

**Planejamento e Síntese de Derivados Amino-
acridínicos Planejados como Protótipos de Fármacos
Antineoplásicos.**

Daniel Lira da Silva

Maceió-Al
Julho de 2010

DANIEL LIRA DA SILVA

**Planejamento e Síntese de Derivados Amino-
acridínicos Planejados como Protótipos de Fármacos
Antineoplásicos.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, para a obtenção do Título de mestre em Química e Biotecnologia.

Orientador:
Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior

**Maceió – Alagoas
Julho de 2010**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel da Vale

S586s Silva, Daniel Lira da.
Planejamento e síntese de derivados amino-acridínicos planejados como protótipos de fármacos antineoplásicos / Daniel Lira da Silva, 2010.
xv, 110 f. : il. tabs., graf.

Orientador: João Xavier de Araújo Júnior.
Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió, 2010.

Bibliografia: f. [74]-82.
Apêndices: f. [83]-108.
Anexos: f. [109]-110.

1. Aminoacridinas. 2. Citotoxicidade. 3. Büchwald-Hartwig. 4. Micro-ondas.
I. Título.

CDU: 542.057



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1384, Fax (82) 3214-1384
email: cpgqb@qui.ufal.br

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **Daniel Lira da Silva**, intitulada: **“Planejamento e Síntese de Derivados Amino-Acridínicos Planejados como Protótipos de Fármacos Antineoplásicos”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 11 de junho de 2010, às 14h na Sala de Aulas do PPGQB/UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior
Orientador – PPGQB/ESENFAR/UFAL

Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti
PPGQB/IQB/UFAL

Prof.^a Dr.^a Lidia Moreira Lima
FACULDADE DE FARMÁCIA/UFRJ

Dedico este trabalho aos meus pais, irmã e avó, pois eles foram desde sempre os principais responsáveis por tudo o que sou e tudo o que conquistei!

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Fátima e José Pedro, por acreditarem em mim e por estarem ao meu lado de forma sempre incondicional em minhas escolhas, além de serem os responsáveis pela formação do ser humano que sou hoje.

À minha irmã, Dude, por também acreditar em mim e por ser, apesar de mais nova que eu, uma pessoa em quem me espelho e por quem tenho profunda admiração.

À minha Avó Júlia, que sempre me disse que eu estudava demais, mas que por isso mesmo ela agradecia a Deus todos os dias. Mesmo que, na sua simplicidade de mulher do campo, não entendesse ao certo o que vem a ser Mestrado.

Ao meu orientador Dr. João, que foi muitas vezes um pai e é responsável por esta vitória tanto quanto eu, pois, desde o início, acreditou em minha capacidade e me guiou para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Dr. Antônio Euzébio por ter me acolhido em seu laboratório, além de sempre tirar minhas dúvidas quando o professor João não estava presente no laboratório.

A minha irmãzinha, Mari, que vem comigo nesta jornada desde a graduação e que, de certa forma, foi responsável por eu hoje estar aqui.

Ao meu amigo e agora companheiro de pós-graduação, Pedro, que também participou desta conquista comigo.

Aos amigos de pós: Alex, Cláudia e Danni, importantes nesta jornada, cada um com sua particularidade.

Aos amigos de laboratório, por nossa luta diária, especialmente a Ana, Daniel, Edilson, Luciana, Érica, Milena, Edjane, Mikael e Cristiane.

A todos os professores do IQB e do PPGQB, por ministrarem seus conhecimentos e possibilitarem nossas conquistas.

Aos professores da ESENFAR: Dr^a Sâmia, Dr^a Êurica, Msc. Círia, entre outros, por contribuírem em minha formação e na vontade de ingressar na vida acadêmica.

Agradeço de forma especial à Dona Ivete, que esteve presente nos momentos mais difíceis da minha graduação, e que agora se encontra ajudando tantos outros como um doce anjo.

Agradeço também de forma especial a Aldy e Dona Margarida (Margô) que são pessoas importantíssimas para mim, além de serem fundamentais para o desenvolvimento do trabalho no laboratório, mesmo que muitas vezes eu não consiga demonstrar.

Aos amigos de longa data: Binha, Éricka, Thaísa, Roberta, Thiago, Igor, Núbia, Igla e Karine. Por estarem comigo há tanto tempo e serem meus “momentos de fuga”.

A meus tios Andréa, Campos, Leone e Alexsandra, além dos meus sobrinhos Paulo e Davi, por me apoiarem e acreditarem em mim.

Aos amigos de graduação: Allysson, Daniel, Lydiane, Carol, Dani, Valéria, Emília, Mary, Thays, Kiara, Marília, Luana, Antônio, Edmilson e Gabi. Pois, apesar termos seguido caminhos distintos, “teremos coisas bonitas pra contar”.

Aos mais novos amigos, também tão importantes, Larissa, Écio, Rodrigo, Carla e suas filhas Alexia e Maria Flor, Aida, Karina e meu sobrinho Hugo, Manu, Júnior e Sandro.

À Professora Dr^a Aline Fidelis, ao professor Dr. Mário Meneghetti e à professora Dr^a Lúcia, por suas contribuições a este trabalho.

À Martine Schmitte e Jean-Jacques Bourguignon, da Faculdade de Farmácia da Université Louis-Pasteur de Strasbourg pelo apoio ao projeto.

Ao Cyril Antheaume, da Faculdade de Farmácia da Université Louis-Pasteur de Strasbourg pela realização dos espectros de RMN, realizados naquela universidade.

Ao professor Dr. Ivan da Rocha Pitta pela participação no Projeto Renorbio e apoio financeiro ao projeto que se tornou tema da minha dissertação.

À professora Dr^a Cláudia Pessoa, ao mestrando Assuero Silva Meira, ao professor Dr. Manoel Odorico, à professora Dr^a Leticia Veras, ao doutorando Danilo Damasceno e todos os que fazem o Laboratório de Oncologia Experimental, na Universidade Federal do Ceará, por colaborarem com os testes da avaliação citotóxica.

Ao professor Dr. Edson e todos que fazem o laboratório de ressonância por ajudarem com os espectros de RMN.

E por fim, mas de modo algum menos importante, as funcionárias e estagiárias da secretaria da Pós-Graduação, principalmente à Rejane que sempre atende a todos como se fossemos seus filhos, com um carinho sem tamanho.

RESUMO

Diversos produtos naturais, sintéticos e semi-sintéticos são empregados para o tratamento de neoplasias malignas, como os derivados aminoacridínicos, a exemplo da Amsacrina. Este trabalho objetivou a síntese de aminoacridinas que pudessem atuar como possíveis protótipos de fármacos antineoplásicos. Existem na literatura diversas metodologias para a síntese de derivados aminoacridínicos, porém, dependendo da nucleofilicidade da amina substituinte estas podem ter diminuição no rendimento, até mesmo chegando a não ocorrer. Neste trabalho, foram aplicadas algumas metodologias tradicionais, que funcionaram apenas para algumas substâncias, nas quais a amina substituinte era aromática. Foram utilizadas metodologias com auxílio da irradiação por micro-ondas para as aminas alifáticas cíclicas, empregando morfolina e piperidina. Mais uma vez a síntese se limitou a essas aminas alifáticas cíclicas. A metodologia descoberta por Büchwald-Hartwig foi padronizada para ser utilizada em derivados aminoacridínicos. Foram obtidos os seguintes rendimentos: *N*-(piridin-3-il)-acridin-9-amina(92%); *N*-(6-fenilpiridin-2-il)-acridin-9-amina(77%); *N*-(pirimidin-2-il)-acridin-9-amina (85%); *N*-(pirazin-2-il)-acridin-9-amina (90%); *N*-fenilacridin-9-amina (71%); 1-(acridin-9-il)piridin-2(1*H*)-ona(77%); 9-(4-metilpiperazin-1-il)acridina (88%); 9-(piperidin-1-il)-acridina (82%); 4-(acridin-9-il)-morfolina (85%); (*E*)-2-(acridin-9-ilmetileno)-hidrazinacarboximidamida (90%) e (*E*)-2-(acridin-9-ilmetileno)aminourea (95%). Estas substâncias foram testadas quanto a sua atividade citotóxica mediante linhagens celulares tumorais (HCT-8, MDA-MB435, SF-295 e HL-60). Quatro substâncias mostraram inibição de crescimento maior que 75% em pelo menos uma destas linhagens e maior que 50% para as outras: *N*-fenilacridin-9-amina, 9-(4-metilpiperazin-1-il)acridina, 9-(piperidin-1-il)-acridina e (*E*)-2-(acridin-9-ilmetileno)-hidrazinacarboximidamida. Por este motivo tiveram suas CI_{50} determinadas, e destas apenas *N*-fenilacridin-9-amina não apresentou atividade hemolítica.

Palavras-chave: aminoacridinas; citotoxicidade; Büchwald-Hartwig; Micro-ondas.

ABSTRACT

Several natural, synthetic and semi-synthetic products are useful to treat malign neoplasias, as aminoacridinic derivatives, as Amsacrine for instance. This work had as subject the synthesis of aminoacridines that could act as newly antineoplastic prototype agents. Several methodologies exist in literature to synthesize aminoacridines derivatives, but because of differences in amine nucleophilicity, the synthesis can have low rates, even so it cannot occur. In this work, we apply some traditional methodologies to synthesize aromatic amineacridine derivatives. To synthesize aliphatic aminoacridines derivatives (with morpholine and piperidine) we apply microwave methodology. This was useful just for aliphatic amines. Büchwald-Hartwig methodology was standardized to be used in aminoacridines derivatives. The derivatives synthesized and respective yields were: *N*-(pyridin-3-yl)acridin-9-amine (92%); *N*-(6-phenylpyridin-2-yl)acridin-9-amine (77%); *N*-(pyrimidin-2-yl)acridin-9-amine (85%); *N*-(pyrazin-2-yl)acridin-9-amine (90%); *N*-phenylacridin-9-amine (71%); 1-(acridin-9-yl)pyridine-2-(1*H*)-one (77%); 9-(4-methylpiperazin-1-yl)acridine (88%); 9-(piperidin-1-yl)acridine (82%); 4-(acridin-9-yl)-morpholine (85%); (*E*)-2-(acridin-9-ylmethylene)hydrazinecarboximidamide (90%) and (*E*)-2-(acridin-9-ylmethylene)hydrazinecarbothioamide (95%). These compounds were tested against tumor cells lines (HCT-8, MDA-MB435, SF-295 and HL-60) to evaluate their cytotoxic activity. Four compounds showed growth inhibition greater than 75% at least one of these cell lines and greater than 50% in the others: *N*-phenylacridin-9-amine; 9-(4-methylpiperazin-1-yl)acridine; 9-(piperidin-1-yl)acridine and (*E*)-2-(acridin-9-ylmethylene)hydrazinecarboximidamide. By this reason they had their IC₅₀ determined, and also evaluating hemolytic activity just *N*-phenylacridin-9-amine didn't presented that one.

Keywords: Aminoacridines; cytotoxicity; Büchwald-Hartwig; microwaves.

Lista de Esquemas

Esquema 1. Esquema geral de substituição nucleofílica.....	11
Esquema 2. Evolução da utilização do paládio como catalisador em reações de acoplamento cruzado.....	18
Esquema 3. Mecanismo geral para as reações de acoplamento cruzado catalisadas por paládio.....	20
Esquema 4. Esquema geral da reação de Heck.....	21
Esquema 5. Proposta de mecanismo da reação de Heck.....	21
Esquema 6. Esquema geral da reação de Stille.....	22
Esquema 7. Esquema geral da reação de Suzuki.....	22
Esquema 8. Esquema geral da reação de Sonogashira.....	23
Esquema 9. Esquema geral da reação de Negishi.....	23
Esquema 10. Esquema geral da reação de Hiyama.....	24
Esquema 11. Esquema geral da reação de Kumada.....	24
Esquema 12. Esquema geral da reação de Büchwald-Hartwig.....	26
Esquema 13. Mecanismo geral da reação de Büchwald-Hartwig.....	27
Esquema 14. Síntese de acridona.....	32
Esquema 15. Proposta de mecanismo da síntese de acridona.....	33
Esquema 16. Síntese de 9-cloroacridina.....	34
Esquema 17. Proposta de mecanismo da síntese de 9-cloroacridina.....	35
Esquema 18. Síntese de <i>N</i> -(piridin-2-il)acridin-9-amina.....	36
Esquema 19. Mecanismo proposto para a síntese da substância 5	36
Esquema 20. Tentativa de obtenção da substância 5 e conversão à 1	37
Esquema 21. Tentativa de síntese da substância 5 , através de micro-ondas.....	37
Esquema 22. Tentativa de obtenção da substância 7 , através de metodologia descrita por ASTHANA & RASTOGI (1991).....	38
Esquema 23. Tentativa de síntese de <i>N</i> -(pirimidin-2-il)-acridin-9-amina.....	38
Esquema 24. Síntese de <i>N</i> -(piridin-3-il)-acridin-9-amina, utilizando a metodologia de Büchwald-Hartwig.....	39
Esquema 25. Síntese da substância 7 , empregando metodologia de Büchwald-Hartwig.....	40

Esquema 26. Síntese de <i>N</i> -(6-fenilpiridin-2-il)-acridin-9-amina, utilizando a metodologia de Büchwald-Hartwig.....	41
Esquema 27. Metodologia para obtenção de <i>N</i> -(pirazin-2-il)-acridin-9-amina, empregando metodologia de Büchwald-Hartwig.....	41
Esquema 28. Obtenção de <i>N</i> -fenilacridin-9-amina.....	42
Esquema 29. Obtenção da substância 11	42
Esquema 30. Obtenção da substância 12	43
Esquema 31. Síntese da substância 13 , através do uso de micro-ondas.....	45
Esquema 32. Mecanismo proposto para a síntese da substância 13	46
Esquema 33. Obtenção da substância 12	46
Esquema 34. Mecanismo proposto para a síntese de 14	47
Esquema 35. Obtenção da substância 13 , utilizando acridin-9-il trifluorometanossulfonato.....	47
Esquema 36. Síntese de 9-(piperidin-1-il)-acridina.....	48
Esquema 37. Síntese de 4-(acridin-9-il)-morfolina.....	48
Esquema 38. Mecanismo proposto para a síntese, a partir de 14 , de 13 , 15 e 16	48
Esquema 39. Síntese de 9-metilacridina.....	49
Esquema 40. Síntese de (<i>E</i>)- <i>N</i> ¹ -(acridin-9-ilmetileno)- <i>N</i> ⁴ , <i>N</i> ⁴ -dimetilbenzeno-1,4-diamina.....	49
Esquema 41. Síntese de acridina-9-carboxialdeído.....	50
Esquema 42. Síntese de (<i>E</i>)-2-(acridin-9-ilmetileno)-hidrazinacarboximidamida....	51
Esquema 43. Síntese de (<i>E</i>)-2-(acridin-9-ilmetileno)-aminoureia.....	51

Lista de Figuras

Figura 1. Secção transversal de um tumor sólido, mostrando a diminuição da concentração de oxigênio em relação à distância capilar.....	06
Figura 2. Estimativa dos tipos de neoplasia mais incidentes no Brasil para 2010....	08
Figura 3. Exemplos de fármacos antineoplásicos das mais diversas classes.....	09
Figura 4. Estruturas de dois derivados acridínicos com atividade antineoplásica, DACA e Amsacrina.....	11
Figura 5. Exemplo de reação S_N1 , mostrando a etapa determinante (etapa 1), onde 2-cloro-2-metilpropano é convertido à 2-metilpropan-2-ol.....	12
Figura 6. Exemplo de reação S_N2 , evidenciando a presença do estado de transição	13
Figura 7A. Mecanismo geral das reações S_NAr-Ad,E	13
Figura 7B. Mecanismo geral das reações S_NAr-E,Ad	13
Figura 7C. Mecanismo da reação S_N2Ar	13
Figura 8. Mecanismo de substituição aromática eletrofílica do íon <i>arenium</i>	14
Figura 9. Diferentes tipos de alquilação FC.....	15
Figura 10. Comparação entre aquecimento em micro-ondas e em banho de óleo....	19
Figura 11. Planejamento da síntese dos derivados aminoacridínicos.....	31

Lista de Tabelas

Tabela 1. Dados de RMN ^1H e ^{13}C da acridona (DMSO- d_6 , 400 MHz) em comparação aos citados na literatura, por Bouzyk, Ludwika e Blazejowski.....	34
Tabela 2. Rendimentos e tempos reacionais para as reações que utilizaram a metodologia de Buchwald-Hartwig.....	44
Tabela 3. <i>Screening</i> de avaliação de inibição do crescimento celular mediante incubação com as substâncias sintetizadas e com o controle positivo (doxorubicina) a 5 $\mu\text{g/mL}$	52
Tabela 4. Valores de CI_{50} em quatro linhagens celulares tumorais.....	53
Tabela 5. Valores de concentração inibitória média capaz de provocar hemólise em 50% dos eritrócitos das acridinas testadas.....	54

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

MW – micro-ondas

‡ - Estado de transição

BINAP – 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil

CCDA – Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCNS – Ciclo-celular não-específico

CCS – Ciclo-celular específico

CG- Citosina e Guanina

DACA – Derivado de acridina *N*-[(2-dimetilamina)etil]acridina-4-carboxamida

DMAP- 4-dimetilaminopiridina

DME – 1,2-dimetoxietano

DMEDA – *N,N'*- dimetiletilenodiamina

DPPF – 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno

FC – Friedel-Crafts

GA – Grupo abandonador

HCT-8 – Linhagem celular tumoral de cólon

HL-60 - Linhagem celular tumoral de leucemia promielocítica

MDAMB-455- Linhagem celular tumoral de melanoma

MDR – Resistência a múltiplas drogas

Me – Metil

MTT – Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazol-3-ium

Nu- Nucleófilo

OTf – Íon ou radical trifluorometanossulfonato

OAc ou AcO – Íon ou radical acetato

ppm – Partes por milhão

RMN– Ressonância Magnética Nuclear

SEAr – Substituição eletrofílica aromática

SF-295 – Linhagem celular tumoral de glioblastoma

S_N1 – Substituição nucleofílica unimolecular

S_NAr –Substituição nucleofílica aromática

S_N2 – Substituição nucleofílica bimolecular

S_NAr-Ad,E – Substituição nucleofílica aromática via adição-eliminação

S_NAr -E,Ad – Substituição nucleofílica aromática via eliminação-adição

THF – Tetraidrofurano

Δ – Aquecimento

Sumário

Resumo.....	vi
Abstract.....	vii
Lista de Esquemas.....	viii
Lista de Figuras.....	x
Lista de Tabelas.....	xi
Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas.....	xii
1. Introdução.....	1
2. Revisão de Literatura.....	4
2.1. Neoplasias Malignas.....	5
2.2. Acridinas.....	9
2.3. Substituição Nucleofílica.....	11
2.4. Considerações sobre paládio como catalisador em síntese orgânica.....	16
2.5. Micro-ondas em síntese orgânica.....	18
2.6. Reações de Acoplamento Cruzado.....	19
2.6.1. Reação de Heck.....	20
2.6.2. Reação de Stille.....	21
2.6.3. Reação de Suzuki.....	22
2.6.4. Reação de Sonogashira.....	22
2.6.5. Reação de Negishi.....	23
2.6.6. Reação de Hiyama.....	23
2.6.7. Reação de Kumada.....	24
2.6.8. Reação de Büchwald-Hartwig.....	25
3. Objetivos.....	28
3.1. Objetivo geral.....	29
3.2. Objetivos específicos.....	29
4. Resultados e Discussão.....	30
4.1. Obtenção de cloroacridinas.....	32
4.1.1. Síntese de acridona.....	32
4.1.2. Síntese de 9-cloroacridina.....	34
4.2. Obtenção de derivados acridínicos contendo aminas aromáticas.....	35
4.3. Obtenção de derivados acridínicos contendo aminas alifáticas.....	44

4.4. Obtenção de acridinas 5-hidrazinoguanidinas.....	48
4.4. Avaliação da atividade citotóxica.....	50
5. Conclusões e perspectivas.....	56
6. Experimental.....	58
6.1. Síntese.....	59
6.1.1. Obtenção de 10,10a-diidroacridina-9(8aH)-ona (Acridona).....	60
6.1.2. Obtenção de 9-cloroacridina.....	60
6.1.3. Obtenção de <i>N</i> -(piridin-2-il)-acridin-9-amina.....	61
6.1.4. Obtenção de <i>N</i> -(piridin-3-il)-acridin-9-amina.....	62
6.1.5. Obtenção de <i>N</i> -(6-fenilpiridin-2-il)-acridin-9-amina.....	62
6.1.6. Obtenção de <i>N</i> -(pirimidin-2-il)-acridin-9-amina.....	63
6.1.7. Obtenção de <i>N</i> -(pirazin-2-il)-acridin-9-amina.....	64
6.1.8. Obtenção de <i>N</i> -fenilacridin-9-amina.....	64
6.1.9. Obtenção de <i>N</i> -(6-cloropiridin-2-il)-acridin-9-amina.....	65
6.1.10. Obtenção de 1-(acridin-9-il)piridin-2-(1 <i>H</i>)-ona.....	66
6.1.11. Obtenção de 9-(4-metilpiperazin-1-il)acridina.....	66
6.1.12. Obtenção de acridin-9-il trifluorometanossulfonato.....	67
6.1.13. Obtenção de 9-(piperidin-1-il)-acridina.....	68
6.1.14. Obtenção de 4-(acridin-9-il)-morfolina.....	68
6.1.15. Obtenção de 9-metilacridina.....	68
6.1.16. Obtenção de (<i>E</i>)- <i>N</i> ¹ -(acridin-9-ilmetileno)- <i>N</i> ⁴ , <i>N</i> ⁴ -dimetilbenzeno-1,4-diamina.....	69
6.1.17. Obtenção de acridina-9-carboxialdeído.....	70
6.1.18. Obtenção de (<i>E</i>)-2-(acridin-9-ilmetileno)-hidrazinacarboximidamida.....	70
6.1.19. Obtenção de (<i>E</i>)-2-(acridin-9-ilmetileno)-aminoureia.....	71
6.2. Ensaio biológicos.....	71
6.2.1. <i>Screening</i>	72
6.2.2. Determinação de <i>Cl</i> ₅₀	72
6.2.3. Avaliação da Atividade Hemolítica.....	73
Referências.....	75
Apêndice.....	83
Anexos.....	109

1. Introdução

1. Introdução

Aminas aromáticas desempenham papel fundamental em vários campos, dentre eles o da indústria farmacêutica, o da indústria de produtos químicos para a agricultura, na área de fotografia, pigmentos e materiais eletrônicos. Em lista divulgada em 1994, na qual estavam listados os vinte produtos farmacêuticos mais vendidos (em anexo), um número significativo deles era de compostos contendo aminas aromáticas (WOLFE et al. 1998; CHRISTENSEN, KIIL & DAM-JOHANSEN, 2006). Em 2001, estavam disponíveis comercialmente mais de 25 antidepressivos e mais de 15 antipsicóticos que continham a subunidade *N*-arilaminas como parte das suas estruturas (CHRISTENSEN, KIIL & DAM-JOHANSEN, 2006).

Peck e colaboradores, em 1964, publicaram um artigo relatando a síntese de derivados contendo mostardas nitrogenadas após evidenciar que compostos antimaláricos, relatados em estudos anteriores ao deles e que eram constituídas de acridinas e quinolinas, apresentavam localização preferencial em tecidos específicos a depender do anel heterocíclico usado. Desse modo utilizaram derivados acridínicos como carreadores para que as mostardas nitrogenadas sintetizadas pudessem atingir tumores nesses tecidos. Desde então, acridinas têm sido sintetizadas para as mais diversas aplicações. Além disso, aos derivados acridínicos, encontrados na literatura, são atribuídas atividades antibacteriana, antimalárica, anti-helmíntica, antineoplásica, entre outras (LEE et al. 2007).

A síntese de *N*-arilaminas envolve uma gama de rotas sintéticas, diversas delas com o emprego de catalisadores metálicos, como por exemplo, paládio, níquel e cobre. Uma dessas metodologias foi desenvolvida por Büchwald e Hartwig em 1995. Porém os estudos modernos da química de acoplamento cruzado catalisado por paládio já tinham sido estimulados quando, Kosugi, Kameyama e Migita, em 1983, publicaram um relatório sobre acoplamento de amidas de estanho com haletos de arila, catalisado por paládio (HARTWIG, 2008).

A aminação de brometos de arila (além de cloretos e ariltriflatos) na presença de paládio tem utilizado amplamente micro-ondas como fonte de calor (HEO, SONG & KIM, 2005). Um dos maiores atrativos da síntese utilizando micro-ondas é a

altavelocidade com a qual a síntese é concluída. Uma prova da popularidade de micro-ondas em síntese é que, em aproximadamente 20 anos desde o primeiro relato que utilizava micro-ondas para aquecimento das reações, 2000 artigos foram publicados (KAPPE, 2004).

Reações que empregam aquecimento assistido por micro-ondas, sob condições controladas, são uma tecnologia valiosa para a química medicinal e aplicações da descoberta da droga, porque muitas vezes reduzem drasticamente os tempos de reação, geralmente de dias ou horas para minutos ou mesmo segundos (KAPPE & DALLINGER, 2006).

A Organização Mundial de Saúde estima que em 2030 o número de novos casos ultrapassará 15 milhões de casos, mostrando a importância de estudos que envolvam a descoberta de novas drogas para o tratamento de neoplasias (<http://www.who.int/features/qa/15/en/index.html>). É necessária a obtenção de novas substâncias antineoplásicas ou que sejam feitas modificações estruturais em substâncias existentes para que haja melhora de eficácia, diminuição de efeitos colaterais, etc. Muitas vezes, as metodologias tradicionais não atendem às necessidades de construção de padrões moleculares inéditos, ou não são reprodutíveis para qualquer tipo de substrato e/ou reagentes, de modo que, são necessárias alterações nos processos sintéticos já descritos a fim de viabilizar a obtenção de moléculas através de métodos mais eficazes, porém utilizando metodologias mais limpas, como o uso de micro-ondas, permitindo uma química limpa, conseqüentemente protegendo o meio-ambiente.

2. Revisão de Literatura

2. Revisão de Literatura

2.1. Neoplasias malignas

Câncer é o termo genérico utilizado para um grupo de mais de 100 doenças que se caracterizam por um crescimento desordenado de células (WHO, 2006a; INCA, 2008a; ABRALE, 2009). O termo científico adotado é neoplasia maligna (ALMEIDA et al., 2005). Estas células anormais podem se disseminar para outros órgãos e tecidos, originando tumores malignos (outra denominação para este grupo de doenças) em diversas regiões do corpo, processo este conhecido por metástase (WHO, 2006a; INCA, 2008a; ABRALE, 2009). Ao contrário do maligno, o tumor benigno é caracterizado por um amontoado celular de crescimento semelhante a células normais e que não trazem risco de vida (INCA, 2008a).

Existem algumas diferenças entre as células normais e as neoplásicas malignas. São elas:

1) a célula neoplásica maligna não possui limite de crescimento celular, isto ocorre porque estas não requerem todos os fatores de crescimento necessários para que as células normais cresçam;

2) Possuem a tendência de migrar pelos tecidos, entrar na corrente sanguínea e ser transportadas para outros órgãos onde podem gerar novo foco de crescimento celular neoplásico maligno;

3) Elas têm ainda a habilidade de produzir fatores angiogênicos que permitem o crescimento de novos vasos sanguíneos que as nutrirão, possibilitando assim o crescimento do tumor maligno (GUYTON & HALL, 2006);

4) As células neoplásicas malignas possuem altos níveis de expressão de telomerase, conferindo-as imortalização celular, pois por ação desta enzima conseguem escapar do ciclo celular normal, aumentando o tempo de replicação (PARSONS, 2003).

A estrutura de um tumor não se resume em um amontoado celular em constante proliferação. Frequentemente as células tumorais preenchem apenas uma pequena parte

do volume total do tumor (menos da metade deste volume). A rede vascular presente no interior da massa tumoral ocupa apenas de 1 a 10%. O espaço restante é preenchido por matriz rica em colágeno (interstício) que circunda as células neoplásicas, muitas vezes, separando-as da vascularização (FIGURA 1, pág.06) (OLIVEIRA& ALVES, 2002).

O processo de formação da neoplasia maligna, denominado carcinogênese, ocorre, geralmente, de maneira lenta e pode levar vários anos para que uma célula neoplásica se prolifere e dê origem a um tumor visível. São vários os estágios que estas células passam antes de serem consideradas um tumor propriamente dito, entre eles: estágio de iniciação ou primeiro estágio, onde células sofrem a ação de agentes cancerígenos passando para a fase seguinte; estágio de promoção, onde as células iniciadas são transformadas em malignas; e estágio de progressão, é neste que as células apresentam uma multiplicação descontrolada e irreversível, este é o último estágio (INCA, 2008c).

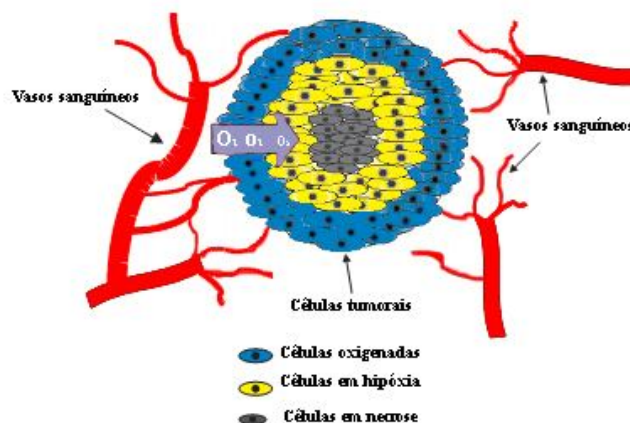


FIGURA 1. Secção transversal de um tumor sólido, mostrando a diminuição da concentração de oxigênio em relação à distância capilar (FONTE: OLIVEIRA & ALVES, 2002; modificada).

O descontrole da proliferação celular pode ocorrer por duas rotas mutacionais, pode haver hiperativação de um gene estimulador ou, então, a inativação de um gene inibidor. O gene responsável pela codificação de fatores que estimulam a proliferação celular se chama proto-oncogene. Já o termo oncogene se refere a um proto-oncogene que, quando alterado e ativado, codifica fatores que estimulem a proliferação celular (VIDEIRA et al. 2002).

Sabe-se que as causas do surgimento de neoplasia são variadas, podendo ser externas, relacionadas, por exemplo, ao meio ambiente; ou internas que, na maioria das vezes, são geneticamente pré-determinadas e estão ligadas à capacidade de defesa do organismo (SCULLY, FIELD & TANAKA, 2000; INCA, 2008b).

No ano de 2005, das 58 milhões de mortes ocorridas no mundo, o câncer foi responsável por aproximadamente 7,6 milhões e destas, mais de 70% ocorreram em países com média ou baixa renda (BRASIL, 2007; WHO, 2006a). No Brasil são esperados, para 2010, 489.270 novos casos de câncer, conforme mostrado na figura 2 (pág. 08), que não leva em consideração o tipo de câncer de pele do tipo não melanoma, para este são esperados 114 mil novos casos (BRASIL, 2010). Uma estimativa feita para o ano de 2020 mostra que, neste ano, o número de novos casos será em torno de 15 milhões, e que 60% destes surgirão em países em desenvolvimento (BRASIL, 2007). Ainda em estimativa, acredita-se que o número de mortes devidas ao câncer continue crescendo já que em 2015 este número chegará a 9 milhões e em 2030 a 11,4 milhões de mortes (WHO, 2006a).

O tratamento das neoplasias malignas tem como objetivos a cura, o prolongamento da vida e/ou um melhoramento na qualidade de vida. Dentre os tipos de tratamento disponíveis podem ser citados a quimioterapia, a radioterapia, cirurgia, tratamento hormonal, etc. (WHO 2006b).

A aniquilação das células neoplásicas malignas é o principal objetivo da quimioterapia, sem que haja dano algum para as células normais. Contudo, os agentes quimioterápicos, em sua grande parte, não agem especificamente, o que gera danos tanto às células normais, principalmente células com alta velocidade de crescimento, como as gastrointestinais, as capilares e as do sistema imunológico, quanto às neoplásicas malignas. Esta falta de seletividade é a razão de grande parte dos efeitos colaterais da quimioterapia como, náusea, perda de cabelo e supressão imunológica (ALMEIDA et al., 2005).

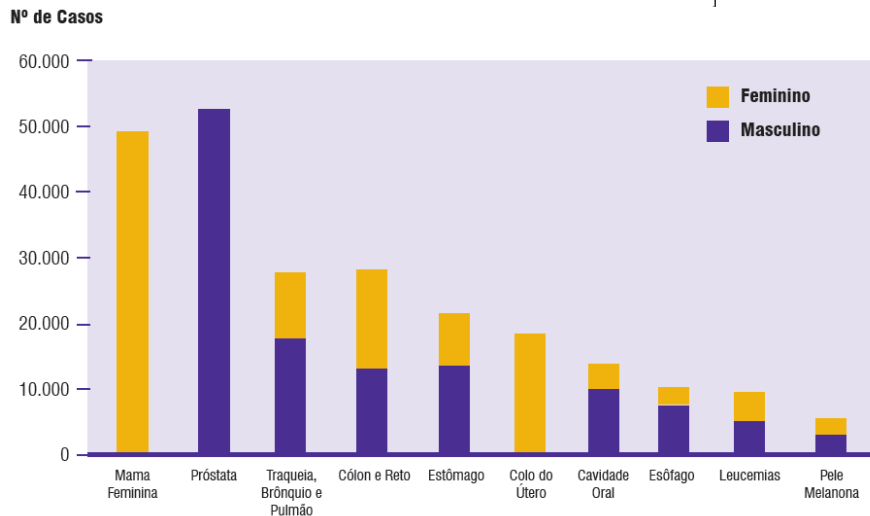


FIGURA 2. Estimativa dos tipos de neoplasia mais incidentes no Brasil para 2010. (BRASIL, 2010).

Muitos agentes quimioterápicos agem sobre as células que se encontram em uma das fases do ciclo celular e, por isso, recebem a denominação **ciclo-celular específico** (CCS), dentre eles os agentes antimetabólitos, os agentes hormonais e alguns produtos naturais. Os agentes quimioterápicos que exterminam células mesmo que elas estejam fora do ciclo celular ou que estejam em repouso (G_0), são chamados **ciclo-celular não-específicos** (CCNS), como os agentes alquilantes, os complexos de coordenação de platina e também alguns produtos naturais (ALMEIDA et al. 2005; CALABRESI & CHABNER, 2005).

Os agentes antimetabólicos exercem seus efeitos bloqueando a síntese de DNA, sendo deste modo, restritos à fase S do ciclo celular. Existem diversos fármacos que fazem parte desta subclasse, podendo ser citados os antagonistas das pirimidinas, os inibidores das purinas e o análogo do ácido fólico (ALMEIDA et al. 2005). Os agentes hormonais são fármacos que suprimem a secreção de hormônios ou antagonizam sua ação, dentre eles os glicocorticoides, os estrogênios, os progestogênios, entre outros. Os produtos naturais, ou fármacos obtidos a partir de produtos naturais, agem, de modo geral, afetando especificamente a função dos microtúbulos e, conseqüentemente, a formação do fuso mitótico. Já os agentes alquilantes atuam através da formação de ligações covalentes com o DNA, impedindo assim, a replicação. Os complexos de

coordenação de platina agem de forma semelhante aos agentes alquilantes (RANG et al. 2004). Existem ainda fármacos que não se encaixam nessas classificações, estes são chamados de agentes diversos, e entre eles encontram-se os derivados acridínicos. As estruturas de alguns desses fármacos podem ser vistas na figura 3 (pág. 09).

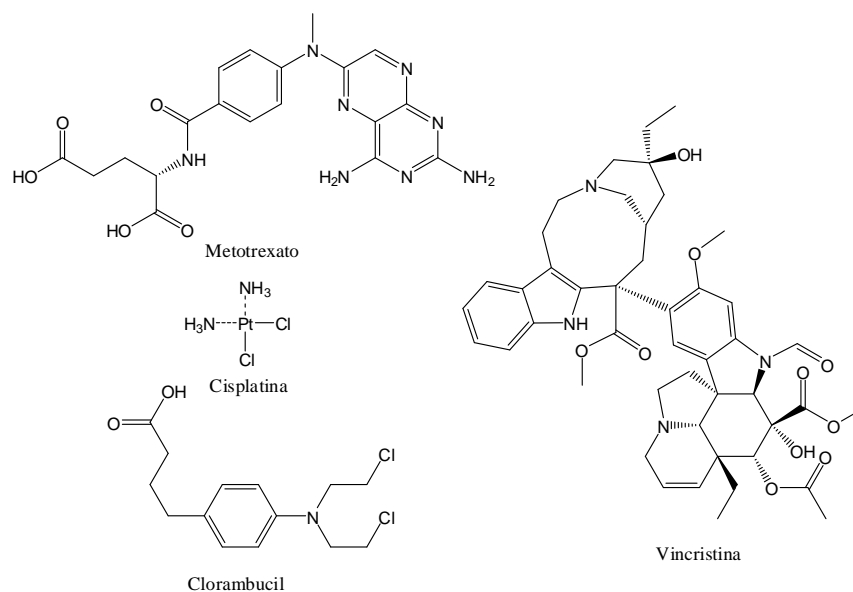


FIGURA 3. Exemplos de fármacos antineoplásicos das mais diversas classes.

2.2. Acridinas

Os derivados de acridina desempenham papel importante na classe de fármacos antineoplásicos que se intercalam no DNA, caracterizados estruturalmente pela presença de uma porção plana ou semi-plana, possivelmente capaz de se intercalar no DNA. O sistema de anéis tricíclicos lineares da acridina a tornam uma molécula versátil na síntese desta família de agentes antitumorais (ANTONINI et al. 2002). Estes compostos ficam ligados ao DNA por forças de van der Waals, mais especificamente a parte dos anéis heterocíclicos, que são complementadas por fortes ligações iônicas, formadas com o nitrogênio secundário presente na cadeia aberta dos substituintes, com os íons fosfatos da cadeia do DNA (RAJENDRAN & NAIR, 2006).

Até agora, a única esperança para a cura de neoplasias malignas sistêmicas, desde que sejam descobertas em estágios iniciais, como leucemia, linfoma, e tumores

unifocais que se espalharam por metástase, reside em tratamentos sistêmicos, como quimioterapia e imunoterapia, sendo o primeiro de grande importância clínica. Infelizmente, o uso prolongado de agentes quimioterápicos muitas vezes leva ao aparecimento de populações de células resistentes a múltiplos fármacos. Esse fenômeno, conhecido como "resistência a múltiplas drogas" (MDR, do inglês, *Multidrug Resistance*), constitui atualmente o principal problema para alcançar a cura dos pacientes. Embora o problema da MDR das células tumorais seja conhecida há quase 30 anos, ele ainda não foi contornado com sucesso na clínica, justificando a constante busca por novos fármacos citotóxicos.

Em 1995, ANTONINI e seu grupo de pesquisadores publicaram um artigo descrevendo a síntese e atividades biológicas de compostos derivados de acridina obtidos a partir da fusão de 9-acridona e uracila, como novos agentes antineoplásicos ativo em uma linha de células MDR, citostáticos e que exibem atividade antitumoral (ANTONINI et al. 1999).

O primeiro interesse médico em fármacos que agem intercalando o DNA foi devido ao seu potencial como drogas antineoplásicas, em 1978, o derivado de acridina *m*-ansacrina se tornou o primeiro agente intercalante de DNA sintético utilizado com sucesso clínico (CHEN et al. 2005B). Os derivados de acridina têm sido amplamente estudados como potenciais agentes quimioterápicos, devido à sua capacidade de intercalação no DNA, levando à inibição da topoisomerase II em mamíferos. Entre eles, a *N*-[4-(acridin-9-ilamino)-3-metoxifenil]-metanossulfonamida (ansacrina, *m*-AMSA) (FIGURA 4, pág. 11) tem sido especialmente relevante, e tornando-se um fármaco útil para o tratamento clínico da leucemia e de linfomas. Desde então, muitos esforços têm sido dirigidos para a concepção e preparação de novos análogos de ansacrina, com o objetivo de desenvolver novos fármacos com melhoria na atividade antitumoral (CHEN et al. 2002; CHEN et al. 2004; RODRIGUEZ-LOAIZA et al. 2004; CHEN et al. 2005A).

O composto derivado de acridina *N*-[(2-dimetilamino)etil]acridina-4-carboxamida (DACA) (FIGURA 4, pág. 11) é um agente intercalante de DNA com atividade inibitória sobre as enzimas topoisomerase I e topoisomerase II. Este tem um amplo espectro de atividade contra tumores sólidos em animais, não é afetado pela MDR mediada pela P-glicoproteína e, em 1997, estava em ensaios clínicos como um fármaco anticancerígeno (GAMAGE et al. 1997). Estudos de relação estrutura-atividade

(do inglês, *structure-activity relationship*, SAR), de inibidores da DNA-topoisomerase II, sugeriram uma correlação positiva entre a potência citotóxica e a força de ligação reversível ao DNA (GARG, DENNY & HANSCH, 2000; GAMAGE et al. 1999).

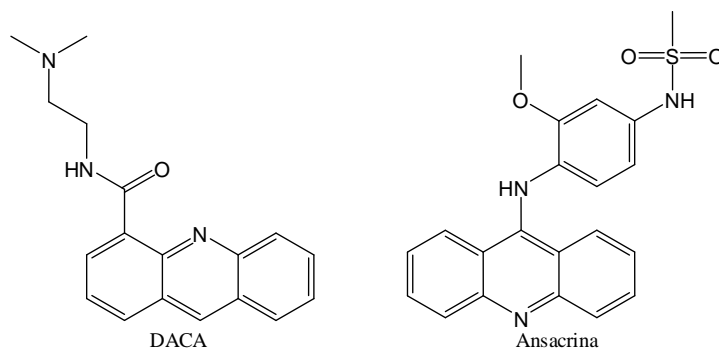


FIGURA 4. Estruturas de dois derivados acridínicos com atividade antineoplásica, DACA e Ansacrina.

2.3. Substituição nucleofílica

Dentre todas as reações da química orgânica, uma das mais importantes é a substituição nucleofílica, caracterizada pelo ataque de um nucleófilo, que traz um par de elétrons para o substrato que contém um grupo abandonador que, ao deixá-lo, leva consigo um par de elétrons, como ilustrado no esquema 1 (pág. 11). O nucleófilo deve possuir um par de elétrons desemparelhados para que haja a substituição, sendo por isso uma base de Lewis (SMITH & MARCH, 2007; FESSENDEN & FESSENDEN, 1993; KATRITZKY & BRYCKI, 1990). O termo nucleofilicidade se refere à capacidade de uma base de Lewis em participar de uma reação de substituição nucleofílica, este é utilizado para descrever as direções das taxas de reações de substituição que são atribuíveis às propriedades do nucleófilo (CAREY & SUNDBERG, 2007^a).



ESQUEMA 01. Esquema geral de substituição nucleofílica (FONTE: CAREY & SUNDBERG, 2007^a).

Existem diversos mecanismos pelos quais as reações de substituição nucleofílica podem ocorrer em face de diferentes substratos, nucleófilos, grupos abandonadores, etc., porém os mais comuns são a Substituição Nucleofílica Unimolecular e a Substituição Nucleofílica Bimolecular (S_N1 e S_N2 , respectivamente) (SMITH & MARCH, 2007; CAREY & SUNDBERG, 2007^a).

A S_N1 se caracteriza por formar intermediários com caráter iônico. Ela é chamada unimolecular devido à dissociação da molécula do substrato em dois íons ser a etapa determinante da reação, isto é, ela irá controlar a velocidade com qual a reação de substituição irá ocorrer (VOLLHARDT & SCHORE, 1999; FESSENDEN & FESSENDEN, 1993). Esta dissociação leva à formação de um intermediário e é ele que determina a velocidade da reação (FIGURA 5, pág. 12)(SMITH & MARCH, 2007). Já a reação S_N2 se caracteriza por haver, simultaneamente, a quebra da ligação existente entre o grupo abandonador da molécula do substrato e a formação de ligação entre nucleófilo e substrato, ou seja, há um estado de transição entre as moléculas envolvidas (FIGURA 6, pág. 13). Como há esta simultaneidade de quebra e formação de ligações entre as duas moléculas esta é chamada bimolecular, não havendo a formação de intermediários reacionais, então a velocidade com que a reação ocorre é determinada pela velocidade na qual há quebra e formação de ligação (SMITH & MARCH, 2007; VOLLHARDT & SCHORE, 1999b).

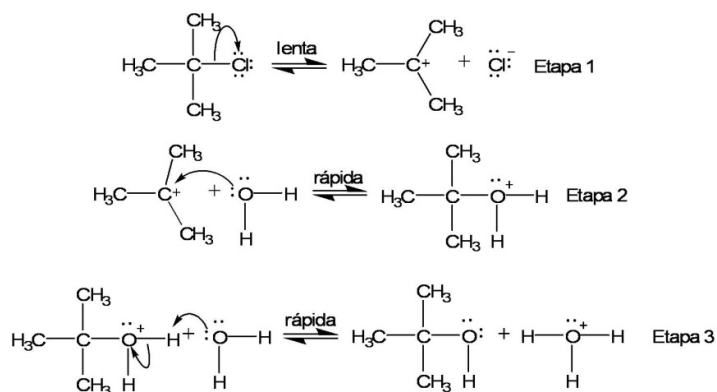


FIGURA 5. Exemplo de reação S_N1 , mostrando a etapa determinante (etapa 1), onde 2-cloro-2-metilpropano é convertido à 2-metilpropano-2-ol (FONTE: SOLOMONS, 2000, modificada).

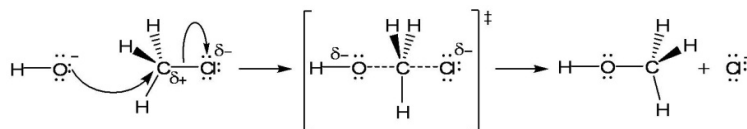


FIGURA 6. Exemplo de reação S_N2 , evidenciando a presença do estado de transição (FONTE: SOLOMONS, 2000, modificada).

Outro tipo de reação de substituição (SN) é a SN-aromática, seu mecanismo de ação é por via adição-eliminação, S_NAr -Ad,E, que ocorre envolvendo a formação de intermediário, conforme ilustra a figura 7A (pág. 13). A sequência inversa, a via de eliminação-adição, S_NAr -E,Ad, descrita pelos pesquisadores Wu e Glaser, em 2004, é mais rara e é referida como mecanismo unimolecular (FIGURA 7B, pág. 13). Esta nomenclatura implica que a eliminação é essencialmente completa no momento da adição do nucleófilo. Este mecanismo de reação é o equivalente aromático da substituição nucleofílica unimolecular em centros sp^3 , mais indicado como S_N1Ar . No entanto, há uma terceira opção, o processo bimolecular em que a eliminação do grupo abandonador e a adição do nucleófilo ocorrem ao mesmo tempo e sem formação de um intermediário (FIGURA 7C, pág. 13). Essa reação é o equivalente aromático da substituição nucleofílica bimolecular pela frente em centros sp^3 . Este mecanismo de reação é denominado como S_N2Ar . O intermediário do processo S_NAr -Ad,E e a estrutura do estado de transição do mecanismo S_N2Ar são topologicamente a mesma, porém elas diferem nas ligações carbono-nucleófilo e carbono-grupo abandonador. Ambas devem ser curtas no intermediário e no mecanismo S_N2Ar estão envolvidas duas ligações parciais. (WU & GLASER, 2004).

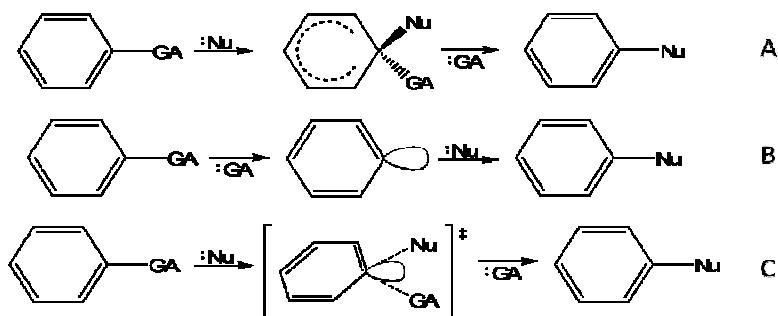


FIGURA 7. A) Mecanismo geral das reações S_NAr -Ad,E; B) Mecanismo geral das reações S_NAr -E,Ad e C) Mecanismo da reação S_N2Ar (FONTE: WU & GLASER, 2004, modificada).

Além das reações de S_NAr também são conhecidas as reações de substituição eletrofílica aromática (SEAr), tais como nitração, halogenação e acilação de Friedel-Crafts (BUNNETT & ZAHLER, 1951). As reações de SEAr constituíram uma parte vital na “construção” de derivados aromáticos substituídos. Claramente, o mecanismo mais simples e mais geral de SEAr em solução é o mecanismo de íons chamados *arenium*, ilustrado na figura 8 (pág. 14) (YAO et al. 2008).

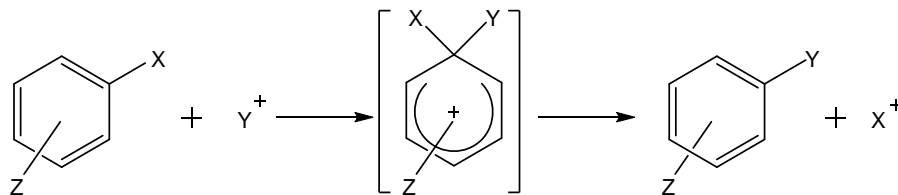


FIGURA 8. Proposta de mecanismo de substituição eletrofílica do íon *arenium* (FONTE: YAO et al. 2008, modificada).

Há mais de 100 anos Friedel e Crafts relataram a química de substituição aromática eletrofílica. No entanto, esta área da química orgânica continua sendo pesquisada, tanto para fins de estudos mecanísticos quanto em aplicações em síntese orgânica (ZHANG et al. 2003). As acilações inter e intramoleculares de Friedel-Crafts (FC) são métodos comuns para a formação de ligação carbono-carbono e são objetos contínuos de investigação. A reação FC tem sido amplamente utilizada na síntese de cetonas aromáticas e cíclicas, que são importantes intermediários sintéticos nas indústrias químicas e farmacêuticas (KANGANI & DAY, 2008; FIROUZABADI, IRANPOOR & NOWROUZI, 2004).

A alquilação de alcenos via FC é uma das reações mais importantes na formação das ligações carbono-carbono em química orgânica. Com base no tipo de reação, a alquilação FC pode ser classificada como (i) reação de arenos com alcenos não funcionalizados utilizando carbocátions como intermediários; (ii) reação de alcenos deficientes em elétrons via adição 1,4-conjugada; (iii) reação de arenos com compostos intermediários estáveis derivados de alcenos, como epóxidos; e (iv) reação com intermediários reativos gerados *in situ* a partir de íons de alcenos como três halogênios, conforme o esquema mostrado na figura 9 (pág. 15) (HAJRA, MAJI & BAR, 2007).

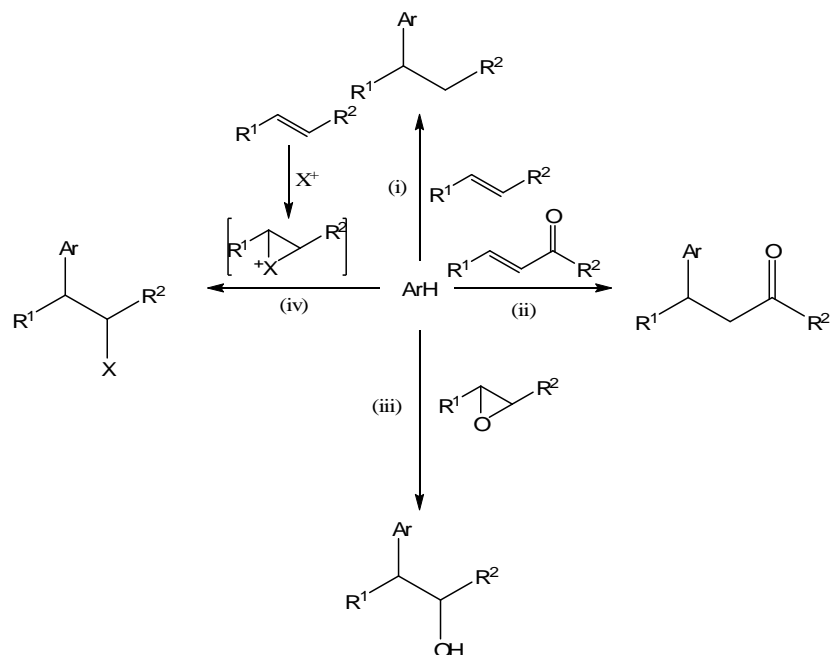


FIGURA 9. Diferentes tipos de alquilação via FC (FONTE: HAJRA, MAJI & BAR, 2007, modificada).

Dentre as alquilações, pode ser citada a reação de substituição aromática catalisada por metal de transição, já que outros mecanismos de substituição aromática não são suficientemente eficientes para compostos aromáticos halogenados que não possuam um substituinte ativador (CAREY & SUNDBERG, 2007b). Embora tenham ocorrido avanços significativos na substituição aromática catalisada por metal envolvendo aminas (ou amidas) e haletos de arila durante a última década, a aplicação de acoplamento em várias estruturas heterocíclicas ainda é um processo relativamente inexplorado (AUDISIO et al. 2007).

A importância histórica de aminas aromáticas, que se reflete também na sua importância industrial, despertou o interesse no desenvolvimento de métodos para a sua produção. Ao longo dos anos inúmeros métodos extremamente úteis para a formação da ligação C-N em arilas foram criados. Nenhum desses, porém, estão isentas de desvantagens em termos de dificuldades das condições de reação empregada, generalidade, confiabilidade e custo (WOLFE et al. 1998). Um grande esforço tem sido

dedicado à descoberta de catalisadores eficientes para a substituição por nucleófilos com átomos doadores de oxigênio e nitrogênio (CAREY & SUNDBERG, 2007b).

2.4. Considerações sobre paládio como catalisador em síntese orgânica

Entre os desenvolvimentos mais importantes em síntese orgânica pode-se citar o advento de processos de acoplamento cruzado catalisado por paládio e níquel (WOLFE et al. 1998). Existe uma tendência crescente em aplicar métodos empregando catalisadores para a síntese e produção de compostos químicos, como agrotóxicos e produtos farmacêuticos (BLASER et al. 2001). O impacto das reações cruzadas catalisadas por paládio tem sido considerável e continua a ser o foco de muitas pesquisas na área de catálise. É quase impossível, nos dias de hoje, encontrar um volume de uma revista, no domínio da química orgânica ou organometálica, sem uma contribuição destas reações cruzadas. Devido à sua ampla aplicabilidade para a formação da ligação C-C, estas fazem parte do arsenal de químicos sintéticos. Como consequência de sua versatilidade, a indústria química vem investindo nesses métodos, sendo muitos já patenteados (MARION & NOLAN, 2008).

As transformações orgânicas mediadas por paládio, como as reações de Suzuki-Miyamura, Heck e Büchwald-Hartwig, são poderosos métodos sintéticos para a formação de ligações carbono-carbono e carbono-heteroátomo (ZHANG & NAGASHIMA, 2006). Mais especificamente, as ligações entre carbono e nitrogênio, carbono e oxigênio, e carbono e enxofre, que são geralmente preparadas usando paládio como catalisador, e em menores proporções com outros metais de transição como cobre e níquel. Pesquisadores como Büchwald, Hartwig, entre outros, têm se destacado no desenvolvimento dessas reações (BRAVO-ALTAMIRANO, HUANG & MONTCHAMP, 2005).

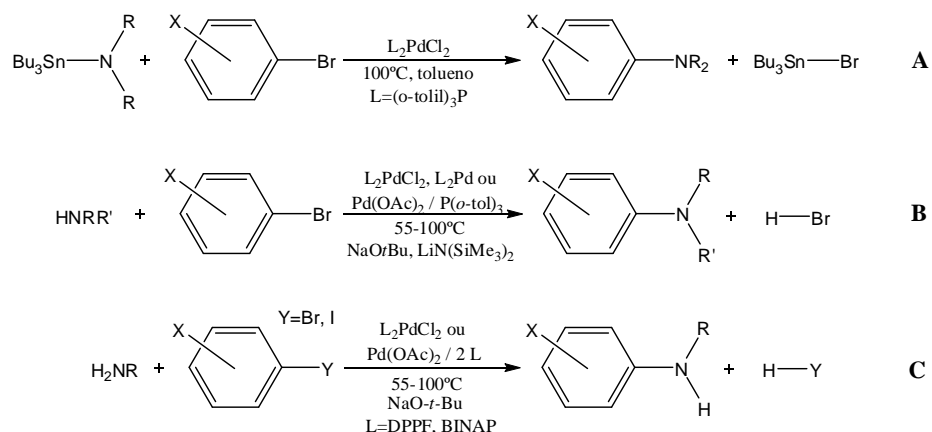
Os catalisadores homogêneos de paládio têm várias vantagens importantes: 1) muitos precursores de metais diferentes são conhecidos e estão disponíveis; 2) paládio forma complexos com grande variedade de ligantes orgânicos, com átomos de fósforo, de nitrogênio e de oxigênio; 3) muitos desses complexos são relativamente fáceis de preparar e manipular; 4) muitas reações catalisadas dão resultados confiáveis e são

fáceis de executar em equipamentos comuns; 5) há boa tolerância a grupos funcionais. A lista de transformações sinteticamente útil é agora verdadeiramente impressionante e explica porque a catálise utilizando paládio encontrou o seu lugar no repertório de tantos químicos orgânicos (BLASER et al. 2001).

Uma estratégia interessante para introduzir substituintes vinila, arila, arilamino ou alquilamino, que serviriam como eventuais grupos farmacofóricos (que se referem ao arranjo tridimensional de átomos ou grupos funcionais necessários para a ligação de um composto em uma enzima ou receptor específico), é usar a química de paládio. Desta forma, novas ligações C-C e C-N poderiam ser facilmente obtidas na fase final da rota de síntese dos compostos-alvo (BALLET et al. 2007).

Os primeiros estudos modernos da química de acoplamento catalisada por paládio para formar aminas foram estimulados por trabalhos de pesquisadores como Kosugi, Kameyama, e Migita sobre o acoplamento de amidas de estanho com haletos de arila catalisada por paládio e a tri-orto-toluilfosfina (ESQUEMA 2A, pág. 18). Protocolos práticos para o acoplamento de aminas com haletos de arila, na presença de uma base e um catalisador (ESQUEMA 2B, pág. 18), foram publicados, em 1995, pelos laboratórios de Büchwald e de Hartwig. Este novo procedimento eliminou a necessidade dos tóxicos e relativamente instáveis reagentes de estanho aminados. Começou-se então a incluir reações de aminas primárias através do trabalho no laboratório de Büchwald e no laboratório de Hartwig com catalisadores e como ligantes as bisfosfinas aromáticas (ESQUEMA 2C, pág. 18) (HARTWIG 2008).

Existem alguns indícios que mostram que as espécies precursoras de catalisadores de paládio para as reações de acoplamento cruzado são, na realidade, nanoestruturas de Pd[0] e não formas moleculares do metal (CASSOL et al. 2005).



ESQUEMA 2. Evolução na utilização de paládio como catalisador em reações de acoplamento cruzado. A) Primeiras reações, descritas no trabalho de Kosugi, Kameyama, e Migita em 1983, utilizando amidas contendo estanho; B) Reação envolvendo haletos de arila e compostos aminados, trabalhos desenvolvidos por Büchwald e paralelamente por Hartwig em seus respectivos laboratórios; C) Utilização de aminas primárias como fonte de nitrogênio (FONTE: HARTWIG, 2008 modificada).

2.5. Micro-ondas em síntese orgânica

Tradicionalmente, as reações orgânicas são aquecidas usando uma fonte externa de calor (como um banho de óleo) e, portanto, o calor é transferido por condutância. Este é um método de transferência de energia relativamente lento porque depende da condutividade térmica de diferentes materiais que devem ser penetrados, e dos resultados da temperatura do recipiente de reação, que acaba sendo maior que o da reação. Em contrapartida, a irradiação de micro-ondas produz calor interno eficiente por acoplamento direto de energia de micro-ondas com as moléculas polares (por exemplo, solventes, reagentes e catalisadores) que estão presentes na mistura de reação (FIGURA 10, pág. 19) (KAPPE & DALLINGER, 2006). Rendimentos muito elevados e reações limpas são obtidos utilizando somente pequenas quantidades de energia. A possibilidade de empregar menos solventes oferece uma vantagem em se usar esta tecnologia de aquecimento (LARHED, MOBERG & HALLBERG, 2002).

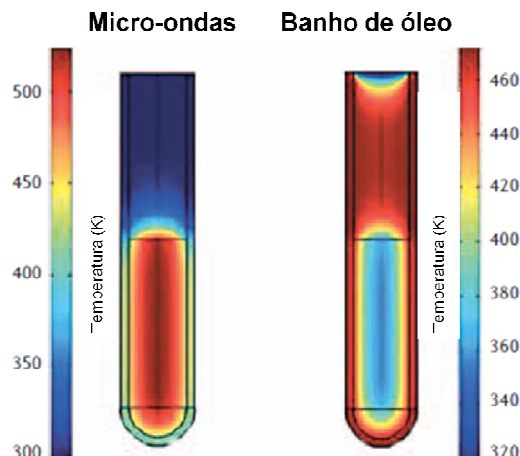


FIGURA 10. Comparação entre aquecimento em micro-ondas e em banho de óleo (KAPPE & DALLINGER, 2006, modificada).

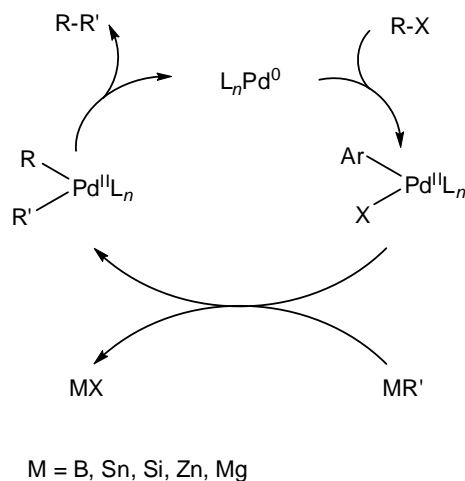
Além desta, outras vantagens podem ser citadas: 1) obtenção de temperaturas de reação mais elevadas pela combinação de aquecimento rápido por micro-ondas com a tecnologia de recipientes selados (autoclave); 2) redução significativa dos tempos de reação, além de propiciar rendimentos mais elevados e reações mais limpas, permitindo reações mais rápidas; 3) uso de solventes sob pressão com menores pontos de ebulição (condições de recipiente autoclave) e aquecimento a temperaturas consideravelmente superiores a seus pontos de ebulição; 4) aquecimento direto “no núcleo” da mistura de reação, o que resulta em um aquecimento mais rápido que o ponto de ebulição da mistura; 5) possibilidade de controle de perfis de temperatura e pressão, o que leva a condições de reação mais reprodutíveis; 6) aquecimento por micro-ondas é mais energeticamente eficiente que banho de óleo de aquecimento clássico devido ao aquecimento molecular direto e inversão de gradientes de temperatura; 7) pode ser facilmente adaptado a síntese automatizada, seja ela sequencial ou paralela (KAPPE & DALLINGER, 2006).

2.6. Reações de acoplamento cruzado

Como mencionado anteriormente, houve uma grande explosão, nas últimas décadas, de métodos que utilizam paládio em reações de acoplamento cruzado. Sua

popularidade é resultado, em parte, da possibilidade do seu uso na presença de muitos grupos funcionais, o que permite que estes sejam empregados na síntese de moléculas altamente complexas (LITTKÉ & FU, 2002).

Estas reações são ferramentas poderosas para a formação de ligações C-C, e ligações C-Heteroátomo, sendo aplicadas constantemente em laboratórios de química e no desenvolvimento de processos. A aminação de Büchwald-Hartwig, o acoplamento cruzado de Suzuki, a alquinição de Sonogashira, o acoplamento de Heck, entre outras, apresentam um mecanismo geral que pode ser observado no esquema 3 (pág. 20) (FLECKENSTEIN & PLENIO, 2008). As transformações catalisadas por paládio requerem apenas uma quantidade catalítica de um complexo ou nanopartículas do metal e são tolerantes a um grande número de grupos funcionais (HU et al. 2009).

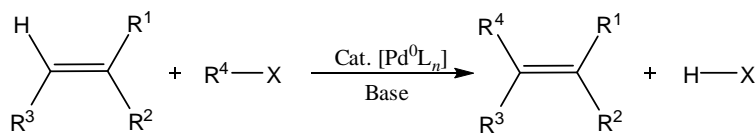


ESQUEMA 3. Mecanismo geral para as reações de acoplamento cruzado catalisadas por paládio (FONTE: LITTKÉ & FU, 2002, modificada).

2.6.1. Reação de Heck

A reação de acoplamento de Heck é um dos mais importantes métodos utilizados para a formação de ligações C-C, e envolve haletos de arila ou vinila e triflatos com alcenos (LITTKÉ & FU, 2002). Ela tem sido amplamente aplicada tanto intra como intermolecularmente, inclusive em reações de fechamento de anel (NICOLAOU, BULGER & SARLAH, 2002). Esta reação, que é um dos tipos mais básicos de reações que envolvem ciclos catalíticos mediados por paládio, ocorre pela capacidade que as

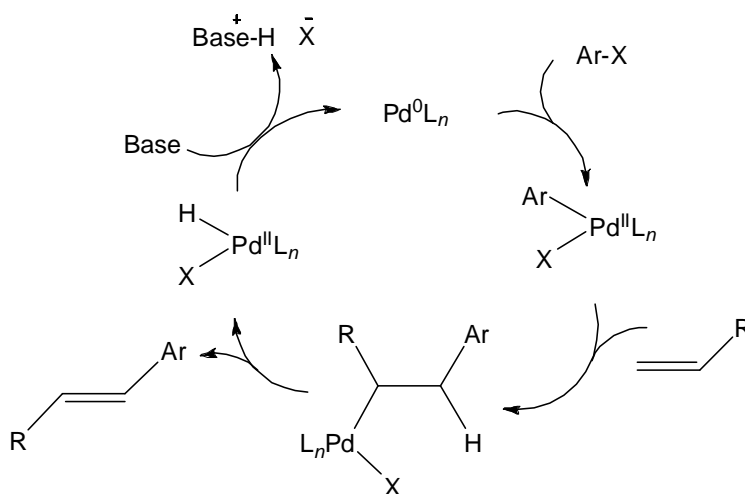
espécies de Pd(0) de sofrerem adição oxidativa com diferentes tipos de ligações C-X, inserção e β -eliminação, e também da adição do intermediário formando ligações insaturadas (BELETSKAYA & CHEPRAKOV, 2000). A reação geral é representada no esquema4(pág.21), e a proposta de mecanismo exemplificado no esquema5 (pág. 21).



$\text{R}^4 = \text{Aril, benzil, vinil}$

$\text{X} = \text{Cl, Br, I, OTf}$

ESQUEMA 4. Esquema geral da reação de Heck (FONTE: NICOLAOU, BULGER & SARLAH, 2002, modificada).

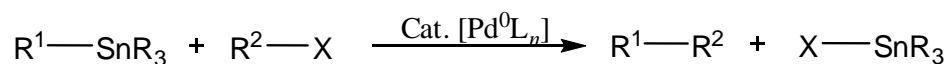


ESQUEMA 5. Proposta de mecanismo da reação de Heck (FONTE: LITCKE & FU, 2002, modificada).

2.6.2. Reação de Stille

A reação de acoplamento cruzado de Stille, que também é catalisada por paládio, utiliza compostos orgânicos de estanho e uma grande variedade de eletrófilos orgânicos, fornecendo um método para a formação das ligações C-C, já que é tolerante a uma gama de grupos funcionais para a formação destas ligações, é estereoespecífica e regioselectiva, dando também rendimentos elevados dos produtos desejados (STILLE,

1986; MILSTEIN & STILLE, 1978). Esta reação, como resultado da estabilidade dos reagentes orgânicos de estanho, mostrou-se muito útil na síntese de substâncias a partir de produtos naturais (LITTKE & FU, 2002) (ESQUEMA 6, pág. 22).



R^1 = Alquil, alquínil, aril, vinil

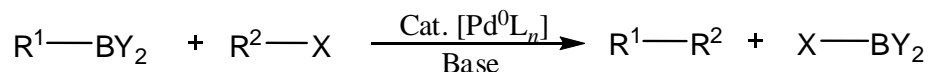
R^2 = Acil, alquínil, alil, aril, benzil, vinil

X = Br, Cl, I, OAc, OP(=O)(OR)₂, OTf

ESQUEMA 6. Esquema geral da reação de Stille (FONTE: NICOLAOU, BULGER & SARLAH, 2002, modificada).

2.6.3. Reação de Suzuki

Dentre as reações de acoplamento cruzado catalisadas por paládio, a reação de Suzuki emerge como uma das favoritas para a síntese de fragmentos de biarila, pois há um grande número de ácidos borônicos disponíveis comercialmente, com grande estabilidade ao calor, ao ar e a umidade, inclusive baixo grau de toxicidade. Ela utiliza, assim como a reação de Stille, haletos de arila ou vinila e triflatos, porém há utilização de base para ativação do ácido borônico, conforme esquema7 (pág. 22) (TESTERO & MATA, 2008).



R^1 = Alquil, alquínil, aril, vinil

R^2 = Alquil, alquínil, aril, benzil, vinil

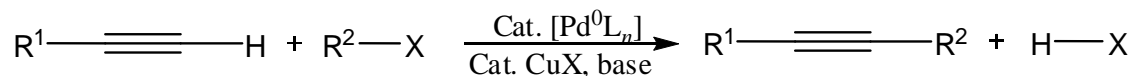
X = Br, Cl, I, OP(=O)(OR)₂, OTf, OTs

ESQUEMA 7. Esquema geral da reação de Suzuki (FONTE: NICOLAOU, BULGER & SARLAH, 2002, modificada).

2.6.4. Reação de Sonogashira

A reação Sonogashira tem atraído atenção como uma forma eficiente de obter grupos alquenil e arilacetilenos, alcinos substituídos, dienos simétricos, polímeros, etc. Esta é um tipo de acoplamento que envolve C(sp²)-C(sp), entre haletos de arila ou alquenila e alcinos terminais (BLASZCZYK, TRZECIAK & ZIOLKOWSKI, 2009)

(ESQUEMA 8, pág. 23). O acoplamento ocorrer também na presença de cobre como co-catalisador, geralmente na forma de CuI. Há diversas possibilidades de conversão para estes alcinos, o que torna esta reação como excelente candidata a elaboração de síntese de compostos de biblioteca combinatória (TESTERO & MATA, 2008).



R¹ = Alquil, alquinil, aril, vinil

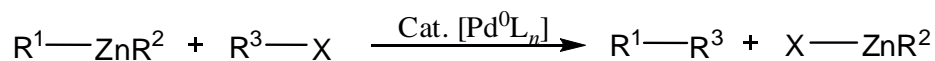
R² = Alquil, alquinil, aril, benzil, vinil

X = Br, Cl, I, OP(=O)(OR)₂, OTf, OTs

ESQUEMA 8. Esquema geral da reação de Sonogashira (FONTE: NICOLAOU, BULGER & SARLAH, 2002, modificada).

2.6.5. Reação de Negishi

Em 1977, Negishi mostrou que compostos orgânicos halogenados de zinco reagem com iodetos de alquinil, em presença de Pd(PPh₃)₄ em quantidade catalítica. Anos depois a reação foi estendida a diversos compostos orgânicos de zinco (KNOCHEL & SINGER, 1993) (ESQUEMA 9, pág. 23).



R¹ = Alquil, alquinil, aril, vinil

R³ = Acil, aril, benzil, vinil

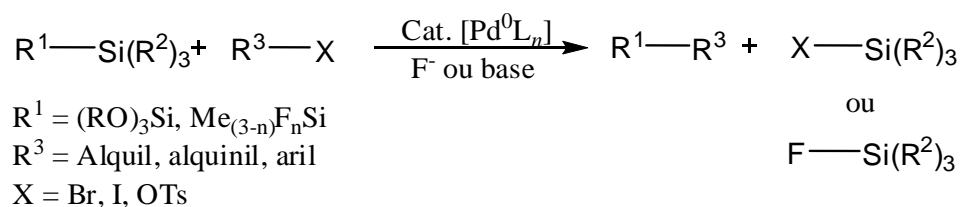
X = Br, I, OTf, OTs

ESQUEMA 9. Esquema geral da reação de Negishi (FONTE: NICOLAOU, BULGER & SARLAH, 2002, modificada).

2.6.6. Reação de Hiyama

A reação de acoplamento cruzado catalisada por paládio envolvendo haletos, triflatos e tosilatos de arila ou vinila com organossilanos é comumente conhecida como reação de Hiyama, e é uma alternativa atraente em relação à reação de Stille, já que os reagentes desta não são tóxicos (LITTKKE & FU, 2002). Esta reação também apresenta

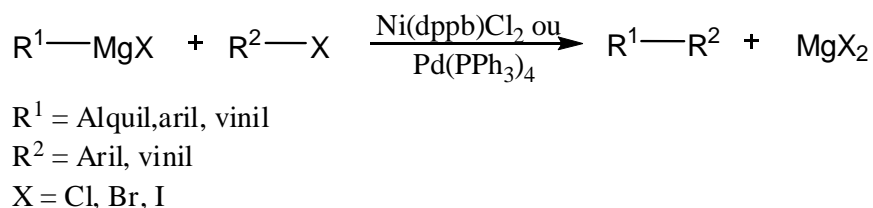
vantagens como baixo custo, facilidade no manuseio e estabilidade em diversos meios químicos. Os organossilanos possuem baixa reatividade, por este motivo, a reação requer ânions fluoreto ou uma base, para que haja o rompimento da ligação estável entre silício e carbono (CHEN, WU & TSAI, 2008; MONTENEGRO et al. 2009), conforme esquema 10 (pág. 24).



ESQUEMA 10. Esquema geral da reação de Hiyama (FONTE:<http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/hiyama-coupling.shtm>, modificada).

2.6.7. Reação de Kumada

A reação de acoplamento dos reagentes de Grignard com haletos de arila ou vinila é conhecida como reação de Kumada. Este processo é de grande importância entre as reações de acoplamento cruzado, pois foi descoberta relativamente cedo (1972), porém ela possui limitações, em relação às reações previamente descritas, devido a incompatibilidade dos reagentes de Grignard com diversos grupos funcionais (LITTKKE & FU, 2002). Em geral, a reação Kumada é realizada na presença de níquel como catalisador, porém foram relatadas algumas onde o catalisador utilizado foi paládio (ESQUEMA 11, pág. 25) (ZHANG et al. 2006).



ESQUEMA 11. Esquema geral da reação de Kumada (FONTE:<http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/kumada-coupling.shtm>, modificada).

2.6.8. Reação de Büchwald-Hartwig

Dentre as reações de acoplamento cruzado catalisadas por paládio, a reação de Büchwald-Hartwig, emergiu nas últimas décadas como uma poderosa ferramenta para a síntese de arilaminas. Uma grande variedade de aminas e nucleófilos de nitrogênio podem sofrer este tipo de acoplamento (TRABANCO, VEGA & FERNÁNDEZ, 2007). Esta metodologia chama bastante atenção, pois há a possibilidade de síntese de importantes intermediários, que através das metodologias anteriores a esta não seriam possíveis (LIU et al. 2007).

A síntese de compostos contendo o grupo *N*-arila atrai grande interesse devido à importância de tais compostos em áreas tão diversas como a de produtos naturais, de fotografia e de materiais (YANG & BÜCHWALD, 1998), uma vez que a série de aminas, enaminas ou iminas resultantes, sejam, ou produtos valiosos ou intermediários altamente versáteis (DOHERTY et al. 2006). Embora uma série de métodos tradicionais exista para a construção da ligação C-N em grupos aril, eles podem apresentar problemas como de generalidade limitada, condições adversas, necessidade de empregar quantidades estequiométricas de reagentes caros, inúmeras etapas de síntese e ambiguidade regioquímica (YANG & BÜCHWALD, 1998), reagentes altamente reativos, utilização de grandes quantidades de amina, temperatura de reação elevada e formação de isômeros (CHRISTENSEN, KIIL & DAM-JOHANSEN, 2006).

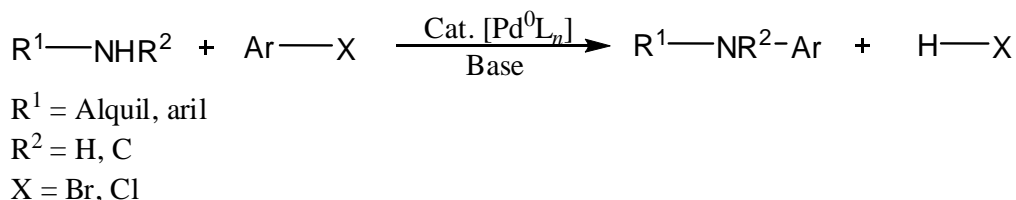
Nos anos posteriores ao desenvolvimento deste acoplamento o grupo de pesquisa de Büchwald e o de Hartwig, de forma progressiva e independente, contribuíram para o desenvolvimento de uma metodologia prática para a formação da ligação C-N em compostos aromáticos, não envolvendo aminas primárias, mas também secundárias e terciárias, além de casos onde há ciclização intramolecular (YANG & BÜCHWALD, 1998).

Os catalisadores mais utilizados são baseados em fosfinas quelantes, como o 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil (BINAP) e o 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (DPPF). O BINAP funciona bem na presença de base fraca, carbonato de céσιο, permitindo um elevado nível de tolerância do grupo funcional. Embora os sistemas de novos catalisadores tolerem a presença de grupos funcionais quando o fosfato de potássio é empregado como base, o BINAP parece dar melhores resultados para as

reações de aminas primárias com substratos funcionalizados (WOLFE & BÜCHWALD, 2000).

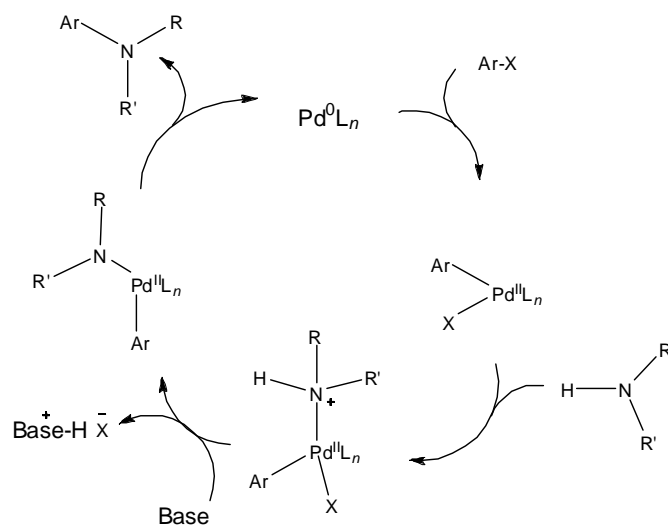
Um grande impulso para este campo foi fornecido pela capacidade de ativar o notoriamente menos reativo, mas relativamente barato, cloreto de arila. Surgindo assim, uma infinidade de sistemas catalíticos de paládio, agora acessíveis para a transformação envolvendo cloretos de arila (URGAONKAR & VERKADE, 2004).

O acoplamento de Büchwald-Hartwig acontece através de uma ligação covalente entre o átomo de carbono de um haleto de arila e um átomo de nitrogênio de uma amina primária ou secundária, na presença de um complexo metálico solúvel e uma base (ESQUEMA 12, pág. 26). Quando comparada com outros métodos, esta metodologia utiliza menor temperatura de reação, normalmente entre 80 e 100°C, ocorrendo com maior seletividade com relação à amina e também não inclui reagentes altamente reativos, que causariam reações laterais ou sem controle (CHRISTENSEN, KIIL & DAM-JOHANSEN, 2006). Atualmente, os haletos de arila, triflatos e tosilatos podem ser utilizados, juntamente com arilaminas, alquilaminas, amidas, sulfonamidas, iminas, compostos heterocíclicos nitrogenados e, também, mais recentemente, com amônia, em uma variedade de condições reacionais (ORGAN et al. 2008).



ESQUEMA 12. Esquema geral da reação de Büchwald-Hartwig (FONTE: <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/Büchwald-hartwig-reaction.shtml>, modificada).

O ciclo catalítico proposto começa com a adição oxidativa do haleto de arila ou pseudo-haletos sobre a espécie de Pd(0). Após a coordenação da amina e subsequente desprotonação, chega-se a um complexo amido aniônico, caso se utilize baixa temperatura, ou a espécies tricoordenadas neutras, em altas temperaturas. Finalmente há eliminação redutiva resultando o produto, com concomitante regeneração do Pd(0) (ESQUEMA 13, pág. 27) (ORGAN et al. 2008).



ESQUEMA 13. Mecanismo da reação de Büchwald-Hartwig (FONTE: ORGAN et al. 2008, modificada).

3. Objetivos

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

- Sintetizar derivados aminoacridínicos, racionalmente planejados a partir da relação estrutura-atividade da Amsacrina e avaliar sua atividade citotóxica em linhagens de células tumorais.

3.2. Objetivos específicos

- Sintetizar os derivados aminoacridínicos por aquecimento convencional;
- Utilizar novas metodologias para a síntese de aminoacridinas;
- Padronizar as condições reacionais na metodologia de Büchwald-Hartwig para a síntese de derivados aminoacridínicos;
- Avaliar a atividade citotóxica das substâncias sintetizadas.

4. Resultados e Discussão

4. Resultados e Discussão

Diversas substâncias cujo núcleo básico é a acridina foram obtidas e testadas para diversas patologias, incluindo as neoplasias malignas (NARAYANAN et al. 2005). De acordo com trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisas, incluindo a síntese e avaliação farmacológica de derivados amidínicos (ARAÚJO-JÚNIOR, et al. 2006; SCHMITT et al. 2006; ARAÚJO-JÚNIOR et al. 2007; BENDERITTER et al. 2007), foi planejada no trabalho em tela a substituição do núcleo 9-cloroacridina por aminas alifáticas, aromáticas, e principalmente amidinas (FIGURA 11, pág. 31), no intuito de verificar a influência dos nitrogênios, presentes nas amidinas, na resposta biológica.

Tendo em vista a reatividade da 9-cloroacridina (**1**), foram planejadas substâncias que pudessem ser obtidas através de reações de substituição nucleofílica aromática, utilizando-se aminas alifáticas e aminas aromáticas, baseadas em analogia estrutural a dois derivados acridínicos, DACA e Amsacrina, para posterior avaliação da relação estrutura-atividade destes derivados em modelos de inibição do crescimento de células tumorais.

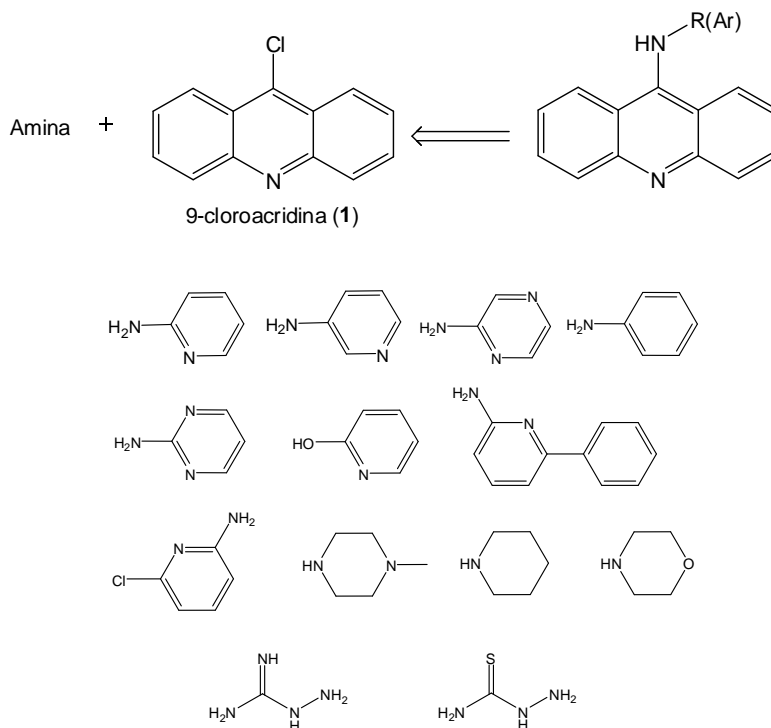


FIGURA 11. Planejamento da síntese dos derivados aminoacridínicos.

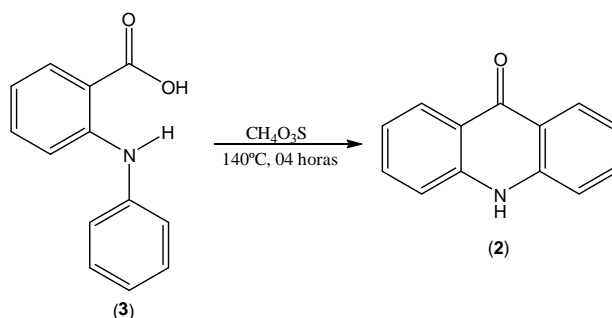
Dada a diferença na nucleofilicidade das aminas utilizadas, algumas metodologias foram empregadas, objetivando-se obter as substâncias planejadas de maneira mais eficiente, com melhores rendimentos, e com pouco ou nenhum produto de competição na reação.

4.1. Obtenção de cloroacridinas

Para a obtenção dos derivados acridínicos, optou-se começar pela síntese de acridona (substância **2**), que seria depois convertida à cloroacridina, pois os reagentes para a síntese de **2** podem ser obtidos comercialmente e têm menor custo que a própria cloroacridina, sendo esta o ponto de partida na síntese dos derivados desejados.

4.1.1. Síntese de acridona

A metodologia para a síntese de acridonas é conhecida desde o final do século XIX. Matsumura, em 1935, já evidenciava que pesquisadores a sintetizavam e podiam obter derivados da mesma apenas fazendo substituições no ácido *N*-fenilantranílico (**3**), que era desidratado com ácido sulfúrico resultando em acridona. A substância **2** foi sintetizada através do método que pode ser visto no esquema 14 (pág. 32), na qual há condensação do ácido, com a utilização de ácido metanossulfônico como solvente, para a formação daquele.

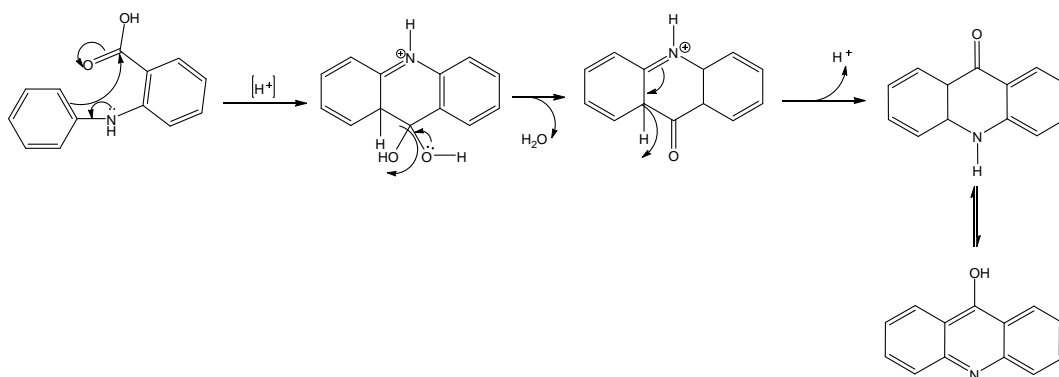


ESQUEMA 14. Síntese de Acridona.

O progresso da reação foi acompanhado através de placas de cromatografia em camada delgada eluída em uma mistura de hexano e acetato (1:1), onde se observava o desaparecimento do produto de partida. Só após essa constatação a reação era então

terminada. O produto tem característica de pó amarelo, e a reação se deu com rendimento quantitativo. O mecanismo desta reação pode ser observado no esquema 15 (pág. 33).

A caracterização de **2** foi realizada através de espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono (RMN ^1H e RMN ^{13}C , respectivamente), onde δ_{H} 7,25 corresponde a um tripleto ($J=7,6\text{Hz}$) referente a H-2 e H-7; em δ_{H} 7,72, um tripleto ($J=7,9\text{Hz}$) correspondente a H-3 e H-6; em δ_{H} 8,23, um duplete ($J=7,6\text{Hz}$) que corresponde aos hidrogênios presentes nos carbonos H-1 e H-8; observa-se também, em δ_{H} 7,54 um duplete ($J=8,3\text{Hz}$) para os hidrogênios dos carbonos H-4 e H-5; em δ_{H} 11,9, um simpleto agudo e intenso correspondente ao hidrogênio na ligação C-N-H (TABELA 1, pág. 34). Para a análise de RMN ^{13}C foram obtidos os seguintes valores: C-1 e C-8, δ_{C} 126,48; C-2 e C-7, δ_{C} 121,52; C-3 e C-6, δ_{C} 133,97; C-4 e C-5, 117,80; C-9, δ_{C} 177,31; C-4a e C-8a, δ_{C} 141,34 e C-9a e C-10a, δ_{C} 120,91. Estes valores estão de acordo com os encontrados por Bouzyk, Ludwika e Blazejowski em 2002, conforme tabela na página 34.



ESQUEMA 15. Proposta simplificada do mecanismo da síntese de acridona.

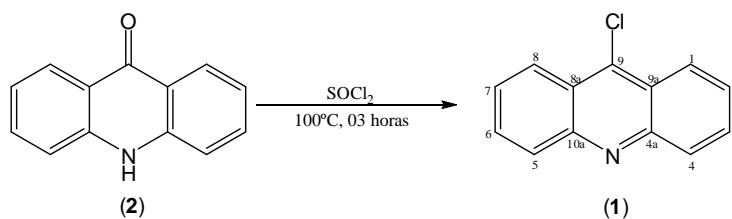
Tabela 1. Dados de RMN ^1H e ^{13}C da acridona (DMSO- d_6 , 400MHz) em comparação aos citados na literatura, por Bouzyk, Ludwika e Blazejowski (2002).

Posição	δ_{H}	Acridona		
		δ_{H} (Bouzyk, Ludwika e Blazejowski, 2002)	δ_{C}	δ_{C} (Bouzyk, Ludwika e Blazejowski, 2002)
1 e 8	8,23 (1H, d, J=7,6Hz)	8,23 (1H)	126,480	125,99
2 e 7	7,25 (1H, t, J=7,6Hz)	7,25 (1H)	121,521	120,99
3 e 6	7,72 (1H, t, J=7,9Hz)	7,73 (1H)	133,970	133,41
4 e 5	7,54 (1H, d, J=8,3Hz)	7,54 (1H)	117,801	117,30
9	-	-	177,307	176,99
10^l	11,9 (1H, s)	11,7 (1H)	-	-
4a e 10^a	-	-	141,340	140,86
9a e 8a	-	-	120,914	120,46

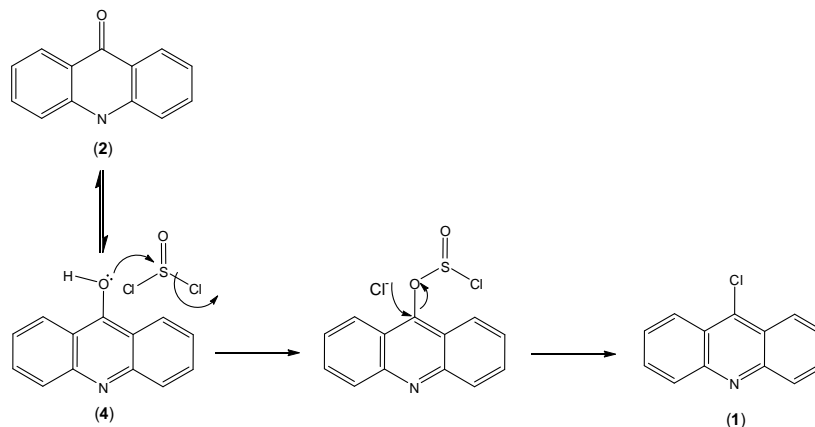
^lNos compostos acridínicos esta posição corresponde ao nitrogênio.

4.1.2. Síntese de 9-cloroacridina

Após a obtenção de **2**, partiu-se para a síntese de 9-cloroacridina (**1**). Wu e colaboradores em 2008, sintetizaram um análogo da substância **1**, o cloreto de 9-cloroacridina-4-carbonila, utilizando uma acridona substituída e cloreto de tionila. Para a síntese de **1**, foi utilizada metodologia semelhante com algumas diferenças no tratamento da reação (ESQUEMA 16, pág. 34). A substância **1** foi obtida pura, com rendimento de 81%. Devido a problemas com a estabilidade da 9-cloroacridina, o produto foi mantido sob vácuo e refrigeração para que não oxidasse à acridona. A proposta de mecanismo da reação de cloração pode ser conferido no esquema 17 (pág. 35).



ESQUEMA 16. Síntese de 9-cloroacridina.

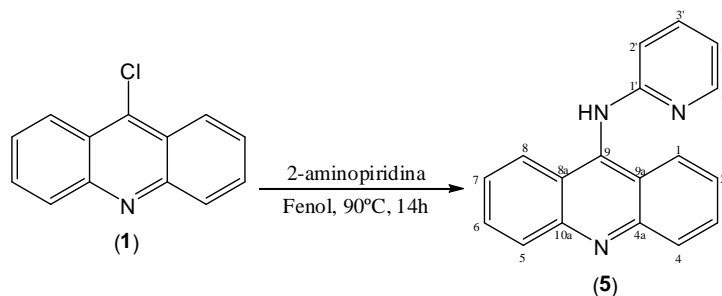
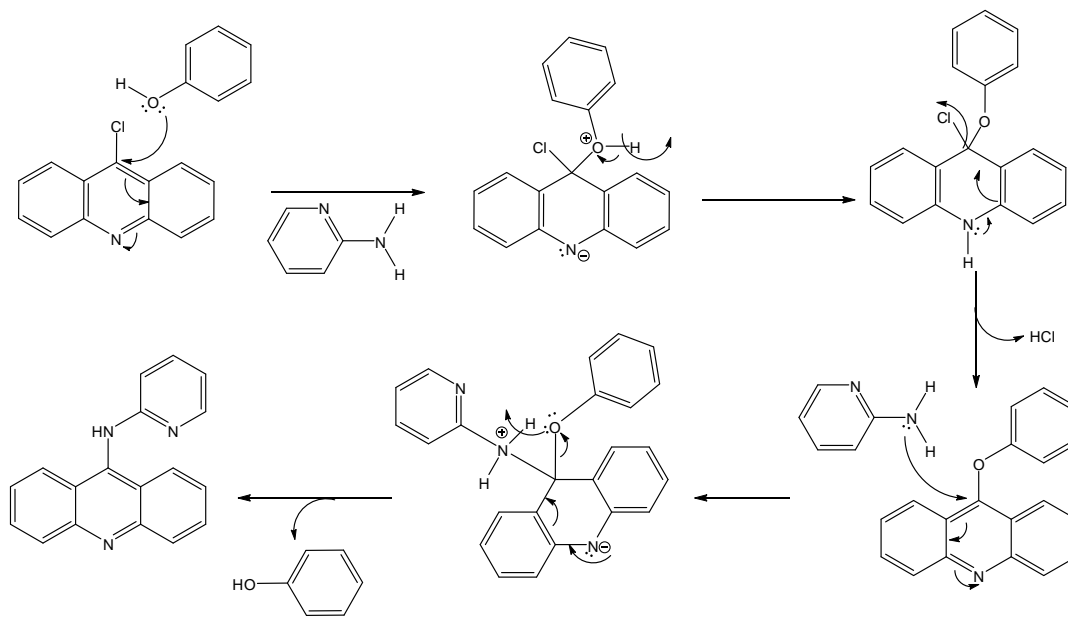


ESQUEMA 17. Proposta simplificada de mecanismo da síntese de 9-cloroacridina.

A substância **1** foi caracterizada através de RMN ¹H. Em δ 7,66 ($J=7,7\text{Hz}$) há um tripleto para os hidrogênios H-2 e H-7; em δ 7,84 ($J=7,7\text{Hz}$) também um tripleto para H-3 e H-6; em uma frequência de δ 8,26 ($J=7,7\text{Hz}$) um duplete correspondente a H-4 e H-5; e em δ 8,46 ($J=9,0\text{Hz}$) a presença de um duplete para os hidrogênios H-1 e H-8.

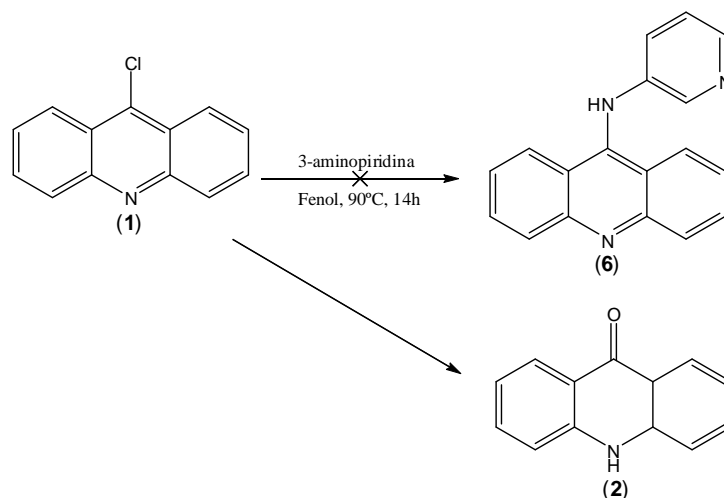
4.2. Obtenção de derivados acridínicos contendo aminas aromáticas

A partir da obtenção de 9-cloroacridina (**1**), diversas metodologias poderiam ser usadas para a síntese dos derivados acridínicos substituídos em C-9 por arilaminas funcionalizadas, dentre elas a descrita por Mosher, Holmes e Frost, em 2004. Este método que utilizava fenol para a obtenção de derivados acridínicos. Neste trabalho, eles constataram que 9-aminoacridinas poderiam ser sintetizadas com o emprego de fenol, a uma temperatura entre 60 e 80°C sob agitação constante por 6 a 8 horas. Porém eles obtiveram rendimento de 32%, considerado baixo. Após serem realizadas algumas modificações, como o aumento de temperatura para 90°C e do tempo reacional para 14 horas (ESQUEMA 18, pág. 36), obteve-se a *N*-(piridin-2-il)acridin-9-amina (**5**), um pó alaranjado, com rendimento de 72%. O provável mecanismo pode ser visualizado no esquema 19 (pág. 36).

ESQUEMA 18. Síntese de *N*-(piridin-2-il)acridin-9-amina.

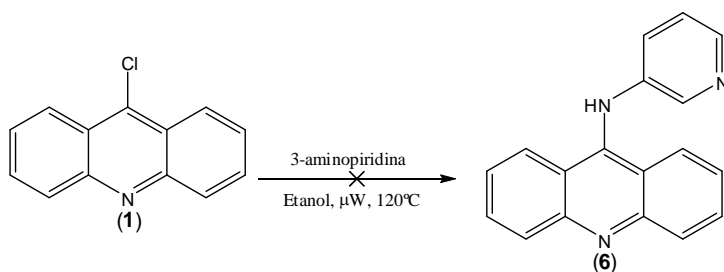
ESQUEMA 19. Mecanismo proposto para a síntese da substância 5.

Como mencionado anteriormente, a partir de **1**, utilizando 3-aminopiridina esperava-se obter a *N*-(piridin-3-il)-acridin-9-amina (**6**) (ESQUEMA 20, pág. 37). Porém com a metodologia descrita por Mosher, Holmes e Frost em 2004, esta reação não ocorria. Com a diminuição da nucleofilicidade da amina empregada, a reação seria ainda mais dificultada ou não ocorria, mostrando a conversão de **1** em **2**, a acridona que lhe deu origem (ESQUEMA 20, pág. 37). Tentou-se então utilizar outras aminas para verificar se a reação que emprega fenol funcionaria para outras que não a 2-aminopiridina. Entretanto a metodologia não logrou êxito para qualquer outra amina quando se utilizava os derivados acridínicos, levando a crer que isso ocorre devido à mudança de nucleofilicidade das aminas empregadas na reação de substituição aromática.



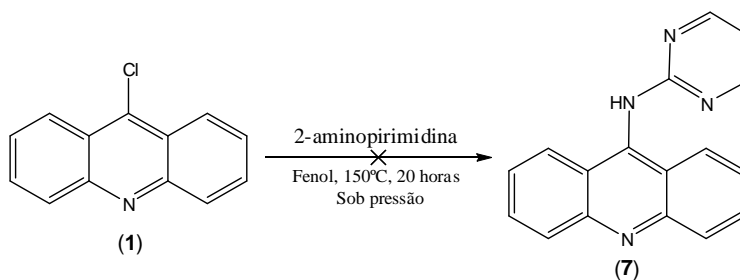
ESQUEMA20. Tentativa de obtenção da substância **5** e conversão à **1**.

Gemma e colaboradores, em 2008, desenvolveram um método de síntese de 4-quinolilidrazinas envolvendo o uso de micro-ondas, que foi empregado na tentativa de síntese de **6**, entretanto a reação não ocorreu (ESQUEMA 21, pág. 37). Esta metodologia foi, mais uma vez, utilizada na tentativa de síntese com outras aminas aromáticas, porém também não logrou êxito.



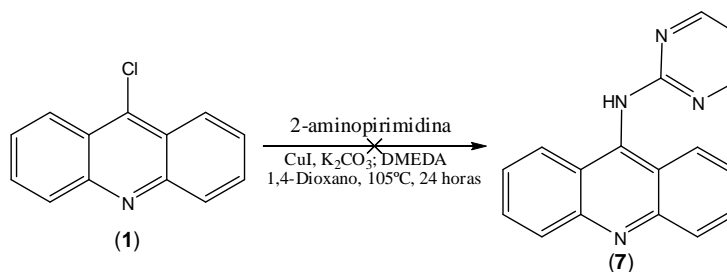
ESQUEMA 21. Tentativa de síntese da substância **5**, através de micro-ondas.

Outra metodologia adotada com o objetivo de obter os derivados aminoacridínicos foi descrito por Asthana e Rastogi, em 1991, e pode ser vista no esquema 22 (pág.38), ilustrada pela tentativa de síntese utilizando a 2-aminopirimidina para a obtenção de *N*-(pirimidin-2-il)acridin-9-amina (**7**), porém, como nas reações anteriores, não resultou no produto desejado, mesmo para outras aminas.



ESQUEMA 22. Tentativa de obtenção da substância 7, através de metodologia descrita por ASTHANA & RASTOGI (1991).

Tentou-se, a partir das reações de Ullmann, a obtenção dos derivados aminoacridínicos utilizando os seguintes parâmetros reacionais: carbonato de potássio (base), iodeto de cobre (catalisador, ao invés de uma fonte de paládio), DMEDA (ligante, *N,N'*-dimetiletilenodiamina), e 1,4-dioxano como solvente, podendo ser observado conforme o esquema 23 (pág.38) o qual ilustra a tentativa de 7, segundo metodologia descrita por Liu e colaboradores, em 2007, para obtenção de heteroarilaminas. Entretanto, as reações, tanto utilizando 2-aminopirimidina quanto outras aminas, não lograram êxito.



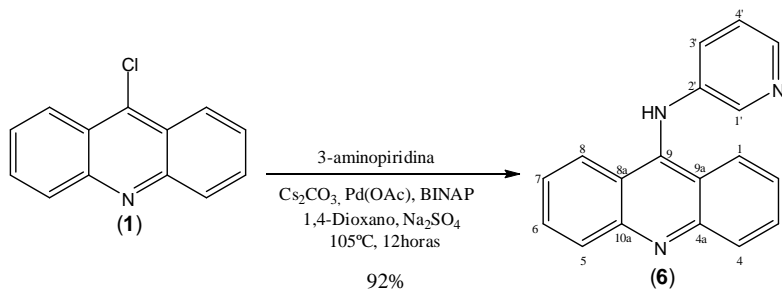
ESQUEMA 23. Tentativa de síntese de *N*-(pirimidin-2-il)-acridin-9-amina.

Ainda em busca de uma metodologia que possibilitasse a obtenção dos derivados desejados, foram encontradas metodologias descritas, em 1995, por dois grupos de pesquisadores, individualmente, o primeiro liderado por Stephen L. Büchwald e segundo por John F. Hartwig. Eles, baseados em trabalhos anteriores publicados por Kosugi, relataram aminação de brometos de arila com aminas livres, com a utilização de paládio como catalisador. Essa metodologia ficou conhecida como aminação de

Büchwald-Hartwig e têm sido descritas constantemente na literatura (HARTWIG, 2008).

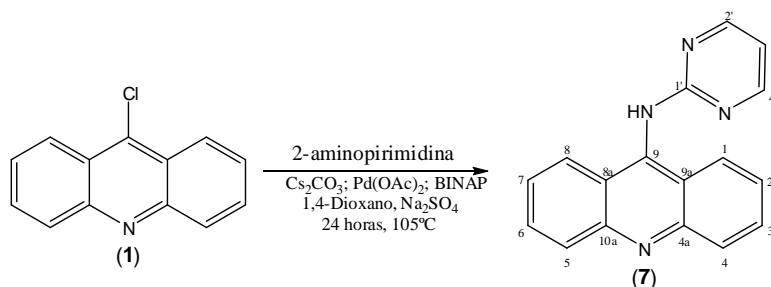
Diversos parâmetros foram até então relatados para as aminações de Büchwald-Hartwig. Podem ser utilizadas, por exemplo, como base: *tert*-butóxido de potássio, carbonato de céσιο ou carbonato de potássio. Dentre os solventes possíveis estão: 1,2-dimetoxietano (DME), tetraidrofurano (THF), tolueno, metanol, acetonitrila, isopropanol, 1,4-dioxano. Como fonte de paládio, diversos compostos podem ser utilizados, tais como: acetato de paládio e Pd-PEPSI (do termo em inglês, *Pyridine, Enhanced, Precatalyst, Preparation, Stabilization and Initiation*); e para os ligantes: 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil (BINAP) e Xantphos (YIN, et al. 2002; ORGAN et al. 2008).

Com a aplicação da metodologia de Büchwald-Hartwig, a substância **6** pôdeser sintetizada, empregando-se o carbonato de céσιο como base, o acetato de paládio como fonte de paládio, BINAP como ligante e 1,4-dioxano como solvente, conforme esquema 24 (pág.39). Ele foi obtido puro, com rendimento de 92% e caracterizado através de RMN ¹H. Em δ 7,01 (J=6,5 Hz), há um tripleto referente aos hidrogênios H-2 e H-7; em δ 7,22 (J=8,0 e 2,0 Hz), um duplo tripleto referente a H-3'; em δ 7,33 (J=8,8 e 3,5 Hz) há um duplo duplete referente ao hidrogênio H-4'; em δ 7,45 (J=8,0 Hz) um duplete referente aos hidrogênios H-4 e H-5; em δ 7,56 (J=7,5 Hz) um tripleto correspondente aos hidrogênios H-3 e H-6; em δ 7,8 há um simpleto largo referente aos hidrogênios H-1 e H-8; em δ 8,09 (J=2,1 Hz) há um duplete correspondente ao hidrogênio H-1' e em δ 8,21 (J=4,7 e 1,4 Hz) um duplo duplete para H-5'.



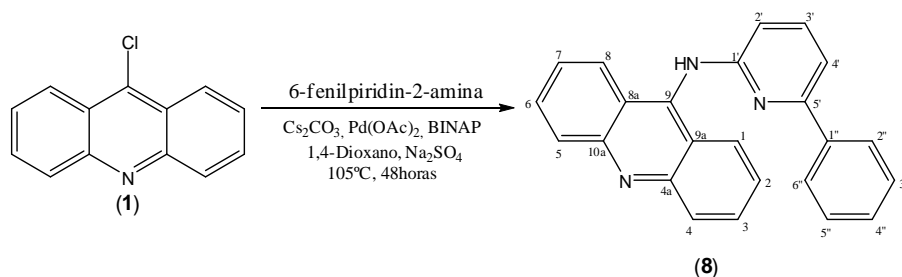
ESQUEMA 24. Síntese de *N*-(piridin-3-il)-acridin-9-amina, utilizando a metodologia de Büchwald-Hartwig.

Utilizando a 2-aminopirimidina (ESQUEMA 25, pág. 40) sob as condições da metodologia de Büchwald-Hartwig, o produto desejado (substância **7**) foi obtido com rendimento de 85%. Sendo o produto caracterizado através de RMN ^1H . Em δ 6,8 há um tripleto para o hidrogênio H-2'; para o anel acridínico nesta substância os sinais fogem às características apresentadas pelos outros derivados acridínicos sintetizados previamente e caracterizados por RMN, devido à eletronegatividade do substituinte na posição 9, apresentando os sinais em δ 7,55, δ 7,82, δ 8,15 e δ 8,35; ainda em δ 8,15 há um sinal sobreposto para um dos hidrogênios do anel pirimidínico.



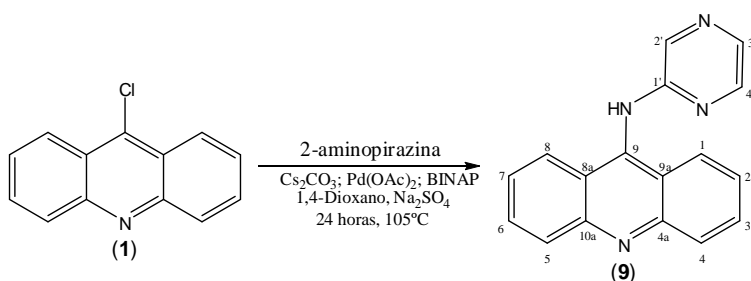
ESQUEMA 25. Síntese da substância **7**, empregando metodologia de Büchwald-Hartwig.

Deste modo, outras amins aromáticas, com baixa nucleofilicidade puderam ser empregadas, por exemplo, a 6-fenil-piridin-2-amina para a obtenção de *N*-(6-fenilpiridin-2-il)-acridin-9-amina (**8**). Diferente da anterior, esta mistura reacional ficou sob agitação constante à 105°C, não por 12 horas, e sim por 48 horas (ESQUEMA 26, pág.41). Através do uso de placa de CCD, observou-se a formação de um novo produto e também a presença ainda de reagente de partida. À mistura reacional foi adicionada água e o produto desejado foi extraído com acetato de etila, com rendimento de 77%; sendo caracterizado pelo uso de RMN ^1H . Em δ 8,17 há um duplete para os hidrogênios H-1 e H-8; em δ 7,85 e δ 7,72 há dois tripletos, um referente aos hidrogênios H-2 e H-7 e outro para o hidrogênio 2'; em δ 7,96 há um duplete para o hidrogênio H-2'; em δ 7,4 há um multiplete, provavelmente para os hidrogênios do grupo fenil e um para o hidrogênio H-3'; em δ 7,2 há um duplete para os hidrogênios H-4 e H-5; e em δ 6,8 outro multiplete, desta vez para os hidrogênios H-3 e H-6.



ESQUEMA 26. Síntese de *N*-(6-fenilpiridin-2-il)-acridin-9-amina, utilizando a metodologia de Büchwald-Hartwig.

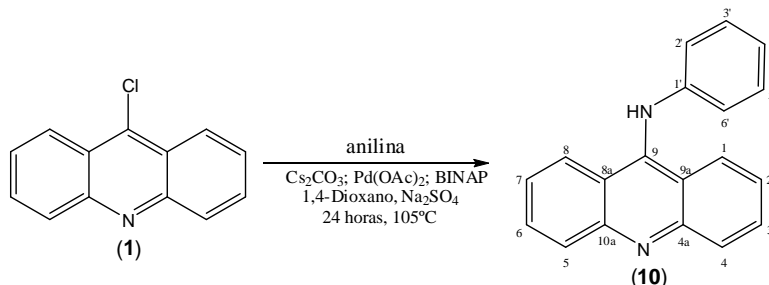
Para a síntese de *N*-(pirazin-2-il)acridin-9-amina, substância **9**, as condições reacionais empregadas foram as das reações de Büchwald-Hartwig (ESQUEMA 27, pág.42), já que a metodologia mostrara-se eficiente para as substituições propostas. Deste modo, foi obtido em rendimento de 90% o derivado **9**, o qual também foi caracterizado através de RMN ^1H . Em δ 6,76 há um duplete para os hidrogênios H-4 e H-5; em δ 6,96 há um tripleto para os hidrogênios H-3 e H-6; em δ 7,29 há um tripleto correspondente aos hidrogênios H-2 e H-7; em δ 7,5 há um multiplete para 3 hidrogênios, sendo H-1 e H-8 e H-2'; em δ 7,86 há um sinal largo para dois hidrogênios H-1' e H-3'.



ESQUEMA 27. Metodologia para obtenção de *N*-(pirazin-2-il)-acridin-9-amina, empregando metodologia de Büchwald-Hartwig.

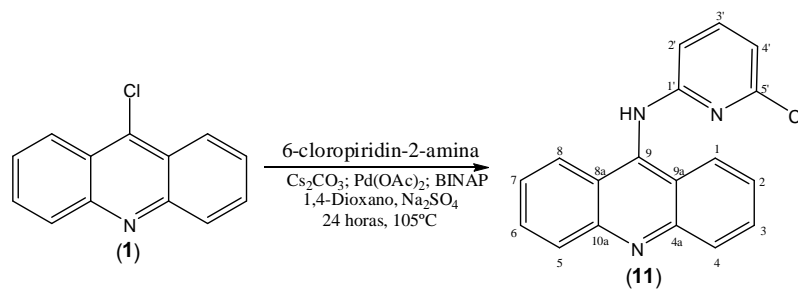
Outro derivado proposto, isto é, *N*-fenilacridin-9-amina (**10**), foi sintetizado utilizando a anilina como nucleófilo para a substituição nucleofílica com o substrato cloroacridina. Com o uso das mesmas condições reacionais (ESQUEMA 28, pág.42), obtivemos o produto desejado com rendimento de 71%. Os dados do espectro de RMN

^1H obtidos na caracterização do derivado mostrou os seguintes sinais: em δ 8,06 há um duplete correspondente aos hidrogênios H-1 e H-8; em δ 7,9 há um duplete para os hidrogênios H-1' e H-5'; em δ 7,67 há um triplete para os hidrogênios H-3 e H-6; em δ 7,3 há um sinal para 5 hidrogênios, sendo dois para H-2 e H-7, e dois para H-2' e H-4'; em δ 7,0 há um triplete correspondente ao hidrogênio H-3'; e em δ 6,92 um duplete para os hidrogênios H-4 e H-5.



ESQUEMA 28. Obtenção de *N*-fenilacridin-9-amina.

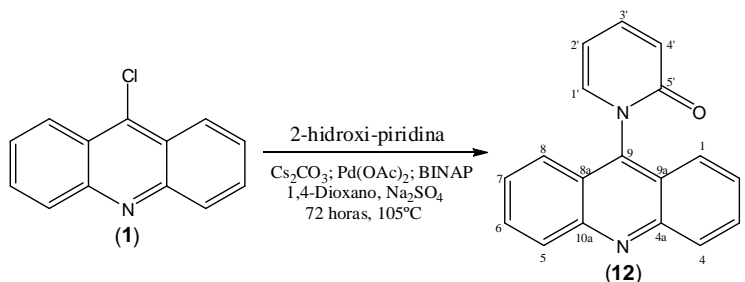
A 6-cloro-2-aminopiridina também foi empregada na obtenção de um derivado acridínico, *N*-(6-cloropiridin-2-il)acridin-9-amina (**11**), sendo sintetizado de acordo descrições anteriores (ESQUEMA 29, pág.43), porém como havia um cloro na estrutura da aminopiridina, reações paralelas ocorreram. O produto de bis-substituição foi caracterizado por espectros de RMN ^1H (em anexo), onde se observam os sinais dos *H* do anel acridínico sobrepostos.



ESQUEMA 29. Obtenção da substância **11**.

Por fim, com a metodologia de Büchwald-Hartwig, foi sintetizada a 1-(acridin-9-il)-1,2-diidropiridin-2-ol (**12**), usando 2-hidroxi-piridina (ESQUEMA 30, pág.43), com rendimento de 77%. A substância **12** foi caracterizada por espectros de RMN ^1H .

Para o anel acridínico, há um duplete em δ 8,23, um tripleto em δ 7,9, um duplete em δ 7,5 e um tripleto em δ 7,69; há, em δ 6,5, um tripleto correspondente ao hidrogênio H-3'; em δ 6,7 há um duplete que corresponde ao hidrogênio H-4'; em δ 7,7 há um sinal correspondente aos hidrogênios H-1' e H-2'.



ESQUEMA30. Obtenção da substância 12.

Para a metodologia de Büchwald-Hartwig, como mencionado anteriormente, existem diversos parâmetros reacionais descritos na literatura, cada um com sua particularidade e, principalmente, utilização conforme o substrato a ser substituído, para os derivados acridínicos sintetizados neste trabalho, os parâmetros reacionais empregados foram: BINAP, acetato de paládio, 1,4-dioxano e carbonato de céσιο, além de a temperatura ser mantida estável a 105 °C, variando o tempo reacional de acordo com a amina utilizada. Outro ponto fundamental, que talvez tenha sido onde as metodologias anteriores falharam, é a necessidade de a reação se manter isenta de umidade e de oxigênio.

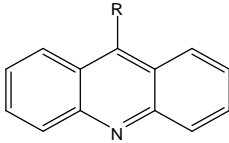
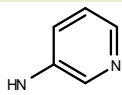
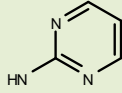
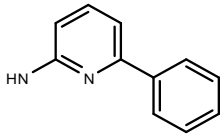
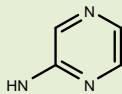
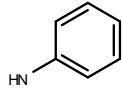
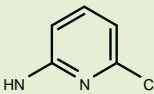
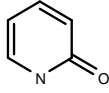
Com a finalidade de evitar a água presente no solvente e a umidade da reação, algumas medidas se tornaram necessárias:

- 1) A retirada do ar atmosférico de todos os frascos de solventes e dos tubos reacionais, trocando-o por argônio ou nitrogênio gasoso;
- 2) Utilização de peneira molecular nos solventes;
- 3) Emprego de sulfato de sódio anidro nos tubos reacionais.

Com estas três medidas, condições suficientemente baixas de umidade e oxigênio foram alcançadas, fazendo crescer os rendimentos das reações que utilizaram a metodologia de Büchwald-Hartwig.

Todas estas reações, quando submetidas às condições encontradas como “ideais” para que ocorressem, mostraram rendimentos superiores a 70%. Esses dados podem ser conferidos na tabela 2 (pág.45), onde estão reunidos rendimentos e condições reacionais para cada uma delas, além de eventuais particularidades observadas em cada uma delas.

TABELA 2. Rendimentos e tempos reacionais para as reações que utilizaram a metodologia de Büchwald-Hartwig.

		
R	Tempo reacional	Rendimento
6) 	24 horas	92%
7) 	24 horas	85%
8) 	48 horas	77%
9) 	24 horas	90%
10) 	24 horas	71%
11) 	24 horas	M*
12) 	72 horas	77%

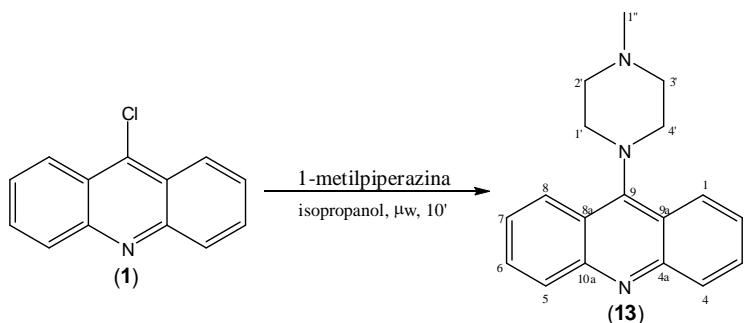
*Mistura de substâncias.

4.3. Obtenção de derivados acridínicos contendo aminas alifáticas

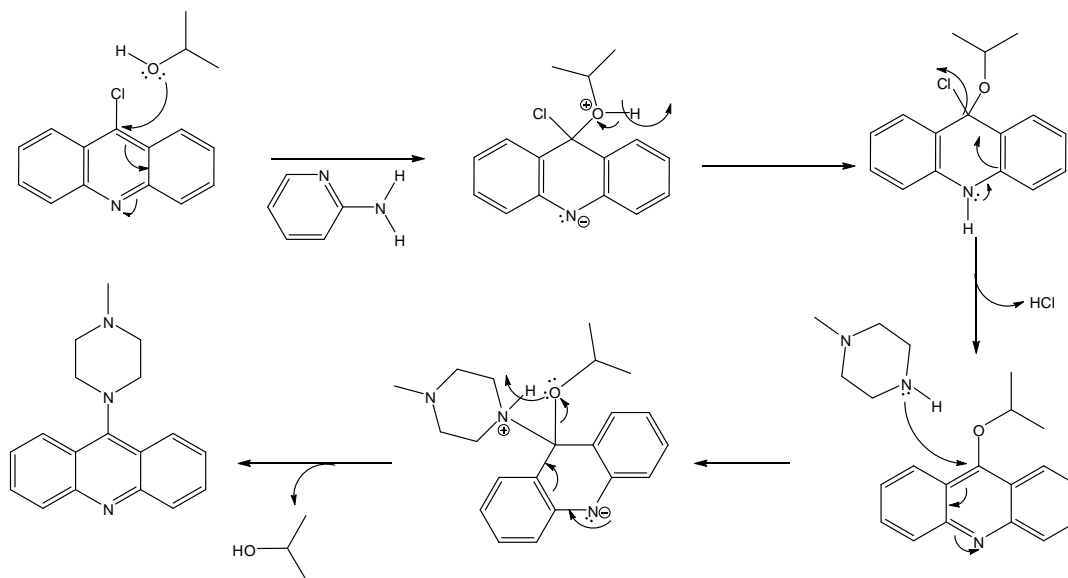
Para as aminas aromáticas, em uma das tentativas de síntese, utilizou-se a metodologia descrita por Gemma e colaboradores, em 2008, onde a fonte de calor fornecida para a reação era proveniente de aparelhos de micro-ondas. No referido

trabalho, no qual os autores utilizaram apenas aminas alifáticas em suas reações, primeiramente era introduzida a hidrazina em 4-cloroquinolinas, 9-cloroacridinas, entre outros substratos, que, posteriormente, eram reduzidas na presença de cloreto de níquel e boroidreto de sódio, em condições reacionais mais simples e com menores custos que as relatadas anteriormente por outros pesquisadores para derivados semelhantes, como as relatadas por Hamer, em 1924, as relatadas por Vippagunta et al., em 1999, e as relatadas por Elderfield et al. em 1946. Decidiu-se, então, usar essa metodologia, para sintetizar derivados acridínicos com aminas alifáticas, via irradiação por micro-ondas.

A partir da substância **1**, utilizando a *N*-metilpiperazina, obteve-se a 9-(4-metilpiperazin-1-il)acridina (**13**) conforme ilustra o esquema 31 (pág.46). Entretanto, como relatado anteriormente, uma parte da substância **1**, por ser bastante instável, converte-se em acridona (ESQUEMA 20, pág. 37), independentemente da metodologia aplicada nestas sínteses, na verdade, esta conversão ocorre inclusive na geladeira. Mesmo com a conversão da 9-cloroacridina em acridona, obteve-se 88% de rendimento com o emprego de 9-cloroacridina, cujo mecanismo proposto pode ser visto no esquema 32 (pág. 47). A substância **13** foi caracterizada através de espectros de RMN ^1H . Em δ 8,7 há um duplete correspondente aos hidrogênios H-1 e H-8; em δ 8,2 um duplete para os hidrogênios H-4 e H-5; em δ 7,9 há um tripleto para os hidrogênios H-3 e H-6; em δ 7,7 há um tripleto para os hidrogênios H-2 e H-7. Os hidrogênios correspondentes ao anel *N*-metilpiperazina, são encontrados com deslocamento entre δ 2,4 e δ 2,8, inclusive os hidrogênios da metila N-CH₃.



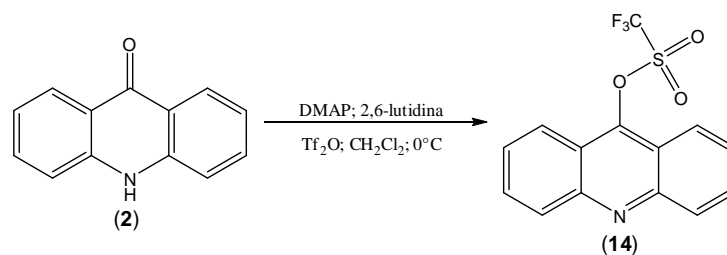
ESQUEMA 31. Síntese da substância **13**, através do uso de micro-ondas.



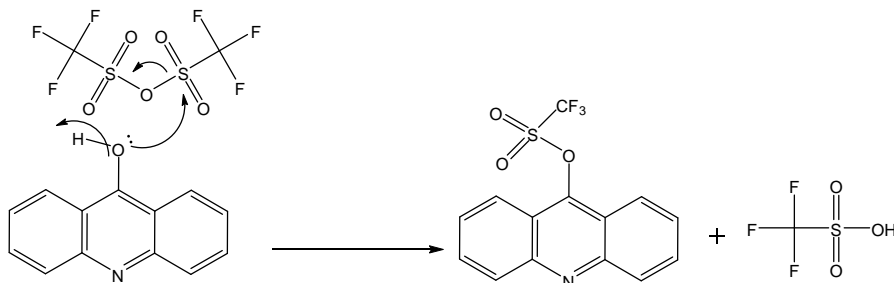
ESQUEMA 32. Mecanismo proposto para a síntese da substância **13**.

Uma possível solução para este problema seria a busca de outro grupo abandonador que possibilitasse o uso nessas reações e que conferisse melhor estabilidade para a substância **1**, evitando assim as perdas nos rendimentos, que começaram a ocorrer.

O uso de anidrido triflúrico foi uma das alternativas. Com base na metodologia descrita por Alvaréz, em 2000, obteve-se triflato **14**, (acridin-9-il trifluorometanossulfonato) conforme apresentado no esquema 33 (pág. 47), cujo mecanismo proposto para a sua formação pode ser visualizado no esquema 34 (pág. 48).

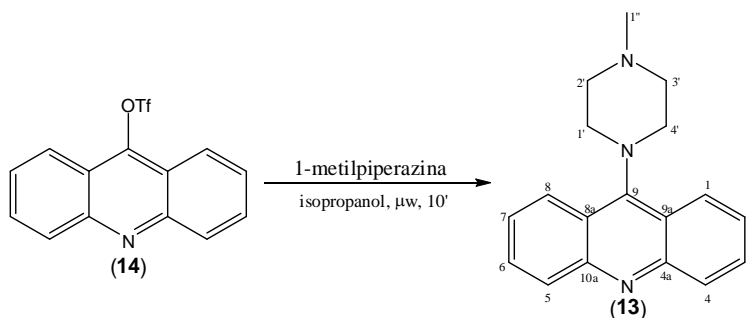


ESQUEMA33. Obtenção da substância **14**.



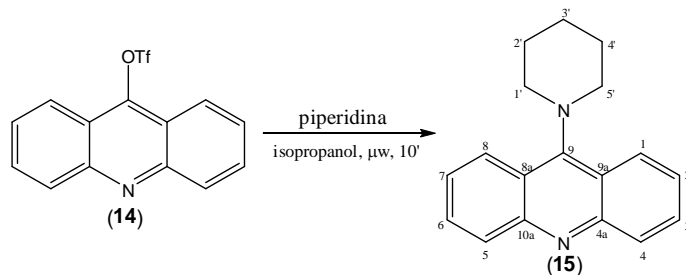
ESQUEMA 34. Mecanismo proposto para a síntese de **14**.

Após a preparação do intermediário **14**, utilizando-se do mesmo reagente e das mesmas condições ilustradas no esquema 31 (pág. 46), obteve-se a 9-(4-metilpiperazin-1-il)acridina (**13**), porém agora empregando **14** (ESQUEMA 35, pág. 48). Foi constatado que a reação também ocorria com rendimento semelhante, porém não foi observada a conversão de **14** em **1**, como ocorria com o uso de cloroacridina. Por este motivo, acridin-9-il trifluorometanossulfonato (**14**), passou a ser empregada na síntese de outros derivados acridínicos a partir de aminas alifáticas cíclicas.

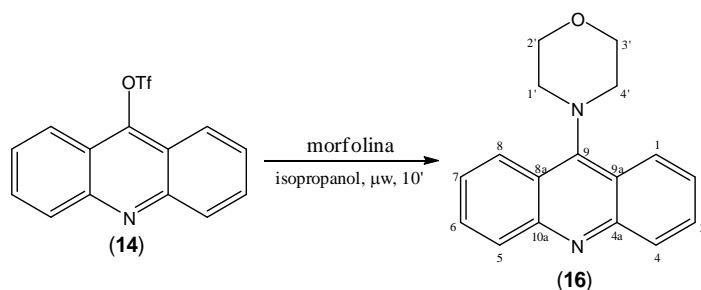


ESQUEMA 35. Obtenção da substância **13**, utilizando acridin-9-il trifluorometanossulfonato (**14**).

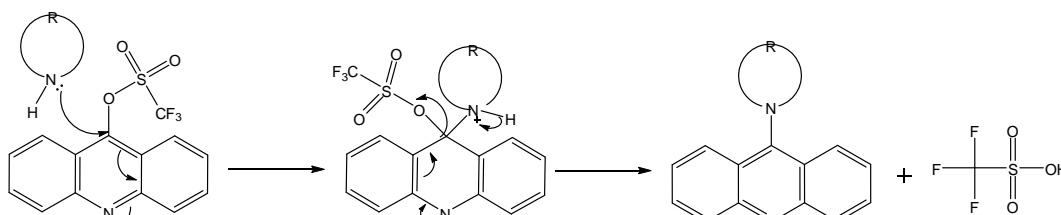
Outras duas aminas utilizadas foram a piperidina e a morfolina, conforme esquemas 36 e 37, respectivamente (pág. 49). Ambas seguindo a metodologia descrita na síntese de **13** (ESQUEMA 35, pág. 48). A partir da piperidina, obteve-se a 9-(piperidin-1-il)acridina (**15**), já com a morfolina foi obtida a 4-(acridin-9-il)morfolina (**16**), com rendimentos de 82 e 85% respectivamente. A proposta de mecanismo para a síntese de **13**, **15** e **16** (a partir de **14**) pode ser observado no esquema 38 (pág. 49).



ESQUEMA 36. Síntese de 9-(piperidin-1-il)-acridina.



ESQUEMA 37. Síntese de 4-(acridin-9-il)-morfolina.

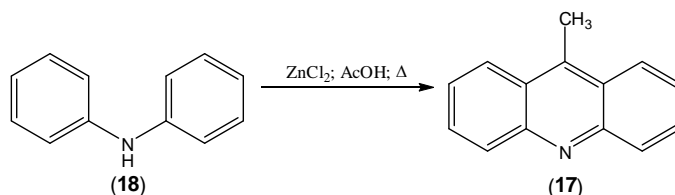


ESQUEMA 38. Mecanismo proposto para a síntese, a partir de 14, de 13, 15 e 16.

4.4. Obtenção de acridinas 5-hidrazinoguanidinas

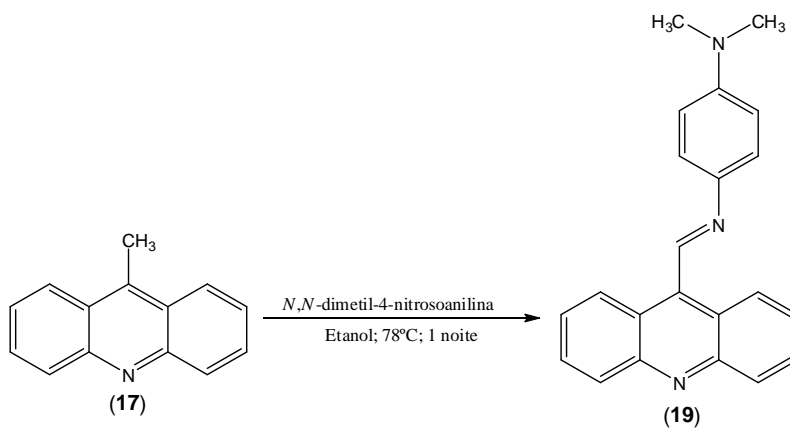
Outro grupo de substâncias derivadas de acridina foi sintetizado, conforme a metodologia descrita por Lyakhova e colaboradores, em 2005. Com esta metodologia, planejamos a síntese de derivados aminados, substituídos com a hidrazinoguanidina, no intuito de verificarmos a influência da substituição nesta região na atividade citotóxica desejada. No trabalho de Lyakhova e colaboradores (2005), foram sintetizadas diversas acridinas, a partir da difenilamina. Reproduzindo esta metodologia esperávamos obter

acridinas contendo aminoguanidinas e tiocarbazidas. Primeiramente 9-metilacridina (**17**) foi sintetizada, conforme o esquema 39, (pág.50), por condensação da difenilamina (**18**) com ácido acético. Obtivemos rendimento de 65%, sendo confirmada através de espectro de RMN ^{13}C . Em δ 14,03 há o sinal correspondente à metila benzílica, confirmando a formação do derivado **17**.



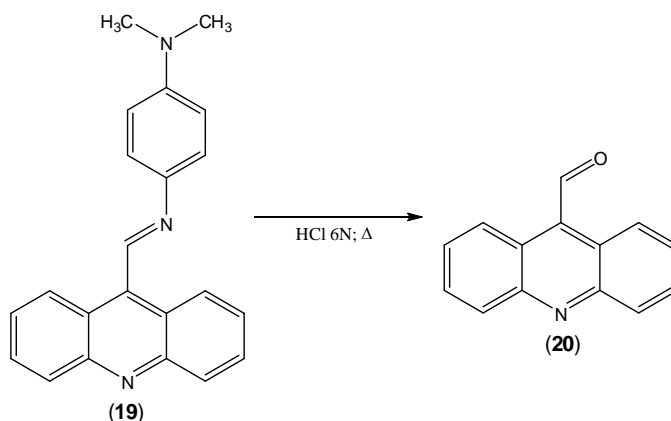
ESQUEMA39. Síntese de 9-metilacridina.

A etapa seguinte foi, através da oxidação da substância **17** com 4-nitrosodimetilanilina em etanol, a síntese de (*E*)- N^1 -(acridin-9-ilmetileno)- N^4,N^4 -dimetilbenzeno-1,4-diamina (**19**) (ESQUEMA 40, pág.50), com rendimento de 72%.



ESQUEMA40. Síntese de (*E*)- N^1 -(acridin-9-ilmetileno)- N^4,N^4 -dimetilbenzeno-1,4-diamina.

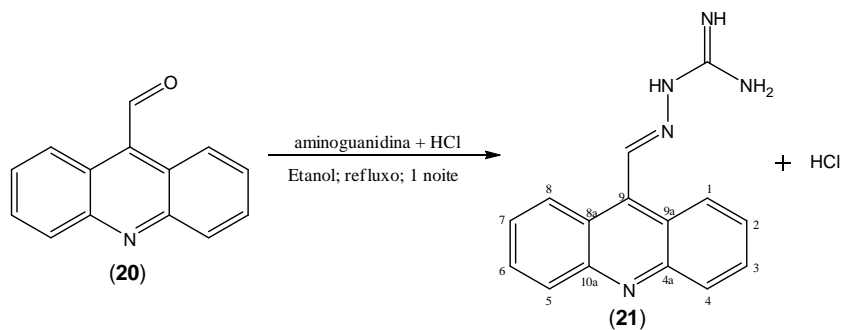
Posteriormente, através da hidrólise da substância **19** em meio ácido (ácido clorídrico, em nossa metodologia), obtivemos acridina-9-carboxialdeído (**20**) com rendimento de 63% (ESQUEMA 41, pág. 51).



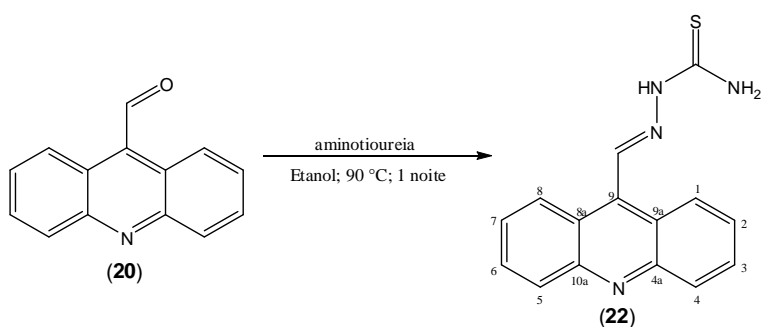
ESQUEMA 41. Síntese de acridina-9-carboxialdeído.

Com a obtenção do acridina-9-carboxialdeído pôde-se sintetizar mais dois derivados acridínicos, um contendo aminoguanidina, por metodologia idêntica à também utilizada por Lyakhova e colaboradores, resultando em (*E*)-2-(acridin-9-ilmetileno)-hidrazinacarboximidamida (**21**) (ESQUEMA 42, pág.52), e outro contendo aminotioureia, pela mesma metodologia, porém com alteração na temperatura da reação, gerando a (*E*)-2-(acridin-9-ilmetileno)-aminoureia (**22**) (ESQUEMA 43, pág.52). Estas com rendimento de 95 e 90%, respectivamente. Ambas estruturas confirmadas por espectros de RMN.

Para a substância **21**, temos os quatro sinais característicos do anel acridínico com os respectivos valores: um duplete em δ 8,49; um tripleto em δ 7,8; um duplete em δ 8,3 e um tripleto em δ 7,72. Há também um simpleto correspondente ao hidrogênio da ligação H-C=N em δ 9,38. Já para a substância **22**, há os quatro sinais característicos do anel acridínico: um tripleto para δ 7,6; outro tripleto em δ 7,7; um duplete para δ 7,79 e um duplete em δ 8,6. Há um simpleto em δ 9,23 referente ao hidrogênio da ligação H-C=N.



ESQUEMA42. Síntese de (*E*)-2-(acridin-9-ilmetileno)-hidrazinacarbonylamida.



ESQUEMA43. Síntese de (*E*)-2-(acridin-9-ilmetileno)-aminourea.

4.4. Avaliação da atividade citotóxica

Após a síntese das substâncias planejadas, estas foram encaminhadas para a avaliação quanto as suas atividades citotóxicas no Laboratório de Oncologia Experimental, da Universidade Federal do Ceará, sob responsabilidade da professora Dr^a Cláudia Pessoa. Primeiramente foi realizado um *screening* para determinar o potencial antineoplásico destas amostras, experimento realizado *in vitro*, que pode ser observado na tabela 3 (pág.53).

Tabela 03. *Screening* de avaliação de inibição do crescimento celular mediante incubação com as substâncias sintetizadas e com o controle positivo (Doxorrubicina) a 5 µg/mL.

Substância	HCT-8	MDAMB-435	SF-295
	IC% média (Intensidade)	IC% média (Intensidade)	IC% média (Intensidade)
5	18,68% (PA)	20,93% (PA)	25,00% (PA)
6	76,06% (MA)	44,97% (PA)	54,97% (Mo)
7	10,56% (PA)	7,37% (PA)	32,19% (PA)
9	9,59% (PA)	10,89% (PA)	26,83% (PA)
10	91,47% (MA)	55,35% (Mo)	81,26% (MA)
12	- ^a	- ^a	19,20% (PA)
13	100% (MA)	76,65% (MA)	90,21% (MA)
15	100% (MA)	67,59% (Mo)	98,68% (MA)
16	42,20% (PA)	- ^a	26,95% (PA)
21	94,05% (MA)	96,57% (MA)	95,36% (MA)
22	17,67% (PA)	4,97% (PA)	27,35% (PA)
Doxorrubicina	97,30% (MA)	96,94% (MA)	87,67% (MA)

^a Não houve inibição do crescimento celular.

HCT-8 (linhagem celular tumoral de cólon).

MDAMB-435 (linhagem celular de melanoma).

SF-295 (linhagem celular de glioblastoma)

O método empregado nesta avaliação foi o do MTT, sal de tetrazólio (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2*H*-tetrazol-3-ium), que através de uma redutase mitocondrial é reduzido ao azul de formazan (2*Z*,4*E*)-5-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-1,3-difenilformazan). Esta é uma metodologia colorimétrica que foi descrita por Mosmann em 1983. Nesta é avaliada a sobrevivência e a proliferação de células, já que há apenas a redução do sal MTT quando a amostra testada não é letal para as células. Caso haja morte celular não há detecção da mudança de cor. Porém poderá haver detecção de mudança de cor, caso ocorram alterações do metabolismo energético, que acarretarão em morte celular.

Uma das vantagens da utilização do método de MTT em *screening* é que não se faz necessária nenhuma etapa de lavagem das placas no ensaio, nem emprego de nenhum radioisótopo, além de ser rápido e preciso. Porém apenas pela indução da morte celular observada através da metodologia que utiliza MTT não é possível detectar o mecanismo de ação envolvido.

O *screening* foi realizado com 3 linhagens de células tumorais humanas, são elas: cólon (HCT-8); melanoma (MDA-MB435); e glioblastoma (SF-295). Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos intervalos de

confiança a partir de regressão não-linear. Cada amostra foi testada em duplicata em dois experimentos independentes.

Por convenção do referido laboratório, uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (SA), com pouca atividade (PA, aquelas onde a inibição de crescimento celular variou entre 1 e 50%), com atividade moderada (Mo, inibição de crescimento celular variando de 50 a 75%) e com muita atividade (MA, inibição de crescimento variando de 75 a 100%). Nos resultados observados, algumas substâncias mostraram elevada atividade inibitória em pelo menos uma das linhagens testadas e moderada na outras (**10**, **13**, **15** e **21**) todas a uma concentração de 5 µg/mL.

Após avaliação inicial, estas 4 substâncias (**10**, **13**, **15** e **21**) foram submetidas a um novo ensaio onde foi determinada a concentração capaz de inibir o crescimento celular em 50% (CI₅₀), ainda utilizando o método colorimétrico do MTT. Os resultados deste ensaio podem ser observados na tabela 4 (pág. 54). Além das três linhagens celulares tumorais utilizadas anteriormente foi realizado teste com outra, a HL-60 (leucemia promielocítica).

Tabela 4. Valores de CI₅₀ em quatro linhagens celulares tumorais.

Linhagem Celular	10	13	15	21	AMSA^a
MDA-MB 435	9,84	10,20	18,00	4,79	ND
HL-60	7,77	4,69	10,20	2,47	0,08
HCT-8	6,88	7,28	15,00	1,29	0,25
SF-295	4,73	5,23	11,00	1,14	0,46

* Os valores são apresentados em nM.

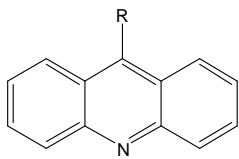
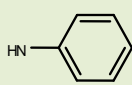
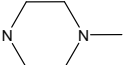

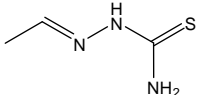
^a Controle Positivo.

Observou-se que todas as amostras testadas apresentaram CI₅₀ menor que 16 nM, com exceção da substância **15** em MDA-MB 435. Fármacos com atividade antitumoral apresentam as mais diversas concentrações inibitórias, a depender da eficiência de cada. Para um novo ser lançado ao mercado ele deverá apresentar melhor eficiência e maior segurança que os já comercializados, ou eficiência semelhante, porém com uma maior segurança que os atuais. Os fármacos antitumorais apresentam, em sua maioria, a característica de atuar nas mais diversas células que não as tumorais, principalmente células que possuem grande poder de divisão, isto é, células com intensa

taxa de proliferação e de diferenciação, são essas as primeiramente atacadas por fármacos antitumorais.

Como mencionado, as quatro substâncias sintetizadas testadas apresentaram boa concentração inibitória média, por este motivo, elas foram testadas quanto à capacidade de causar dano à membrana plasmática através do teste de atividade hemolítica, cujos resultados são apresentados na tabela 5 (pág. 55).

Tabela 5. Valores de concentração inibitória média capaz de provocar hemólise em 50% dos eritrócitos das acridinas testadas.

Substâncias	CI ₅₀ hemolítica*
 (10) 	-
(13) 	1,19
(15) 	0,47
(21) 	0,11

* valores apresentados em μM

Dentre as substâncias testadas, apenas **10** não apresentou atividade hemolítica. Quando há hemólise, o mecanismo pelo qual a substância atua é, provavelmente, devido a uma ruptura da membrana plasmática, e não havendo lise, provavelmente o mecanismo de citotoxicidade envolve vias celulares mais específicas (SILVA JR. et al. 2007).

Almeida e colaboradores, em 2005, em uma revisão sobre agentes antineoplásicos, relata que derivados acridínicos, como por exemplo a ansacrina, atuam em um ciclo-celular não-específico e interagindo com o DNA, neste caso, alterando as propriedades de pareamento de bases, mais especificamente CG (citosina e guanina).

Esses intercalantes (como são chamadas as substâncias que agem por este mecanismo de ação) possuem entre si uma característica em comum: presença de anéis aromáticos fundidos, que quando interagem com as bases nitrogenadas provocam espaçamento, pois há grande volume molecular, o que confere um ângulo de 90° em relação ao eixo do DNA.

Como pôde ser observado no teste de inibição de crescimento, cujos resultados se encontram na tabela 3 (pág. 53), com a mudança na posição do nitrogênio da posição *orto* para a posição *meta* há um ligeiro aumento da atividade, sendo esta preferível para modificações estruturais futuras. Quando o substituinte possui dois nitrogênios no anel aromático, não houve mudança significativa da atividade. Dentre os resultados obtidos com os derivados contendo aminas aromáticas, a que apresentou melhor atividade foi aquela que não apresentava heteroátomo, no caso nitrogênio, no substituinte.

Os derivados acridínicos contendo aminas alifáticas cíclicas como substituintes, apresentaram melhores atividades que aqueles cujos substituintes eram aminas aromáticas. Porém, a presença do nitrogênio nesses substituintes cíclicos mostrou-se fundamental, já que quando houve mudança do nitrogênio por oxigênio, como heteroátomo, ocorreu diminuição da atividade de inibição de crescimento (TABELA 3, pág. 53). Já para os derivados guanidínicos, a presença de enxofre resultou em diminuição significativa da inibição, mostrando a importância do nitrogênio na referida posição.

5. Conclusões e Perspectivas

De acordo com os resultados encontrados podemos concluir que:

- As metodologias que utilizavam aquecimento tradicional, por banho de óleo, mostraram-se eficientes para as substituições propostas, porém apenas para os derivados **5,21e22**, e alguns intermediários (**17, 18, 19 e 20**).
- As reações que utilizaram micro-ondas mostraram-se eficientes, com bons rendimentos para as aminas alifáticas cíclicas, e para o intermediário **14**;
- As reações de Büchwald-Hartwig, quando adaptadas para o uso de cloroacridina como material de partida, mostraram-se eficientes para todas as reações utilizadas;
- Foram sintetizados 19 compostos, entre eles alguns intermediários que não foram analisados quanto suas atividades citotóxicas;
- As substâncias **10, 13, 15 e 21**, apresentaram inibição de crescimento acima de 75% em pelo menos uma das linhagens celulares tumorais testadas; apresentando CI_{50} abaixo de $4\mu\text{g/mL}$, para as quatro linhagens testadas, exceto a substância **15** para a linhagem celular de melanoma; que quando comparados com o controle positivo (doxorubicina), mostraram-se melhores em algumas linhagens.
- Na avaliação da atividade hemolítica, apenas a substância **10** não apresentou esta atividade, o que nos leva a sugerir que esta não causa a inibição celular não é por ruptura de membrana, como pode ocorrer com as outras substâncias que causaram hemólise. Serão necessários outros ensaios para elucidar o mecanismo pelo qual estas substâncias atuam;
- Mudanças estruturais poderão ser feitas nas substâncias mais ativas obtidas, no intuito de evidenciarmos farmacóforos importantes na classe das amino-acridinas;
- Os derivados sintetizados poderão ser utilizados para avaliação da atividade citotóxica frente outras linhagens celulares tumorais, ampliando o espectro de ação destes derivados.

6. Experimental

6.1 Síntese

Todas as vidrarias utilizadas foram previamente limpas e secas em estufa a 150 °C. Os tubos de micro-ondas, já contendo o agitador magnético, foram deixados sob aquecimento também em estufa por 24 horas.

Os reagentes foram pesados em balança eletrônica analítica (Modelo AX 200) e semianalítica, das marcas Shimadzu e Bel, respectivamente.

Para evaporação e concentração de todas as substâncias, foi utilizado evaporador rotativo sob baixa pressão da marca Büchi.

Nas análises comparativas através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram utilizadas placas da Merck, sílica gel 60 F₂₅₄. Os cromatogramas foram visualizados através de exposição das placas à irradiação com luz ultravioleta, nos comprimentos de onda 254nm e 366nm.

As purificações foram realizadas no aparelho de cromatografia líquida de média pressão Flashsmart Evolution, A.I.T. France.

Quando necessário, as substâncias foram solubilizadas por ultrassom, no banho ultrassônico da marca Unique.

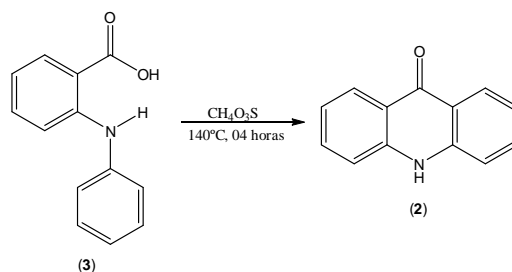
Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em espectrômetro Bruker Avancer 400, operando em frequência de 400MHz para ¹H e 100MHz para ¹³C do instituto de química e biotecnologia da universidade federal de Alagoas. Foram também utilizados espectrômetro Bruker Avancer 300, operando em frequência de 300MHz para ¹H e 75MHz para ¹³C e Bruker Avancer 200, operando em frequência de 200MHz para ¹H e 50MHz para ¹³C, ambos da Université Louis-Pasteur Strasbourg I, em Estrasburgo – França. Em todos os casos, o referencial interno foi o trimetilsilano (TMS), sendo os dados processados através do programa NMRNotebook versão 2.50. Os deslocamentos foram registrados em ppm e as constantes de acoplamento em Hertz.

Para agitação e aquecimento foi utilizada a placa de marca IKA® C-MAG HS 7, e o controle da temperatura foi realizado com termômetro IKA® ETS-D5 acoplado à

placa. Já a irradiação de micro-ondas foi realizada usando o aparelho Biotage Initiator EXP.

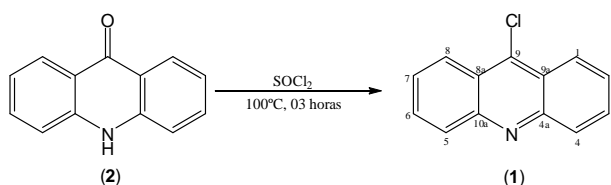
As estruturas químicas, as reações e os esquemas foram desenhados utilizando o programa ChemDraw Ultra Versão 10.0.

6.1.1 Obtenção de 10,10a-diidroacridina-9(8aH)-ona (Acridona) (2)



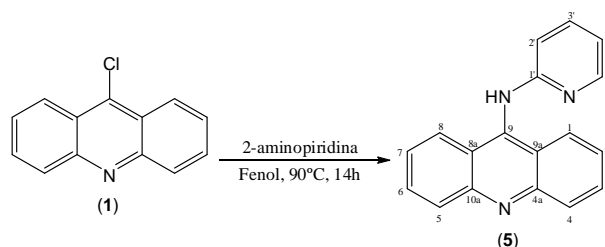
Foram dissolvidos 2g do ácido N-fenilantranílico com 14mL do ácido metano sulfônico (MeSO_3H), em balão volumétrico de 100mL, que foram aquecidos a 140°C (em banho de óleo). A mistura reacional foi mantida sob refluxo durante 4 horas. Após confirmação de consumo dos reagentes por meio de placas cromatográficas de camada delgada (CCDA), foi resfriada a temperatura ambiente e o produto vertido em um béquer de 200mL contendo mistura de água/gelo (v/v, 1/1), precipitando sob aspecto de pó amarelo. Este foi filtrado e lavado com água destilada abundantemente, sendo assim obtida a substância **1** (1,83g; 9,37mmol) com rendimento de 100%. **RMN ^1H** (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 7,25(t, 2H, $J=7,6\text{Hz}$); 7,54 (d, 2H, $J=8,3\text{Hz}$); 7,72 (t, 2H, $J=7,9\text{Hz}$); 8,23(d, 2H, $J=7,6\text{Hz}$); 11,9(s, 1H). **RMN ^{13}C** (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 117,801; 120,914; 121,521; 126,480; 133,970; 141,340; 177,307.

6.1.2 Obtenção de 9-cloroacridina (1)



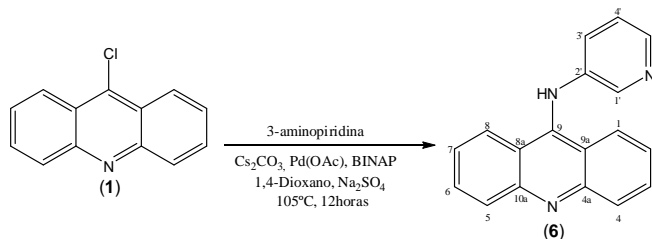
Foram misturados 2g de **2** e 20mL de cloreto de tionila (SOCl_2) em balão volumétrico e foram aquecidos a 100°C (em banho de óleo) e mantidos sob refluxo por 3 horas. Após o tempo reacional o produto foi esfriado à temperatura ambiente, o excesso de SOCl_2 foi evaporado utilizando evaporador rotacional sob baixa pressão (Büchi®), e então vertido em uma mistura de gelo/água/ CHCl_3 (1/1 V/V). A mistura foi então basificada com $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ até atingir pH entre 7 e 8. As fases orgânica e aquosa foram separadas utilizando funil de separação, e essa foi seca com sulfato de sódio (Na_2SO_4) e então evaporada a seco em evaporador rotacional de média pressão. Após secagem, o material foi filtrado em uma coluna rápida de sílica (Silicagel 60 PF₂₅₄ com gesso) utilizando CHCl_3 como sistema de eluição. Obtiveram-se 6 frações de 150mL, estando o produto desejado, substância **1**, nas duas primeiras frações, que foram unidas e evaporadas em rotaevaporador, com rendimento de 81,3%. (1,78g; 8,33mmol). **RMN** ^1H (400MHz, CDCl_3): 7,66 (t, 2H, $J=7,7\text{Hz}$); 7,84 (t, 2H, $J=7,7\text{Hz}$); 8,26 (d, 2H, $J=7,7\text{Hz}$); 8,46 (d, 2H, $J=9,0\text{Hz}$).

6.1.3 Obtenção de *N*-(piridin-2-il)-acridin-9-amina (**5**)



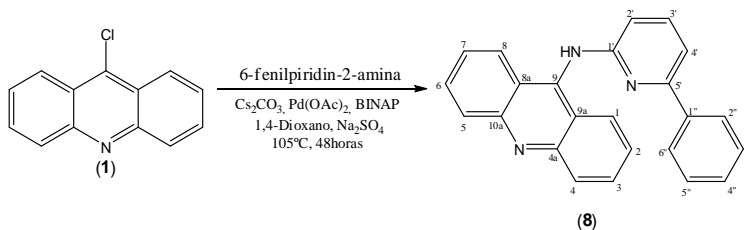
Em um balão volumétrico foram dissolvidos 100mg de **1** em 2mL de fenol. Em seguida foi adicionada ao balão volumétrico 40mg de 2-aminopiridina, que foi aquecido à 90°C , por 14 horas. Após atingir temperatura ambiente, ao conteúdo reacional foram adicionados 15mL de CH_2Cl_2 . A fase orgânica foi lavada com NaOH (0,1N), água e solução saturada de NaCl . A fase orgânica foi então seca e o material foi evaporado a seco. Foi obtido um produto amarelo, que em seguida foi triturado com éter. Após filtração obteve-se um produto impuro.

6.1.4 Obtenção de *N*-(piridin-3-il)-acridin-9-amina (6)



Em um tubo para micro-ondas pesou-se 1g de Na_2SO_4 , que foi levado à estufa por 24 horas para eliminação de umidade. Foram pesados 3,14mg de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 17,44mg de BINAP, 53,1mg de 3-aminopiridina, 231,33mg de Cs_2CO_3 e 100mg de **1**, e sob agitação, 2mL de 1,4-dioxano foram adicionados. O ar do interior do tubo foi trocado por nitrogênio gasoso, e este foi lacrado e colocado em banho de óleo à 105°C por 12 horas. Após atingir temperatura ambiente, a mistura reacional foi vertida em um béquer e lavada com água/acetato de etila (1:1; v/v), filtrada para a retirada do Na_2SO_4 e, em um funil de separação, a fase orgânica foi separada. Esta foi evaporada em rotaevaporador, possuindo rendimento quantitativo de 92% (117,23mg; 0,43mmol). **RMN ^1H** (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,01 (t, 2H); δ 7,22 (dt, 2H); δ 7,33 (dd, 1H); δ 7,45, (d, 2H); δ 7,56 (t, 2H); δ 7,8 (sl, 2H); δ 8,09 (d, 1H); δ 8,21 (dd, 1H).

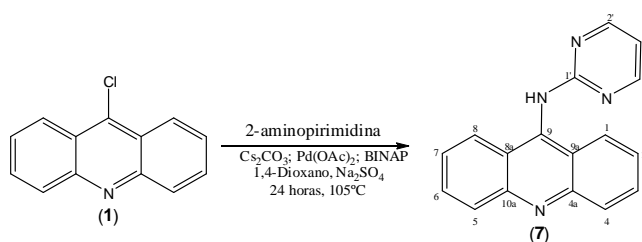
6.1.5 Obtenção de *N*-(6-fenilpiridin-2-il)-acridin-9-amina (8)



Em um tubo para micro-ondas pesou-se 1g de Na_2SO_4 , que foi levado à estufa por 24 horas para eliminação de umidade. Foram pesados 3,14mg de $\text{Pd}_2(\text{OAc})_3$, 17,44mg de BINAP, 95,88mg de 6-fenilpiridin-2-amina, 231,33mg de Cs_2CO_3 , 100mg de **1** e, sob agitação, 2mL de 1,4-dioxano foi adicionado. O ar do interior do tubo foi

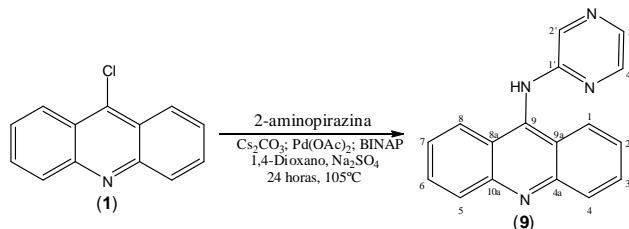
trocado por nitrogênio gasoso, e este foi lacrado e colocado em banho de óleo à 105°C por 24 horas. Após atingir temperatura ambiente, a mistura reacional foi vertida em um béquer e lavada com água/acetato de etila (1:1; v/v), filtrada para a retirada do Na₂SO₄ e, em um funil de separação, a fase orgânica foi separada e evaporada a seco, com um rendimento de 77% (125,63mg; 0,36mmol). **RMN ¹H** (200MHz, DMSO-d₆): δ 8,17 (d, 2H); δ 7,85 (t, 2H); δ 7,72 (t, 1H); δ 7,96 (d, 1H); δ 7,4 (m, 6H); δ 7,2 (d, 2H); δ 6,8 (m, 2H).

6.1.6 *N*-(pirimidin-2-il)-acridin-9-amina (7)



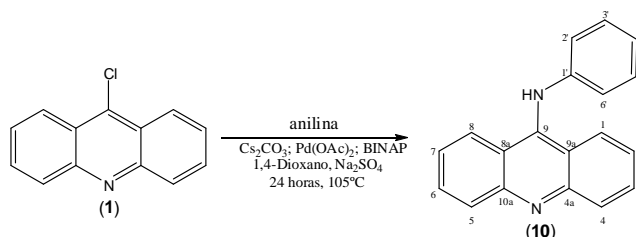
Em um tubo para micro-ondas pesou-se 1g de Na₂SO₄, que foi levado à estufa por 24 horas para eliminação de umidade. Foram pesados 1,57mg de Pd₂(OAc)₃, 8,72mg de BINAP, 25,68mg de 2-aminopirimidina, 114,36mg de Cs₂CO₃, 50mg de **1** e, sob agitação, 1mL de 1,4-dioxano foi adicionado. O ar do interior do tubo foi trocado por nitrogênio gasoso, e este foi lacrado e colocado em banho de óleo à 105°C por 24 horas. Após atingir temperatura ambiente, a mistura reacional foi vertida em um béquer e lavada com água/acetato de etila (1:1; v/v), filtrada para a retirada do Na₂SO₄ e, em um funil de separação, a fase orgânica foi separada, sendo seca com Na₂SO₄. Esta foi evaporada em rotaevaporador. Em seguida foram adicionados acetato de etila e HCl (1N). A fase aquosa foi rebasificada com NaHCO₃ saturado até pH 8. Foi feita extração com AcOEt (seca com Na₂SO₄) e por fim, o material foi evaporado. Foram obtidos 60mg (85% de rendimento) **RMN ¹H** (300MHz, DMSO-d₆): δ 6,85 (sl, 3H); δ 7,55 (sl, 2H); δ 7,82 (sl, 2H); δ 8,15 (dd, 3H); δ 8,35 (s, 2H).

6.1.7 *N*-(pirazin-2-il)-acridin-9-amina (9)



Em um tubo para micro-ondas pesou-se 1g de Na_2SO_4 , que foi levado à estufa por 24 horas para eliminação de umidade. Foram pesados 1,57mg de $\text{Pd}_2(\text{OAc})_3$, 8,72mg de BINAP, 26,72mg de 2-aminopirazina, 114,36mg de Cs_2CO_3 , 50mg de **1** e, sob agitação, 1mL de 1,4-dioxano foi adicionado. O ar do interior do tubo foi trocado por nitrogênio gasoso, e este foi lacrado e colocado em banho de óleo à 105°C por 24 horas. Após atingir temperatura ambiente, a mistura reacional foi vertida em um béquer e lavada com água/acetato de etila (1:1; v/v), filtrada para a retirada do Na_2SO_4 e, em um funil de separação, a fase orgânica foi separada. Esta foi evaporada em rotaevaporador. O produto foi purificado através de cromatografia líquida de média pressão (CLMP), com um rendimento de 90% (56,33mg; 0,21mmol). **RMN ^1H** (300MHz, DMSO-d_6): δ 6,76 (d, 2H); δ 6,96 (t, 2H); δ 7,29 (t, 2H), δ 7,5 (m, 3H); δ 7,86 (sl, 2H).

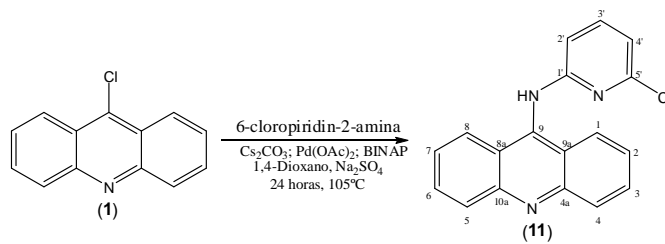
6.1.8 Obtenção de *N*-fenilacridin-9-amina (10)



Em um tubo para micro-ondas pesou-se 1g de Na_2SO_4 , que foi levado à estufa por 24 horas para eliminação de umidade. Foram pesados 3,14mg de $\text{Pd}_2(\text{OAc})_3$, 17,44mg de BINAP, 231,33mg de Cs_2CO_3 , 100mg de **1** e foram adicionados 51,4 μL de

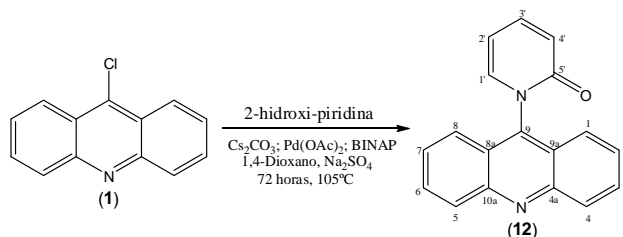
anilina, e sob agitação, 2mL de 1,4-dioxano. O ar do interior do tubo foi trocado por nitrogênio gasoso, e este foi lacrado e colocado em banho de óleo à 105°C por 24 horas. Após atingir temperatura ambiente, a mistura reacional foi vertida em um béquer e lavada com água/acetato de etila (1:1; v/v), filtrada para a retirada do Na₂SO₄ e, em um funil de separação, a fase orgânica foi separada. Esta foi evaporada em rotaevaporador. O produto foi purificado através de cromatografia líquida de média pressão (CLMP), com um rendimento de 71% (90,14mg; 0,33mmol). **RMN ¹H** (200MHz, CDCl₃): δ 8,06 (d, 2H); δ 7,9 (d, 2H); δ 7,67 (t, 2H); δ 7,3 (t, 5H); δ 7,0 (t, 1H); δ 6,92 (d, 2H).

6.1.9 Obtenção de *N*-(6-cloropiridin-2-il)-acridin-9-amina (11)



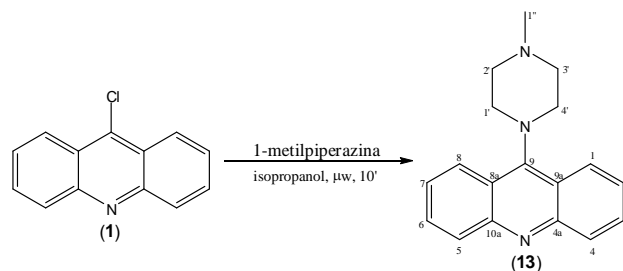
Em um tubo para micro-ondas pesou-se 1g de Na₂SO₄, que foi levado à estufa por 24 horas para eliminação de umidade. Foram pesados 3,14mg de Pd₂(OAc)₃, 17,44mg de BINAP, 128,56mg de 6-cloropiridin-2-amina, 231,33mg de Cs₂CO₃, 100mg de cloroacridina e, sob agitação, 2mL de 1,4-dioxano foi adicionado. O ar do interior do tubo foi trocado por nitrogênio gasoso, e este foi lacrado e colocado em banho de óleo à 105°C por 24 horas. Após atingir temperatura ambiente, a mistura reacional foi vertida em um béquer e lavada com água/acetato de etila (1:1; v/v), filtrada para a retirada do Na₂SO₄ e, em um funil de separação, a fase orgânica foi separada. Esta foi evaporada em rotaevaporador. Não foi possível mensurar rendimento pois a reação resultou em mistura de produtos.

6.1.10 Obtenção de 1-(acridin-9-il)piridin-2(1H)-ona (12)



Em um tubo para micro-ondas pesou-se 1g de Na_2SO_4 , que foi levado à estufa por 24 horas para eliminação de umidade. Foram pesados 3,14mg de $\text{Pd}_2(\text{OAc})_3$, 17,44mg de BINAP, 53,64mg de piridin-2-ol, 231,33mg de Cs_2CO_3 e 100mg de cloroacridina (1), e sob agitação, 2mL de 1,4-dioxano foram adicionados. O ar do interior do tubo foi trocado por nitrogênio gasoso, e este foi lacrado e colocado em banho de óleo à 105°C por 24 horas. Após esse tempo, uma placa de CCD foi realizada e se observou produto de partida, a reação então foi deixada por todo o final de semana para o consumo deste. Outra placa de CCD foi feita, confirmando o término da reação. O material foi esfriado à temperatura ambiente e a mistura reacional foi vertida em um béquer e lavada com água/acetato de etila (1:1; v/v), acarretando na formação de um precipitado, que foi filtrado possuindo um rendimento de 77% (98,47mg; 0,36mmol). **RMN ^1H** (300MHz, CDCl_3): δ 8,23 (d, 2H); δ 7,9 (t, 2H); δ 7,5 (d, 2H); δ 7,69 (t, 2H); δ 6,5 (t, 1H); δ 6,7 (d, 1H); δ 7,7 (t, 2H).

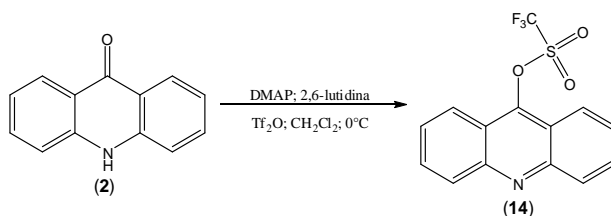
6.1.11 Obtenção de 9-(4-metilpiperazin-1-il)acridina (13)



A um tubo de micro-ondas foram adicionados 0,13mL de *N*-metilpiperazina e 1mL de isopropanol. Em seguida, pesou-se 50mg de **1**, lacrou-se o tubo e o aqueceu à

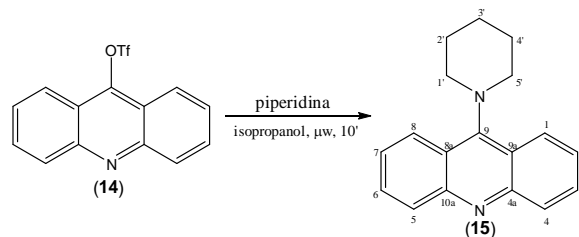
120°C por 10 minutos. Após o término deste tempo, uma placa de CCDA foi preparada, constatando que não havia mais produto de partida e um novo produto mais polar havia se formado. A mistura reacional foi evaporada a seco, adiciona-se diclorometano e lava com água. A mistura é seca com Na₂SO₄ e depois evapora-se a seco. A reação tem 88% de rendimento quantitativo (56,1mg; 0,2mmol). **RMN ¹H**(300MHz, D₂O): δ 8,7 (d, 2H), δ 8,2 (d, 2H); δ 7,9 (t, 2H); δ 7,7 (t, 2H); δ 2,6 (m, 11H).

6.1.12 Obtenção de acridin-9-il trifluorometanossulfonato (14)



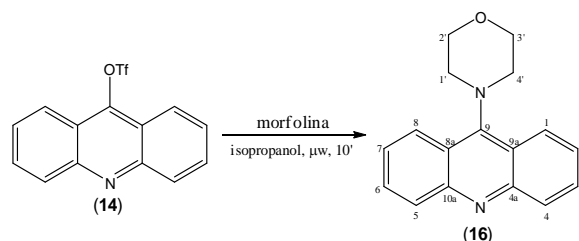
A 0°C, em uma solução de 200mg de acridona e 5mL de CH₂Cl₂, foram adicionados 23,8mg de DMAP, 0,164mL de 2,6-lutidina e gota-a-gota 0,2mL de Tf₂O. Toda esta etapa foi realizada em ar inerte. A suspensão amarela tornou-se uma solução marrom. Após 30 minutos, foi feita uma placa de CCDA, constatando que ainda havia um pouco de material de partida. Em seguida, adicionou-se água e fez-se uma extração com CH₂Cl₂, sendo seca com Na₂SO₄ e evaporada a seco. Realizou-se uma purificação em coluna de sílica fina rápida, usando CH₂Cl₂:TEA 5% para ativar a coluna. Utilizou-se hexano:acetato de etila (1:1) como eluente, recolhendo tubos de 10mL cada; foram recuperados os tubos 2-5, que quando reunidos foram evaporados a seco. Foram obtidos 320mg de um pó amarelo (97% de rendimento, 0,98mmol).

6.1.13 Obtenção de 9-(piperidin-1-il)-acridina (15)



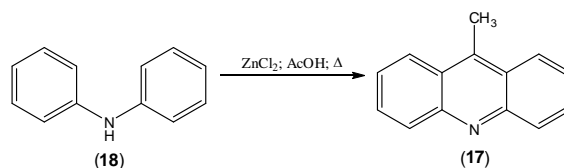
Em um tubo para micro-ondas, são pesados 150mg de acridina-triflato e adicionados 0,23mL de morfolina e 2,5mL de isopropanol. A mistura é aquecida em micro-ondas à 130°C, por 10 minutos. Ao término, a mistura reacional é evaporada a seco. Obtêm-se 98,88mg (0,38mmol), com rendimento de 82%.

6.1.14 Obtenção de 4-(acridin-9-il)-morfolina (16)



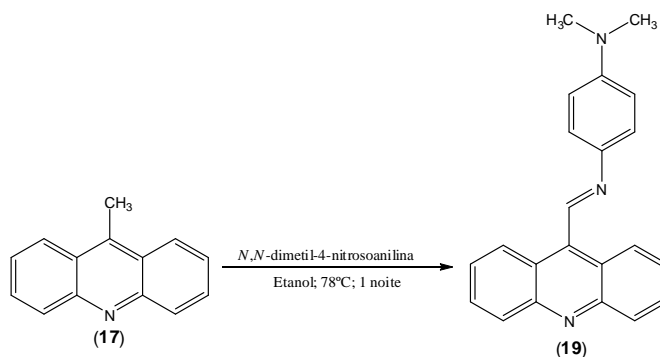
Em um tubo para micro-ondas, são pesados 150mg de acridina-triflato e adicionados 0,2mL de morfolina e 2,5mL de isopropanol. A mistura é aquecida em micro-ondas à 130°C, por 10 minutos. Ao término, a mistura reacional é evaporada a seco. Obtêm-se 103,28mg (0,39mmol), com rendimento de 85%.

6.1.15 Obtenção de 9-metilacridina (17)



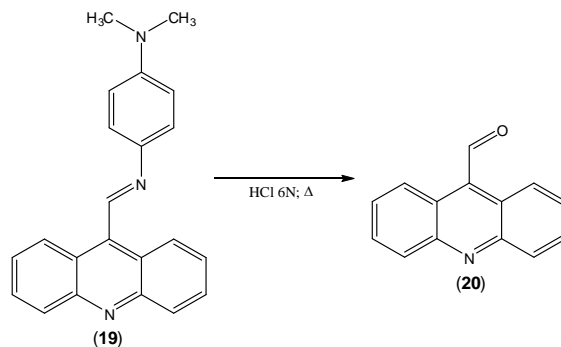
Aquece-se 20,1g cloreto de zinco por uma noite em um balão, sob vácuo, à 200°C. Após seco, são adicionados ao balão 10g de fenilamina, 10,1mL de ácido acético e o cloreto de zinco. A mistura é aquecida por 08 horas à 200°C. É obtido um produto verde ao qual são vertidos 160mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1N, sendo em seguida levado ao ultrassom para dispersão. Em um banho de gelo, é adicionado hidróxido de amônia 30% (NH₄OH) até atingir pH entre 08 e 09, sendo então extraído com diclorometano (CH₂Cl₂) que é seco com Na₂SO₄ e depois evaporado à seco. O material obtido é purificado em uma coluna rápida de sílica utilizando CH₂Cl₂ e CH₂Cl₂:AcOEt (9:1) como eluentes. Foram obtidos 6,72g (34,80mmol) de pó amarelo, com um rendimento de 58%. **RMN** ¹³C(300MHz, CDCl₃): δ 14,03; δ 124,9; δ 125,7; δ 129,7; δ 130,6; δ142,6; δ148,8.

6.1.16 Obtenção de (*E*)-*N*¹-(acridin-9-ilmetileno)-*N*⁴,*N*⁴-dimetilbenzeno-1,4-diamina (19)



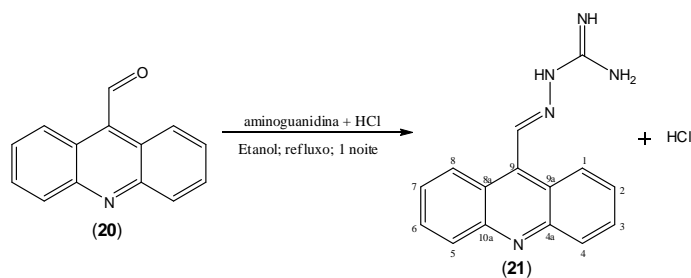
Em um balão volumétrico de 100mL a *N,N*-dimetil-4-nitrosoanilina foi adicionada a uma solução de 9-metilacridina e 25mL de etanol. A mistura foi aquecida a 78°C por 12 horas, durante a noite. Ao final das 12 horas, o produto foi filtrado, ainda quente, e lavado com 100mL etanol também quente. Foram obtidos 3,15g (9,67mmol) com rendimento de 72%. Este produto é lacrimogêneo.

6.1.17 Obtenção de acridina-9-carboxaldeído (20)



Em um balão volumétrico de 250mL foram adicionados 3g de **19** e 50mL de HCl 6N, sob agitação e refluxo (105°C), por 4 horas. A mistura reacional foi filtrada, lavada com HCl 2N. Adicionou-se 50 mL de água e, em seguida, foi basificada a pH 7-9 com solução de Na₂CO₃ saturada. O produto é extraído com CH₂Cl₂, seco com Na₂SO₄ e evaporado a seco. Foram obtidos 1,2g (5,8mmol) de **20**, com 63% de rendimento.

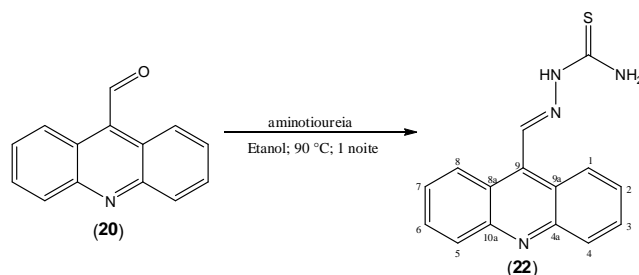
6.1.18 Obtenção de (E)-2-(acridin-9-ilmetileno)-hidrazinacarboximidamida (21)



Em um balão, misturam-se 200mg de acridin-9-carbaldeído, 107mg de aminoguanidina e 4mL de etanol, e aquece-se sob refluxo por 12 horas. A mistura reacional é evaporada a seco, triturada com éter e filtrada. O produto é então lavado com éter e filtrado. Obtêm-se 250,13mg (0,95mmol), com um rendimento 98%. **RMN**

^1H (200MHz, DMSO- d_6): δ 8,49 (d, 2H); δ 7,8 (t, 2H); δ 8,3 (d, 2H); δ 7,7 (t, 2H); δ 9,38 (s, 1H).

6.1.19 Obtenção de (*E*)-2-(acridin-9-ilmetileno)aminoureia (22)



Em um balão volumétrico foram pesados 200mg de acridin-9-carbaldeído e 88mg de aminoureia, e adicionados 4mL de etanol P.A. Esta mistura foi aquecida em banho de óleo à 90°C por 12 horas. Ao término, observou-se um precipitado de cor amarela. O produto foi evaporado a seco e depois filtrado e lavado com éter. Um material sólido amarelo foi obtido, com rendimento de 90% (244,51mg; 0,87mmols). **RMN ^1H** (300MHz, DMSO- d_6): δ 7,6 (t, 2H); δ 7,7 (t, 2H); δ 7,79 (d, 2H); δ 8,6 (d, 2H); δ 9,23 (s, 1H).

6.2 Ensaios Biológicos

As linhagens tumorais utilizadas, MDA-MB435 (mama - humano), HCT-8 (cólon - humano); SF-295 (Glioblastoma – humana) e HL-60 (leucemia promielocítica) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO_2 .

Os eritrócitos foram obtidos a partir de Sangue coletado de três camundongos Swiss (*Mus musculus*) por via do plexo orbital (altamente vascularizado), sendo diluído em 30 volumes de solução salina (NaCl 0,85% + CaCl_2 10mM). Para a realização dos ensaios as amostras foram diluídas em DMSO puro estéril, obtendo um estoque de 10 mg/mL, sendo testadas na maior concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$.

Para o *screening* os resultados foram analisados segundo suas médias e respectivos intervalos de confiança a partir da regressão não linear no programa *GraphPad Prism*. Cada amostra foi testada em duplicata em dois experimentos independentes. Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (SA), com pouca atividade (PA, inibição de crescimento celular variando de 1 a 50%), com atividade moderada (Mo, inibição de crescimento celular variando de 50 a 75%) e com muita atividade (MA, inibição de crescimento variando de 75 a 100%).

Já para o cálculo de CI_{50} e para o ensaio da atividade hemolítica os dados foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular, também usando o programa *GraphPad Prism*.

6.2.1 Screening

As células foram plaqueadas em placas de 96 cavidades nas seguintes densidades: $0,7 \times 10^5$ (HCT-8), $0,1 \times 10^6$ (SF-295) e $0,1 \times 10^6$ (MDAMB-435). As amostras foram adicionadas e as placas foram incubadas por 72 h em estufa a 5% de CO_2 a $37^\circ C$. Estas foram testadas em uma única concentração ($5 \mu g/mL$). Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas, e o sobrenadante removido. Em seguida, foram adicionados $150 \mu L$ da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com $150 \mu L$ de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a $595nm$. Doxorrubicina (Dox) foi utilizada como controle positivo.

6.2.2 Determinação de CI_{50}

As células foram plaqueadas na concentração de $0,1 \times 10^6$ células/mL para as linhagens MDA-MB435 e SF-295, $0,3 \times 10^6$ para a linhagem HL-60 e $0,7 \times 10^5$ para HCT-8. Em seguida foram adicionadas as amostras numa concentração variando de 0,001 a $5 \mu g/mL$, e as placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO_2 a $37^\circ C$. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas, e o sobrenadante, removido.

Em seguida, foram adicionados 150 μL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 μL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm. Como controle positivo foi utilizado Amsacrina (AMSA).

6.2.3 Avaliação da Atividade Hemolítica

Os eritrócitos foram lavados duas vezes em solução salina por centrifugação (1500rpm/ 3min.) para redução da contaminação plasmática e ressuspensos em solução salina para obtenção de uma suspensão de eritrócitos (SE) a 2%. Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços. Cada poço da 1ª coluna recebeu 100 μL da solução salina. Na 2ª, os poços receberam 90 μL da solução salina e 10 μL do veículo de diluição da substância teste, neste caso, DMSO 10%. Na 3ª coluna, foram adicionados 60 μL de solução salina e 40 μL do agente hemolisante Triton X-100 0,5% (controle-positivo). Da 4ª a 11ª coluna os poços receberam 100 μL da solução salina, excetuando-se os da última coluna, que receberam 180 μL de solução salina e 20 μL das amostras. As diluições foram feitas dos poços da 12ª à 4ª coluna, retirando-se 100 μL da solução da cavidade anterior e transferindo para a seguinte de modo que as concentrações foram sempre diluídas pela metade, variando de 1,9 a 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Em seguida, 100 μL da SE 2% foram plaqueados em todos os poços. Após incubação de 1h, sob agitação constante à temperatura ambiente ($26 \pm 2^\circ\text{C}$), as amostras foram centrifugadas (5000rpm/ 3 min.) e o sobrenadante transferido para outra placa onde foi realizada a leitura da absorbância no espectrofotômetro de placas a 540nm.

Referências

Referências

- ABRALE (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LINFOMA E LEUCEMIA). **O que é Câncer.** Disponível em: <<http://www.abrale.org.br/doencas/cancer/index.php?area=cancer>>. Acesso em: 29 maio 2009.
- ALMEIDA, V. L. et al. Câncer e Agentes Antineoplásicos Ciclo-celular Específicos e Ciclo-Celular Não Específicos que Interagem com o DNA: Uma Introdução. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p.118-129, 2005.
- ALVARÉZ, M. et al. Synthesis of Ascididemine and an Isomer. **European Journal Of Organic Chemistry**, p.849-855, 2000.
- ANTONINI, I. et al. 2,3-Dihydro-1H,7H-pyrimido[5,6,1-de]acridine-1,3,7-trione Derivatives, a Class of Cytotoxic Agents Active on Multidrug-Resistant Cell Lines: Synthesis, Biological Evaluation, and Structure-Activity Relationships. **Journal Of Medicinal Chemistry**, J. Med. Chem., v. 42, p.2535-2541, 1999.
- ANTONINI, I. et al. 2,6-Di(β -aminoalkyl)-2,5,6,7-tetrahydropyrazolo[3,4,5-mn]pyrimido[5,6,1-de]-acridine-5,7-diones: Novel, Potent, Cytotoxic, and DNA-Binding Agents. **Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 45, p.696-702, 2002.
- ARAÚJO-JÚNIOR, J. X. et al. Sequential regio and chemoselective cross-coupling reactions by means of O^6 -tri-isopropylsulfonate of 4-bromo-pyridazine 3,6-dione. **Tetrahedron letters**, v. 47, p.6125-6128, 2006.
- ARAÚJO-JÚNIOR, J. X. et al. Synthesis of regiospecifically polysubstituted pyridazinones. **Tetrahedron letters**, v. 48, p. 7817-7820, 2007.
- ASTHANA, P.; RASTOGI, S. N. Synthesis of 9-aryl/pyrimidyl/alkyl-substituted-(oxy/amino/carbonyl)-acridines and 1,3-bis(9-acridinyl)propan-2-ols as potencial anticancer agents. **Indian Journal Of Chemistry**, v. 30, p.853-858, 1991.
- AUDISIO, D. et al. A convenient and expeditious synthesis of 3-(*N*-substituted) aminocoumarins via palladium-catalyzed Büchwald–Hartwig coupling reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 48, p.6928-6932, 2007.
- BALLETT, S. et al. Derivatization of 1-phenyl substituted 4-amino-2-benzazepin-3-ones: evaluation of Pd-catalyzed coupling reactions. **Tetrahedron**, v. 63, p.3718-3727, 2007.
- BELETSKAYA, I. P.; CHEPRAKOV, A. V. The Heck Reaction as a Sharpening Stone of Palladium Catalysis. **Chemical Reviews**, v. 100, p.3009-3066, 2000.
- BENDERITTER, P. et al. 2-Amino-6-iodo-4-tosyloxypyrimidine: a versatile key intermediate for regioselective functionalization of 2-aminopyrimidines in 4- and 6-positions. **Tetrahedron**, v.63, p.12465-12470, 2007.

- BLASER, H. U. et al. Supported palladium catalysts for fine chemicals synthesis. **Journal Of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 48, p.3-18, 2001.
- BLASZCZYK, I.; TRZECIAK, A. M.; ZIOLKOWSKI, J. J. Catalytic Activity of Pd(II) Complexes with Triphenylphosphito Ligands in the Sonogashira Reaction in Ionic Liquid Media. **Catalysis Letters**, v. 133, p.262-266, 2009.
- BOLM, C.; HILDEBRAND, J. P. Palladium-Catalyzed Carbon-Nitrogen Bond Formation: A Novel, Catalytic Approach towards N-Arylated Sulfoximines. **Tetrahedron Letters**, v. 39, p.5731-5734, 1998.
- BOUZYK, A.; JOZWIAK, L.; BLAZEJOWSKI, J. ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy of 9-acridinones. **Journal Of Molecular Structure**, v. 612, p.29-38, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. **Estimativas 2008: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. **Estimativas 2010: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2009.
- BRAVO-ALTAMIRANO, K.; HUANG, Z.; MONTCHAMP, J. L. Palladium-catalyzed phosphorus-carbon bond formation: cross-coupling reactions of alkyl phosphinates with aryl, heteroaryl, alkenyl, benzylic, and allylic halides and triflates. **Tetrahedron**, v. 61, p.6315-6329, 2005.
- Büchwald-Hartwig Cross Coupling Reaction. Disponível em: <<http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/Büchwald-hartwig-reaction.shtm>>. Acesso em: 04 abr. 2010.
- BUNNETT, J. F.; ZÄHLERZ, R. E. Aromatic Nucleophilic Substitution Reactions. **Chemical Reviews**: v. 49, n. 2, p.273-412, 1951.
- CALABRESI, Paul; CHABNER, Bruce A. Quimioterapia das Doenças Neoplásicas: Introdução. In: GOODMAN; GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2005. Cap. , p. 1035-1040.
- CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. Aromatic Substitution Reactions. In: **Advanced Organic Chemistry: Part B: Reactions and synthesis**: 5. ed. Springer, 2007. Cap. 11, p. 1003-1062.
- CAREY, F. A.; SUNDBERG, R.j. Nucleophilic Substitutions. In: **Advanced Organic Chemistry: Part A: Structures and Mechanisms**. 5. ed. Springer, 2007. Cap. 4, p. 389-472.
- CHEN, I. L. et al. Synthesis and Cytotoxic Evaluation of Some 4-Anilino-furo[2,3-b]quinoline Derivatives. **Helvetica Chimica Acta**, v. 85, p.2214-2221, 2002.

- CHEN, K. M. et al. Synthesis and Antitumor Activity of Sulfur-Containing 9-Anilinoacridines. **Molecular Pharmaceutics**, v. 2, n. 2, p.118-128, 2004.
- CHEN, S. N.; WU, W. Y.; TSAI, F. Y. Hiyama reaction of aryl bromides with arylsiloxanes catalyzed by a reusable palladium(II)/cationic bipyridyl system in water. **Tetrahedron**, v. 64, p.8164-8168, 2008.
- CHEN, Y. L. et al. Synthesis and anticancer evaluation of certain indolo[2,3- β]quinoline derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 12, p.6539-6546, 2004.
- CHEN, Y. L. et al. Synthesis and anticancer evaluation of certain 4-anilino-furo[2,3- β]quinoline and 4-anilino-furo[3,2-c]quinoline derivatives. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 40, p.928-934, 2005.
- CHRISTENSEN, H.; KIIL, S.; DAM-JOHANSEN, K. Effect of solvents on the product distribution and reaction rate of a Büchwald-Hartwig amination reaction. **Organic Process Research & Development**, v. 10, p.762-769, 2006.
- DOHERTY, S. et al. Modular Synthesis of a New Class of Bis(amino-oxazoline) Using Palladium-Catalyzed Büchwald Hartwig Amination Methodology. **Organometallics**, v. 25, p.4341-4350, 2006.
- ELDERFIELD, R. C. et al. Synthesis of Certain Simple 4-Aminoquinoline Derivatives. **Journal Of The American Chemical Society**, v. 68, p.1250-1251, 1946.
- FIROUZABADI, H.; IRANPOOR, N.; NOWROUZI, F. Aluminum dodecatungstophosphate (AlPW₁₂O₄₀) as a non-hygroscopic Lewis acid catalyst for the efficient Friedel–Crafts acylation of aromatic compounds under solventless conditions. **Tetrahedron**: v. 60, p.10843-10850, 2004.
- FLECKENSTEIN, C. A.; PLENIO, H. The Role of Bidentate Fluorenylphosphines in Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions. **Organometallics**, v. 27, n. 15, p.3924-3932, 2008.
- GAMAGE, S. A. et al. A New Synthesis of Substituted Acridine-4-carboxylic Acids and the Anticancer Drug N-[2-(Dimethylamino)ethyl] acridine-4-carboxamide (DACA). **Tetrahedron Letters**, v. 38, n. 4, p.699-702, 1997.
- GAMAGE, S. A. et al. Structure Activity Relationships for Substituted Bis(acridine-4-carboxamides): A New Class of Anticancer Agents. **Journal Of Medicinal Chemistry**: 999, 42, 2383-2393, v. 42, p.2383-2393, 1999.
- GARG, R.; DENNY, W. A.; HANSCH, C. Comparative QSAR Studies on Substituted Bis-(acridines) and Bis-(phenazines)-Carboxamides: A New Class of Anticancer Agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 8, p.1835-1839, 2000.
- GEMMA, S. et al. Microwave-assisted synthesis of 4-quinolylhydrazines followed by nickel boride reduction: a convenient approach to 4-aminoquinolines and derivatives. **Tetrahedron Letters**, v. 49, p.2074-2077, 2008.

- GUYTON, A. C.; HALL, J.E. Genetic Control of Protein Synthesis, Cell Function and Cell Reproduction. **Textbook of Medical Physiology**. 11. ed. Pennsylvania: Elsevier Saunder, 2006. Cap. 3, p. 40-42.
- HAJRA, S.; MAJI, B.; BAR, S.Samarium Triflate-Catalyzed Halogen-Promoted Friedel-Crafts Alkylation with Alkenes. **Organic Letters**: v. 9, n. 15, p.2783-2786, 2007.
- HAMER, F. M. The Synthesis of an Azocyanine. **Journal Of Chemical Society**, v. 125, p.1348-1357, 1924.
- HARTWIG, J. F. Evolution of a Fourth Generation Catalyst for the Amination and Thioetherification of Aryl Halides: 1534-1544. **Accounts Of Chemical Research**, v. 41, n. 11, p.1534-1544, 2008.
- HEO, J. N.; SONG, Y. S.; KIM, B. T. Microwave-promoted synthesis of amino-substituted 2-pyridone derivatives via palladium-catalyzed amination reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 46, p.4621-4625, 2005.
- Hiyama Coupling. Disponível em: <<http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/hiyama-coupling.shtm>>. Acesso em: 04 abr. 2010.
- HU, C. et al. Palladium-catalyzed synthesis of tryptamines and tryptamine homologues: synthesis of psilocin. **Tetrahedron**, v. 27, n. 15, p.9075-9080, 2009.
- INCA (Instituto Nacional do Câncer) a **O que é câncer?** Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>, a. Acesso em: 16 jun. 2008.
- INCA (Instituto Nacional do Câncer)**Como é o processo de carcinogênese?** Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=319>, c. Acesso em: 16 jun. 2008.
- INCA (Instituto Nacional do Câncer)**O que causa o câncer?** Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=81>, b. Acesso em: 16 jun. 2008.
- KANGANI, C. O.; DAY, B. W. Mild, Efficient Friedel-Crafts Acylations from Carboxylic Acids Using Cyanuric Chloride and AlCl₃. **Organic Letters**: v. 10, n. 13, p.2645-2648, 2008.
- KAPPE, C. O. Controlled Microwave Heating in Modern Organic Synthesis. **Synthetic Methods**, v. 43, p.6250-6284, 2004.
- KAPPE, C. O.; DALLINGER, D. The impact of microwave synthesis on drug discovery. **Nature Reviews: Drug discovery**, v. 5, p.50-63, 2006.
- KATRITZKY, A. R.; BRYCKI, B. E. The Mechanisms of Nucleophilic Substitution in Aliphatic Compounds. **Chemical Society Reviews**, v. 19, p.83-105, 1990.
- KNOCHEL, P.; SINGER, R. D. Preparatlon and Reactions of Polyfunctionai Organozinc Reagents in Organic Synthesis. **Chemical Reviews**, v. 93, p.2117-2188, 1993.

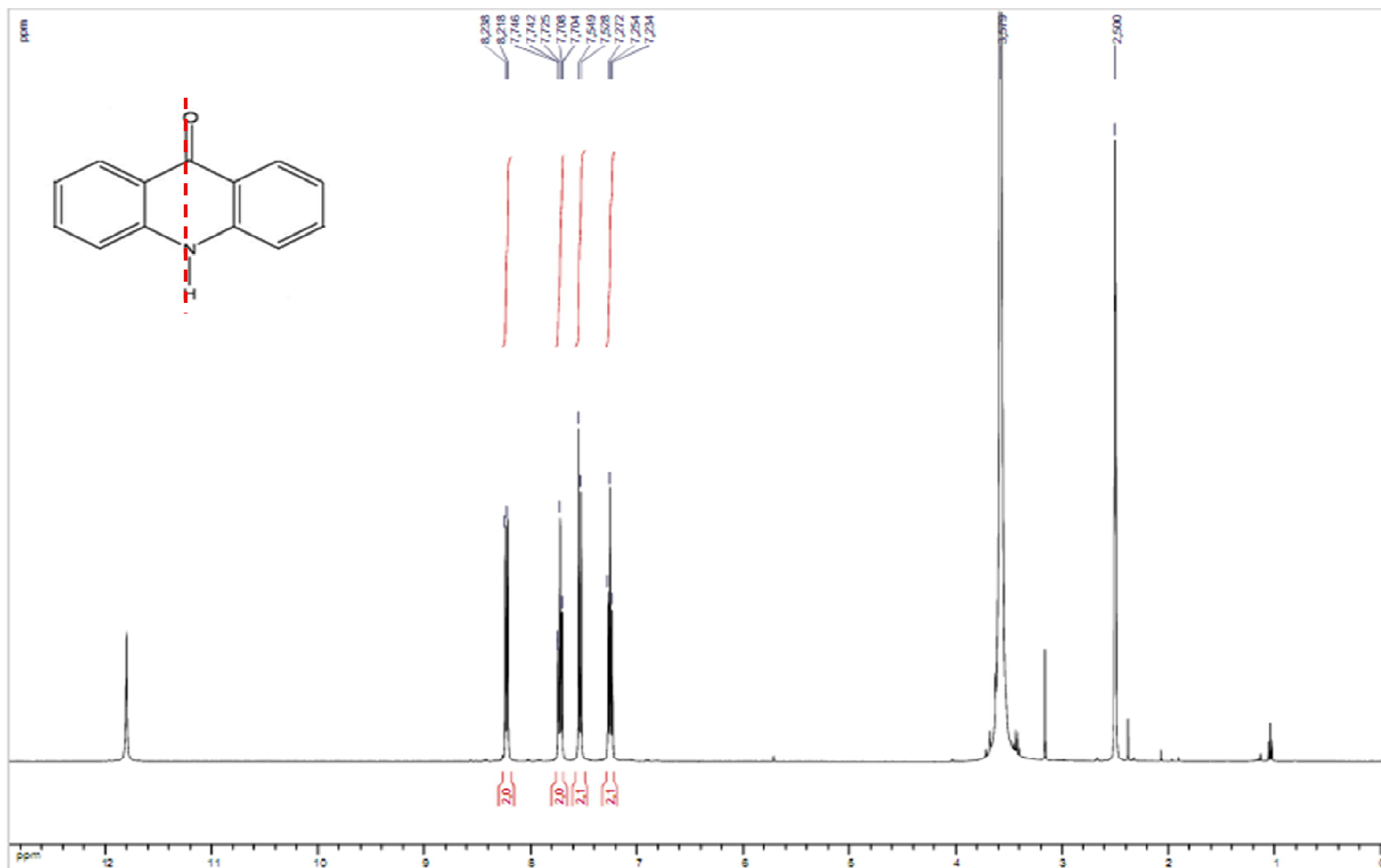
- KOSUGI, M.; KAMEYAMA, M.; MIGITA, T. Palladium-Catalyzed Aromatic Amination of Aryl Bromides with Diethylamino-tributyltin. **Chemical Letters**, p.927-928, 1983.
- Kumada Coupling. Disponível em: < <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/kumada-coupling.shtm>>. Acesso em: 04 abr. 2010.
- LARHED, M.; MOBERG, C.; HALLBERG, A. Palladium-Catalyzed Carbon-Nitrogen Bond Formation: A Novel, Catalytic Approach towards N-Arylated Sulfoximines. **Accounts Of Chemical Research**, v. 35, p.717-727, 2002.
- LEE, I. S. H.; KIL, H. J.; JI, Y. R. Reactivities of acridine compounds in hydride transfer reactions. **Journal Of Physical Organic Chemistry**, v. 20, p.484-490, 2007.
- LITTKE, A. F.; FU, G. C. Palladium-Catalyzed Coupling Reactions of Aryl Chlorides. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, p.4176-4211, 2002.
- LIU, C. et al. Ni-Catalyzed Mild Arylation of α -Halocarbonyl Compounds with Arylboronic Acids. **Organic Letters**, v. 26, n. 9, p.5601-5604, 2007.
- LIU, Y. et al. Optimization of the Conditions for Copper-Mediated N-Arylation of Heteroarylamines. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, p.6084-6088, 2007.
- LYAKHOVA, E. A. et al. Synthesis and DNA-binding properties of 9-formylacridine and 9-formylanthracene aminoacetylhydrazones. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 39, n. 4, p.183-187, 2005.
- MARION, N.; NOLAN, S. P. Well-Defined N-Heterocyclic Carbenes Palladium(II) Precatalysts for Cross-Coupling Reactions. **Accounts Of Chemical Research**, v. 41, n. 11, p.1440-1449, 2008.
- MATSUMURA, K. Sulfonation of Acridone. **Journal Of The American Chemical Society**: 999, 42, 2383-2393, v. 57, p.1533-1566, 1935.
- MILSTEIN, D.; STILLE, J. K. A General, Selective, and Facile Method for Ketone Synthesis from Acid Chlorides and Organotin Compounds Catalyzed by Palladium. **Journal Of The American Chemical Society**, v. 100, n. 11, p.3636-3638, 1978.
- MONTENEGRO, J. et al. Hiyama Cross-Coupling Reaction in the Stereospecific Synthesis of Retinoids. **Organic Letters**, v. 11, n. 1, p.141-144, 2009.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Of Immunological Methods**, v. 65, p.55-59, 1983.
- MOSHER, M. D.; HOLMES, K. L.; FROST, K. S. Structure-Activity relationships for the 9-(Pyridin-2'-yl)-aminoacridines. **Molecules**, v. 9, p.102-108, 2004.

- NARAYANAN, R. et al. Comparative analysis of mutagenic potency of 1-nitro-acridine derivatives. **Life Sciences**, v. 77, p. 2312-2323, 2005.
- NICOLAOU, K. C.; BULGER, P. G.; SARLAH, D. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions in Total Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, p.4442-4489, 2005.
- Nucleophilic Substitution (S_N1 , S_N2) Disponível em: < <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/nucleophilic-substitution-sn1-sn2.shtm>>. Acesso em: 07 abr. 2010.
- OLIVEIRA, R. B.; ALVES, R. J. Agentes Antineoplásicos Biorredutíveis: Uma Nova Alternativa para o Tratamento de Tumores Sólidos. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p.976-984, 2002.
- ORGAN, M. G. et al. Pd-Catalyzed Aryl Amination Mediated by Well Defined, N-Heterocyclic Carbene (NHC)-Pd Precatalysts, PEPPSI. **Chemistry: A European Journal**, v. 14, p.2443-2452, 2008.
- PARSONS, H. A. Telômeros, telomerase e câncer. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, v. 5, n. 1, p. 54-59, 2003.
- PECK, R. M. et al. Acridine and quinoline analogs of nitrogen mustard with amide side chains. **Journal Of Medicinal Chemistry**, p.480-482, 1964.
- RAJENDRAN, A.; NAIR, B. U. Unprecedented dual binding behaviour of acridine group of dye: A combined experimental and theoretical investigation for the development of anticancer chemotherapeutic agents. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1760, p.1794-1801, 2006.
- RANG, H. P. et al. Quimioterapia do cancer. In: **Farmacologia**. 5. ed. Elsevier, 2004. Cap. 50, p. 789-810.
- SCHMITT, M. et al. Use of 4-bromo pyridazine 3,6-dione for building 3-amino pyridazine libraries. **Molecular Diversity**, v. 10, p.429-434, 2006.
- SCULLY, C.; FIELD, J. K.; TANZAWA, H. Genetic aberrations in oral or head and neck squamous cell carcinoma (SCCHN): 1. Carcinogen metabolism, DNA repair and cell cycle control. **Oral oncology**, v. 36, p.256-263, 2000.
- SILVA-JÚNIOR, E. N. et al. Synthesis and potent antitumor activity of new arylamino derivatives of nor-b-lapachone and nor-a-lapachone. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p.7035-7041, 2007.
- SMITH, M. B.; MARCH, J. Aliphatic substitution: nucleophilic and organometallic. In: **March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. 6. ed. John Wiley & Sons, Inc., 2007. Cap. 10, p. 425-656.
- SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. Reações iônicas: substituição nucleofílica e reações de eliminação dos haletos de alquila. In: **Química orgânica 1**. 7. ed. LTC, 2000. Cap. 6, p. 193-236.
- STILLE, J. K. The Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organotin Reagents with Organic Electrophiles [New Synthetic Methods (58)]. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 100, p.508-524, 1986.

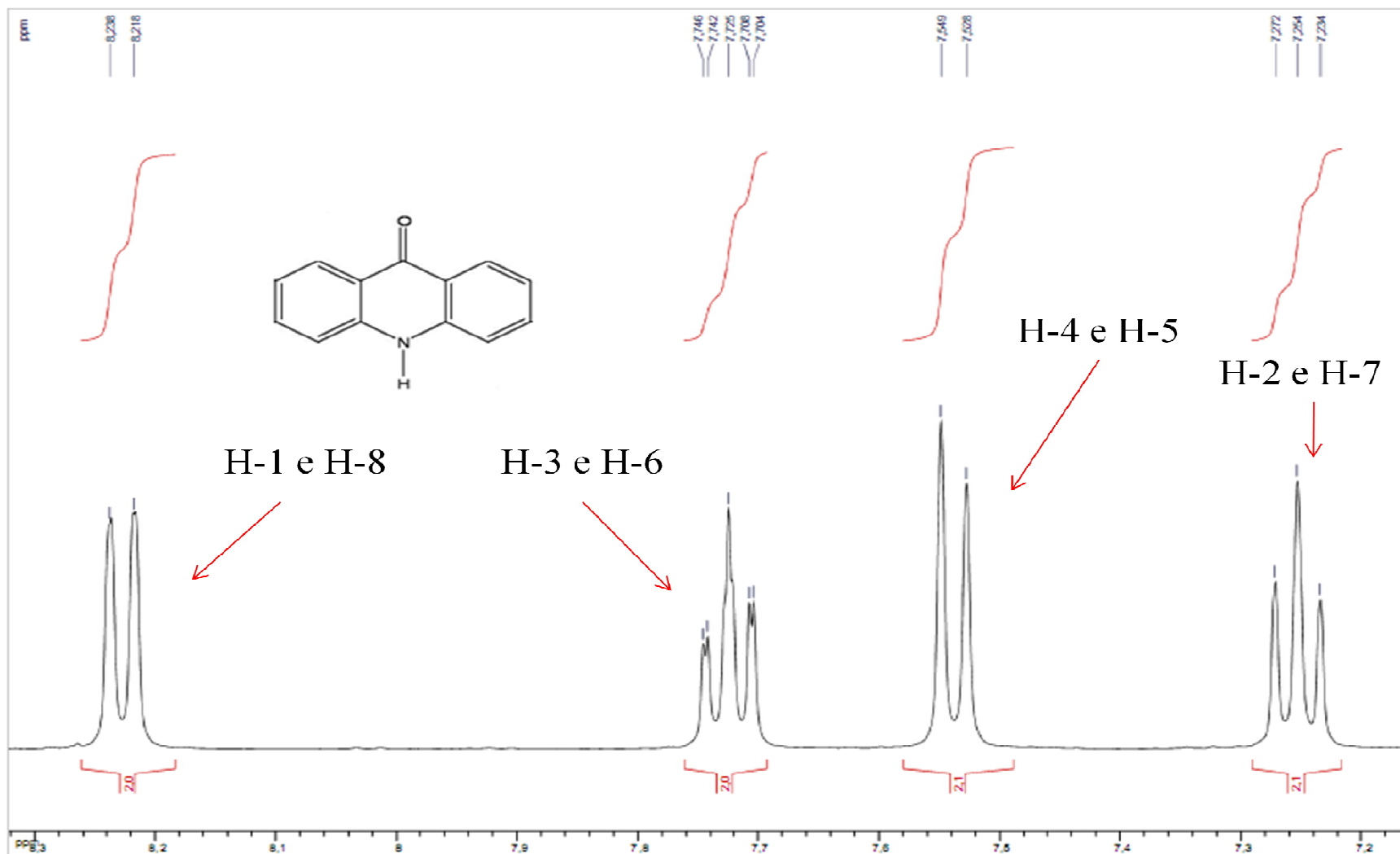
- TESTERO, S. A.; MATA, E. G. Prospect of Metal-Catalyzed C-C Forming Cross-Coupling Reactions in Modern Solid-Phase Organic Synthesis. **Journal Of Combinatorial Chemistry**, v. 10, n. 04, p.487-497, 2008.
- TRABANCO, A. A.; VEGA, J. A.; FERNANDEZ, M. A. Palladium-Catalyzed Kumada Reaction Employing Aminophosphine as Ligand. **The Journal Of Organic Chemistry**, v. 72, p.8146-8148, 2007.
- URGAONKAR, S.; VERKADE, J. G. Scope and Limitations of Pd₂(dba)₃/P(*i*-BuNCH₂CH₂)₃N-Catalyzed Büchwald Hartwig Amination Reactions of Aryl Chlorides. **The Journal Of Organic Chemistry**, v. 69, p.9135-9142, 2004.
- VIDEIRA, R. S. et al. Oncogenes e Desenvolvimento do Câncer. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 6, n. 1, p.71-76, 2002.
- VIPPAGUNTA, S. R. et al. Structural Specificity of Chloroquine-Hematin Binding Related to Inhibition of Hematin Polymerization and Parasite Growth. **Journal Of Medicinal Chemistry**: 1999, 42, 4630-4639, v. 42, p.4630-4639, 1999.
- VOLLHARDT, K. P. C.; SCHORE, N. E. **ORGANIC CHEMISTRY: STRUCTURE AND FUNCTION**. 3. ed. W.H. Freeman And Company, 1999.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Cancer**. 2006 Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/print.html>>, a. Acesso em: 16 jun. 2008.
- WHO (World Health Organization). **Tratament**. 2006 Disponível em: <<http://www.who.int/cancer/treatment/en/>>, b. Acesso em: 16 jun. 2008.
- WOLFE, J. P. et al. Rational Development of Practical Catalysts for Aromatic Carbon-Nitrogen Bond Formation. **Accounts Of Chemical Research**, v. 31, p.805-818, 1998.
- WOLFE, J. P.; BÜCHWALD, S. L. Scope and Limitations of the Pd/BINAP-Catalyzed Amination of Aryl Bromides. **The Journal Of Organic Chemistry**, v. 65, p.1144-1157, 2000.
- WU, M. et al. Synthesis of a novel fluorescent probe based on acridine skeleton used for sensitive determination of DNA. **Talanta**, v. 75, p.995-1001, 2008.
- WU, Z.; GLASER, R. *Ab Initio* Study of the SN1Ar and SN2Ar Reactions of Benzenediazonium Ion with Water. On the Conception of “Unimolecular Dediazonation” in Solvolysis Reactions. **Journal Of The American Chemical Society**: v. 126, p.10632-10639, 2004.
- YANG, B. H.; BÜCHWALD, S. L. Palladium-catalyzed amination of aryl halides and sulfonates. **Journal Of Organometallic Chemistry**, v. 576, n. 9, p.125-146, 1999.
- YAO, S. et al. Electrophilic aromatic substitution and single-electron transfer (SET) by the phenylium ion in the gas phase: characterization of a long-lived SET intermediate. **Journal Of Mass Spectrometry**: v. 44, p.32-39, 1998.
- YIN, J. et al. Pd-Catalyzed N-Arylation of Heteroarylamines. **Organic Letters**, v. 20, n. 4, p.3481-3484, 2002.

- ZHANG, L. et al. Palladium-Catalyzed Kumada Reaction Employing Aminophosphine as Ligand. **Synthetic Communications**, v. 37, p.3809-3814, 2007.
- ZHANG, W.; NAGASHIMA, T. Palladium-catalyzed Büchwald–Hartwig type amination of fluorosulfonyl arylsulfonates. **Journal Of Fluorine Chemistry**, v. 127, p.588-591, 2006.
- ZHANG, Y. et al. Dicationic Electrophiles from Olefinic Amines in Superacid. **The Journal Of Organic Chemistry**: v. 68, p.5119-5122, 2003.

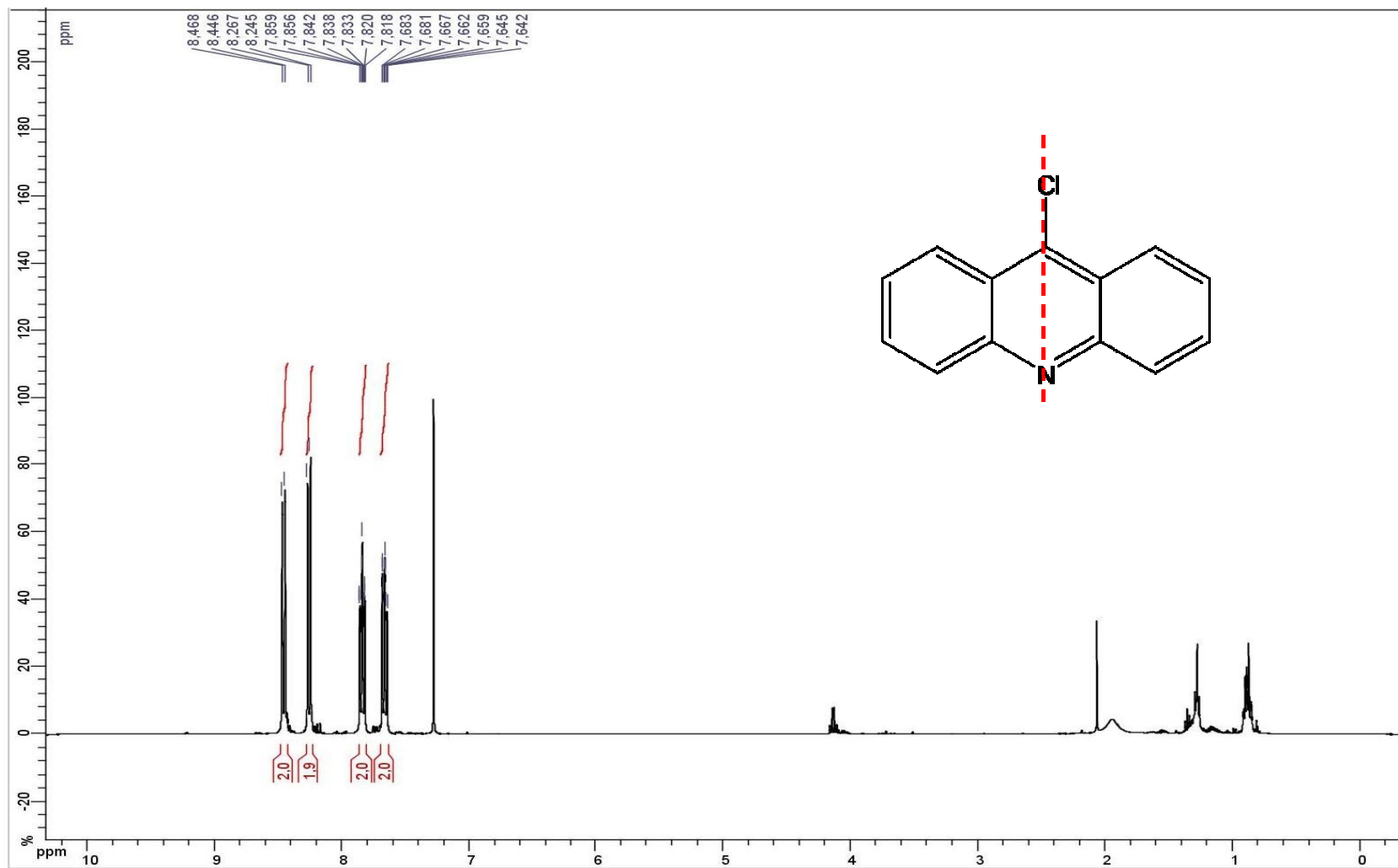
Apêndice



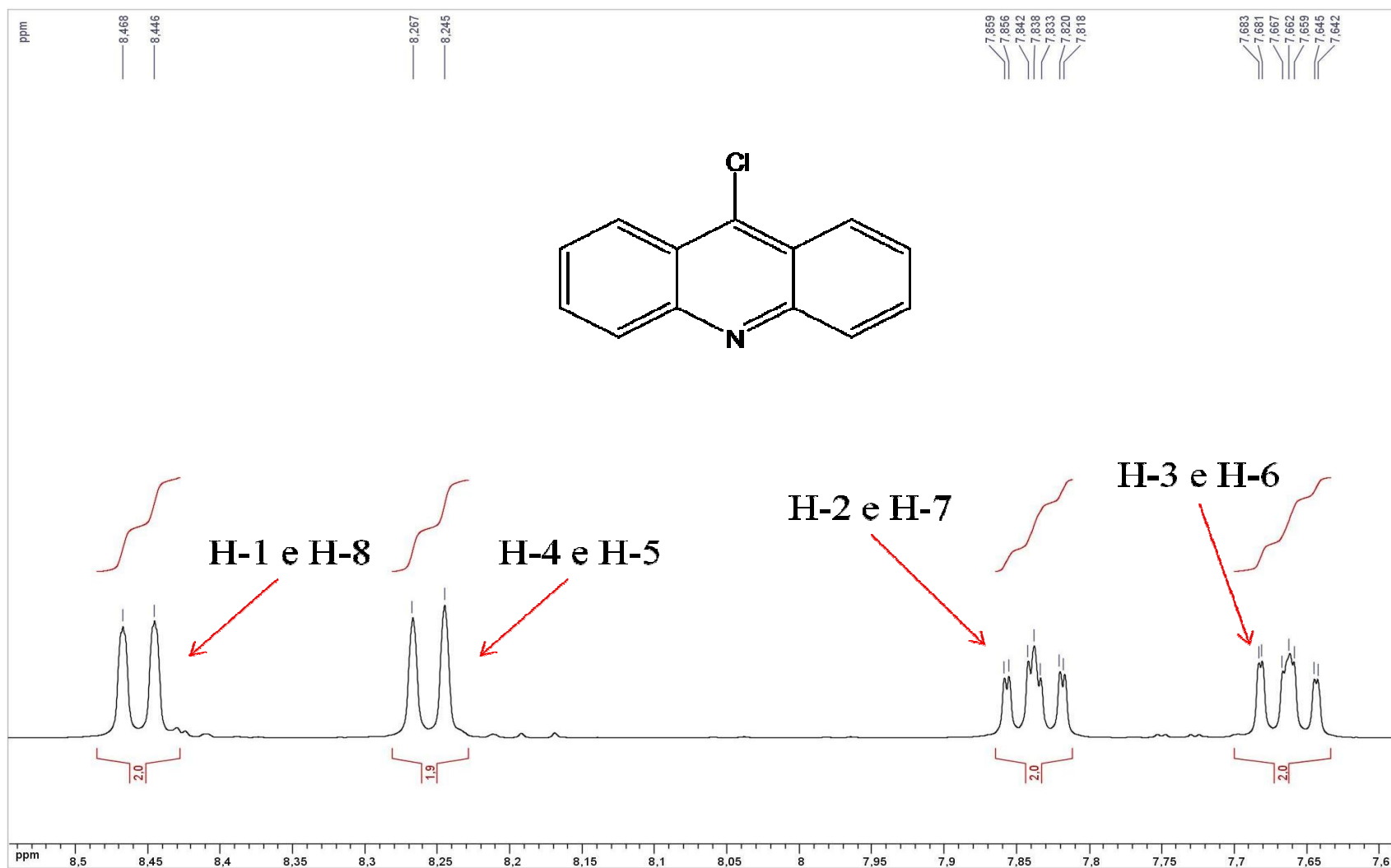
Espectro 1: RMN ^1H em $\text{DMSO}-d_6$ (400MHz) da acridona.



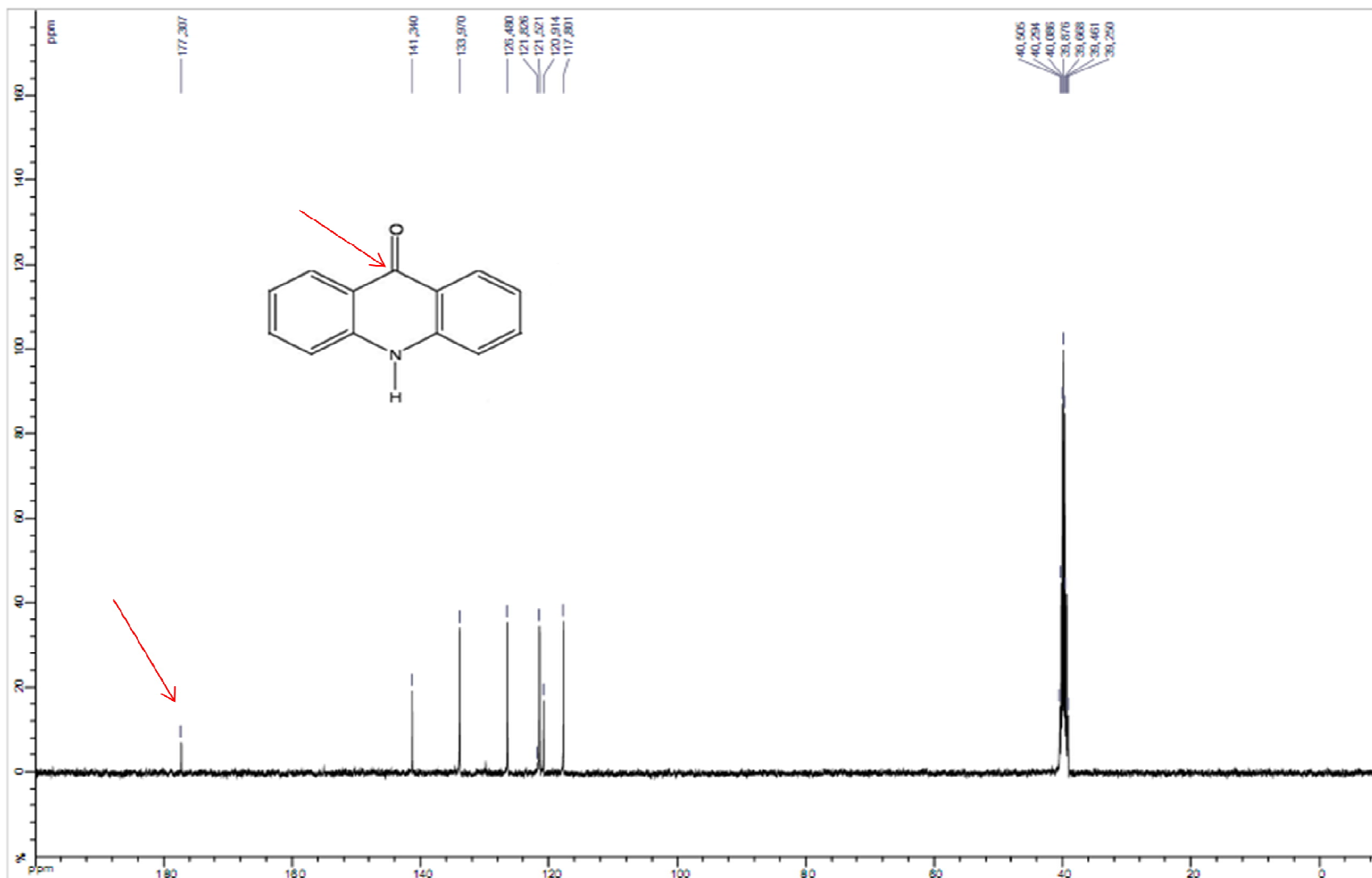
Espectro 1: Ampliação do espectro, de δ 7,2 a δ 8,3.



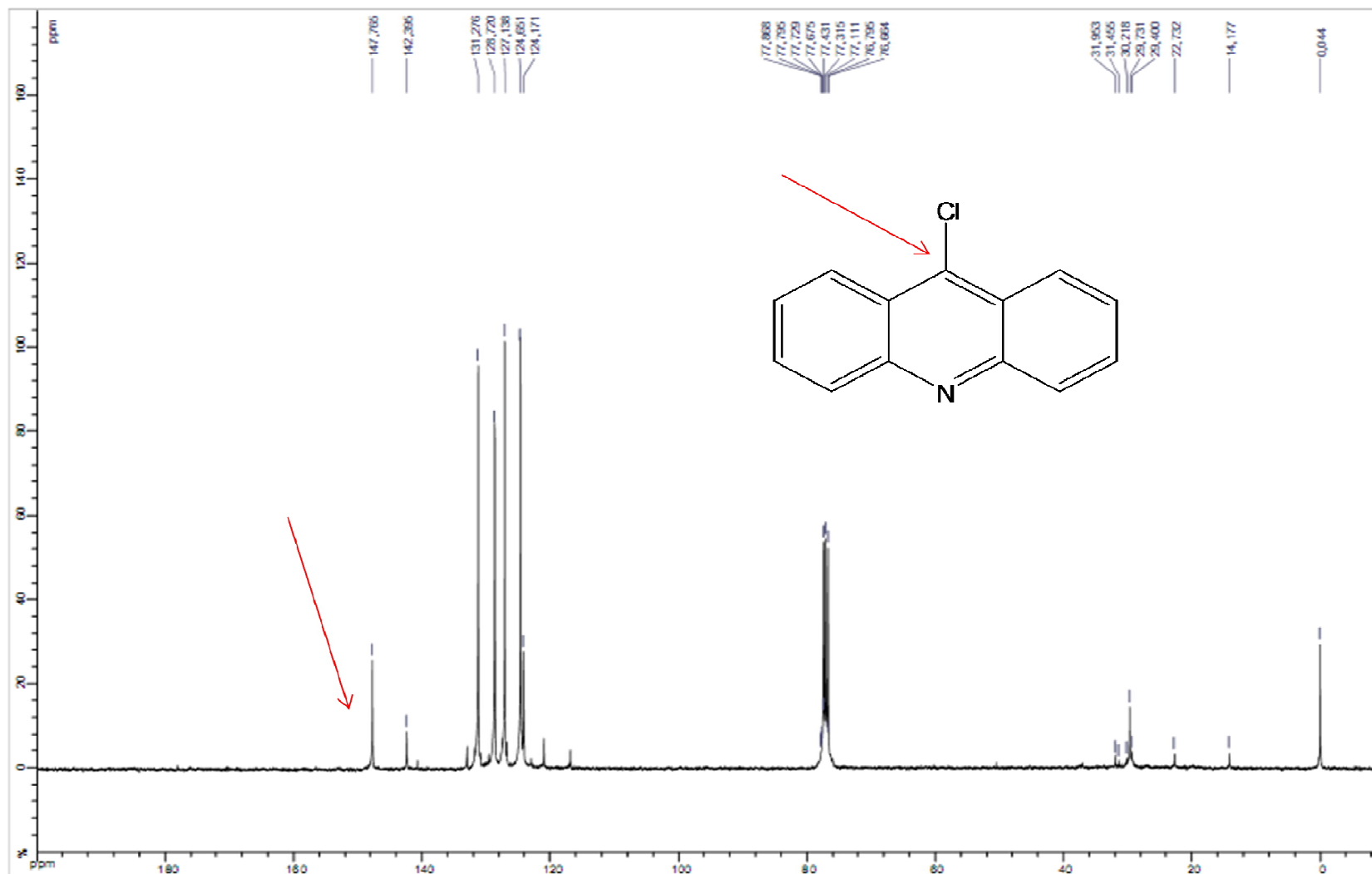
Espectro 2: RMN ^1H em CDCl_3 (400MHz) da 9-cloroacridina.



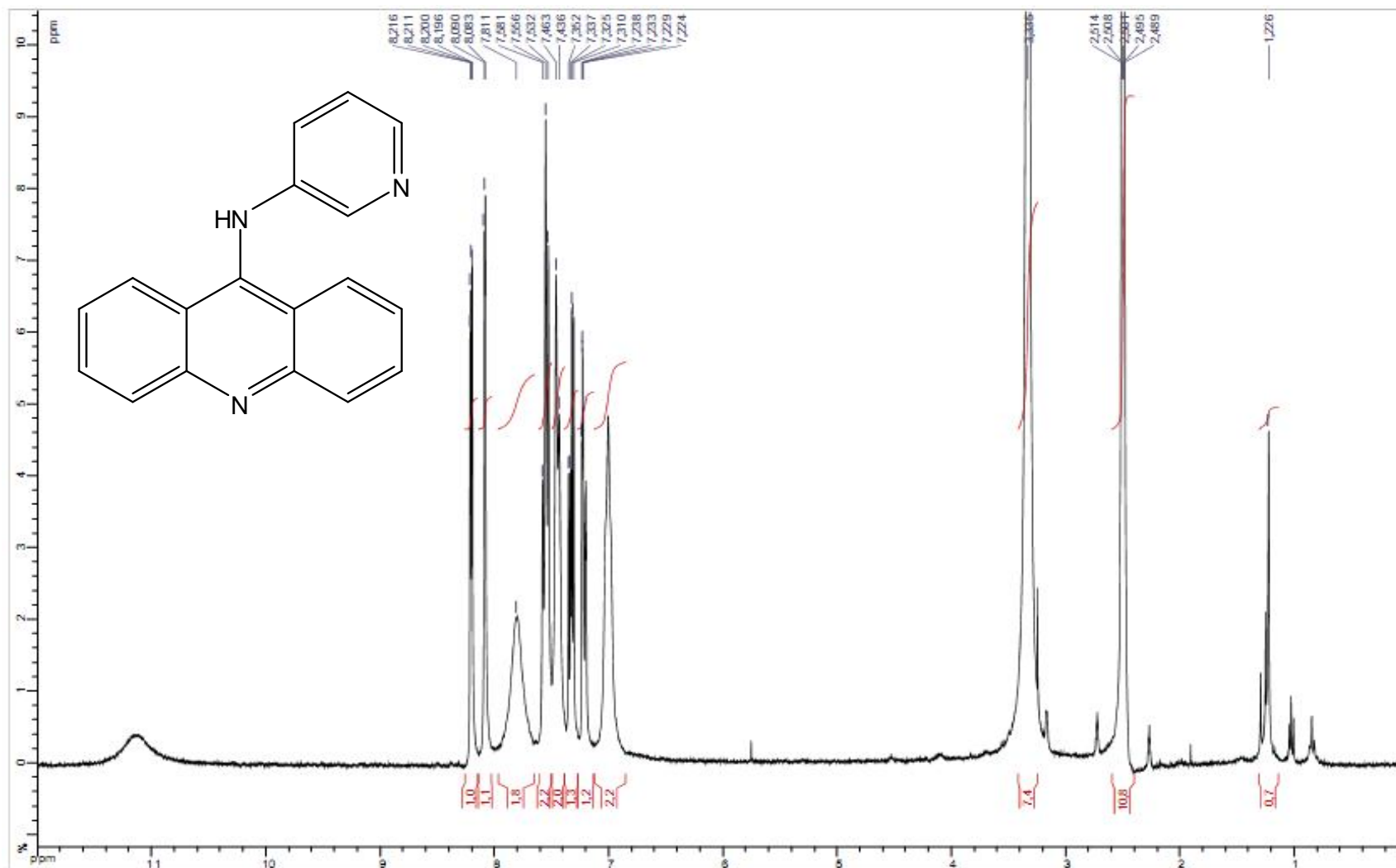
Espectro 2: Ampliação do espectro, de δ 7,6 a δ 8,6.



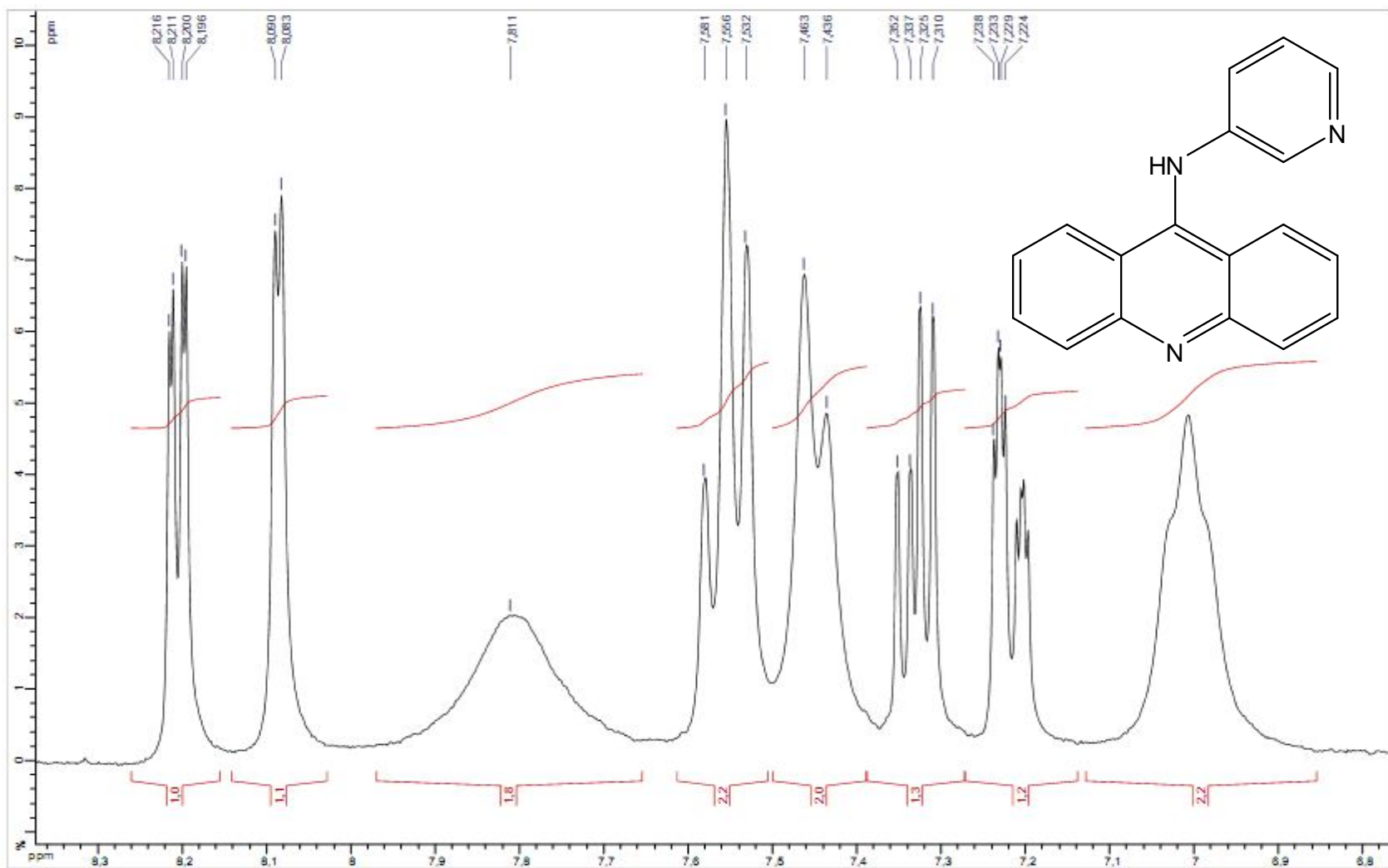
Espectro 3: RMN ^{13}C em DMSO- d_6 (400MHz) da acridona.



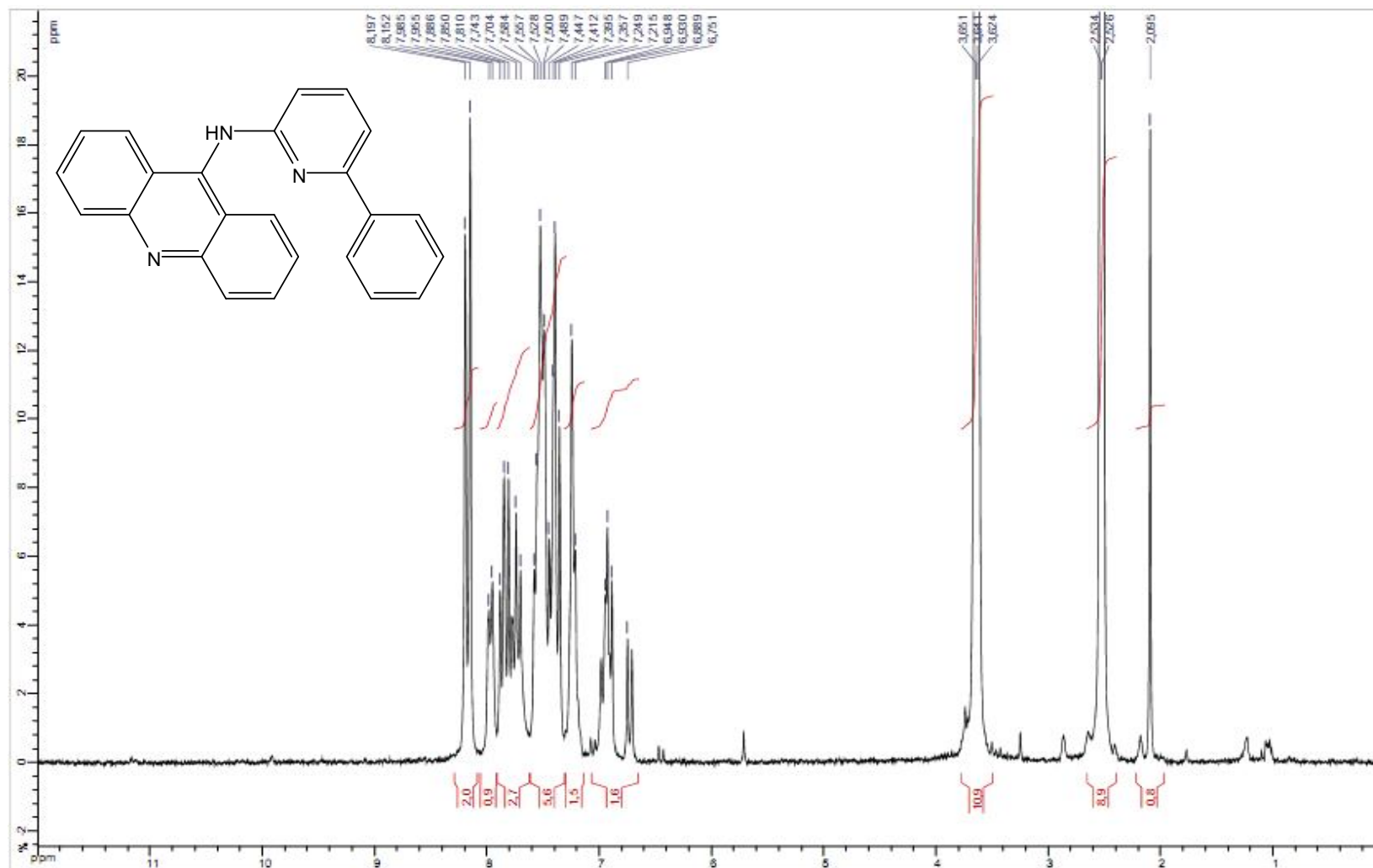
Espectro 4: RMN ^{13}C em CDCl_3 (400MHz) da 9-cloroacridina.



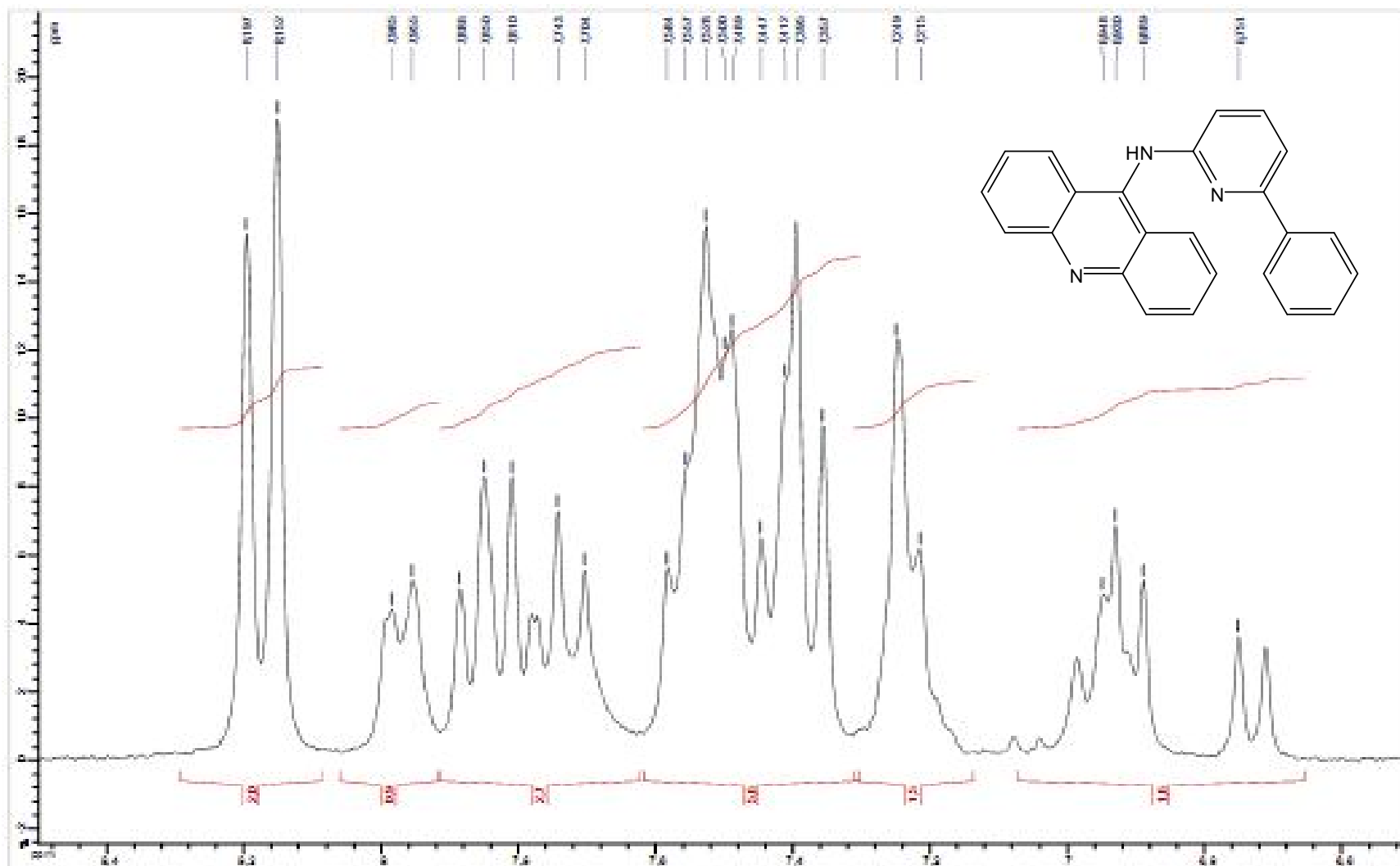
Espectro 5: RMN ^1H em $\text{DMSO-}d_6$ (300MHz) e *N*-(piridin-3-il)-acridin-9-amina.



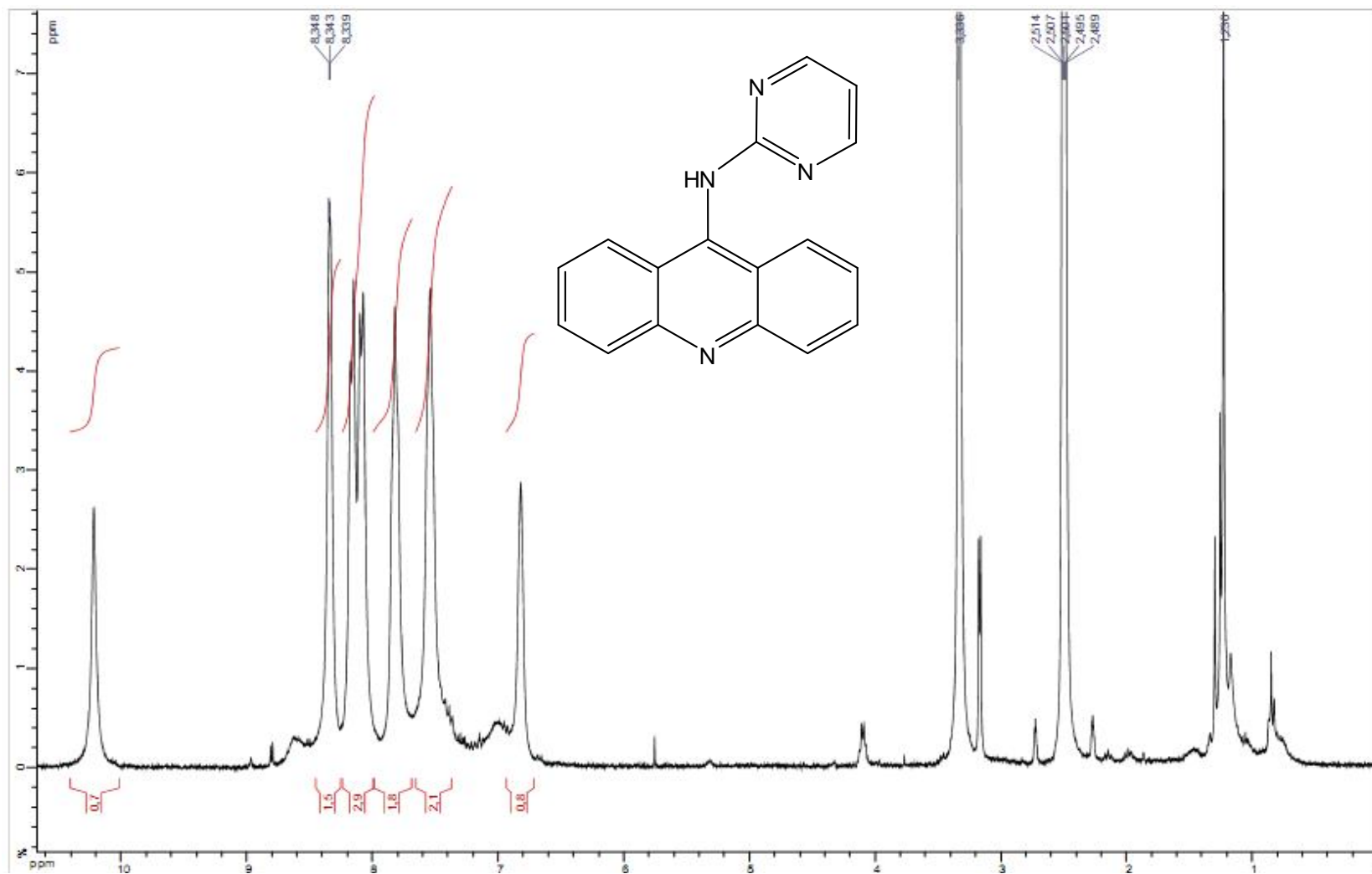
Espectro 5: Ampliação do espectro, de $\delta 6,9$ a $\delta 8,3$.



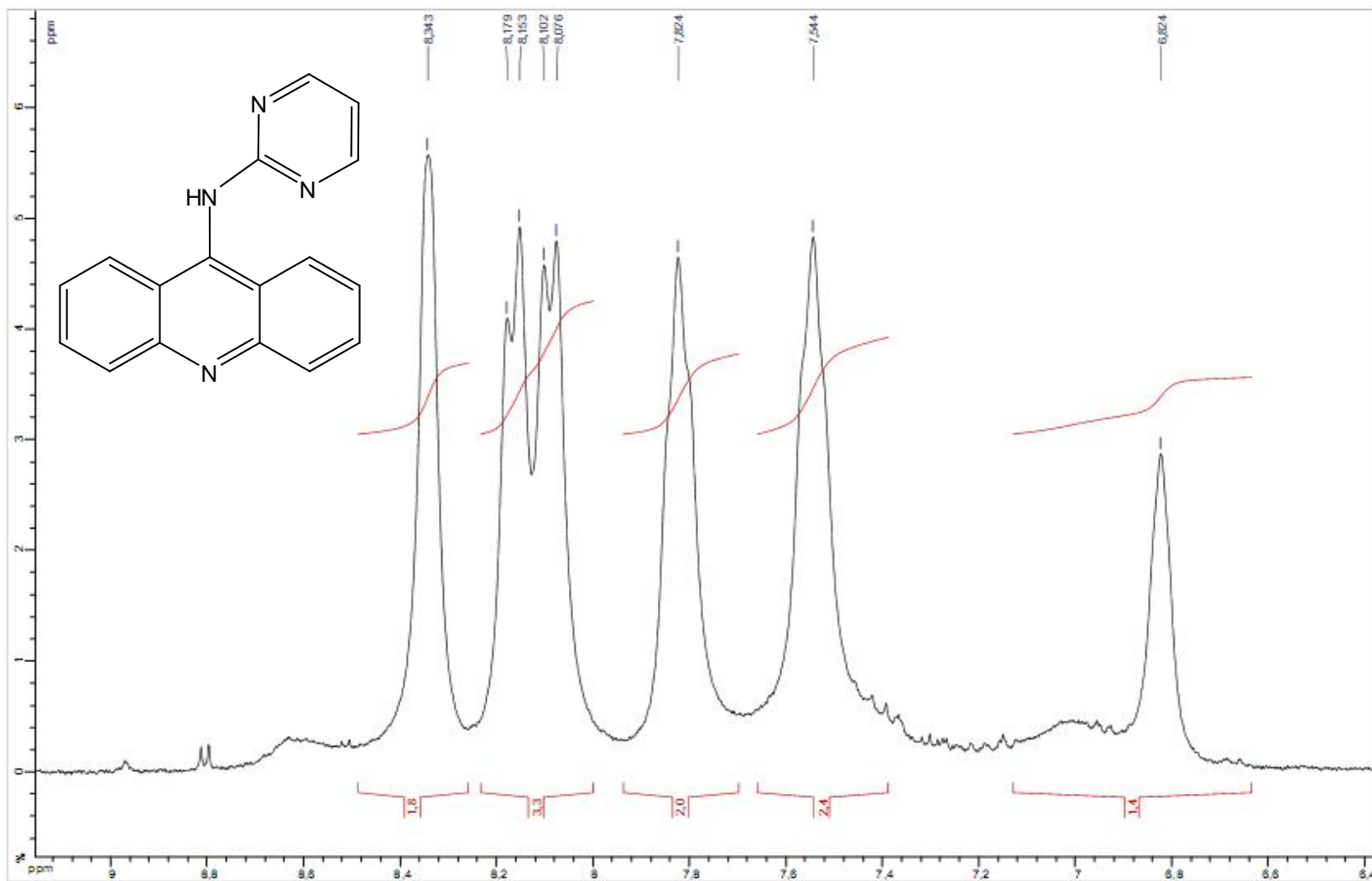
Espectro 6: RMN ^1H em $\text{DMSO-}d_6$ (200MHz) de *N*-(6-fenilpiridin-2-il)-acridin-9-amina.



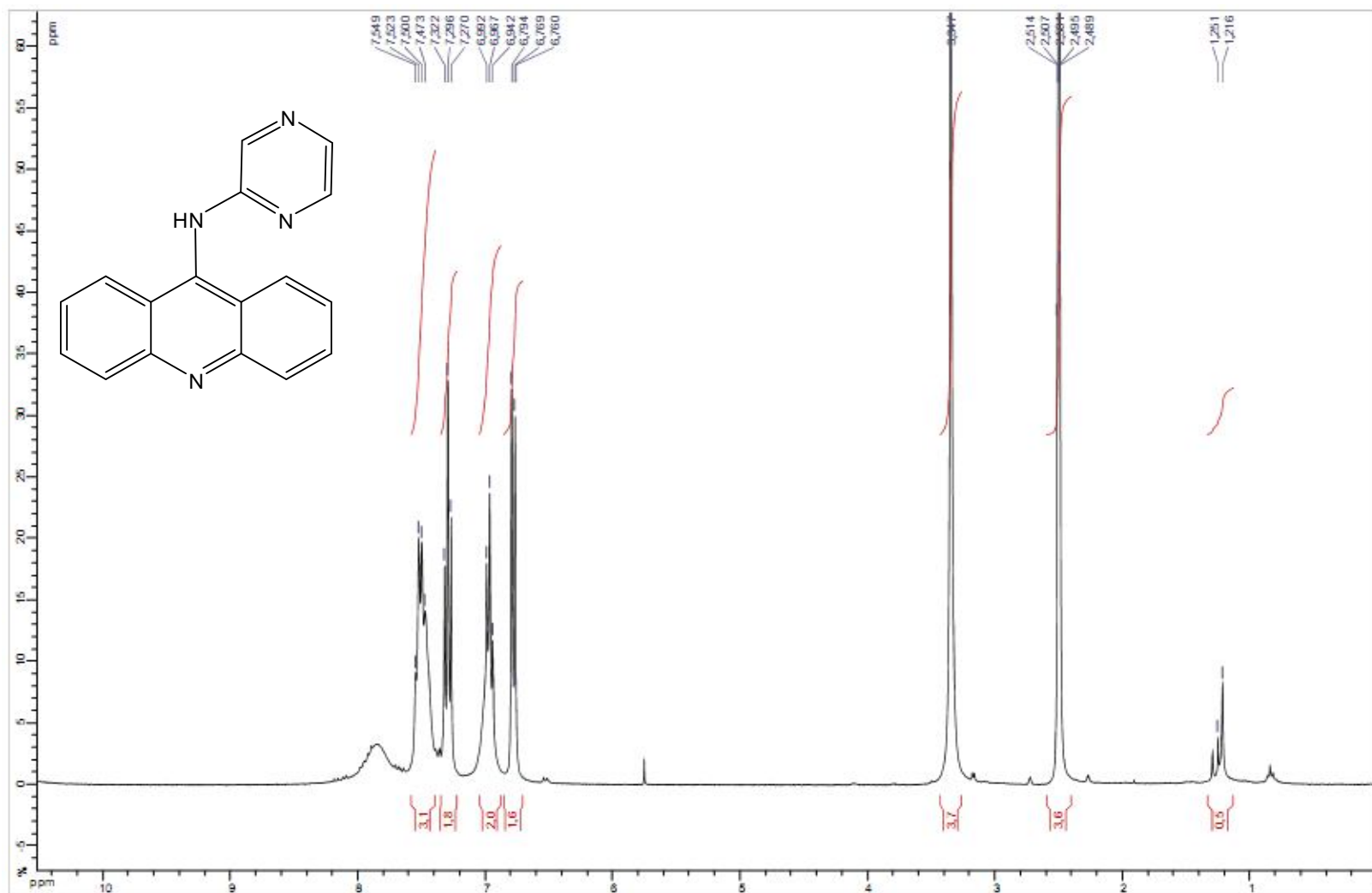
Espectro 6: Ampliação do espectro, de $\delta 6,0$ a $\delta 8,4$.



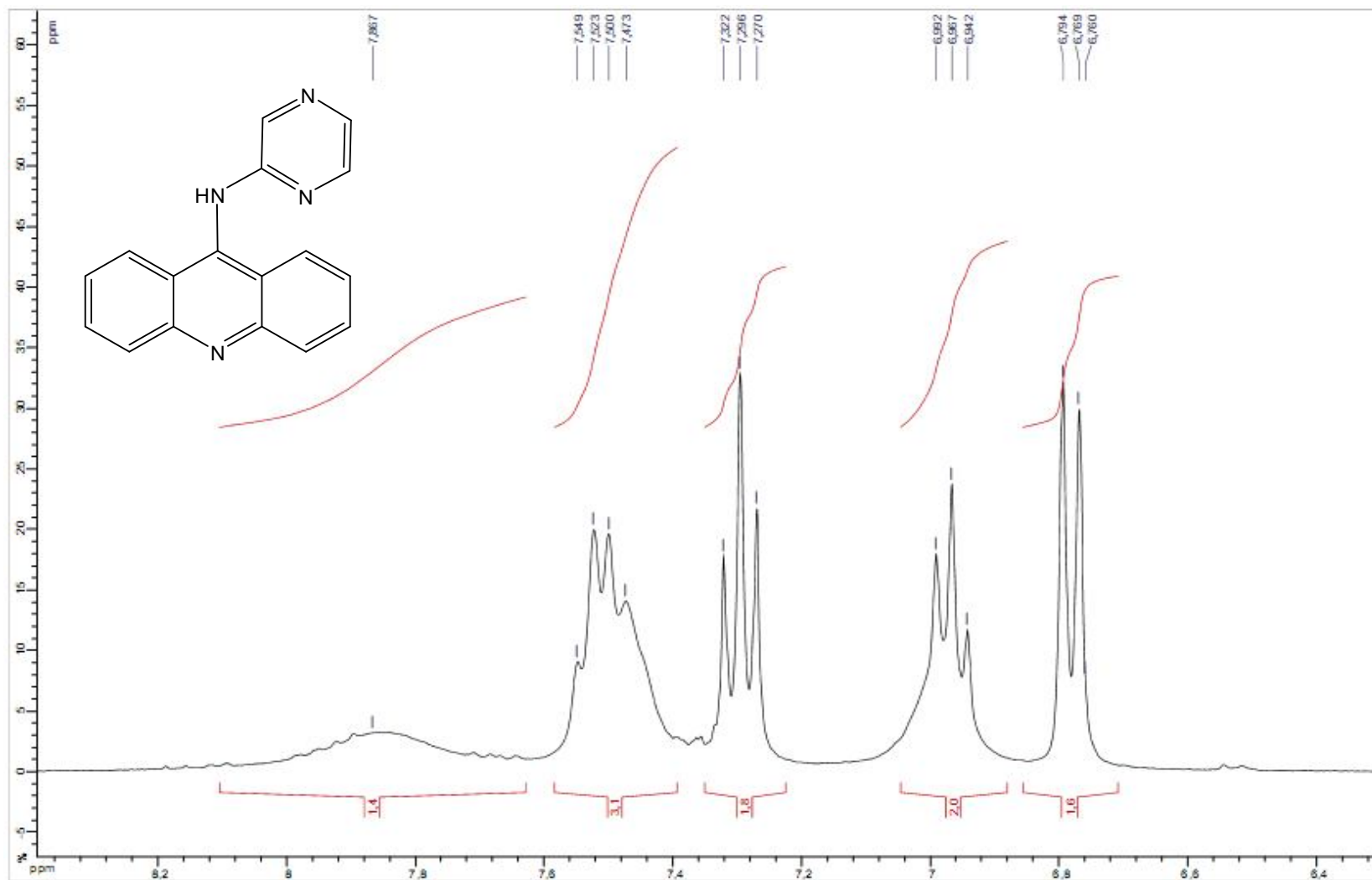
Espectro 7: RMN ^1H em $\text{DMSO-}d_6$ (300MHz) de *N*-(pirimidin-2-il)-acridin-9-amina.



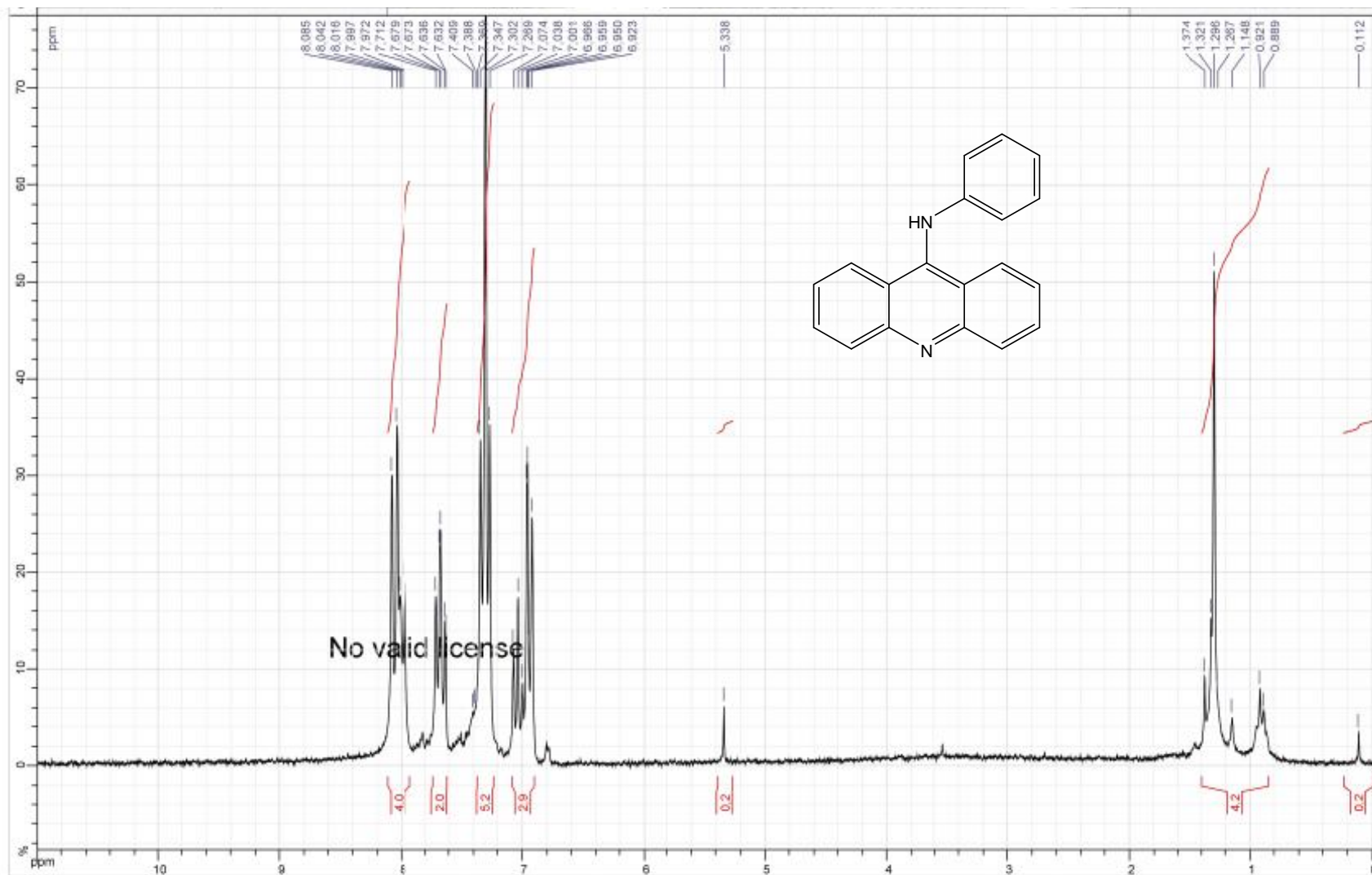
Espectro 7: Ampliação do espectro, de $\delta 6,4$ a $\delta 9,0$.



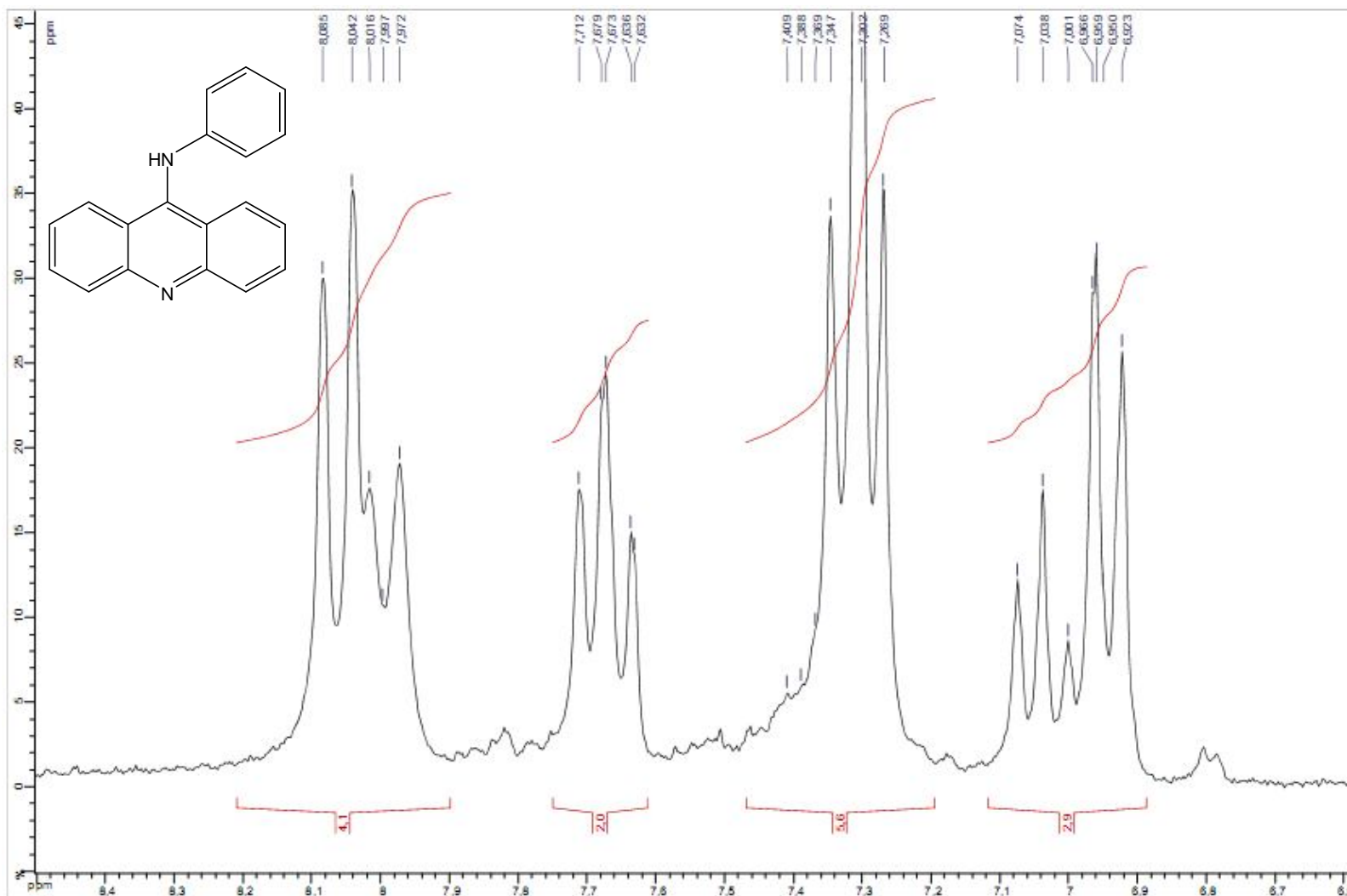
Espectro 8: RMN ^1H em $\text{DMSO-}d_6$ (300MHz) de *N*-(pirazin-2-il)-acridin-9-amina.



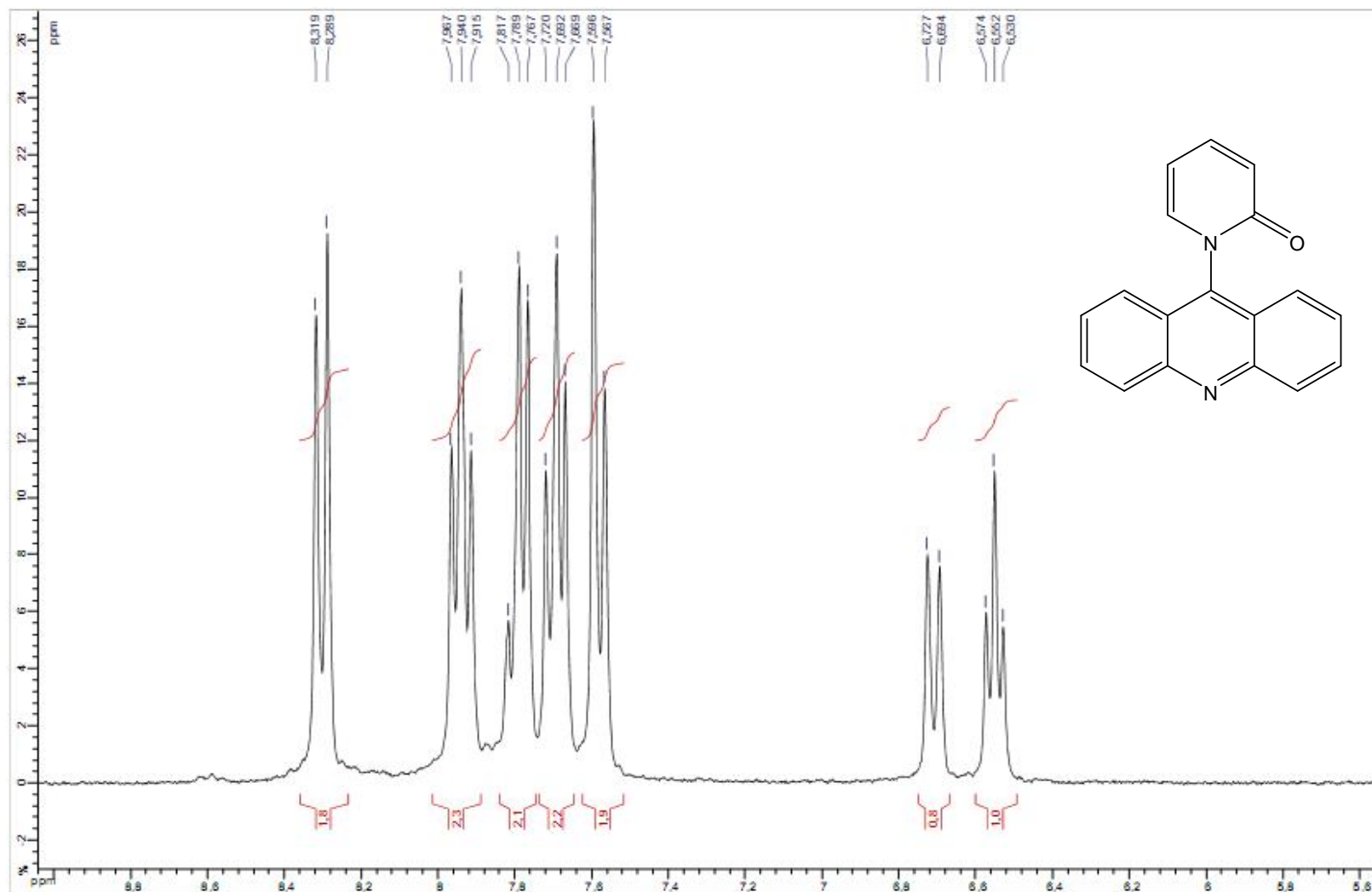
Espectro 8: Ampliação do espectro, de $\delta 6,4$ a $\delta 8,4$.



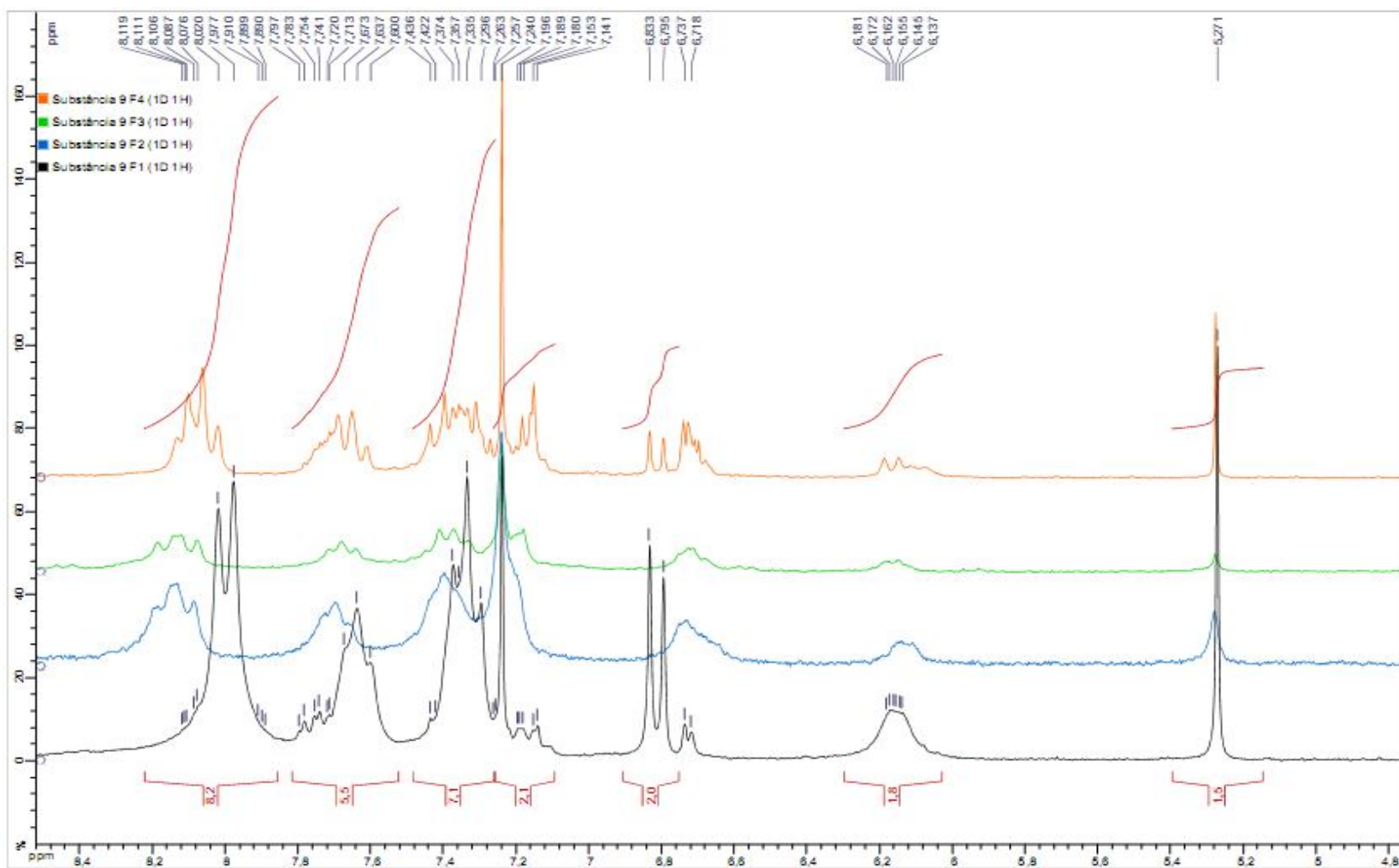
Espectro 9: RMN ¹H em CDCl₃ (200MHz) de N-fenilacridin-9-amina



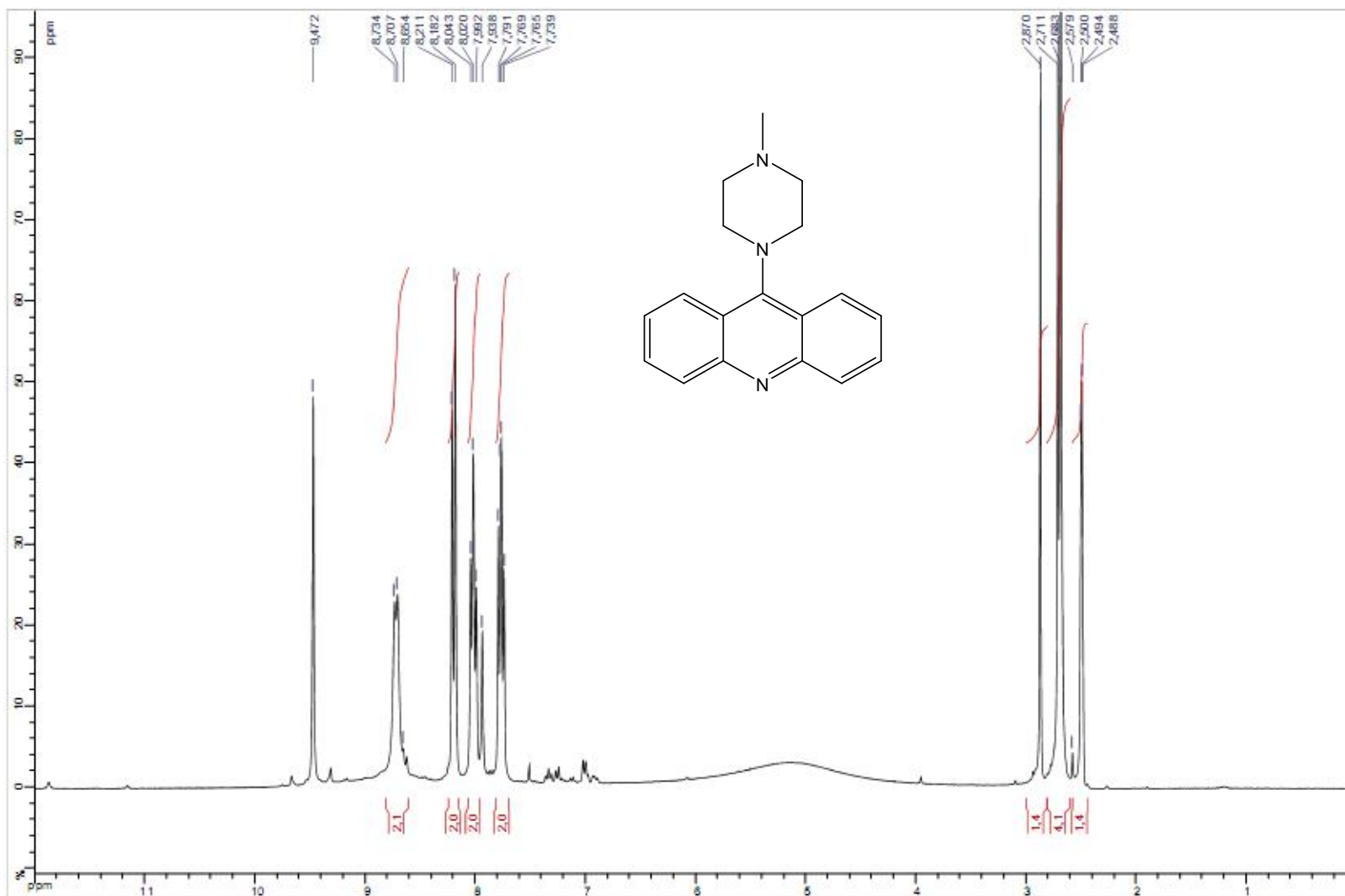
Espectro 9: Ampliação do espectro, de δ 6,6 a δ 8,4.



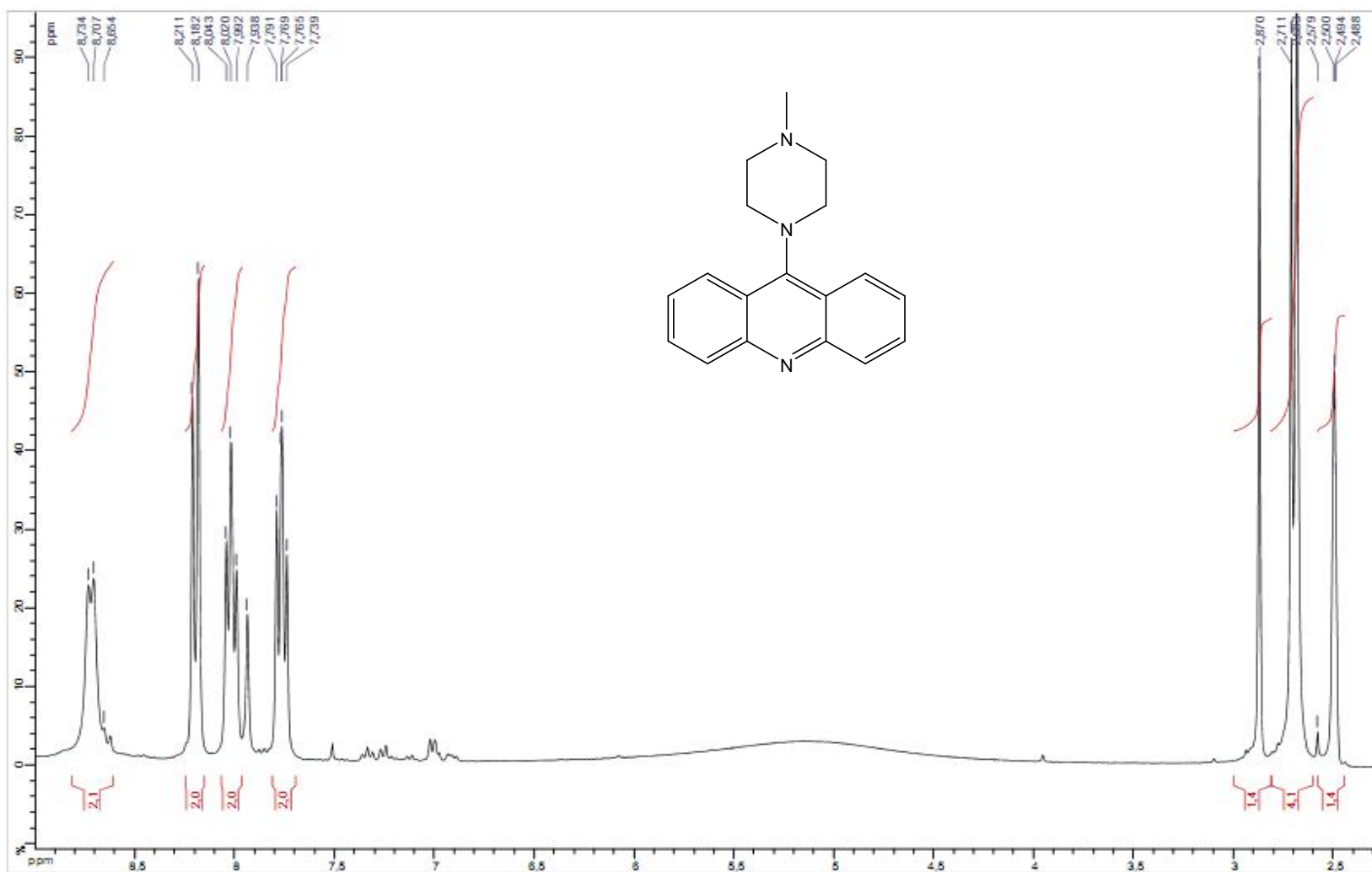
Espectro 10: Ampliação do espectro, de $\delta 5,6$ a $\delta 9,0$.



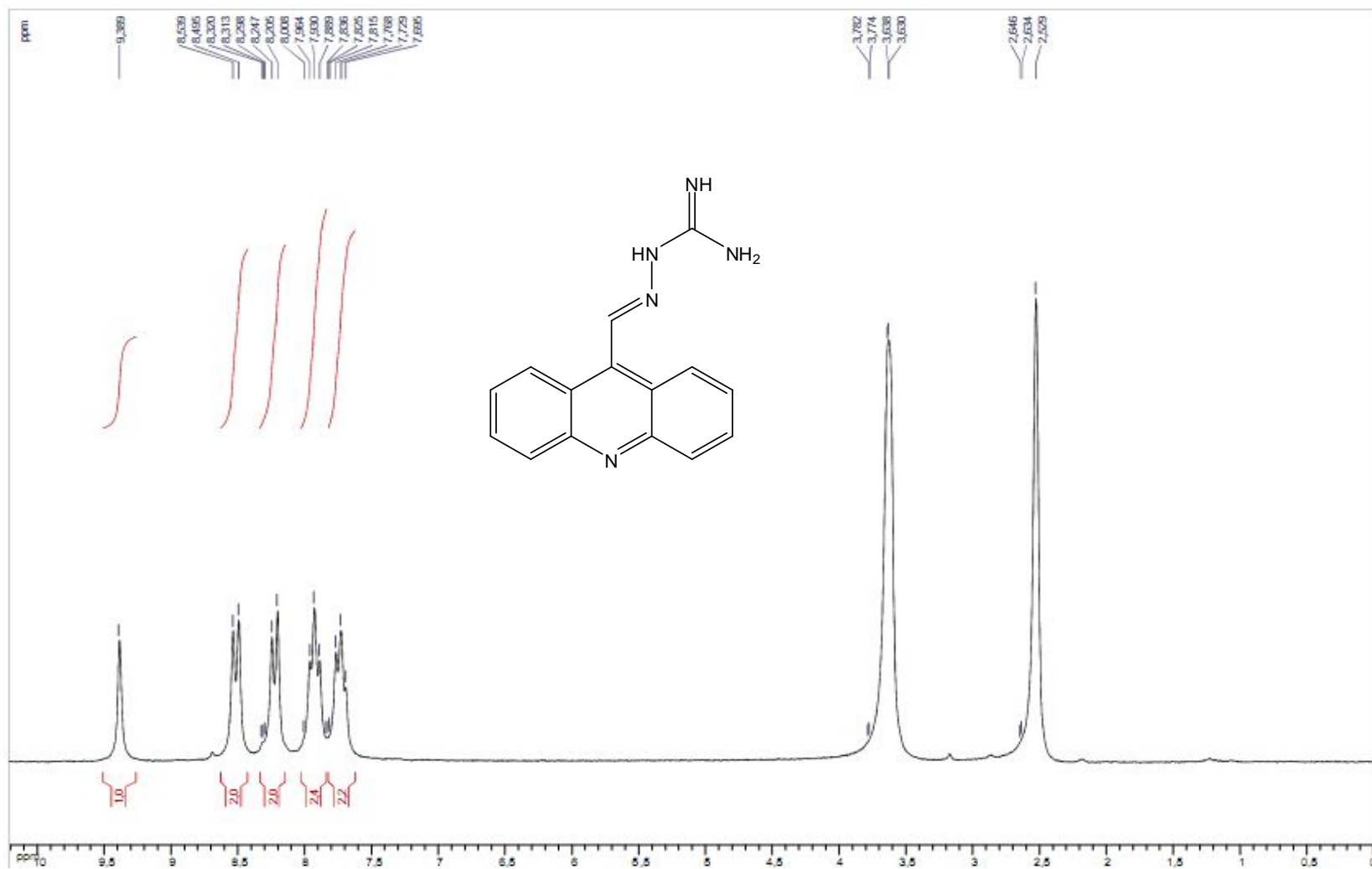
Espectro 11: Comparação entre as frações sobrepostas.



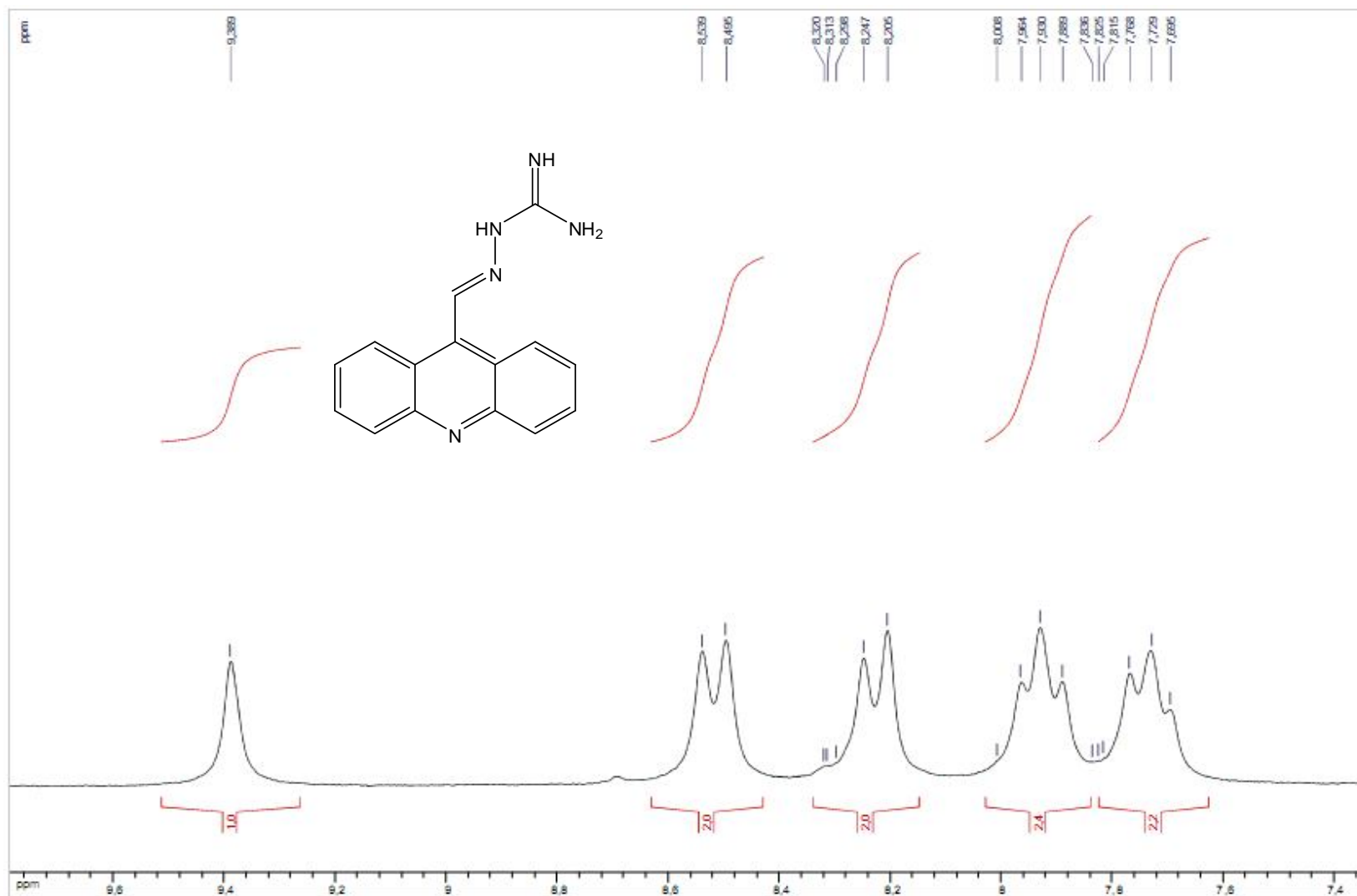
Espectro 12: RMN ^1H em D_2O (300MHz) 9-(4-metilpiperazin-1-il)-acridina.



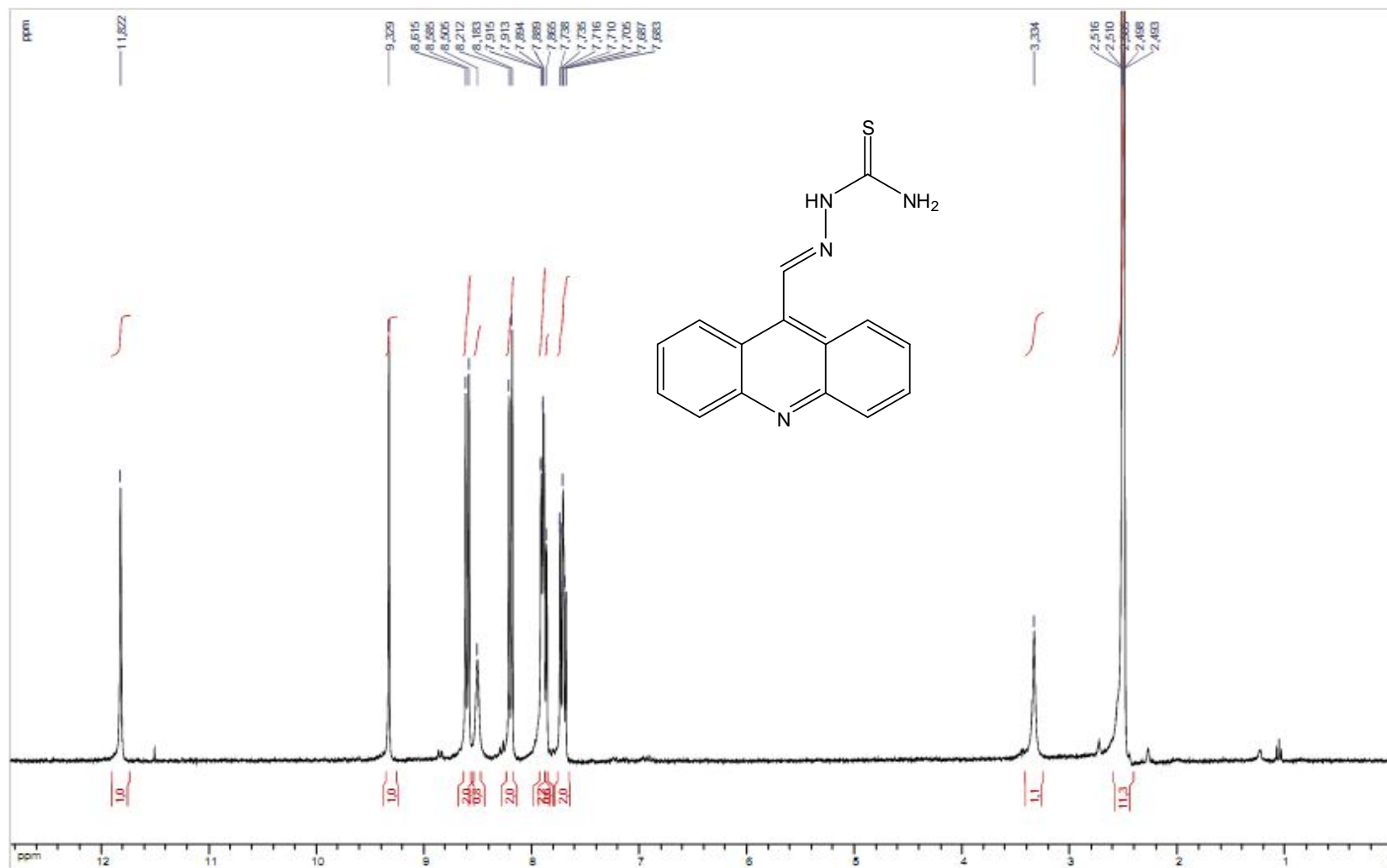
Espectro 12: Ampliação do espectro, de $\delta 2,5$ a $\delta 9,0$



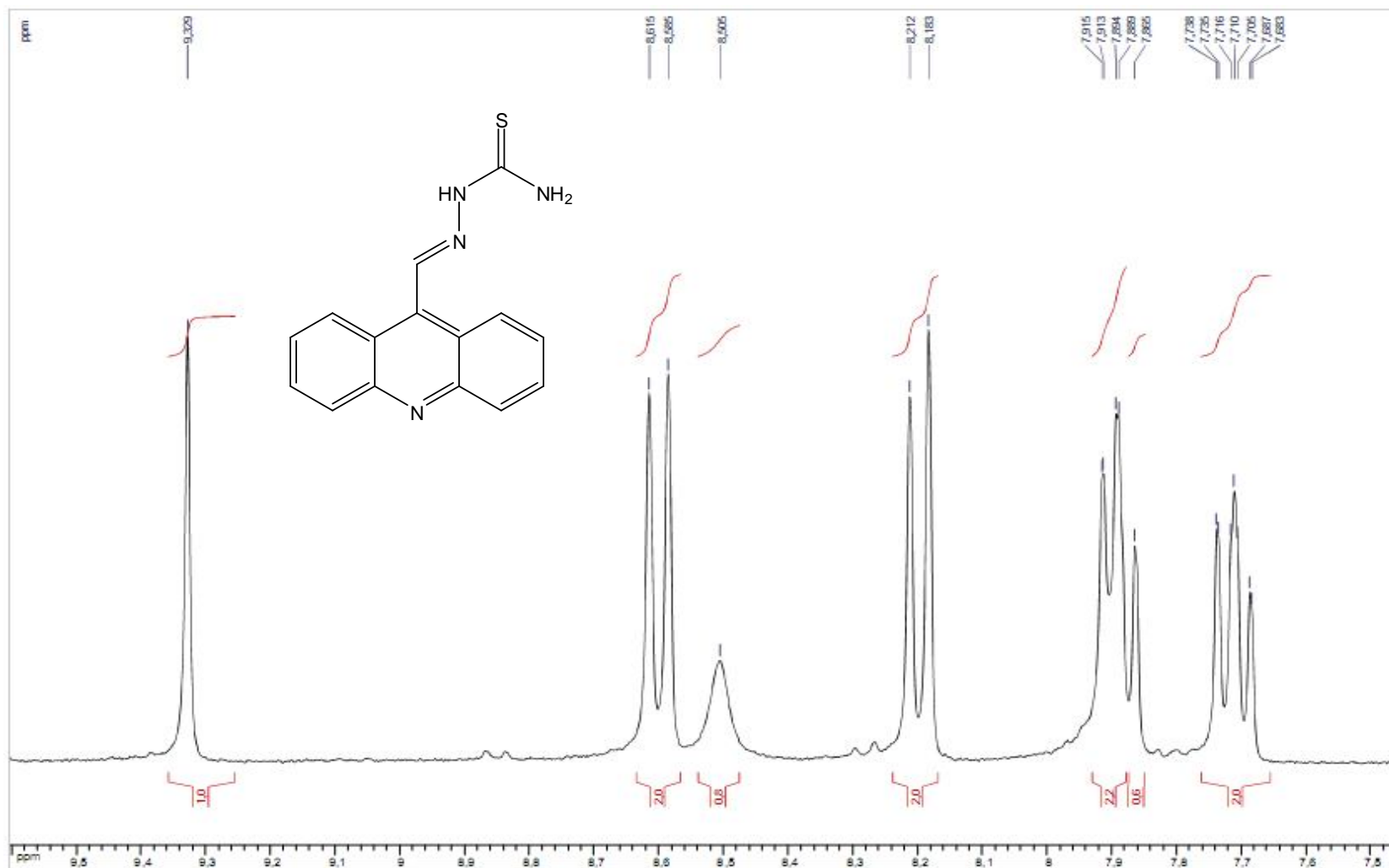
Espectro 13: RMN ^1H em $\text{DMSO}-d_6\text{O}$ (200MHz) *(E)*-2-(acridin-9-ilmetileno)-hidrazinacarboximidamida.



Espectro 13: Ampliação do espectro, de δ 7,4 a 9,6.

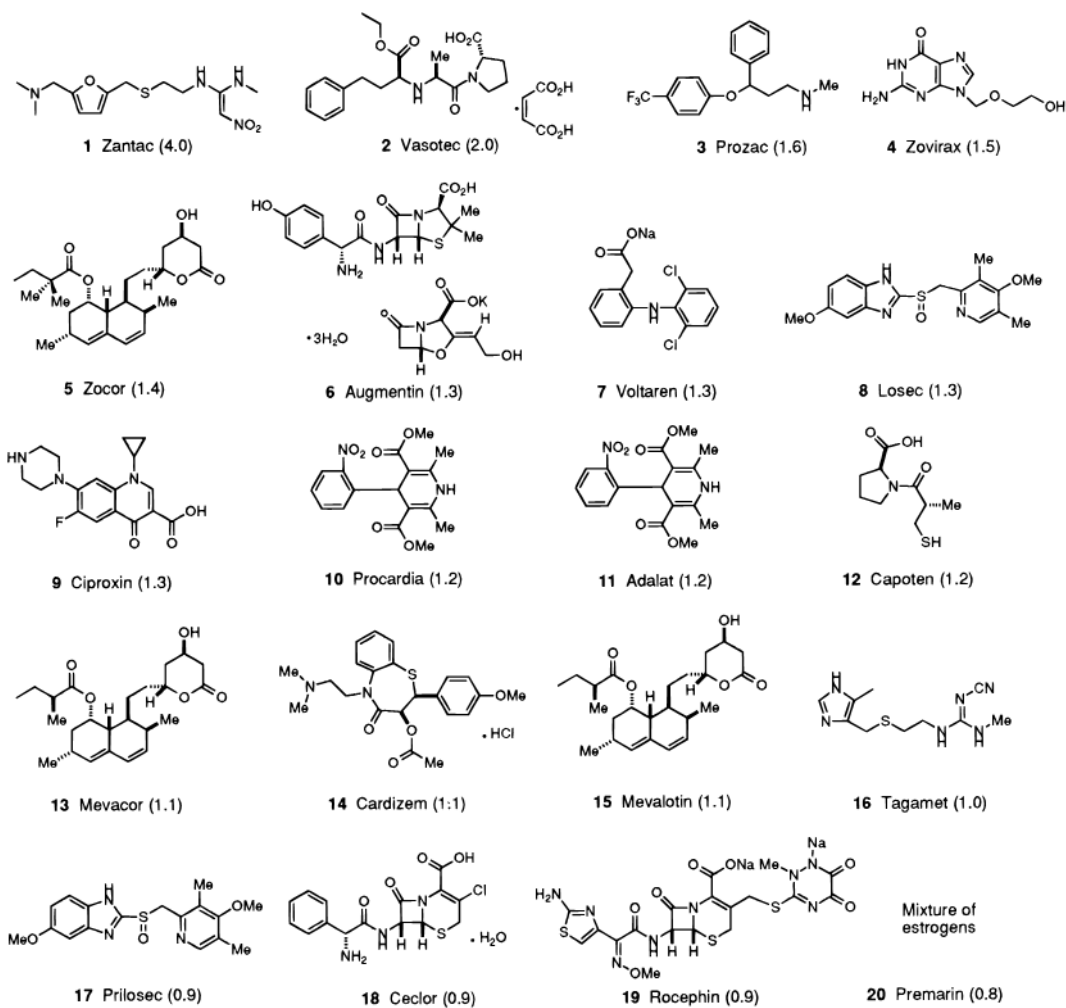


Espectro 14: RMN ¹H em DMSO-*d*₆O (300MHz) (*E*)-2-(acridin-9-ilmetileno)-aminourea.



Espectro 14: Ampliação do espectro, de $\delta 7,5$ a $\delta 9,5$.

Anexos



Lista dos 20 fármacos mais vendidos no ano de 1994.