa de formilação do 3-bromocarbazole.

As posições mais ativadas para ataque eletrofílico no carbazole não substituído são as posições 3 e 6. O átomo de bromo ocupa a posição 3 do carbazole e é um grupo desativante com efeito de orientação *orto/para*. Assim, a posição 4 (*orto* em relação ao átomo de bromo) não seria suficientemente nucleofílica para reagir com o intermediário cloreto de imínio (Esquema 14) com vista à formação desejada.

### 3.1.5 Reações a partir de tetra-hidrocarbazole

Atendendo aos resultados obtidos com 3-bromocarbazole **147** decidiu-se investigar esta reação de formilação com o carbazole **133** dado o grupo metoxilo ser

um grupo ativante (Esquema 48).

Por reação da ciclo-hexanona com 4-metoxifenil-hidrazina, segundo o método descrito por Rogers e Corson (1947), obteve-se **148** com rendimento de 71 % (Exp. 3.4.1) (Esquema 48). Por análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  verifica-se a presença do singlete a  $\delta$  7,56 correspondentes ao  $-\text{NH}$  e o duplete a 6,93 ppm com  $J = 2,4$  Hz correspondente ao H-4, bem como os sinais correspondentes aos quatro grupos  $\text{CH}_2$ , na forma de dois multipletos a 2,72 – 2,68 (4H) e 1,90 – 1,89 (4H) ppm.

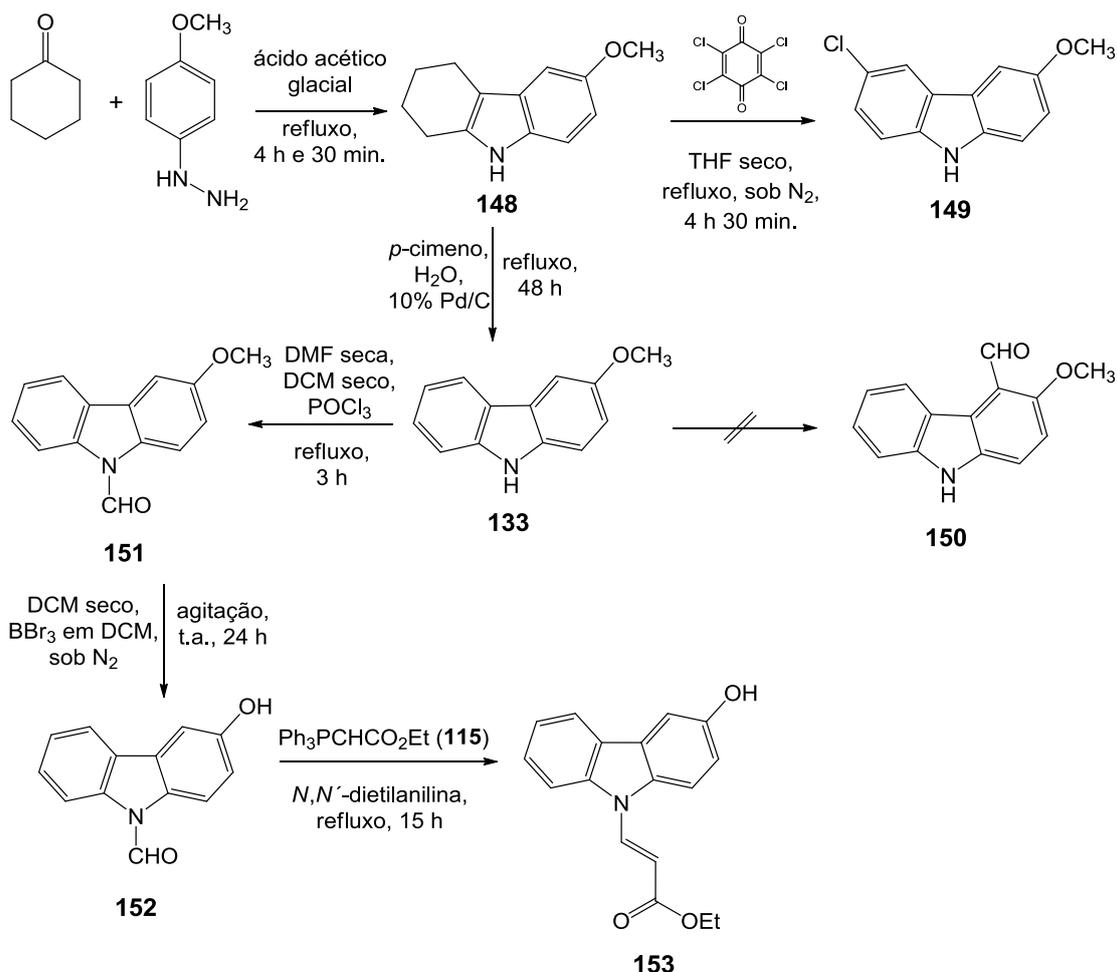
Foram realizadas várias tentativas de desidrogenação do composto **148** em *p*-cimeno/água e em presença de Pd/C 10%, sob refluxo, com diferentes tempos de reação (Tabela 5, entradas 1 – 3). O composto **133** foi obtido nas condições da entrada 2 com 53 % de rendimento (Exp. 3.4.2). Quando se aumentou o tempo de reação na tentativa de melhorar o rendimento, obteve-se uma mistura complexa de compostos não identificados.

**Tabela 5.** Tentativas de reação de desidrogenação da tetra-hidrocarbazole **148**

Entrada	Reagentes	Condições	Resultados
1	<i>p</i> -cimeno, H <sub>2</sub> O, 10 % Pd/C	refluxo, 24 h	não reagiu
2	<i>p</i> -cimeno, H <sub>2</sub> O, 10 % Pd/C	refluxo, 48 h	53 %
3	<i>p</i> -cimeno, H <sub>2</sub> O, 10 % Pd/C	refluxo, 65 h	mistura complexa
4	DDQ, tolueno	refluxo, 21 h	não reagiu
5	cloroanil, THF seco	refluxo, N <sub>2</sub> , 4h 30 min	6 %*
6	KMnO <sub>4</sub> , DMF**	agitação 40 °C, 1 h	não reagiu

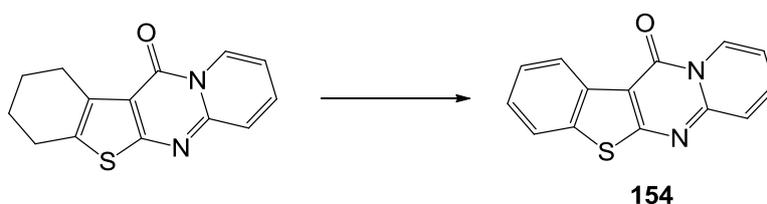
\*rendimento de 6% para o composto **155**.

\*\* Wu, 2009.



Esquema 48. Reações a partir de tetra-hidrocarbazole.

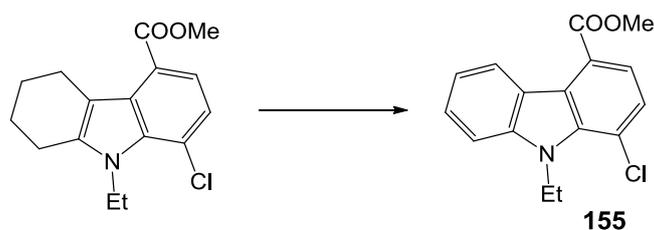
A literatura refere um outro método para realizar reações de desidrogenação o qual envolve o uso de DDQ (Begouin, 2008). Estes autores usaram este reagente para a reação de desidrogenação apresentada no Esquema 49, tendo obtido o melhor rendimento (49 %) do composto **154** quando a reação foi realizada usando 2,5 equiv. de DDQ em *o*-diclorobenzeno a 190 °C durante 24h.



Esquema 49. Síntese do composto 154.

À semelhança das reações com *p*-cimeno também não se obteve a formação de **133** quando se usou DDQ como agente de desidrogenação (Tabela 5, entrada 4).

Um outro método de desidrogenação para formação de compostos aromáticos foi descrito por Keyanpour-Rad (2005), que usaram cloroanil em THF sob irradiação em microondas, para a reação de **155** (Esquema 50).



**Esquema 50.** Síntese do composto **155**.

Face a estes resultados decidiu-se realizar a reação entre **148** e cloroanil (2,3,5,6-tetracloroquinona) em THF seco (Tabela 6, entrada 5), e após purificação por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 100 → 80 %), obteve-se um sólido bege com 6% de rendimento (Exp. 3.4.3). Verificou-se por RMN de  $^1\text{H}$  a ausência dos duplos tripletos (multiplicidade esperada) de H-6 e H-7, para o composto **133**, e a presença de um singlete a 8,00 ppm (composto **149**, H-5). Esta análise levou-nos a concluir que o produto obtido nesta reação tem uma substituição em C-6, pelo que H-5 aparece como um singlete. A presença da tetracloroquinona, utilizada na reação, levou a supor que o substituinte fosse um átomo de cloro tendo sido proposta a estrutura **149**. Esta hipótese pode ser sustentada por dados da literatura, onde há referência à ação de DDQ como fonte de cloro, tendo o ocorrido a cloração inesperada de paraciclofanos [2.2]anelados de estrutura angular durante oxidação deste compostos com DDQ em refluxo de tolueno (Minuti, 2005).

Os resultados de análise elementar (C, H, N) efetuada estão em bom acordo com os valores teóricos para este composto **149** ( $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNO}$ ) (Tabela 6). Por análise efetuada por espectrometria de massa de alta resolução (ESI-TOF) obteve-se o ião  $m/z$  a

232,05237 correspondente à fórmula molecular  $C_{13}H_{11}ClNO$ , o que confirma a estrutura proposta.

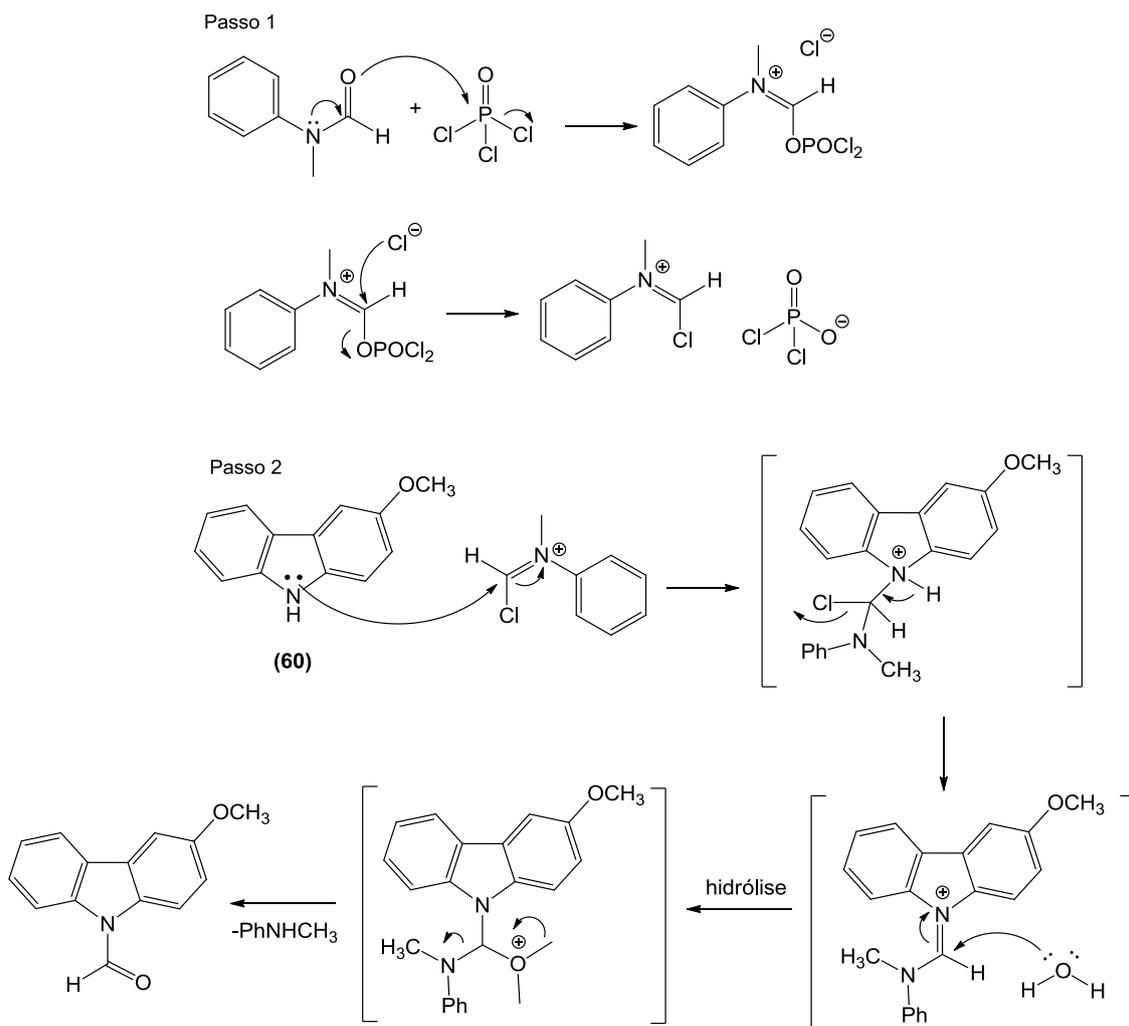
**Tabela 6.** Valores de análise elementar (C, H, N) para o composto **149**

Elemento	Teórico (%)	Experimental (%)
C	67,39	67,52
H	4,35	4,52
N	6,05	6,20

A introdução do grupo  $-CHO$  na posição 4 do carbazole **133** foi tentada nas condições de formilação de Vilsmeier-Haack. Por reação deste composto com  $POCl_3$ , em DMF seca, obteve-se um sólido com 76% de rendimento (Exp. 3.4.4). Porém, após análise do espectro de RMN de  $^1H$  verificou-se a ausência do sinal correspondente ao  $-NH$  e a presença de um singlete a 9,80 ppm, que não troca com  $D_2O$ , pelo que foi identificado como sendo o sinal de um próton correspondente a um grupo  $-CHO$ . Por essa razão e pelo padrão de multiplicidades e constantes de acoplamento dos restantes sinais, concluiu-se que em vez da substituição em C4 ocorreu a *N*-formilação com formação do composto **151**.

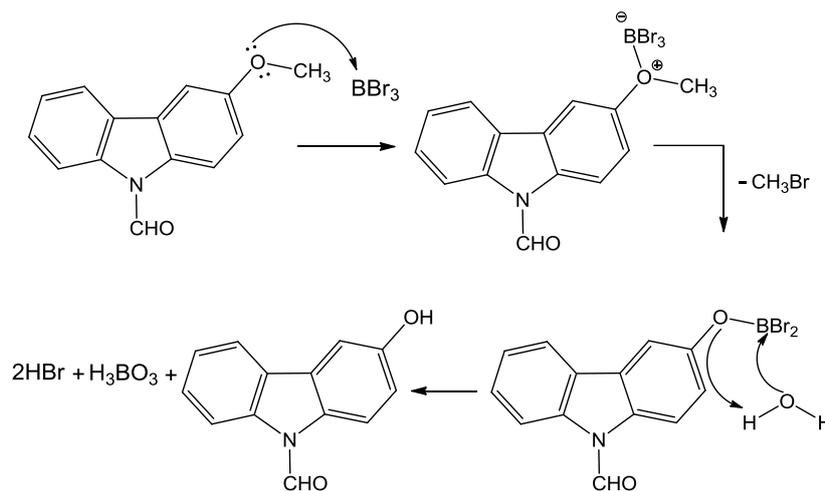
A reação de Vilsmeier-Haack “clássica” envolve a substituição eletrofílica num anel aromático com um sal de halometilenoimínio que leva à formação do ião imínio correspondente, o qual facilita a entrada de um eletrófilo em vários heterociclos contendo nitrogénio ou oxigénio (Esquema 14).

O 3-metoxicarbazole **133** está mais ativado para reações de substituição eletrofílica aromática do que o carbazole e dado o efeito de orientação *orto/para* do grupo metoxilo seria de esperar que a substituição com o grupo formilo ocorresse em posição *orto* relativamente a este grupo, dado que a posição *para* está ocupada. No entanto, este efeito dador não foi suficiente para ativar estas posições para o ataque pelo eletrófilo. Pelo composto obtido conclui-se que a posição mais nucleofílica foi o átomo de nitrogénio. No esquema 51 apresenta-se a proposta de mecanismo para esta reação de formilação.



**Esquema 51.** Proposta de mecanismo para a reação de formilação de Vilsmeier-Haack ocorrida no nitrogénio do carbazole.

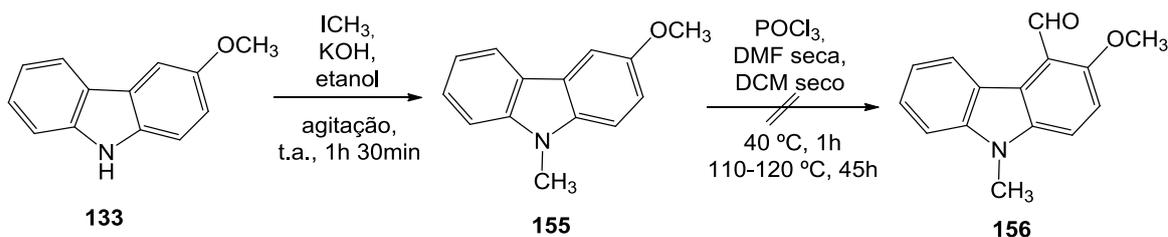
Um método descrito na literatura para a remoção do grupo metoxilo em éteres metílicos em anéis aromáticos envolve o tratamento deste com uma solução de  $\text{BBr}_3$  (Bhatt, 1983). Por reação do composto **151** com uma solução de  $\text{BBr}_3$  em DCM (1M), sob atmosfera de nitrogénio, ocorreu a desmetilação (Esquema 52), tendo-se obtido o composto **152** após purificação por cromatografia em coluna, com rendimento de 48%. A partir do espetro de RMN de  $^1\text{H}$  pode-se observar o desaparecimento do sinal correspondente a  $-\text{OCH}_3$  e o aparecimento de um singlete a  $\delta$  9,60 ppm do grupo  $-\text{OH}$  (Exp. 3.4.5).



**Esquema 52.** Mecanismo proposto para reação de desmetilação utilizando  $\text{BBr}_3$  em DCM.

De modo a confirmar a presença do grupo formilo decidi realizar-se a reação de Wittig entre o composto **152** e  $\text{Ph}_3\text{PCHCOOEt}$  (**114**) (em *N,N*-dietilanilina, refluxo, 15 h). O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do produto obtido evidenciou a presença de dois dupletos com constante  $J = 14$  Hz, típica de um alceno *trans*, confirmando-se a formação do produto **153** (Exp. 3.4.6). A estereoquímica desta dupla ligação carbono-carbono é justificada pelo facto do fosforano utilizado ser estabilizado por ressonância.

Em face dos resultados obtidos, apresentados no esquema 48, optou-se por fazer a proteção do carbazole **133** por *N*-alquilação com  $\text{ICH}_3$  e  $\text{KOH}$  em etanol (Esquema 53).



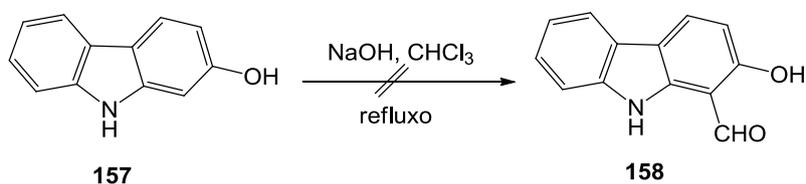
**Esquema 53.** Reação de *N*-alquilação do carbazole **133**.

Obteve-se o composto **155** com rendimento de 90 % cuja formação foi confirmada por análise do espectro de RMN de protão, que para além do singlete a 3,87 ppm do grupo metoxilo, evidencia-se o aparecimento de um singlete a 3,60 ppm correspondente ao grupo  $\text{N-CH}_3$  e o desaparecimento do sinal correspondente ao  $\text{NH}$  do **133**. Este

composto foi submetido a condições de formilação de Vilsmerier-Haack, mas o produto pretendido **156** não foi formado. Estes resultados corroboram a não ativação da posição *orto* relativamente ao grupo metoxilo, conforme referido anteriormente.

#### 4. Preparação de análogos a partir de 2-hidroxicarbazole

A síntese de análogos de psoraleno a partir de 2-hidroxicarbazole **157** comercial iniciou-se com o estudo da reação de formilação deste composto, sob condições de Reimer-Tiemann (NaOH, CHCl<sub>3</sub> e refluxo; Tabela 7, entradas 1 e 2) (Esquema 54).



**Esquema 54.** Tentativa de formilação do 2-hidroxicarbazole por reação de Reimer-Tiemann.

Pela análise do espectro de RMN de <sup>1</sup>H pode-se verificar que os sinais correspondem aos do composto de partida. Modificaram-se as condições do método convencional utilizando-se uma mistura de H<sub>2</sub>O:EtOH (9:1), NaOH, CHCl<sub>3</sub> sob refluxo (Tabela 7, entrada 3).

**Tabela 7.** Tentativas de formilação do 2-hidroxicarbazole (método Reimer-Tiemann)

Entrada	Reagentes	Condições
1	NaOH 30%, CHCl <sub>3</sub>	refluxo, 66 °C, 2h 30min.
2	NaOH 30%, CHCl <sub>3</sub>	refluxo, 90 °C, 2h 30min.
3	NaOH, CHCl <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O:EtOH (9:1)	refluxo, 90 °C, 2h 30min.

Porém, isolou-se mais uma vez apenas o composto de partida. Estas condições experimentais modificadas tinham sido usadas por Vibhute (2007) para a síntese de 2-

hidroxiarilaldeídos, por reação de Reimer-Tiemann sob ativação de microondas, tendo conduzido a rendimentos moderados (50 – 60 %) destes compostos.

Em face destes resultados da literatura decidiu-se investigar a reação de formilação de 2-hidroxicarbazole em microondas sob condições de Reimer-Tiemann. Esta reação foi realizada com diferentes potências (400 e 800 W) e tempos de reação (Tabela 8). A síntese do composto pretendido **158** só ocorreu quando se realizou a reação a 400 W durante 50 minutos (ciclos de 10 min.) tendo-se obtido um rendimento de 7 % (Tabela 8, entrada 4). O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  apresenta dois singletos largos correspondentes a NH a 11,15 ppm e ao OH a 10,30 ppm, um singlete a 10,67 ppm do grupo aldeído, além dos demais sinais que foram devidamente identificados (Exp. 4.1).

**Tabela 8.** Tentativas de formilação de Reimer-Tiemman realizadas em microondas

Entrada	Potência (W)	Tempo (min.)	H <sub>2</sub> O : EtOH	$\eta$ (%)
1	400	22	9:1	-
2	800	22	9:1	-
3	800	45	9:1	-
4	400	50	9:1	7
5	400	12	1:9	-

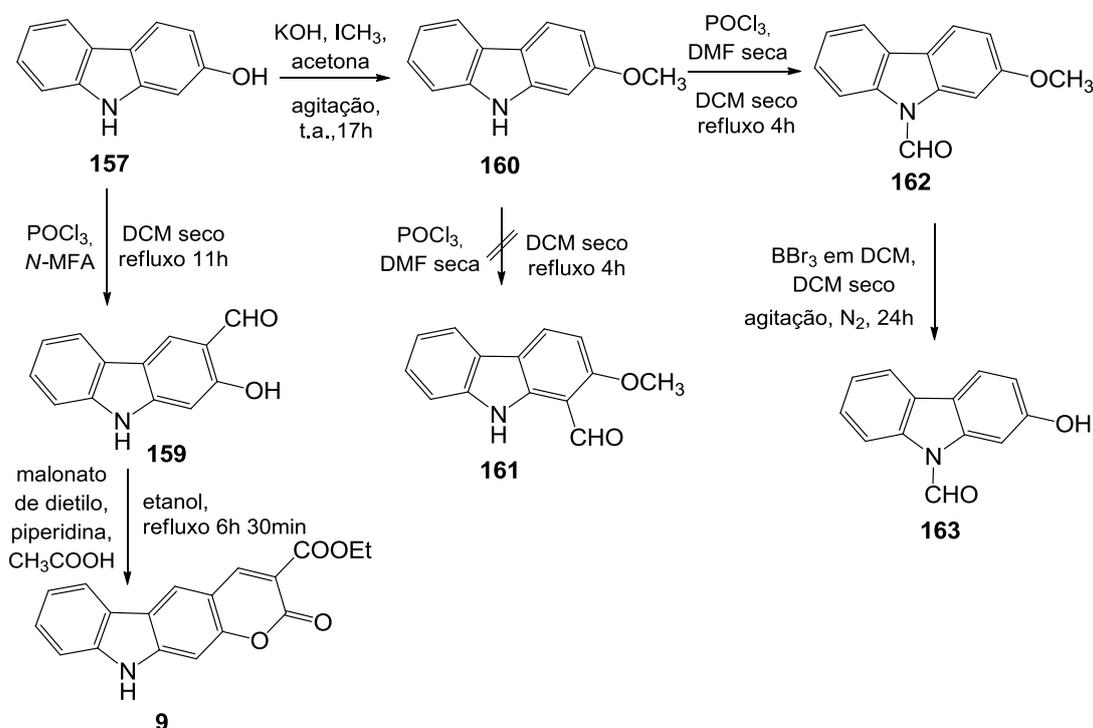
Com o objetivo de obter o composto formilado **158** com melhor rendimento, decidiu-se tentar a formilação pelo método de Vilsmeier-Haack, utilizando como amida *N*-MFA ou DMF (Tabela 9). Nas condições da entrada 1 (Tabela 9) obteve-se o composto **159** com rendimento de 5 %, após purificação por cromatografia em coluna, para além do composto de partida **158** (Exp. 4.2). Pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  verificou-se a presença de dois singletos a 8,49 e 6,93 ppm correspondente aos prótons H-4 e H-1, respetivamente.

O composto **159** foi submetido a condições de Knoevenagel, originando o éster **9** com rendimento de 27 %. Pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  observa-se a presença dos sinais correspondentes ao grupo éster, um quarteto a 3,88 ppm (CH<sub>2</sub>) e um tripleto a 0,90 ppm (CH<sub>3</sub>) (Exp. 4.3).

**Tabela 9.** Tentativas de formilação do 2-hidroxicarbazole (método Vilsmeier-Haack)

Entrada	Reagentes	Condições
1	POCl <sub>3</sub> , N-MFA, DCM	refluxo, 11h
2	POCl <sub>3</sub> , DMF seca, DCM seco	refluxo, 10h

Como não se obteve sucesso nas reações de formilação com o 2-hidroxicarbazole para obtenção do **158**, decidiu-se proteger o grupo –OH, na forma de éter metílico, por reação com ICH<sub>3</sub> e KOH (Exp. 4.4). O produto obtido **160** foi submetido a condições de formilação de Vilsmeier-Haack, com vista à obtenção de **161** (Esquema 55).

**Esquema 55.** Reação de formilação pelo método Vilsmeier-Haack.

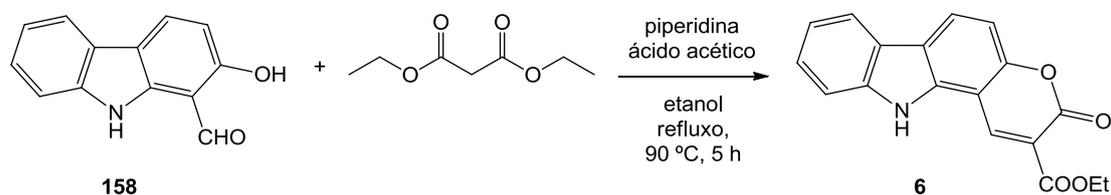
À semelhança do que foi verificado para o 3-hidroxicarbazole (Exp. 3.4.4), mais uma vez se obteve-se a formilação no átomo de nitrogénio do metoxicarbazole. Após análise do espectro de RMN de <sup>1</sup>H verificou-se a ausência do sinal correspondente ao –NH e a presença de um singlete a 9,88 ppm que foi identificado como sendo o sinal do grupo –CHO. Por essa razão e pelo padrão de multiplicidades e constantes de

acoplamento dos restantes sinais, concluiu-se que ocorreu a *N*-formilação com formação do composto **162** (Exp. 4.5).

Por reação do composto **162** com  $\text{BBr}_3$  em DCM (1M), obteve-se o composto desmetilado **163** em cujo espectro de RMN  $^1\text{H}$  se pode verificar o desaparecimento do sinal do grupo  $-\text{OCH}_3$  ( $\delta$  3,87) e o aparecimento do sinal do  $-\text{OH}$  (9,08 ppm) (Exp. 4.6).

Na síntese de análogos de psoraleno, e tal como referido na introdução, é necessário proceder à síntese do anel de piranona. Para a construção deste anel os derivados hidroxilados, substituídos com um grupo formilo em posição *orto* relativamente ao grupo hidroxilo, quer de dibenzofurano quer de carbazole, são substratos adequados.

Assim, e usando o derivado formilado **158** ( $m = 0,059$  g) obtido nas condições da Tabela 8 (entrada 4), numa reação via condensação de Knoevenagel com malonato de dietilo (Esquema 56), obteve-se o composto **6** ( $m = 0,033$  g;  $\eta = 38\%$ ) que foi identificado por análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Exp. 4.7). Neste espectro pode observar-se a presença de um singleto a 9,26 ppm (H-1) e os sinais do grupo éster: um quarteto a 4,40 ppm ( $\text{CH}_2$ ) e um tripleto a 1,41 ppm ( $\text{CH}_3$ ) e por RMN de  $^{13}\text{C}$  verifica-se o sinal correspondente ao grupo carbonilo (CO éster) a 164,02 ppm.



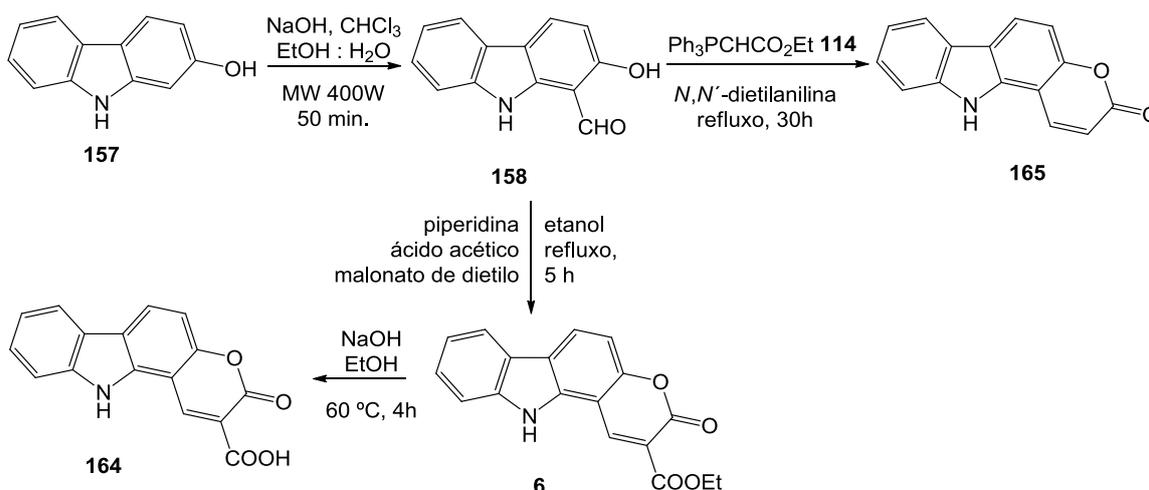
**Esquema 56.** Síntese do composto **6** por reação de Knoevenagel.

Como esta reação foi bem sucedida, decidiu-se sintetizar o composto **158** em quantidade suficiente para se poder prosseguir os estudos relativos à síntese do anel de piranona e reações subsequentes para a preparação de derivados de psoraleno.

Não sendo possível realizar a síntese do composto **158** em microondas (devido à inoperacionalidade do equipamento) tentou-se reproduzir as condições experimentais usadas na reação em microondas, porém utilizando-se tubos de rosca e um forno HACH. A reação nestas condições foi testada usando 200 mg de 2-

hidroxicarbazole, o qual originou o composto **158** com rendimento de 5% (Exp. 4.7). No sentido de otimizar o trabalho experimental aumentou-se a escala da reação para 500 mg. No entanto, e de acordo com a análise feita por TLC no decurso da reação, verificou-se que esta não ocorreu, detetando-se apenas a presença do composto de partida. Face a estes resultados, decidiu-se sintetizar o composto **158** nestas condições experimentais na escala de 200 mg, tendo-se realizado diversas reações. Os sólidos obtidos foram combinados e a mistura foi purificada por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 100 → 70 %).

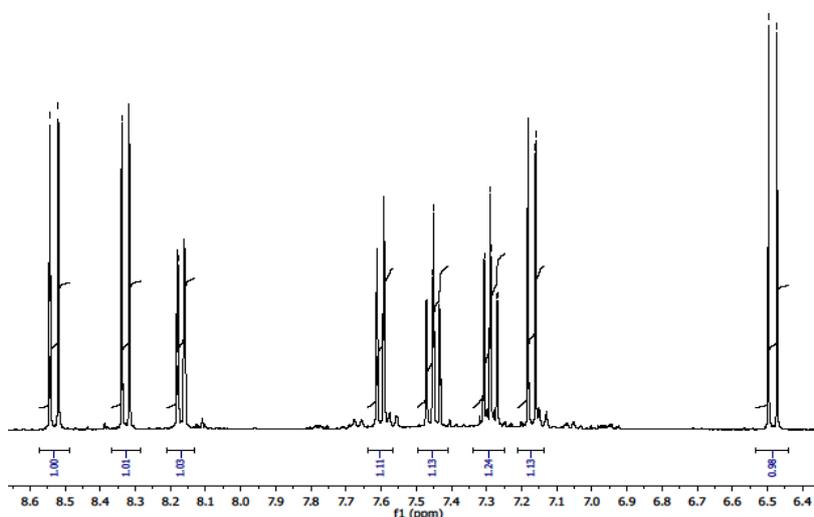
O composto **158** serviu de precursor para a preparação dos compostos **6** e **165** (Esquema 57). Por condensação de Knoevenagel do composto **158** com malonato de dietilo, em presença de piperidina e ácido acético, obteve-se o composto **6** com rendimento de 38 % (Exp. 4.8). Por análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  verificou-se que este era idêntico ao obtido anteriormente



Na reação de hidrólise básica deste éster para obter o composto **164** utilizou-se NaOH (1M) em etanol, sob agitação a 60 °C durante 4 h (Exp. 4.8). Obteve-se o composto **164** com 96 % de rendimento e por RMN de  $^1\text{H}$  observa-se nitidamente o desaparecimento dos sinais do grupo éster e o aparecimento de um singlete largo a 13,00 ppm correspondente ao -OH do ácido carboxílico e no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$

aparece o sinal a 164,77 ppm correspondente ao grupo carboxilo (COOH).

Por reação de Wittig do hidroxiformilcarbazole **158** com carboximetilenotriphenilfosforano **114** em *N,N'*-dietilanilina, sob refluxo, e após purificação por cromatografia em camada preparativa (eluente: éter de petróleo/acetato de etilo, 1:1), obteve-se o composto **165** com 27 % de rendimento (Exp. 4.9). Pode-se observar por RMN de  $^1\text{H}$  os sinais característicos do anel de cumarina: dois dupletos com constantes  $J = 9,6$  Hz a  $\delta$  8,53 (H-1) e 6,84 (H-2) ppm (Figura 14).

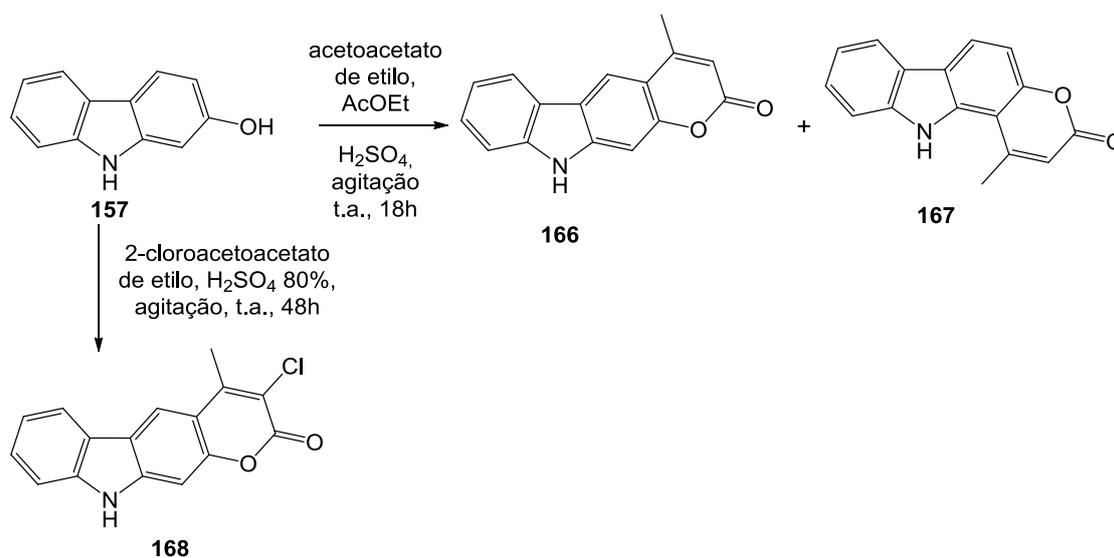


**Figura 14.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, acetona- $d_6$ ) do composto **165**.

A reação de Pechmann entre o 2-hidroxicarbazole e acetoacetato de etilo foi realizada em diversas condições experimentais (Tabela 10, entradas 1 – 5), as quais variaram essencialmente na força do ácido utilizado como catalisador. A formação de **166 – 168** ocorreu apenas nas condições das entradas 3 e 6 (Tabela 10) (Esquema 58), respectivamente.

**Tabela 10.** Tentativas realizadas de reação de Pechmann com 2-hidroxicarbazole

Entrada	Condições
1	acetoacetato de etilo, HCl 37 %, t.a., 36 h
2	acetoacetato de etilo, HCl 37 %, 50 °C, 6 h
3	acetoacetato de etilo, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , AcOEt, t.a., 18 h
4	acetoacetato de etilo, TiCl <sub>4</sub> , 5 min.
5	acetoacetato de etilo, TiCl <sub>4</sub> , DCM, 5 min.
6	2-cloroacetoacetato de etilo, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 80%, t.a., 48 h
7	ácido málico, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , t.a., 20 h
8	ácido málico, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 120 °C, 20 h
9	ácido málico, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , AcOEt, refluxo, 18 h
10	ácido málico, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 143 °C, 3 h
11	ácido málico, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 80 %, t.a., 24h
12	ácido málico, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 80 %, 40 °C, 20 h

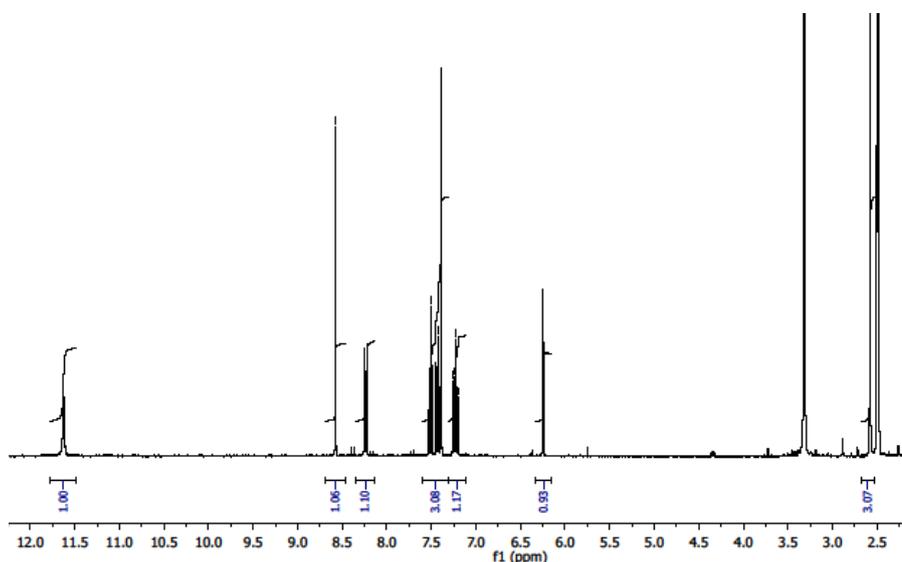
**Esquema 58.** Compostos obtidos por reação de Pechmann.

A presença do grupo hidroxilo no 2-hidroxicarbazole aumenta a nucleofilia das duas posições orto relativamente a este grupo, pelo que a ciclização pode originar dois produtos diferentes: o derivado linear e o derivado angular.

O composto **166** foi isolado na forma pura, com rendimento de 33 % após cromatografia em coluna (Exp. 4.10). O composto **167** foi apenas quantificado com base no espectro de RMN de <sup>1</sup>H do resíduo porque por cromatografia em coluna foi o

segundo material eluído, mas misturado com o **166**.

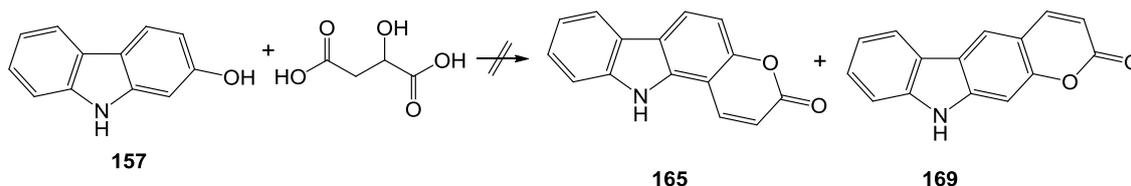
Pela análise do espectro de RMN de próton (Figura 15) do composto **166**, verificou-se a presença de dois singletos a 8,57 e 7,38 ppm que correspondem aos sinais dos H-5 e H-11, respetivamente. O próton H-3 aparece a 6,24 ppm como um singlete, assim como o sinal do grupo metilo a 2,57 ppm. Por RMN de  $^{13}\text{C}$  verifica-se o sinal do carbono carbonílico a 160,59 ppm. Para o composto **167**, no espectro de RMN de próton observa-se a presença do duplete com constante  $J = 7,8$  Hz a 7,71 ppm (H-6) e dois dupletos a 6,36 e 2,87 ppm, com constantes  $J = 0,9$  Hz, correspondentes aos prótons H-2 e do grupo metilo, respetivamente (Exp. 4.10).



**Figura 15.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **166**.

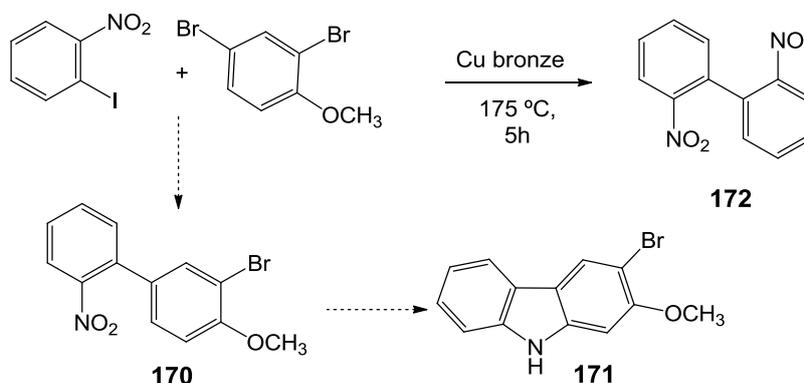
A reação de 2-hidroxicarbazole com 2-cloroacetoacetato de etilo, em condições de Pechmann, originou o composto **168** (Esquema 54, Tabela 10, entrada 6) com rendimento de 16 %. Pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  verificou-se a presença de dois singletos a 8,59 e 7,38 ppm dos prótons H-5 e H-11, respetivamente (Exp. 4.11).

Com vista à preparação de **165** e **169** fez-se reagir 2-hidroxicarbazole com ácido málico, sob condições de Pechmann (Esquema 59, Tabela 10, entradas 7 – 12). Tal como nas reações com 2-hidroxicarbazole também aqui não se verificou a formação do produto pretendido.



**Esquema 59.** Tentativa de reação de Pechmann com ácido málico.

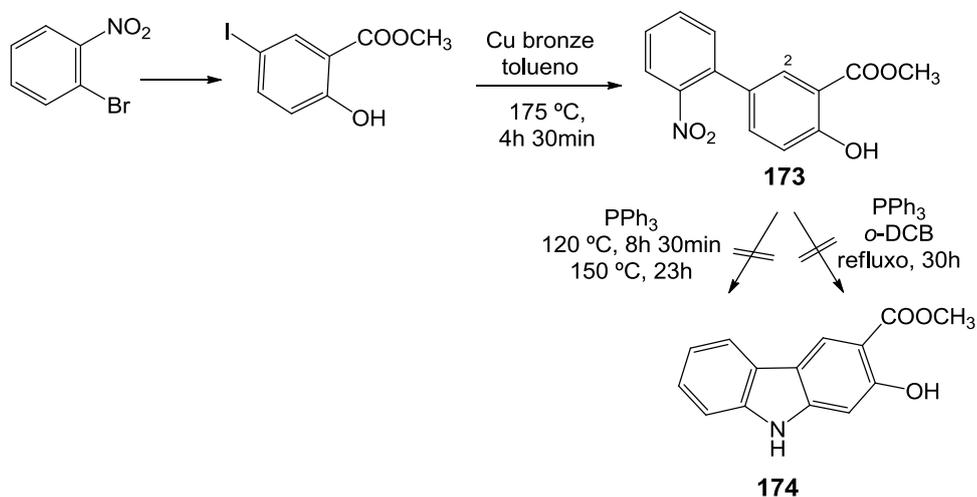
Perante as dificuldades em obter o composto formilado e com a intenção de preparar análogos de psoraleno derivados de 2-hidroxicarbazole, seguiu-se uma abordagem sintética de acoplamento de Ullmann com reagentes comerciais (Esquemas 60 e 61). O objetivo era a preparação dos derivados de 2-hidroxicarbazole **171** e **174**, a partir da reação de fecho dos seus respetivos precursores **170** e **173**, respetivamente. Para a reação entre o 1-iodo-2-nitrobenzeno e o 2,4-dibromoanisole, obteve-se o dímero **172** que, à semelhança do que foi discutido para o composto **131**, pode ser explicado com base na reação “clássica” de Ullmann. A estrutura proposta foi confirmada pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  que evidencia dois duplos dupletos a 8,21 (H-6 e H-6') e 7,30 (H-3 e H-3') ppm e dois duplos tripletos a 7,69 (H-5 e H-5') e 7,59 (H-4 e H-4) ppm (Exp. 4.12).



**Esquema 60.** Tentativa de síntese de **171** por acoplamento de Ullmann.

Na reação de acoplamento entre o 1-bromo-2-nitrobenzeno e o 5-iodossalicilato de metilo obteve-se o composto **173** com 24 % de rendimento e verificou-se por RMN de  $^1\text{H}$  o duplo duplete a 7,82 ppm com constante  $J = 2,0$  e  $0,4$  Hz

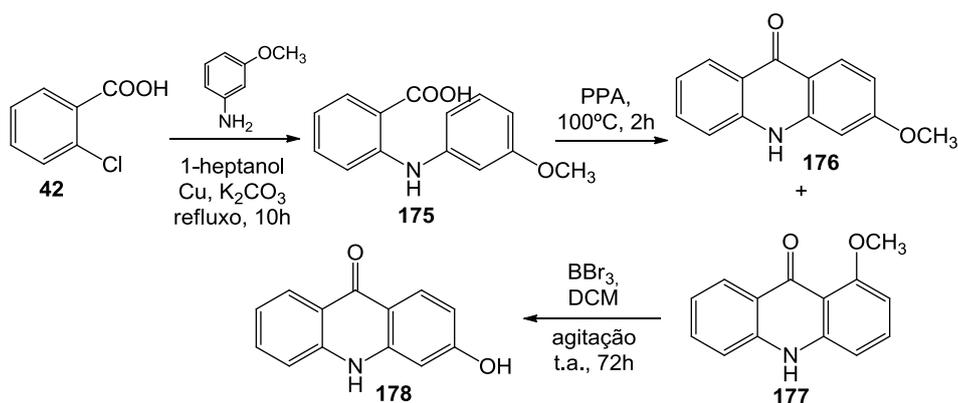
(H-2) e o singlete a 3,95 ppm do grupo metoxilo para além dos outros sinais observados (Exp. 4.13). Na reação entre o **173** e trifenilfosfina, não se obteve o composto pretendido **174**.



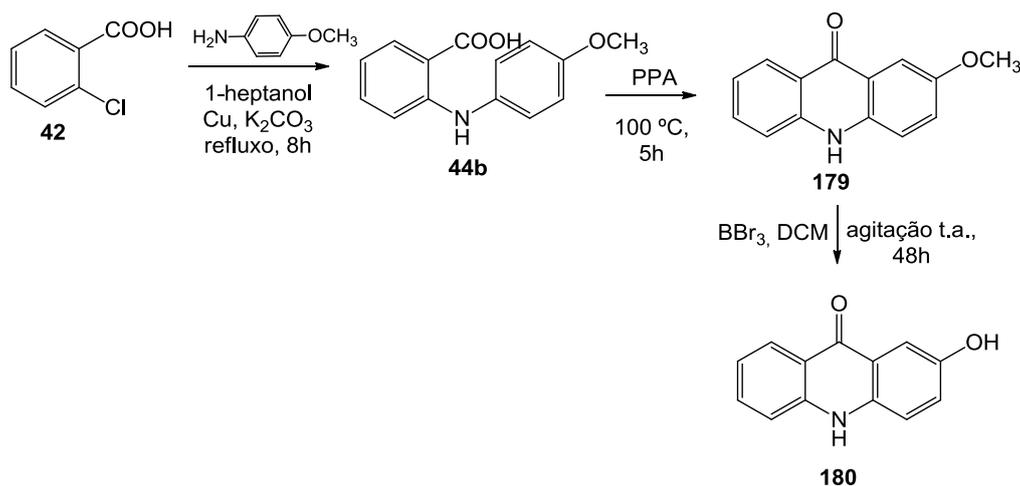
Esquema 61. Tentativa de síntese de **174** por acoplamento de Ullmann.

## 5. Preparação de análogos a partir de acridonas

A síntese a partir de acridonas foi estudada mediante a reação de acoplamento de Ullmann entre o ácido 2-clorobenzóico **42** e *meta*- ou *para*-anisidina apresentados, respetivamente, nos Esquemas 62 e 63.



Esquema 62. Síntese do composto **178**.



**Esquema 63.** Preparação do precursor **180** com núcleo de acridona.

O composto **175** foi obtido com rendimento de 40 %. Pode-se verificar pela análise do espectro de RMN de próton a presença dos singletos a 11,33 ppm do próton do grupo ácido carboxílico, a 9,70 ppm do grupo NH e a 3,83 ppm do grupo metoxilo (Exp. 5.1)

Os compostos **176** e **177** foram obtidos em mistura, numa proporção de 7:3, pela reação de ciclização do composto **175** na presença de ácido polifosfórico (PPA) e aquecimento a 100 °C. O composto **176** foi obtido após cromatografia em camada preparativa e a análise do espectro de RMN permitiu verificar duplete a 8,12 ppm com constante  $J = 8,7$  Hz (H-1) e os duplos dupletos a 6,88 ( $J = 2,4$  Hz, H-4) e a 6,84 ( $J = 9,0$  e 2,4 Hz, H-2) ppm (Exp. 5.2). Após cromatografia em coluna obteve-se o composto **177**. Pela análise do seu espectro de RMN de próton pode-se observar a presença dos dois duplos dupletos a 7,40 e 6,66 ppm dos prótons H-4 e H-2, respetivamente, e o triplete a 7,54 com constante de  $J = 8,4$  Hz correspondente ao H-3 (Exp. 5.2).

Apesar da separação dos compostos **176** e **177** ter sido possível pelos métodos cromatográficos utilizados, mostrou-se um processo demorado e complicado, uma vez que estes compostos isoméricos possuem uma polaridade e solubilidade muito próximas. Foram isolados em pequenas quantidades, mas suficientes para as suas caracterizações. Perante isto, decidiu-se utilizar a mistura de isómeros na reação de desmetilação (Exp. 5.3). Dada a proporção do isómero **176** ser superior a do **177** (7:3),

nesta reação só se conseguiu isolar o composto **178**, com o grupo hidroxilo na forma livre, pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  pode-se verificar a presença do singlete a 10,43 ppm correspondente a este grupo. As multiplicidades dos prótons 1, 2 e 4 permitem afirmar que se tem uma substituição em C-3.

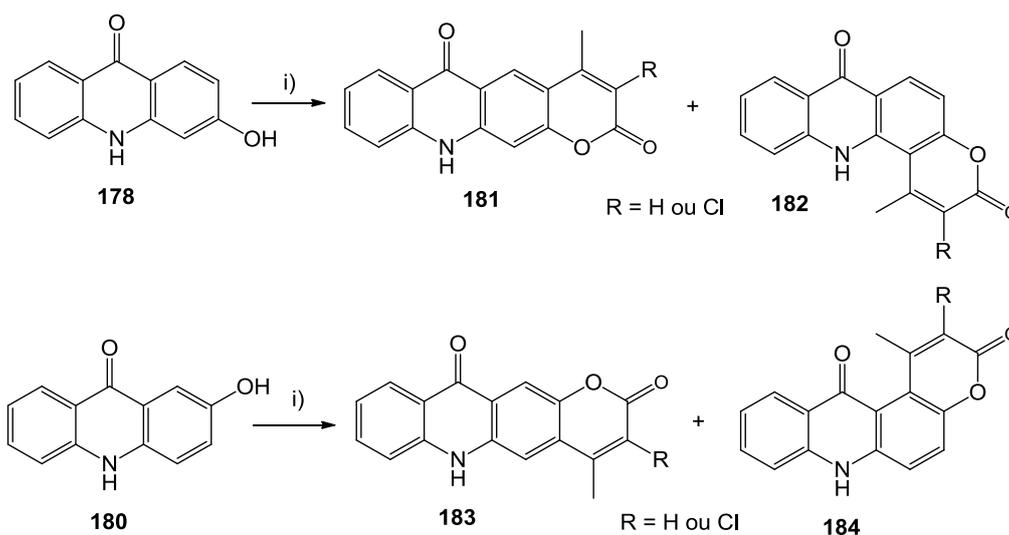
O composto **44b** foi obtido com rendimento de 25% após reação de acoplamento entre o ácido **42** e a *p*-anisidina, e a sua formação confirmada pela análise do espectro de RMN de próton com presença dos singletos a 9,12 ppm do NH e 3,84 ppm do grupo metoxilo (Exp. 5.4).

A reação de ciclização do composto **44b** deu-se na presença de ácido polifosfórico e obteve-se o composto **179** com 93% de rendimento. A análise do espectro de RMN de próton permitiu verificar a presença do duplete com constante  $J=2,7$  Hz a 7,61 ppm correspondente ao H-1 (Exp. 5.5).

A reação de desmetilação do composto **179**, com  $\text{BBr}_3$  em DCM 1M, originou **180** com rendimento quantitativo. Pelo espectro de RMN de  $^1\text{H}$  observa-se o sinal correspondente ao grupo hidroxilo como um singlete a 9,55 ppm (Exp. 5.6).

Tanto para o composto **178** como para o **180** não foi possível a determinação do ponto de fusão, uma vez que os compostos não fundiram e não se conseguiu observar a decomposição dos mesmos devido às suas cores muito escuras (cinzento).

Com vista à preparação dos análogos de psoraleno derivados de acridona do tipo **181** – **184** (Esquema 64), realizaram-se uma série de reações, por condições de Pechmann, com acetoacetato de etilo e 2-cloroacetoacetato de etilo (Tabela 11).



**Esquema 64.** Síntese de acridonas por reação de Pechmann: estruturas possíveis.

**Tabela 11.** Reação de Pechmann e tentativas de sínteses de acridonas **181 – 184**

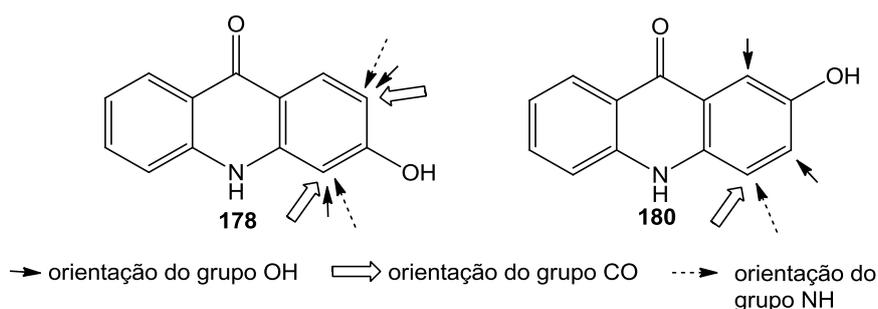
Entrada	Reagentes		Condições	Resultados
<b>1</b>	<b>178</b>	acetoacetato de etilo	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , t.a., 85h	não reagiu
<b>2</b>			35 °C, 10h	
<b>3</b>			50 °C, 10h	
<b>4</b>			refluxo, 10h	
<b>5</b>	<b>178</b>	2-cloroacetoacetato de etilo	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , t.a., 85h	não reagiu
<b>6</b>			8min, MW 400W	
<b>7</b>	<b>180</b>	acetoacetato de etilo	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , t.a., 48h	não reagiu
<b>8</b>			50 °C, 20h	
<b>9</b>			8 min, MW 400W	
<b>10</b>	<b>180</b>	2-cloroacetoacetato de etilo	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , t.a., 4 dias	não reagiu
<b>11</b>			8 min, MW 400W	

A síntese de análogos de psoraleno por reação dos precursores 2- e 3-hidroxilados da acridona não foi bem sucedida dado que não conduziu à formação do anel de piranona em nenhuma das tentativas realizadas. O grupo hidroxilo e o grupo NH são ativantes e orientadores *orto/para* em reações de substituição eletrofílica

aromática enquanto que o grupo carbonilo é desativante e orientador meta. Se se considerarem os efeitos de orientação e ativação/desativação destes substituintes nas acridonas **178** e **180** pode admitir-se o seguinte (Figura 16):

- em **178** o grupo hidroxilo da posição 3 orienta apenas para as posições *orto* (posições 2 e 4) dado que a posição *para* está ocupada com o grupo carbonilo. O grupo NH orienta também para as posições 2 (*para*) e 4 (*orto*) e, por sua vez, o grupo carbonilo orienta para as posições *meta* (2 e 4);

- para o composto **180** o grupo OH orienta apenas para as posições *orto* 1 e 3 porque a posição *para* está ocupada por NH, o qual por sua vez só pode orientar para a posição *orto* (4); o grupo carbonilo só pode orientar para a posição 4 porque a 2 está ocupada pelo hidroxilo.



**Figura 16.** Efeito de orientação dos substituintes das acridonas **178** e **180**.

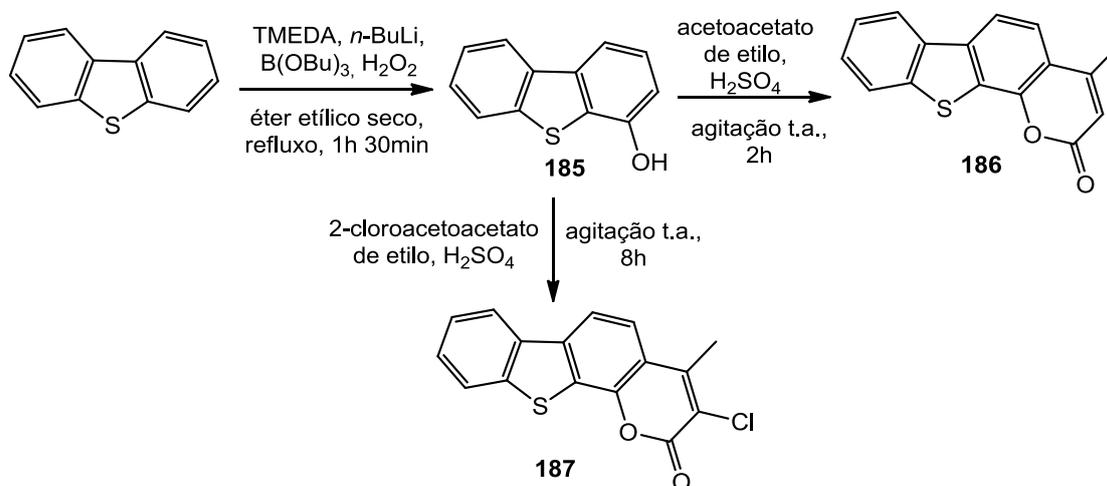
Face aos resultados obtidos, pode admitir-se que do efeito combinado destas ativações/desativações resulta uma predominância do efeito desativante do carbonilo. O efeito ativante do grupo NH é consequência do par de eletrões não ligantes do nitrogénio que neste caso está deslocalizado também pelo anel aromático não substituído da acridona o que reduz o seu efeito ativante nas posições pretendidas.

## 6. Preparação de análogos a partir de 2-dibenzotiofeno

A síntese de derivados do psoraleno com núcleo de enxofre foi estudada mediante a reação de Pechmann utilizando um precursor do tipo hidroxidibenzotiofeno.

O hidroxidibenzotiofeno **185** foi preparado pela reação de dibenzotiofeno (comercial) com TMEDA,  $B(OBu)_3$ ,  $n\text{-BuLi}$  na presença de  $H_2O_2$  30% em éter dietílico seco (Esquema 65) (Oliveira, 2002). Apesar de não se conseguir o espectro de RMN de  $^1H$  com uma boa resolução da multiplicidade dos sinais, foi possível identificar o sinal correspondente ao grupo hidroxilo a  $\delta$  9,95 ppm e também os outros sete sinais de prótons aromáticos ( $\delta$  7,02 - 8,28 ppm) que integram para um próton cada (Exp. 6.1).

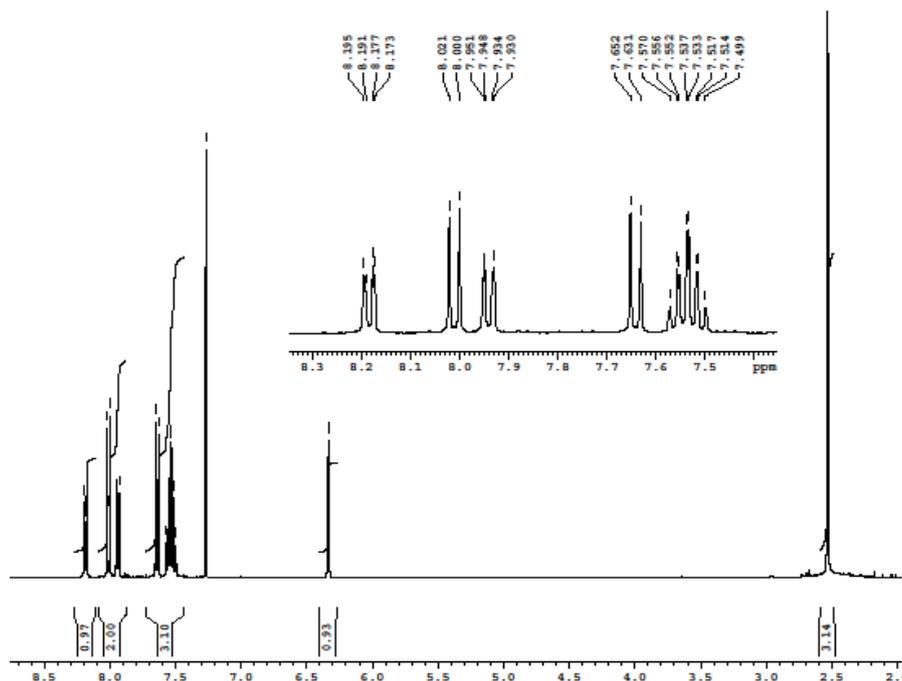
Por reação de Pechmann do 4-hidroxidibenzotiofeno **185** com acetoacetato de etilo e 2-cloroacetoacetato de etilo, na presença de  $H_2SO_4$  concentrado, obtiveram-se os compostos **186** e **187** com rendimentos de 21 e 53 %, respectivamente (Exps. 6.2 e 6.3).



**Esquema 65.** Preparação dos análogos de psoraleno **186** e **187** por reação de Pechmann.

Pela análise do espectro de RMN de  $^1H$  (Figura 17) do composto **186** observou-se a presença de dois dupletos a 8,05 e 7,68 ppm, com constante  $J = 8,4$  Hz, pertencente

aos prótons H-5 e H-6, respectivamente. O grupo metilo aparece como um duplete a 2,56 ppm e, portanto, o sinal do H-3 como um duplete aparente a 6,37 ppm (Exp. 6.2).



**Figura 17.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **186**.

No espectro de RMN de próton (Figura 18) do composto **187**, à semelhança do **186**, verifica-se a presença de dois dupletos correspondentes aos prótons H-5 e H-6 a 8,08 e 7,69 ppm com constantes  $J = 8,4$  e  $8,7$  Hz, respectivamente (Exp. 6.3).

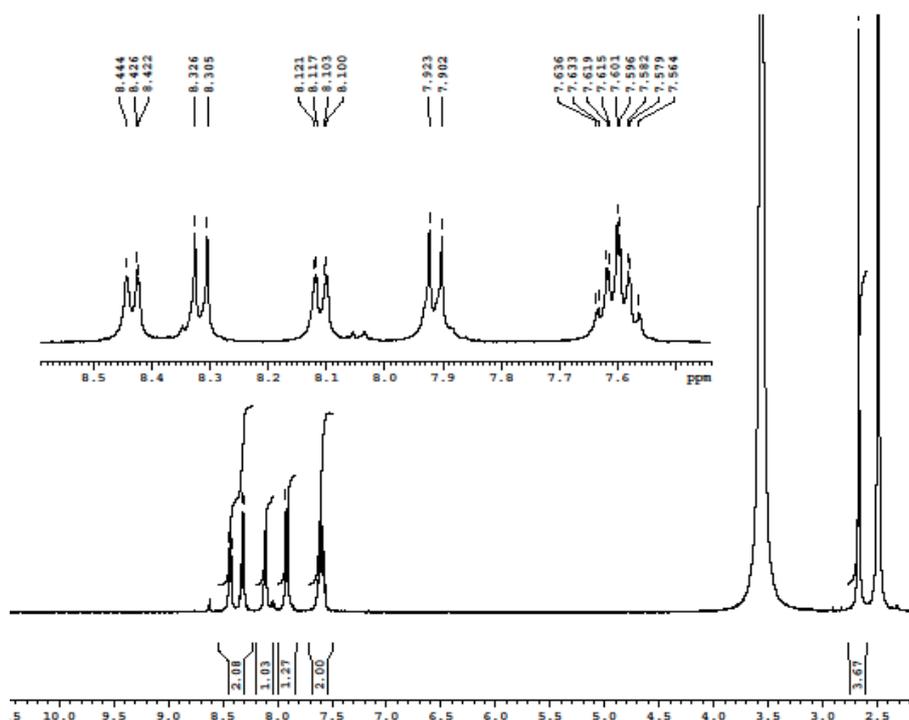
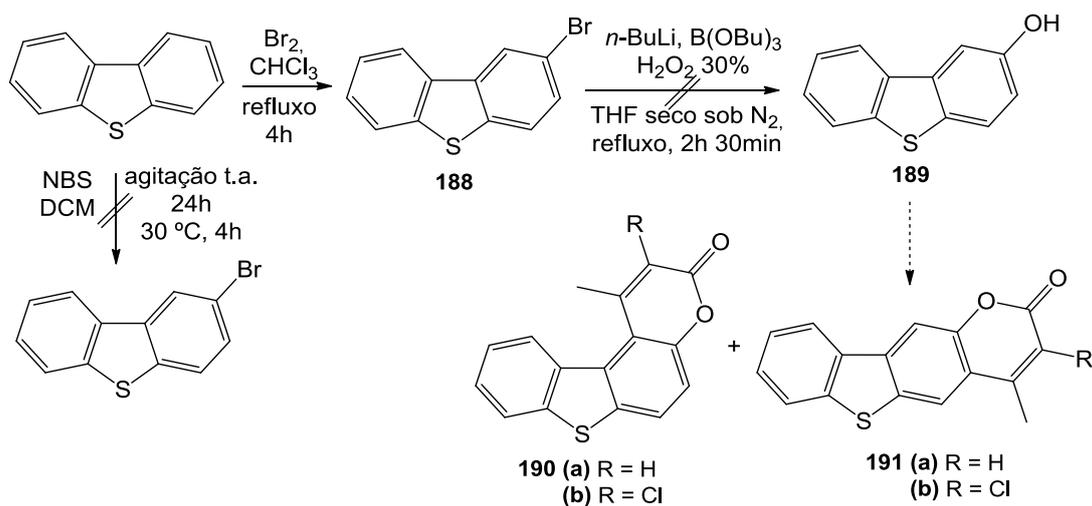


Figura 18. Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **187**.

Com vista à preparação dos compostos **190** e **191** realizou-se a reação para preparação do precursor hidroxilado **189** (Esquema 66).



Esquema 66. Síntese de 2-bromodibenzotiofeno.

A reação entre o dibenzotiofeno e NBS em DCM foi seguida por TLC (éter dietílico/éter de petróleo, 7:3), porém evidenciava apenas reagente de partida. Recorreu-se a outro método de bromação de compostos aromáticos, em que se fez reagir o dibenzotiofeno com Br<sub>2</sub> em CHCl<sub>3</sub>, sob refluxo, durante 4 h. Após cristalização de etanol a quente obteve-se o composto **188** com 44 % de rendimento. Pela análise do espectro de RMN de próton pode-se verificar um duplete a 8,28 ppm, com constante  $J = 2,1$  Hz (H-1) e dois duplos dupletos correspondentes aos H-4 e H-3 a 7,72 e 7,56 ppm, respetivamente (Esquema 67) (Exp. 6.4). Esta reação para a preparação do composto **189** não foi bem sucedida dado que se verificou por RMN de <sup>1</sup>H a formação do dibenzotiofeno por perda do átomo de bromo, sendo este espectro equivalente ao do dibenzotiofeno comercial.

## B. ESTUDOS BIOLÓGICOS

Alguns análogos de psoraleno cuja síntese se descreve nesta tese foram submetidos a ensaios de atividade antitumoral *in vitro* em três linhas celulares de cancro humano: MDA-MB231 (cancro da mama), HeLa (cancro de colo do útero) e TCC-SUP (cancro da bexiga), sendo avaliadas as suas capacidades de inibir a proliferação das mesmas.

Os resultados foram expressos em termos de IC<sub>50</sub> (inibição do crescimento de 50 %), o que corresponde à concentração do composto que inibe o crescimento em 50% da população clular.

Estes ensaios foram realizados no Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, em colaboração com a Doutora Lígia R. Rodrigues.

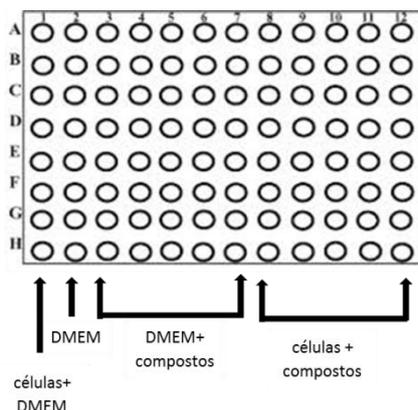
### **Metodologia**

Foram preparadas soluções dos compostos, a serem estudados, em DMSO e diluídos em meio de cultura, DMEM (DMEM completo + 10 % FBS + 1 % antibiótico) obtendo-se concentrações de 0,5, 1, 25, 50 e 75 µL. A concentração final de DMSO usada não interfere com o crescimento celular.

A viabilidade celular foi determinada usando o método MTS [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio]. O reagente comercial, CellTiter 96, foi usado de acordo com as instruções do fabricante (Promega, PROM G35800001, Lisboa, Portugal).

Para estes ensaios, utilizou-se uma placa com 96 poços (Figura 19). Os poços 1 e 2 serviram de controlos, sendo que o poço 1 foi preenchido com 50 µL de meio celular DMEM mais 50 µL de células nas concentrações em estudo e o poço 2 foi preenchido com 100 µL de DMEM. Os poços 3 a 7 foram preenchidos com DMEM mais as soluções dos compostos nas várias concentrações e os poços 8 a 12, com 50 µL de

células e 50  $\mu\text{L}$  das soluções dos compostos. Foram incubadas por um período de 48 h a 37  $^{\circ}\text{C}$ . A concentração celular utilizada para os ensaios foi  $1 \times 10^4$  células/mL.



**Figura 19.** Figura representativa de placa com 96 poços utilizada nos ensaios.

A seguir, adicionou-se 20  $\mu\text{L}$  de reagente CellTiter96 (MTS) em cada poço e deixaram-se na incubadora (37  $^{\circ}\text{C}$ , 5 % de  $\text{CO}_2$ ) durante 2 h. A viabilidade celular foi quantificada por registro da absorvância a 490 nm.

Para cada composto do ensaio e para cada linha celular gerou-se uma curva dose-resposta e determinou-se o valor de  $\text{IC}_{50}$ . Os resultados são expressos como percentagem de células viáveis comparada com o controlo e representam uma média de três culturas independentes, com quatro poços por concentração em cada estudo.

## Resultados

Para os análogos do psoraleno, **5** e **115 – 118** foram avaliadas as suas capacidades de inibição *in vitro* da proliferação de três linhas celulares de cancro humano (MDA-MB231, HeLa e TCC-SUP) e os resultados obtidos foram expressos em termos de  $\text{IC}_{50}$  (Tabela 12, entradas 1 – 5).

Para todos os compostos estudados foi observada uma elevada capacidade antiproliferativa, mesmo para a concentração mais baixa em estudo (0,5  $\mu\text{M}$ ). O análogo do psoraleno **5** mostrou ser o mais eficiente em todas as linhas celulares

estudadas.

O composto **115** apresentou a menor atividade para as células MDA MB-231 embora para as outras linhas celulares tenha apresentado valores de IC<sub>50</sub> da mesma ordem de grandeza que os compostos **5** e **116**.

Em geral, os compostos **117** e **118** evidenciaram uma menor capacidade de inibição da proliferação das linhas celulares em estudo, quando comparados com os demais análogos em estudo.

**Tabela 12.** Efeito antiproliferativo dos compostos estudados em três linhas celulares de cancro humano

Entrada	Composto	Inibição das linhas celulares do cancro IC <sub>50</sub> (μM)		
		MDA-MB231	HeLa	TCC-SUP
1	115	0,467 ± 0,023	0,005 ± 0,001	0,031 ± 0,007
2	5	0,083 ± 0,009	0,002 ± 0,000	0,012 ± 0,001
3	116	0,097 ± 0,011	0,003 ± 0,000	0,050 ± 0,011
4	117	0,106 ± 0,008	0,053 ± 0,012	0,159 ± 0,023
5	118	0,205 ± 0,013	0,043 ± 0,008	0,122 ± 0,014
6	119	0,060 ± 0,002	0,035 ± 0,001	0,041 ± 0,007
7	6	0,413 ± 0,031	0,037 ± 0,003	0,030 ± 0,004
8	164	0,265 ± 0,027	0,047 ± 0,008	0,018 ± 0,003
9	165	0,230 ± 0,019	0,046 ± 0,006	0,027 ± 0,009
10	166	0,078 ± 0,009	0,042 ± 0,005	0,066 ± 0,005
11	120	0,082 ± 0,003	*	0,243 ± 0,027
12	168	0,421 ± 0,031	*	0,149 ± 0,013
13	186	0,049 ± 0,002	*	0,253 ± 0,022
14	187	0,460 ± 0,038	*	0,311 ± 0,031

\*para estes compostos não foi possível a realização dos estudos nas células HeLa devido a inviabilidade para prosseguir com os ensaios.

Para os análogos do furano (Tabela 12, entradas 6 – 10) o composto **119** apresentou a maior atividade antiproliferativa nas células MDA-MB-231 e HeLa, enquanto que para as células TCC-SUP o composto **164** foi o que evidenciou o efeito mais pronunciado.

Para as células MDA-MB231 o análogo **6** foi o que se evidenciou, como sendo aquele que possui a menor capacidade de inibição. Verificou-se que o composto **166** é o análogo com maior capacidade antiproliferativa contra as células MDA-MB231.

Para os compostos **120**, **168**, **186** e **187** não possível realizar os estudos biológicos com a linha celular HeLa, dado que estas não se encontravam em boas condições para os ensaios (Tabela 12, entradas 11 – 14). Para as células MDA MB-231 o composto **120** apresentou a maior capacidade antiproliferativa quando comparado com os outros análogos. Para o composto **168** verificou-se uma maior atividade antiproliferativa contra as células TCC-SUP.

Todos os compostos estudados demonstraram possuir uma significativa capacidade de inibição da proliferação destas três linhas celulares.

### C. MODELAÇÃO MOLECULAR

Os estudos de modelação molecular não constituíam um objetivo deste projeto. Contudo, e dado que os psoralenos (nomeadamente xantotoxina e bergapteno) têm demonstrado que são inibidores potentes das várias enzimas da superfamília do citocromo P450, podendo também contribuir para a morte das células cancerígenas e para o aumento da sensibilidade à quimioterapia, entendeu-se que alguns dos novos análogos descritos nesta tese seriam bons candidatos para atuar como potenciais alvos desta enzima.

Estes estudos de modelação molecular efetuados para alguns dos análogos do psoraleno descritos neste trabalho foram realizados no REQUIMTE, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, pelo Doutor Nuno M.F.S.A Cerqueira.

#### ***Metodologia***

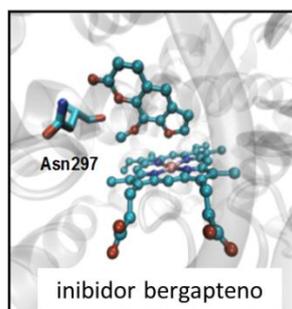
Todos os compostos foram estudados usando o programa de atracagem molecular *AutoDock* e o *plug-in vsLab* (Cerqueira, 2011). A estrutura do recetor foi construída a partir do ficheiro cristalográfico do citocromo P450 2A6 (CYP2A6), com o código PDB 1Z10. As estruturas dos ligandos foram criadas com o programa GaussView, protonadas a pH fisiológico e as suas geometrias otimizadas com o programa gaussian09, usando o método Hartree-Fock e a base de funções 6-31G(d).

No processo de atracagem molecular foi utilizado o algoritmo genético Lamarckian (LGA). As variáveis do algoritmo genético relativas ao número de soluções geradas, avaliações de energia e tamanho da população foram definidas com os seguintes valores: 370.000, 1.500.000, e 50, respetivamente. As cargas dos átomos dos ligandos foram calibradas com cargas do tipo Kollman e os átomos do recetor com as cargas do tipo Gasteiger.

As soluções finais provenientes do processo de atracagem molecular foram escolhidas tendo em conta os critérios de interação de energia fornecidas pelo *software*.

### Resultados

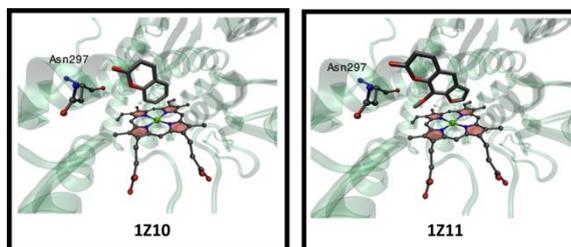
O ficheiro co-cristalizado do citocromo CYP2A6 com o inibidor bergapteno revela que o centro ativo da enzima é muito estreito e que as moléculas encaixam junto ao ferro do cofator com o qual podem interagir diretamente. O centro ativo é formado por um grupo de fenilalaninas (Phe107, Phe111, Phe108, Phe209 e Phe480) e por um único resíduo polar, a asparagine Asn297 (Figura 20). Este último resíduo é muito importante no centro ativo da CYP2A6, pois influencia a orientação das moléculas sendo por isso responsável pelo reconhecimento dos substratos. Os dados experimentais disponíveis revelam isto mesmo, em particular as mutações deste resíduo que mostram inequivocamente alterações drásticas na cinética da reação que é catalisada por esta enzima.



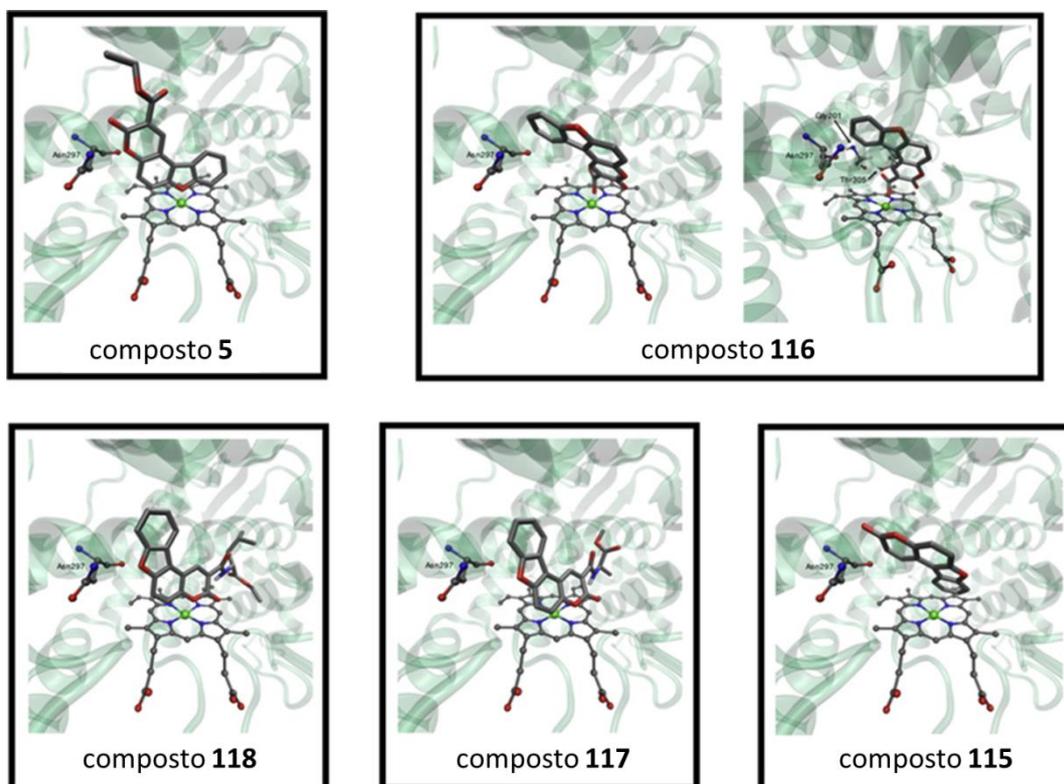
**Figura 20.** Estrutura de raio-X da CYP2A6 com o inibidor bergapteno.

Todas as cinco novas benzofurocumarinas inibiram significativamente a proliferação de três linhas celulares de cancro humano que se assume estarem principalmente ligadas à inibição de CYP2A6. Os estudos de modelação molecular realizados para os compostos **5**, **115** – **118** demonstram que o local de ligação destes compostos são muitos semelhantes para aqueles apresentados na Figura 21

(estruturas cristalográficas da CYP2A6 com substratos ligados ao centro ativo da enzima), enquanto que os outros diferem significativamente (Figura 22).



**Figura 21.** Estruturas cristalográficas da CYP2A6 com substratos cumarina e xantotoxina ligados ao centro ativo da enzima.



**Figura 22.** Resultado dos estudos de modelação molecular dos compostos 5 e 115 – 118.

Os estudos de modelação molecular revelaram que todos estes compostos interatuam com o ferro do cofator heme de CYP2A6 mediante um átomo de oxigénio

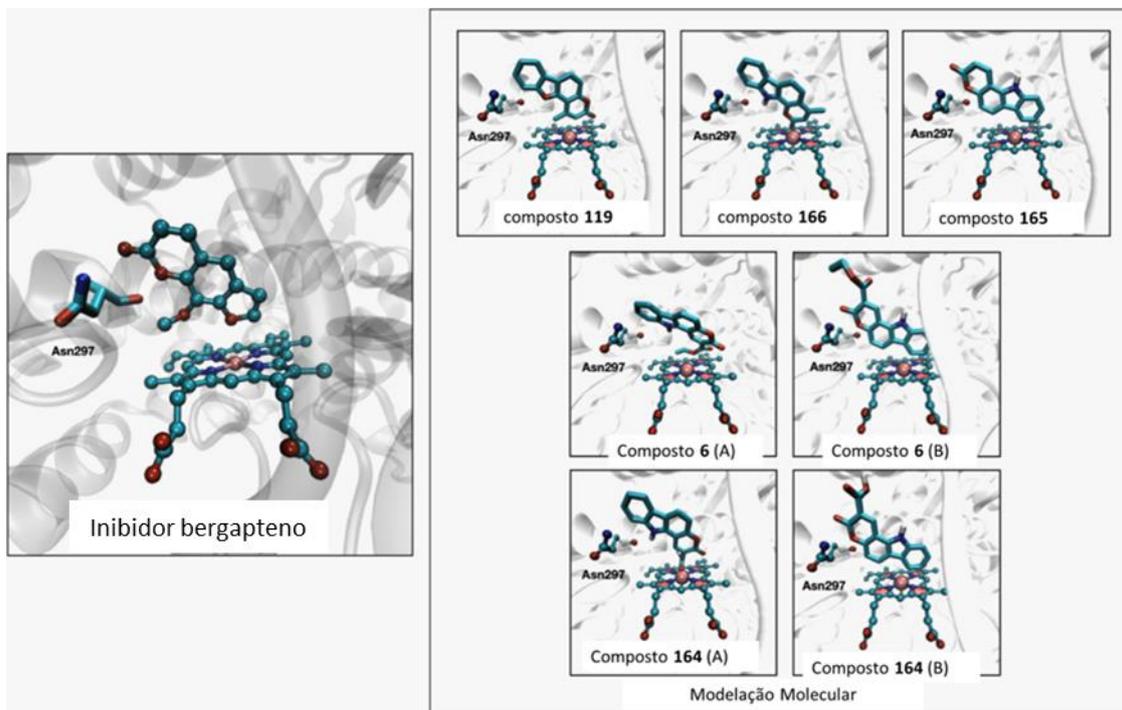
do seu esqueleto estrutural, à exceção do composto **115**. Acredita-se que esta interação é irreversível e bloqueia a atividade do centro ativo para reações posteriores, devendo ser esta uma das principais causas que previne a proliferação das células tumorais.

De todos os compostos estudados, os compostos **5** e **116** evidenciaram-se os mais eficazes contra todas as linhas celulares estudadas com um  $IC_{50}$  de 2 nM para a linha celular HeLa. Estes compostos têm esqueletos idênticos diferindo apenas no grupo que está ligado à posição 2 do psoraleno. O composto **116** tem um grupo carboxílico nesta posição e interatua muito próximo do ferro através deste grupo. Nesta situação não pode ser excluída uma quelação forte com o metal. O composto **5** tem um grupo éster nesta posição e liga-se de modo muito semelhante ao que foi observado para o potente inibidor xantotoxina o qual mostra uma interação próxima entre o oxigénio do anel de furano com o ferro do grupo heme.

Os compostos **117** e **118** podem também interatuar com o ferro do grupo heme com um átomo de oxigénio, mas devido ao efeito estereoquímico dos grupos volumosos ligados à posição 2 do psoraleno, é o oxigénio do anel de lactona que interatua diretamente com este centro. Contudo, esta interação é mais fraca quando comparada com as interações observadas para os compostos **5** e **116** devido a proximidade do grupo carbonilo que retira densidade eletrónica a este átomo. Este efeito é talvez a principal causa da menor atividade biológica destes compostos contra todas as linhas celulares. Destes resultados pode concluir-se que devido ao tamanho reduzido do centro ativo, a presença de grupos volumosos na posição 2 do anel de cumarina tende a diminuir a atividade biológica dos compostos, como consequência do alinhamento não apropriado do psoraleno no centro ativo.

O composto **115** é o único que não contém qualquer grupo ligado à posição 2 do anel de psoraleno e não tem um átomo de oxigénio direcionado para o ferro. Mesmo assim, este composto apresenta bons resultados em duas linhas celulares: HeLa e TCC-SUP.

Os resultados de modelação molecular realizados neste estudo mostraram que todos os compostos estudados se ligam na mesma região da proteína próxima do heme e de modo análogo ao que foi observado com o inibidor bergapteno na estrutura de raio-X com o código 1Z11 (Figura 23).



**Figura 23.** Resultado dos estudos de modelação molecular dos compostos **6, 119, 164 – 166.**

Os estudos de modelação molecular com os compostos **119, 165** e **166** apenas indicam um local de ligação, enquanto que, os compostos **6** e **164** indicam sistematicamente dois locais de ligação análogos. Este efeito parece estar relacionado com a presença dos grupos éster volumosos ligados a C-3 do anel de cumarina o qual influencia o modo de ligação destes compostos. No entanto, o composto **165** que apresenta o mesmo esqueleto estrutural que **6** e **164**, embora sem qualquer substituição em C-3, tem apenas uma posição de ligação. Os locais de ligação dos compostos, **6** (solução B), **164** (solução B) e **165** são os mais próximos, dos observados, com o bergapteno no qual o grupo carbonilo interatua de modo muito próximo com o resíduo Asn297 e o carbono C-9 está direcionado para o íão ferro do cofator heme. A

outra posição de ligação dos compostos **6** e **164** (5A e 6A) tem o grupo NH<sub>2</sub> direcionado para Asn297 e os grupos ligados ao carbono C-3 interatuam muito proximamente com o íão ferro. Considerando o efeito antiproliferativo nas linhas celulares de cancro humano, os compostos **6** e **164** são na maior parte dos casos piores inibidores relativamente a outros compostos estudados, com a exceção das linhas celulares TCC-SUP. O composto **165** apresenta sistematicamente resultados melhores ou comparáveis na maior parte das linhas celulares quando comparado com os compostos **6** e **164**. Isto sugere que nos últimos casos a pior capacidade de inibição pode estar relacionada com a falta de acessibilidade ao centro ativo, devido a presença de grupos volumosos ligados a unidade cumarina e/ou ao modo de ligação competitivo que foi observado.

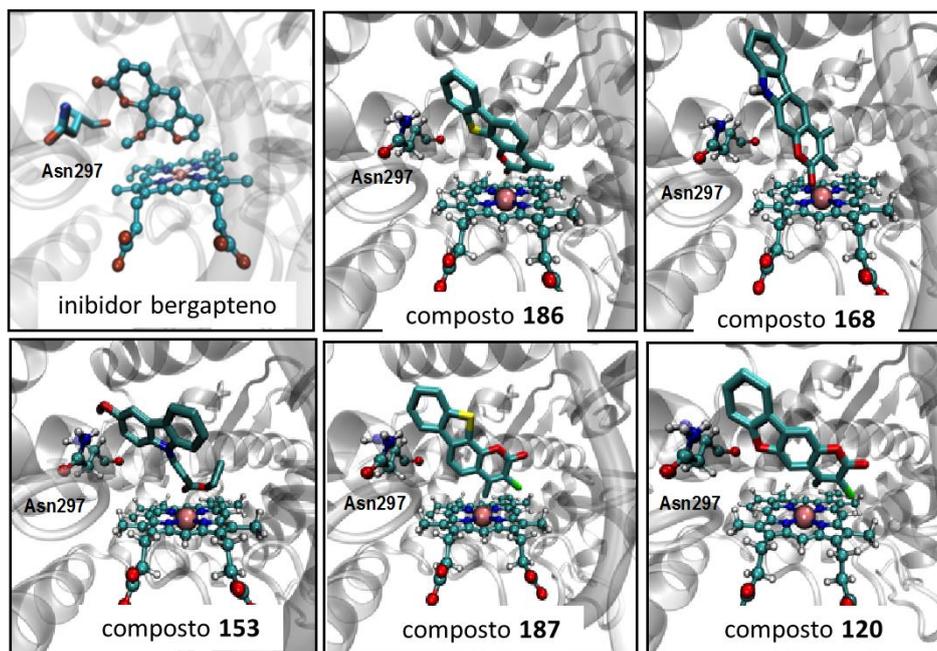
Os compostos **119** e **166** têm o mesmo esqueleto estrutural diferindo apenas na natureza do sistema que está ligado à cumarina, um benzofurano ou um indole, respetivamente. Os resultados de *docking* apenas revelaram um local de ligação sendo muito semelhante ao que foi observado com uma das soluções dos compostos **6** e **164**, aquela em que o grupo carbonilo da unidade cumarina interatua muito proximamente com o íão ferro do cofator heme.

Contudo, os resultados do efeito antiproliferativo dos compostos lineares **119** e **166** são melhores do que os dos compostos **6**, **164** e **165**. Isto pode estar relacionado com a melhor acessibilidade destes compostos para o centro ativo relativamente aos outros. A única exceção refere-se às linhas celulares TCC-SUP para as quais os compostos angulares **6**, **164** e **165** deram melhores resultados. É importante notar que no caso das células TCC-SUP os valores IC<sub>50</sub> obtidos foram muito baixos e análogos aos dos compostos **6**, **164** e **165** pelo que as diferenças observadas não têm significado estatístico, isto é, todos os compostos têm um desempenho igualmente bom na inibição da proliferação das células cancerígenas.

Os resultados indicam também que, com exceção das células TCC-SUP, o composto **119** apresenta melhor atividade de inibição do que o composto **166**. Tomando em consideração a semelhança entre as suas estruturas, estes resultados sugerem que a presença do anel de pirrole em vez do anel de furano fundido com a

unidade cumarina tende a diminuir a eficiência de inibição destes compostos. Este resultado é concordante com o de todos os outros derivados pirrole que apresentaram propriedades de inibição menores na maior parte das linhas celulares estudadas.

Os estudos de modelação molecular realizados para os compostos em estudo, **120**, **153**, **168**, **186** e **187**, demonstraram que todos estes os compostos ligam-se na mesma região da proximidade do cofator heme (Figura 24).



**Figura 24.** Resultado dos estudos de modelação molecular dos compostos **120**, **153**, **168** e **187**.

À semelhança daquilo que já foi referido nos estudos anteriores, o grupo carbonilo dos compostos **168** e **186** liga-se de forma muito próxima ao ião ferro do grupo heme. Os grupos indole e tiofeno apontam para o grupo amino da Asn297.

Os compostos **186** e **187** são muito semelhantes entre si, sendo a única diferença a presença do átomo de cloro na posição 3 da cumarina. Curiosamente, o grupo tiofeno do composto **187** não interage com o grupo amino de Asn297, nem o grupo carbonilo interage diretamente com o ião de ferro do co-fator heme. O grupo

metilo interage com o íão ferro (2,2 Å) e o grupo tiofeno aponta na direção oposta de Asp297.

A mesma tendência é observada no composto **120**. A presença do átomo de cloro ligado à posição 3 da cumarina transformar o grupo metilo perto do íão de ferro do cofator, em vez do grupo carbonilo da cumarina. Neste caso, o benzofurano está em contato muito próximo de Asp297. Isso só é possível porque a nova orientação da molécula não impede este tipo de interação, algo que não foi observado no composto **187**.

## ***Capítulo III - Parte Experimental***

## Procedimentos Gerais

**Solventes:** Todos os solventes utilizados apresentavam um grau de pureza p.a, pelo que não foi necessária purificação prévia. O éter de petróleo refere-se a fracção com ponto de ebulição 40 - 60 °C.

**Reagentes:** Os reagentes comerciais foram utilizados sem purificação.

**Cromatografia:** Os materiais utilizados nas técnicas de cromatografia eram da marca Macherey-Nagel.

Cromatografia em camada fina: Esta técnica foi essencialmente utilizada para controlar a evolução das reações. Desta forma foram utilizadas placas de sílica com espessura de 0,25mm e com indicador de fluorescência para revelação por luz ultravioleta (sílica gel 60 F<sub>254</sub>, Ref: 812008).

Cromatografia em coluna: Nesta técnica utilizou-se sílica gel 60 com tamanho de partícula 230-400 mesh (Ref: 815381).

Cromatografia do tipo “flash” seca: Nesta técnica utilizou-se sílica gel 60 com um tamanho de partícula inferior a 0,063 mm (Ref: 815400).

### Instrumentação:

Evaporações: As evaporações foram realizadas num evaporador rotativo Büchi RE 111 sob pressão reduzida.

Revelação das placas de TLC: As placas de TLC utilizadas para seguir as reações foram reveladas numa câmara CN-6 de luz UV ( $\lambda_{\text{max}}$  254 nm).

Pontos de fusão: Os pontos de fusão foram determinados num aparelho da Gallenkamp e não foram corrigidos.

Espectroscopia de RMN: Os espetros de RMN foram realizados num espectrómetro Varian Unity Plus de 300 MHz (75,4 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) e num BRUKER Avance III 400MHz (100,6 MHz para  $^{13}\text{C}$ ), usando os sinais dos solventes residuais ( $\text{CHCl}_3$  do  $\text{CDCl}_3$ , DMSO do  $\text{DMSO}-d_6$  e da acetona da  $\text{acetona}-d_6$ ) como referências internas. A atribuição dos sinais foi confirmada pelas técnicas de HMQC e HMBC, dupla ressonância.

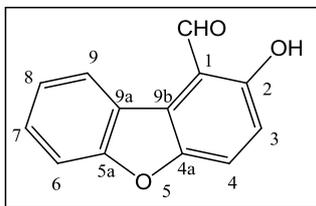
Microanálise: A composição elementar dos compostos foi determinada no equipamento LECO CHNS 932.

Espetrometria de massa: Os espetros de massa de alta resolução (EI-TOF ou ESI) foram obtidos num espectrómetro Waters-Micromass Autospec M ou num espectrómetro Bruker FTMS APEXIII, respetivamente.

## Descrição Experimental

### 1. Análogos do psoraleno a partir de 2-hidroxidibenzofurano

#### 1.1 Preparação de 2-hidroxidibenzofurano-1-carbaldeído (67)



Uma solução de 2-hidroxidibenzofurano (0,509 g; 2,76 mmol) em água (50 mL) e NaOH (1,078 g; 27 mmol) foi aquecida a 60 °C e adicionou-se  $\text{CHCl}_3$  (3 x 0,22 mL), com agitação, durante 30 minutos. Aqueceu-se a mistura a 90 °C durante 30 min. Após arrefecer, acidificou-se a mistura reacional com HCl 10% e extraiu-se com éter dietílico. A fase orgânica foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e evaporada à secura, obtendo-se um óleo castanho que se purificou por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 95:5). Obteve-se o composto **67** como um sólido amarelo com rendimento de 19 % (0,113 g; 0,53 mmol).

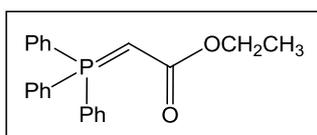
p. f.: 125 – 126 °C (lit. 135 – 138 °C (Oliveira, 2003)).

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 10,85 (s, 1H, OH); 10,70 (s, 1H, CHO); 8,85 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-9); 7,91 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-4); 7,68 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-6); 7,56 (t,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-7); 7,37 (t,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-8); 7,17 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-3) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (75,4 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 190,94 (CHO); 159,21 (C-4a); 156,85 (C-5a); 149,22 (C-2); 128,64 (C-7); 126,02 (C-9); 123,04 (C-9a); 122,68 (C-8); 121,81 (C-9b); 119,77 (C-4); 116,86 (C-3 e C-1); 111,53 (C-6) ppm.

Análise elementar: C, 73,05; H, 3,85 %.  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_3$  requer C, 73,58; H, 3,80 %.

## 1.2 Preparação de carbetoximetilenotrifetilfosforano (**114**)

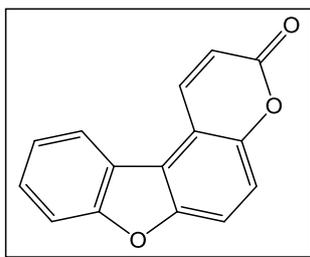


A uma solução de trifetilfosfina (10,50 g; 40 mmol) em tolueno (20 mL) adicionou-se bromoacetato de etilo (4,50 mL; 40 mmol), gota a gota, e sob agitação vigorosa. A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante 10 min., seguida de agitação à t.a. durante 2 h. O sólido formado foi filtrado, lavado com tolueno frio e éter de petróleo. A seguir, foi dissolvido em água (240 mL) e extraído com éter dietílico (3 x 80 mL). Arrefeceu-se a fase aquosa em gelo e adicionou-se NaOH 2M (15 mL). Precipitou um sólido branco, lavou-se com água fria e secou-se. Obteve-se o composto **114** com 82 % de rendimento (11,43 g; 32,82 mmol).

p. f.: 125 – 127 °C.

$\delta_H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 7,61 – 7,55 (m, 15H, 3 x Ph); 4,19 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); 3,30 (s, 1H, CH); 1,04 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

## 1.3 Preparação de 3H-benzofuro[3,2-f]cromen-3-ona (**115**)



A uma solução do composto **67** (0,147 g; 0,69 mmol) em *N,N*-dietilanilina (4,1 mL) adicionou-se carbetoximetilenotrifetilfosforano **114** (0,334 g; 0,97 mmol) e a mistura foi refluxada durante 22 h. Após arrefecer, adicionou-se água (15 mL) e extraiu-se com éter dietílico (4 x 10 mL). A fase orgânica foi lavada com HCl 10 % (3 x 10 mL), seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à securo. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 95:5), tendo-se

obtido o composto **115** como um sólido amarelo com rendimento de 16 % (0,025 g; 0,11 mmol).

p. f.: 159 – 161 °C.

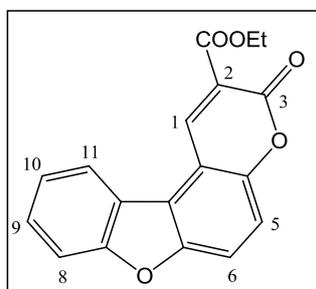
$\delta_H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 8,50 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H, H-1); 8,11 (ddd,  $J = 7,7$ ; 1,2 e 0,8 Hz, 1H, H-11); 7,74 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H, H-6); 7,67 (dd,  $J = 8,4$  e 0,8 Hz, 1H, H-8); 7,57 (dt,  $J = 1,2$  e 7,6 Hz, 1H, H-9); 7,48 – 7,41 (m, 2H, H-10 e H-5); 6,65 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H, H-2) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ): 160,53 (C-3); 157,12 (C-7a); 152,22 (C-6a); 150,82 (C-4a); 139,43 (C-1); 128,08 (C-9); 123,46 (C-10); 123,23 (C-11a); 121,84 (C-11); 119,91 (C-11b); 117,29 (C-2); 115,98 (C-5); 115,26 (C-6); 113,39 (C-11c); 112,47 (C-8) ppm.

Análise elementar: C, 75,14; H, 3,90 %.  $C_{15}H_8O_3 \cdot \frac{1}{4}H_2O$  requer C, 74,84; H, 3,56 %.

HRMS (ESI-TOF)  $C_{15}H_8O_3$ : Calc. 236,0473. Obt. 236,0479.

#### 1.4 Preparação de 3-oxo-3H-benzofuro[3,2-f]cromeno-2-carboxilato de etilo (**5**)



A uma solução de malonato de dietilo (0,14 mL; 0,92 mmol) em etanol (5 mL) fez-se a adição de piperidina (0,2 mL) e ácido acético (0,2 mL). Adicionou-se a mistura resultante a uma solução do composto **67** (0,105 g; 0,50 mmol) em etanol (45 mL). A mistura reacional foi refluxada durante 6 h e, após arrefecer à temperatura ambiente, foi mantida a  $-20$  °C durante a noite. O precipitado formado foi separado por filtração e seco, tendo sido identificado como o composto **5**, na forma de um sólido amarelo com rendimento de 54 % (0,083 g; 0,27 mmol).

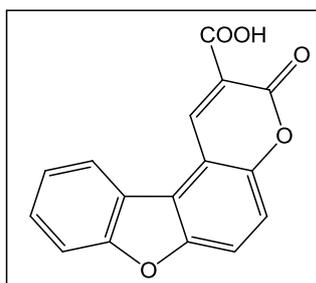
p. f.: 153 – 154 °C (lit. 167 – 169 °C (Oliveira, 2003)).

$\delta_H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9,13 (s, 1H, H-1); 8,32 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-11); 8,07 (d,  $J = 9,2$  Hz, 1H, H-6); 7,79 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-8); 7,63 (t,  $J = 7,2$  Hz, 1H, H-9); 7,58 (d,  $J = 9,2$  Hz, 1H, H-5); 7,52 (t,  $J = 7,2$  Hz, 1H, H-10); 4,34 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); 1,35 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, DMSO- $d_6$ ): 162,77 (CO-ester); 156,49 (C-7a); 155,88 (C-3); 151,49 (C-4a); 150,80 (C-6a); 143,22 (C-1); 128,81 (C-9); 123,92 (C-10); 122,65 (C-11); 122,17 (C-11a); 120,21 (C-11b); 118,82 (C-2 ou C-11c); 117,80 (C-6); 115,78 (C-5); 112,32 (C-8); 111,93 (C-2 ou C-11c); 61,53 (CH<sub>2</sub>); 14,08 (CH<sub>3</sub>) ppm.

Análise elementar: C, 70,50; H, 3,72 %. C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> requer C, 70,13; H, 3,92 %.

### 1.5 Preparação de 3-oxo-3H-benzofuro[3,2-f]cromeno-2-ácido carboxílico (116)



Uma mistura do composto **5** (0,083 g; 0,27 mmol) em etanol (20 mL) e solução aquosa de NaOH 1M (0,28 mL) foi agitada a 46 °C, durante 3 h. O etanol foi evaporado, adicionou-se água destilada e a mistura foi acidificada a pH = 1 com solução aquosa de HCl 1M. O sólido amarelo precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **116**, que foi obtido com um rendimento de 67 % (0,051 g; 0,18 mmol).

p. f.: 258 – 261 °C.

$\delta_H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9,05 (s, 1H, H-1); 8,24 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-11); 8,01 (d,  $J = 9,2$  Hz, 1H, H-6); 7,74 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-8); 7,60 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-9); 7,51 (d,  $J = 9,2$  Hz,

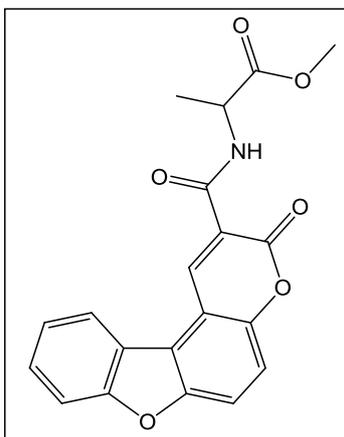
1H, H-5); 7,47 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-10) ppm. OH não foi observado.

$\delta_c$  (100,6 MHz, DMSO- $d_6$ ): 164,05 (COOH); 156,45 (C-7a ou C-4a); 156,41 (C-7a ou C-4a); 151,43 (C-3 ou C-6a); 151,42 (C-3 ou C-6a); 142,90 (C-1); 128,75 (C-9); 123,96 (C-10); 122,60 (C-11); 122,18 (C-11a); 120,12 (C-11b); 119,33 (C-2); 117,60 (C-6); 115,73 (C-5); 112,29 (C-8); 112,06 (C-11c) ppm.

Análise elementar: C, 67,49; H, 3,01 %.  $C_{16}H_8O_5 \cdot \frac{1}{4} H_2O$  requer C, 67,43; H, 2,98 %.

HRMS (ESI-TOF)  $C_{16}H_8O_5$ : Calc. 280,0372. Obt. 280,0383.

### 1.6 Preparação de 2-(3-oxo-3H-benzofuro[3,2-f]cromeno-2-carboxamido)propanoato de metilo (117)



A uma solução do composto **116** (0,087 g; 0,311 mmol) em DMF (3 mL) adicionou-se HOBt (0,048 g; 0,311 mmol) e a mistura foi arrefecida a 0 °C. Em seguida, adicionaram-se DCC (0,077 g; 0,34 mmol), trietilamina (0,044 mL; 0,311 mmol) e cloridrato do éster metílico da alanina (0,044 g; 0,311 mmol) e a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 48 h. A diciclo-hexilureia, formada como produto secundário, foi separada por filtração e ao filtrado adicionou-se água (25 mL). O sólido amarelo precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **117**, obtido com rendimento de 93 % (0,104 g; 0,29 mmol).

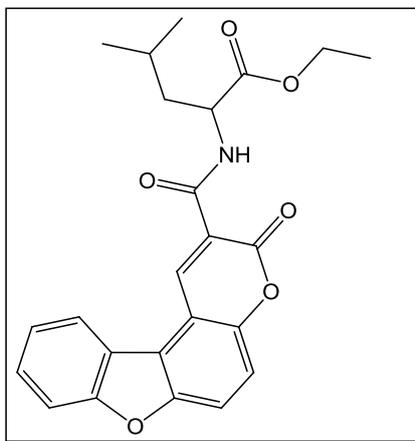
p. f.: 140 – 143 °C.

$\delta_H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ): 9,61 (s, 1H, H-1); 9,35 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H, NH); 8,29 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-11); 7,86 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-6); 7,67 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-8); 7,60 (t,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-9); 7,50 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-5); 7,48 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-10); 4,80 (qui,  $J = 7,2$  Hz, 1H,  $\alpha$ -CH); 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 1,61 (d,  $J = 7,5$  Hz, 3H,  $\beta$ -CH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (75,4 MHz,  $CDCl_3$ ): 172,77 (C-éster); 161,26 (C-3 ou C-amida); 161,00 (C-3 ou C-amida); 157,31 (C-7a); 152,34 (C-6a); 151,47 (C-4a); 144,54 (C-1); 128,72 (C-9); 123,86 (C-10); 122,77 (C-11a); 122,48 (C-11); 121,31 (C-11b); 117,93 (C-11c); 117,79 (C-6); 115,34 (C-5); 113,11 (C-2); 112,44 (C-8); 52,56 (CH<sub>3</sub> éster); 48,84 (C- $\alpha$ ); 17,95 (C- $\beta$ ) ppm.

HRMS (ESI-TOF) C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub>: Calc. 366,08994. Obt. 366,09720 (MH<sup>+</sup>).

### 1.7 Preparação de 4-metil-2-(3-oxo-3H-benzofuro[3,2-f]cromeno-2-carboxamido) pentanoato de etilo (118)



A uma solução do composto **116** (0,044 g; 0,157 mmol) em DMF (2 mL) adicionou-se HOBT (0,0276 g; 0,16 mmol) e a mistura foi arrefecida a 0 °C. Em seguida, adicionaram-se DCC (0,0351 g; 0,166 mmol), trietilamina (0,022 mL; 0,157 mmol) e cloridrato do éster etílico da leucina (0,031 g; 0,157 mmol) e a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 72 h. A diciclo-hexilureia, formada como produto

secundário, foi separada por filtração e ao filtrado adicionou-se água (10 mL). O sólido amarelo precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **118** com rendimento de 38 % (0,025 g; 0,060 mmol).

p. f.: 153 – 155 °C.

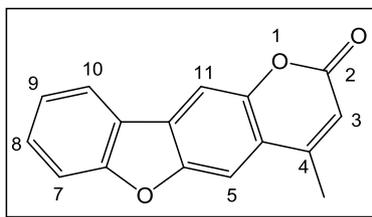
$\delta_H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 9,62 (s, 1H, H-1); 9,25 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H, NH); 8,30 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H, H-11); 7,85 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H, H-6); 7,67 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-8); 7,59 (t,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-9); 7,49 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-5); 7,46 (t,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-10); 4,85 – 4,76 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 4,26 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H,  $CH_2$ ); 1,83 – 1,77 (m, 3H,  $\beta$ - $CH_2$  e  $\gamma$ -CH); 1,33 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H,  $CH_3$ ); 1,02 (d,  $J = 6,9$  Hz, 6H, 2 x  $CH_3$ ) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ): 172,27 (C-éster); 161,46 (C-3 ou C-amida); 161,06 (C-3 ou C-amida); 157,33 (C-7a); 152,35 (C-6a); 151,47 (C-4a); 144,52 (C-1); 128,70 (C-9); 123,84 (C-10); 122,80 (C-11a); 122,51 (C-11); 121,32 (C-11b); 118,06 (C-11c); 117,73 (C-6); 115,32 (C-5); 113,16 (C-2); 112,43 (C-8); 61,37 ( $CH_2$  éster); 51,74 (C- $\alpha$ ); 41,15 (C- $\beta$ ); 25,05 (C- $\gamma$ ); 22,88 ( $CH_3$ -leucina); 21,87 ( $CH_3$ -leucina); 14,19 ( $CH_3$  éster) ppm.

Análise elementar: C, 68,45; H, 5,88; N, 3,34 %.  $C_{24}H_{23}NO_6$  requer C, 68,40; H, 5,50; N, 3,32 %.

HRMS (ESI-TOF)  $C_{24}H_{23}NO_6$ : Calc. 422,15981. Obt. 422,15971.

### 1.8 Preparação de 4-metilo-2H-benzofuro[2,3-g]cromeno-2-ona (119)



Adicionou-se uma mistura de 2-hidroxidibenzofurano **62** (0,38 g; 2,0 mmol) e acetoacetato de etilo (0,48 mL; 4 mmol) a  $H_2SO_4$  concentrado (3 mL) arrefecido. Agitou-se a mistura à temperatura ambiente durante 24 h e, a seguir, aqueceu-se a 40

- 50°C durante 3 h. Após arrefecer, a mistura foi vertida sobre gelo e o sólido bege formado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **119** com rendimento de 27 % (0,135 g; 0,54 mmol).

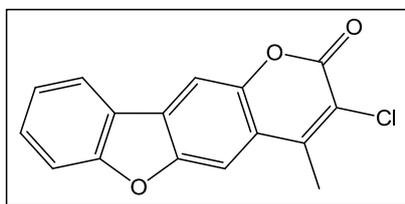
p. f.: 247 – 249 °C (lit. 200 °C (Farag, 2009)).

$\delta_H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8,25 (dd,  $J = 8,1$  e  $1,2$  Hz, 1H, H-10); 8,22 (s, 1H, H-11); 8,10 (s, 1H, H-5); 7,75 (dd,  $J = 9,3$  e  $0,9$  Hz, 1H, H-7); 7,62 (dt,  $J = 1,2$  e  $7,5$  Hz, 1H, H-8); 7,45 (dt,  $J = 1,2$  e  $8,1$  Hz, 1H, H-9); 6,47 (s, 1H, H-3); 2,53 (s, 1H, CH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, DMSO- $d_6$ ): 159,91 (C=O); 157,10 (C-6a); 153,36 (C-4); 151,73 (C-5a); 149,35 (C-11a); 129,42 (C-8); 126,98 (C-10b); 123,50 (C-9); 122,82 (C-10a); 122,38 (C-10); 119,09 (C-4a); 114,29 (C-3); 111,96 (C-7); 108,38 (C-11); 107,13 (C-5); 18,57 (CH<sub>3</sub>) ppm.

HRMS (ESI-TOF) C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>: Calc. 250,0638. Obt. 250,0630.

### 1.9 Preparação de 3-cloro-4-metil-2H-benzofuro[2,3-g]cromen-2-ona (**120**)



A uma mistura de 2-hidroxidibenzofurano **62** (1,02 g; 5,43 mmol) e 2-cloroacetoacetato de etilo (1,14 mL; 8,19 mmol) adicionou-se H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 80 % (2,47 mL) e agitou-se a mistura à temperatura ambiente durante 4 dias. Após este período, a mistura foi vertida sobre gelo, o sólido castanho precipitado foi separado por filtração e recristalizado de etanol a quente. Obteve-se um sólido bege que foi identificado como sendo o composto **120**, com rendimento de 14 % (0,217 g; 0,16 mmol).

p. f.: 261 – 262 °C.

$\delta_H$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,02 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H, H-10); 7,89 (s, 1H, H-11); 7,79 (s, 1H, H-5);

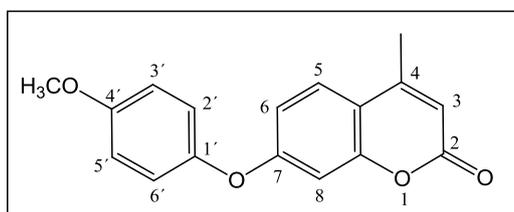
7,65 – 7,53 (m, 2H, H-7 e H-8); 7,42 (dt,  $J = 1,8$  e  $6,9$  Hz, 1H, H-9); 2,70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_c$  (75,4 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 157,88 (C=O e C-6a); 152,72 (C-5a); 147,58 (C-4 e C-11a); 129,34 (C-8); 127,73 (C-10b); 123,41 (C-9); 123,04 (C-10a); 121,73 (C-10); 120,91 (C-3); 118,86 (C-4a); 112,03 (C-7); 108,25 (C-11); 106,56 (C-5); 16,66 (CH<sub>3</sub>) ppm.

HRMS (ESI-TOF) C<sub>16</sub>H<sub>9</sub>ClO<sub>3</sub>: Calc. 284,02402. Obt. 285,0250 (MH<sup>+</sup>).

## 2. Análogos do psoraleno a partir de 7-hidroxi-4-metilcumarina

### 2.1 Preparação de 7-(4'-metoxifenoxi)-4-metil-2H-cromen-2-ona (123)



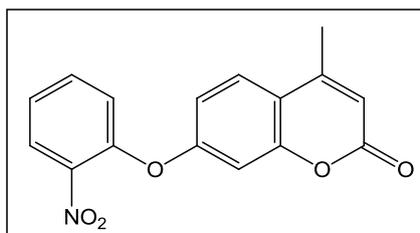
Refluxou-se durante 1 h e 30 min uma mistura formada por 7-hidroxi-4-metilcumarina **122** (1,762 g; 10 mmol), 4-bromoanisol (4 mL; 40 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,4 g; 10 mmol) e Cu<sub>2</sub>O (2,15 g; 15 mmol). Após este período, adicionou-se DCM (60 mL) e lavou-se com água destilada (2 x 30 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à secua obtendo-se um óleo castanho que foi purificado por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/AcOEt, 100 → 85 %). Recristalizou-se o sólido obtido de AcOEt e éter de petróleo e o sólido amarelo precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **123** com rendimento de 35 % (0,993 g; 3,52 mmol).

p. f.: 122 – 124 °C.

$\delta_H$  (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7,51 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H, H-5); 7,03 (d,  $J = 9,2$  Hz, 2H, H-2' e H-6'); 6,94 (d,  $J = 9,2$  Hz, 2H, H-3' e H-5'); 6,90 (dd,  $J = 8,8$  e  $2,4$  Hz, 1H, H-6); 6,79 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-8); 6,16 (d ap,  $J = 1,2$  Hz, 1H, H-3); 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2,40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_c$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ): 162,06 (C-7); 160,97 (C-2); 156,90 (C-4'); 155,02 (C-8a); 152,26 (C-4); 148,22 (C-1'); 125,70 (C-5); 121,69 (C-3'e C-6'); 115,16 (C-2'e C-5'); 114,67 (C-4a); 113,52 (C-6); 112,61 (C-3); 104,39 (C-8); 55,68 ( $OCH_3$ ); 18,68 ( $CH_3$ ) ppm.

## 2.2 Preparação de 7-(2'-nitrofenoxi)-4-metil-2H-cromen-2-ona (124)

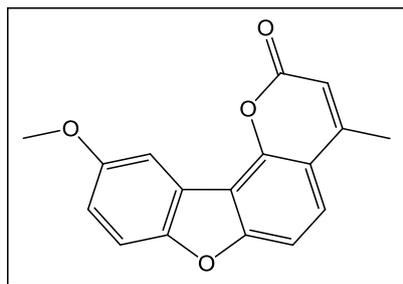


Aqueceu-se sob refluxo uma mistura de 7-hidroxi-4-metilcumarina **122** (0,705 g; 4,0 mmol), 2-bromonitrobenzeno (2,43 g; 12,0 mmol),  $K_2CO_3$  (0,583 g; 4,2 mmol) e  $Cu_2O$  (0,858 g; 6,0 mmol) durante 30 min. Após este período, juntou-se DCM (60 mL) e lavou-se com água destilada (3 x 20 mL). A fase orgânica foi seca ( $MgSO_4$ ), filtrada e evaporada à securo obtendo-se um óleo castanho. Por adição de éter de petróleo e, após 2h a  $-20\text{ }^\circ C$ , ocorreu a precipitação de um sólido bege que foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **124** com 71 % de rendimento (0,849 g; 2,85 mmol).

$\delta_H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ): 8,05 (dd,  $J = 8,4$  e  $1,5$  Hz, 1H, H-3'); 7,65 (dt,  $J = 1,8$  e  $8,0$  Hz, 1H, H-5'); 7,59 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-6'); 7,39 (dt,  $J = 1,5$  e  $8,0$  Hz, 1H, H-4'); 7,23 (dd,  $J = 8,1$  e  $1,2$  Hz, 1H, H-5); 6,98 (dd,  $J = 8,4$  e  $2,7$  Hz, 1H, H-6); 6,86 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-8); 6,22 (d ap,  $J = 1,2$  Hz, 1H, H-3); 2,43 (d,  $J = 1,2$  Hz, 3H,  $CH_3$ ) ppm.

$\delta_c$  (75,4 MHz,  $CDCl_3$ ): 160,53 (C-2); 159,70 (C-7); 154,89 (C-8a); 152,01 (C-4); 148,25 (C-2'); 142,30 (C-1'); 134,66 (C-5'); 126,14 (C-5); 125,47 (C-4'); 123,05 (C-6'); 116,03 (C-4a); 114,11 (C-6); 113,52 (C-3); 105,29 (C-8); 18,71 ( $CH_3$ ) ppm.

### 2.3 Preparação de 10-metoxi-4-metil-2H-benzofuro[2,3-*h*]cromen-2-ona (128)



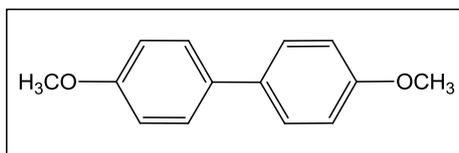
A uma solução do composto **123** (0,851 g; 3,00 mmol) em ácido acético (25 mL) adicionaram-se  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$  (1,80 g; 9,9 mmol),  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (0,338 g; 1,50 mmol) e aqueceu-se sob refluxo durante 46 h. Adicionou-se água destilada (50 mL), AcOEt (25 mL) e as fases foram separadas. A fase orgânica foi lavada com água (2 x 10 mL), seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e evaporada à secura. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico), tendo-se obtido o composto **128** como um óleo amarelo com 55 % de rendimento.

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,86 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-11); 7,67 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H, H-8); 7,50 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H, H-5); 7,47 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H, H-6); 7,10 (dd,  $J = 8,8$  e 2,8 Hz, 1H, H-9); 6,32 (s, 1H, H-3); 3,97 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 2,54 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

## 3. Análogos do psoraleno a partir de 3-hidroxicarbazole

### 3.1 Por reações de acoplamento

#### 3.1.1 Preparação de 4,4'-dimetoxi-1,1'-bifenilo (131)



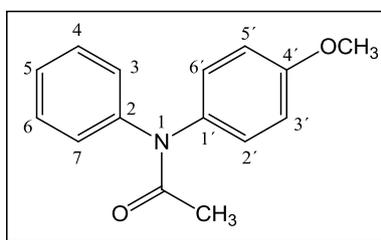
Uma mistura de anilina (1,79 mL; 19,7 mmol), 4-bromoanisole (2,00 mL; 15,7 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1,13 g; 8,16 mmol) e  $\text{Cu}_2\text{O}$  (3,52 g; 24,6 mmol) foi refluxada durante 4 h 30 min. Após arrefecer, adicionou-se  $\text{CHCl}_3$  (30 mL) e o precipitado foi separado por filtração.

Lavou-se o filtrado com NaOH 1M (5 x 20 mL), secou-se (MgSO<sub>4</sub>) e evaporou-se à secura. Obteve-se um óleo castanho que foi identificado como sendo o composto **131** com 74 % (2,51 g; 0,12 mmol).

$\delta_H$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7,38 (d,  $J = 6,9$  Hz, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6'); 6,79 (d,  $J = 6,6$  Hz, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5'); 3,79 (s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>) ppm.

## 3.2 A partir de acetanilida

### 3.2.1 Preparação de *N*-(4'-metoxifenil)-*N*-fenilacetamida (**138**)

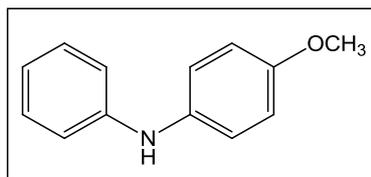


Aqueceu-se uma mistura de acetanilida (4,00 g; 30 mmol), 4-bromoanisol (7,4 mL; 60 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3,43 g; 24 mmol) e Cu<sub>2</sub>O (12,9 g; 90 mmol) a 180 °C durante 72 h. Após arrefecimento, adicionou-se AcOEt (60 mL) e deixou-se sob agitação durante a noite. Filtrou-se sobre Celite e o filtrado foi evaporado à secura. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em “flash” seca (eluente: AcOEt/éter de petróleo, 1:1) e obteve-se um óleo negro que foi identificado como sendo o composto **138** com rendimento de 54 % (3,77 g; 16 mmol).

$\delta_H$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,37 – 7,31 (m, 7H, H-2', H-6', H-3, H-4, H-5, H-6 e H-7); 6,99 – 6,98 (m, 2H, H-3' e H-5'); 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 1,97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, acetona-*d*<sub>6</sub>): *inter alia* 170,08 (C=O amida); 137,32 (C-1'); 115,29 (C-3' e C-5'); 55,70 (OCH<sub>3</sub>); 23,71 (CH<sub>3</sub>) ppm.

### 3.2.2 Preparação de 4'-metoxi-N-fenilnilina (132)



Uma mistura do composto **138** (1,173 g; 4,86 mmol) e KOH (1,373 g; 24,48 mmol) em H<sub>2</sub>O:EtOH (1:5) (7,50 mL) ficou em refluxo durante 7 h. Após arrefecer, verteu-se a mistura sobre gelo (30 g) tendo ocorrido a precipitação de um sólido castanho que foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **132**, obtido com rendimento de 92 % (0,886 g; 4,45 mmol).

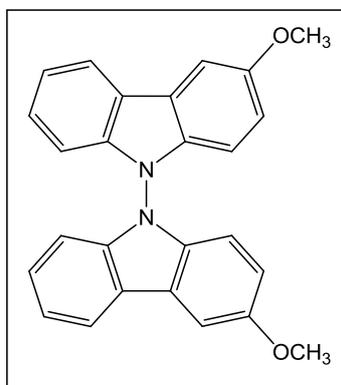
p. f.: 88 – 89 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,79 (s, 1H, NH); 7,14 (dt, *J* = 1,6 e 7,2 Hz, 2H, H-3 e H-5); 7,02 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-2' e H-6'); 6,89 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, H-2 e H-6); 6,84 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H-3' e H-5'); 6,68 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H, H-4); 3,69 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 153,84 (C-4'); 145,18 (C-1); 136,15 (C-1'); 129, 13 (C-3 e C-5); 120,43 (C-2' e C-6'); 118,29 (C-4); 114,82 (C-2 e C-6); 114,56 (C-3' e C-5'); 55,22 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

Análise elementar: C, 77,36; H, 6,23; N, 6,96 %. C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO.0,1H<sub>2</sub>O requer C, 77,66; H, 6,63, N, 6,97 %.

### 3.2.3 Preparação de 3,3'-dimetoxi-9,9'-bicarbazole (139)



A uma solução do composto **132** (0,500 g; 2,5 mmol) em ácido acético (30 mL), sob atmosfera de azoto, adicionou-se Pd(OAc)<sub>2</sub> (1,12 g; 5,0 mmol) e refluxou-se a mistura reacional durante 2h 30 min. Evaporou-se o ácido acético, o resíduo obtido foi dissolvido em DCM (50 mL) e lavou-se com água destilada (3 x 20 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à securo. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em “flash” seca (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 4:1) e obteve-se um sólido que foi identificado como sendo o composto **139** com rendimento de 40 % (0,397 g; 1,00 mmol).

p.f.: 83 – 86 °C.

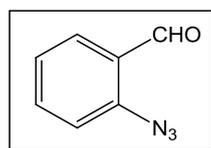
$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,15 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-5 ou H-5'); 8,13 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-5 ou H-5'); 7,73 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-4 ou H-4'); 7,68 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-4 ou H-4'); 7,43 – 7,24 (m, 8H, H-1 ou H-1', H-2 ou H-2', H-6, H-6', H-7, H-7', H-8, H-8'); 4,00 e 3,95 (2s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 154,51; 154,18; 140,99; 140,01; 135,46; 130,83; 126,50; 126,20; 125,77; 123,98; 123,43; 123,31; 121,20; 120,49; 120,43; 119,81; 119,53; 115,11; 113,28; 111,08; 110,87; 110,23; 103,52; 103,47; 56,30; 56,13 ppm.

HRMS (ESI-TOF) C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Calc. 392,15248. Obt. 393,15975 (MH<sup>+</sup>).

### 3.3 A partir de nitroindoles

#### 3.3.1 Preparação de 2-azidobenzaldeído (141)



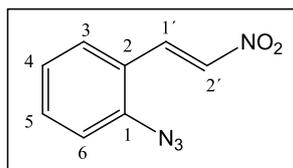
A uma solução de 2-nitrobenzaldeído (6,00 g; 40 mmol) em DMF (60 mL) adicionou-se azida de sódio (7,80 g; 120 mmol) e agitou-se a 60 °C durante 72 h. Após este período, o sólido formado foi separado por filtração. Ao filtrado adicionou-se água destilada

(100 mL) e fez-se extração com éter dietílico (6 x 50 mL). A fase orgânica foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e evaporada à secura. Obteve-se um óleo amarelo que foi purificado por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo). O produto **141** foi obtido na forma de um óleo amarelo claro com rendimento de 71 % (4,13 g; 28 mmol).

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 10,36 (s, 1H, CHO); 7,89 (dd,  $J = 8,0$  e  $2,0$  Hz, 1H, H-6); 7,62 (dt,  $J = 1,6$  e  $7,2$  Hz, 1H, H-4); 7,28 (dd,  $J = 8,0$  e  $1,2$  Hz, 1H, H-3); 7,24 (dt,  $J = 2,0$  e  $7,6$  Hz, 1H, H-5) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 188,56 (CHO); 142,91 (C-1); 135,40 (C-4); 129,00 (C-6); 126,95 (C-2); 124,88 (C-5); 119,0 (C-3) ppm.

### 3.3.2 Preparação de 1-azido-2-(2'-nitrovinil)benzeno (**142**)



A uma solução em etanol (35 mL) do composto **141** (4,13 g; 28 mmol) e nitrometano (2,30 mL; 42 mmol), arrefecida a  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , adicionou-se durante 15 minutos uma solução de KOH (2,50 g; 45 mmol) em MeOH: $\text{H}_2\text{O}$  (2:1) (7,50 mL). A mistura reacional ficou em agitação durante 10 h a  $0\text{ }^\circ\text{C}$ . Após adição de uma solução aquosa de HCl 37 % (25,0 mL), manteve-se esta mistura no frio ( $5\text{ }^\circ\text{C}$ ) durante a noite. O sólido castanho precipitado foi separado por filtração e identificado como sendo o composto **142**, que foi obtido com rendimento de 64 % (3,39 g; 18 mmol).

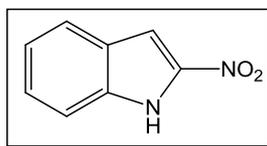
p. f.:  $> 350\text{ }^\circ\text{C}$ .

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 8,24 (d,  $J = 13,8$  Hz, 1H, H-1'); 8,12 (d,  $J = 13,5$  Hz, 1H, H-2'); 7,92 (dd, 1H,  $J = 8,1$  e  $1,2$  Hz, 1H, H-3); 7,60 (td, 1H,  $J = 8,4$  e  $1,5$  Hz, 1H, H-4); 7,45 (dd,  $J = 8,1$  e  $1,2$  Hz, 1H, H-5); 7,26 (td,  $J = 7,8$  e  $1,2$  Hz, 1H, H-6) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (75,4 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 140,02 (C-2); 138,89 (C-1'); 133,62 (C-4); 133,03 (C-2');

130,10 (C-3); 125,28 (C-6); 120,92 (C-1); 119,77 (C-5) ppm.

### 3.3.3 Preparação de 2-nitro-1H-indole (143)



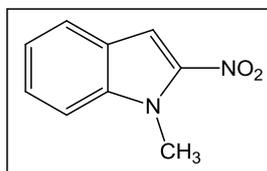
Dissolveu-se o composto **142** (0,958 g; 5,4 mmol) em *p*-xileno (25 mL) e a mistura foi deixada em refluxo durante 36 h. Por remoção do *p*-xileno a pressão reduzida, formou-se um óleo negro. Após purificação por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 95:5) obteve-se um sólido amarelo que foi identificado como sendo o composto **143** com 28 % de rendimento (0,248 g; 1,53 mmol).

p. f.: 89 – 90 °C (lit. 116 – 118 °C (Pelkey, 1997)).

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 9,29 (sl, 1H, NH); 7,75 (dd,  $J = 8,0$  e  $0,8$  Hz, 1H, H-4 ou H-7); 7,50 – 7,45 (m, 3H, H-3 e H-4 ou H-7 e H-5 ou H-6); 7,44 (sl, 1H, H-3); 7,26 (dd,  $J = 6,0$  e  $1,2$  Hz, 1H, H-5 ou H-6) ppm.

$\delta_{\text{C}}$ : 134,98 (C-3a ou C-7a); 128,20 (C-5, C-6 ou C-7); 125,85 (C-3a ou C-7a); 123,79 (C-4); 122,47 (C-5, C-6 ou C-7); 112,38 (C-5, C-6 ou C-7); 104,20 (C-3) ppm.

### 3.3.4 Preparação de 1-metil-2-nitro-1H-indole (144)



A uma solução do composto **143** (0,369 g; 2,28 mmol) em etanol (20 mL) adicionou-se KOH (0,171 g; 3,06 mmol) e a mistura ficou em agitação até total solubilização. O etanol foi removido a vácuo e adicionou-se acetona (20 mL) e, em seguida, o  $\text{ICH}_3$

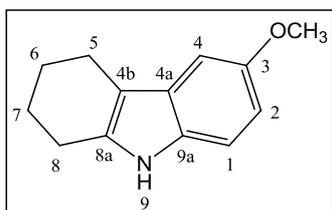
(0,20mL; 4,65 mmol). Manteve-se a mistura reacional em agitação à temperatura ambiente durante 48 h. Após este período, evaporou-se a acetona e o resíduo foi dissolvido em DCM (20 mL) e lavado com água (3 x 10 mL). A fase orgânica foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e evaporada à secura. Obteve-se um sólido castanho que foi identificado como sendo o composto **144** com rendimento quantitativo.

p. f.: 96 – 97 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,73 (dd,  $J = 0,9$  e 8,1 Hz, 1H, H-4 ou H-7); 7,55 (sl, 1H, H-3); 7,50 (dt,  $J = 1,2$  e 6,9 Hz, 1H, H-6); 7,41 (dd,  $J = 8,7$  e 0,9 Hz, 1H, H-4 ou H-7), 7,24 (dt,  $J = 0,9$  e 7,2 Hz, 1H, H-5); 4,12 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ) ppm.

### 3.4 A partir de tetra-hidrocarbazole

#### 3.4.1 Preparação de 3-metoxi-5,6,7,8-tetra-hidro-9H-carbazole (**148**)



A uma solução de ciclo-hexanona (0,30 mL; 2,86 mmol) em ácido acético glacial (1 mL) adicionou-se, durante 1 h, cloridrato de 4-metoxifenil-hidrazina (0,501 g; 2,87 mmol). A mistura reacional foi refluxada durante 3 h e 30 min. Após este período, permaneceu em agitação até arrefecimento à temperatura ambiente. Colocou-se em banho de gelo durante 20 min e, a seguir, adicionou-se 4 mL de uma solução aquosa de MeOH (75 %, v/v) e filtrou-se o sólido formado, o qual foi lavado com 12 mL da mesma solução aquosa de metanol, obtendo-se o composto **148** como um sólido bege com rendimento de 71 % (0,409 g; 2,03 mmol).

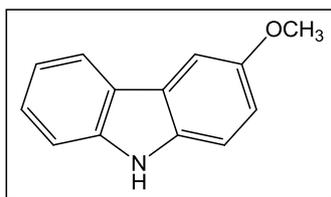
p. f.: 93 – 95 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,56 (sl, 1H, NH); 7,18 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-1); 6,93 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-4); 6,77 (dd,  $J = 8,7$  e  $2,4$  Hz, 1H, H-2); 3,86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 2,72 – 2,68 (m, 4H, H-6 e H-7); 1,90 – 1,89 (m, 4H, H-5 e H-8) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (75,4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 153,84 (C-3); 153,06 (C-8a); 130,68 (C-9a); 128,17 (C-4a); 110,90 (C-1); 110,50 (C-2); 110,02 (C-4b); 100,23 (C-4); 55,95 ( $\text{OCH}_3$ ); 23,33 (C-6 ou C-7); 23,18 (C-5 e C-8); 20,94 (C-6 ou C-7) ppm.

Análise elementar: C, 77,91; H, 7,223; N, 6,983 %.  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}$  requer C, 77,58; H, 7,51; N, 6,96 %.

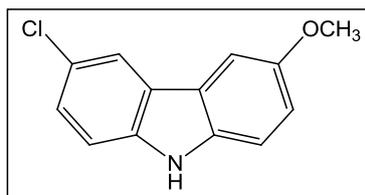
### 3.4.2 Preparação de 3-metoxi-9H-carbazole (133)



A uma solução do composto **148** (0,409 g; 2,03 mmol) em *p*-cimeno e  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL; 4:1) adicionou-se 10% Pd/C (0,206 g) e aqueceu-se a mistura resultante sob refluxo durante 48 h. Após arrefecimento filtrou-se sobre Celite e lavou-se com AcOEt em ebulição. O filtrado foi evaporado à secura originando o composto **133** com rendimento de 23 % (0,210 g; 1,07 mmol).

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,04 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-5); 7,57 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-4); 7,41 – 7,40 (m, 2H, H-7 e H-8); 7,34 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-1); 7,24 – 7,20 (m, 1H, H-6), 7,07 (dd;  $J = 9,0$  e  $2,4$  Hz, H-2); 3,94 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ) ppm. O grupo NH não foi observado.

### 3.4.3 Preparação de 3-metoxi-6-cloro-9H-carbazole (149)



A uma solução do composto **133** (0,275 g; 1,37 mmol) em THF seco (6 mL) adicionou-se 2,3,5,6-tetracloroquinona (0,520 g; 2,12 mmol) dissolvida em THF seco (3 mL). A mistura reacional foi refluxada, sob N<sub>2</sub>, durante 4h e 30 min. Evaporou-se o solvente à secura e adicionou-se uma solução de NaOH 10 % (10 mL). Fez-se extração com DCM (3 x 15 mL) e a fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à secura, originando um sólido castanho que foi purificado por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 100 → 80 %) tendo-se obtido o composto **150** na forma de um sólido bege com rendimento de 6 % (0,0149 g; 0,08 mmol).

p. f.: 134 – 136 °C.

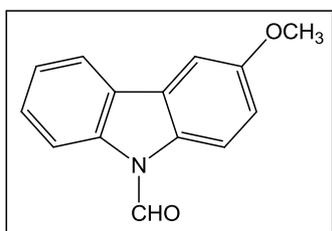
$\delta_H$  (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,00 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-5); 7,93 (sl, 1H, NH); 7,50 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-4); 7,33 – 7,36 (m, 3H, H-1, H-7 e H-8); 7,09 (dd,  $J = 8,7$  e  $2,4$  Hz, 1H, H-2); 3,93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 154,09 (C-3); 138,47 (C-6); 134,88 (C-9a); 125,83 (C-7 ou C-8); 124,50 (C-4a ou C-4b e C-8a); 122,92 (C-4a ou C-4b); 119,94 (C-5); 116,02 (C-2); 111,68 (C-1); 111,58 (C-7 ou C-8); 102,99 (C-4); 56,02 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

Análise elementar: C, 67,52; H, 4,52; N, 6,20 %. C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>ClNO requer C, 67,39; H, 4,35; N, 6,05 %.

HRMS (ESI-TOF) C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>ClNO: Calc. 231,04509. Obt. 232,05237 (MH<sup>+</sup>).

#### 3.4.4 Preparação de 3-metoxi-9H-carbazole-9-carbaldeído (151)



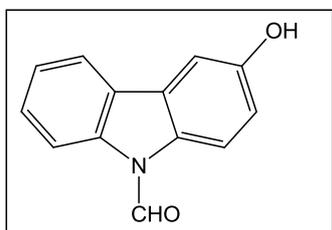
A uma solução de DMF seca (0,10 mL; 1,30 mmol) em DCM seco (5 mL) arrefecida a 0°C adicionou-se, lentamente, POCl<sub>3</sub> (0,07 mL; 0,75 mmol). Manteve-se sob agitação

durante 30 min., a seguir, adicionou-se o composto **133** (0,100 g; 0,51 mmol) dissolvido em DCM seco (10 mL). Aqueceu-se a mistura reacional sob refluxo durante 3 h. Após arrefecimento, juntou-se água destilada (10 mL) e fez-se a separação das fases. A fase orgânica foi sequencialmente lavada com HCl 10 % (5 mL) e NaHCO<sub>3</sub> (2 x 5 mL), seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à securo. Obteve-se o composto **151** na forma de um sólido com rendimento de 76 % (0,087 g; 0,39 mmol).

$\delta_H$  (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 9,81 (s, 1H, CHO); 8,34 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-1); 8,17 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-5); 8,08 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H, H-8); 7,75 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, H-4); 7,51 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-6); 7,42 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-7); 7,11 (dd, *J* = 8,8 e 2,8 Hz, 1H, H-2); 3,87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 159,31 (CHO); 156,70 (C-3); 138,15 (C-8a); 130,74 (C-9a); 127,24 (C-7); 125,07 (C-4b); 123,91 (C-6); 120,87 (C-5); 116,75 (C-1); 115,16 (C-2); 112,23 (C-4a); 111,41 (C-8); 104,07 (C-4); 55,64 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

#### 3.4.5 Preparação de 3-hidroxi-9H-carbazole-9-carbaldeído (**152**)



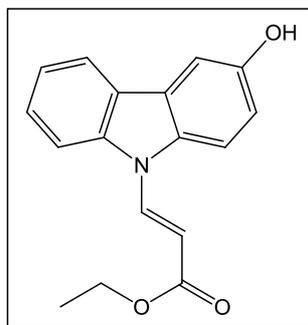
A uma solução fria do composto **151** (0,069 g; 0,31 mmol) em DCM seco (5 mL), sob atmosfera de nitrogénio, adicionou-se, lentamente, BBr<sub>3</sub> em DCM 1M (0,60 mL; 0,60 mmol). Após atingir a temperatura ambiente manteve-se sob agitação durante 24 horas. Verteu-se a mistura sobre gelo e extraiu-se com DCM (3 x 10 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à securo. O resíduo obtido foi submetido a cromatografia em camada preparativa (eluente: éter dietílico/éter de petróleo, 1:1) tendo-se obtido o composto **152** com rendimento de 48 % (0,031 g; 0,14 mmol), para além do 3-hidroxicarbazole isolado como produto secundário.

p. f.: 149 – 150 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9,79 (s, 1H, CHO); 9,60 (sl, 1H, OH); 8,25 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-1); 8,06 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H, H-5 e H-8); 7,49 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-7); 7,46 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-4); 7,39 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-6); 6,94 (dd,  $J = 8,8$  e 2,0 Hz, 1H, H-2) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  159,08 (CHO); 154,70 (C-3); 138,15 (C-8a); 129,84 (C-9a); 127,09 (C-7); 125,06 (C-4b); 123,85 (C-6); 120,69 (C-5); 116,76 (C-1); 115,64 (C-2); 112,05 (C-4a); 111,33 (C-8); 105,73 (C-4) ppm.

### 3.4.6 Preparação de (*E*)-3-(3'-hidroxi-9'*H*-carbazol-9'-il) acrilato de etilo (**153**)



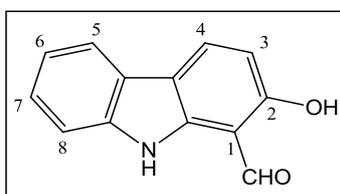
A uma solução do composto **152** (0,070 g; 0,33 mmol) em *N,N*-dietilanilina (2,0 mL) adicionou-se carbetoximetilenotrifetilfosforano (0,160 g; 0,46 mmol) e a mistura ficou em refluxo durante 15 h. Após arrefecer, adicionou-se água (10 mL) e extraiu-se com DCM (4 x 5 mL). A fase orgânica foi lavada com HCl 5 % (5 x 5 mL), seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e evaporada à securo. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em camada preparativa (eluente: éter dietílico/éter de petróleo, 7:3). O composto **153** foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 28 % (0,021 g; 0,09 mmol).

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, acetona- $d_6$ ): 8,54 (d,  $J = 14,4$  Hz, 1H, H-3); 8,57 (s, 1H, OH); 8,10 (dd,  $J = 8,0$  e 0,8 Hz, 1H, H-5' ou H-8'); 7,90 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-5' ou H-8'); 7,81 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H, H-1'); 7,61 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-4'); 7,58 (dt,  $J = 1,2$  e 8,0 Hz, 1H, H-7'); 7,39 (dt,  $J = 0,8$  e 8,0 Hz, 1H, H-6'); 7,15 (dd,  $J = 2,4$  e 8,8 Hz, 1H, H-2'); 6,32 (d,  $J = 14,0$  Hz, 1H, H-2); 4,28 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1,35 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, acetona- $d_6$ ): 168,18 (C=O); 154,66 (C-3'); 140,64 (C-8'a); 137,65 (C-3); 133,61 (C-9'a); 127,98 (C-7'); 127,64 (C-4'a); 126,14 (C-4'b); 123,31 (C-6'); 121,27 (C-5' ou C-8'); 116,49 (C-2'); 113,97 (C-1'); 112,50 (C-5' ou C-8'); 106,72 (C-4'); 100,90 (C-2); 60,50 (CH<sub>2</sub>); 14,74 (CH<sub>3</sub>) ppm.

#### 4. Análogos do psoraleno a partir de 2-hidroxicarbazole

##### 4.1 Preparação de 2-hidroxi-9H-carbazole-1-carbaldeído (158)



A mistura reacional formada por 2-hidroxicarbazole (0,20 g; 1,09 mmol), NaOH (0,40 g; 10 mmol) e CHCl<sub>3</sub> (0,48 mL) em H<sub>2</sub>O:EtOH (9:1) (6 mL) foi aquecida a 60 °C durante 5h e 30 min. Após arrefecer, a mistura foi extraída com AcOEt (3 x 5 mL), a fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à secura. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 100 →70 %) obtendo-se o composto **158** como um sólido amarelo com rendimento de 5 % (0,0097g; 0,05 mmol). Foi ainda identificado o 9H-carbazole, formado como produto secundário, por perda de OH do 2-hidroxicarbazole.

p. f.: 219 – 223 °C (lit. 219 – 220 °C (Oliveira, 2007)).

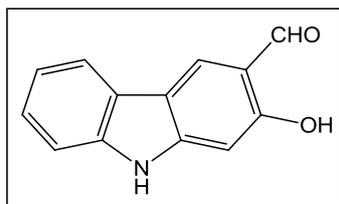
$\delta_H$  (300 MHz, acetona- $d_6$ ): 11,15 (sl, 1H, NH); 10,67 (s, 1H, CHO); 10,30 (sl, 1H, OH); 8,27 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-4); 8,06 (dd,  $J = 8,4$  e 1,2 Hz, 1H, H-5); 7,70 (dd,  $J = 7,8$  e 1,2 Hz, 1H, H-8); 7,39 (dt,  $J = 1,2$  e 7,8 Hz, 1H, H-7); 7,24 (dt,  $J = 1,2$  e 7,8 Hz, 1H, H-6); 6,85 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-3) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, acetona- $d_6$ ): 191,03 (CHO); 161,68 (C-2); 140,90 (C-8a); 140,60 (C-4b); 129,70 (C-4); 125,63 (C-7); 123,35 (C-9a); 120,94 (C-6); 119,96 (C-5); 117,74 (C-4a);

112,42 (C-8); 108,66 (C-3); 108,20 (C-1) ppm.

Análise elementar: C, 72,72; H, 4,30; N, 6,57 %.  $C_{13}H_9NO_3 \cdot \frac{1}{4}H_2O$  requer C, 72,37; H, 4,44; N, 6,49 %.

#### 4.2 Preparação de 2-hidroxicarbazole-3-carbaldeído (159)



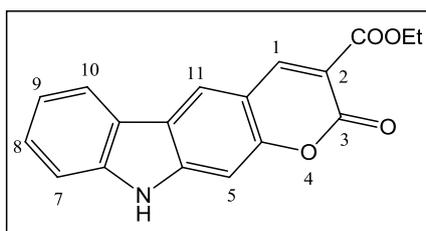
A uma solução de *N*-MFA (1,80 mL; 14,8 mmol) e  $POCl_3$  (1,25 mL; 13,0 mmol) foi adicionado o 2-hidroxicarbazole (2,0 g; 11 mmol) e deixou-se a mistura a agitar à temperatura ambiente durante 16 h e aqueceu-se a 45 °C durante 30 min. O resíduo obtido foi dissolvido em DCM (30 mL) e lavado com água destilada (3 x 15 mL). A fase orgânica foi seca ( $MgSO_4$ ), filtrada e evaporada à securo. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 100 → 90 %). Obteve-se um sólido castanho que foi identificado como sendo o composto **159** com rendimento de 5 % (0,124 g; 0,59 mmol).

p. f.: decomposição > 220 °C (lit. 232 – 233 °C (dec. 200 °C) (Oliveira, 2005)).

$\delta_H$  (300 MHz, acetona- $d_6$ ): 11,50 (s, 1H, OH); 10,77 (sl, 1H, NH); 10,03 (s, 1H, CHO); 8,49 (s, 1H, H-4); 8,12 (dd,  $J = 7,0$  e 0,9 Hz, 1H, H-5); 7,53 (dd,  $J = 7,6$  e 0,9 Hz, 1H, H-8); 7,42 (dt,  $J = 1,2$  e 7,6 Hz, 1H, H-7); 7,26 (dt,  $J = 0,9$  e 7,3 Hz, 1H, H-6); 6,93 (s, 1H, H-1) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, acetona- $d_6$ ): 196,65 (CHO); 161,86 (C-2); 147,01 (C-4a); 141,88 (C-8a); 128,50 (C-4); 126,68 (C-7); 124,13 (C-4b); 121,23 (C-6); 120,58 (C-5); 118,47 (C-3); 116,21 (C-9a); 111,93 (C-8); 97,25 (C-1) ppm.

### 4.3 Preparação de 3-oxopirano[2,3-*b*]carbazole-2-carboxilato de etilo (**9**)

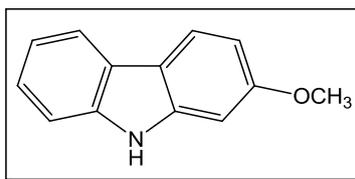


Uma solução de piperidina (0,19 mL) e ácido acético (0,19 mL) em etanol (2 mL) foi agitada durante alguns minutos e adicionaram-se malonato de dietilo (0,11 mL; 0,79 mmol) e o composto **159** (0,100 g; 0,47 mmol) dissolvido em etanol (16 mL). Aqueceu-se a mistura reacional sob refluxo durante 6 h e 30 min. Após este período, evaporou-se à securo e por adição de AcOEt precipitou um sólido amarelo que foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **9** com 22 % de rendimento (0,039 g; 1,27 mmol).

p. f.: decomposição > 300° C (lit. 335 – 336 °C (Oliveira, 2007)).

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, acetona- $d_6$ ): 11,48 (s, 1H, NH); 8,46 (s, 1H, H-1); 8,26 (s, 1H, H-11); 7,72 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-10); 7,12 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-7); 7,05 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-8); 6,99 (s, 1H, H-5); 6,86 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-9); 3,88 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>); 0,90 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

### 4.4 Preparação de 2-metoxi-9H-carbazole (**160**)



A uma solução de 2-hidroxicarbazole (1,30 g; 7,10 mmol) em etanol (60 mL) adicionou-se KOH (0,567 g; 10,10 mmol) e a mistura ficou em agitação até total solubilização. O etanol foi removido sob vácuo e adicionou-se acetona (60 mL) e ICH<sub>3</sub> (0,91 mL; 14,50 mmol). Manteve-se a mistura reacional em agitação durante 17 h. Findo este período, evaporou-se a acetona tendo-se formado um sólido que foi separado por filtração

(produto + KI) e lavado com clorofórmio repetidas vezes. O filtrado foi evaporado à secura, obtendo-se o composto **160** com 66 % de rendimento (0,919 g; 4,65 mmol).

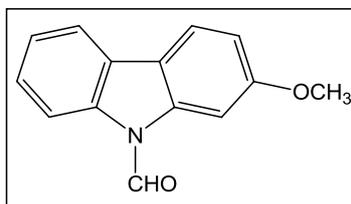
p. f.: 221 – 223 °C.

$\delta_H$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11,09 (s, 1H, NH); 7,97 – 7,93 (m, 2H, H-5 e H-4); 7,41 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-8); 7,27 (dt,  $J = 0,9$  e 7,2 Hz, 1H, H-6); 7,09 (dt,  $J = 0,9$  e 7,8 Hz, 1H, H-7); 6,95 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H, H-1); 6,75 (dd,  $J = 8,7$  e 2,4 Hz, 1H, H-3); 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, DMSO- $d_6$ ): 158,46 (C-2); 141,05 (C-8a); 139,68 (C-9a); 124,07 (C-6); 122,62 (C-4b); 120,84 (C-4); 119,19 (C-5); 118,49 (C-7); 116,14 (C-4a); 110,56 (C-8); 107,64 (C-3); 94,41 (C-1), 55,22 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

Análise elementar: C, 78,69; H, 5,58; N, 7,11 %. C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO requer C, 79,16; H, 5,62; N, 7,10 %.

#### 4.5 Preparação de 2-metoxi-9H-carbazole-9-carbaldeído (**162**)



Adicionou-se, lentamente, POCl<sub>3</sub> (0,14 mL; 1,56 mmol) a uma solução de DMF seca (0,20 mL; 2,60 mmol) em DCM seco (10 mL) a 0 °C e deixou-se, sob agitação, durante 30 minutos. A seguir, adicionou-se o composto **160** (0,213 g; 1,08 mmol) dissolvido em DCM seco (20 mL). A mistura resultante foi refluxada durante 4 h e após arrefecer à temperatura ambiente adicionou-se água destilada (20 mL) e separaram-se as fases. A fase orgânica foi lavada sequencialmente com HCl 10 % (10 mL) e com NaHCO<sub>3</sub> 5 % (2 x 10 mL), seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à secura. Obteve-se um sólido bege que foi identificado como sendo o composto **162** com rendimento de 91 % (0,207 g; 0,92 mmol).

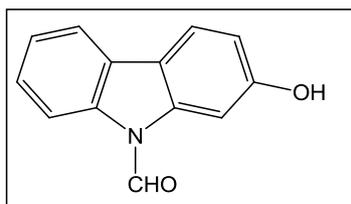
p. f.: 67 – 70 °C.

$\delta_H$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9,88 (s, 1H, CHO); 8,10 – 7,98 (m, 4H, H-3, H-4, H-5 e H-8); 7,48 – 7,36 (m, 3H, H-1, H-6 e H-7); 3,87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, DMSO- $d_6$ ): 160,06 (CHO); 159,44 (C-2); 139,68 (C-1); 139,06 (C-9a); 137,58 (C-8a ou C-4b); 136,58 (C-8a ou C-4b); 125,88 (C-7 ou C-6); 124,35 (C-7 ou C-6); 121,37 (C-4); 129,84 (C-5 ou C-8); 119,58 (C-5 ou C-8); 115,76 (C-4a); 112,07 (C-3); 55,64 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

Análise elementar: C, 74,87; H, 5,019; N, 6,282 %. C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> requer C, 74,65; H, 4,92; N, 6,22 %.

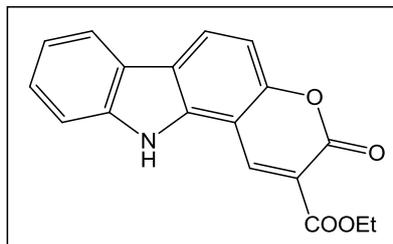
#### 4.6 Preparação de 2-hidroxi-9H-carbazole-9-carbaldeído (163)



A uma solução arrefecida do composto **162** (0,150 g; 0,67 mmol) em DCM seco (5 mL), sob atmosfera de nitrogénio, adicionou-se, lentamente, BBr<sub>3</sub> em DCM 1M (2,0 mL; 2,0 mmol). Após atingir a temperatura ambiente manteve-se sob agitação durante 24 h. A mistura foi vertida sobre gelo e extraída com DCM (3 x 15 mL). A fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à secura. O resíduo obtido foi recristalizado de DCM e éter de petróleo tendo-se o obtido o composto **163** com rendimento de 62 % (0,087 g; 0,42 mmol).

$\delta_H$  (300 MHz, acetona- $d_6$ ): 9,88 (s, 1H, CHO); 9,08 (s, 1H, OH) 8,02 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 1H, H-5 ou H-8); 7,97 (d,  $J$  = 8,7 Hz, 1H, H-4); 7,46 – 7,41 (m, 4H, H-1, H-5 ou H-8, H-6 e H-7); 7,01 (dd,  $J$  = 8,7 e 2,1 Hz, 1H, H-3) ppm.

#### 4.7 Preparação de 3-oxo-3,11-di-hidropirano[3,2-*a*]carbazole-2-carboxilato de etilo (6)



A uma solução de piperidina (3 gotas) e ácido acético (3 gotas) em EtOH (1 mL) adicionaram-se malonato de dietilo (60  $\mu$ L) e o composto **137** (0,059 g, 0,28 mmol) em EtOH (9 mL). A mistura ficou em refluxo durante 5 h e após evaporação do solvente obteve-se um óleo vermelho que foi purificado por cromatografia em “flash” seca (eluente: éter de petróleo / éter dietílico, 100  $\rightarrow$  70 %) originando o composto **6** como um sólido amarelo, com rendimento de 38 % (0,033 g; 0,11 mmol).

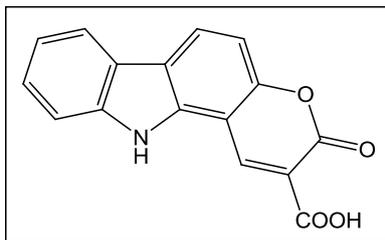
p. f.: 198 – 201  $^{\circ}$ C (lit. 211 – 212  $^{\circ}$ C (Oliveira, 2007)).

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, acetona- $d_6$ ): 11,48 (sl, 1H, NH); 9,26 (s, 1H, H-1); 8,46 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-6); 8,19 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-7); 7,65 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-10); 7,48 (dt,  $J = 1,2$  e 7,2 Hz, 1H, H-9); 7,32 (dt,  $J = 1,2$  e 7,2 Hz, 1H, H-8); 7,18 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-5); 4,40 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); 1,41 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, acetona- $d_6$ ): 164,02 (CO éster); 156,87 (C-3); 155,59 (C-4a); 144,72 (C-1); 141,00 (C-10a); 137,91 (C-6b); 127,54 (C-6); 126,65 (C-9); 123,54 (C-11a); 121,25 (C-8); 120,78 (C-7); 120,24 (C-6a); 116,66 (C-2); 112,28 (C-10); 108,30 (C-5); 104,42 (C-11b) ppm.

Análise elementar: C, 68,49; H, 4,69; N, 4,14 %. C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>.  $\frac{1}{2}$  H<sub>2</sub>O requer C, 68,35; H, 4,46; N, 4,42 %.

#### 4.8 Preparação de ácido 3-oxo-3,11-di-hidropirano[3,2-*a*]carbazole-2-carboxílico (164)



A uma solução do composto **6** (0,137 g; 0,45 mmol) em EtOH quente (40 mL), adicionou-se solução aquosa de NaOH 1M (1,34 mL; 1,34 mmol) e a mistura ficou em agitação a 60 °C durante 4h. Após evaporar o EtOH, o sólido obtido foi dissolvido em água, e a solução foi arrefecida e acidificada com HCl 10 %. Formou-se um sólido castanho que foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **164**, obtido com o rendimento de 96 % (0,122 g; 0,43 mmol).

p. f.: 312 – 315 °C.

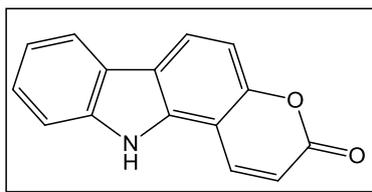
$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 13,90 – 13,00 (s muito largo, 1H, OH); 11,48 (sl, 1H, NH); 9,00 (s, 1H, H-1); 8,56 – 8,53 (m, 1H, H-7); 8,33 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-6); 8,17 – 8,13 (m, 1H, H-8 e/ou H-9 e/ou H-10); 7,57 – 7,51 (m, 1H, H-8 e/ou H-9 e/ou H-10); 7,07 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H, H-5) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, DMSO- $d_6$ ): 164,77 (CO ácido); 160,59 (C-3); 157,58 (C-4a); 139,68 (C-1); 137,30 (C-10a); 136,73 (C-6b); 129,13 (C-6); 126,50 (C-8 ou C-9 ou C-10); 126,29 (C-11a); 126,09 (C-8 ou C-9 ou C-10); 120,67 (C-8 ou C-9 ou C-10); 119,33 (C-2); 116,74 (C-7); 114,40 (C-6a); 111,79 (C-5); 106,03 (C-11b) ppm.

Análise elementar: C, 67,90; H, 3,10; N, 4,84 %.  $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{NO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$  requer C, 67,72; H, 3,37; N, 4,94 %.

HRMS (ESI-TOF)  $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{NO}_4$ : Calc. 279,05316. Obt. 280,06043 ( $\text{MH}^+$ ).

#### 4.9 Preparação de pirano[3,2-*a*]carbazol-3(11*H*)-ona (165)



A uma solução do composto **158** (0,094 g; 0,45 mmol) em *N,N*-dietilanilina (2 mL) adicionou-se carbetoximetilenotrifetilfosforano **114** (0,220 g; 0,63 mmol) e deixou-se a mistura em refluxo durante 30 h. Após arrefecer, adicionou-se água (20 mL) e fez-se extração com éter dietílico (4 x 10 mL). A fase orgânica foi lavada com HCl 5 % (5 x 10 mL), seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada a securo. O óleo castanho obtido foi purificado por cromatografia em camada preparativa (eluente: éter de petróleo/AcOEt, 1:1), obtendo-se como produto o composto **165** como um sólido castanho com 27 % de rendimento (0,027 g; 0,12 mmol).

p. f.: 259 – 262 °C.

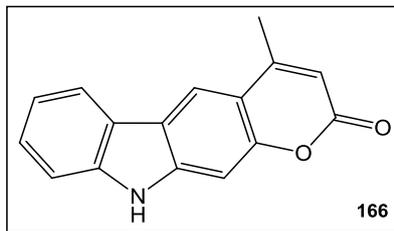
$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, acetona-*d*<sub>6</sub>): 11,21 (sl, 1H, NH); 8,53 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H, H-1); 8,33 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-6); 8,17 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-7); 7,60 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10); 7,45 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-9); 7,29 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-8); 7,17 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H, H-5); 6,48 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H, H-2) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, acetona-*d*<sub>6</sub>): 160,89 (C-3); 154,35 (C-4a); 141,05 (C-10a); 139,60 (C-1); 137,06 (C-6b); 126,39 (C-9); 124,68 (C-6); 123,68 (C-11a); 120,88 (C-8); 120,71 (C-7); 120,06 (C-6a); 115,32 (C-2); 112,09 (C-10); 108,81 (C-5); 105,11 (C-11b) ppm.

Análise elementar: C, 75,08; H, 4,14; N, 5,71 %. C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>·¼H<sub>2</sub>O requer C, 75,14; H, 3,89; N, 5,84 %.

HRMS (ESI-TOF) C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>: Calc. 235,0633. Obt. 236,0636 (MH<sup>+</sup>).

#### 4.10 Preparação de 4-metilpirano[2,3-*b*]carbazol-2(10*H*)-ona (**166**) e de 1-metilpirano[3,2-*a*]carbazol-3(11*H*)ona (**167**)



A uma mistura de 2-hidroxicarbazole (0,160 g; 0,87 mmol) e acetoacetato de etilo (0,16 mL; 1,31 mmol) em AcOEt (5 mL), arrefecida em banho de gelo, adicionou-se lentamente  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado (1,60 mL) e agitou-se à temperatura ambiente durante 18 h. Após este período, a mistura foi vertida sobre gelo, o sólido castanho precipitado foi separado por filtração, lavado com uma solução de NaOH e seco. O espectro de  $^1\text{H}$ -RMN evidenciou que o resíduo obtido consistia numa mistura dos compostos **166** e **167** na razão 3:2. Após cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/AcOEt, 100  $\rightarrow$  0 %) obteve-se um sólido bege que foi identificado como sendo o composto **166**, com rendimento de 33 % (0,072 g; 0,29 mmol).

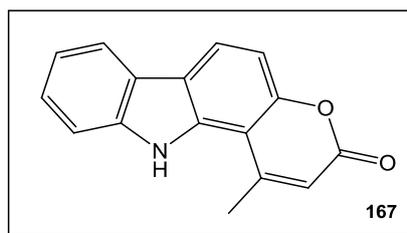
p. f.: 249 – 251 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 11,62 (s, 1H, NH); 8,57 (s, 1H, H-5); 8,23 (d,  $J = 7,8$  Hz, H-9); 7,51 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-6); 7,45 (dt,  $J = 1,2$  e 8,1 Hz, 1H, H-7); 7,38 (s, 1H, H-11); 7,22 (dt,  $J = 1,2$  e 8,1 Hz, 1H, H-8); 6,24 (s, 1H, H-3); 2,57 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (75,4 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 160,59 (C=O); 154,36 (C-4); 152,11 (C-11a); 141,98 (Cq); 140,89 (Cq); 126,27 (C-7); 122,20 (Cq); 120,60 (C-9); 120,27 (Cq); 119,55 (C-8); 117,21 (C-5); 112,49 (C-4a); 111,22 (C-6); 110,48 (C-3); 97,16 (C-11); 18,68 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

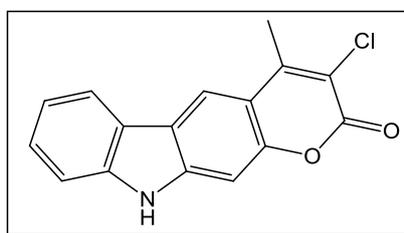
HRMS (ESI-TOF)  $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{NO}_2$ : Calc. 249,0790. Obt. 249,0792 ( $\text{M}^+$ ).

O segundo material eluído foi identificado como uma mistura de **166** e **167** na razão de 1:2.



$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11,43 (s, 1H, NH); 8,37 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-7); 8,16 (d,  $J = 8,1$  Hz, H-10); 7,71 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-6); 7,42 (td,  $J = 7,2$  e 1,2 Hz, 1H, H-9); 7,26 – 7,21 (m, 2H, H-8 e H-5); 6,36 (d ap,  $J = 0,9$  Hz, 1H, H-2); 2,87 (d,  $J = 0,9$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

#### 4.11 Preparação de 3-cloro-4-metilpirano[2,3-*b*]carbazol-2(10H)-ona (168)



A uma mistura de 2-hidroxicarbazole (1,0 g; 5,43 mmol) e 2-cloroacetoacetato de etilo (1,14 mL; 8,19 mmol) adicionou-se H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 80 % (2,48 mL) e agitou-se a mistura à temperatura ambiente durante 48 h. Após este período, a mistura foi vertida sobre gelo, o precipitado castanho foi separado por filtração, lavado com água destilada gelada e recristalizado de AcOEt/éter de petróleo. Obteve-se um sólido amarelo que foi identificado como sendo o composto **168** com rendimento de 16 % (0,254 g; 0,90 mmol).

p. f.: 247 – 250 °C.

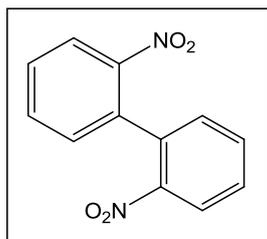
$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11,66 (s, 1H, NH); 8,59 (s, 1H, H-5); 8,23 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-6); 7,50 (dd,  $J = 8,1$  e 1,2 Hz, 1H, H-9); 7,43 (dt,  $J = 1,2$  e 7,7 Hz, 1H, H-8); 7,38 (s, 1H, H-11); 7,23 (dt,  $J = 1,2$  e 7,5 Hz, 1H, H-7); 2,67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (75,4 MHz, DMSO- $d_6$ ): 156,66 (C=O); 150,00 (C-10a ou C-11a); 149,81 (C-10a ou C-11a); 141,81 (C-5a); 140,95 (C-9a); 122,08 (C-5b); 126,46 (C-8); 120,75 (C-4); 120,70 (C-

6); 119,64 (C-7); 117,68 (C-5); 115,19 (C-3); 112,07 (C-4a); 111,26 (C-9); 97,10 (C-11); 16,48 (CH<sub>3</sub>) ppm.

HRMS (ESI-TOF) C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>ClNO<sub>2</sub>: Calc. 283,0400. Obt. 283,0405.

#### 4.12 Preparação de 2,2'-dinitro-1,1'-bifenilo (172)

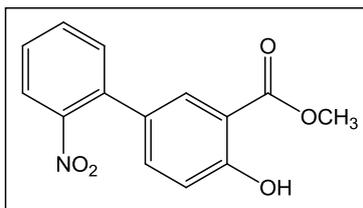


Aqueceu-se uma mistura de 1-iodo-2-nitrobenzeno (3,01 g; 12,0 mmol) e 2,4-dibromoanisole (4,16 g; 15,7 mmol), até ocorrer fusão, e adicionou-se cobre bronze (2,33 g) durante 40 min. Após aquecimento a 175 °C durante 5 h, adicionou-se tolueno quente (400 mL) e filtrou-se sobre Celite. Lavou-se com água destilada (100 mL) e a fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à secura. O sólido castanho obtido foi recristalizado de éter dietílico, originando um sólido amarelo que foi identificado como sendo o composto **172** com rendimento de 27% (0,80 g; 3,3 mmol), para além do 2,4-dibromoanisole recuperado da evaporação do filtrado.

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,21 (dd,  $J = 8,2$  e  $1,6$  Hz, 2H, H-6 e H-6'); 7,69 (dt,  $J = 1,6$  e  $7,6$  Hz, 2H, H-5 e H-5'); 7,59 (dt,  $J = 1,2$  e  $7,8$  Hz, 2H, H-4 e H-4'); 7,30 (dd,  $J = 7,6$  e  $1,6$  Hz, 2H, H-3 e H-3') ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 147,13 (C-2); 134,10 (C-1); 133,38 (C-5); 130,88 (C-3); 129,07 (C-4); 124,70 (C-6) ppm.

#### 4.13 Preparação de 4-hidroxi-2'-nitro-[1,1'-bifenil]-3-carboxilato de metilo (173)



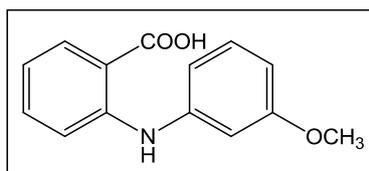
Aqueceu-se uma mistura de 1-bromo-2-nitrobenzeno (0,507 g; 2,48 mmol) e 5-iodossalicilato de metilo (0,850 g; 3,06 mmol) a 170 °C e após fusão dos reagentes adicionou-se o cobre bronze (0,475 g), em pequenas porções, durante 40 min. A mistura foi aquecida a 175 °C durante 5 h. Após este período, adicionou-se tolueno quente (100 mL) e filtrou-se sobre Celite. Lavou-se o filtrado com água destilada (50 mL) e a fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à secura. O resíduo castanho foi purificado por cromatografia em coluna (eluente: éter de petróleo/éter dietílico, 98:2) obtendo-se um sólido amarelo que foi identificado como sendo o composto **38**, com rendimento de 24 % (0,324 g; 1,2 mmol).

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 10,86 (s, 1H, OH); 7,88 (dd,  $J = 8,4$  e  $1,2$  Hz, 1H, H-6'); 7,82 (dd,  $J = 2,0$  e  $0,4$  Hz, 1H, H-2); 7,63 (dt,  $J = 1,2$  e  $7,6$  Hz, 1H, H-5'); 7,49 (dt,  $J = 1,2$  e  $7,8$  Hz, 1H, H-4'); 7,44 – 7,40 (m, 2H, H-3' e H-6); 7,06 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H, H-5); 3,95 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 171,17 (COOCH<sub>3</sub>); 161,58 (C-4); 149,11 (C-1'); 135,24 (C-6); 135,13 (C-2'); 132,43 (C-5'); 131,97 (C-3'); 129,31 (C-2); 128,42 (C-1); 112,25 (C-6'); 118,11 (C-5); 112,51 (C-3); 52,44 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

### 5. Análogos do psoraleno a partir de acridona

#### 5.1 Preparação de ácido 2-[(3'-metoxifenil)amino] benzóico (175)



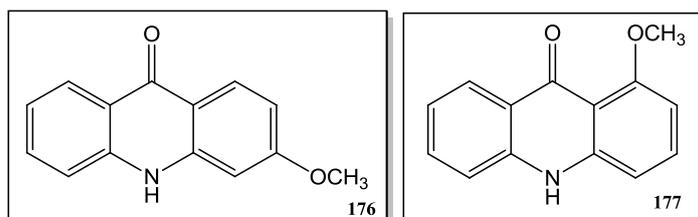
A uma solução do ácido 2-clorobenzóico (4,72 g; 30 mmol) e *m*-anisidina (4,65 mL; 41 mmol) em 1-heptanol (20 mL) adicionou-se cobre bronze (0,50 g) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4,5 g; 32,6 mmol) em porções e a mistura ficou em refluxo durante 10 h. Após este período, filtrou-se através de Celite, adicionou-se água destilada quente (400 mL) e solução aquosa de HCl 18 % até pH = 1. Extraíu-se com AcOEt e o sólido negro precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **175**, obtido com rendimento de 40 % (2,88 g; 12 mmol).

p. f.: 108 – 110 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz, acetona-*d*<sub>6</sub>): 11,33 (s, 1H, COOH); 9,70 (s, 1H, NH); 8,05 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-6); 7,47 – 7,37 (m, 2H, H-4 e H-3); 7,29 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-5); 6,89 – 6,81 (m, 3H, H-2', H-4' e H-5'); 6,70 (dd, *J* = 8,7 e 2,1 Hz, 1H, H-6'); 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, acetona-*d*<sub>6</sub>): 161,76 (C-2); 142,92 (C-3'); 135,16 (C-3 ou C-4); 130,94 (C-5'); 118,27 (C-5); 115,08 (C-3 ou C-4); 114,64 (C-2' ou C-4'); 109,79 (C-6'); 108,05 (C-2' ou C-4'); 55,52 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

## 5.2 Preparação de 3-metoxiacridin-9(10H)-ona (**176**) e de 1-metoxiacridin-9(10H)-ona (**177**)



Aqueceu-se a 100 °C uma mistura do composto **175** (1,16 g; 4,80 mmol) e ácido polifosfórico (11,0 g) durante 2 h. Após este período, adicionou-se água destilada quente (100 mL) e solução aquosa de NH<sub>3</sub> 12 % (18 mL) até pH = 8. Houve precipitação de um sólido castanho que foi separado por filtração, seco e identificado como uma mistura dos compostos **176** e **177**, numa proporção de 7:3.

Após purificação por cromatografia em camada preparativa (eluente: AcOEt/MeOH, 99:1) obteve-se o composto **176** na forma de um sólido amarelo.

p. f.: 251 – 253 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11,59 (s, 1H, NH); 8,18 (dd,  $J = 7,8$  e  $0,9$  Hz, 1H, H-6); 8,12 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-1); 7,67 (dt,  $J = 1,8$  e  $6,9$  Hz, 1H, H-7); 7,47 (dd,  $J = 7,8$  e  $0,6$  Hz, 1H, H-9); 7,21 (dt,  $J = 0,6$  e  $7,5$  Hz, H-8); 6,88 (dd,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-4); 6,84 (dd,  $J = 9,0$  e  $2,4$  Hz, 1H, H-2) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, DMSO- $d_6$ ): 175,79 (C=O); 163,31 (C-3); 142,87 (C-4a); 140,90 (C-5a); 133,03 (C-7); 128,02 (C-1); 125,91 (C-6); 120,60 (C-9a); 117,02 (C-9); 115,00 (C-10a); 111,45 (C-2); 97,90 (C-4); 55,83 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

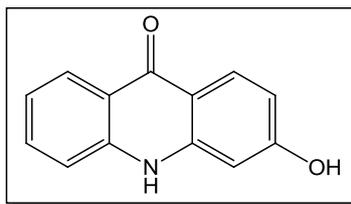
Após cromatografia em coluna (eluente: AcOEt/MeOH, 99 → 90 %) obteve-se o composto **177** como um sólido amarelo.

p. f.: 329 – 330 °C (lit. 267 – 269 °C (Boumendjel, 2007)).

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11,40 (s, 1H, NH); 8,11 (dd,  $J = 8,0$  e  $1,2$  Hz, 1H, H-6); 7,63 (dt,  $J = 1,6$  e  $6,8$  Hz, 1H, H-7); 7,54 (t,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-3); 7,40 (dd,  $J = 8,0$  e  $0,8$  Hz, 1H, H-4); 7,17 (dt,  $J = 0,8$  e  $6,8$  Hz, 1H, H-8); 7,00 (dd,  $J = 8,4$  e  $0,8$  Hz, 1H, H-9); 6,66 (dd,  $J = 8,0$  e  $0,4$  Hz, 1H, H-2); 3,83 (s, 1H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (75,4 MHz, DMSO- $d_6$ ): 176,00 (C=O); 160,57 (C-1); 143,45 (C-4a); 139,88 (C-5a); 133,75 (C-3); 132,82 (C-7); 126,06 (C-6); 122,23 (C-9a); 120,77 (C-8); 116,50 (C-4); 111,18 (C-10a); 109,03 (C-9); 102,11 (C-2); 55,62 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

### 5.3 Preparação de 3-hidroxiacridin-9(10H)ona (178)

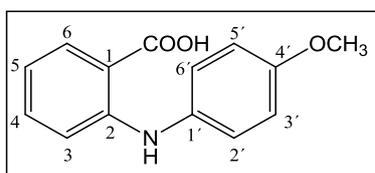


A uma solução dos compostos **176** e **177** (0,260 g; 1,15 mmol) em DCM (6 mL), arrefecida em banho de gelo, adicionou-se uma solução de  $\text{BBr}_3$  em DCM 1M (6 mL; 6 mmol). A mistura ficou em agitação à temperatura ambiente durante 72 h, e depois, verteu-se sobre gelo. O sólido castanho precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **178**, obtido com rendimento de 80 % (0,195 g; 0,92 mmol).

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 11,41 (s, 1H, NH); 10,43 (s, 1H, OH); 8,15 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-6); 8,05 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-9); 7,64 (t,  $J = 7,5$  Hz, 1H, H-7); 7,43 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-1); 7,18 (t,  $J = 7,5$  Hz, 1H, H-8); 6,78 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H, H-4); 6,70 (dd,  $J = 8,4$  e 1,8 Hz, H-2) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 175,81 (C=O); 162,13 (C-3); 143,05 (C-4); 140,99 (C-5a); 132,89 (C-7); 128,31 (C-9); 120,69 (C-8); 120,48 (C-9a); 116,90 (C-1); 114,32 (C-10a); 112,21 (C-2); 99,94 (C-4).

### 5.4 Preparação de ácido 2-[(4'-metoxifenil)amino] benzóico (44b)



A uma solução do ácido 2-clorobenzóico (3,00 g; 19 mmol) e *p*-anisidina (3,20 g; 26 mmol) em 1-heptanol (20 mL) adicionou-se cobre bronze (0,50 g) e  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (6,0 g; 43,4 mmol) em porções e a mistura ficou em refluxo durante 8 h. Após este período, filtrou-se sobre Celite, adicionou-se água destilada fria (300 mL), solução aquosa de NaOH

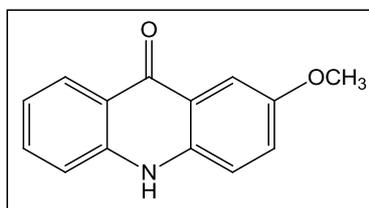
0,1M (50 mL) e extraiu-se com éter dietílico (3 x 150 mL). A fase aquosa separada foi acidificada com HCl 18 % e o sólido negro precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **44b**, obtido com rendimento de 25 % (1,19 g; 4,91 mmol).

p.f.: 156 – 158 °C.

$\delta_H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 9,12 (sl, 1H, NH); 8,02 (dd,  $J = 6,4$  e  $1,6$  Hz, 1H, H-3); 7,31 (dt,  $J = 1,6$  e  $7,6$  Hz, 1H, H-4); 7,20 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H-2' e H-6'); 6,96 (d largo,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-6); 6,94 (d,  $J = 9,2$  Hz, 2H, H-3' e H-5'); 6,70 (dt,  $J = 0,8$  e  $7,6$  Hz, 1H, H-5); 3,84 (s, 3H,  $OCH_3$ ) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ): 173,55 (COOH); 157,08 (C-4'); 150,20 (C-2); 135,24 (C-4); 132,90 (C-1'); 132,49 (C-3); 126,34 (C-2' e C-5'); 116,60 (C-5); 114,73 (C-3' e C-5'); 113,75 (C-6); 109,68 (C-1); 55,52 ( $CH_3$ ) ppm.

### 5.5 Preparação de 2-metoxiacridin-9(10H)ona (**179**)



Uma mistura do composto **44b** (1,154 g; 4,75 mmol) e ácido polifosfórico (11 g) foi aquecida a 100 °C durante 5 h. Após este período, adicionou-se água destilada quente (100 mL) e solução aquosa de  $NH_3$  12 % (40 mL) até pH = 8. Houve precipitação de um sólido negro que foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **179**, obtido com rendimento de 93 % (1,00 g; 4,43 mmol).

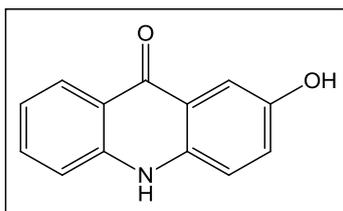
p. f.: 269 – 271 °C (lit. > 270 °C (Boumendjel, 2007)).

$\delta_H$  (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ): 11,83 (sl, 1H, NH); 8,21 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-6); 7,67 (t,  $J = 7,2$  Hz, 1H, H-7); 7,61 (d,  $J = 2,7$  Hz, 1H, H-1); 7,54 – 7,52 (m, 2H, H-4 e H-9); 7,39 (dd,  $J =$

7,5 e 1,8 Hz, 1H, H-3); 7,21 (t,  $J = 7,5$  Hz, 1H, H-8); 3,84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (75,4 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 176,13 (C=O); 153,94 (C-2); 140,49 (C-5a); 135,76 (C-4a); 132,99 (C-7); 125,91 (C-6); 124,25 (C-3); 120,97 (C-10a); 120,68 (C-8); 119,62 (C-9a); 119,25 (C-4); 117,36 (C-9); 104,86 (C-1); 55,35 (OCH<sub>3</sub>) ppm.

### 5.6 Preparação de 2-hidroxiacridin-9(10H)-ona (180)



A uma solução arrefecida (banho de gelo) do composto **179** (0,450 g; 2 mmol) em DCM (10 mL) adicionou-se uma solução de BBr<sub>3</sub> em DCM 1 M (10 mL; 10 mmol). A mistura ficou a agitar à temperatura ambiente durante 48 h. A seguir, foi vertida sobre gelo e o sólido negro precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **180**, obtido com rendimento quantitativo (0,422 g; 2 mmol).

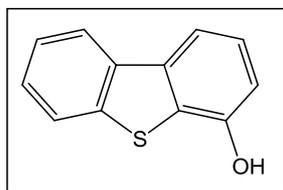
p. f.: lit. > 270 °C (Boumendjel, 2007).

$\delta_H$  (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 11,57 (s, 1H, NH); 9,55 (s, 1H, OH); 8,17 (dd,  $J = 8,1$  e 1,5 Hz, 1H, H-6); 7,65 (dt,  $J = 1,5$  e 7,8 Hz, 1H, H-7); 7,53 (d,  $J = 2,7$  Hz, 1H, H-1); 7,49 – 7,27 (m, 2H, H-4 e H-9); 7,26 (dd,  $J = 8,1$  e 3,0 Hz, 1H, H-3); 7,17 (dt,  $J = 1,2$  e 8,1 Hz, 1H, H-8) ppm.

$\delta_C$  (75,4 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 176,16 (C=O); 151,87 (C-2); 140,50 (C-5a); 134,59 (C-4a); 132,85 (C-7); 125,90 (C-6); 124,06 (C-3); 121,47 (C-10a); 120,31 (C-8); 119,35 (C-9a); 118,82 (C-4); 117,18 (C-9); 108,06 (C-1) ppm.

## 6. Análogos do psoraleno a partir de dibenzotiofeno

### 6.1 Preparação de dibenzo[*b,d*]tiofen-4-ol (185)



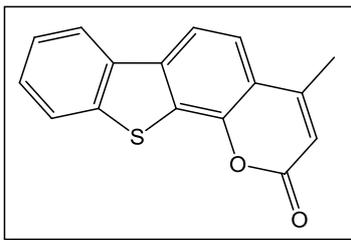
A uma solução de dibenzotiofeno (2,5 g; 13,7 mmol) e TMEDA (2,52 mL; 16,7 mmol) em éter dietílico seco (35 mL), sob agitação e atmosfera de nitrogénio adicionou-se, gota a gota, *n*-BuLi em hexano 2,5 M (5,92 mL; 14,8 mmol) à temperatura ambiente. A mistura reacional ficou sob refluxo durante 1h. Em seguida, arrefeceu-se a 0 °C e adicionou-se tributilborato (4,0 mL; 14,8 mmol), mantendo-se a 0 °C durante 40 min e à temperatura ambiente durante 1 h. Arrefeceu-se a 0 °C e adicionou-se, gota a gota, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % (5,0 mL) sob agitação vigorosa e manteve-se em refluxo durante 1 h 30 min. Após arrefecer, adicionou-se HCl 5M (5,0 mL) e separaram-se as fases. A fase orgânica foi lavada com solução fria de sulfato de amónio e ferro(II) a 10 % (2 x 50 mL) e, em seguida, extraiu-se com uma solução de NaOH 2M (2 x 100 mL) separando-se as fases. A fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e evaporada à securo obtendo-se um sólido branco que foi identificado como sendo o dibenzotiofeno. A fase aquosa foi acidificada com HCl 5M até precipitação de um sólido bege que foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o produto pretendido **185** com rendimento de 31 % (0,860 g; 0,21 mmol).

p. f.: 146 – 147 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8,28 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H, H-9); 8,00 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-1); 7,84 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-6); 7,52 (m, 2H, H-7 e H-8); 7,38 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-2); 7,03 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-3) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 153,06 (C-4); 140,38 (C-9a); 138,38 (C-5a e C-4a); 136,91 (C-9b); 127,64 (C-7 ou C-8); 126,68 (C-2); 125,25 (C-7 ou C-8); 123,78 (C-1); 122,81 (C-9); 114,01 (C-6); 112,13 (C-3) ppm.

## 6.2 Preparação de 4-metil-2H-benzo[4,5]tieno[3,2-h]cromen-2-ona (186)



A uma solução arrefecida, em banho de gelo, do composto **185** (0,200 g; 1,0 mmol) em acetoacetato de etilo (0,250 mL; 2,0 mmol) adicionou-se H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (1,5 mL) e agitou-se à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura reacional foi vertida sobre gelo e o sólido bege precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **186**, obtido com 21 % de rendimento (0,055 g; 0,21 mmol).

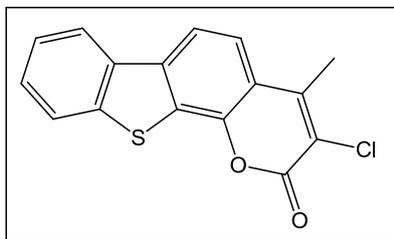
p. f.: 204 – 207 °C.

$\delta_H$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,21 (dd,  $J = 6,9$  e  $2,4$  Hz, 1H, H-7); 8,05 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-5); 7,95 (dd,  $J = 6,6$  e  $2,4$  Hz, 1H, H-10); 7,68 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-6); 7,57 – 7,52 (m, 2H, H-8 e H-9); 6,37 (d ap,  $J = 1,2$  Hz, 1H, H-3); 2,56 (d,  $J = 1,2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

$\delta_C$  (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 160,09 (C=O); 153,12 (C-4); 149,22 (C-6a); 140,91 (C-6b); 139,26 (C-11b); 134,83 (C-10a e C-11a); 127,91 (C-8); 127,01 (C-4a); 124,90 (C-9); 123,26 (C-10); 122,32 (C-7); 120,81 (C-6); 117,22 (C-5); 114,41 (C-3); 19,19 (CH<sub>3</sub>) ppm.

HRMS (ESI-TOF) C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>S: Calc. 266,04015. Obt. 267,04757 (MH<sup>+</sup>).

## 6.3 Preparação de 3-cloro-4-metil-2H-benzo[4,5]tieno[3,2-h]cromen-2-ona (187)



Arrefeceu-se, em banho de gelo uma solução do composto **186** (0,200 g; 1,0 mmol) em 2-cloro-acetoacetato de etilo (0,280 mL; 2,0 mmol) e, a seguir, adicionou-se H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

concentrado (1,5 mL) e agitou-se à temperatura ambiente durante 8 h. Verteu-se a mistura sobre gelo e houve precipitação de um sólido bege, separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **187**, com 53 % de rendimento (0,16 g; 0,53 mmol).

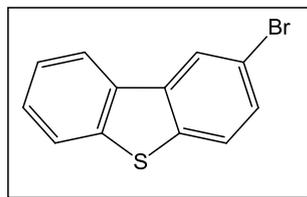
p. f.: 239 – 245 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,21 (dd,  $J = 6,6$  e  $2,4$  Hz, 1H, H-7); 8,08 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-5); 7,96 (dd,  $J = 6,6$  e  $1,8$  Hz, 1H, H-10); 7,69 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-6); 7,60 – 7,51 (m, 2H, H-8 e H-9); 2,70 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 155,02 (C=O); 148,80 (C-4); 146,17 (C-10c); 139,35 (C-6a); 138,46 (C-4a); 134,12 (C-10c); 127,94 (C-8 ou C-9); 125,04 (C-8 ou C-9); 124,96 (C-10a); 123,04 (C-10); 122,63 (C-7); 122,08 (C-6); 118,85 (C-3); 117,91 (C-5); 116,70 (C-6b); 16,09 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

HRMS (ESI-TOF)  $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{O}_2\text{SCl}$ : Calc. 300,00118. Obt. 301,00924 ( $\text{MH}^+$ ).

#### 6.4 Preparação de 2-bromodibenzo[*b,d*]tiofeno (**188**)



A uma solução de dibenzotiofeno (5,08 g; 27,5 mmol) em  $\text{CHCl}_3$  (30 mL) adicionou-se  $\text{Br}_2$  (1,50 mL; 27,5 mmol), gota a gota, e aqueceu-se a refluxo durante 4 h. Após este período, lavou-se com água (2 x 20 mL), a fase orgânica foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e evaporada à secura. Obteve-se um sólido que foi cristalizado de etanol/éter dietílico. O sólido branco precipitado foi separado por filtração, seco e identificado como sendo o composto **188**, obtido com rendimento de 44 % (3,18 g; 12,1 mmol).

p. f.: 95 – 96 °C.

$\delta_{\text{H}}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,28 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H, H-1); 8,11 (m, 1H, H-9); 7,86 (m, 1H, H-6); 7,72 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-4); 7,56 (dd,  $J = 8,4$  e 1,8 Hz, 1H, H-3); 7,50 – 7,47 (m, 2H, H-7 e H-8) ppm.

$\delta_{\text{C}}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 139,96 (C-9b); 138,04 (C-4a); 137,30 (C-9a); 134,39 (C-5a); 129,53 (C-3); 127,33 (C-7 ou C-8); 124,62 (C-7 ou C-8); 124,47 (C-1); 124,31 (C-4); 122,85 (C-6); 121,72 (C-9); 118,28 (C-2) ppm.

## Referências Bibliográficas

- Abdel, O.M.; Amin, K.M.; Abdel-Latif, N.A.; Mohamed, T.K.; Ahmed, E.Y.; Maher, T. "Synthesis and antitumor activity of some new xanthotoxin derivatives", *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2967 – 2974.
- Bagno, A.; Kantlehner, W.; Scherr, O.; Vetter, J.; Ziegler, G. "New formylation agents - preparative procedures and mechanism investigations", *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2954-2974.
- Bariamis, S.E.; Marin, M.; Athanassopoulos C.M.; Kontogiorgis, C.; Tsimali, Z.; Papaioannou, D.; Sindona, G.; Romeo, G.; Avgoustakis, K.; Hadjipavlou-Litina, D. "Syntheses and evaluation of the antioxidant activity of novel methoxypsoralen Derivatives", *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *60*, 155-169.
- Barraja, P.; Diana, P.; Montalbano, A; Carbone, A.; Viola, G.; Basso, G.; Salvador, A.; Vedaldi, A.; Dall'Acqua, F.; Cirrincione, G. "Pyrrolo[3,4-*h*]quinolinones a new class of photochemotherapeutic agents", *Bioorgan. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2326-2341.
- Baumgart, A.; Schmidt, M.; Schmitz, H-J; Schrenk, D. "Natural furocoumarins as inducers and inhibitors of cytochrome P450 1A1 in rat hepatocytes", *Biochem. Pharmacol.* **2005**, *69*, 657-667.
- Begouin, A.; Hesse, S.; Kirsch, G. "Synthesis of benzothienopyridopyrimidinones and benzothienopyrimidiisoquinolinone by microwave-assisted dehydrogenation of the corresponding tetrahydro derivatives", *ARKIVOC* **2008**, (*vii*), 84-91.
- Bhatt, M.V.; Kulkarni, S.U. "Cleavage of ethers", *Synthesis* **1983**, 249-282.
- Bhosale, S.M.; Gawade, R.L.; Puranik, V.G.; Kusurkar, R.S. "An efficient total synthesis of calothrixin B", *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 2894-2896.
- Börger, C.; Kataeva, O.; Knölker, H.-J. "Novel approach to biscarbazole alkaloids via Ullmann coupling – synthesis of murrastifoline-A and bismurrayafoline-A", *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7269-7273.
- Boumendjel, A.; Macalou, S.; Ahmed-Belkacem, A.; Blanc, M.; Di Pietro, A. "Acridone derivatives: Design, synthesis, and inhibition of breast cancer resistance protein ABCG2", *Bioorgan. Med. Chem* **2007**, *15*, 2892-2897.

Campos-Toimil, M.; Orallo, F.; Santana, L.; Uriarte, E. "Synthesis and Vasorelaxant Activity of New Coumarin and Furocoumarin Derivatives", *Bioorgan. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 783-786.

Chaya, N.; Terauchi, K.; Yamagata, Y.; Kinjo, J.; Okabe, H. "Antiproliferative constituents in plants. Coumarins and acridone alkaloids from *Boenninghausenia japonica* Nakai", *Biol. Pharm. Bull.* **2004**, *27*, 1312-1316.

Cerqueira, N.M.F.S.A. "Síntese de 2H-Cromenos Fotocrômicos baseados em Cumarina", Tese de Mestrado **2003**, Universidade do Minho, Departamento de Química.

Cerqueira, N.M.F.S.A.; Ribeiro, J.; Fernandes, P.A.; Ramos, M.J. "vsLab—An implementation for virtual high-throughput screening using AutoDock and VMD", *Int. J. Quantum Chem.* **2011**, *11*, 1208-1212.

Delmas, F.; Avellaneda, A.; Giorgio, D.; Robin, C.; Declereq, M.; Timon, P. 2 Synthesis and antileishmanial activity of (1,3-benzothiazol-2-yl)amino-9-(10H)-acridone derivatives", *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 685-690.

Farag, N.A.H. "Tetrahydrobenzo- and benzofurobenzopyrones as a new class of potential photoreagents toward DNA", *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 18-24.

Fernández-Calienes, A.; A.F.; Pellón, R.; Docampo, M.; Fascio, M.; D'Accorso, N.; Maes, L.; Mendiola, J.; Monzote, L.; Gille, L.; Rojas, L. "Antimalarial activity of new acridinone derivatives", *Biomed. Pharmacother.* **2011**, *65*, 210-214.

Ferreira, I.C.F.R.; Queiroz, M.-J.R.P.; Kirsch, G. "Novel synthetic routes to thienocarbazoles via palladium or copper catalyzed amination or amidation of arylhalides and intramolecular cyclization", *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7943-7949.

Fonseca, A.S.C.; Gonçalves, M.S.T.; Costa, S.P.G. "Light-induced cleavage of model phenylalanine conjugates based on coumarins and quinolones", *Amino Acids* **2010**, *39*, 699-712.

Fujioka, T.; Furumi, K.; Fujii, H.; Okabe, H.; Mihashi, K.; Nakano, Y.; Matsunaga, M.; Mori, M. "Antiproliferative constituents from *Umbelliferae* plants V, A new furanocoumarin and falcarindiol furanocoumarin ethers from root of *Angelica japonica*". *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 96-100.

Furuta, T.; Wang, S.S-H.; Dantzker, J.L.; Dore, T.M.; Bybee, W.J.; Callaway, E.M.; Denk, W.; Tsien, R.Y. "Brominated 7-hydroxycoumarin-4-ylmethyls: Photolabile protecting groups with biologically useful cross-sections for two photon photolysis", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1999**, *96*, 1993-1200.

Gambari, R.; Lampronti, I.; Bianchi, N.; Zuccato, C.; Viola, G.; Vedaldi, D.; Dall'Acqua, F. "Structure and biological activity of furocoumarins". *Top. Heterocyclic Chem.* **2007**, *9*, 265-276.

Gao, C.M.; Jiang, Y.Y.; Tan, C.Y.; Zu, X.Y.; Liu, H.C.; Cao, D.R. "Synthesis and potent antileukemic activities of 10-benzyl-9(10*H*)-acridinones", *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8670-8675.

Gao, C.; Liu, F.; Luan, X.; Tan, C.; Liu, H.; Xie, Y.; Jin, Y.; Jiang, Y. "Novel synthetic 2-amino-10-(3,5-dimethoxy)benzyl-9(10*H*)-acridinone derivatives as potent DNA-binding antiproliferative agents", *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 7507-7514.

Garino, C.; Pietrancosta, N.; Laras, Y.; Moret, V.; Rolland, A.; Quéléver, G.; Kraus, J-L. "BACE-1 inhibitory activities of new substituted phenyl-piperazine coupled to various heterocycles: Chromene, coumarin and quinolone", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1995-1999.

Gawron, A.; Glowniak, K. "Cystostatic activity of coumarins *in vivo*", *Planta Med.* **1987**, *53*, 526-529.

Gia, O.; Via, L.D.; Magno, S.M.; Angelinib, G.; Margonelli, A.; Rodighiero, P. "Thienocoumarin derivatives: interaction with nucleic acids and synthetic polydeoxyribonucleotides", *J. Photoch. Photobio. B* **2000**, *56*, 132-138.

Harayama, T.; Nakatsuka, K.; Nishioka, H.; Murakami, K.; Hayashida, N.; Ishii, H. a) "Convenient synthesis of a simple coumarin from Salicylaldehyde and Wittig reagent". b) "Synthesis of Bromocoumarin and Methoxycarbonylcoumarin", *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 2170-2173.

Ho, P.C.; Saville, D.J.; Wanwimolruk, S. "Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds", *J. Pharm. Pharm. Sci.* **2001**, *4*, 217-227.

Kantlehner, W. "New methods for the preparation of aromatics aldehydes", *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2530-2546.

Kawaii, S.; Tomono, Y.; Ogawa, K.; Sugiura, M.; Yano, M.; Yoshizawa, Y. "The antiproliferative effect of coumarins on several cancer cell lines", *Anticancer Res.* **2001**, *21*, 917-923.

Keyanpour-Rad, M. "Synthesis and characterization of PMMA with 4-carbazole chromophore substitution", *Iran J. Chem. Chem. Eng.* **2005**, *24*, 11-15.

Kishbaugh, T.L.S.; Gribble, G.W. "Diels-Alder reactions of 2- and 3-nitroindoles. A simple hydroxycarbazole synthesis", *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4783-4785.

Koenigs, L.; Trager, W. "Mechanism-based inactivation of P450 2A6 by furanocoumarins", *Biochemistry* **1998**, *37*, 10047-10061.

Kumar, R.; Kumari, M. "Chemistry of Acridone and its analogues: A review", *J. Chem. Pharm. Res.* **2011**, *3*(1), 217-230.

Lambertini, E.; Piva, R.; Mahmud, T.H.K.; Lampronti, I.; Bianchi, N.; Borgatti, M.; Gambari, R. "Effects of extracts from Bangladesh medicinal plants on *in vitro* proliferation of human breast cancer cell lines and expression of estrogen receptor a gene", *Int. J. Oncol.* **2004**, *24*, 419-423.

Litinas, K.E.; Symeonidis, T.S. "Convenient synthesis of fused pyrano[3,2-*h*]- and furo[3,2-*h*]benzo[*f*]coumarins from naphthalene-2,3-diol", *Tetrahedron* **2010**, *66*, 1289-1293.

Lohr, C.; Raquet, N.; Schrenk, D. "Application of the concept of relative photomutagenic potencies to selected furocoumarins in V79 cells", *Toxicol. in Vitro* **2010**, *24*, 558-566.

Manhas, M.S.; Ganguly, S.N.; Mukherjee, S.; Jain, A.K.; Bose, A.K. "Microwave initiated reactions: Pechmann coumarin synthesis, Biginelli reaction, and acylation", *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2423-2425.

Matos, M.J.; Pérez-Cruz, F.; Vazquez-Rodriguez, S.; Uriarte, E.; Santana, L.; Borges, F.; Olea-Azar, C. "Remarkable antioxidant properties of a series of hydroxy-3 arylcoumarins", *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 3900-3906.

Matz, M.D.H. "Phototherapy for psoriasis: what to choose and how to use: facts and controversies", *Clin.Dermatol.* **2010**, *28*, 73-80.

Messer, A.; Nieborowski, A.; Strasser, C.; Lohr, C.; Schrenk, D. "Major furocoumarins in grapefruit juice I: Levels and urinary metabolite(s)", *Food Chem. Toxicol.* **2011**, *49*, 3224-3231.

Móczár, I.; Peragovics, A.; Baranyai, P.; Tóth, K.; Huszthy, P. "Synthesis and fluorescence studies of novel bis(azacrown ether) type chemosensors containing an acridinone unit", *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2953-2960.

Minuti L.; Taticchi, A.; Marrocchi, A.; Lanari, D.; Gacs-Baitz, E.; Gomory, A. "Unexpected chlorination of angularly annelated [2.2]paracyclophanes during DDQ oxidation", *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 949-950.

Oliveira, A.M.A.G.; Oliveira-Campos, A.M.F.; Rodrigues, L.M.; Raposo, M.M.M.; Machado, A.E.H.; Nascimento, M.S.J.; Nazareth, N.; Pinto, M. "Synthesis and Antitumour evaluation of benzopsoralen analogues", *Chem. Biodivers.* **2007**, *4*, 980-990.

Oliveira, M.M.S. "Síntese e Propriedades Espectrocinéticas de 2H-Cromenos Derivados de Carbazoles, de Dibenzofuranos e de Dibenzotiofenos", Tese de Doutoramento **2002**, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Departamento de Química.

Oliveira, A.M.A.G.; Raposo, M.M.M.; Oliveira-Campos, A.M.F.; Griffiths, J.; Machado, A.E.H. "Synthesis of psoralen analogues based on dibenzofuran", *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 2900 – 2907.

Oliveira, A.M.A.G. "Análogos do psoraleno com um núcleo de dibenzofurano, xantona ou carbazole: síntese e aplicações", Tese de Doutoramento **2005**, Universidade do Minho, Departamento de Química.

Oliveira, A.M.A.G.; Raposo, M.M.M.; Oliveira-Campos, A.M.F.; Machado, A.E.H.; Puapairoj, P.; Pedro, M.; Nascimento, M.S.J.; Portela, C.; Afonso, C.; Pinto, M. "Psoralen analogues: synthesis, inhibitory activity of growth of human tumor cell lines and computational studies", *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 367-372.

Panno M.L.; Giordanno, F.; Palma, M.G.; Bartella, V.; Rago, V.; Maggiolini, M.; Sisci, D.; Lanzino, M.; Amicis, F.; Ando, S. "Evidence that bergapten, independently of its photoactivation, enhances p53 gene expression and induces apoptosis in human breast cancer cells", *Curr. Cancer Drug Tar.* **2009**, *9*, 469-481.

Pelkey, E.T.; Gribble, G.W. "Synthesis of 2-Nitroindoles via the Sundberg Indole Synthesis", *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5603-5606.

Reddy, M.S.; Thirupathi, N.; Babu M.H. "Synthesis of Substituted Coumarins and 2-Quinolinones by Cycloisomerisation of (Hydroxy/aminophenyl)propargyl Alcohols", *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 5803-5809.

Rogers, C.U.; Corson, B.B. "One-Step Synthesis of 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazole and 1,2-Benzo-3,4-dihydrocarbazole", *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 2910-2911.

Salvador, A.; Brognara, E.; Vedaldi, D.; Castagliuolo, I.; Brun, P.; Zuccato, C.; Lampronti, I.; Gambari, R. "Induction of erythroid differentiation and increased globin mRNA production with furocoumarins and their photoproducts", *J. Photoch. Photobio. B* **2013**, *121*, 57-66.

Serrano-Pérez, J.J.; Olaso-González, G.; Merchán, M.; Serrano-Andrés, L. "Singlet oxygen generation in PUVA therapy studied using electronic structure calculations", *Chem. Phys.* **2009**, *360*, 85-96.

Setzer, W.N.; Setzer, M.C.; Schmidt, J.M.; Moriarity, D.M.; Vogler, B.; Reeb, S.; Holmes, A.M.; Haber, W.A. "Cytotoxic components from the bark of *Stauranthus perforatus* from Monteverde, Costa Rica", *Planta Med.* **2000**, *66*, 493-494.

Shen, Q.; Peng, Q.; Shao, J.; Liu, X.; Huang, Z.; Pu, X.; Ma, L.; Li, Y-M.; Chan, A.S.C.; Gu, L. "Synthesis and biological evaluation of functionalized coumarins as acetylcholinesterase inhibitors", *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1307-1315.

Song, A.; Wang, X.; Lam, K.S. "A convenient synthesis of coumarin-3-carboxylic acids via Knoevenagel condensation of Meldrum's acid with *ortho*-hydroxyaryl aldehydes or ketones", *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1755-1758.

Sperotto, E., Klink G.P.M. van, Koten G. van, Vries, J.G. "The mechanism of the modified Ullmann reaction", *Dalton T.* **2010**, *39*, 10338-10351.

Sumiyoshi, M.; Sakanaka, M.; Taniguchi, M.; Baba K.; Kimura, Y. "Anti-tumor effects of various furocoumarins isolated from the roots, seeds and fruits of *Angelica* and *Cnidium* species under ultraviolet A irradiation", *J. Nat. Med.* **2013**, DOI 10.1007/s11418-013-0774-z.

Trost, B.M.; Toste, F.D. "A New Palladium-Catalyzed Addition: A Mild Method for the Synthesis of Coumarins", *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6305-6306.

Trost, B.M.; Toste, F.D.; Greenman, K. "Atom Economy. Palladium-Catalyzed Formation of Coumarins by Addition of Phenols and Alkynoates via a Net C-H Insertion", *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4518-4526.

Valizadeh, H.; Shockravi, A. "An efficient procedure for the synthesis of coumarin derivatives using TiCl<sub>4</sub> as catalyst under solvent-free conditions", *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3501-3503.

Valizadeh, H.; Vaghefi, S. "One-Pot Wittig and Knoevenagel Reactions in Ionic Liquid as Convenient Methods for the Synthesis of Coumarin Derivatives" *Synthetic Commun.* **2009**, *39*, 1666-1678.

Vibhute, Y.B.; Lonkar, S.M.; Sayyed, M.A.; Baseer, M.A. "Synthesis of substituted 2-hydroxyaryl aldehydes by the microwave-induced Reimer-Tiemann reaction", *Mendeleev Commun.* **2007**, *17*, 51-56.

Vilar, S.; Quezasa, E.; Santana, L.; Uriarte, E.; Yánes, M.; Fraiz, N.; Alcaide, C.; Canob, E.; Orallo, F. "Design, synthesis, and vasorelaxant and platelet antiaggregatory activities of coumarin-resveratrol hybrids", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 257-261.

Wang, X.; Lou, Y.-J.; Wang M.,-X., Shi, Y.-W.; Xu, H.-X.; Kong, L.-D. "Furocoumarins affect hepatic cytochrome P450 and renal organic ion transporters in mice", *Toxicol. Lett.* **2012**, *209*, 67-77.

Wu, J.; Zhao, M.; Qian, K.; Lee, K.,-H.; Morris-Natschke, S.; Peng, S. "Novel *N*-(3-carboxyl-9-benzyl- $\beta$ -carboline-1-yl)ethylamino acids: Synthesis, anti-tumor evaluation, intercalating determination, 3D QSAR analysis and docking investigation", *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4153-4161.

Wynberg, H.; Meijer, E.W. "The Reimer-Tiemann reaction", *Org. React.* **1982**, *28*, 1-36.

Yang, X.W.; Xu, B.; Ran, F.X.; Wang, R.G.; Wu, J.; Cui, J.R. "Inhibitory effects of 11 coumarin compounds against growth of human bladder carcinoma cell line EJ *in vitro*", *J. Chin. Integr. Med.* **2007**, *5*, 56-60.