



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



**SÍNTESE DE POTENCIAIS MARCADORES CELULARES A PARTIR DA
REAÇÃO DE INDÓIS *N*-SUBSTITUÍDOS COM A 1,4-NAFTOQUINONA**

Ingrid Duarte Pereira

Campo Grande - MS

2023



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



SÍNTESE DE POTENCIAIS MARCADORES CELULARES A PARTIR DA REAÇÃO DE INDÓIS *N*-SUBSTITUÍDOS COM A 1,4-NAFTOQUINONA

Ingrid Duarte Pereira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Nível de Doutorado – da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do título de Doutor em Química (área de concentração: Química).

Orientador: Prof. Dr. Edson dos Anjos dos Santos

Campo Grande - MS

2023



ATA DE DEFESA DE TESE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DOUTORADO

Ao primeiro dia do mês de dezembro do ano de dois mil e três, às treze horas e trinta minutos, no INQUI, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Edson dos Anjos dos Santos (UFMS), Adilson Beatriz (UFMS), Alisson Meza Novais (UFAM), Denise Brentan da Silva (UFMS), Euzébio Guimarães Barbosa (UFRN) e Roberto da Silva Gomes (NDSU), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: INGRID DUARTE PEREIRA, CPF 04030653138, do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "SÍNTESE DE POTENCIAIS MARCADORES CELULARES A PARTIR DA REAÇÃO DE INDÓIS *N*-SUBSTITUÍDOS COM A 1,4-NAFTOQUINONA" e orientação de Edson dos Anjos dos Santos. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Tese. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR	AValiação
Dr. Edson dos Anjos dos Santos (Interno)	Aprovada
Dr. Adilson Beatriz (Interno)	Aprovada
Dra. Denise Brentan da Silva (Interno)	Aprovada
Dr. Euzébio Guimarães Barbosa (Externo)	Aprovada
Dr. Roberto da Silva Gomes (Externo)	Aprovada
Dra. Ana Camila Micheletti (Interno) (Suplente)	-
Dr. Alisson Meza Novais (Externo) (Suplente)	-

RESULTADO FINAL:

Aprovação	
Aprovação com revisão	X
Reprovação	

OBSERVAÇÕES:

A aluna deverá acatar todas as sugestões e correções feitas pelos membros da banca e enviar a tese ao orientador até o dia 16/12/2023 para que possa ser corrigida e encaminhada no prazo de até 30 dias da data de defesa (31/12/2023) para o e-mail da pós-graduação.

Nada mais havendo a ser tratado, o Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas:

Edson dos Anjos dos Santos

Presidente da Banca Examinadora

Ingrid Duarte Pereira

Aluna

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Edson dos Anjos dos Santos, Professor do Magisterio Superior**, em 04/12/2023, às 08:10, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **EUZEBIO GUIMARAES BARBOSA, Usuário Externo**, em 04/12/2023, às 08:18, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Denise Brentan da Silva, Professora do Magistério Superior**, em 04/12/2023, às 08:30, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Adilson Beatriz, Professor do Magisterio Superior**, em 04/12/2023, às 16:16, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Roberto da Silva Gomes, Usuário Externo**, em 05/12/2023, às 12:43, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Ingrid Duarte Pereira, Técnico de Laboratorio Area**, em 20/12/2023, às 16:13, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com

fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4278960** e o código CRC **F75ECCC2**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

*Aos meus pais, Julia Duarte e Alcebiades Pereira, e
minha irmã Ianka Duarte Pereira, por se fazerem
presentes mesmo a longas distâncias...*

*Ao meu namorado, Camillo Sayd pelo amor e
companheirismo nos momentos mais difíceis dessa
jornada...*

Dedico...

“Viver é arriscar tudo. Caso contrário, você é apenas um pedaço inerte de moléculas montadas aleatoriamente à deriva onde o universo te sopra.”

Rick and Morty

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me trazer até aqui, me protegendo e me presenteando em cada dia de minha vida.

Ao Prof. Dr. Edson dos Anjos dos Santos pela oportunidade, paciência e persistência.

Aos meus chefes, Prof. Dr. Gumerindo Franco, Prof. Dr. Luis Ítavo, Prof. Dr. Alexandre Dias, Prof. Dr. Fabrício Frazílio e Coordenador Ricardo de Pádua Leite, por me ajudarem a conciliar esse período de doutoramento com meu trabalho. Essa compreensão foi fundamental na conclusão desse processo.

Aos colegas, servidores e docentes da UFMS que se fizeram presentes nessa jornada. Michell Lôpo, Arthur Montanholi, Luciana Ravaglia, Leopoldo Albisegi, Ademar Ferreira, Angela Akimi, Emerson Montagner, Adriana Garabini, Évelyn de Melo e Profa. Dra. Cassia Leal.

Ao Prof. Dr. Adilson Beatriz e ao Prof. Dr. Dênis Pires de Lima, pelas orientações e contribuições materiais e intelectuais imprescindíveis no decorrer dessa pesquisa.

Ao grande amigo Prof. Dr. Roberto da Silva Gomes por todo apoio, carinho e ensinamento. Nossas conversas sempre foram fonte de inspiração e fortalecimento para mim.

Ao Prof. Dr. Eufrânio Nunes da Silva Júnior, por me receber na UFMG dentro de seu grupo de pesquisa e contribuir imensamente com esse trabalho.

As preciosas amizades que fiz nesse período de intercâmbio na UFMG, especialmente aos amigos Renata Gomes de Almeida, Isabel Valero Antolínez e Gleiston Gonçalves Dias. Deixo aqui minha imensa admiração profissional e pessoal por vocês. Parafraseando Carl Sagan: “Diante da vastidão do tempo e da imensidão do universo, é um imenso prazer para mim dividir um planeta e uma época com vocês.”

As amigas Ingridhy Ostaciana, Amanda Dal’ Ongaro, Isabelle Matos, Suély Copini e Tairine Pimentel. Vocês foram um grande presente que a UFMS me deu.

A amiga e colega de trabalho Ianny Marques, por não aceitar que eu trancasse o doutorado e devolvesse as bolsas de pesquisa, quando eu estava decidida a fazê-lo. Você foi uma das

maiores incentivadoras para que eu chegasse até aqui. “Para de doidiça e faz logo isso!” sempre será sua melhor frase.

Ao precioso ensinamento da Reiyukai, que me trouxe tanta proteção e cura. Estou protegida para lutar todas as minhas batalhas. Namu Myôhô Rengue Kyô.

A amiga e madrinha Bruna Soares Bruno, por todos esses anos de amizade. Você esteve nos melhores e piores momentos dessa jornada, segurando minha mão e me mostrando o meu valor perante a vida. Você sempre será a minha pessoa.

A minha psicóloga Natália Yamamoto, por me fazer compreender o real significado desse doutorado em minha vida. Obrigada por tudo que fez por mim.

A minha prima Rayane Cristina Felix Tavares, pela amizade, carinho e cuidado ao longo de uma vida inteira. Estar ao seu lado é sempre como voltar pra casa.

A amiga Ana Yaticola por todas as aventuras que vivemos antes, durante e pós pandemia. Graças a Deus estamos vivas e felizes, podendo dar risada de tudo que vivemos. Sua amizade foi primordial.

A minha família que sempre acreditou em mim e me deu força. Aos meus pais, Julia e Alcebíades, e à minha “Ermã” Ianka, por todo amor e apoio. Aos meus avós Cícera Duarte e Cândido Gonçalves e aos meus tios, Eduardo e Marcos. Essa conquista é também dedicada a vocês.

Aos meus tios Lila Samha e Paulo Duarte por me ensinarem que a gente pode fazer da vida uma festa, e ainda assim ter excelência no que faz. Vocês têm um lugar especial no meu coração.

Ao meu cãozinho e fiel escudeiro Amendoim, por estar ao meu lado durante todo o processo de escrita dando seu amor incondicional.

Ao meu lindo e doce Camillo Sayd da Rosa. Meu exemplo diário de resiliência e amor, que com seu afeto me deu forças para chegar até aqui. Obrigada por tudo!

Aos membros da banca avaliadora deste trabalho por aceitarem o convite.

Aos órgãos de fomento CAPES e a PROPP-UFMS pela bolsa concedida e apoio financeiro.

RESUMO

Indóis e quinonas são classes de compostos amplamente estudados por apresentarem diversas atividades biológicas, como atividade antitumoral, antidiabética, leishmanicida, dentre outras. A literatura demonstra que quando essas duas classes de compostos reagem, os produtos formados continuam apresentando atividade biológica e em alguns casos fluorescência. Essa característica é observada, por exemplo, em compostos policíclicos contendo heteroátomos, sistemas π altamente conjugados e estruturas rígidas. Este trabalho tem como objetivo a síntese de compostos fluorescentes por meio de reações entre diferentes indóis e a 1,4-naftoquinona e, avaliar o potencial de aplicação como sondas fluorescentes em células vivas. Foram realizadas diversas reações para a otimização do processo de obtenção dos derivados, variando o solvente, equivalências molares dos reagentes, temperatura e tempo reacional. Por meio do uso das melhores condições, foram obtidos dois derivados na reação de acoplamento do 1-metil-1*H*-indol e da 1,4-naftoquinona em presença de ácido acético como solvente. Os dois compostos obtidos tiveram as suas propriedades espectroscópicas na região do UV/Vis e fluorescência avaliados, e também foram realizados ensaios iniciais de aplicação como sondas de marcação em células vivas. Na etapa atual da pesquisa estão sendo preparados indóis, já descritos na literatura, para serem utilizados posteriormente na reação de acoplamento com a 1,4-naftoquinona, permitindo assim a síntese de compostos inéditos. Os experimentos realizados e a vasta aplicabilidade destes compostos encorajam para a continuidade da pesquisa no processo de obtenção dos derivados.

Palavras-chave: indol; naftoquinona; antitumoral; fluorescência; marcadores celulares.

ABSTRACT

Indoles and quinones are classes of compounds that have been widely studied because they have different biological activities, such as antitumor, antidiabetic, and leishmanicidal activity, among others. The literature demonstrates that when these two classes of compounds react, the products formed continue to show biological activity and, in some cases, fluorescence. This characteristic is observed, for example, in polycyclic compounds containing heteroatoms, highly conjugated π systems and rigid structures. This work aims to synthesize fluorescent compounds through reactions between different indoles and 1,4-naphthoquinone and to evaluate their potential application as fluorescent probes in living cells. Several reactions were carried out to optimize the process of obtaining the derivatives, varying the solvent, molar equivalents of the reactants, temperature and reaction time. Using the best conditions, two derivatives were obtained in the coupling reaction of 1-methyl-1*H*-indole and 1,4-naphthoquinone in the presence of acetic acid as a solvent. The two compounds obtained had their spectroscopic properties in the UV/Vis region and fluorescence evaluated, and initial tests were also carried out for their application as labeling probes in live cells. In the current stage of the research, indoles are being prepared, already described in the literature, to be used later in the coupling reaction with 1,4-naphthoquinone, thus allowing the synthesis of new compounds. The experiments carried out and the vast applicability of these compounds encourage the continuity of research in the process of obtaining the derivatives.

Keywords: indole; naphthoquinone; antitumor; fluorescence; cell markers.

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Síntese do indól modificado por alquilação.	27
Esquema 2: Síntese dos indóis modificados por arilação.	27
Esquema 3: Síntese geral dos compostos policíclicos, onde 23, 24, 25 e 26 são produtos do tipo A e 27, 28, 29 e 30 são produtos do tipo B.	28
Esquema 4. Reação realizada adaptando-se metodologia de Tang e colaboradores (2008). ...	31
Esquema 5: Proposta de reação para obter o produto 21 com 2-iodopiridina.....	31
Esquema 6: Proposta de reação para obter o composto a partir de iodeto.	32
Esquema 7: Proposta de reação para obter o composto a partir de um brometo.....	32
Esquema 8: Reação testada para obter o composto 34	33
Esquema 9: Reação testada para obter o composto 36	33
Esquema 10: Reação de obtenção do composto 38	34
Esquema 11: Reação de obtenção do composto 39	34
Esquema 12: Rota sintética para obtenção do composto 41	35
Esquema 13: Rota para obtenção dos produtos 42, 43 e 44	35

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1: Espectro de RMN de ^1H do composto (19) (CDCl_3 , 200 MHz).....	70
Espectro 2: Espectro de RMN de ^1H do composto (23) (CDCl_3 , 300 MHz).....	70
Espectro 3: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (23) (CDCl_3 , 75 MHz).....	71
Espectro 4: Espectro de RMN de ^1H do composto (27) (CDCl_3 , 300 MHz).....	71
Espectro 5: Espectro de RMN de ^1H do composto (28) (CDCl_3 , 200 MHz).....	72
Espectro 6: Espectro de RMN de ^1H do composto (28) (CDCl_3 , 200 MHz).....	73
Espectro 7: Espectro de RMN de ^1H do composto (39) (CDCl_3 , 200 MHz).....	73
Espectro 8: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (39) (CDCl_3 , 75 MHz).....	74
Espectro 9: Espectro de RMN de ^1H do composto (41) (CDCl_3 , 200 MHz).....	75
Espectro 10: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (41) (CDCl_3 , 75 MHz).....	75
Espectro 11: Espectro de RMN de ^1H do composto (44) (CDCl_3 , 200 MHz).....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estruturas tautoméricas do indol.	19
Figura 2: Exemplos de indóis presentes no grupo das auxinas.	19
Figura 3: Representação esquemática da síntese da melatonina.	20
Figura 4: Moléculas dos fármacos Sumatriptano e Ondansetrona.	21
Figura 5: (Adaptada) Trabalho desenvolvido por Wang e colaboradores (2021).	25
Figura 6: Espectro de massas de alta resolução com ionização por eletrospray (ESI) do composto 23	36
Figura 7: Ampliação do espectro de RMN de ¹ H para o composto 23 (CDCl ₃ , 300 MHz).	37
Figura 8: Ampliação do espectro de RMN de ¹³ C para o composto 23 (CDCl ₃ , 75 MHz). ...	37
Figura 9: Espectro de massas de alta resolução com ionização por eletrospray (ESI) do composto 27	38
Figura 10: Ampliação do espectro de RMN de ¹ H para o composto 27 (CDCl ₃ , 300 MHz). ..	39
Figura 11: Ampliação do espectro de RMN de ¹ H para o composto 28 (CDCl ₃ , 200 MHz). ..	40
Figura 12: Espectro de absorção na região do UV/Vis do composto 23 (C1P4M1). Solvente: DMSO; concentração da solução: 2,12x10 ⁻⁶ mol/L (concentração estimada baseado no PM: 287,31Da); cubeta de quartzo de diâmetro 1cm.	41
Figura 13: Espectro de absorção na região do UV/Vis do composto 27 . Solvente: DMSO; concentração da solução: 1,3x10 ⁻⁶ mol/L (concentração estimada baseado no PM: 441,43Da); cubeta de quartzo de diâmetro 1cm.	42
Figura 14: (A) Espectro de excitação dos compostos 23 e 27 (100 µM em DMSO); (B) Espectro de emissão dos compostos 23 e 27 (100 µM em DMSO).	44
Figura 15: Estrutura molecular em 3D (A) com a visualização da superfície do Potencial Eletrostático Molecular (MEP) (B) do composto 23 gerada no programa Molview.	45
Figura 16: Estrutura molecular em 3D (A) com a visualização da superfície do Potencial Eletrostático Molecular (MEP) (B) do composto 27 gerada no programa Molview.	46
Figura 17: Radar de biodisponibilidade das moléculas 23 (A) e 27 (B).	48
Figura 18: Viabilidade das linhagens de células leucêmicas tratadas com 23 : Kasumi-1 LMA (humana – leucemia mieloide aguda); C1498 (murina – leucemia mielóide murina); Jurkat (humana – linfoblastos de células T) tratadas com o composto 23	48
Figura 19: Viabilidade das linhagens de células leucêmicas tratados com 27 : Kasumi-1 LMA (humana – leucemia mieloide aguda); C1498 (murina – leucemia mielóide murina); Jurkat (humana – linfoblastos de células T).	49

Figura 20: Histogramas de intensidade de fluorescência de citometria de fluxo realizados com a linhagem celular de leucemia humana Kasumi-1; picos na cor preta correspondem a fluorescência das células não tratadas; picos com contorno tracejado na cor preta indicam a fluorescência de células tratadas com o composto **23**; picos na cor vermelha indicam a fluorescência de células tratadas com o composto **27**. Canal FL-1 (excitação: 488 nm; emissão: 533±30 nm). Canal FL-2 (excitação: 488 nm; emissão: 585±20 nm). Canal FL-3 (excitação: 488 nm; emissão: 670 nm). Canal FL-4 (excitação: 633 nm; emissão: 675±12,5 nm)..... 49

Figura 21: Estruturas químicas da nor-β-lapachona e de seu derivado fenazínico P1.....50

Figura 22: Imagens de microscopia de fluorescência de alta ampliação de células U-2 OS (sarcoma humano) incubadas com calcein (μM, verde), os compostos **23** (C1P4M1) e **27** (C1P4M2) (μM, vermelho). As imagens sobrepostas indicam a co-localização dos compostos no meio intracelular, conforme mostrado pelos sinais vermelhos pontuados (setas brancas). Barra de escala: 20 μm. 51

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classificação das quinonas quanto ao sistema aromático (Adaptada: SOUSA, LOPES & ANDRADE, 2016).....	22
Tabela 2: Resultados de Otimização selecionados.....	29
Tabela 3. Parâmetros moleculares gerados pela plataforma online SwissADME.....	47

ABREVIATURAS, ACRÔNIMOS E SÍMBOLOS

δ	Deslocamento químico em ppm
®	Marca registrada
ACN	Acetonitrila
aq	Solução aquosa
Ar	Grupo aromático
ccd	Cromatografia em camada delgada
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
conc.	Concentração
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometria de massas
EtOH	Etanol
eq.	Equivalente
Hz	Hertz
IES	Ionização por eletrospray
IV	Infra Vermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multiplete
<i>m</i> -CPBA	Ácido meta-cloroperbenzóico
MHz	Megahertz
mult	Multiplicidade
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
Nu ⁻	Nucleófilo
Oxone	Peroximonosulfato de potássio
ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
RMN	Ressonância magnética nuclear
<i>s</i>	Simpleto
SFB	Soro Fetal Bovino
<i>sl</i>	Simpleto largo
$\text{S}_\text{N}\text{Ar}$	Substituição Nucleofílica Aromática
<i>t</i>	Triplete
t.a.	Temperatura ambiente
TCA	Tricloroacetic Acid (ácido tricloro acético)
THF	Tetraidrofurano
UV	Ultra Violeta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
1.1 Indol.....	19
1.2 Quinonas	21
1.3 Fluorescência	23
1.4 Biomarcadores fluorescentes	24
2. OBJETIVOS	26
2.1. Objetivos gerais.....	26
2.2. Objetivos específicos	26
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.1 Síntese.....	27
3.1.1 Síntese dos compostos policíclicos.	27
3.1.2 Síntese de Indóis <i>N</i> -substituídos.	31
3.1.3 Síntese de Indóis com substituintes no anel aromático	32
3.1.4 Síntese de naftoquinonas com substituintes no anel aromático.....	33
3.2 Análises Espectrais	36
3.3. Ensaios Biológicos e de Luminescência.....	40
3.3.1 Avaliação de Propriedades Luminescentes.....	40
3.3.2 Ensaio Biológico.....	48
4. PARTE EXPERIMENTAL	52
4.1. Material e métodos.....	52
4.2. Procedimentos experimentais.....	52
4.2.1. Preparação de naftoquinonas com substituintes no anel A	52
4.2.2. Preparação de indóis <i>N</i> -substituídos.....	55
4.2.3. Preparação de indóis com substituintes aromáticos.	56
4.2.4. Preparação geral dos compostos policíclicos.....	57
4.3.1. Espectros de UV/Vis.....	58
4.3.2. Espectros de fluorescência.....	58
4.3.3. Cultivo celular	59

4.3.4. Viabilidade celular.....	59
4.3.5. Citometria de fluxo.....	59
4.3.6. Microscopia de Fluorescência.....	60
4.3.7. Estrutura molecular em 3D.....	60
5. CONCLUSÕES e PERSPECTIVAS.....	61
6. REFERÊNCIAS.....	62
7. Apêndice a.....	70

1. INTRODUÇÃO

1.1 Indol

A síntese de compostos orgânicos sempre teve como referência e inspiração as moléculas encontradas na natureza, que são denominadas de produtos naturais. A partir destas, químicos elaboraram ao longo dos anos os mais diversos tipos de derivados sintéticos, com aplicações que vão desde de pesticidas (ZHANG et al., 2023) até potenciais fármacos (POWOLNY & SINGH, 2008) e outros produtos com aplicação na Medicina (NEWMAN & CRAGG, 2020). Essa última aplicação é sem dúvida a qual mais desperta o interesse da comunidade científica de acordo com a elevada quantidade de publicações nessa área (NEWMAN & CRAGG, 2020). Dentre as muitas classes de compostos oriundos dos produtos naturais, estão os indóis. Essa subclasse de heterociclos aromáticos é constituída basicamente de um anel benzênico fundido a um anel pirrol como mostrado na **Figura 1**. (JOULE, 2001)

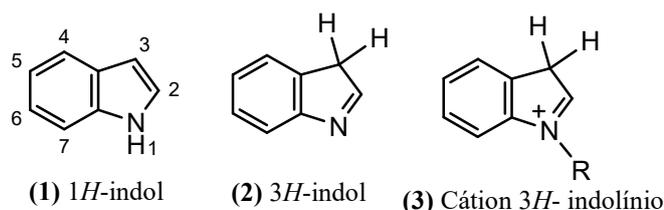


Figura 1: Estruturas tautoméricas do indol.

Exemplos de indóis encontrados em produtos naturais são as auxinas, um hormônio regulador do crescimento vegetal e de grande importância nos processos fisiológicos das plantas (ZUFFO, 2019). A principal substância desse grupo encontrada nas plantas é o ácido indol-3-acético (4), porém há outras substâncias com estruturas químicas semelhantes como o ácido 4-cloroindol-3-acético (5), presente em sementes jovens de leguminosas e o ácido indol-3-butírico (6), sendo esse último um dos mais utilizados na agricultura principalmente para a melhora do enraizamento de mudas (SIMON & PETRÁŠEK, 2011).

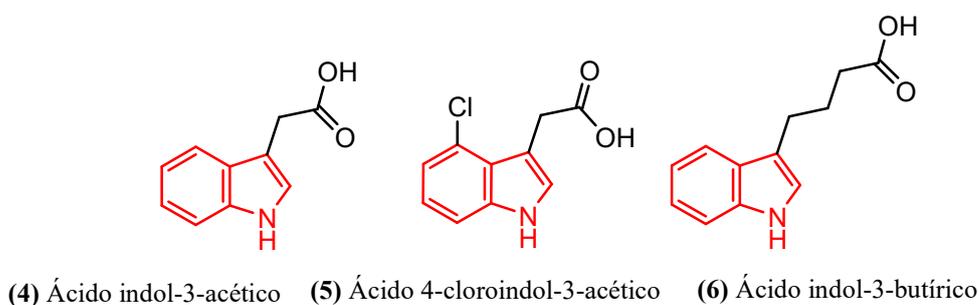


Figura 2: Exemplos de indóis presentes no grupo das auxinas.

Outro indol importante e fundamental na vida humana é o triptofano (7). Por ser um aminoácido essencial, não pode ser produzido naturalmente em seres humanos, sendo assim necessária sua ingestão por meio de alimentos e suplementação. Sua deficiência no organismo humano pode causar uma série de problemas como distúrbios do sono, ansiedade, depressão, irritabilidade e incapacidade de concentração (WADA, et al., 2013). Esses sintomas se devem ao fato de o triptofano ser precursor da serotonina (9), que é um neurotransmissor envolvido na regulação de várias funções comportamentais e biológicas do corpo (CHASE & MURPHY, 1973). É a partir dela que a melatonina (11), outra substância indólica é produzida como mostrado na **Figura 3**.

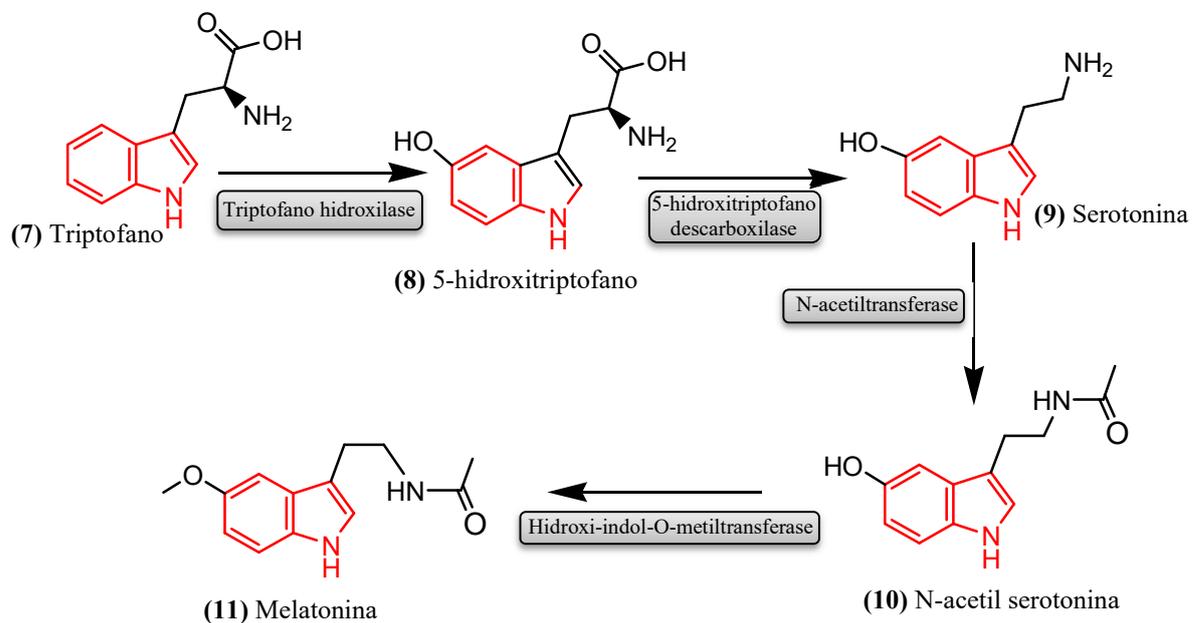


Figura 3: Representação esquemática da síntese da melatonina.

A melatonina é um hormônio que penetra em todos os tecidos do corpo, atuando como antioxidante e eliminando o excesso de radicais livres gerados; ajuda ainda a regular os padrões do sono e os ritmos circadianos, sendo sua produção realizada principalmente pela glândula pineal (AHMAD et al., 2023).

Outras substâncias derivadas da serotonina são princípios ativos de medicamentos, como o sumatriptano (12) que possui ação contra enxaquecas e a ondansetrona (13), que é um antiemético receitado para alívio de náuseas especialmente durante tratamentos quimioterápicos (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012).

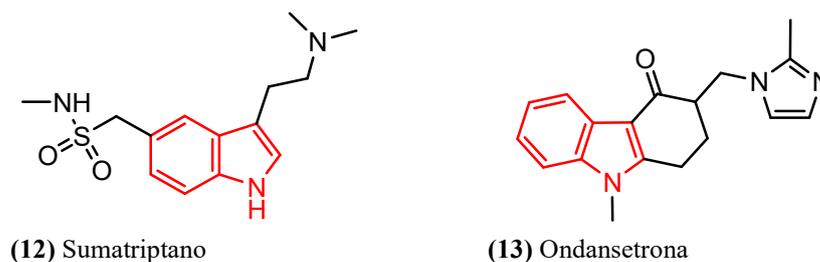


Figura 4: Moléculas dos fármacos Sumatriptano e Ondansetrona.

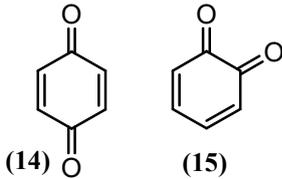
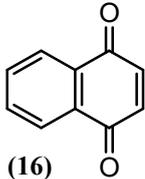
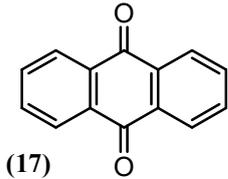
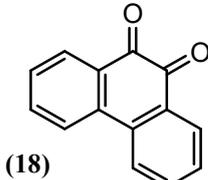
A literatura demonstra que utilizando o indol como alicerce na construção de novas moléculas, foi possível obter uma gama de novos medicamentos. Mathada e colaboradores (2023), em seu artigo de revisão sobre o potencial farmacológico do indol, demonstraram os avanços que essa molécula teve em relação às suas atividades anticancerígenas, antidiabéticas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Além disso, também destacaram os medicamentos aprovados e ensaios clínicos entre os anos de 2015 e meados de 2022 (MATHADA, YERNALE & BASHA, 2023).

Sobre a reatividade dessa molécula, a substituição eletrofílica ocorre preferencialmente na posição 3, como por exemplo na acilação e alquilação de Friedel-Crafts e na halogenação, isso porque existe uma nucleofilicidade nessa posição decorrente do sítio enamina (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012).

1.2 Quinonas

As quinonas são uma classe de compostos orgânicos reconhecidos por apresentarem coloração, sendo encontradas em microrganismos (LI et al., 2018; DEVI & MEHENDALE, 2014), animais (HOU et al., 2018) e em muitas plantas, incluindo as famílias Ranunculaceae, Aphodelaceae, Fabaceae, Ebenaceae e Rhamnaceae (CORDEIRO et al., 2022). Quinonas naturais e sintéticas têm despertado grande interesse na área da química medicinal, por apresentarem diversas atividades biológicas tais como antimicrobiana, antifúngica, sedativa, anti-hipertensiva, antiparasitária, antiviral, antiproliferativa, antioxidante, neuroprotetora, nefroprotetora e cicatrizante (DOS S MOREIRA et al., 2021; ORTIZ-PÉREZ et al., 2021; MONE et al., 2021; LI et al., 2018; ZHANG et al., 2020; FUTURO et al., 2018; GOMES et al., 2021; PATEL et al., 2021). Apresentam estruturas com duas carbonilas em um anel aromático, nas posições *orto* ou *para*. Elas são classificadas como: benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas e fenantraquinonas, como ilustrado na **Tabela 1** (SOUSA, LOPES & ANDRADE, 2016).

Tabela 1: Classificação das quinonas quanto ao sistema aromático (Adaptada: SOUSA, LOPES & ANDRADE, 2016)

Grupo	Sistema aromático	Estruturas básicas
1. Benzoquinonas	Anel benzênico	 (14) (15)
2. Naftoquinonas	Anel naftalênico	 (16)
3. Antraquinonas	Anel antracênico	 (17)
4. Fenantraquinonas	Anel fenantrênico	 (18)

A benzoquinona é uma subunidade básica das quinonas do tipo 1,4 e 1,2 e servem como blocos de construção na síntese e biossíntese de compostos com diversas atividades biológicas como antitumoral (MALIK et al., 2021). A 1,4-benzoquinona é um composto não aromático que é facilmente convertido em hidroquinona na redução (DULO et al., 2021).

As naftoquinonas possuem uma deslocalização de elétrons estendida através das ligações duplas e dos grupos carbonila, dando origem a uma gama de compostos com coloração na região do visível (LOPEZ et al., 2014).

A antraquinonas, são compostos que possuem um núcleo antraceno e adicionalmente, dois grupos carbonila, sendo comumente encontrados no anel B (DULO et al., 2021). E representam a segunda classe de corantes mais importante, ficando atrás apenas dos azo-corantes, além disso são considerados os corantes mais antigos já utilizados, com relatos demonstrando seu uso em múmias com mais de 4.000 anos (DIAZ-MUÑOZ et al., 2018).

As quinonas não substituídas, são espécies químicas neutras e sofrem reações de protonação com dificuldade, mas são consideradas oxidantes e eletrofílica (SOUSA et al., 2016). Estas propriedades fazem com que sejam utilizadas principalmente na síntese em reações redox e reações de Michael, nos sistemas biológicos desempenham um papel fundamental nos processos de transporte de elétrons (LITTLE et al., 1995; DING et al., 2016).

Nesse sentido, o potencial redox de uma quinona pode ser fortemente influenciado pelo pH do meio e pela presença de grupos substituintes (SOUSA, LOPES & ANDRADE, 2016).

1.3 Fluorescência

Quando se fala em fluorescência, o primeiro pensamento que vem ao leitor é sobre transição eletrônica, que consiste na mudança de localização do elétron de um orbital molecular no estado fundamental para outro orbital vazio pela absorção de fóton. Com isso diz-se que a molécula está no estado excitado. Quando isso ocorre os fótons emitem luz e isso se refere à Luminescência, que por sua vez está dividida em Fosforescência e Fluorescência. O que as diferem são o tempo de emissão, onde a fosforescência leva o tempo de ($10^{-6} - 1$ s) e na fluorescência a emissão é mais rápida em torno de ($10^{-10} - 10^{-7}$ s) (DE MOLINER et al., 2018).

A literatura descreve a estrutura da matéria pela radiação eletromagnética em técnicas espectroscópicas. Assim, as técnicas avaliam a radiação que é absorvida, emitida ou até mesmo espalhada pela amostra analisada. Através dessas técnicas são apresentados os espectros, eles são as respostas em representação gráfica das funções de comprimento de onda e são denominados espectrômetros. São muito utilizados em diversas áreas de pesquisas físicas, químicas e biológicas (HANSON et al., 2008).

Os equipamentos geralmente apresentam três elementos básicos, sendo: um monocromador, uma fonte de radiação e um detector. A maioria desses equipamentos são fechados e quando adicionado às amostras, obtêm-se os espectros referentes a ela. A fluorescência de macromoléculas relata informações sobre flexibilidade, sítios de ligações, conformação, interação com solventes, distâncias intramoleculares e coeficiente de difusão entre outros (GHOST & MONDAL, 2012).

A técnica apresenta grande sensibilidade, mesmo em concentrações baixas, o que torna muito interessante para estudos químicos e farmacêuticos. Em temperatura ambiente, a maioria das moléculas apresentam o seu nível vibracional e rotacional fundamental. Como estas moléculas são irradiadas com fótons de frequências adequadas, elas absorvem energias e passam do estado fundamental para diversos estados vibracionais do estado eletrônico excitado.

Ocorrendo, assim, as colisões com outras moléculas, fazendo com que a molécula excitada perca energia vibracional até chegar ao estado vibracional de menor energia dentro do estado excitado. Portanto, esse estado é instável e as moléculas retornam para qualquer nível vibracional do estado eletrônico fundamental e com isso emitem fóton, que carregam a energia fluorescente (PAVONI et al., 2014).

Devido a existência de vários níveis vibracionais no estado fundamental, os fótons emitidos têm diferentes energias e com isso diferentes frequências. Logo as intensidades emitidas em diferentes frequências levam a resultado de espectro de emissão de fluorescência na espectroscopia de fluorescência. Portanto, o fóton de emissão possui menor energia que o fóton de excitação, por causa das perdas de energia nas transições dos estados vibracionais do estado eletrônico excitado, isso faz com que os espectros de absorção e emissão sejam diferentes (PAVIA et al., 2015; MONDAL & GHOSH, 2012; PAVONI et al., 2014; TOPEL et al., 2013; YANG et al., 2004).

Todas as moléculas que são fluorescentes possuem um certo comprimento de onda de excitação e de emissão característicos, a distância entres eles são denominados deslocamento de Stokes. Esse deslocamento é essencial para a detecção da fluorescência, principalmente para experimentos biológicos, onde moléculas que possuem grandes deslocamentos de Stokes possui fluorescência facilmente detectável e as que possuem pequenos deslocamentos de Stokes apresentam dificuldades em detecção (PAVONI et al., 2014; TOPEL et al., 2013).

1.4 Biomarcadores fluorescentes

Os biomarcadores são compostos de fluoróforos, que depois da absorção de fótons, emitem luz visível. São utilizados e chamados de biomarcadores por serem usados na localização de uma parte de interesse específica da célula. Também podem ser chamados de sensor fluorescente quando utilizados para responder estímulos biológicos específicos (GIEPMANS et al., 2006).

Existem biomarcadores comerciais usados para apontar metabólicos (0,1 nm), proteínas (10 nm) e organelas subcelulares (0,2-1mm), o fluoróforo só pode ser utilizado como biomarcador se for capaz de atravessar a membrana celular, permear o citoplasma, identificar seletivamente uma estrutura biológica, ser estável e não intervir na parte bioquímica da célula (HANSON et al., 2008).

Os biomarcadores são classificados em quatro classes, dependendo de sua complexidade e metodologia de obtenção, sendo elas: proteínas e peptídeos; oligômeros e polímeros; sistemas multicomponentes e pequenas moléculas orgânicas. Existem vários fluoróforos comerciais,

também chamados de sondas fluorescentes, sendo ferramentas valiosas e versáteis para a utilização de biomoléculas e estruturas intracelulares, utilizado para caracterização de tipos de células. Alguns exemplos são os corantes hidrofóbicos, como BODIPY e Vermelho do Nilo que foram empregados para manchar gotas lipídicas, mas ambos apresentam algumas desvantagens como especificidade limitada e Stokes pequenos. Assim, o desenvolvimento de novas sondas para as gotas lipídicas é um desafio na comunidade de biologia e química. O que torna os fluoróforos ambientalmente sensíveis exibe emissão em ambientes não polares, sendo esses considerados ideais. Portanto um design de soluções inovadoras e abordagens sintéticas muitas vezes não convencionais são necessárias para montar novos biomarcadores fluorescentes, uma estratégia é explorar o potencial dos produtos naturais como intermediários avançados para a geração de fenazina como sondas para as gotas lipídicas (DE MOLINER et al., 2018.).

No campo da química medicinal há o desenvolvimento de algumas pesquisas utilizando derivados da naftoquinona, por meio de metodologias de obtenção de tais produtos e aplicação dos mesmos. Wang e colaboradores (2021) prepararam compostos por meio da reação mostrada na **Figura 5**, onde foram obtidos anéis multifundidos de naftoquinona, no qual obtiveram vários derivados por meio da funcionalização do anel aromático, tanto da naftoquinona como do indol, e também por substituição via ligação *N*-R. Os derivados do anel multifundido, obtido pelos autores, apresentaram atividade biológica (WANG et al., 2021).

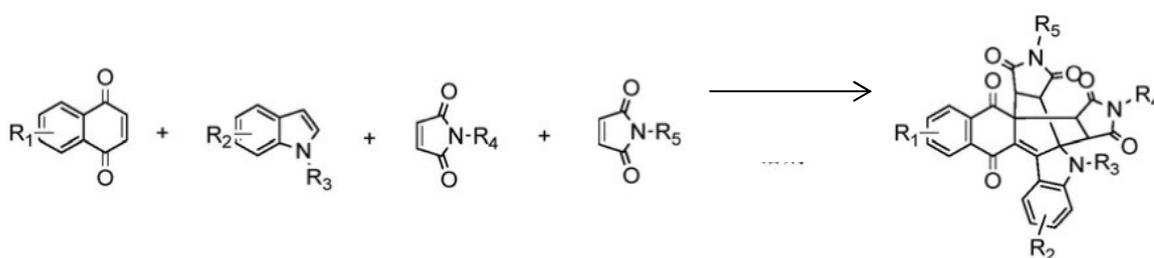


Figura 5: (Adaptada) Trabalho desenvolvido por Wang e colaboradores (2021).

Frente aos relatos encontrados na literatura, os compostos policíclicos têm o potencial de se tornarem sondas fluorescentes e quimiorreceptores. Torna-se então importante sintetizar derivados de quinonas com boas propriedades de fluorescência que podem ser aplicados a muitos campos, como por exemplo na ciência ambiental, medicina e biologia celular (DONG, et al., 2020).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

Investigar o potencial de compostos preparados a partir dos núcleos indólico e naftoquinona como potenciais marcadores fluorescentes em células biológicas.

2.2. Objetivos específicos

- Preparar indóis *N*-substituídos e também com substituintes no anel aromático;
- Sintetizar compostos policíclicos obtidos a partir da reação entre os indóis preparados e a 1,4-naftoquinona.
- Otimizar as condições reacionais como tempo, solvente, temperatura, catalisador e proporção dos reagentes.
- Caracterizar os compostos obtidos por meio de RMN de ^1H e ^{13}C , bem como espectrometria de massas de alta resolução.
- Avaliar as propriedades fluorescentes e o potencial de marcação em células vivas dos compostos obtidos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

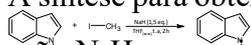
Neste tópico será apresentada a sistemática para a síntese dos compostos policíclicos a partir de indóis e 1,4-naftoquinona. Os espectros dos compostos sintetizados encontram-se em Apêndice A.

3.1 SÍNTESE

3.1.1 Síntese dos compostos policíclicos.

A proposta desse projeto fundamentou-se no trabalho de Napolitano e colaboradores (1987), onde os autores realizaram a síntese a partir do 5,6-dihidroxi-indol e a 1,4-naftoquinona, obtendo desse modo compostos policíclicos. A literatura demonstra que a investigação a respeito das reações entre esses dois compostos ainda é de interesse da comunidade científica e continua sendo explorada na obtenção de novos produtos na área medicinal (WANG & WANG, 2021; TANDON et al., 2002; NAPOLITANO et al., 1987)

A síntese para obtenção dos compostos policíclicos parte da modificação do anel indólico na ligação N-H por meio de duas metodologias diferentes. A primeira realizou-se com uma substituição do hidrogênio por um grupo alquil (BANJARE, NANDA, & RAVIKUMAR, 2019).

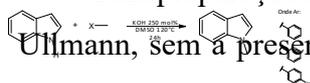


(1)

(19)

Esquema 1: Síntese do indól modificado por alquilação.

Para preparação dos indóis com substituintes aromáticos, foram realizadas reações do tipo Ullmann, sem a presença de catalisadores de cobre, entre o indol e haletos de arila a fim de obter os produtos esperados (CANO, RAMÓN & YUS, 2010).



(1)

Ar

Ar

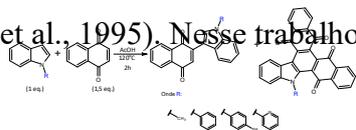
(20)

(21)

(22)

Esquema 2: Síntese dos indóis modificados por arilação.

A próxima etapa seria a reação do indol modificado com a 1,4-naftoquinona (**16**) resultando nos compostos policíclicos abaixo por meio de reações do tipo Diels-Alder (LION et al., 1995). Nesse trabalho identificaremos os produtos formados nessa reação como A e B.



(16)

Produto A

(23, 27) (24, 28) (25, 29) (26,30)

Produto B

Esquema 3: Síntese geral dos compostos policíclicos, onde **23**, **24**, **25** e **26** são produtos do tipo A e **27**, **28**, **29** e **30** são produtos do tipo B.

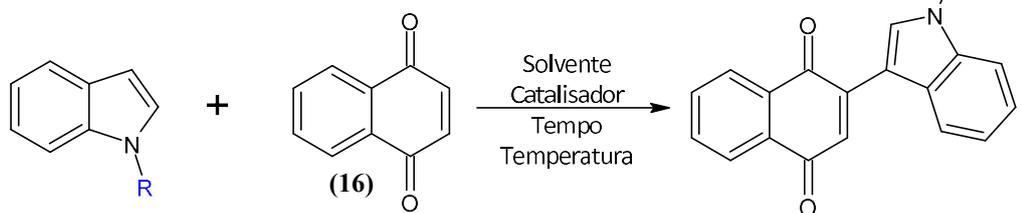
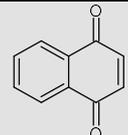
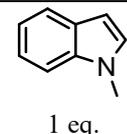
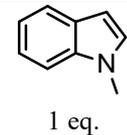
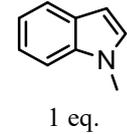
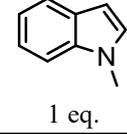
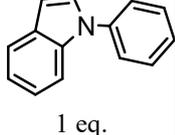
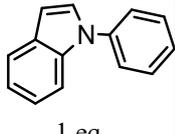
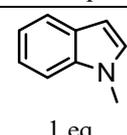
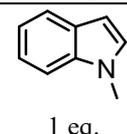
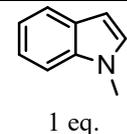
A reação do **Esquema 1** foi realizada com THF seco em sódio metálico e um excesso de hidreto de sódio (25 %), em relação ao descrito na literatura, foi adicionada a fim de melhorar o rendimento da mesma. A reação gerou o produto esperado com rendimento de 80%, permitindo dar continuidade na rota sintética.

Seguindo a proposta de Napolitano e colaboradores (1987), que descrevem um rendimento de 70% para produto com semelhança estrutural aos propostos neste trabalho, a tentativa de síntese de compostos policíclicos pela rota do **Esquema 3** foi realizada. Após purificação por coluna cromatográfica, foi possível observar formação de apenas 5% de produto, sendo necessário buscar na literatura outras metodologias.

Dentre as estratégias propostas, a primeira foi utilizar uma maior quantidade de indol, sendo que a proporção utilizada anteriormente foi de 1 eq. de indol para 1,5 eq. de 1,4-naftoquinona. Outra alternativa foi utilizar o ácido acético em quantidades catalíticas e utilizar outros solventes que diluíssem melhor os reagentes. A literatura demonstra a utilização de solventes como CH₂Cl₂, CH₃CN (TANOUE et al., 2005) e até mesmo H₂O para reações desse tipo (ZHANG et al., 2006).

Sabendo-se quais as condições reacionais descritas que favoreceram produtos similares aos almejados neste trabalho, foi iniciado um processo de otimização da reação, a fim de compreender qual seria o melhor solvente, tempo, catalisador, temperatura e proporção dos reagentes para que o rendimento da reação fosse aumentado. A **Tabela 2** apresenta os resultados de otimização selecionados.

Tabela 2: Resultados de Otimização selecionados.

							
Entrada	Indol		Solvente 15 mL	Catalisador	Temperatura (°C)	Tempo (horas)	Rendimento (%)
1	 1 eq.	1,5 eq.	AcOH	AcOH	100	48	traços
2	 1 eq.	2 eq.	CH ₂ Cl ₂	HCl (2%)	100	24	25%
3	 1 eq.	2 eq.	CH ₃ CN	HCl (2%)	100	24	24%
4	 1 eq.	2 eq.	H ₂ O	HCl (2%)	100	24	41%
5	 1 eq.	5 eq.	AcOH	AcOH	120	24	40%
6	 1 eq.	2 eq.	CH ₃ CN	HCl (2%)	120	24	-
7	 1 eq.	5 eq.	AcOH	AcOH	120	2	traços de vários produtos
8	 1 eq.	5 eq.	AcOH	AcOH	t.a.	24	18%
9	 1 eq.	5 eq.	AcOH	AcOH	40	2	79%

Inicialmente seguiu-se a metodologia de Napolitano e colaboradores (1987) para a primeira reação (Entrada 1), porém houve apenas evidência de reação que foi verificada pela formação de um produto roxo, tal qual o descrito na literatura. Nas primeiras reações realizadas, havia apenas a formação majoritária do produto do tipo A (composto **23**), sendo que a **Tabela 2** e os respectivos rendimentos nela apresentados se referem a este produto. Decidiu-se então avaliar a reação em outros solventes na presença de HCl em quantidades catalíticas (Entradas 2, 3 e 4), mantendo-se o material de partida e a temperatura. Após 24 horas, ao observar a formação de produtos, as reações foram encerradas e purificadas, sendo a reação realizada em H₂O a que apresentou o melhor rendimento, de 41% (Entrada 4).

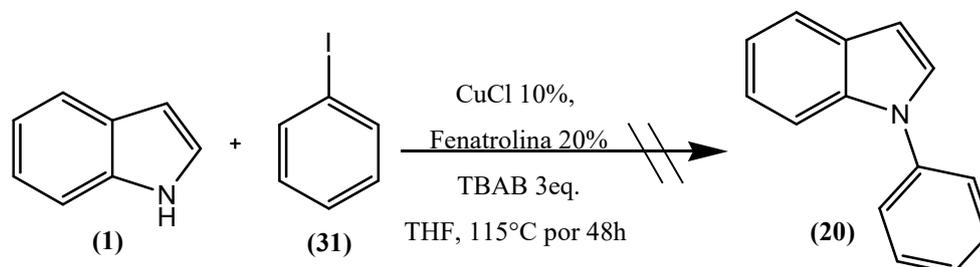
Nas entradas 5 e 6 foi utilizado o indol arilado sintetizado anteriormente, sendo que o critério para a escolha dos solventes levou em consideração a natureza de tal material de partida. Para a reação em acetonitrila manteve-se HCl como catalisador e, para as duas reações aumentou-se a temperatura em 20°C; além disso na reação em ácido acético a proporção de 1,4- naftoquinona foi de 5 equivalentes para 1 equivalente de indol. Foi possível observar formação de produto apenas para a reação em ácido acético, com um rendimento semelhante ao da entrada 4. No entanto, ao avaliar o espectro de RMN de ¹H, após uma prévia purificação, este sugeriu a formação do produto B. A análise deste espectro será apresentada mais à frente.

Para as entradas 7, 8 e 9 voltou-se a utilizar o indol metilado e observou-se o comportamento reacional alterando-se a temperatura. Quando a reação ocorreu em uma temperatura de 120°C houve formação de diversos produtos, sendo alguns desses provenientes da condensação dos próprios materiais de partida. Ao avaliar a reação em temperatura ambiente, voltou-se a obter um rendimento baixo (18%), o que motivou a realizar a reação a uma temperatura de 40°C, obtendo-se o melhor rendimento da **Tabela 2**, de 79% para o produto A.

Apenas após esse alto rendimento, foi possível obter o produto A e o produto B na mesma reação (**Esquema 3**).

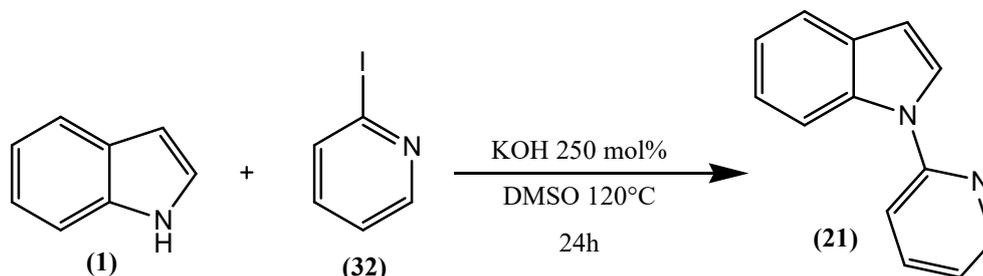
3.1.2 Síntese de Indóis *N*-substituídos.

A primeira metodologia testada utilizou como referência o trabalho de Tang e colaboradores (2008).



Esquema 4. Reação realizada adaptando-se metodologia de Tang e colaboradores (2008).

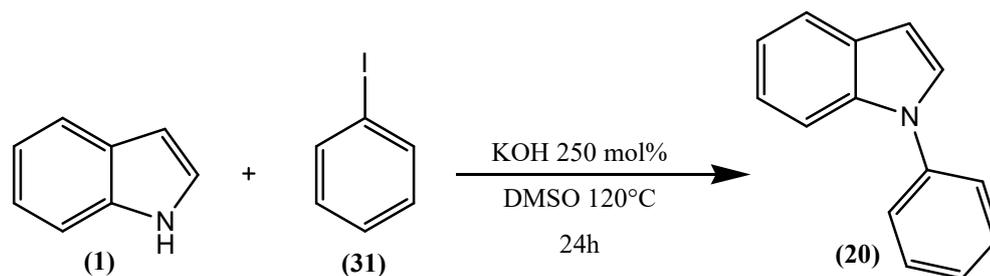
Após 48 horas não se observou formação de nenhum produto, sendo isolado após purificação apenas os materiais de partida. Outra metodologia foi então testada utilizando 2-iodopiridina (**17**). CANO e colaboradores (2010) utilizaram um brometo como reagente, como iodo seria um grupo de saída ainda melhor, utilizou-se o iodeto para uma reação teste.



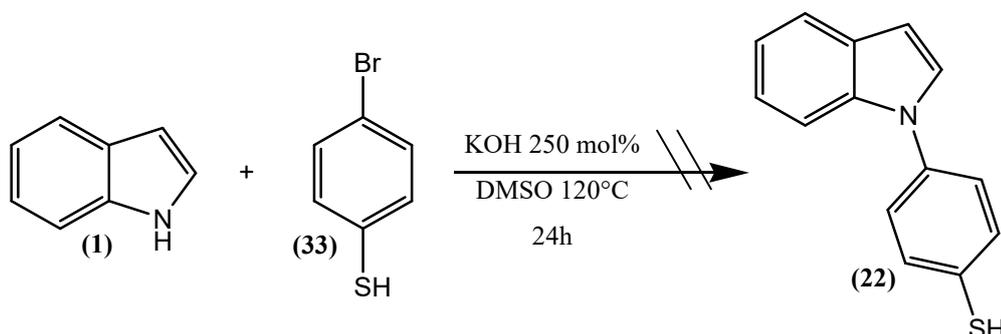
Esquema 5: Proposta de reação para obter o produto **21** com 2-iodopiridina.

A metodologia acima apresentou evidência de reação, o que foi observado via CCD, sendo muito interessante devido ao uso de reagentes simples e também por não utilizar catalisadores metálicos que geralmente possuem preço elevado.

Outras duas reações com iodeto e brometo foram iniciadas para testar a arilação do indol. Nessa etapa foi utilizado apenas 0,1 mmol dos reagentes para observar o comportamento reacional.



Esquema 6: Proposta de reação para obter o composto a partir de iodeto.



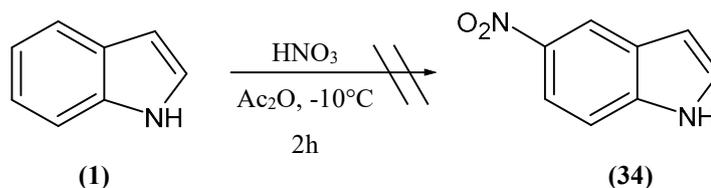
Esquema 7: Proposta de reação para obter o composto a partir de um brometo.

A primeira reação culminou no produto esperado, apresentando rendimento de 12%. Na reação com o tiol não houve formação de nenhum produto, e frente ao insucesso da última reação, foi repetida a síntese do **Esquema 6** que forneceu um rendimento considerável do indol arilado.

Perante a dificuldade em obter os indóis *N*-substituídos, foram separadas algumas metodologias visando preparar esses compostos com substituintes no anel aromático a fim de aumentar a variedade de produtos.

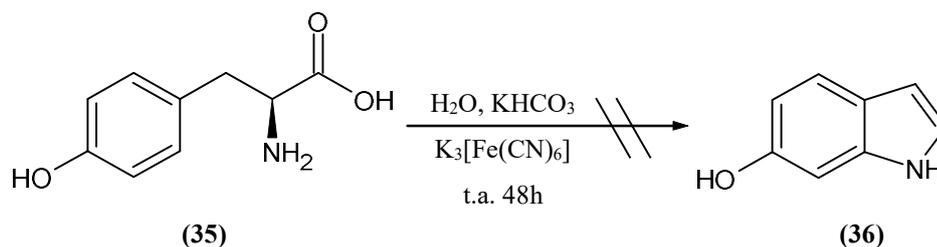
3.1.3 Síntese de Indóis com substituintes no anel aromático

Nessa etapa do projeto, a síntese de indóis com substituintes no anel aromático iniciou por uma tentativa de nitração na posição 5 do anel indólico seguindo a metodologia de Santos e colaboradores (2021). Após duas horas houve evidência de reação, porém com a formação de muitos produtos. A fase orgânica da reação foi extraída e purificada em coluna cromatográfica, sendo que vários produtos foram formados com baixíssimo rendimento. Devido à dificuldade de se obter e identificar o produto almejado, a reação foi descontinuada (SANTOS et al., 2021).



Esquema 8: Reação testada para obter o composto 34.

Outra metodologia testada foi a de Edge e colaboradores (2006) onde os autores obtiveram indóis a partir do aminoácido levodopa. Realizou-se então tal reação com as mesmas condições mudando apenas o material de partida, onde utilizamos o aminoácido tirosina.



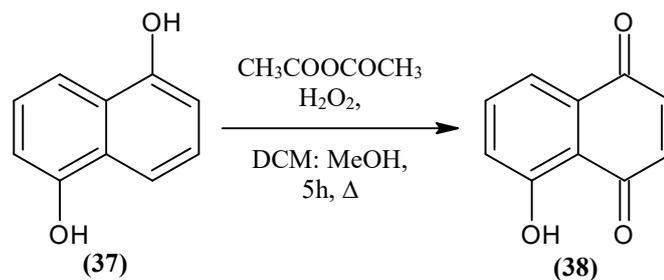
Esquema 9: Reação testada para obter o composto 36.

Após 3 horas de reação, conforme metodologia acima citada, realizou-se uma análise por CCD onde não foi possível observar formação de produtos. A reação então decorreu por mais 48h sob as mesmas condições. Após extração em solvente orgânico, o bruto obtido da reação apresentou apenas 2% de massa em relação aos materiais de partida, mostrando então que tal metodologia não foi viável utilizando tirosina como material de partida.

3.1.4 Síntese de naftoquinonas com substituintes no anel aromático

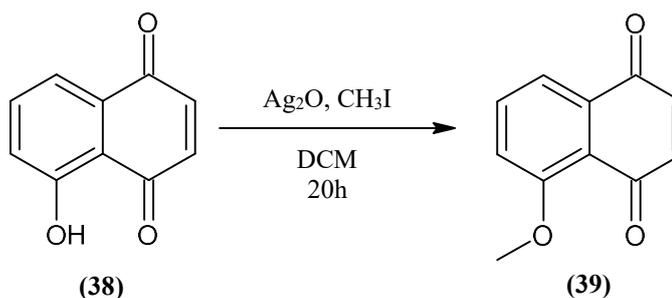
Nesta seção serão apresentados alguns testes de naftoquinonas sintetizadas durante esse mesmo curso de doutoramento. Como visto na seção 3.1, a reação entre o indol e 1,4 – naftoquinona resultou nos produtos A e B. Dessa forma, algumas naftoquinonas com determinados grupos substituintes no anel aromático podem ser utilizados para gerar derivados do tipo A ou B.

Um dos produtos que pode ser obtido para a síntese do produto A é a Juglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona). Esse produto pode ser obtido a partir da oxidação de 1,5-di-hidroxinaftaleno que ocorre na presença de peróxido de hidrogênio e anidrido acético, em uma solução de diclorometano e metanol, como mostrado no esquema abaixo (BAO et al., 2018).



Esquema 10: Reação de obtenção do composto **38**.

O produto acima foi obtido com um rendimento de 40% o que também permitiu o preparo da 5-metoxi-1,4-naftoquinona. Esse produto foi obtido por meio da alquilação da hidroxila na posição 5 com base na metodologia adaptada de Castro e colaboradores (2008), onde óxido de prata (I) e iodometano foram adicionados em uma solução de juglona e diclorometano (CASTRO et al., 2008). A reação resultou no produto esperado com um rendimento de 70%.



Esquema 11: Reação de obtenção do composto **39**.

Os compostos obtidos no **Esquema 10** e no **Esquema 11** podem ser bons materiais de partida na síntese de produtos do tipo A, com a adição de apenas uma naftoquinona ao indol, podendo gerar dois produtos como observado no **Esquema 12**. No entanto, para produtos do tipo B esse material de partida não seria interessante, pois seriam obtidos 4 isômeros o que traria grande dificuldade na purificação e baixo rendimento dos produtos obtidos. A obtenção de derivados do tipo B desse modo requer naftoquinonas simétricas para que sejam obtidos dois produtos majoritários do tipo A e do tipo B.

Pensando nessa proposta de naftoquinonas simétricas, uma possibilidade interessante seria a 6,7-dimetil-1,4-naftoquinona, também sintetizada anteriormente em outros projetos **Esquema 12**. Esse composto foi obtido por uma reação de Diels-Alder, seguindo trabalhos da literatura (DA SILVA JÚNIOR et al., 2020), reagindo benzoquinona com o dienófilo 2,3-dimetil-1,3-butadieno, utilizando ácido acético como solvente. Após a obtenção do

3.2 ANÁLISES ESPECTRAIS

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C estão em Apêndice A sendo a identificação e os cálculos dos deslocamentos químicos foram comparados aos descritos na literatura (PAVIA, KRIZ, ENGEL, 2015; EWING, 1979; SILVERSTEIN et al., 2014). Nesta seção serão discutidos os espectros apenas dos compostos **23**, **27** e **28**, sendo os espectros dos demais compostos apresentados na seção supracitada.

Serão apresentados ainda os espectros de massas de alta resolução para os compostos **23** e **27**, obtidos por modo de ionização por eletrospray (IES), realizado no Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas (LAPNEM).

3.2.1 Identificação do composto **23**

O produto **23** foi obtido na forma de um sólido de coloração roxa, com 79% de rendimento. No espectro de massas de alta resolução (**Figura 6**), observou-se o valor do íon de m/z 288,1020 $[\text{M}+\text{H}]^+$, compatível com a fórmula molecular calculada para $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{NO}_2^+ [\text{M} + \text{H}]^+ = 288,1019$. Além disso foi possível observar também a presença dos íons m/z 310,0840 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ e m/z 326,0582 $[\text{M}+\text{K}]^+$ referentes aos íons com sódio e potássio.

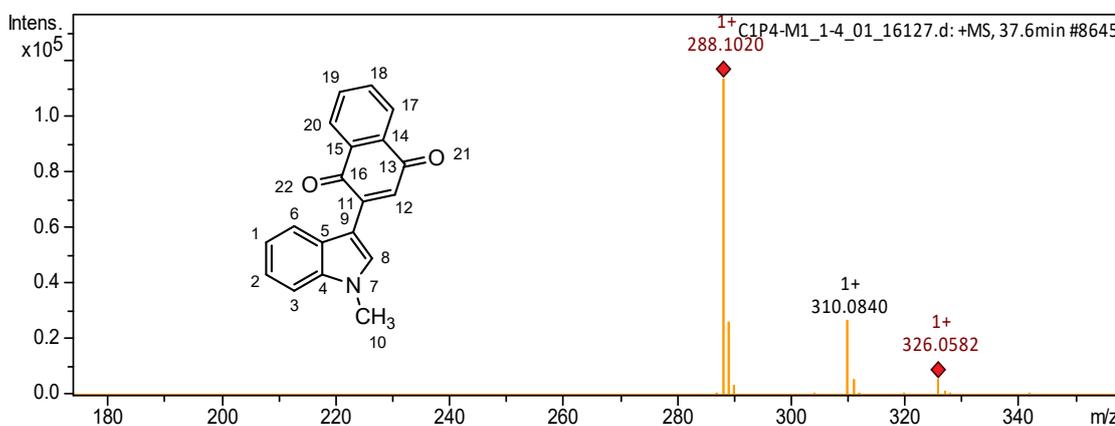


Figura 6: Espectro de massas de alta resolução com ionização por eletrospray (ESI) do composto **23**.

A análise no espectro de RMN de ^1H , apresentado na **Figura 7**, confirma a síntese do produto já descrito na literatura. O simpleto em δ 4,13 corresponde a metila ligada ao indol, resultante da reação de metilação do mesmo. Os sinais observados em δ 8,42 e 7,67 correspondem aos hidrogênios olefinicos da molécula, apresentam multiplicidade de simpleto e por isso destacam-se no que parecem ser apenas multipletos entre δ 8,42 e 7,54; sendo o

hidrogênio (8) em δ 7,67 referente ao anel pirrol e o hidrogênio (12) em δ 8,42 referente a naftoquinona. Este último simpleto (12) aparece mais desblindado que o outro por estar em posição α a uma carbonila. As integrações nessa região também confirmam a quantidade de hidrogênios esperados para a estrutura.

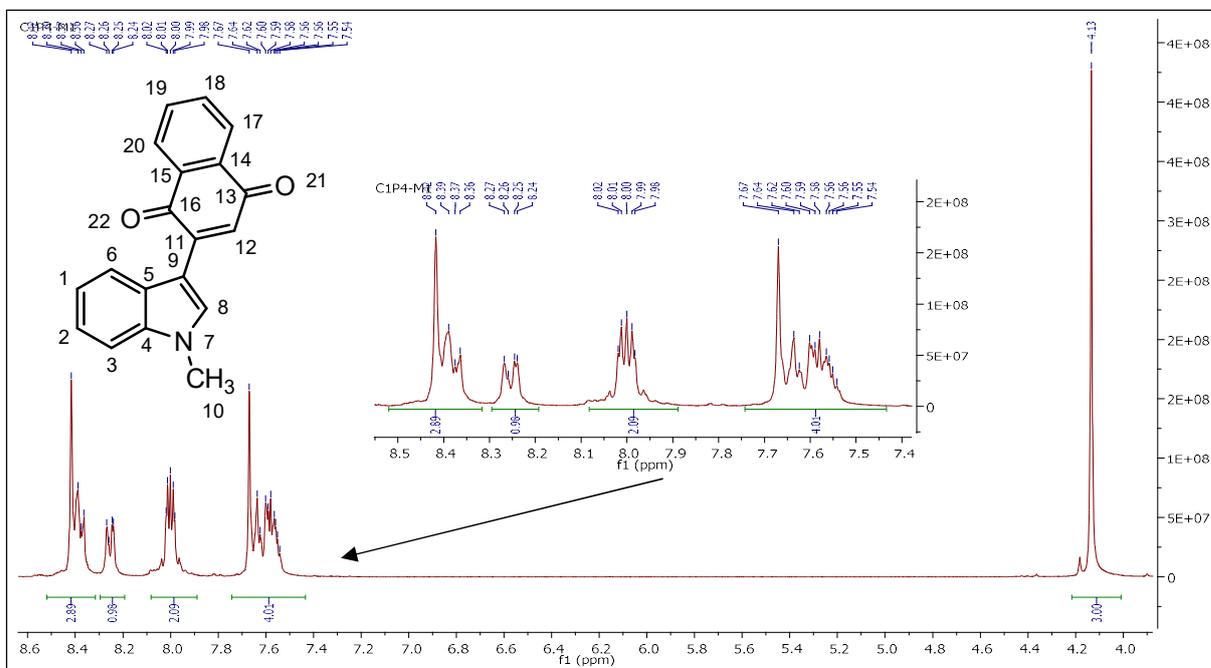


Figura 7: Ampliação do espectro de RMN de ^1H para o composto **23** (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C , apresentado na **Figura 8**, são observados todos os sinais esperados para o produto **23**. O sinal do carbono metílico aparece em δ 33,4 como esperado e os dois carbonos carbonílicos aparecem mais desblindados em δ 185,7 e δ 185,1.

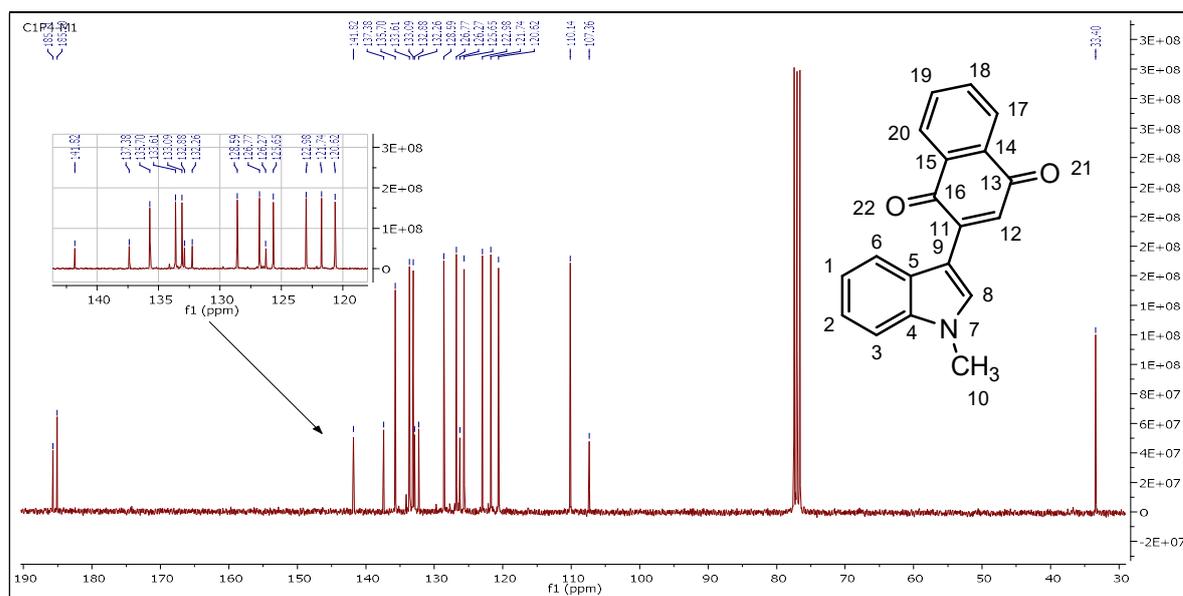


Figura 8: Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C para o composto **23** (CDCl_3 , 75 MHz).

3.2.2 Identificação do composto 27

O produto **27** foi obtido na forma de um sólido vermelho, com 10% de rendimento. No espectro de massas de alta resolução, observou-se um íon de m/z 442,1069⁺ [M+H]⁺, compatível com a fórmula molecular C₂₉H₁₅NO₄⁺ [M + H]⁺ = 442,1079. 464,0899

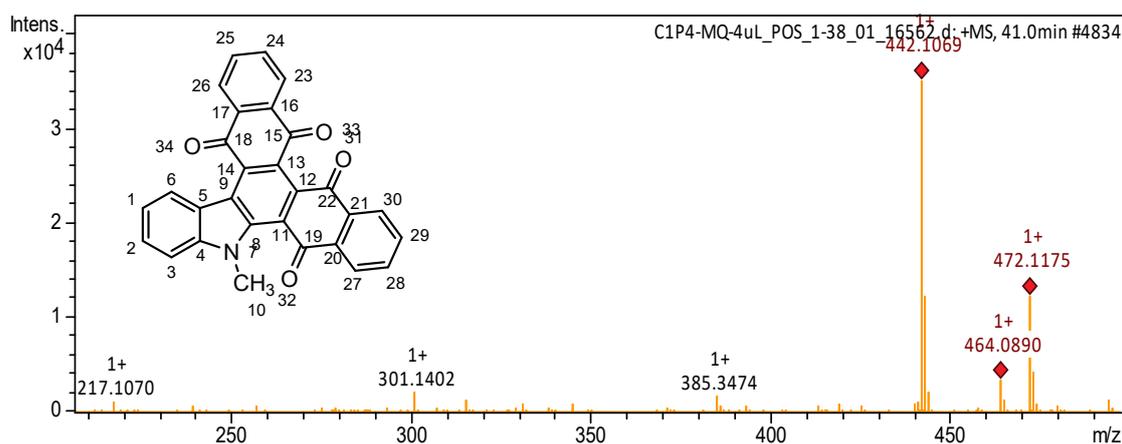


Figura 9: Espectro de massas de alta resolução com ionização por eletrospray (ESI) do composto **27**.

O composto **27** apresentou grandes desafios quanto a sua solubilidade nos solventes comumente utilizados para realização de RMN como clorofórmio deuterado (CDCl₃) ou dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆). O espectro de RMN de ¹H apresentado na **Figura 10** demonstra essa dificuldade por parecer ser obtido de uma solução diluída do composto, e devido a essa dificuldade não foi possível obter o espectro de ¹³C para essa molécula. Já para o espectro de RMN de ¹H é possível observar em δ 3,95 um simpleto com integral para três hidrogênios, referentes aos hidrogênios metílicos. Em δ 7,82 / 7,42 e δ 8,33 / 8,18 são observados sinais referentes aos hidrogênios aromáticos que variam entre dupletos e tripletos, sendo nessa região a integração referente a onze hidrogênios. Em δ 9,33 é observado um sinal com multiplicidade de duplete com $J=9$ Hz, com integração para um hidrogênio; esse sinal possivelmente é do hidrogênio ligado ao carbono C-6 que aparece mais desblindado que os demais devido à proximidade com a carbonila de C-18.

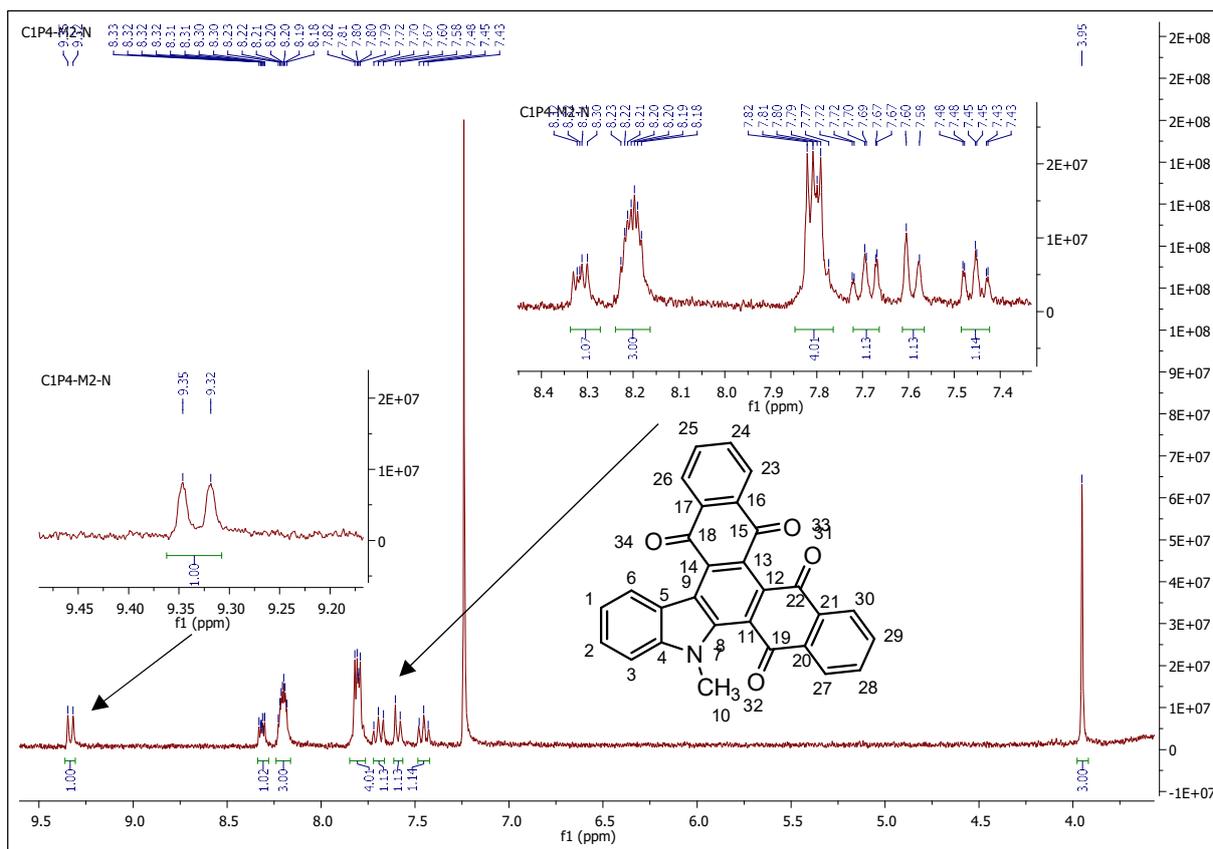


Figura 10: Ampliação do espectro de RMN de ^1H para o composto **27** (CDCl_3 , 300 MHz).

3.2.3 Identificação do composto **28**

O produto **28** foi obtido na forma de um sólido laranja, com 40% de rendimento. A reação de obtenção desse produto foi realizada durante o período de intercâmbio no Departamento de Química da UFMG, sendo que nesse período foi possível apenas obter o espectro de RMN de ^1H desse composto, que será analisado a seguir. Devido a quantidade de hidrogênios aromáticos esperados para o composto **28** (17 hidrogênios), sendo todos estes aromáticos, já era esperada uma sobreposição de alguns sinais, isso pode ser visto entre δ 7,62 / 7,40. O espectro de RMN de ^1H obtido (Figura 11), quando comparado ao do composto **27**, pode sugerir um padrão para os produtos do tipo B: Um duplete mais desblindado com δ acima de 9,20 ppm com integral para um hidrogênio. Essa desblindagem ocorre devido ao efeito anisotrópico ocasionado pela carbonila (34).

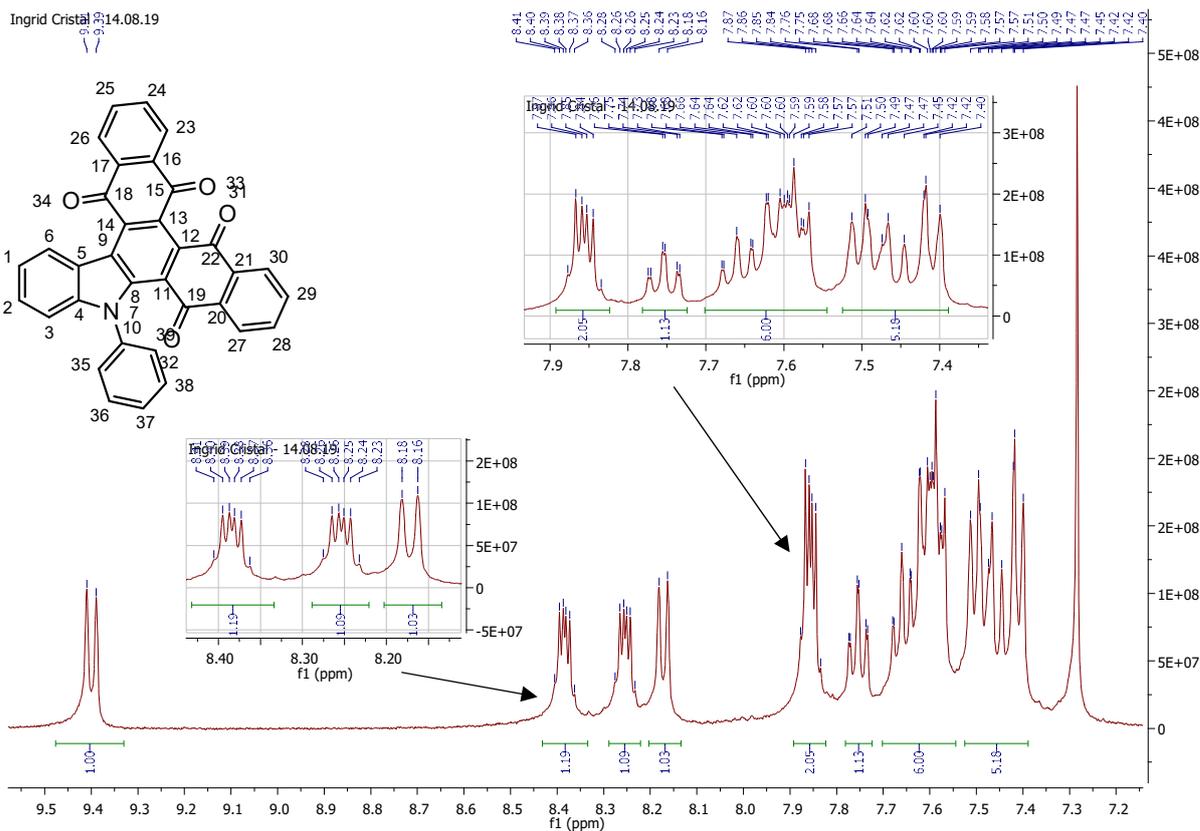


Figura 11: Ampliação do espectro de RMN de ^1H para o composto **28** (CDCl_3 , 200 MHz).

Como pode ser visto no **Apêndice A**, o RMN desse produto apresentou algumas impurezas, e assim como o composto **27** também não foi possível obter espectro de RMN de ^{13}C devido aos problemas de solubilidade dessa substância. Desse modo a reação de síntese poderá ser repetida futuramente por outros pesquisadores, com a metodologia otimizada a fim de obter os compostos arilados e realizar análises espectrais de massas de alta resolução, RMN de ^1H e ^{13}C , e outras técnicas que possam de fato confirmar a síntese do composto **28**.

3.3. ENSAIOS BIOLÓGICOS E DE LUMINESCÊNCIA

3.3.1 Avaliação de Propriedades Luminescentes

Para avaliar propriedades ópticas dos compostos **23** e **27**, os espectros de absorção da radiação ultravioleta e visível (UV/Vis) desses compostos foi realizado, e encontram-se ilustrados na **Figura 12** e **13**, respectivamente. Em moléculas orgânicas, as transições eletrônicas geralmente ocorrem entre orbitais ligantes e não ligantes para orbitais antiligantes desocupados, onde a excitação eletrônica resulta em um aumento acentuado no coeficiente de absorção dos comprimentos de onda ressonantes (JAYAKRISHNAN et al., 2016).

Para o composto **23** foram observados dois picos de absorção, um em 290 nm ($\lambda_{\text{máx}}$) e outro em 504 nm. O pico em 290 nm (região do ultravioleta) é originado por transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ devido a conjugação entre pares de elétrons de orbitais atômicos não ligantes contendo pares de elétrons não compartilhados e orbitais π anti-ligantes no sistema indol-naftoquinona (JAYAKRISHNAN et al., 2016 RAMESAN, 2013). Já o pico em 504 nm absorve na região do visível (cor da luz absorvida: verde-amarelado, cor da luz observada: violeta-avermelhado), sendo originado por transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, uma vez que existe alta conjugação entre os elétrons π das duplas ligações de ambos sistemas (PAVIA, 2015; KHAN et al., 2005; SATOH et al., 2007).

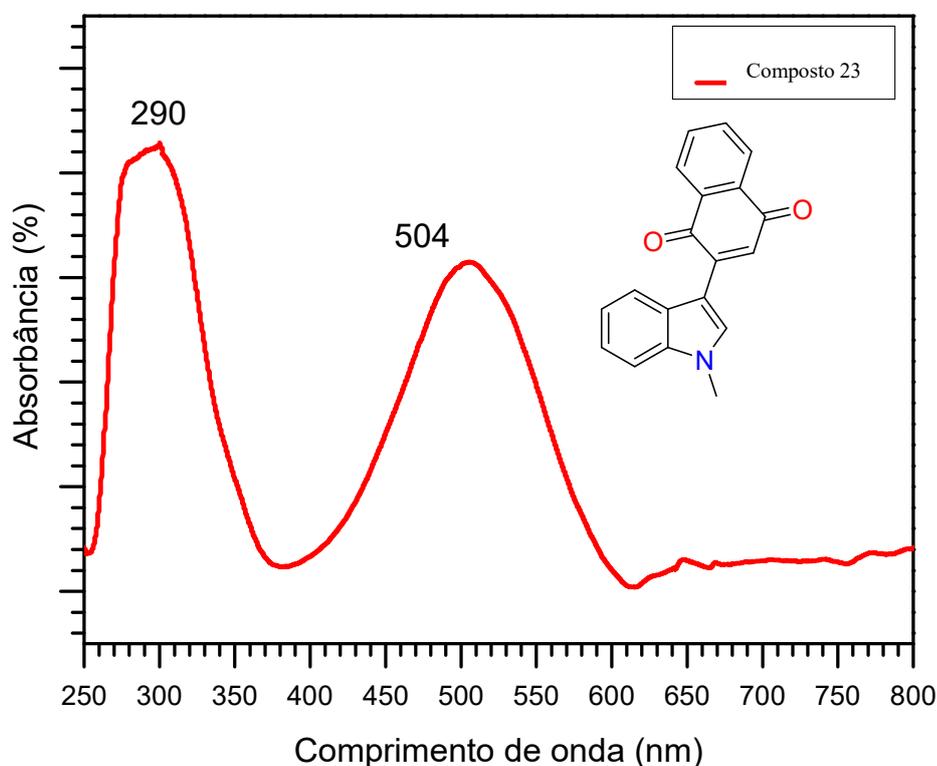


Figura 12: Espectro de absorção na região do UV/Vis do composto **23** (C1P4M1). Solvente: DMSO; concentração da solução: $2,12 \times 10^{-6}$ mol/L (concentração estimada baseado no PM: 287,31Da); cubeta de quartzo de diâmetro 1cm.

Para o composto **27** foram observados quatro picos de absorção de maior intensidade (**Figura 13**). Esse aumento no quantitativo de picos em relação a **23** (**Figura 12**), pode ser um indicio da conjugação eletrônica melhorada, e isso, por sua vez, contribuiu para aumentar a deslocalização de elétrons ao longo do sistema conjugado dos elétrons na molécula (JAYAKRISHNAN et al., 2016). Sendo dois picos na região do ultravioleta, um em 275 nm

($\lambda_{\text{máx}}$) e outro em 311 nm, originados por prováveis transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ devido ao aumento da deslocalização de elétrons não ligantes ao longo das ligações π com a adição de mais um sistema 1,4-naftoquina à molécula (JAYAKRISHNAN et al., 2016; LV et al., 2017). Um dos outros dois picos, está no início da região do visível 385 nm (cor da luz absorvida: violeta; cor da luz observada: amarela) e outro em 490 nm (cor da luz absorvida: verde-azulada, cor da luz observada: vermelha), onde o aparecimento desses dois picos é atribuído às transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, e a planaridade da molécula contribui para aumentar a deslocalização dos elétrons através do sistema π (PAVIA, 2015; LV et al., 2017).

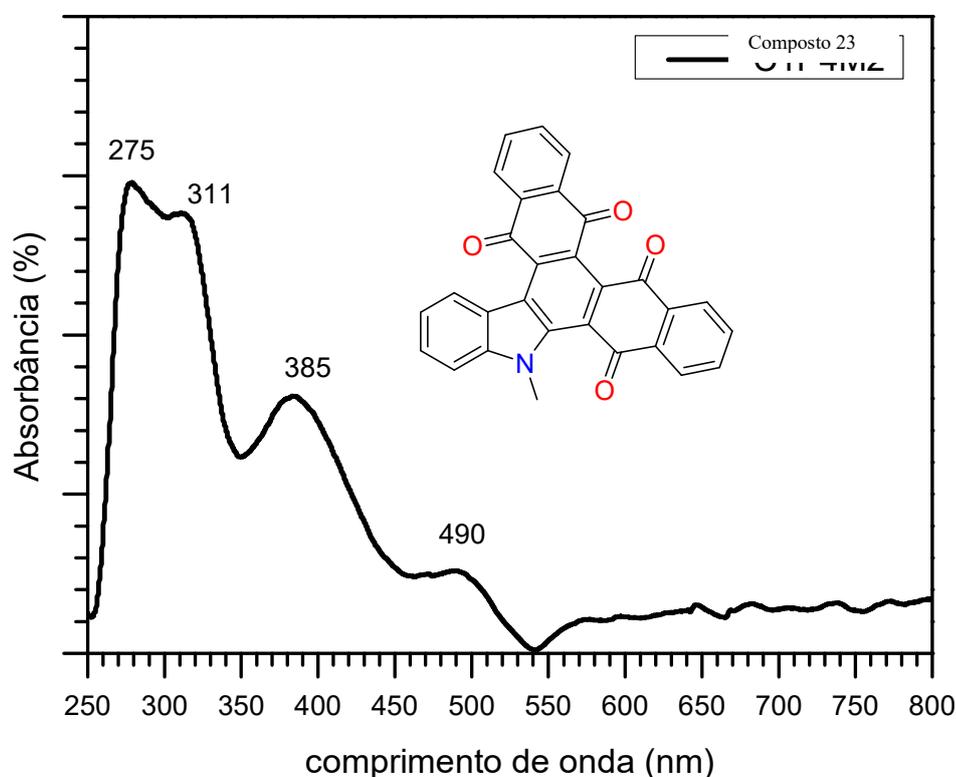


Figura 13: Espectro de absorção na região do UV/Vis do composto 27. Solvente: DMSO; concentração da solução: $1,3 \times 10^{-6}$ mol/L (concentração estimada baseado no PM: 441,43 Da); cubeta de quartzo de diâmetro 1 cm.

Os espectros de excitação e emissão de moléculas fluorescentes são distintos, uma vez que a energia do fóton de emissão fluorescente é menor do que a energia do fóton de excitação, devido às possíveis perdas de energia nas transições dos estados vibracionais do estado eletrônico excitado (PAVONI et al., 2014). Esses espectros são caracterizados pela diferença entre o comprimento de onda de excitação (λ_{ex}) e o comprimento de onda de emissão (λ_{em}), onde

a diferença entre os dois é chamada de deslocamento de Stokes ($\Delta\nu_{st}$) (PENG et al., 2005; SEDNEV et al., 2015; PAVONI et al., 2014).

O deslocamento de Stokes é fundamental para a detecção da fluorescência, sendo utilizada em diversos estudos na área da física, química e principalmente em aplicações biológicas, no estudo de células vivas, tecidos, organelas ou mesmo organismos inteiros (PAVONI et al., 2014; SEDNEV et al., 2015). Moléculas com grandes deslocamentos de Stokes tem fluorescência facilmente detectável, enquanto que a fluorescência de moléculas com pequenos deslocamentos de Stokes é de difícil detecção, pois um pequeno desvio de Stokes pode causar auto-extinção, diminuindo a sensibilidade de detecção no experimento (PENG et al., 2005; PAVONI et al., 2014).

Na **Figura 14** são mostrados os espectros de excitação (**Figura 14 A**) e emissão (**Figura 14 B**) dos compostos **23** e **27** (100 μ M em DMSO). Como podemos observar os dois compostos foram excitados no λ_{ex} = 350 nm e emitiram fluorescência em λ_{em} = 700 nm, gerando um $\Delta\nu_{st}$ = 350 nm, considerado um grande deslocamento. Contudo, observamos uma pequena diferença na intensidade relativa de fluorescência (RFU) no espectro de excitação, sendo maior para **27** e no espectro de emissão **23** possui um grande valor de RFU, o que pode resultar em uma melhor sensibilidade de detecção da fluorescência de **23**.

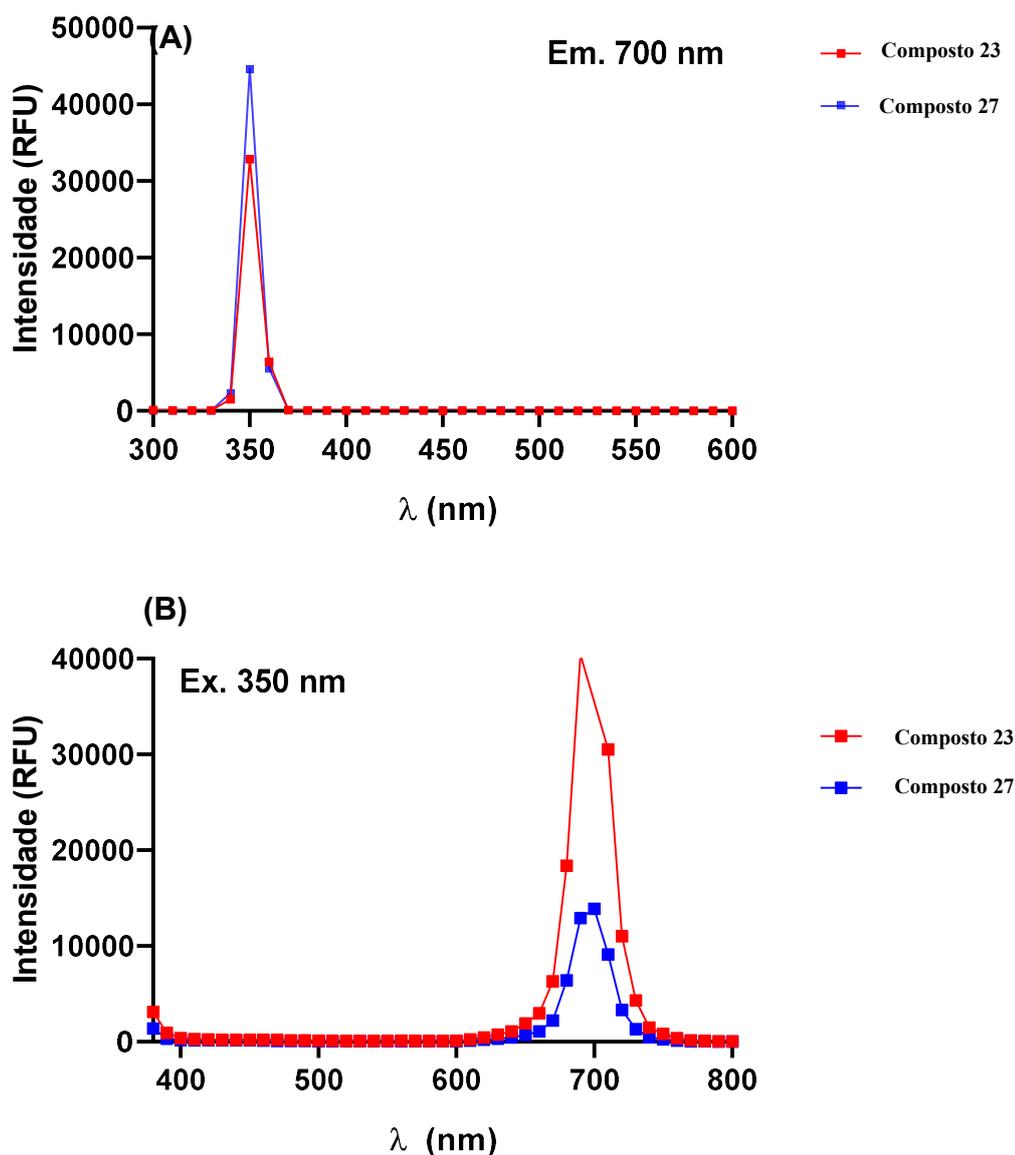


Figura 14: (A) Espectro de excitação dos compostos **23** e **27** (100 μ M em DMSO); (B) Espectro de emissão dos compostos **23** e **27** (100 μ M em DMSO).

Em geral, moléculas fluorescentes ideais seguem alguns padrões estruturais, como: devem ser neutras (ou zwitteriônicas com uma distância de separação de carga curta e uma carga líquida zero); possuir uma estrutura compacta; massa molecular limitada ($MM < 800$ Da); polaridade média (vários heteroátomos como doadores de ligações de hidrogênio e aceitantes) para que permita a permeabilidade em membranas celulares (SEDNEV et al., 2015).

Para facilitar a visualização da distribuição eletrônica nas estruturas moleculares dos compostos **23** e **27**, foi utilizado como modelo computacional a ferramenta Molview (SMITH, 1995). O Molview utiliza a variante JavaScript do Jmol (JSmol) para suas medições e também permite gerar uma superfície de Potencial Eletrostático Molecular (MEP) (HANSON et al.,

2013; QURESH et al., 2021). Os mapas eletrostáticos moleculares permitem visualizar a densidade eletrônica dentro da molécula e descobrir a região de alta e baixa densidade eletrônica (QURESH et al., 2021).

As estruturas moleculares em 3D dos compostos **23** e **27** são mostradas nas **Figuras 15** e **16**, onde em **(A)** é representada a estrutura no modelo bola e bastão otimizada usando a função de minimização de energia MMFF94, processada pelo mecanismo de renderização JMOL. E em **(B)** está a visualização da superfície do Potencial Eletrostático Molecular (MEP).

No composto **23** os anéis indol e 1,4-naftoquinona são planares, porém estão perpendiculares um ao outro (**Figura 15A**), possivelmente pela repulsão eletrônica existente entre os átomos de oxigênio e o sistema π do anel indólico (**Figura 15B**). E tal fato, parece não interferir na conjugação eletrônica entre os dois sistemas, pois foi possível observar as propriedades fluorescentes da molécula (**Figura 14**). Uma vez que estruturas de conformação não-planar no estado fundamental (S_0), podem emitir fluorescência desde que a energia de excitação seja suficiente para produzir uma conformação relativamente planar no estado excitado (S_1) (NIJEGORODOV e DOWNEY, 1994).

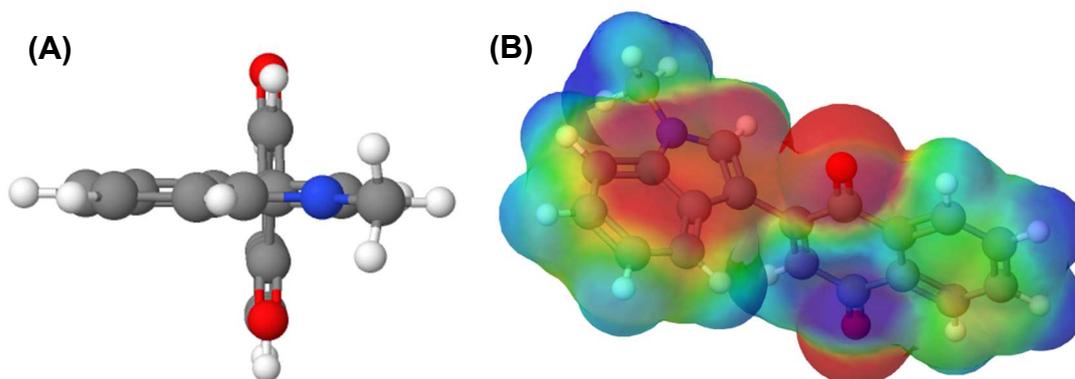


Figura 15: Estrutura molecular em 3D (A) com a visualização da superfície do Potencial Eletrostático Molecular (MEP) (B) do composto **23** gerada no programa Molview.

No composto **27** o modelo molecular gerado pelo Molview apresentou uma estrutura basicamente planar (**Figura 16A**), com exceção das carbonilas que ficaram deslocadas do plano, possivelmente pelas repulsões eletrônicas e o impedimento estérico ocasionada pelo grupo metila (**Figura 16B**). Apesar do modelo molecular gerado ser uma estrutura planar, o composto **27** teve a sua intensidade de emissão de fluorescência menor do que o composto **23** (não-planar) (**Figura 14B**).

Das características de absorção e fluorescência das moléculas não planares para as moléculas mais planas e rígidas, existe uma diminuição no valor da constante de taxa de cruzamento intersistema (K_{st} ou K_{ISC}), constante não calculada para as estruturas **23** e **27**, porém

sabe-se que estas constantes expressam a transição de fótons do estado excitado singlete (S_1) para o estado excitado tripleto (T_1), podendo explicar decréscimos de interações do tipo σ - π dentro de uma molécula planar (NIJEGORODOV e DOWNEY, 1994).

Ainda, segundo os estudos de Nijegorodov e Downey (1994) um corante fluorescente ideal deve ser não planar e de baixa simetria no estado fundamental S_0 e deve se tornar cada vez mais plana e rígida e de maior simetria no estado excitado S_1 .

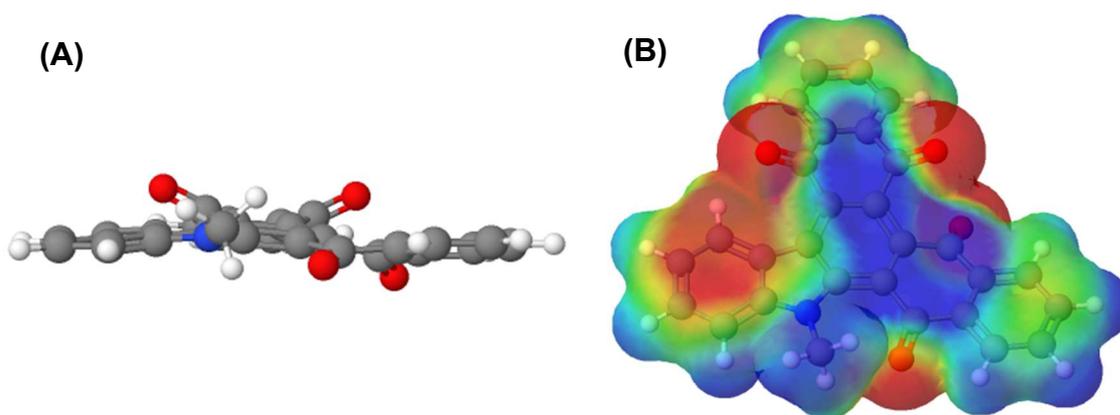


Figura 16: Estrutura molecular em 3D (A) com a visualização da superfície do Potencial Eletrostático Molecular (MEP) (B) do composto **27** gerada no programa Molview.

Para calcular algumas propriedades físico-químicas dos compostos **23** e **27**, optou-se por utilizar a ferramenta da web SwissADME que permite prever propriedades importantes relacionadas a farmacocinética, biodisponibilidade entre outras para aplicação na Química Medicinal (DAINA et al., 2017). Apesar de ser uma ferramenta utilizada para aplicação na Química Medicinal, optamos em utilizá-la para prever algumas propriedades dos compostos citados, devido a rapidez na geração dos dados e a gratuidade da ferramenta.

A **Tabela 3** mostra os parâmetros moleculares que foram gerados através da plataforma online SwissADME. Onde, uma das grandes diferenças entre as duas moléculas, **23** e **27** é a área de superfície polar topológica (TPSA), sendo de 49,93 e 84,07 Å², respectivamente. O que representa uma maior densidade de cargas eletrônicas para **27**, uma vez que contém um anel naftoquinona a mais que **23** e que aumenta a conjugação entre os elétrons π . Outra propriedade interessante, é a lipofilicidade dessas moléculas que são elevadas, sendo maior para **27**, assim como esta molécula também é prevista em ser mais insolúvel em água que **23**.

Tabela 3. Parâmetros moleculares gerados pela plataforma online SwissADME

Propriedades físico-químicas		
Compostos	23	27
Fórmula molecular	C ₁₈ H ₁₁ NO ₂	C ₂₈ H ₁₃ NO ₄
Massa molecular	273,29 g/mol	427,41 g/mol
Nº. átomos pesados	21	33
Nº. átomos arom. pesados	15	29
FraçãoCsp ³	0,00	0,00
Nº. ligações rotativas	1	0
Nº. aceptores de lig. H	2	4
Nº. doadores de lig. H	1	1
Refratividade Molar	81,38	133,28
TPSA (área sup. polar topológica)	49,93 Å ²	84,07 Å ²
Lipofilicidade		
Log P _{o/w} (iLOGP)	1,85	2,50
Log P _{o/w} (XLOGP3)	3,21	5,28
Log P _{o/w} (WLOGP)	3,63	4,25
Log P _{o/w} (MLOGP)	2,02	2,04
Log P _{o/w} (SILICOS-IT)	4,38	7,19
Média Log P _{o/w}	3,02	4,25
Solubilidade em água		
Log S (ESOL)	-4,02	-6,47
Solubilidade	2,61e ⁻⁰² mg/ml; 9,57e ⁻⁰⁵ mol/l	1,46e ⁻⁰⁴ mg/ml; 3,41e ⁻⁰⁷ mol/l
Classe	Moderamente solúvel	Pouco solúvel
Log S (Ali)	-3,93	-6,80
Solubilidade	3,21e ⁻⁰² mg/ml; 1,17e ⁻⁰⁴ mol/l	6,84e ⁻⁰⁵ mg/ml; 1,60e ⁻⁰⁷ mol/l
Classe	Solúvel	Pouco solúvel
Log S (SILICOS-IT)	-6,44	-11,17
Solubilidade	9,99e ⁻⁰⁵ mg/ml; 3,66e ⁻⁰⁷ mol/l	2,86e ⁻⁰⁹ mg/ml; 6,70e ⁻¹² mol/l
Classe	Pouco solúvel	Insolúvel

Na **Figura 17** são mostrados os radares de biodisponibilidade dos compostos **23 (A)** e **27 (B)**. A área rosa representa a faixa ideal para cada propriedade (lipofilicidade: XLOGP3 entre -0,7 e +5,0, tamanho: MM entre 150 e 500 g/mol, polaridade: TPSA entre 20 e 130 Å², solubilidade: log *S* não superior a 6, saturação: fração de carbonos na hibridização *sp*³ não inferior a 0,25 e flexibilidade: não superior a 9 ligações rotativas) (DAINA et al., 2017).

Observando os radares, podemos verificar que ambas moléculas não possuem o número ideal de insaturações, porém essa é uma propriedade importante para candidatos à fluoróforos (NIJEGORODOV e DOWNEY, 1994). Ambas também possuem baixa flexibilidade, sendo que para **27** (Figure 17B) é menor quando comparada a **23** (Figure 17A).

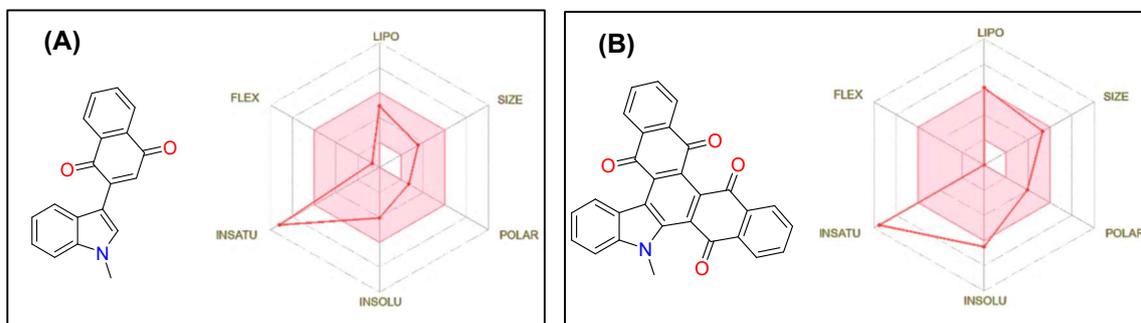


Figura 17: Radar de biodisponibilidade das moléculas **23** (A) e **27** (B).

3.3.2 Ensaio Biológico

Um ensaio de viabilidade de linhagens de células cancerosas tratadas com o composto **23** e o composto **27**, foi realizado para avaliar a citotoxicidade desses compostos. Entre as linhagens celulares testadas estão Kasumi-1, C1498 e Jurkat. Até a concentração máxima testada (100 μM), os compostos não apresentaram citotoxicidade (Figura 18 e 19).

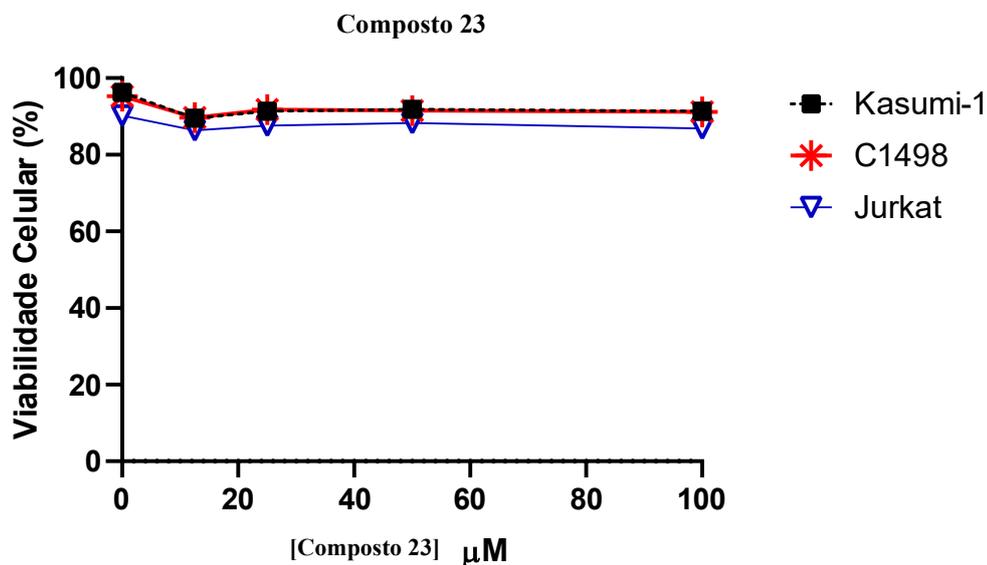


Figura 18: Viabilidade das linhagens de células leucêmicas tratadas com **23**: Kasumi-1 LMA (humana – leucemia mieloide aguda); C1498 (murina – leucemia mielóide murina); Jurkat (humana – linfoblastos de células T) tratadas com o composto **23**.

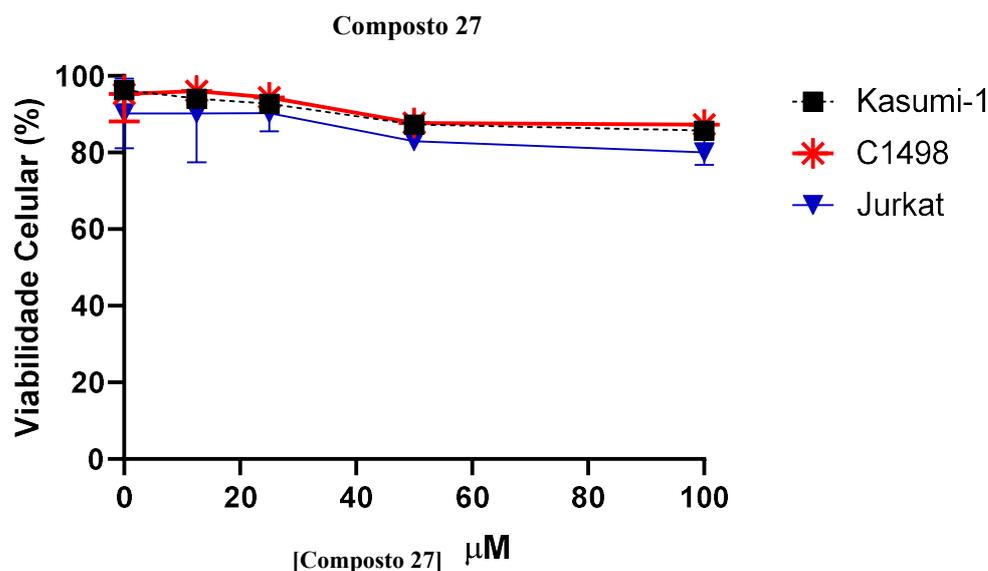


Figura 19: Viabilidade das linhagens de células leucêmicas tratados com 27: Kasumi-1 LMA (humana – leucemia mieloide aguda); C1498 (murina – leucemia mielóide murina); Jurkat (humana – linfoblastos de células T).

Com a análise por citometria de fluxo das células leucêmicas Kasumi-1 tratadas com os compostos 23 e 27 (Figura 20), foi possível observar a presença dos compostos no interior da célula, indicando que houve o transporte através da membrana celular em células vivas. Nos três primeiros canais (FL-1, FL-2 e FL-3) houve uma maior emissão de fluorescência e em FL-4 pouca emissão para ambos os compostos.

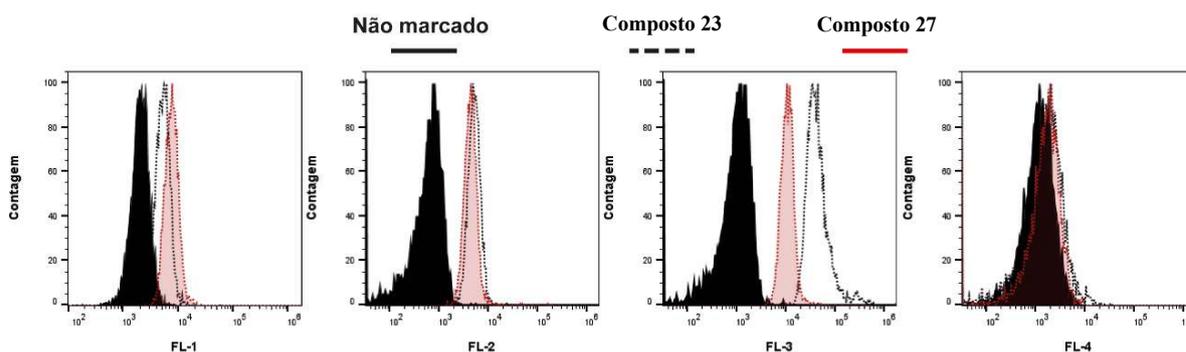


Figura 20: Histogramas de intensidade de fluorescência de citometria de fluxo realizados com a linhagem celular de leucemia humana Kasumi-1; picos na cor preta correspondem a fluorescência das células não tratadas; picos com contorno tracejado na cor preta indicam a fluorescência de células tratadas com o composto 23; picos na cor vermelha indicam a fluorescência de células tratadas com o composto 27. Canal FL-1 (excitação: 488 nm; emissão: 533 \pm 30 nm). Canal FL-2 (excitação: 488 nm; emissão: 585 \pm 20 nm). Canal FL-3 (excitação: 488 nm; emissão: 670 nm). Canal FL-4 (excitação: 633 nm; emissão: 675 \pm 12,5 nm).

De Moliner et al. (2018) preparam derivados fenazínicos da nor- β -lapachona para extensão da conjugação de elétrons π com a intenção de formar novas sondas fluorogênicas

celulares. Um dos derivados sintetizados (P1, **Figura 21**) se mostrou um marcador para gotículas de lipídios intracelulares em experimento com células vivas na presença do rastreador lipofílico Nile Red (DE MOLINER et al., 2018).

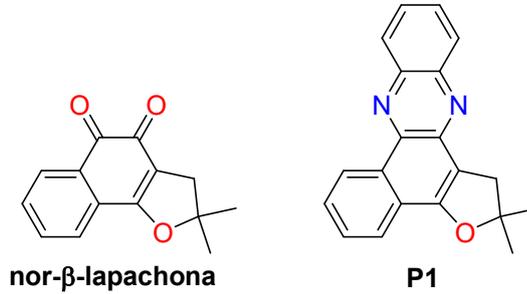


Figura 21: Estruturas químicas da nor-β-lapachona e de seu derivado fenazínico P1.

Conforme mostrado na **Figura 22**, as células U-2 OS foram incubadas com o composto **23** e **27** (vermelho) e calcein (verde) como contra coloração nuclear. Notavelmente, tanto o composto **23** e **27** foram encontrados no citoplasma, como apontado pelas setas na **Figura 22**. A sobreposição de ambos os canais confirmou a localização intracelular dos compostos. Aparentemente, **23** parece ter maior capacidade de aderir ao meio intracelular do que **27**, porém mais estudos sobre a localização exata da aderência (organela) poderá dizer se ambos possuem o mesmo tipo de interação. Contudo, esses resultados validam a possível utilidade dos compostos **23** e **27** como fluoróforos permeáveis às células em análises *in vitro*.

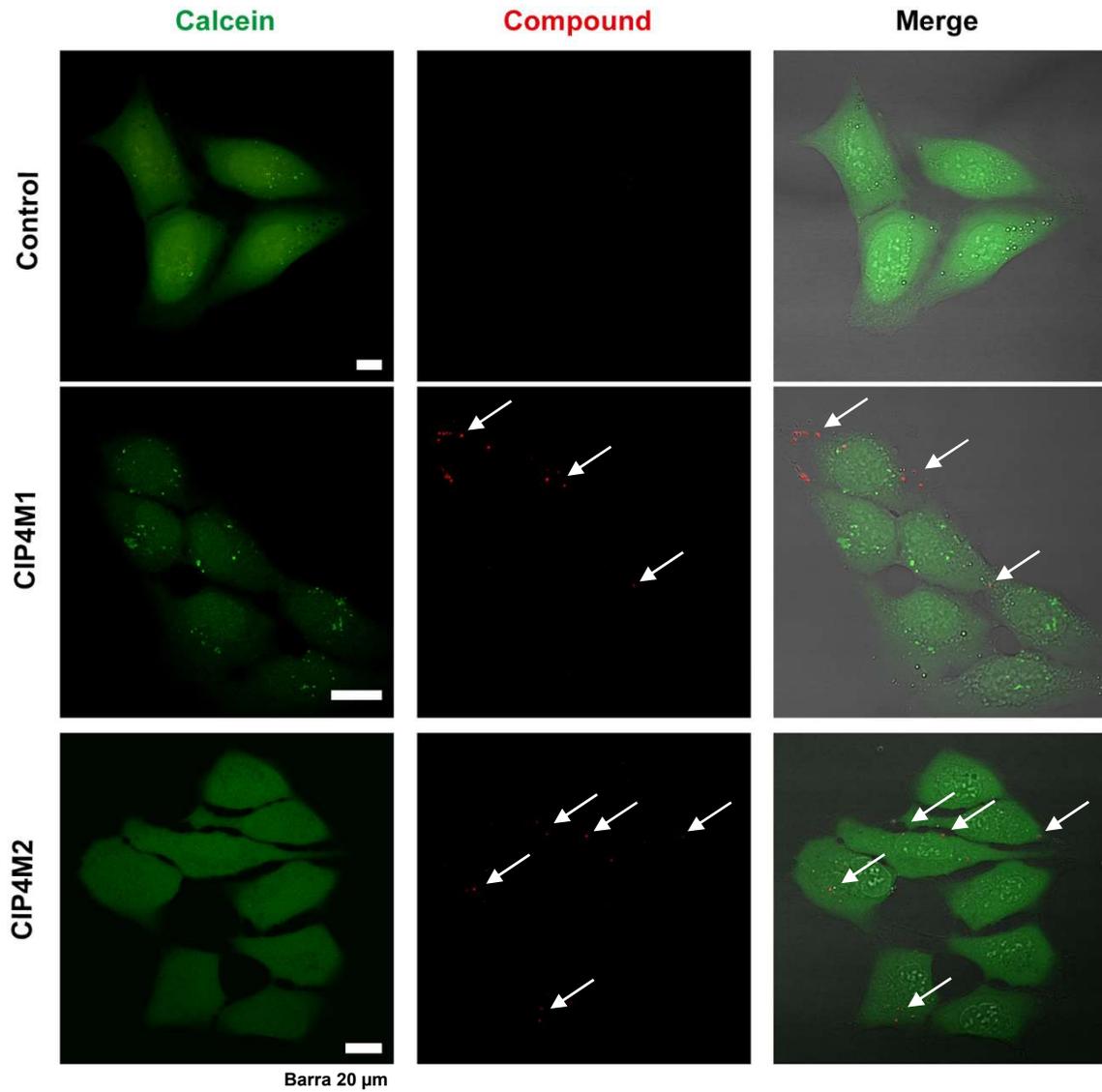


Figura 22: Imagens de microscopia de fluorescência de alta ampliação de células U-2 OS (sarcoma humano) incubadas com calcein (μM , verde), os compostos **23** (C1P4M1) e **27** (C1P4M2) (μM , vermelho). As imagens sobrepostas indicam a co-localização dos compostos no meio intracelular, conforme mostrado pelos sinais vermelhos pontuados (setas brancas). Barra de escala: 20 μm .

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Material e métodos

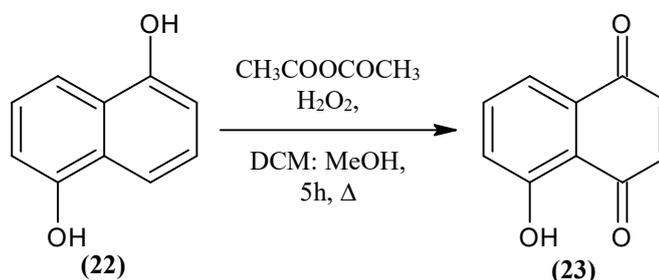
As análises cromatográficas em camada delgada (ccd) foram realizadas utilizando-se cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60 e para a visualização dos componentes nas análises em ccd utilizou-se lâmpada ultravioleta (254 nm).

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em modo de inserção direta. A análise foi realizada em um espectrômetro de massas ESI-qTOF microTOF-Q III (BrukerDaltonics) no Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas (CCBS-UFMS) operado em modo positivo (120-1200 Da).

As purificações dos produtos foram realizadas por cromatografia em placa preparativa de sílica gel 60 F254 (0,063-0,2 mm). Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetros Bruker, operando em 200 e 300 MHz respectivamente, que se encontram no Departamento de Química da UFMS e da UFMG. As amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado (CDCl_3), empregando-se tetrametilsilano na quantidade de 0,01% (TMS) como padrão interno. O número de hidrogênios foi verificado através da integral relativa e a constante de acoplamento (J) expressa em Hertz (Hz). Os espectros foram tratados no software MestReNova, versão 9.0 e as estruturas químicas ilustradas através do software ACD/ChemSketch Freeware.

4.2. Procedimentos experimentais

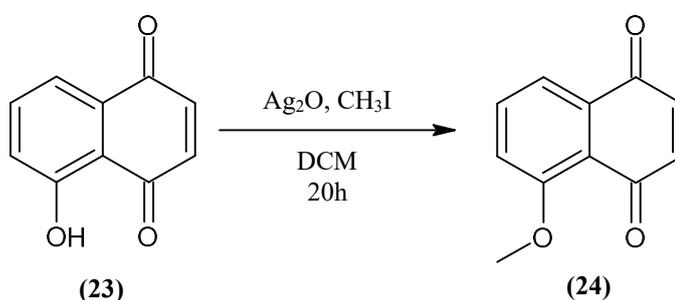
4.2.1. Preparação de naftoquinonas com substituintes no anel A



Em um balão de duas bocas e fundo redondo (50 mL) sobre um banho de água fria, contendo peróxido de hidrogênio 35% (5,8 mL, 66,6 mmol), foi adicionado anidrido acético (4,2 mL, 40,0 mmol) gota a gota. A mistura foi agitada a 40°C durante cerca de 4 h. Em seguida, dissolveu-se 1,5-di-hidroxi-naftaleno (720 mg, 4,5 mmol) em 10 mL de DCM: MeOH (1: 1 v / v) e essa mistura foi adicionada lentamente gota a gota à solução reacional. Após agitação a

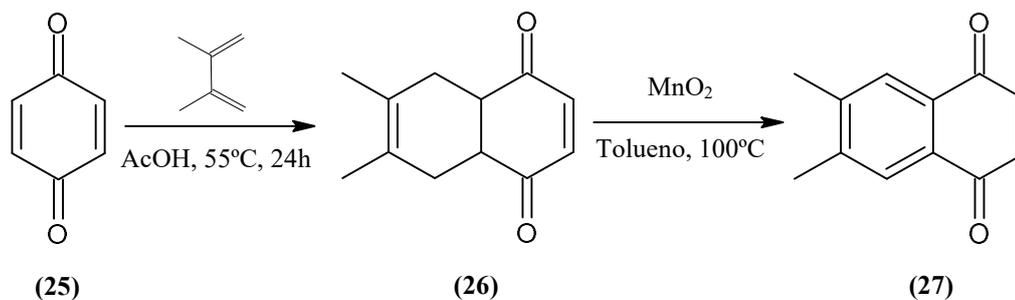
60°C por 1 h, a mistura reacional foi deixada arrefecer em temperatura ambiente e neutralizada com solução saturada de bicarbonato de sódio. Em seguida, foi transferida para um funil de separação com água fria, lavada com excesso de água fria e seca sobre sulfato de magnésio. O composto 1 foi purificado em coluna cromatográfica eluída com uma mistura de hexano/AcOEt 9,5:0,5. Obteve-se um sólido alaranjado como produto, com rendimento de 35% e este foi identificado como o produto desejado por comparação do Rf em CCD com compostos sintetizados anteriormente (BAO, et al., 2018).

Após a síntese do composto 5- hidroxil- 1,4- naftoquinona, realizou-se a alquilação da hidroxila na posição 5 para obter o produto 5- metoxi -1,4- naftoquinona:



No procedimento utilizado, adaptado de CASTRO, et al. 2008, óxido de prata (I) (1,16 g; 5 mmol) e iodometano (409 μL ; 6,58 mmol) foram adicionados a uma solução de 5- hidroxil- 1,4- naftoquinona (573 mg; 3,29 mmol) e CH_2Cl_2 (10 mL) e esta reação foi submetida a agitação continua durante aproximadamente 48 h. A reação foi filtrada em Celite, lavada com excesso de CH_2Cl_2 e o solvente foi removido em evaporador rotativo. O produto foi purificado em coluna de sílica gel eluída em Hexano/AcOEt (9:1 v / v) obtendo-se o produto 5- metoxi -1,4- naftoquinona, um sólido amarelo, com rendimento de 70 %.

Outro produto preparado foi a 6,7-dimetil-1,4-naftoquinona (DIAS et al., 2018) para a obtenção de outra naftoquinona com substituintes no anel A.

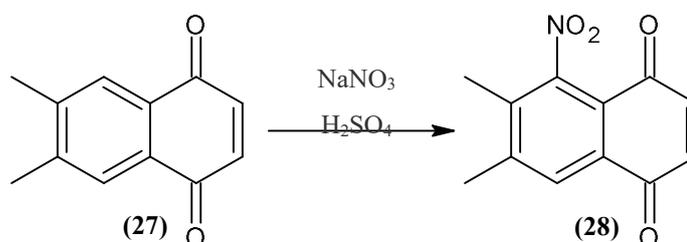


Etapa 1

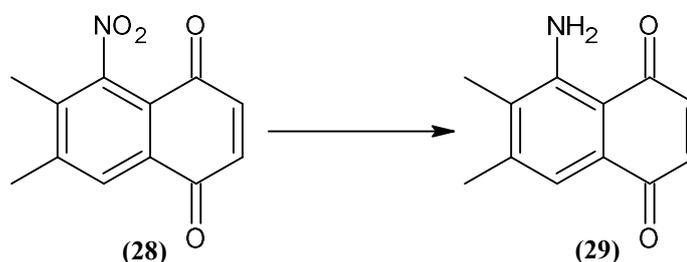
As substâncias 2,3-dimetil-1,3-butadieno (10,2 mmol; 1,2 mL) e *p*-benzoquinona (9,5 mmol; 1,03g) foram dissolvidos em AcOH (10 mL) e a solução foi aquecida a 55°C overnight. Depois de resfriada à temperatura ambiente, foi feita uma extração com AcOEt e H₂O. A fase orgânica foi evaporada e o sólido foi filtrado à vácuo e lavado com H₂O. O sólido branco ficou secando em um vidro de relógio por 2 dias.

Etapa 2

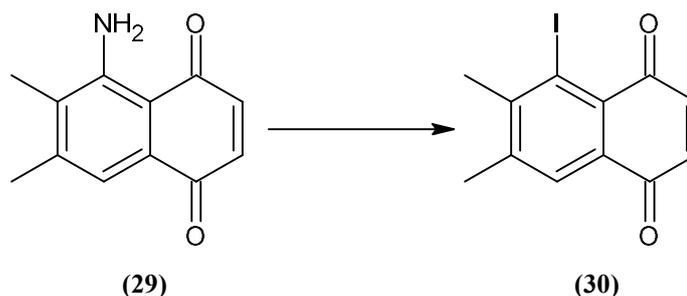
O sólido foi dissolvido em tolueno (100 mL) e aquecido a 100°C. MnO₂ seco foi adicionado lentamente por 10 min e a mistura foi posta em refluxo a 100°C por 3h. A solução foi filtrada em celite e evaporada (solução amarela). O produto foi recristalizado em EtOH. Rendimento: 82,35%



Em 250 mL de H₂SO₄ concentrado a 5°C e a agitação constante foi introduzida 20g de 6,7-dimetil-1,4-naftoquinona, depois 70 g de NaNO₃ em 50 mL de H₂SO₄ em três porções, com agitação por 25 min a 20°C e 5 min a 40°C, resfriado e gotejado em gelo picado. O precipitado que se formou foi separado, lavado com água e filtrado em diclometano através de sílica gel. Rendimento: 73,6% (IVASHKINA et al.,1984).

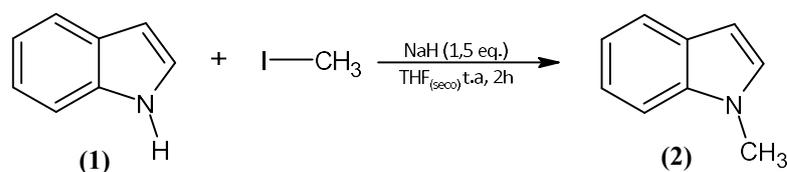


A 10g de 5-nitro-6,7-dimetil-1,4-naftoquinona em 175 mL de AcOH a 70°C foram adicionados 50g de SnCl₂.2H₂O em 50 mL de HCl concentrado, aquecido 15 min a 100°C e resfriado. A mistura foi diluída com 1,5 litros de água e 75g de FeCl₃.6H₂O foi introduzido com agitação, neutralizado com Na₂CO₃ até pH 5 e extraído com dicloroetano. O produto foi purificado por cromatografia. Rendimento: 68,4% (IVASHKINA et al.,1984).

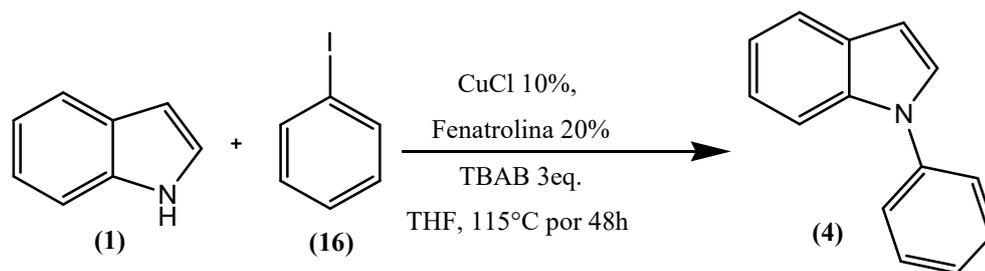


A 5g de 5-amino-1,4-naftoquinona em 157 mL de AcOH foi gradualmente adicionado H₂SO₄ diluído (80 mL de H₂SO₄ concentrado e 40 mL de água), a solução salina formada foi filtrada, diluída com 80 mL de água e diazotizada a 10°C com 3g de NaNO₂ em 5 mL de água. A solução de diazônio foi vertida rapidamente em uma solução de 15g KI em 400 mL de água aquecida a 90°C agitada vigorosamente. O precipitado formado no arrefecimento foi filtrado, lavado com água e purificado. Rendimento: 8,9% (IVASHKINA et al.,1984).

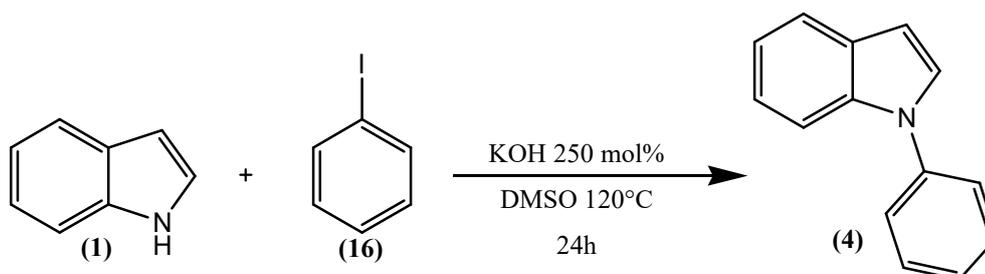
4.2.2. Preparação de indóis *N*-substituídos



A metilação do indol foi realizada de acordo com o procedimento da literatura (FERREIRA & STOLTZ, 2003). A uma solução de indol (5,86 g, 50 mmol) em THF (150 mL) a 0 °C adicionou-se NaH (3,00g, 75 mmol). A mistura heterogênea foi agitada a 0 °C durante 15 minutos e 1 hora temperatura ambiente. A mistura foi então resfriada a 0 °C, tratada com iodometano (4,17 mL, 67 mmol) e deixada aquecer até à temperatura ambiente. Após 30 minutos, a mistura reacional foi arrefecida e extinta com NH₄Cl saturado (200 mL) e extraída com éter (3 x 50 mL). As camadas orgânicas foram combinadas, lavadas com salmoura, secas sobre Na₂SO₄ anidro e concentradas. O óleo resultante foi purificado por cromatografia flash (eluente: Hexano/EtOAc 10:1) para proporcionar o 1-metil-1H-indol (80 % de rendimento) como um óleo incolor.

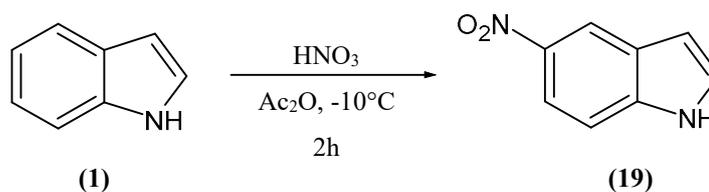


Uma mistura de indol (0,5 mmol), haleto de arila (0,6 mmol), nanopartículas cúbicas de Cu₂O (10% mol), 1,10-fenantrolina (20 mol%), e TBAB (1,5 mmol) foi agitado a 115 °C durante 48h. Depois de completado o tempo de reação, EtOAc (10 mL) foi vertido na mistura, a qual foi então lavada com solução saturada de NaCl (3 x 5 mL) e extraída com Et₂O (2 x 10 mL). As camadas orgânicas foram então secas (Na₂SO₄ anidro) e evaporadas sob vácuo (TANG et al., 2008).



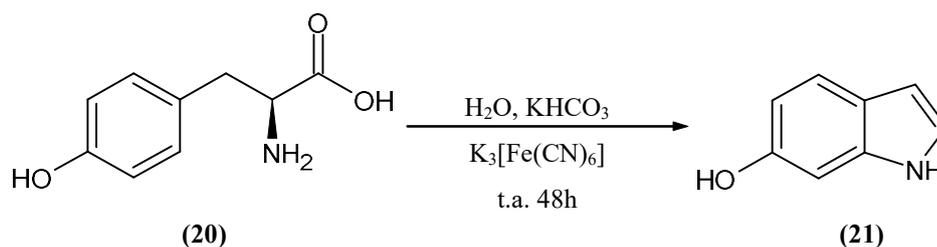
Carregou-se um schlenk com o correspondente indol (16, 1 mmol), KOH (2,5 mmol, 140 mg), bromobenzeno (1 mmol) e DMSO seco (1,5 mL) sob atmosfera de argônio. A mistura resultante foi agitada em um banho de óleo a 120 °C até ao final da reação. A mistura foi extinta com uma solução saturada de NH₄Cl e extraída com acetato de etila (2x 10 mL). A fase orgânica foi seca sobre MgSO₄, seguida por evaporação sob pressão reduzida para remover o solvente. O produto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel (coluna: hexano / acetato de etila), (CANO, RAMÓN & YUS, 2010).

4.2.3. Preparação de indóis com substituintes aromáticos.



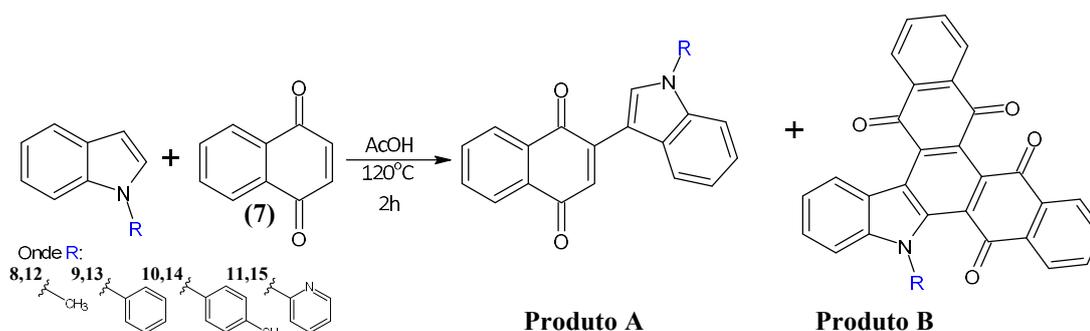
Uma mistura de ácido nítrico a 70% (4,15 mL) e anidrido acético (60 mL) resfriada a

-10°C foi adicionada gota-a-gota a uma mistura em agitação de 1*H*-indol (19,56 mmol) em anidrido acético (60 mL) também a -10°C por um período de 30 minutos. A mistura reacional permaneceu em agitação por 2 horas e após foi aquecida à temperatura ambiente e vertida em gelo picado. A mistura aquosa foi extraída com diclorometano, as fases orgânicas lavadas com água, secas com Na₂SO₄ e o solvente removido em rota evaporador. A avaliação por CCD apresentou uma mistura de vários produtos de difícil purificação. A reação foi então descontinuada (SANTOS et al. 2021).



Para uma solução de tirosina (0,453 g; 2,5 mmol) em água (250 mL) purgada por 30 min com nitrogênio através de um trap de pirogalol (solução com 25 g de KOH, 5 g de pirogalol e 85 mL de água), foi adicionada uma solução livre de oxigênio, de bicarbonato de potássio (1,25 g) e hexacianoferrato de potássio (III) (3,3 g; 10 mmol) em água (15 ml), utilizando um funil de adição com gotejamento lento sob um fluxo de nitrogênio. Após cerca de 48 horas adicionou-se ditionito de sódio (75 mg) e a solução foi levada a pH 4 com HCl 1 M. A solução foi então extraída com acetato de etila, os extratos foram secos sobre sulfato de sódio anidro e o solvente foi então removido por evaporador rotativo. O bruto da reação apresentou menos de 3% de massa em relação ao esperado e por esse motivo a reação foi descontinuada. (EDGE et al. 2006. ADAPTADA)

4.2.4. Preparação geral dos compostos policíclicos.



O procedimento acima foi realizado conforme descrito na **Tabela 2**, a partir da otimização da metodologia de Napolitano e colaboradores (1987). Agitou-se 5 mmol de 1,4-naftoquinona com 1 mmol de 1-metil-1*H*-indol em 10 mL de ácido acético a 40°C durante 2 horas. Após esse período adicionou-se então 30 ml de água e a fase orgânica foi extraída com AcOEt, purificada previamente por cromatografia em coluna flash (Hexano/AcOEt 7:3) obtendo-se o **produto A** (sólido roxo com 79% de rendimento) e o resíduo preso na coluna foi extraído com acetona, rota evaporado e recristalizado em AcOEt para purificar o **produto B** (sólido vermelho com 10% de rendimento) (NAPOLITANO et al., 1987).

4.3. Análise das propriedades ópticas e biológicas dos compostos 8 e 12

A obtenção dos espectros de UV/Vis foi realizada pela aluna Karen Karine Gonçalves sob orientação da Profa. Dra. Adriana Pereira Duarte no Instituto de Química da UFMS.

Os experimentos para obtenção dos espectros de fluorescência, viabilidade celular, citometria de fluxo e microscopia de fluorescência dos compostos C1P4M1 e C1P4M2 foram realizados pelo pesquisador Dr. Heron Fernandes Torquato (FACFAN-UFMS) sob a supervisão do Prof. Dr. Edgar Julian Paredes-Gamero do Laboratório de Biologia Molecular (INBIO/FACFAN-UFMS).

4.3.1. Espectros de UV/Vis

Para essa caracterização utilizou-se a técnica de espectroscopia na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis) no qual foram obtidos espectros de absorção, utilizando um aparelho USB4000-UV-Vis da marca Ocean Optics. Para realização da análise os materiais estudados foram dissolvidos em DMSO ($\leq 99,5\%$) e suas respectivas soluções foram adicionadas em microcubeta de quartzto com caminho óptico de 1 cm. Os dados obtidos foram tratados no software OriginPro 9.0.

4.3.2. Espectros de fluorescência

Os espectros de excitação e emissão dos compostos foram realizados no leitor de placas Flex Station 3, utilizando uma placa preta, a temperatura ambiente na concentração de 100 μ M diluídos em DMSO.

4.3.3. Cultivo celular

Foram utilizadas as células de sarcoma humano U-2 OS e as linhagens de leucemia humana Kasumi-1 LMA (leucemia mielóide aguda) e Jurkat (linfoblastos de células T leucêmicas) e de leucemia murina C1498 (leucemia mielóide murina). As células Kasumi-1, Jurkat e C1498 foram cultivadas em meio RPMI 1640; o subcultivo foi feito a cada 72 h, sempre considerando a proporção de 10^5 células por mL. A linhagem celular aderente U-2 OS foi cultivada em meio DMEM alta glicose; o subcultivo foi feito sempre que as células alcançavam 80-90% de confluência, utilizando PBS-EDTA para desprendimento das mesmas. Os meios de cultura foram suplementando com 10% de soro fetal bovino e 1% penicilina/estreptomicina. As células foram mantidas em estufa de CO₂ a 37°C.

4.3.4. Viabilidade celular

A viabilidade celular foi realizada utilizando resazurina (Alamar Blue). A resazurina, de cor azul e não fluorescente, é reduzida a resofurin, de cor rosa e fluorescente. Este método é empregado em ensaios de citotoxicidade, proliferação e viabilidade celular, determinação da função mitocondrial. Inicialmente, as células foram plaqueadas (10^5 células/mL) e incubadas em placas de 96 poços (200 µL/poço), a 37°C, por um período de 24 h com os compostos em diferentes concentrações (12,5, 25, 50 e 100 µM em DMSO). Após esse período, foram adicionados 20 µL de resazurina, dissolvido em PBS, na concentração de 1,5 mM. Após 5 h de incubação a 37°C. A fluorescência da resofurina foi realizada no leitor de placas Flex Station 3 com excitação em 560 nm e emissão em 590 nm. A emissão de fluorescência das amostras sem estímulo foi considerada como 100 % de viabilidade celular.

4.3.5. Citometria de fluxo

Para a avaliação de citometria de fluxo 10^5 células da linhagem Kasumi-1 foram marcadas com 100 µM dos compostos **8** e **12** por 30 min em meio de cultivo celular. A seguir as células foram lavadas 2x com PBS e ressuspensas em 200 µL de PBS. A leitura foi realizada no citômetro de fluxo Accuri C6. Foram capturados 10.000 eventos. A análise foi realizada no programa FlowJo V10.8.

4.3.6. Microscopia de Fluorescência

A linhagem celular aderente U-2 OS foi plaqueada em lâmina de vidro. Quando atingiu 80% de confluência as células foram marcadas com 100 μ M dos compostos **8** e **12** e com 1 μ M de calcein-AM (Thermo-fischer, USA) por 30 min em meio de cultivo celular. A seguir as células foram lavadas 2x com PBS. As aquisições foram realizadas no microscópio confocal SP8 (Leica) com objetiva APO 63x/1,40. As células foram excitadas com o laser de argônio λ 488 nm e a emissão capturada entre 500-550 nm (Verde), e com o laser λ 405nm e a emissão capturada >600 nm (Vermelho). Também foi utilizado a microscopia de luz transmitida DIC (*Differential interference contrast*).

4.3.7. Estrutura molecular em 3D

A estrutura molecular em 3D dos compostos **8** e **12** foram geradas usando o programa Molview (<https://molview.org/>) (SMITH, 1995). As estruturas foram otimizadas usando a função de minimização de energia MMFF94 e processadas utilizando o mecanismo de renderização JMOL, incluindo a visualização do *Molecular Electrostatic Potential* (MEP) das moléculas.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

As reações para obtenção dos compostos policíclicos resultaram em alguns dos produtos esperados, sendo estes confirmado por meio de espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C . Além disso, a otimização da reação permitiu obter mais rendimento dos produtos esperados. Os compostos obtidos até o momento apresentaram fluorescência e tiveram suas propriedades fotofísicas avaliadas na absorção e emissão. Contudo, o maior desafio desse trabalho foi obter variedades de derivados com diferentes grupos substituintes nos dois núcleos, já que a funcionalização do indol e da 1,4- naftoquinona demonstrou uma forte barreira para prosseguir com as estruturas propostas no início do trabalho. Porém, os resultados são promissores e indicam que estruturas como as dos composto **23** e **27** podem resultar em novas sondas biológicas para células vivas com baixa toxicidade.

6. REFERÊNCIAS

AHMAD, Sheikh Bilal et al. Melatonin and health: Insights of melatonin action, biological functions, and associated disorders. **Cellular and Molecular Neurobiology**, p. 1-22, 2023.

BAO, Na et al. Highly Efficient Synthesis and Structure–Activity Relationships of a Small Library of Substituted 1, 4-Naphthoquinones. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2018, n. 19, p. 2254-2258, 2018.

BANJARE, Shyam Kumar; NANDA, Tanmayee; RAVIKUMAR, P. C. Cobalt-catalyzed regioselective direct C-4 alkenylation of 3-acetylindole with Michael acceptors using a weakly coordinating functional group. **Organic letters**, v. 21, n. 19, p. 8138-8143, 2019.

CASTRO, Frederico Augusto Vieira et al. Cytotoxicity mechanism of two naphthoquinones (menadione and plumbagin) in *Saccharomyces cerevisiae*. **PloS one**, v. 3, n. 12, p. e3999, 2008.

CANO, Rafael; RAMÓN, Diego J.; YUS, Miguel. Transition-metal-free O-, S-, and N-arylation of alcohols, thiols, amides, amines, and related heterocycles. **The Journal of organic chemistry**, v. 76, n. 2, p. 654-660, 2010.

CHASE, Thomas N.; MURPHY, Dennis L. Serotonin and central nervous system function. **Annual review of pharmacology**, v. 13, n. 1, p. 181-197, 1973.

CLAYDEN, Jonathan; GREEVES, Nick; WARREN, Stuart. **Organic chemistry**. Oxford University Press, USA, 2012.

COMMANDEUR, Claude et al. Study of radical decarboxylation toward functionalization of naphthoquinones. **European journal of organic chemistry**, v. 2007, n. 18, p. 3045-3052, 2007.

CORDEIRO, Pâmella S. et al. Seleno- and Telluro-Functionalization of Quinones: Molecules with Relevant Biological Application. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 33, p. 111-127, 2022.

DAINA, Antoine; MICHIELIN, Olivier; ZOETE, Vincent. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.

DA SILVA JÚNIOR, Eufrânio N. et al. Ruthenium (II)-Catalyzed Double Annulation of Quinones: Step-Economical Access to Valuable Bioactive Compounds. **Chemistry–A European Journal**, v. 26, n. 48, p. 10981-10986, 2020.

DE MOLINER, Fabio et al. Quinone-derived π -extended phenazines as new fluorogenic probes for live-cell imaging of lipid droplets. **Frontiers in chemistry**, v. 6, p. 339, 2018.

DEVI, S.; MEHENDALE, H. **In Encyclopedia of Toxicology**, 3rd ed.; Academic Press: Bethesda, 2014, p. 26.

DIAS, Gleiston G. et al. Quinone-based fluorophores for imaging biological processes. **Chemical Society Reviews**, v. 47, n. 1, p. 12-27, 2018.

DIAZ-MUNOZ, Gaspar et al. Anthraquinones: an overview. **Studies in natural products chemistry**, v. 58, p. 313-338, 2018.

DING, Yu; LI, Yafei; YU, Guihua. Exploring bio-inspired quinone-based organic redox flow batteries: a combined experimental and computational study. **Chem**, v. 1, n. 5, p. 790-801, 2016.

DONG, Yu et al. Cobalt-Catalyzed Cycloamination: Synthesis and Photophysical Properties of Polycyclic N-Heterocycles. **Organic Letters**, v. 22, n. 13, p. 5151-5156, 2020.

DOS S MOREIRA, Caroline et al. Juglone: A Versatile Natural Platform for Obtaining New Bioactive Compounds. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 22, p. 2018-2045, 2021.

DULO, Benson et al. Natural quinone dyes: a review on structure, extraction techniques, analysis and application potential. **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, n. 12, p. 6339-6374, 2021.

EDGE, R. et al. Dopaquinone redox exchange with dihydroxyindole and dihydroxyindole carboxylic acid. **Pigment Cell Research**, v. 19, n. 5, p. 443-450, 2006.

EWING, D.F.; ¹³C substituent effects in monosubstituted benzenes. **Org. Chem. Magn. Reson**, v. 12, p. 499-524. doi: 10.1002/mrc.1270120902, 1979.

FERREIRA, Eric M.; STOLTZ, Brian M. Catalytic C–H bond functionalization with palladium (II): aerobic oxidative annulations of indoles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 32, p. 9578-9579, 2003.

FUTURO, Debora O. et al. The antifungal activity of naphthoquinones: An integrative review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 1187-1214, 2018.

GOMES, Camila Luiz et al. Beta-lapachone: Natural occurrence, physicochemical properties, biological activities, toxicity and synthesis. **Phytochemistry**, v. 186, p. 112713, 2021.

GHOSH, SOUMEN; MONDAL, SATYAJIT. Spectroscopic study on the interaction of medicinal pigment, curcumin with various surfactants: An overview. **J. Surf. Sci. Technol**, v. 28, p. 179-195, 2012.

GIEPMANS, Ben NG et al. The fluorescent toolbox for assessing protein location and function. **science**, v. 312, n. 5771, p. 217-224, 2006.

HANSON, Robert M. et al. JSmol and the next-generation web-based representation of 3D molecular structure as applied to proteopedia. **Israel Journal of Chemistry**, v. 53, n. 3-4, p. 207-216, 2013.

HANSON, George T.; HANSON, Bonnie J. Fluorescent probes for cellular assays. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 11, n. 7, p. 505-513, 2008.

HOU, Yakun et al. Naphthoquinones of the spinochrome class: Occurrence, isolation, biosynthesis and biomedical applications. **RSC advances**, v. 8, n. 57, p. 32637-32650, 2018.

IVASHKINA, N. V. et al. 5-arylethynyl-1, 4-naphthoquinones. **Russian Chemical Bulletin**, v. 33, n. 11, p. 2345-2348, 1984.

JAYAKRISHNAN, K. et al. Reverse saturable absorption studies in polymerized indole—Effect of polymerization in the phenomenal enhancement of third order optical nonlinearity. **Optical Materials**, v. 54, p. 252-261, 2016.

JOULE, J. A. Product class 13: Indole and its derivatives. **Fused five-membered hetarenes with one heteroatom**, v. 10, 2001.

KHAN, Mohd Shahid; KHAN, Zahid H. Ab initio and semiempirical study of structure and electronic spectra of hydroxy substituted naphthoquinones. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 61, n. 4, p. 777-790, 2005.

KONDO, Hikaru et al. Ruthenium-Catalyzed Monoalkenylation of Aromatic Ketones by Cleavage of Carbon–Heteroatom Bonds with Unconventional Chemoselectivity. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, n. 32, p. 9293-9297, 2015.

LI, Shou-Jie et al. Novel natural compounds from endophytic fungi with anticancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 156, p. 316-343, 2018.

LION, Claude et al. Action de Divers Dienophiles Sur Quelques 2-(3-Indolyl)-1, 4-Naphtoqui-Nones-N-Substituees. Synthese D'une Nouvelle Serie de Naphto-[2, 3-c]-Carbazole-5, 13-Quinones. **Bulletin des Sociétés Chimiques Belges**, v. 104, n. 9, p. 557-561, 1995.

LITTLE, R. Daniel et al. The Intramolecular Michael Reaction. **Organic Reactions**, v. 47, p. 315-552, 2004.

LOPES, Wilson A.; ANDRADE, JB de. Fontes, formação, reatividade e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na atmosfera. **Química Nova**, v. 19, n. 5, p. 497-516, 1996.

LÓPEZ LÓPEZ, Lluvia Itzel et al. Naphthoquinones: biological properties and synthesis of lawsone and derivatives—a structured review. **Vitae**, v. 21, n. 3, p. 248-258, 2014.

LV, Dongjun et al. Synthesis and color properties of novel polymeric dyes based on grafting of anthraquinone derivatives onto O-carboxymethyl chitosan. **RSC advances**, v. 7, n. 53, p. 33494-33501, 2017.

MALIK, M. Shaheer et al. Journey of anthraquinones as anticancer agents—a systematic review of recent literature. **RSC advances**, v. 11, n. 57, p. 35806-35827, 2021.

MONE, Nishigandha S. et al. Naphthoquinones and their derivatives: Emerging trends in combating microbial pathogens. **Coatings**, v. 11, n. 4, p. 434, 2021.

MOURA, Nelci Antunes de. Efeitos da ingestão de simbiótico e indol-3-carbinol sobre o processo de carcinogênese química de cólon em ratos Wistar alimentados com dieta contendo heme. 2015.

NAPOLITANO, Alessandra; CORRADINI, Maria Grazia; PROTA, Giuseppe. A reinvestigation of the reactions between 5, 6-dihydroxyindoles and quinones. **Tetrahedron**, v. 43, n. 12, p. 2749-2754, 1987.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of natural products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.

NIJEGORODOV, N. I.; DOWNEY, W. S. The influence of planarity and rigidity on the absorption and fluorescence parameters and intersystem crossing rate constant in aromatic molecules. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 22, p. 5639-5643, 1994.

ORTIZ-PÉREZ, Eyra et al. Natural and Synthetic Naphthoquinones as Potential Anti-Infective Agents. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 22, p. 2046-2069, 2021.

PATEL, Om PS; BETECK, Richard M.; LEGOABE, Lesetja J. Antimalarial application of quinones: A recent update. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 210, p. 113084, 2021.

PAVIA, D. L.; KRIZ, G. S.; ENGEL, R. G.; **Introdução à Espectroscopia**, 2. ed., São Paulo: Cengage Learning, 2015

PAVONI, J. F. et al. Uma montagem experimental para a medida de fluorescência. **Revista brasileira de ensino de física**, v. 36, 2014.

PENG, Xiaojun et al. Heptamethine cyanine dyes with a large stokes shift and strong fluorescence: a paradigm for excited-state intramolecular charge transfer. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 12, p. 4170-4171, 2005.

POWOLNY, Anna A.; SINGH, Shivendra V. Plumbagin-induced apoptosis in human prostate cancer cells is associated with modulation of cellular redox status and generation of reactive oxygen species. **Pharmaceutical research**, v. 25, p. 2171-2180, 2008.

QURESHI, M. Fahed; KHRAISHEH, Majeda; ALMOMANI, Fares. Probing the effect of various water fractions on methane (CH₄) hydrate phase equilibria and hydrate inhibition performance of amino acid L-proline. **Journal of Molecular Liquids**, v. 333, p. 115888, 2021.

RAMESAN, M. T. Synthesis and characterization of magnetoelectric nanomaterial composed of Fe₃O₄ and polyindole. **Advances in polymer technology**, v. 32, n. 3, 2013.

SANTOS, Adriana de Jesus et al. Derivados do N-sulfonilindol em formulações pesticidas contra insetos. Procurador: Universidade Federal de Sergipe. n. BR 102019013424-0 A2 Depósito: 27 jul. 2019. Concessão: 05 jan. 2021.

SATOH, Takehiko et al. Theoretical and experimental studies on the ground-and excited-state dipole moments of 1, 4-naphthoquinone and its derivatives. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 80, n. 6, p. 1103-1113, 2007.

SEDNEV, Maksim V.; BELOV, Vladimir N.; HELL, Stefan W. Fluorescent dyes with large Stokes shifts for super-resolution optical microscopy of biological objects: a review. **Methods and applications in fluorescence**, v. 3, n. 4, p. 042004, 2015.

SILVERSTEIN, Robert M. et al. **Spectrometric identification of organic compounds**. John wiley & sons, 2014.

SIMON, Sibü; PETRÁŠEK, Jan. Why plants need more than one type of auxin. **Plant Science**, v. 180, n. 3, p. 454-460, 2011.

SMITH, Thomas James. MolView: a program for analyzing and displaying atomic structures on the Macintosh personal computer. **Journal of molecular graphics**, v. 13, n. 2, p. 122-125, 1995.

SOUSA, Eliane Teixeira; LOPES, Wilson A.; ANDRADE, Jailson B. de. Fontes, formação, reatividade e determinação de quinonas na atmosfera. **Química Nova**, v. 39, p. 486-495, 2016.

SULIPHULDEVARA MATHADA, Basavarajiah; GUNAVANTHRAO YERNALE, Nagesh; BASHA, Jeelan N. The Multi-Pharmacological Targeted Role of Indole and its Derivatives: A review. **ChemistrySelect**, v. 8, n. 1, p. e202204181, 2023.

SUZUKI, Yusuke et al. Synthesis of Dibenzo [h, rst] pentaphenes and Dibenzo [fg, qr] pentacenes by the Chemoselective C–O Arylation of Dimethoxyanthraquinones. **Organic letters**, v. 19, n. 14, p. 3791-3794, 2017.

TANDON, V. K. et al. Synthesis and pharmacological studies of some 2-t-amino and 2, 3-di-t-amino substituted 1, 4-naphthoquinones and related compounds. **Bollettino chimico farmaceutico**, v. 141, n. 4, p. 304-310, 2002.

TANOUE, Yasuhiro et al. Synthesis of 2-(3-indolyl)-1, 4-naphthoquinones using 3-iodoindoles. **Journal of heterocyclic chemistry**, v. 42, n. 6, p. 1195-1199, 2005.

TANG, Bo-Xiao et al. N-arylations of nitrogen-containing heterocycles with aryl and heteroaryl halides using a copper (I) oxide nanoparticle/1, 10-phenanthroline catalytic system. **Synthesis**, v. 2008, n. 11, p. 1707-1716, 2008.

WADA, Kai et al. A tryptophan-rich breakfast and exposure to light with low color temperature at night improve sleep and salivary melatonin level in Japanese students. **Journal of Circadian Rhythms**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2013.

WANG, Jiyu; WANG, Bei. Naphthoquinone multi-fused-ring derivative as well as preparation method and application thereof. Procurador: Univ Xihua. n. CN11371718-2A Depósito: 24 set. 2021. Concessão: 30 nov. 2021.

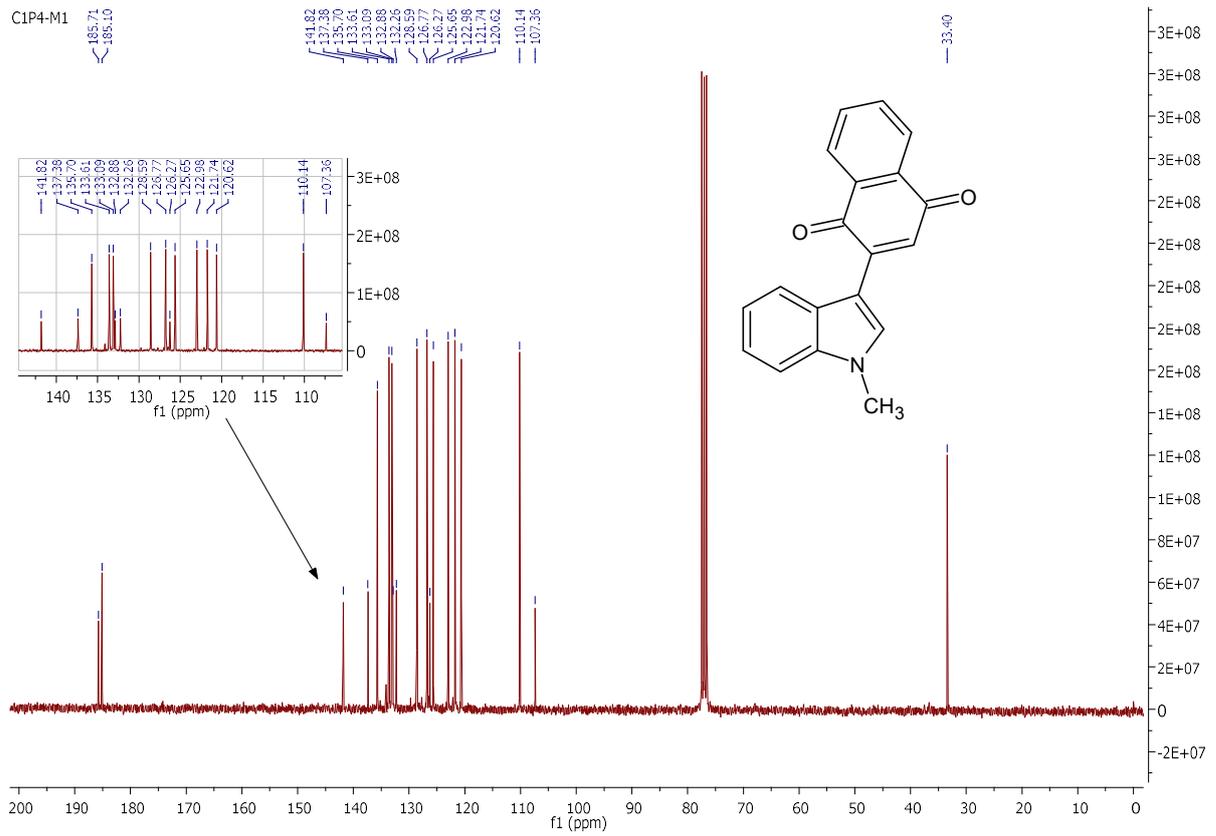
ZHANG, Hai-Bo et al. “On Water”-Promoted Direct Coupling of Indoles with 1, 4-Benzoquinones without Catalyst. **European journal of organic chemistry**, v. 2006, n. 4, p. 869-873, 2006.

ZHANG, Hongxing et al. Carbon–dipyrrromethenes: bright cationic fluorescent dyes and potential application in revealing cellular trafficking of mitochondrial glutathione conjugates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 142, n. 40, p. 17069-17078, 2020.

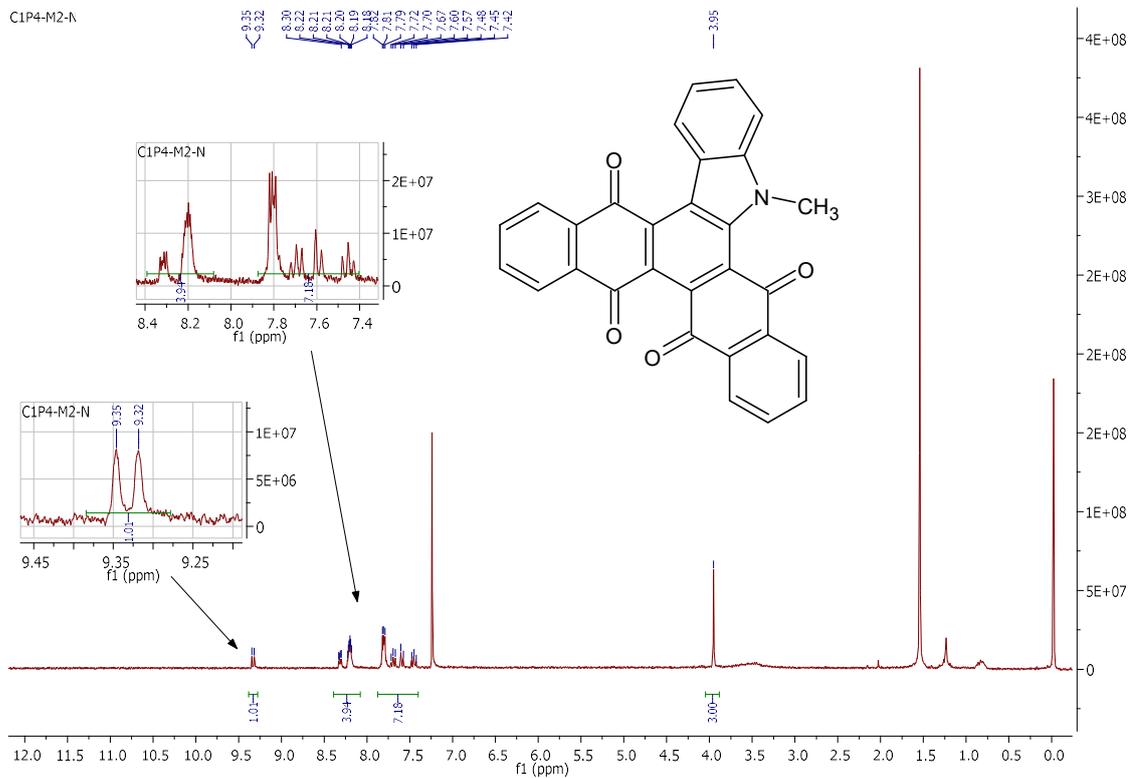
ZHANG, Li et al. Recent advances of quinones as a privileged structure in drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 223, p. 113632, 2021.

ZHANG, Pei et al. Recent advances in the natural products-based lead discovery for new agrochemicals. **Advanced Agrochem**, 2023.

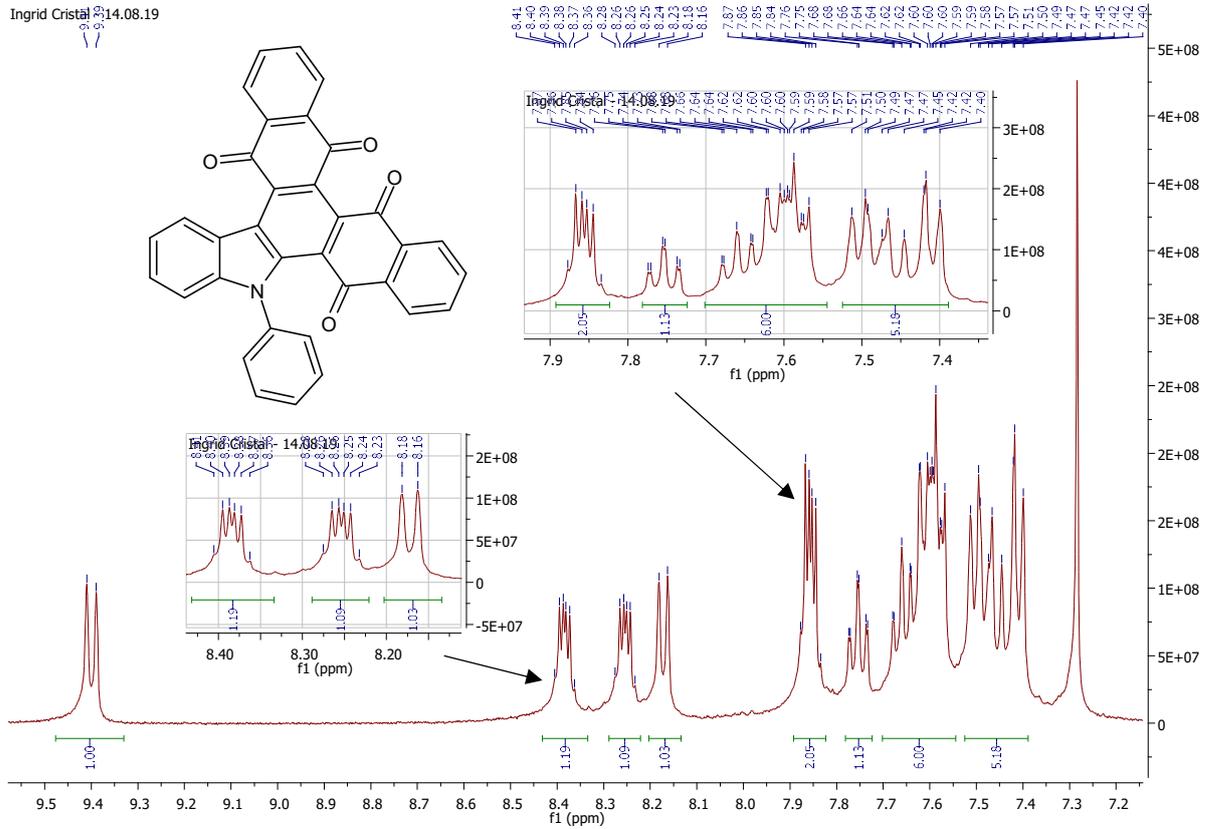
ZUFFO, Alan Mario. A produção do Conhecimento nas Ciências Agrárias e Ambientais. **Ed. Ponta Grossa-PR: Atena, 2019.**



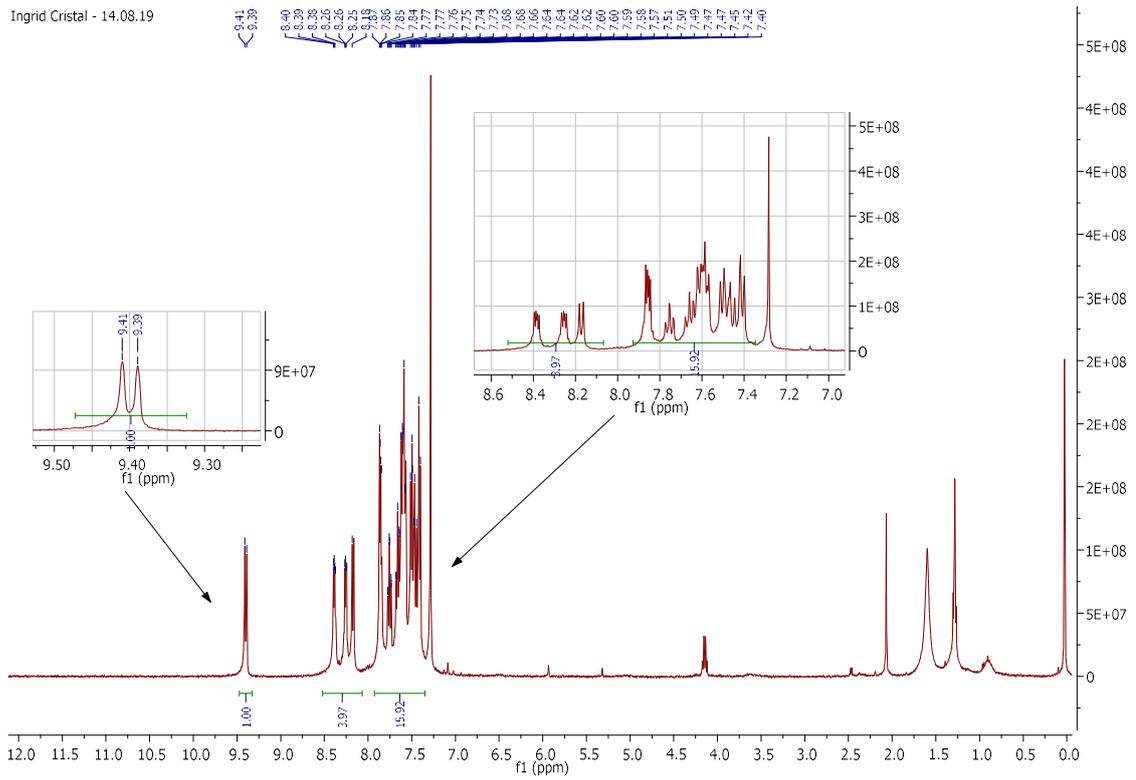
Espectro 3: Espectro de RMN de ^{13}C do composto **(23)** (CDCl_3 , 75 MHz).



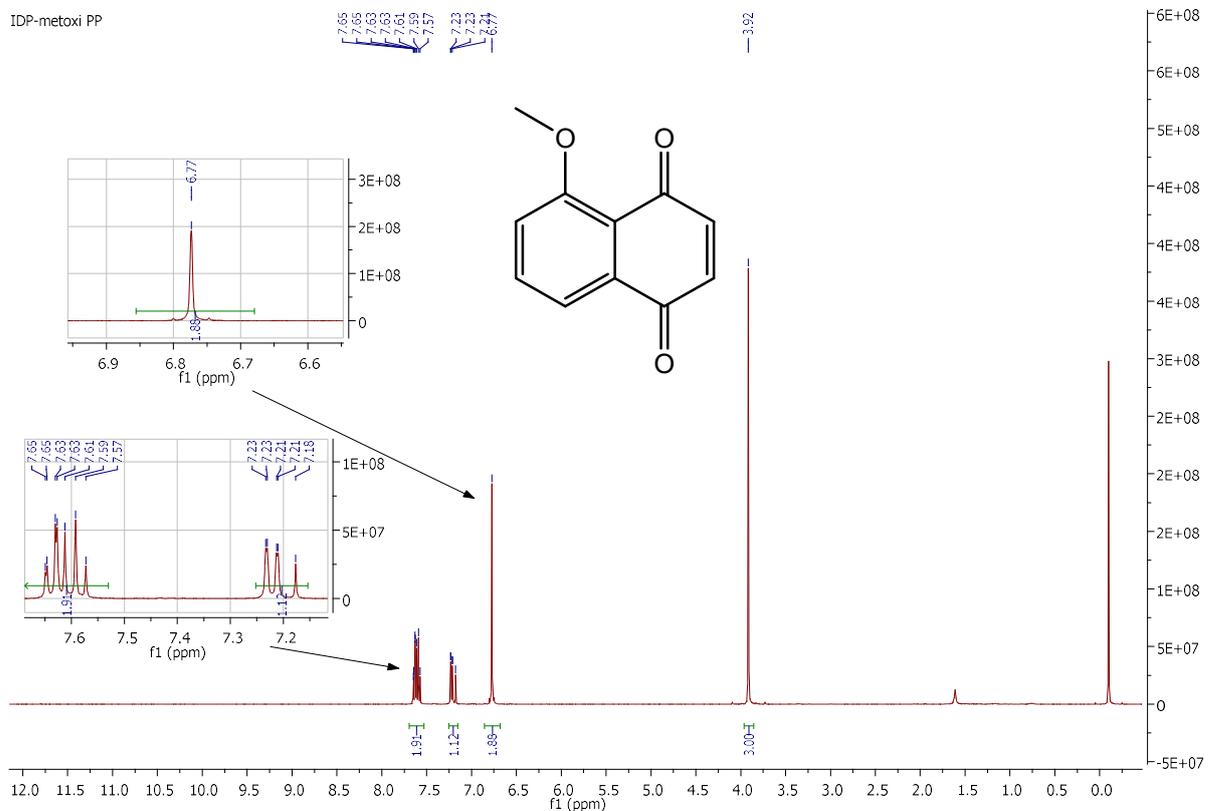
Espectro 4: Espectro de RMN de ^1H do composto **(27)** (CDCl_3 , 300 MHz).



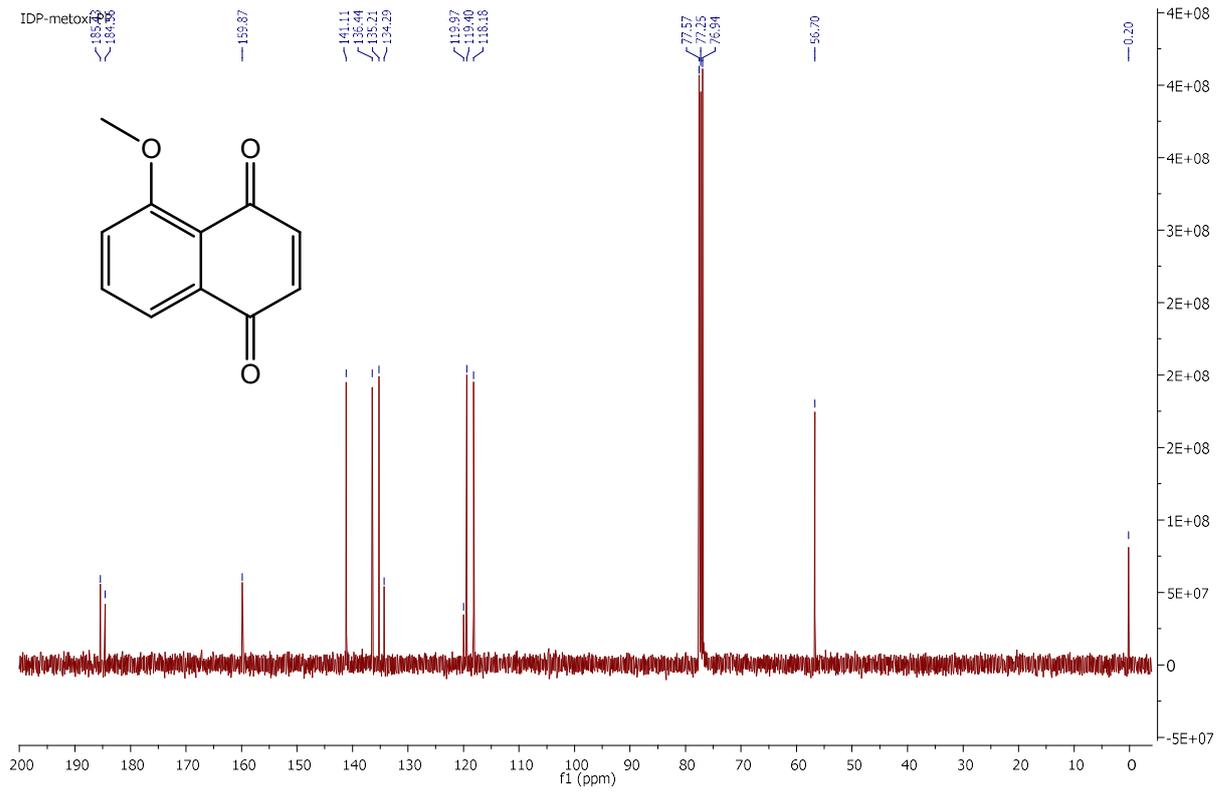
Espectro 5: Espectro de RMN de ^1H do composto (28) (CDCl_3 , 200 MHz).



Espectro 6: Espectro de RMN de ^1H do composto **(28)** com ampliações (CDCl_3 , 200 MHz).

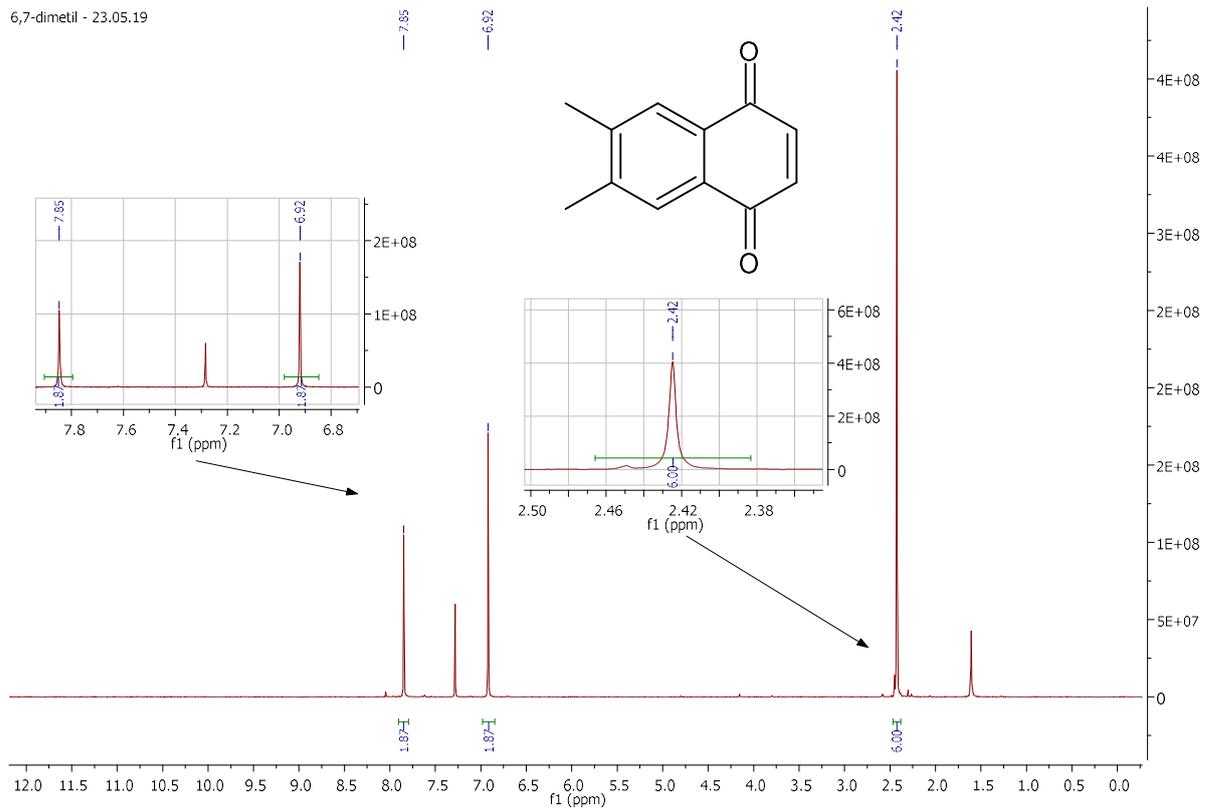


Espectro 7: Espectro de RMN de ^1H do composto **(39)** (CDCl_3 , 200 MHz).



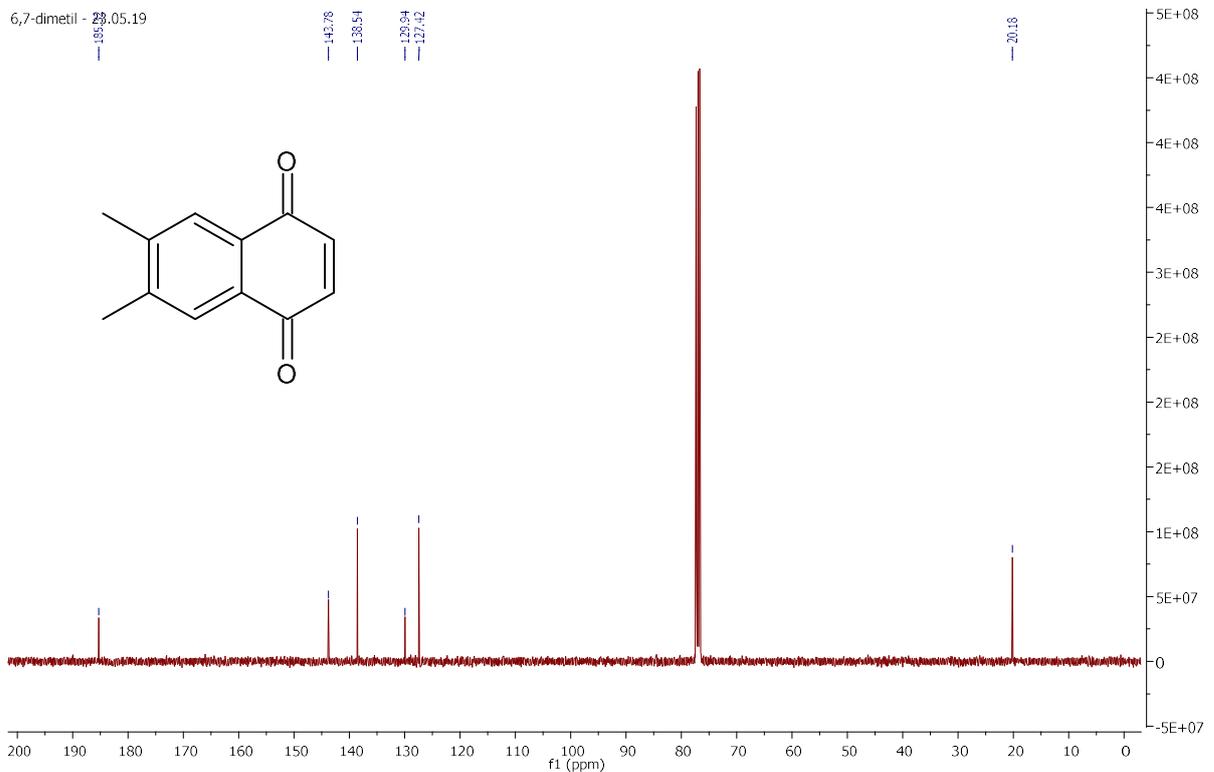
Espectro 8: Espectro de RMN de ^{13}C do composto **(39)** (CDCl_3 , 75 MHz).

6,7-dimetil - 23.05.19



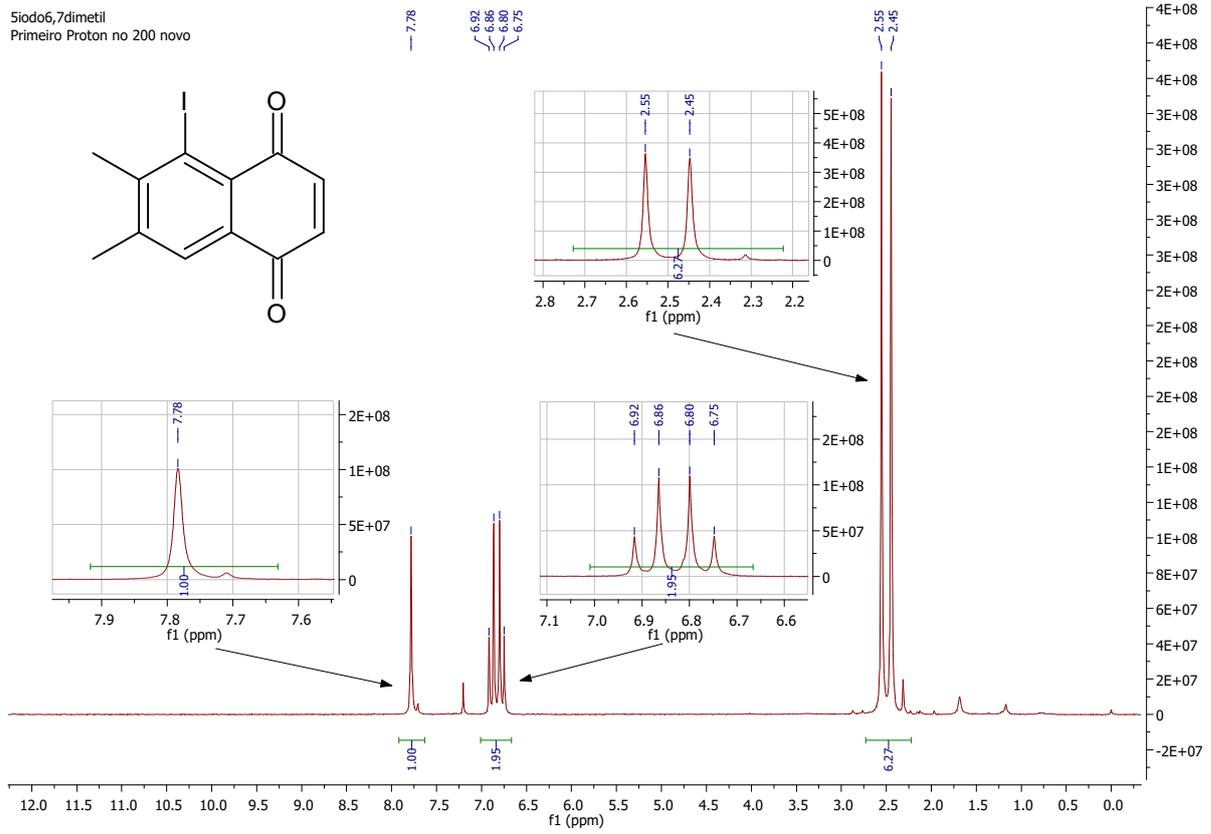
Espectro 9: Espectro de RMN de ^1H do composto (41) (CDCl₃, 200 MHz).

6,7-dimetil - 23.05.19



Espectro 10: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (41) (CDCl₃, 75 MHz).

5iodo6,7dimetil
Primeiro Proton no 200 novo



Espectro 11: Espectro de RMN de ^1H do composto (44) (CDCl_3 , 200 MHz)