



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Ana Maria Antunes Gonçalves de Oliveira

**Análogos do psoraleno com um núcleo de
dibenzofurano, xantona ou carbazole:
síntese e aplicações**

Setembro de 2005



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Ana Maria Antunes Gonçalves de Oliveira

**Análogos do psoraleno com um núcleo de
dibenzofurano, xantona ou carbazole:
síntese e aplicações**

Tese de Doutoramento em Ciências
Ramo de Química

Trabalho efectuado sob a orientação de:
Prof. Doutora Ana M. Ferreira de Oliveira-Campos
Prof. Doutora Maria Manuela Marques Raposo

Setembro de 2005

Autora:

Ana Maria Antunes Gonçalves de Oliveira
amagoliveira@gmail.com

Tese de Doutoramento em Ciências, Ramo de Química

Título: Análogos do psoraleno com um núcleo de dibenzofurano, xantona ou carbazole: síntese e aplicações.

Ano de publicação: 2005

Orientadoras:

Prof. Doutora Ana Maria Ferreira de Oliveira Campos

amcampos@quimica.uminho.pt

Prof. Doutora Maria Manuela Marques Raposo

mfox@quimica.uminho.pt

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

Universidade do Minho, 28 de Setembro de 2005

Ana Maria Oliveira

“Tempo virá em que os nossos descendentes se surpreenderão por não sabermos coisas que são tão óbvias para eles [...]. Muitas descobertas estão reservadas às gerações vindouras, quando a lembrança da nossa existência já estiver apagada. O nosso universo seria uma coisa insignificante se não houvesse sempre nele algo a ser investigado por todas as gerações que vão surgindo [...].

A natureza não revela os seus mistérios de uma só vez.”

Sêneca, *Questões Naturais*, livro 7, século I;
In Sagan, C., *Cosmos*, Gradiva, 1985.

Para o meu cunhado, *Aníbal Monteiro*,
uma das muitas vítimas de cancro.

Agradecimentos

À Universidade do Minho, pela formação concedida.

À FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia, pelo apoio financeiro através do CQ-UM e pela bolsa PRAXIS XXI/BD/19707/99.

Ao GRICES – Gabinete de Relações Internacionais da Ciência e do Ensino Superior, pelo subsídio concedido para uma visita científica à Universidade de Leeds.

À Prof. Doutora Ana Maria Ferreira de Oliveira Campos pela oportunidade que me ofereceu e pela orientação científica, disponibilidade, incentivo e amizade que sempre demonstrou. Sem o seu excelente apoio, certamente que este trabalho não teria sido concretizado.

À Prof. Doutora Maria Manuela Marques Raposo, pela orientação científica e por toda a disponibilidade e apoio manifestados.

À Dra. Elisa Pinto pela constante disponibilidade demonstrada, em relação ao traçado dos espectros de RMN e à realização de análises elementares.

À Prof. Doutora Rosário Domingues, da Universidade de Aveiro, pelos esclarecimentos prestados relativamente à espectrometria de massa.

À Prof. Doutora Lígia Rodrigues, pelo auxílio na interpretação de espectros de RMN bidimensional e na revisão de textos.

A todos os outros Professores e Funcionários do Departamento de Química, da Universidade do Minho, pelo apoio concedido.

Ao Professor John Griffiths, pela forma como me recebeu, na minha visita à Universidade de Leeds, e pelo apoio científico dado ao longo deste trabalho.

Ao Prof. Doutor António Eduardo da Hora Machado e ao seu grupo de trabalho, da Universidade Federal da Uberlândia, pela forma excelente como me receberam na minha visita a essa Universidade, pela colaboração neste trabalho e pela orientação científica e apoio na revisão de textos, no que se refere à descrição dos estudos fotoquímicos, fotofísicos e computacionais.

À Prof. Doutora Madalena M. M. Pinto e à Prof. Doutora São José Nascimento, da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, e aos seus colaboradores, pela contribuição dada e revisão de textos, no que concerne aos estudos biológicos relacionados com este trabalho.

Ao Conselho Executivo da Escola Secundária de Vieira do Minho, pelas dispensas concedidas, ao abrigo da lei, para formação, no país e no estrangeiro.

Aos meus alunos, por me terem feito sentir o prazer de ensinar e a necessidade de uma constante procura do conhecimento.

Aos meus colegas e amigos de laboratório da Universidade do Minho, pelo apoio e companheirismo.

Aos meus pais, pela educação livre que me concederam.

Ainda aos meus pais e irmãos, cunhados, sobrinhos e vizinhos mais próximos, por terem estado sempre lá, em todos os momentos.

Por último, mas não por serem menos importantes, a todos os meus preciosos amigos e amigas dos jantares de Sexta-feira, da Escola Secundária de Vieira do Minho, da Escola E.B. 2,3 Prof. Gonçalo Sampaio, da Associação Aventura da Saúde, do curso de Física e Química e da minha infância, por me terem apoiado, incentivado e aturado, especialmente, nos momentos mais difíceis. Um agradecimento especial à Sara e ao Armando, pelo apoio na fase final de elaboração desta tese.

Um muito, muito obrigada, a todos!

Resumo

O uso de fármacos para o tratamento de doenças de pele remonta já ao antigo Egito. Nesses tratamentos eram usadas plantas, a partir das quais se faziam preparações que eram ingeridas, ou aplicadas na pele dos pacientes que depois se expunham ao Sol. Os psoralenos, também chamados furocumarinas, são produtos provenientes dessas plantas que hoje em dia são preparados no laboratório. São compostos fotossensibilizadores, usados em fotomedicina, há vários anos, para o tratamento de doenças da pele como a psoríase. Alguns estudos indicam que podem também ser usados para o tratamento do linfoma das células T, na prevenção da rejeição de órgãos transplantados e, ainda, no tratamento de outras doenças.

O objectivo do trabalho descrito nesta tese foi a síntese de análogos dos psoralenos e eventualmente a determinação de propriedades fotofísicas, fotoquímicas e biológicas, podendo assim dar uma pequena contribuição para o esclarecimento do mecanismo de acção e para a melhoria da eficiência terapêutica desta família de compostos.

Foram sintetizados vários derivados de benzopsoralenos, piranoxantonas e piranocarbazoles substituídos, na sua maioria, com um grupo éster. As estratégias de síntese mais utilizadas iniciaram-se pela preparação de dibenzofuranóis e hidroxixantonas. Estes compostos e os dibenzofuran-2-ol e carbazol-2-ol foram, de seguida, formilados por diferentes métodos (Reimer-Tiemann, Vilsmeier, Duff e *via* litiação, seguida de reacção com uma formamida) e, finalmente, procedeu-se ao fecho do anel de piranona através de condensações do tipo de Knoevenagel. Verificou-se que a etapa da formilação fez diminuir o rendimento global das sínteses. Outra estratégia de síntese envolveu o rearranjo de Fries do etanoato de dibenzofuran-2-ilo do qual se fez um estudo sistemático por HPLC. Os produtos obtidos neste rearranjo deram origem a psoralenos polissubstituídos, através do mesmo tipo de condensação.

Os estudos das propriedades fotofísicas, fotoquímicas e biológicas demonstraram que vários dos compostos sintetizados, sobretudo aqueles que apresentam estruturas angulares, têm uma eficiência de formação de oxigénio singuleto elevada e também uma actividade inibitória moderada, *in vitro* e na ausência de luz, do crescimento de linhas celulares tumorais humanas: MCF-7 (cancro da mama), NCI-H460 (cancro do pulmão) e SF-268 (cancro do sistema nervoso central).

Abstract

The use of drugs for treatment of skin conditions goes as far back as the ancient Egypt. Concoctions prepared from plants were either ingested or applied topically, being the patient then exposed to sunlight.

Psoralens, also known as furocoumarins, are natural substances. Today several derivatives of such substances are synthesized in laboratory. They are photosensitizers, and have been used in photomedicine in the treatment of skin diseases such as psoriasis. Some studies point that they may be also used for the treatment of other health conditions such as T cell lymphoma and transplanted organ rejection.

The objective of the work described in this thesis was the synthesis of psoralen analogues and the determination of their photophysical, photochemical and biological properties, in pursue of knowledge about the mode of action and therapeutic efficiency of this family of compounds.

Several substituted derivatives of benzopsoralens, pyranoxanthenes and pyranocarbazoles, the majority of them containing an ester group, have been prepared. The main synthetic method was to start with dibenzofuranols and hydroxyxanthenes. Those were then formylated using a number of different methods (Reimer-Tiemann, Vilsmeier, Duff, *via* lithiation, followed by quenching with a formamide). Finally the pyranone ring was closed through a Knoevenagel type condensation. The formylation was a crucial step that caused the global yield of the preparations to be significantly reduced. Another synthetic method involved a systematic study of the Fries rearrangement of dibenzofuran-2-yl ethanoate by HPLC. The products obtained in this rearrangement were submitted to the same type of condensation giving rise to poly-substituted psoralens.

Studies of the photophysical, photochemical and biological properties of the obtained compounds, have shown that the angular analogues sensitized the formation of singlet oxygen with high efficiency. It was also observed a moderate inhibitory activity, *in vitro* and in the dark, of the growth on the human tumour cell lines MCF-7 (breast cancer), NCI-H460 (lung cancer) and SF-268 (central nervous system cancer).

Índice geral

<i>Agradecimentos</i>	v
<i>Resumo</i>	vii
<i>Abstract</i>	viii
<i>Abreviaturas, Siglas e Símbolos</i>	xiv
<i>Notas Introdutórias</i>	xviii
CAPÍTULO I – Furocumarinas e Derivados: História, Estrutura, Ocorrência na Natureza, Métodos de Síntese e Propriedades	1
1. Psoraleno e derivados: breve história do seu uso clínico	2
2. Estrutura de psoralenos e angelicinas	4
3. Ocorrência na Natureza	6
4. Métodos de síntese de psoralenos e angelicinas	8
4.1. Métodos em que o passo final é a desidrogenação do anel de furano (A)	8
4.2. Métodos em que o passo final é a formação do anel de furano (B)	10
4.3. Métodos em que o passo final é a formação do anel de piranona (C)	16
5. Mecanismos de acção de psoralenos e angelicinas	17
5.1. Formas de acção de fotossensibilizadores	17
5.2. Reacções independentes do oxigénio: formação de aductos covalentes	19
5.3. Reacções dependentes do oxigénio: processos foto-oxidativos	22
5.4. Auto-oxidação de psoralenos e outros processos que ocorrem nas células	23
6. Síntese e actividade biológica de análogos de furocumarinas	24
6.1. Substituição do átomo de oxigénio do anel de furano	24
6.2. Substituição do átomo de oxigénio do anel de pirano	26
6.3. Substituição dos átomos de oxigénio dos anéis de pirano e de furano	28
6.4. Hidrogenação do anel de furano e formação de sais de aminas quaternárias ...	28
6.5. Análogos com três ou mais heteroátomos	30
6.6. Derivados tetracíclicos de furocumarinas	32
6.7. Heterodímeros	38
6.8. Outros compostos análogos	38
7. Conclusões	40
8. Apêndices	42
<i>A- Vitiligo</i>	42
<i>B- Psoríase</i>	43
9. Referências	44

CAPÍTULO II – Síntese de Benzopsoralenos	52
1. Contextualização	53
1.1. Objectivo deste estudo	53
1.2. Estratégia de síntese	53
2. Apresentação e discussão dos resultados	54
2.1. Síntese de dibenzofuranóis	54
2.1.1. <i>Síntese de éteres difenílicos</i>	54
2.1.2. <i>Ciclização com Pd(OAc)₂ e por via fotoquímica: síntese de metoxidibenzofuranos</i>	56
2.1.3. <i>Desmetilação de metoxidibenzofuranos</i>	59
2.1.4. <i>Síntese do dibenzofuran-4-ol via metalação</i>	61
2.2. Formilação de dibenzofuranóis	62
2.2.1. <i>Métodos de formilação</i>	62
2.2.2. <i>Formilação via litiação de carbamatos</i>	64
2.2.3. <i>Formilação de Reimer-Tiemann</i>	66
2.3. Síntese de benzopsoralenos via condensação de Knoevenagel	69
2.4. Caracterização estrutural dos compostos sintetizados	71
2.4.1. <i>Difeniléteres, metoxidibenzofuranos e dibenzofuranóis</i>	71
2.4.2. <i>Carbamatos</i>	71
2.4.3. <i>Aldeídos</i>	78
2.4.4. <i>Benzopsoralenos</i>	75
3. Conclusões	78
4. Parte experimental	79
4.1. Instrumentação, métodos, solventes e reagentes utilizados	79
4.2. Procedimentos de síntese	83
4.2.1. <i>Síntese de dibenzofuranóis</i>	83
4.2.2. <i>Síntese de carbamatos</i>	88
4.2.3. <i>Formilações</i>	89
4.2.4. <i>Síntese de benzopsoralenos – condensação de Knoevenagel</i>	92
5. Referências	94

CAPÍTULO III – Síntese de Benzopsoralenos Polissubstituídos. Rearranjo de Fries do Etanoato de Dibenzofuran-2-ilo.	98
1. Contextualização	99
1.1. Objectivo deste estudo	99
1.2. Estratégia de síntese	99
1.3. Rearranjo de Fries catalisado <i>versus</i> rearranjo de Fries fotoquímico	99
2. Apresentação e discussão dos resultados	104
2.1. Síntese de precursores: estudo do rearranjo de Fries do etanoato de dibenzofuran-2-ilo	104
2.1.1. Rearranjo de Fries catalisado por $AlCl_3$	104
2.1.2. Rearranjo de Fries fotoquímico	109
2.1.3. Estudo computacional e comparação com os resultados experimentais ...	115
2.2. Síntese de benzopsoralenos polissubstituídos	120
2.2.1. Formação do anel de piranona via condensação de Knoevenagel	120
2.2.2. Síntese do benzopsoraleno com o grupo ciano	121
2.2.3. Caracterização estrutural dos benzopsoralenos polissubstituídos	122
3. Conclusões	125
4. Parte experimental	125
4.1. Procedimentos de síntese	125
4.1.1. Síntese do etanoato de dibenzofuran-2-ilo	125
4.1.2. Rearranjo de Fries catalisado por ácidos de Lewis	126
4.1.3. Rearranjo de Fries fotoquímico	129
4.1.4. Síntese dos benzopsoralenos substituídos	131
4.2. Análises por HPLC	135
4.3. Cálculos teóricos	137
5. Referências	138
6. Aplicações lógicas (Software)	141

CAPÍTULO IV – Síntese de Derivados de Piranoxantonas e de Piranocarbazoles	142
1. Contextualização	143
1.1. Objectivo deste estudo	143
1.2. Xanten-9-onas e carbazoles: estruturas e ocorrência natural	143
1.3. Propriedades biológicas e/ou fotofísicas de derivados das xanten-9-onas e dos carbazoles	145
2. Apresentação e discussão dos resultados	146
2.1. Síntese de derivados de piranoxantonas	146
2.1.1. Síntese de piranoxantonas via formilação de hidroxixanten-9-onas	146
2.1.2. Síntese de derivados de piranoxantonas via xantenos	150
2.2. Síntese de derivados de piranocarbazoles	154
2.2.1. Formilação do carbazol-2-ol	155
2.2.2. Formação do anel de piranona	156
2.3. Caracterização estrutural dos compostos sintetizados	156
2.3.1. Caracterização genérica dos compostos sintetizados	156
2.3.2. Espectroscopia de RMN mono e bidimensional dos derivados de piranoxantonas e de piranocarbazoles	157
2.3.3. Espectrometria de massa dos derivados dos derivados de piranoxantonas e de piranocarbazoles	165
3. Conclusões	167
4. Parte experimental	167
4.1. Síntese de piranoxantonas <i>via</i> formilação de hidroxixanten-9-onas	167
4.2. Síntese de piranoxantonas <i>via</i> xantenos	174
4.3. Síntese de piranocarbazoles	179
5. Referências	183

CAPÍTULO V – Estudos Fotofísicos, Fotoquímicos e Biológicos	187
<i>Parte A: Estudos fotoquímicos e fotofísicos</i>	188
1. Contextualização	188
1.1. Objectivo deste estudo	188
1.2. Os psoralenos como fotossensibilizadores na formação de oxigénio singuleto	189
2. Apresentação e discussão dos resultados	193
2.1. Determinação do rendimento de formação de oxigénio singuleto e de outras constantes fotofísicas	193
2.1.1. Métodos fotoquímicos: utilização de supressores	194
2.1.2. Métodos fotofísicos: medidas temporais baseadas na fosforescência do oxigénio singuleto	200
2.1.3. Resultados finais	200
3. Conclusões	203
4. Parte experimental	204
4.1. Determinação do rendimento de formação de $^1\text{O}_2$ pelo método fotoquímico	204
4.2. Determinação do rendimento de formação de $^1\text{O}_2$ através da sua fosforescência ...	205
5. Referências	205
<i>Parte B: Estudos biológicos</i>	207
1. Contextualização: objectivo deste estudo	207
2. Apresentação e discussão dos resultados	208
2.1. Actividade antiproliferativa dos compostos sintetizados em linhas celulares tumorais humanas	208
3. Conclusões	210
4. Parte experimental	210
5. Referências	211
<i>Epílogo – Conclusões Gerais e Perspectivas</i>	213

Abreviaturas, Siglas e Símbolos

A375	Linha celular de tumor humano (células de melanoma maligno)
Ac	Grupo acetilo: CH ₃ C(O)-
Acetona-d ₆	Acetona deuterada
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AGF	Adição de Grupo Funcional
ARN	Ácido ribonucleico
AUFs	Valor de absorvância máxima da escala (<i>Absorbance Units Full scale</i>)
B3LYP	Funcional híbrido composto pelos funcionais de troca de três parâmetros de Becke e de correlação de Lee, Yang e Parr
Bu	Grupo butilo: CH ₃ (CH ₂) ₃ -
Cap.	Capítulo
CC	Cromatografia em Coluna
CCF	Cromatografia em Camada Fina
Conc.	Concentrado
CP	Cromatografia Preparativa
3-CPS	Psoraleno-3-carboxilato de etilo
d	Dupleto
D	Deutério
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo dupleto de dupletos
dl	Dupleto largo
dil.	Diluído
DFT	Teoria do funcional da densidade (<i>Density Functional Theory</i>)
DMF	Dimetilformamida: (CH ₃) ₂ NCHO
DMG	Grupo orientador de metalação (<i>Director Metalation Group</i>)
DMSO	Dimetilssulfóxido: (CH ₃) ₂ SO
DMSO- d ₆	Dimetilssulfóxido deuterado
DoM	<i>ortho</i> -Metalação orientada (<i>Directed ortho Metalation</i>)

DPC	Ligação cruzada ADN-proteína (<i>DNA-protein cross-link</i>)
dt	Duplo triplete
<i>e. g.</i>	<i>exempli gratia</i> (do Latim, por exemplo)
EGF	Factor de crescimento da epiderme (<i>Epidermal Growth Factor</i>)
EM	Espectrometria de Massa
EM-AR	Espectrometria de Massa de Alta Resolução
Eq.	Equação
<i>et al.</i>	<i>et alia</i> (do Latim, referência a outras pessoas)
Et	Grupo etilo (-CH ₂ -CH ₃)
FBS	Soro bovino fetal (<i>Fetal Bovine Serum</i>)
GI ₅₀	Concentração do composto que causa 50 % de inibição do crescimento celular (<i>Growth Inhibition</i>)
HeLa	Linha celular de tumor humano (células de adenocarcinoma do cérvix)
HL-60	Linha celular de tumor humano (células de leucemia promielocítica)
HMBC	Correlação espectroscópica heteronuclear bidimensional, a longa distância (<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>)
HMQC	Correlação espectroscópica heteronuclear bidimensional (<i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>)
HMTA	Hexametenotetramina: (CH ₂) ₆ N ₄
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
ICL	Ligação cruzada entre cadeias de ADN (<i>Interstrand Cross-Link</i>)
IE	Impacto Electrónico
Int. rel.	Intensidade relativa
ISC	Cruzamento entre sistemas (<i>Intersystem Crossing</i>)
ISO	Organização Internacional de Normalização (<i>International Organization for Standardization</i>)
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
K1	Linha celular de tumor humano (células de carcinoma da tiróide)
Lit.	Literatura

m	Multiplete
M^+	Ião molecular
Me	Grupo metilo (CH_3 -)
m/z	Razão massa / carga do ião
5-MOP	5-Metoxipsoraleno
8-MOP	8-Metoxipsoraleno
<i>N</i> -MFA	<i>N</i> - Metilformanilida: $\text{PhN}(\text{Me})\text{CHO}$
NP	Norma portuguesa
p.e.	Ponto de ebulição
p.f.	Ponto de fusão
Ph	Grupo fenilo (C_6H_5 -)
PM3	Parametrização 3 do método MNDO (<i>Modified Neglect of Diatomic Orbitals</i>) (<i>Parametric Method 3</i>)
PUVA	Psoraleno + UVA
refl.	Refluxo
RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
RMS	Valor quadrático médio (<i>Root Mean Square</i>)
RPMI-1640	Meio de cultura (nome devido a <i>Roswell Park Memorial Institute</i>)
s	Singuleto (em RMN)
S	Estado molecular singuleto
<i>sec</i> -Bu	Grupo $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$
SEM	Erro padrão do valor médio (<i>Standard Error of the Mean</i>)
sl	Singuleto largo
SPQ	Sociedade Portuguesa de Química
t	Triplete
T	Estado molecular tripleto
TFA	Ácido trifluoroacético: $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$
<i>tert</i> -Bu	Grupo $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$
tl	Triplete largo
THF	Tetra-hidrofurano
TMA	4,6,4'-Trimetilangelicina
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetrametiletilenodiamina: $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$
TMP	4,5',8-Trimetilpsoraleno

u. a.	Unidade arbitrária
UHF	Teoria de Hartree-Fock de spin não restrito (<i>Spin Unrestricted Hartree-Fock theory</i>)
UV	Ultravioleta (espectroscopia de absorção UV-Vísivel)
UVA	Radiação ultravioleta A (320-400 nm)
UVB	Radiação ultravioleta B (290-320 nm)
X	Halogéneo
ZINDO/S	<i>Zerner Intermediate Neglect of Differential Overlap - Spectroscopical version</i>
δ	Desvio químico
Δ	Aquecimento / variação
ϵ	Coefficiente de absorção molar
ϕ	Rendimento quântico
η	Rendimento
$\lambda_{\text{máx}}$	Comprimento de onda, onde ocorre um máximo de absorção

Notas Introdutórias

1. O grupo de trabalho

O trabalho de síntese foi realizado no Departamento de Química da Universidade do Minho, com a orientação conjunta das Professoras Doutoradas Ana Maria Ferreira de Oliveira Campos e Maria Manuela Marques Raposo.

Os espectros de RMN e as análises elementares foram obtidos pela Dra. Elisa Pinto, na Universidade do Minho. Os espectros de massa foram realizados na Universidade de Vigo.

A determinação experimental das propriedades fotoquímicas e fotofísicas e os estudos de modelação molecular foram realizados pelo grupo do Prof. Doutor António Eduardo da Hora Machado, da Universidade da Uberlândia, tendo tido a minha colaboração numa visita de trabalho a esta universidade.

As propriedades biológicas foram determinadas no Centro de Estudos de Química Orgânica, Fitoquímica e Farmacologia da Universidade do Porto (CEQOFFUP) da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, pelo grupo da Prof. Doutora Maria de São José Nascimento.

2. Publicações e comunicações

A maioria dos resultados apresentados nesta tese consta das publicações e comunicações indicadas a seguir.

i) Publicações

Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Rodrigues, L. M.; Raposo, M. M. M.; Machado, A. E. H.; Severino, S.; Borges, M. F. R.; Ferreira, S. K.; Nascimento, M. S. J.; Nazareth, N.; Pinto, M. - Derivatives of xanthenes and carbazoles: synthesis, singlet oxygen formation and *in vitro* antitumor activity. *Em preparação*.

Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Raposo, M. M. M.; Machado, A. E. H.; Puapairoj, P.; Pedro, M.; Nascimento, M. S. J.; Portela, C.; Afonso, C.; Pinto M. - Psoralen analogues: synthesis, inhibitory activity of growth of human cancer cell lines and structure-activity relationship. *Submetido*.

Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Raposo, M. M. M.; Griffiths, J.; Machado, A. E. H. - Fries Rearrangement of dibenzofuran-2-yl-ethanoate under photochemical and Lewis-acid-catalysed conditions. *Tetrahedron*, 60 (2004) 6145-6154.

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

ii) Comunicações orais

Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Raposo, M. M. M. - *Síntese de Análogos do Psoraleno*. Comunicação Oral, O4-16, XV Encontro Galego – Português de Química, Corunha, Nov. 2001

iii) Comunicações em póster

Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Rodrigues, L. M.; Raposo, M. M. M.; Machado, A. E. H.; Severino, D.; Borges, M. F. R.; Ferreira, S. J.; Nascimento, M. S. J.; Nazareth, N.; Pinto, M. – *Oxopyranocarbazoles: synthesis, singlet oxygen formation and in vitro antitumor activity*. Comunicação em Poster, P56, 6º Encontro Nacional de Química Orgânica, Braga, Jul. 2005

Machado, A. E. H.; Severino, D.; Borges, M. F. R.; Ferreira, S. K.; Oliveira, A. M. A. G.; Rodrigues, L. M.; Raposo, M. M. M.; Oliveira-Campos, A. M. F.- *Fotofísica e capacidade de sensibilização da geração de oxigênio singlete de derivados de xantonas*. Comunicação em Póster, 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Brasil, 2005.

Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Rodrigues, L. M.; Raposo, M. M. M.; Machado, A. E. H - *Synthesis of Derivatives of 2-Oxo-pyrano-xanthen-9-ones*, Comunicação em Póster, TP27, XXIst European Colloquium on Heterocyclic Chemistry, Sopron – Hungary, Sept. 2004.

Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Raposo, M. M. M.; Machado, A. E. H. - *Fries Rearrangement of 2-Acetoxydibenzofuran Under Photochemical and Acid-catalysed Conditions*. Comunicação em Póster, PO52, 5^o Encontro Nacional de Química Orgânica e 1^o Simpósio Luso – Japonês, Aveiro, Jul. 2003

Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Raposo, M. M. M.; Griffiths, J. - *Synthesis of Ortho-Hydroxyaldehydes from Heterocyclic Compounds*. Comunicação em Póster, A89, 19th European Colloquium on Heterocyclic Chemistry, Aveiro, Jul. 2000.

Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Raposo, M. M. M. - *Síntese da 3-etoxicarbonil-pirano[5,6-b]xanteno-2-ona*. Comunicação em Póster, P55, XVII Encontro Nacional da SPQ, Lisboa, Mar. 2000.

3. Estrutura e normas utilizadas nesta tese

i) Nomenclatura

Nesta tese seguiram-se os princípios gerais da nomenclatura da Química Orgânica, tais como foram definidos pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), em 1979, e pelas recomendações de 1993, de acordo com a tradução para a Língua Portuguesa, realizada com a supervisão da mesma organização e da SPQ (Sociedade Portuguesa de Química).¹ Para sistemas de anéis fundidos seguiram-se as recomendações, publicadas pela IUPAC, apenas em Língua Inglesa.² Foram utilizados ao longo desta tese alguns nomes triviais, tais como psoraleno, cumarina, etc.,

¹ IUPAC, Organic Chemistry Division, Commission on Nomenclature of Organic Chemistry (III.1), SPQ - *Guia IUPAC para a Nomenclatura de Compostos Orgânicos*. Lidel, 2002.

² IUPAC, Organic Chemistry Division, Commission on Nomenclature of Organic Chemistry (III.1), preparado por G. P. Moss - Nomenclature of fused and bridged fused ring systems. *Pure & Appl. Chem.*, 70:1 (1998) 143-216.

sendo, todavia, efectuada referência aos nomes sistemáticos correspondentes. Os nomes e fórmulas químicas dos compostos inorgânicos foram escritos também de acordo com as recomendações da IUPAC.³

Os termos em Latim ou em Inglês foram realçados no texto, em itálico ou de outras formas convenientes. Relativamente a termos relacionados com a fotoquímica, foram utilizados aqueles que são recomendados pela IUPAC e que foram traduzidos para a Língua Portuguesa.⁴

ii) Grandezas, símbolos e unidades

Utilizou-se, de uma forma geral, a terminologia e simbologia do Sistema Internacional de Unidades (SI), seguindo-se as recomendações publicadas em Língua Portuguesa⁵. Contudo, algumas unidades que não fazem parte do sistema internacional, mas que são ainda aceites foram também usadas por tornarem mais fácil a compreensão da tese, tais como a hora (h) ou o grau Celsius (°C).

iii) Numeração de compostos, tabelas e figuras e indicação das referências bibliográficas

A numeração dos compostos, figuras e tabelas é independente em cada capítulo e sub-capítulo, salvo excepções ressalvadas.

As referências são indicadas no texto pelo apelido do primeiro autor e ano de publicação. A lista de referências encontra-se, no fim de cada capítulo, disposta por ordem alfabética do apelido do primeiro autor, obedecendo, genericamente, às normas portuguesas ISO 690 / NP 405, com excepção da indicação, considerada obrigatória, do ISBN (*International Standard Book Number*) ou do ISSN (*International Standard Serial Number*)⁶.

³ a) IUPAC, *Provisional Recommendations . Nomenclature of Inorganic Chemistry*. Acedido em 7 de Julho de 2005, em http://www.iupac.org/reports/provisional/abstract04/connelly_310804.html. b) Corrêa, C. - HO⁻ ou OH⁻? *Química*, 85 (2002) 72.

⁴ Burrows, H. D.; Neumann, M. G. – Glossário de Termos em Fotoquímica. *Química*, 54 (1994) 13-16.

⁵ Almeida, Guilherme - *Sistema Internacional de Unidades (SI): Grandezas, Unidades Físicas, Terminologia, Símbolos e Recomendações*. Plátano – Edições Técnicas, 2002.

⁶ SDUM - Serviços de Documentação Universidade do Minho - *Guia para a elaboração de referências bibliográficas*, 2004. Acedido em 31 de Março de 2005, em <http://www.sdum.uminho.pt/site/guias/referencias.asp>.

CAPÍTULO I

**Furocumarinas e Derivados:
História, Estrutura, Ocorrência na Natureza,
Métodos de Síntese e Propriedades**

1. Psoraleno e derivados: breve história do seu uso clínico

O uso de fármacos em associação com a luz ultravioleta para o tratamento de doenças de pele remonta já ao antigo Egípto, Índia e Grécia (Ropp, 2004). O tratamento da doença de pele chamada vitiligo (ver Apêndice 1), no Egípto e na Índia, encontra-se registado em documentos escritos, provando que existe desde 2000-1200 AC. Eram usadas certas plantas umbelíferas, como, por exemplo *Ammi majus* L. (Egípto) ou leguminosas, tal como, *Psoralea corylifolia* L. (Índia). Os “curandeiros” faziam preparações de extractos a quente dessas plantas (folhas, sementes, raízes) que eram ingeridos como infusões ou aplicados na pele. O paciente expunha-se depois ao Sol (Pathak, 1992).

Em 1834, Kalbruner isolou o 5-metoxipsoraleno (5-MOP) do óleo de bergamota. Cerca de 100 anos depois, em 1931, Phyladelphia mostrou que a luz do Sol tinha um papel vital na interacção entre os psoralenos e as moléculas biológicas (Song, 1979). Em 1933, Jois, Manjunath e Rao isolaram da planta indiana *Psoralea corylifolia*, o psoraleno (Horning, 1950).

Na década de 1940, o Professor Abdel Monem El Mofty do Departamento de Dermatologia da Escola Universitária de Medicina do Cairo, usou, pela primeira vez, o 8-metoxipsoraleno (8-MOP), em aplicação tópica ou administrado por via oral, seguido de exposição à luz solar, no tratamento do vitiligo. O psoraleno foi isolado da planta *Ammi majus* L. pelo egípcio Fahmy e colaboradores. Nos anos seguintes, extraíram-se e isolaram-se psoralenos, a partir de plantas, e desenvolveram-se estudos físico-químicos e clínicos na Escola de Medicina de Harvard (EUA) e na Universidade de Pádua (Itália). Apenas cerca de 3 décadas depois, em 1974, é que dermatologistas da Escola de Medicina de Harvard administraram, oralmente, o 8-MOP para o tratamento da psoríase (ver Apêndice 2) em combinação com uma fonte artificial de radiação UVA (320-400 nm) (Pathak, 1992).

Foram desenvolvidos estudos clínicos entre 1975 e 1980, com 2000 pacientes, nos Estados Unidos da América, e cerca de 3000, na Europa. Estas investigações confirmaram um grau de eficácia elevado da terapia PUVA (psoraleno + UVA) para o tratamento da psoríase, quando eram administradas as doses adequadas de psoraleno e de radiação (Pathak, 1992).

Apesar da terapia PUVA se ter tornado comum e permitir tratar cerca de 90 % dos doentes com psoríase, em 1975, os dermatologistas reconheceram que a sua aplicação pode causar vários efeitos secundários como eritema e prurido e, em tratamentos longos, pode provocar cancro de pele (Lauharanta, 1997, Ledo 2000; Lowe, 1997; Pathak, 1992).

Em 1978, conseguiu-se um avanço decisivo com a combinação da terapia PUVA e a administração oral de retinóides (análogos sintéticos da vitamina A). Os retinóides aceleram o processo reduzindo, para 1/3, o tempo da terapia e o número de tratamentos e, para 1/2, a energia UVA necessária, diminuindo ainda o risco de cancro. Outros compostos, como o 5-metoxipsoraleno (5-MOP), também têm sido utilizados em substituição do 8-MOP, por produzirem menos efeitos secundários (Pathak, 1992).

No entanto, ainda hoje os efeitos secundários do tratamento PUVA constituem um tema controverso, tendo mesmo sido demonstrado que os psoralenos podem ser efectivos no tratamento do melanoma cutâneo (Leite, 2004). Outros estudos demonstram que em determinadas condições, como por exemplo, no tratamento sem ingestão do fármaco (aplicação em banho), não há o risco de cancro de pele, sendo também este risco minimizado, quando se usam outras terapias em combinação com a PUVA (Lauharanta, 1997; Pathak, 1992).

Actualmente, o tratamento PUVA, é utilizado em outras doenças para além da psoríase, tais como, dermatite atópica e da mão e outros eczemas, linfoma cutâneo de células T (conhecido como micose fungóide), pitíriase liquenóide, pustulose plantar, vitiligo, esclerose sistémica, artrite reumatóide e lúpus eritematoso sistémico, entre outras (Bordin, 1999; Ledo, 2000; Leite, 2004; Pathak, 1992).

Algumas dessas doenças são tratadas segundo um desenvolvimento recente da terapia PUVA chamado fotoquimioterapia extracorporal (fotoforese). A principal diferença da terapia PUVA clássica é a não exposição das células da pele à radiação, depois da absorção do 8-MOP. Nesta terapia, após ser administrado oralmente o 8-MOP, recolhe-se e separa-se o sangue do paciente em três fracções: eritrócitos, leucócitos e plasma. Devolvem-se os eritrócitos ao paciente e, apenas, os leucócitos e o plasma são expostos à radiação, sendo depois também devolvidos ao paciente. Após mais de uma década de tratamento, com esta terapia, de doenças como o linfoma das células T e a esclerose sistémica, apenas se registou a náusea como efeito secundário. Nos últimos anos, esta metodologia começou também a ser estudada como terapia

preventiva, na proteção de peles sensíveis, do risco de cancro, na descontaminação de sangue ou produtos sanguíneos usados em transfusões (anti-virais incluindo anti-HIV e anti-hepatite) e na inativação de agentes infecciosos em transfusões celulares (Chen, 1997; Edelson, 1991; Iperen, 1997; Pathak, 1992; Wolnicka-Glubisz, 2002).

Convém ainda referir os análogos angulares dos psoralenos, chamados angelicinas, que se obtêm também de plantas e que são conhecidos pelas suas propriedades antifúngicas (Sardari, 1999).

A utilização da radiação, em conjunto com alguns fármacos, abriu o caminho para novas possibilidades terapêuticas associadas a uma nova ciência: a fotomedicina. Aqui se inclui a Terapia Fotodinâmica que tem tido um enorme desenvolvimento nos últimos anos no que se refere ao tratamento de tumores na pele, na língua, nos seios ou no cérebro (Ledo, 2000; Pathak, 1992).

Não obstante, os psoralenos têm também propriedades farmacológicas, na ausência de radiação, como no tratamento da depressão e da esclerose múltipla, por bloquearem os canais de potássio (Miolo, 1999).

Fora da área clínica, os psoralenos são utilizados em estudos de biologia molecular, como reagentes fotoquímicos para a investigação da estrutura dos ácidos nucleicos e, na agricultura, no combate a pragas (Llano, 2003; Mal, 1998; Song, 1979; Stevenson, 2003).

O interesse gerado por este tipo de compostos é bem demonstrado pela aposta que grupos de diversos países, como Itália (Rodighiero, 1990), EUA (Song, 1979), Austrália (Macleod, 1978), Alemanha (Tatchen, 2004), Egipto (Pathak, 1992), Rússia (Potapenko, 1991), Polónia (Zarebska, 2000), Hungria (Vidóczy, 1992), Inglaterra (Bridges, 1971), Espanha (Gia, Uriarte *et al.* 2005), França (Averbeck, 1992), Suécia (Llano, 2003), Holanda (Henegouwen, 1989), Brasil (Lage, 2003) e Portugal, entre outros, têm feito na investigação sobre a síntese e as propriedades de psoralenos e análogos com propriedades terapêuticas superiores.

2. Estrutura de psoralenos e angelicinas

O psoraleno não substituído, **1**, é um composto aromático tricíclico em que um anel de furano está fundido com uma cumarina e, por isso é, muitas vezes, designado

furocumarina. A atribuição do nome aos psoralenos substituídos obedece, muitas vezes, à numeração indicada na fórmula de estrutura **1a**, que serve de base a vários dos nomes atribuídos aos psoralenos utilizados ao nível clínico, como por exemplo 8-MOP (8-metoxipsoraleno, **2**) (Figuras 1 e 2). Todavia, o nome do psoraleno, segundo as normas da IUPAC, é *7H-furo[3,2-g]cromen-7-ona* (=7*H*-furo[3,2-*g*][1]benzopiran-7-ona) e atende à numeração que se encontra indicada na estrutura **1b** (Figura 1). A numeração atribuída a este sistema tricíclico obedece, entre outras, à regra de que os átomos de carbono, incluindo os quaternários, devem ter a numeração mais baixa possível.

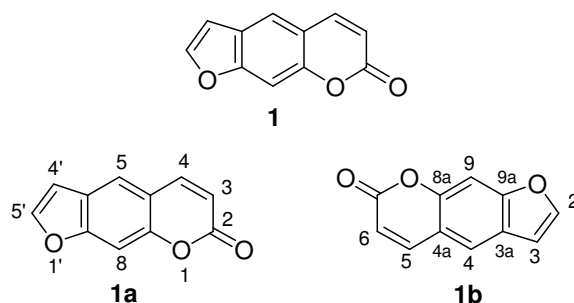


Figura 1- Estrutura do psoraleno (**1**) e numeração tradicional (**1a**) e sistemática IUPAC (**1b**).

Neste capítulo, adoptar-se-á a nomenclatura tradicional, por ser aquela que é mais utilizada na literatura e que, por isso, tornará mais simples a possível consulta de algumas das referências bibliográficas que servem de base a este capítulo.

Assim, por exemplo, são referidos e utilizados, na medicina, para além do 8-MOP, também chamado, ao nível clínico, metoxsaleno, o 5-MOP, conhecido como bergapteno e o 4,5',8-trimetilpsoraleno (TMP), chamado de trioxsaleno, cujas estruturas são, respectivamente, **2**, **3** e **4** (Figura 2) (Bisagni, 1992; Gia, 1993; Kaufman, 1980; Ledo, 2000; Pathak, 1992).

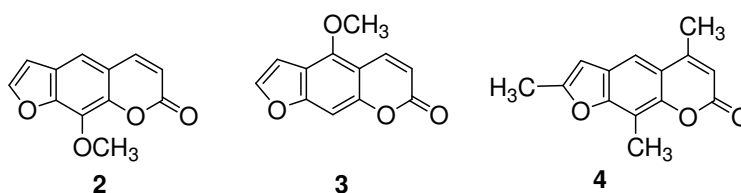


Figura 2 – Fórmulas de estrutura do 8-MOP (**2**), do 5-MOP (**3**) e do TMP (**4**).

O análogo angular mais comum do psoraleno é a angelicina (**5**) (Figura 3). Alguns dos derivados da angelicina são a 4,4',6-trimetilangelicina (TMA, **6**) e a 5-metoxiangelicina (**7**), cujos nomes são atribuídos, tal como no psoraleno, numerando separadamente o anel de furano e o sistema de benzopirano (=2H-cromeno) (Miolo, 1999; Wulff, 1988).

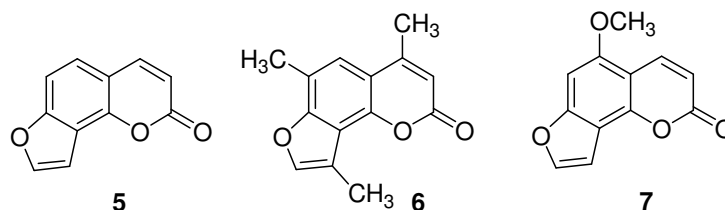


Figura 3 – Fórmulas de estrutura da angelicina (**5**), da 4,4',6-trimetilangelicina (**6**) e da 5-metoxiangelicina (**7**).

3. Ocorrência na Natureza

Os psoralenos são biossintetizados na natureza, existindo num vasto número de plantas pertencentes às famílias Umbelliferae (ou Apiaceae), Rutaceae, Moraceae e Leguminosae (Bisagni, 1992; Caporale, 1981; Gia, 1993; Hubner, 2003; LAE, 2003; Stanjek, 1999).

De plantas da família Rutaceae onde se incluem as árvores que produzem os citrinos como a bergamota (*Citrus bergamia*) e o limoeiro (*Citrus limonus*) podem ser extraídos diversos psoralenos que são, muitas vezes designados de forma diferente, na área dos produtos naturais. Por exemplo, isolaram-se o psoraleno não substituído, o 5-MOP (bergapteno), o 8-MOP (*xanthotoxin*), o 5,8-MOP (5,8-dimetoxipsoraleno - *isopimpinellin*), o BER (5-hidroxipsoraleno - *bergaptol*) e outros psoralenos substituídos (Caporale, 1981; Stevenson, 2003; UMR, 2003).

Todas as furocumarinas referidas para a família Rutaceae, também são comuns, com exceção do *bergaptol*, nas plantas da família Umbelliferae. A angelicina (**5**) é muito comum nesta família e está presente na planta *Angelica archangelica* L., que deu origem ao nome da molécula (UMR, 2003). Na mesma família de plantas podemos encontrar a 5,6-dimetoxiangelicina (*pimpinellin*), por exemplo, na planta *Pimpinella*

major (Burton, 2002) e, também, a 5-metoxiangelicina (*isobergapten*) (7), por exemplo, na *Heracleum persicum* (Aynehchi, 1978).

Na família Leguminosae apenas dois gêneros de plantas, o *Psoralea* e o *Coronilla*, são conhecidos por conterem furocumarinas. As espécies destes gêneros de plantas contêm, geralmente, para além do psoraleno não substituído, a angelicina (UMR, 2003).

Nos anos mais recentes, continuaram a ser isolados, de diversas plantas, psoralenos substituídos, tais como os compostos **8a** e **8b**, da planta *Harbouria trachypleura* (Umbelliferae) (Guz, 2001), os compostos **9** (5,8-MOP) e **10**, dos frutos da árvore ornamental *Tetradium daniellii* (Rutaceae) (Stevenson, 2003) (Figura 4).

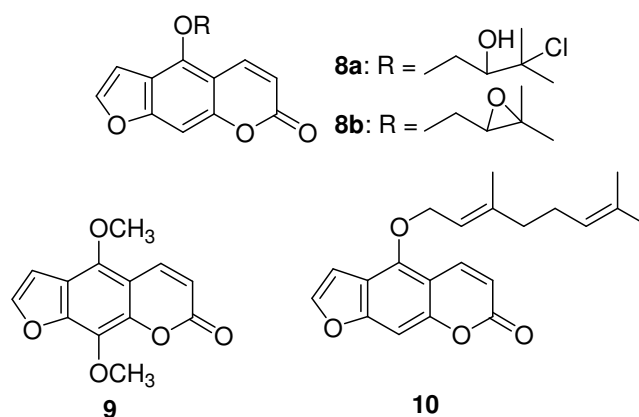


Figura 4 – Fórmulas de estrutura de alguns psoralenos substituídos isolados de diversas plantas.

Outros derivados, **11** e **12**, contendo substituintes heterocíclicos, foram isolados da planta *Dorstenia elliptica* (Moraceae) (Abegaz, 2004) (Figura 5).

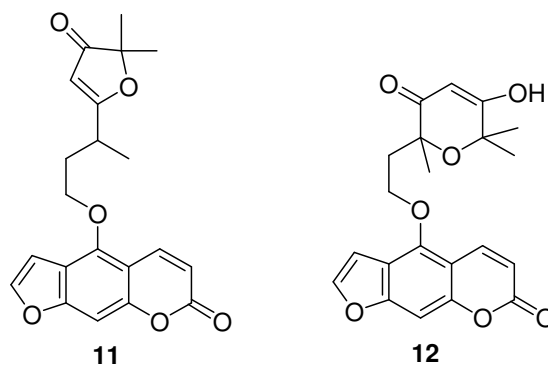


Figura 5 – Fórmulas de estrutura de alguns psoralenos, com substituintes mais complexos, obtidos a partir da planta *Dorstenia elliptica* (Moraceae).

4. Métodos de síntese de psoralenos e angelicinas

A primeira síntese de furocumarinas foi descrita, em 1934, por Späth e colaboradores e, desde essa data, tem continuado a procura de novas vias de síntese mais eficientes (Bisagni, 1992; Horning, 1948 e 1950).

Até aos anos 80, existiam essencialmente dois métodos gerais de síntese que, de certo modo, se mantiveram até hoje. O primeiro método inicia-se com a síntese de um 2,3-di-hidrobenzofurano, seguindo-se a formação do anel da piranona e, finalmente, a oxidação do anel de furano. O segundo método baseia-se na formação inicial da cumarina (*2H*-cromen-2-ona = *2H*-[1]benzopirano-2-ona), construindo-se depois o anel de furano. Ambos os métodos de síntese usam como precursor o resorcinol (benzeno-1,3-diol) ou os seus derivados.

Há, no entanto, referências a outros métodos, que seguem vias de síntese diversificadas. Por exemplo, alguns partem de precursores diferentes do resorcinol (Mal, 1998; Reed, 1988; Wulff, 1988) e outros apresentam, como passo final, a síntese do anel de piranona (Bisagni, 1992).

4.1. Métodos em que o passo final é a desidrogenação do anel de furano (A)

Na Figura 6, apresenta-se uma análise retrossintética, aplicável a psoralenos, cuja sequência de síntese termina com a desidrogenação, da qual resulta o anel de furano.

Método A

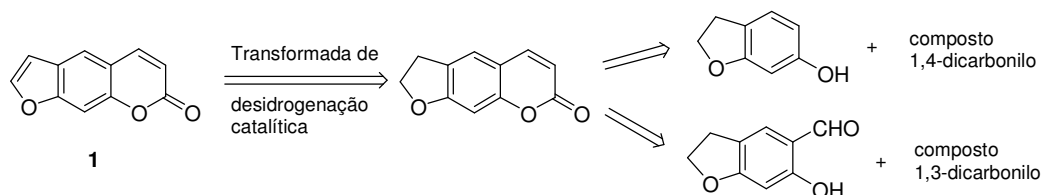


Figura 6 – Análise retrossintética (A) de psoralenos.

A primeira síntese realizada, de acordo com estes métodos, foi efectuada por Späth *et al.* e melhorada por Horning *et al.* e envolve a transformação do resorcinol (**a**) em 2,3-di-hidrobenzofuran-6-ol (**e**) (Figura 7). A reacção do derivado (**e**) com ácido málico e ácido sulfúrico, origina o psoraleno di-hidrogenado (**f**) que é então oxidado ao psoraleno **1** (Bisagni, 1992; Horning, 1948 e 1950).

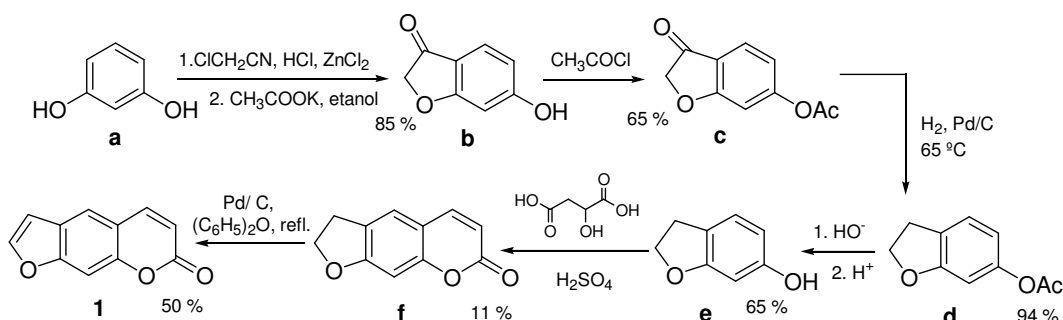


Figura 7 - Esquema da síntese do psoraleno realizada por Horning *et al.*.

Apresenta-se, na Figura 8, uma variante deste método em que o di-hidrobenzofuran-6-ol (**e**) começa por ser formilado (Gattermann), sendo o anel fechado *via* condensação de Knoevenagel. A desidrogenação final permite obter o psoraleno-3-carboxilato de etilo (**13**) conhecido como 3-CPS (Horning, 1948).

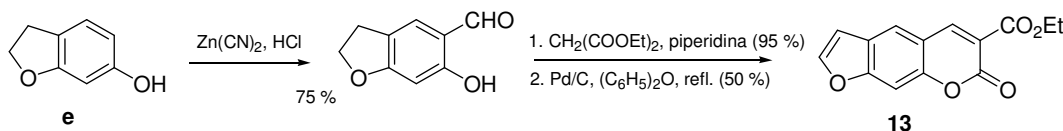


Figura 8 – Síntese do psoraleno-3-carboxilato de etilo (**13**).

Utilizando o mesmo método, mas em que se aplica uma síntese análoga à de Pechmann de cumarinas, para o fecho do anel, podem obter-se psoralenos substituídos na posição 4. A reacção do composto **d**, com o 3-oxobutanoato de etilo (CH₃COCH₂CO₂Et), em meio ácido, permite fechar o anel, com bons rendimentos, realizando-se, de seguida, a oxidação, de modo a obter-se o 4-metilpsoraleno (**14**) (Bisagni, 1992; Horning, 1950) (Figura 9).

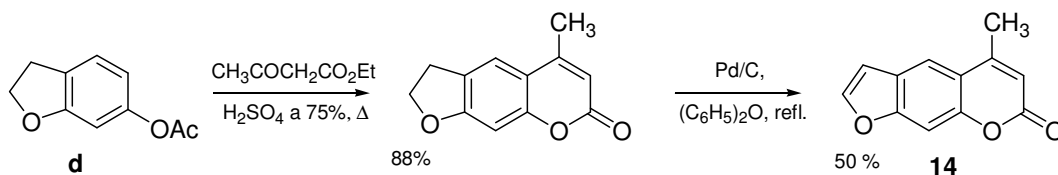


Figura 9 – Síntese do 4-metilpsoraleno (**14**) seguindo uma via análoga à de Pechmann de fecho do anel de cumarinas.

4.2. Métodos em que o passo final é a formação do anel de furano (B)

Estes métodos de síntese usam a 7-hidroxycumarina como precursora sendo a formação do anel de furano o último passo reaccional.

Esta metodologia foi, em 1935, proposta por Ray e colaboradores tendo sido, posteriormente, usada por vários investigadores. A 7-hidroxycumarina (*umbelliferona*) de partida pode ser sintetizada a partir do resorcinol e ácido málico (condensação de Pechmann) (Bisagni, 1992; Chimichi, 2002; MacLeod, 1972).

Na Figura 10, apresenta-se a análise retrossintética simplificada de psoralenos, em que as vias de síntese seguem o tipo de metodologia referido acima.

Métodos B

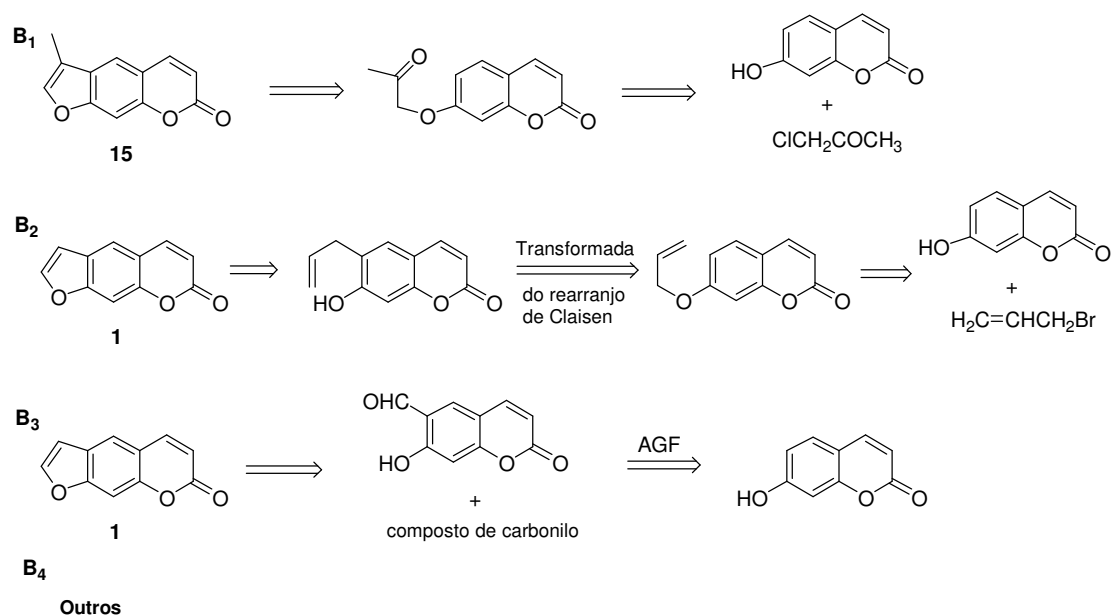


Figura 10 – Análise retrossintética (B) de psoralenos.

Método B₁

O método B₁ (Figura 10) envolve a formação de um derivado acetilo ou fenacilo da cumarina por reacção desta com cloroacetona ou bromoacetofenona. Segundo os autores, o fecho do anel, na posição 6 da cumarina, é análogo a uma condensação aldólica intramolecular. A ciclização é regioespecífica, resultando sempre o composto linear (MacLeod, 1972). Esta via de síntese permitiu, inicialmente, a obtenção de psoralenos substituídos na posição 4' do anel do furano e / ou na posição 4 da cumarina, tal como o 4,4'-dimetilpsoraleno, sendo, neste caso, o precursor a 7-hidroxi-4-metilcumarina (MacLeod, 1972).

A título de exemplo descreve-se, na Figura 11, a síntese do 4'-metilpsoraleno, por condensação da 7-hidroxycumarina (**a**) com cloroacetona, em acetona / K₂CO₃, resultando o composto **b**, com rendimentos elevados. O tratamento de compostos do tipo **b** com solução aquosa de KHO 0,1 mol/dm³, em refluxo, durante 6 horas, produz psoralenos substituídos com um rendimento superior a 80 % (MacLeod, 1972). Inicialmente, houve vários investigadores que não conseguiram a ciclização desse composto e só, nos anos 70, MacLeod *et al.* (1972 e 1978) definiram as condições experimentais que determinaram o sucesso deste método.

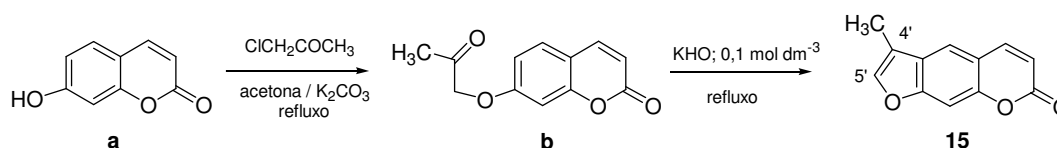


Figura 11 - Síntese do psoraleno **15**.

Gia *et al.* (1992) obtiveram furocumarinas, substituídas em várias posições da cumarina e em 4' do furano (*e.g.* 3,4',8-trimetilpsoraleno e 3,4'-dimetilpsoraleno), efectuando o refluxo em solução de KHO 0,1 mol/dm³, em etanol / água 1:1. Chimichi *et al.* (2002a e 2002b) prepararam vários psoralenos substituídos nas posições 4' e também 5' do anel furano, com bons rendimentos, aplicando pequenas alterações a este método.

Método B₂

A estratégia de síntese B₂ (ver Figura 10) baseia-se no rearranjo de Claisen de 7-aliloxicumarinas. Kaufman, seguindo esta via, preparou diversos psoralenos lineares e angulares, com substituintes em 5' e noutras posições. Na Figura 12, apresenta-se a síntese do TMP (4,5',8-trimetilpsoraleno (**4**)), com um rendimento global de 28 %, usando como precursores, a cumarina **a** e o brometo de alilo (Kaufman, 1961).

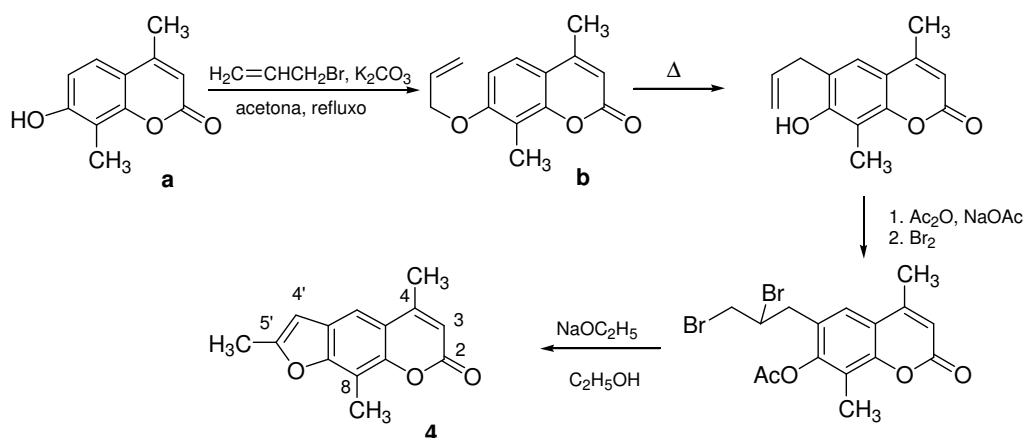


Figura 12 - Síntese de psoralenos substituídos, com base no rearranjo de Claisen.

Posteriormente, Kaufman e Hewitt (1980) comunicaram uma síntese mais eficiente de vários derivados angulares e lineares usando alterações ao método descrito atrás; veja-se por exemplo a síntese da 4,5'-dimetilangelicina (**16**) (Figura 13).

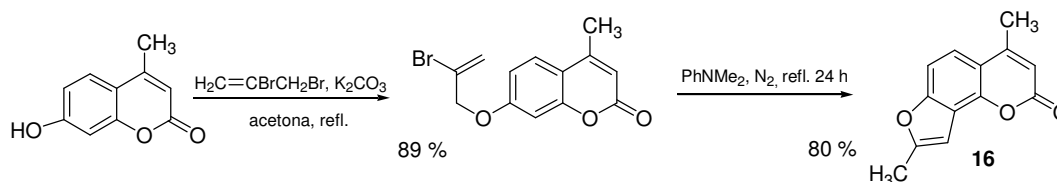


Figura 13 - Esquema da síntese da 4,5'-dimetilangelicina (**16**).

Na mesma altura, Bender *et al.* (1979) sugeriram alterações a este método que conduziram a um rendimento ainda mais elevado. Na Figura 14, descreve-se o método proposto para a síntese do TMP (**4**).

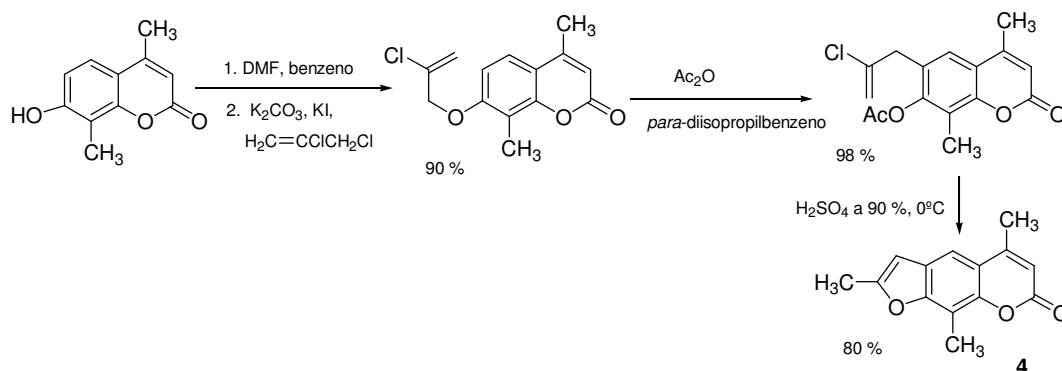


Figura 14 - Síntese do TMP (4) usando o método de Bender *et al.*.

Método B₃

O método B₃ (ver Figura 10) de síntese de psoralenos, em que o passo final é a formação do anel de furano, inicia-se pela formilação da hidroxycumarina, podendo obter-se compostos lineares ou angulares. O esquema representado na figura seguinte traduz a formação da angelicina (5), através deste método (Bisagni, 1992).

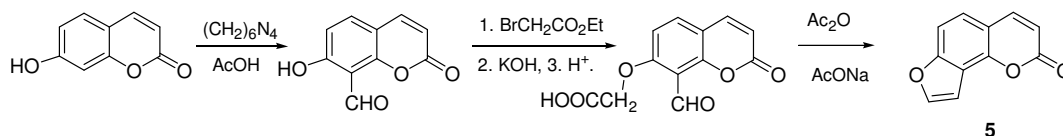


Figura 15 - Método de síntese da angelicina (5).

Convém referir que uma das formas de sintetizar o 8-metoxipsoraleno é análoga à que acabou de se descrever na Figura 15, mas tendo como precursor a 7-hidroxi-8-metoxicumarina. Deste modo, após formilação da cumarina, na posição 6, ocorre o fecho do anel obtendo-se o 8-MOP (Bisagni, 1992).

Partindo da 7-hidroxi-8-metilcumarina Carlassare *et al.*, em 1990, obtiveram vários derivados do acetilpsoraleno. O primeiro passo é, tal como no caso anterior, a formilação de Duff da cumarina com hexametenotetramina e ácido acético (20 %). Refluxando o produto formilado, com cloroacetona e carbonato de potássio, em ácido acético, obtém-se o 5'-acetil-8-metilpsoraleno (17) (38 %) (Figura 16). Seguindo a

mesma estratégia, pode preparar-se o 5'-acetil-4,8-dimetilpsoraleno com maior rendimento (25 % e 66 %, respectivamente, para a formação e fecho do anel).

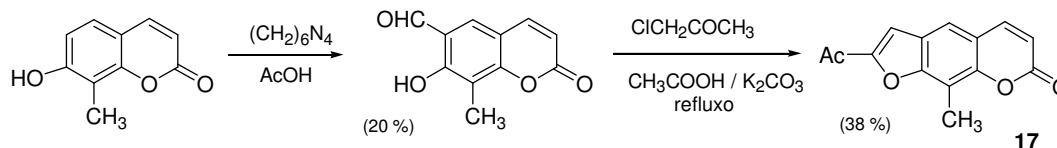


Figura 16 - Síntese do psoraleno acetilado **17**, *via* formilação de Duff.

Outros métodos em que o passo final é a formação do anel de furano (B₄)

O psoraleno e a angelicina não substituídos podem ser sintetizados, simultaneamente, a partir da 7-hidroxycumarina e do 4-cloro-1,3-dioxolano, sendo esta, a via mais directa para a obtenção destes compostos (Bisagni, 1992) (Figura 17). Este é também um exemplo, entre outros já descritos, em que a estratégia de síntese permite obter uma mistura dos compostos angular e linear.

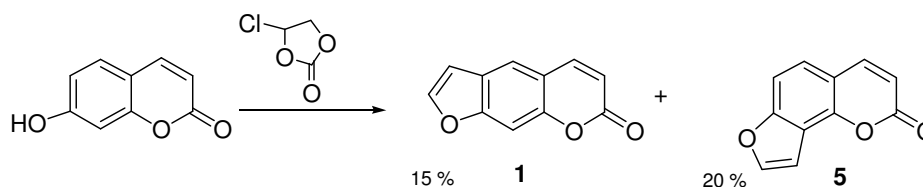


Figura 17 - Via mais directa para obtenção do psoraleno e da angelicina.

Traven *et al.* (2004) prepararam derivados do psoraleno e da angelicina, com base no rearranjo de Fries. Mais uma vez, foram utilizadas cumarinas substituídas, como precursores, neste caso, 7-acetiloxicumarinas (Figura 18). Após o rearranjo, o fecho do anel, com α -haloacetonas e K_2CO_3 , origina o psoraleno ou a angelicina pretendidos. Na figura seguinte está representada a síntese da 5'-acetil-4'-metilangelicina (**18**).

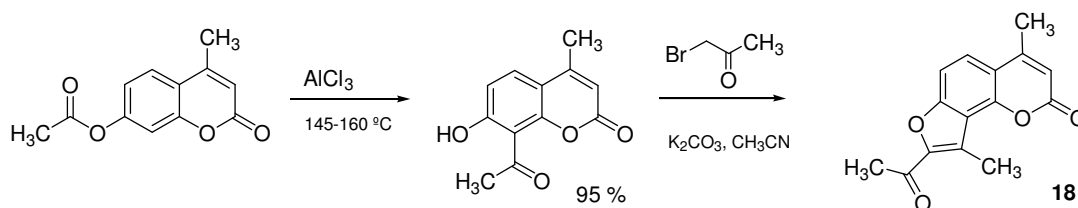


Figura 18 - Síntese de angelicinas através do rearranjo de Fries catalisado por $AlCl_3$.

Quando a posição 8 da cumarina precursora está ocupada, por exemplo com um grupo etilo, o rearranjo ocorre para a posição 6 e dá origem a psoralenos substituídos. De acordo com esta via, apresenta-se, na Figura 19, o rearranjo de Fries menos usual da cumarina **a**. Esta origina, directamente o anel de di-hidrofuranona (**b**) que é, posteriormente, reduzido e desidrogenado, originando o derivado do psoraleno **19** (Traven, 2004).

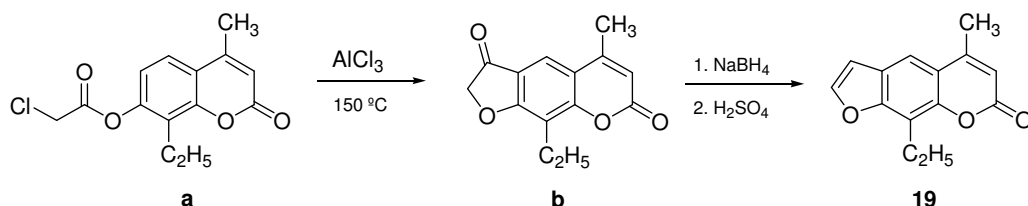


Figura 19 - Síntese de psoralenos através do rearranjo de Fries de cloroacetoxicumarinas (**a**).

Bender *et al.* (1979) desenvolveram também um outro método de síntese de 5'-metilpsoralenos, mais especificamente do TMP (**4**), através da formação de ariloximas (**c**) e a sua transformação no psoraleno, segundo uma reacção análoga à síntese de Fischer de indoles, com bons rendimentos (Figura 20).

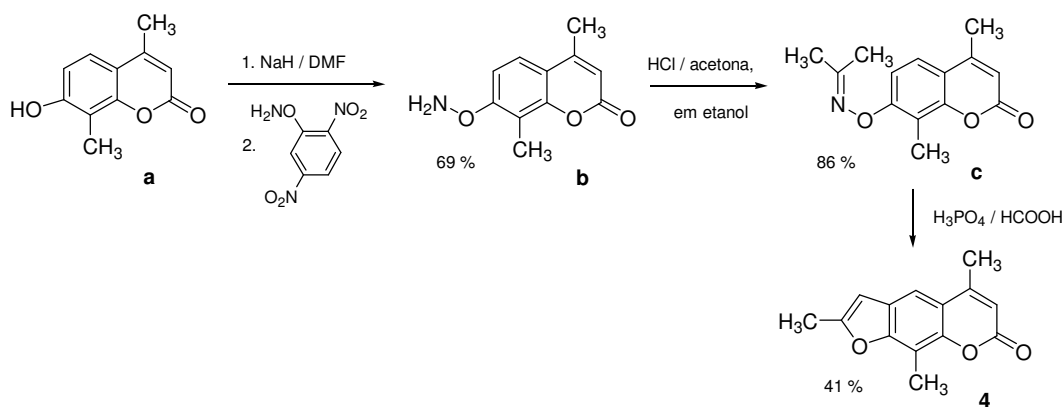


Figura 20 - Síntese do 4,5',8-trimetilpsoraleno (**4**) *via* a formação da ariloxima **c**.

Aquila, em 1997, propôs uma síntese nova do 8-metilpsoraleno (**21**) com rendimentos elevados, por reacção da 7-hidroxi-6-iodo-8-metilcumarina (**a**) com o trimetilsililetino, nas condições descritas por Sonogashira (Aquila, 1997) (Figura 21).

Forma-se o psoraleno **20** que, após a remoção do grupo trimetilsililo, origina o psoraleno **21**.

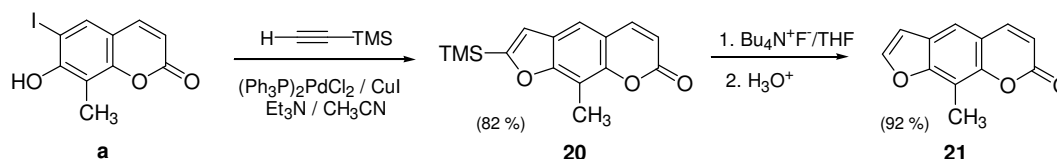


Figura 21 - Síntese de psoralenos, com rendimentos elevados.

4.3. Métodos em que o passo final é a formação do anel de piranona (C)

Este tipo de métodos é menos utilizado. Por exemplo, a síntese da angelicina não substituída (**5**) começa com a formilação de Reimer-Tiemann do benzofuranol (**a**), seguida de condensação de Perkin com anidrido acético (Bisagni, 1992) (Figura 22).

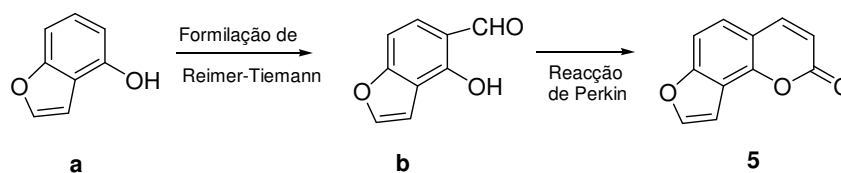


Figura 22 - Síntese da angelicina **18**, sendo o último passo o fecho do anel de piranona.

Hayakawa *et al.* (1984), sugeriram um método de síntese do psoraleno partindo de um cetoéster. O passo final é o rearranjo de Baeyer-Villiger que ocorre quando do tratamento de uma cetona com um peróxido, catalisado por um ácido, e resulta na inserção de um átomo de oxigénio na posição α ao grupo cetona (**a**), dando origem ao psoraleno **1** (Figura 23). Esta via é um exemplo de alguns dos métodos inovadores para a síntese de psoralenos e que, apesar de incluir muitas etapas, apresenta bons rendimentos.

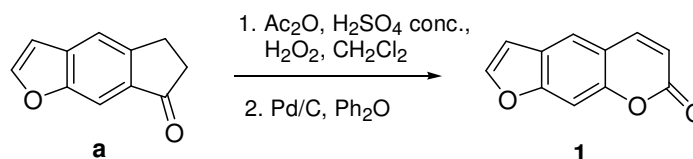


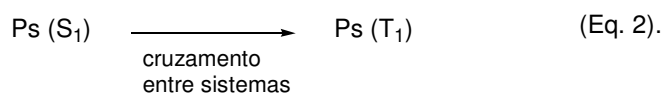
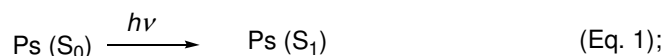
Figura 23 - Síntese de psoralenos em que o último passo é efectuado através do rearranjo de Baeyer-Villiger.

5. Mecanismos de acção de psoralenos e angelicinas

5.1. Formas de acção de fotossensibilizadores

É geralmente aceite que os agentes fotossensibilizadores actuam sobre um substrato biológico através de três mecanismos principais (*Tipo I, Tipo II e Tipo III*) (Caffieri, 2002; Chen, 1997; Llano, 2003, Vidòczy, 1992;), sendo, em princípio, estes os que podem ocorrer também com os psoralenos.

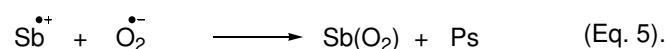
Inicialmente, ocorre a excitação do fotossensibilizador, isto é, da espécie que absorve a radiação, desencadeando o processo químico, físico ou biológico, num substrato que não absorve essa radiação. No caso dos psoralenos (Ps), pode ocorrer excitação para o primeiro estado singuleto excitado (S_1) ou para o estado tripleto (T_1) da seguinte forma (Becker, 1995; Llano, 2003):



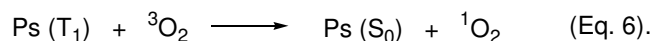
A partir de um dos estados excitados podem então ocorrer reacções que se apresentam a seguir.

A – Reacções dependentes do oxigénio (fotodinâmicas)

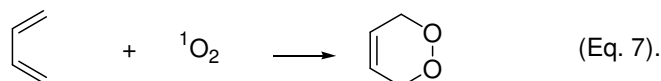
Tipo I – O estado excitado do psoraleno (Ps) gera espécies radicalares, por transferência de electrão (ou de um átomo de hidrogénio, H[•]) entre um substrato (Sb), com pelo menos um grupo dador, e o psoraleno (mecanismo de transferência de electrão ou de hidrogénio). De seguida, o psoraleno radicalar reage com o oxigénio molecular ($^3\text{O}_2$), resultando iões superóxido e, finalmente, ocorre a reacção com o substrato. Exemplifica-se, para o caso da transferência de electrão:



Tipo II – O estado excitado do psoraleno transfere energia para o oxigénio molecular produzindo oxigénio singuleto ($^1\text{O}_2$) (mecanismo de transferência de energia):

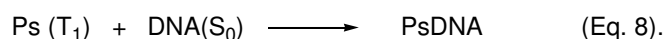


O oxigénio singuleto, sendo muito reactivo, actua rapidamente, oxidando o substrato. Por exemplo, se o substrato for um dieno, obtém-se um endoperóxido:



B - Reacções independentes do oxigénio

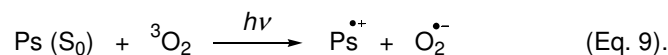
Tipo III – O estado excitado do psoraleno reage, directamente, com o substrato resultando aductos covalentes:



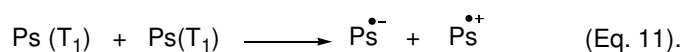
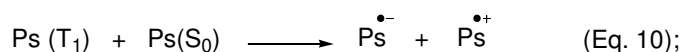
C - Reacções de ionização

Partindo ou não do estado excitado, os psoralenos podem, ainda, sofrer ionização através de reacções onde se formam espécies radicalares iónicas que, posteriormente, se combinam, entre si, ou reagem com o substrato. Desta forma, podem ocorrer diferentes reacções que se descrevem a seguir.

i) Ionização do psoraleno através da irradiação, com transferência directa de electrão para o oxigénio molecular:



ii) Auto-ionização (o substrato é o próprio psoraleno):



5.2. Reacções independentes do oxigénio: formação de aductos covalentes

A procura do mecanismo molecular responsável pelos efeitos biológicos do psoraleno e dos seus derivados levou à descoberta de que as bases de pirimidina (timina e citosina) dos ácidos nucleicos (Figura 24) são os principais alvos da sua acção fotoquímica. As primeiras investigações datam de 1965 e foram realizadas pelo grupo de Musajo (Bevilacqua, 1973; Cole 1970 e 1971; Song, 1979).

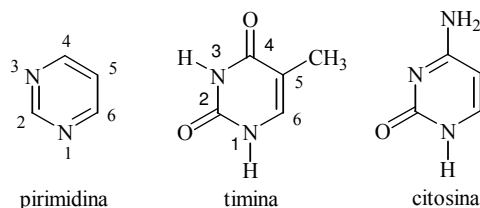


Figura 24 – Bases de pirimidina dos ácidos nucleicos: timina e citosina.

Hoje, sabe-se que os psoralenos interagem com as hélices dos ácidos nucleicos num processo em que actuam como fotossensibilizadores, seguindo reacções do Tipo III que ocorrem em três etapas (Dalla Via, 2002; Lage, 2003). No primeiro passo, ocorre a intercalação, na ausência de luz, dos psoralenos, entre as bases do ADN (Lage, 2003). Em seguida, quando o psoraleno intercalado é excitado por radiação electromagnética, de comprimentos de onda entre 320 e 400 nm (UVA), pode formar-se um produto de adição [2+2], com o ácido nucleico: cicloaducto C₄. Os produtos da adição resultam da formação de ligações covalentes entre as posições 5,6 da pirimidina, pertencente ao ácido nucleico, e as posições 4',5' do furano ou 3,4 da piranona (Figura 25). As ligações formam-se sobretudo com a base de timina. Foram isolados e caracterizados os cicloaductos resultantes desta monoadição, tendo-se verificado uma preferência marcante pela monoadição à dupla ligação do anel do furano (Lage, 2003). Este resultado contraria os cálculos teóricos realizados por Song *et al.* (1971) que apontavam a dupla ligação 3,4 da piranona como sendo a mais fotorreactiva.

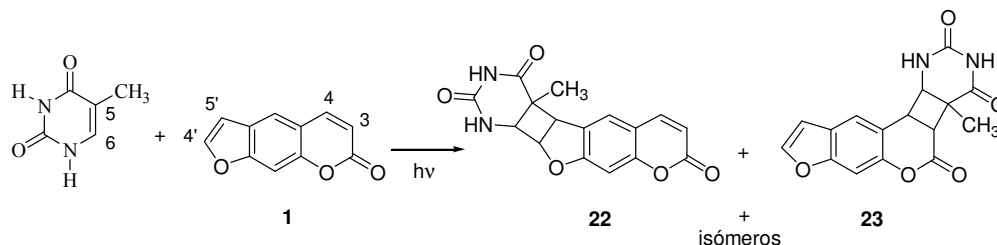


Figura 25 – Formação de monoaductos, por reacção do psoraleno **1** com a timina do ADN.

Destas reacções são possíveis quatro regioisómeros, devido à possibilidade de ligação das duplas ligações 4',5' do furano ou 3,4 da piranona à dupla ligação da timina, com orientações 5,6 ou 6,5 do anel da timina (**22** e **23** e mais 2 isómeros). Poderão ainda formar-se estereoisómeros devido ao modo como os sistemas do psoraleno e da timina se aproximam, resultando daí diferentes orientações relativas, dos anéis e do grupo CH₃ (analogia com os produtos “endo” e “exo” da reacção de Diels-Alder) (Caffieri, 2002; Song, 1979; March, 1992). Vários autores demonstraram que a adição é estereosselectiva, formando-se preferencialmente aductos “endo” do tipo *cis-syn* (Marzano, 2004; Vedaldi, 2004).

No terceiro passo, os monoaductos do furano, que apresentam uma absorvância intensa entre 320 nm e 380 nm, quando são excitados por um segundo fotão e se estiverem posicionados adequadamente relativamente à segunda cadeia da dupla hélice, podem formar um segundo anel de ciclobutano, entre a segunda dupla ligação fotoactiva e outra base de pirimidina. Desta reacção, resultam diaductos, como o **24**, e outros isómeros (formação de ligações cruzadas entre cadeias; ICL - *interstrand cross-link*) (Lage, 2003; Song, 1979) (Figura 26).

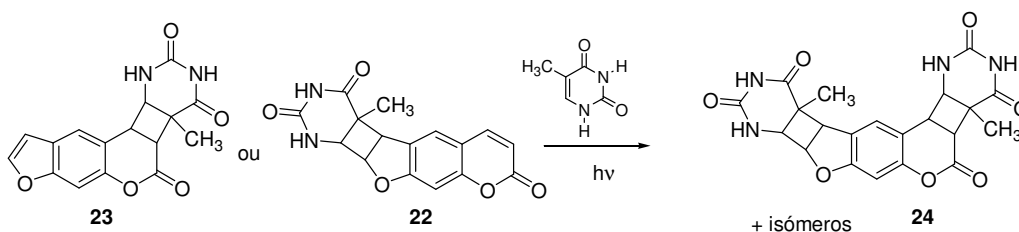
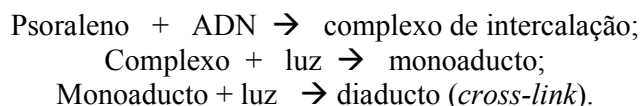


Figura 26 – Formação de um diaducto (**24**), a partir de um monoaducto e de uma base de timina da cadeia oposta do ADN (ICL).

Caso a “segunda” timina não esteja na posição adequada, os psoralenos bifuncionais, ou seja, com dois locais fotoactivos, sofrem apenas monoadição à timina. Uma outra hipótese de ocorrer apenas monoadição ao ADN é através da inactivação da dupla ligação 3,4 do anel de piranona, ou 4',5' do anel de furano, por exemplo, por substituição de um dos átomos de H (dessa ligação) por um grupo relativamente volumoso. É o caso do grupo CO₂Et no 3-CPS (**13**, Figura 8) (Lage, 2003).

Pode-se traduzir o processo descrito anteriormente da seguinte forma (Cole, 1971):



Vários trabalhos de fotofísica demonstraram que as reacções do Tipo III dos psoralenos, com o ADN, ocorrem a partir do estado tripleto (Tatchen, 2004; Song, 1971; Bensasson, 1978). Outros estudos mostraram que, sendo a radiação de cerca de 400 nm, se formam apenas monoadductos, mas, se for de cerca de 350 nm, formam-se monoadductos e diadductos (ICL). Se houver uma nova irradiação a 350 nm, os monoadductos resultantes da irradiação a 400 nm, formam então diadductos o que demonstra que, geralmente o processo ocorre por absorção de dois fótons (Llano, 2003; Averbek, 1992).

Outro tipo de reacções que pode ocorrer com o ADN, provocadas pelos psoralenos, é a formação de ligações covalentes cruzadas ADN-proteínas (*DNA-protein cross-links: DPC*) (Bordin, 1999; Fossa, 2002; Marzano, 2000).

Muitos autores consideram que a formação de ligações cruzadas entre cadeias (ICL) é a causa da toxicidade e do risco de ocorrência de cancro, aquando dos tratamentos com furocumarinas (Averbek, 1992; Chilin, 2001; Heindel, 1995; Laquerbe, 1995; Marzano, 2000; Wasserman, 1982). Na década de 70, os dermatologistas reconheceram que a terapia PUVA poderia aumentar o risco de desenvolvimento do cancro da pele, sendo o 8-MOP, um dos psoralenos bifuncionais considerado potencialmente cancerígeno (Pathak, 1992). O 3-CPS, monofuncional, ao contrário do 8-MOP, não é fototóxico nem mutagénico (Averbek, 1992; Fossa, 2002) e forma apenas monoadductos (100 %) entre o anel de furano e a timina (Lage, 2003; Song, 1979), o que está de acordo com o que foi referido.

Tomando como outro exemplo as angelicinas e derivados, verificou-se também que não provocam ICL, essencialmente por razões geométricas e, no caso de terem vários substituintes metilo, podem ser mais eficientes que o 8-MOP e provocar menos efeitos secundários (Dall'Acqua, 1981b; Fossa, 2002; Jakobs, 1996).

Não obstante, alguns estudos revelaram que os derivados angulares podem induzir ligações cruzadas ADN-proteínas (Bordin, 1999), o que confirma a suposição de J. Moron *et al.* (1983): apesar de as angelicinas não provocarem ICL, no ADN, não se deve excluir a hipótese de que estas possam ligar-se a outros substratos biológicos, através da dupla ligação ainda disponível.

De facto, alguns investigadores demonstraram que, para além das ligações com o ADN, as furocumarinas, em geral, podem também ligar-se ao ARN e às proteínas. Estudos posteriores revelaram que se podem ligar também a outras biomoléculas como os lípidos das membranas celulares (Caffieri, 2002; Cole, 1970; Henegouwen, 1989; Potapenko, 1991; Song, 1979; Waskowska, 2000; Zarebska, 2000).

Alguns trabalhos, relativos a membranas, evidenciaram que alguns derivados dos psoralenos podem ligar-se com um receptor específico na membrana citoplasmática (uma proteína 22000 g/mol) da célula alvo. Quando um psoraleno faz ligação com esse receptor e é activado pela luz ultravioleta, impede a ligação do factor de crescimento da epiderme (EGF, *epidermal growth factor*), um mensageiro celular, importante para o crescimento e a diferenciação celular (Heindel, 1995; Jetter, 1990; Potapenko, 1991). A inibição da acção do EGF tem sido considerada como uma causa possível de inibição do crescimento de células tumorais (Jetter, 1990).

5.3. Reacções dependentes do oxigénio: processos foto-oxidativos

No estudo dos mecanismos de acção dos psoralenos foi dada maior atenção ao estudo das fotorreacções de adição às bases de pirimidina dos ácidos nucleicos e, nos últimos anos, a outros substratos biológicos. Uma outra forma possível de acção dos psoralenos deve-se a processos foto-oxidativos.

Os psoralenos geram oxigénio singuleto, alguns com elevado rendimento, e também radicais livres (Llano, 2003; Potapenko, 1991), o que sugere que as reacções fotodinâmicas dos psoralenos (reacções dos tipos I e II, dependentes do oxigénio) podem ter um papel importante na terapia PUVA. De facto, já foi provado que os psoralenos têm uma acção fotodinâmica nas proteínas (oxidação de aminoácidos, inactivação das enzimas), nos lípidos (peroxidação), nos ácidos nucleicos (oxidação da guanina) e, também, nas membranas celulares, causando danos nos componentes celulares que, em última instância, conduzem à inactivação das células (Caffieri, 2002; Carbonare, 1992; Potapenko, 1991; Zarebska 2000). É o caso da inactivação dos ribossomas e dos lisossomas da *Escherichia coli* (Wasserman, 1982).

Assim, e sendo conhecida a elevada reactividade do oxigénio singuleto, foi colocada também a hipótese de que a fototoxicidade das furocumarinas poderá estar relacionada com a produção de oxigénio singuleto (Mobilio, 1995).

Esta possibilidade não parece de acordo com o facto de o 3-CPS, um composto monofuncional e com um rendimento de produção de oxigénio singuleto muito superior ao do 8-MOP, não ter efeitos fototóxicos (por exemplo, não causar eritema) nem mutagénicos. Também se verificou que outros compostos com um rendimento de produção de oxigénio singuleto muito baixo, e também monofuncionais, são muito fototóxicos, apesar de serem menos mutagénicos que o 8-MOP (Averbeck, 1992; Fossa, 2003). Aliás, foi mesmo demonstrado que o efeito genotóxico do 3-CPS é o mesmo em ambientes oxigenados e não oxigenados (Averbeck, 1992). Parecendo, de algum modo, ir contra estas observações, alguns trabalhos de investigação revelaram que há uma inibição dos processos fototóxicos que dão origem a eritemas e edemas, na presença de antioxidantes (Potapenko, 1991; Rodenko, 1993).

5.4. Auto-oxidação de psoralenos e outros processos que ocorrem nas células

Para além de actuarem como intermediários em processos foto-oxidativos, há ainda a possibilidade dos psoralenos se degradarem e de formarem, assim, compostos oxidados (Wasserman, 1982; Yoshikawa, 1979) que podem ter um efeito tóxico em alguns casos (Potapenko, 1991), ou terapêutico, em outros (Caffieri, 2003). Investigações mais recentes sugerem mesmo que os efeitos dos psoralenos, relacionados com a regulação do sistema imunitário, poderão ser mediados por alguns fotoprodutos resultantes da foto-oxidação dos psoralenos (Caffieri, 2003).

Têm sido, ainda, estudados os mecanismos de reparação das células em relação às lesões causadas no ADN e a influência que esse processo tem na acção dos psoralenos (Brendel, 2003; Bridges, 1971; Lage, 2003; Laquerbe, 1995; Sinha, 2002; Song, 1979). Por exemplo, foi demonstrado que a irradiação, na terapia PUVA, a taxas reduzidas, favorece o mecanismo de reparação e reduz os efeitos mutagénicos dos psoralenos (Averbeck, 1990).

6. Síntese e actividade biológica de análogos de furocumarinas

Dadas as potencialidades dos psoralenos, vários grupos têm investido na síntese de análogos destes compostos que apresentem menos efeitos secundários e que permitam esclarecer os seus mecanismos de acção. Tais investigações conduziram à síntese de diversos compostos que resultam da substituição dos heteroátomos, da adição de novos anéis, da formação de sais, etc..

Foram sintetizados compostos com diversos substituintes, especialmente com vários grupos metilo, já que se verificou que estes aumentam a capacidade de fotorreacção com o ADN, devido a um incremento da hidrofobicidade e, conseqüentemente, da afinidade pela parte lipofílica do ADN, onde ocorre a intercalação (Dall'Acqua, 1981b; Dalla Via, 2002; Guiotto, 1989; Kramer 1970).

6.1. Substituição do átomo de oxigénio do anel de furano

Clarke *et al.* (1973) e Rodighiero *et al.* (1998) sintetizaram análogos angulares e lineares do psoraleno em que o anel de furano foi substituído pelo de tiofeno. Apresenta-se, na Figura 27, a síntese dos compostos linear, **25**, e angular, **26**, proposta por Rodighiero *et al.* (1998). Este processo é análogo ao que foi já descrito no ponto 4.2. (Método B₁).

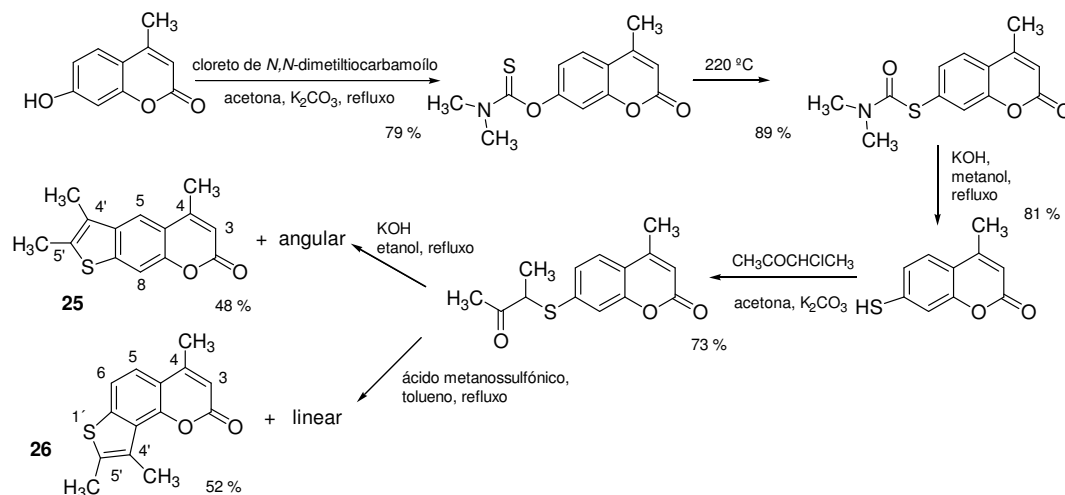


Figura 27 - Síntese de análogos dos psoralenos contendo um anel de tiofeno.

Alguns estudos revelaram que estes compostos têm uma capacidade elevada de fotoligação com o ADN. O análogo angular **26** (4,4',5'-trimetil[1']tioangelicina) intercala no ADN, formando apenas monoadductos e tem efeitos antiproliferativos, actuando sob a síntese do ADN e inibindo o crescimento de células tumorais humanas HeLa. De uma forma geral, tem um comportamento semelhante ao da 4,4',6,-trimetilangelicina (**6**, Figura 3). As diferenças principais residem no facto do composto **26** gerar oxigénio singuleto com rendimento superior ao produzido pela TMA e, simultaneamente, possuir uma actividade mutagénica muito inferior. Em geral, o composto **25** é menos activo que o **26** (Miolo, 1999).

Outros tiopsoralenos lineares, como o composto **25**, mas com grupos substituintes em diferentes posições (por exemplo, o 4,4',8-trimetiltiopsoraleno) revelam uma actividade antiproliferativa superior à do 8-MOP mas esta actividade não é acompanhada por efeitos fototóxicos na pele. Este resultado é interessante pois esses compostos são também capazes de fazer ligações cruzadas com o ADN (em extensão superior à do 8-MOP) e de gerar oxigénio singuleto (Gia, 2000).

Foi ainda demonstrado que análogos do psoraleno, com selénio ou enxofre como heteroátomos, absorvem radiação a comprimentos de onda mais elevados, relativamente, ao observado para os psoralenos e, alguns desses compostos, revelam uma capacidade superior de ligação ao ADN (Tatchen, 2004).

O grupo de Rodighiero (1987a) sintetizou outros análogos nos quais o anel de furano foi substituído pelo de pirrole, tais como as pirrolocumarinas **27** e **28** (Figura 28). Estes compostos foram sintetizados com base na síntese de Fischer de indoles. A propanona é adicionada à hidrazina, **a**, *in situ*, formando-se a hidrazona **b** que na presença do catalisador ZnCl₂, cicliza dando origem aos análogos do psoraleno **27** e **28**. Uma metodologia semelhante foi descrita para a síntese de psoralenos, tal como se referiu no ponto **4.2.**

Verificou-se que as pirrolocumarinas intercalam no ADN, ligam-se com este, formando monocicloadductos, e não revelam toxicidade quando testadas na pele de ratos (Guiotto, 1989).

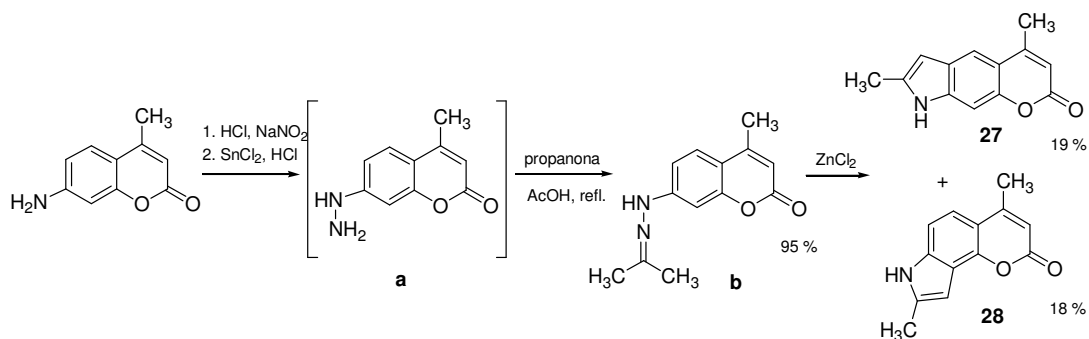


Figura 28 - Síntese das pirrolocumarinas **27** e **28**.

6.2. Substituição do átomo de oxigênio do anel de pirano

Foram sintetizados outros análogos de furocumarinas, onde o átomo de oxigênio do anel de pirano foi substituído pelo de azoto: as furoquinolinonas. Uma das vias de síntese segue um dos métodos anteriormente descrito (4.2. – Método B₂), e permite obter a furoquinolinona **29** (Guioto, 1989) (Figura 29).

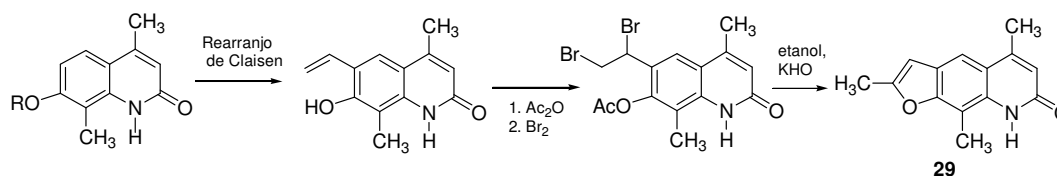


Figura 29 - Síntese da furoquinolinona **29** *via* rearranjo de Claisen.

Utilizando o rearranjo de Claisen, também foram sintetizados, análogos da angelicina, *e.g.*, as furoquinolinonas angulares **30** e **31** (Marzano 2000) (Figura 30).

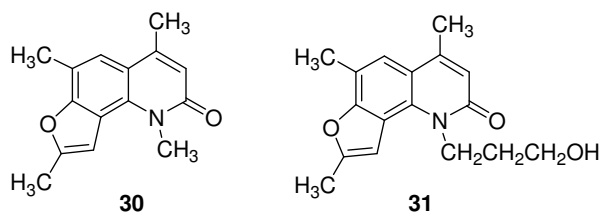


Figura 30 – Fórmulas de estrutura de furoquinolinonas substituídas.

Demonstrou-se que os dois compostos formam monoadductos com o ADN e ligações cruzadas ADN-proteínas (DPC), mas não formam ICL. Relativamente às espécies reactivas de oxigénio, o composto **30** tem um rendimento na formação de oxigénio singuleto e de iões superóxido, similar ao do 8-MOP, enquanto que o composto **31** demonstrou ter um rendimento inferior quanto à formação de oxigénio singuleto, mas superior quanto aos aniões superóxido. Ambos os compostos têm uma capacidade antiproliferativa elevada (inibição da síntese de ADN e da reprodução de células), quer na ausência de luz quer quando irradiados com UVA e provocam eritemas na pele, num grau ligeiramente superior ao do 8-MOP, quando irradiados. Uma vez que os compostos formam apenas monoadductos com o ADN, supõe-se então que poderá existir uma relação entre o aparecimento de eritemas na pele e a formação de DPC. Na ausência de luz os compostos inibem a topoisomerase II o que indicia existir uma relação entre esta capacidade de inibição e a sua capacidade antiproliferativa (Bordin, 1999; Marzano 2000).

Também foram sintetizados isómeros da angelicina, em que o oxigénio do pirano é substituído por enxofre ou selénio. Na Figura 31 apresenta-se a síntese do análogo **32** descrita por Jakobs *et al.* (1996), com bons rendimentos, sendo a última etapa a ciclização na presença do éster trimetilsilílico do ácido polifosfórico (PPSE). Alguns compostos lineares e angulares deste tipo demonstraram um deslocamento da absorção de radiação para maiores comprimentos de onda e uma capacidade de ligação com o ADN elevada, tal como sucedia com as tienocumarinas (6.1.) (Tatchen, 2004).

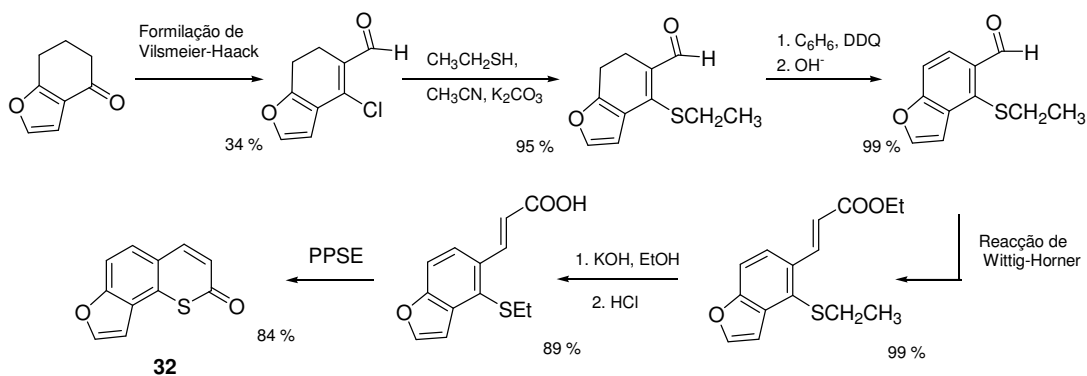


Figura 31 - Síntese de furotiocumarinas.

6.3. Substituição dos átomos de oxigênio dos anéis de pirano e de furano

Fossa *et al.* (2002) sintetizaram tienoquinolinonas angulares, como por exemplo, os compostos insaturados **33** e **34** e ainda a di-hidrotienoquinolinona **35** (Figura 32).

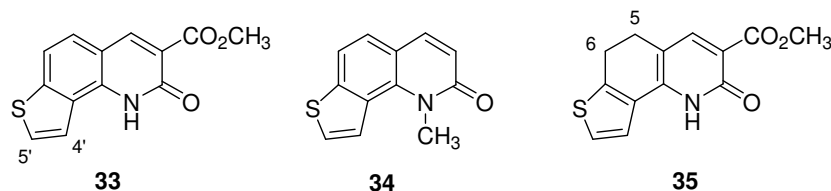


Figura 32 – Fórmulas de estrutura de tienoquinolinonas.

Estudos fotobiológicos e fotoquímicos revelaram que a quinolinona substituída, **33**, é menos activa que o 8-MOP, em termos da interacção com o ADN e é apenas ligeiramente mais activa na geração de oxigénio singuleto. Tal facto é importante, pois outros compostos com um grupo éster na mesma posição, revelaram um rendimento elevado na produção de oxigénio singuleto (Averbeck, 1992; Fossa, 2002). O composto **34**, revelou ser um agente antiproliferativo mais eficaz do que o 8-MOP. Este facto ocorre, provavelmente, devido ao composto ser mais lipofílico, portanto, com uma maior afinidade com o ADN. Apesar da sua elevada capacidade de gerar oxigénio singuleto, este composto parece não causar fototoxicidade na pele (surgem apenas eritemas moderados), o que é surpreendente, mas consistente com os resultados já obtidos para o composto angelicina-3-carboxilato de etilo e o 3-CPS, compostos que também têm um rendimento considerável na formação de oxigénio singuleto. Nestes dois compostos (**33** e **34**), e em outras tienocumarinas, o aumento da aromaticidade do anel de 5 membros, provocada pela presença do átomo de enxofre, não parece afectar a reactividade da dupla ligação 4',5' do furano. Já o composto saturado (**35**) mostrou-se totalmente inactivo, provavelmente, devido à interrupção de parte da ressonância entre os dois anéis heterocíclicos (Fossa, 2002).

6.4. Hidrogenação do anel de furano e formação de sais de aminas quaternárias

O conhecimento das propriedades biológicas de di-hidrofurocumarinas, que ocorrem naturalmente em frutos e plantas, levou também ao desenvolvimento de

variadas estratégias de síntese, deste tipo de compostos, nos últimos 30 anos (Rozhkov, 2003).

Heindel e colaboradores (1995) mostraram que a insaturação do anel de furano não é necessária para a fotoactividade dos psoralenos. Estudos fotoquímicos revelaram que, por exemplo, tanto o 8-metoxipsoraleno como o 8-metoxi-4',5'-di-hidropsoraleno reagem a partir do estado tripleto, ocorrendo a adição às bases de pirimidina, apesar de o composto saturado poder reagir, também, a partir do estado singuleto (Gervais, 1975). Foi ainda demonstrado que a utilização de 4',5'-di-hidropsoralenos elimina a possibilidade de formação de ICL (Whittemore, 2001a).

Estes derivados do psoraleno, como o composto **36**, podem ser obtidos, a partir dos respectivos compostos insaturados, por hidrogenação catalítica, com H₂ ou com dadores de hidrogénio, como o ciclo-hexeno, a tetralina ou a decalina. A reacção, utilizando estes dadores, é regioespecífica, não afecta o anel do pirano e permite obter rendimentos elevados (Heindel, 1983; Heindel, 1995) (Figura 33).

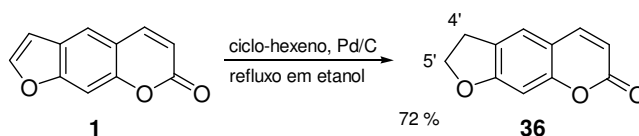


Figura 33 – Síntese do di-hidropsoraleno **36**, a partir do psoraleno **1**.

Alguns derivados de di-hidropsoralenos (Figura 34) foram preparados, recentemente, com bons rendimentos, através de uma reacção de anelação, catalisada por paládio, usando como precursores *ortho*-iodoacetoxicumarinas e 1,3-dienos. Os compostos hidrogenados, **37** e **38**, foram obtidos com os dienos 2,3-dimetilbuta-1,3-dieno e ciclo-hexa-1,3-dieno, respectivamente (Rozhkov, 2003). Não se encontraram referências ao estudo das propriedades biológicas deste tipo de compostos.

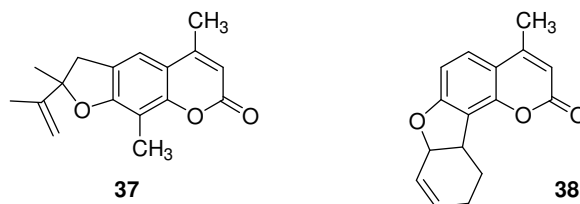


Figura 34 - Derivados do psoraleno di-hidrogenados.

Heindel *et al.* (1995) apresentaram a síntese de vários sais solúveis em água, *e.g.*, o halogeneto da amina quaternária **39** (Figura 35) e que foi objecto de uma

patente. O interesse por este tipo de compostos reside no facto de se ter provado que não são capazes de penetrar na célula, pois a sua carga inibe a penetração na membrana celular. Após fotoactivação, estes compostos ligam-se aos receptores do factor de crescimento da epiderme (EGF) na proteína receptora. O grupo de Heindel mostrou, assim, que estes derivados parecem ter, como agentes antiproliferativos, um modo de acção, não relacionado com o ADN, tal como atrás mencionado (ponto 5.2.).

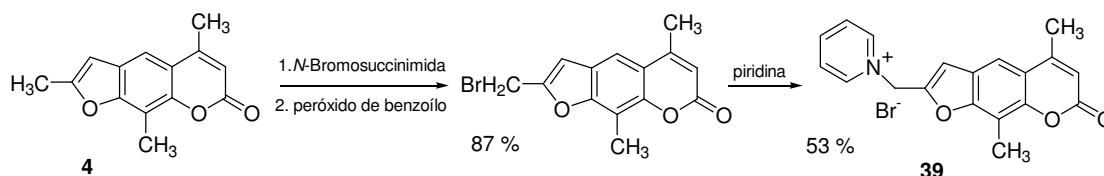


Figura 35 – Síntese de aminas quaternárias.

Com base nestes conhecimentos foram ainda sintetizados análogos de psoralenos que combinam a saturação no anel de furano e a estrutura de sal quaternário (compostos **40** e **41**, Figura 36) de forma a garantir a inibição da formação de ICL e da capacidade de atravessarem a membrana celular em direcção ao núcleo, (Jabin, 2000; Heindel, 1995; Whittemore, 2001a e 2001b).

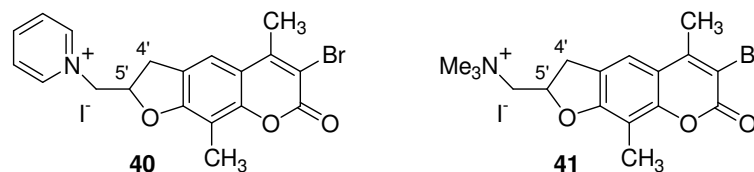


Figura 36 – Fórmulas de estrutura de sais de aminas quaternárias saturadas na ligação 4',5'.

6.5. Análogos com três ou mais heteroátomos

Partindo de fuopiridinas substituídas, é possível construir o anel de piranona e obter o 3,5,5'-trimetil-8-azapsoraleno (**42**) (Figura 37). A partir destes compostos é possível ainda obter sais de aminas quaternárias (VanSickle, 1990).

De uma forma análoga à que foi utilizada para a síntese de tienocumarinas, mas partindo de uma azacumarina, Dalla Via *et al.* (2002) sintetizaram tienoazacumarinas substituídas (*e.g.*, **43** e **44**) e fizeram estudos biológicos (Figura 37).

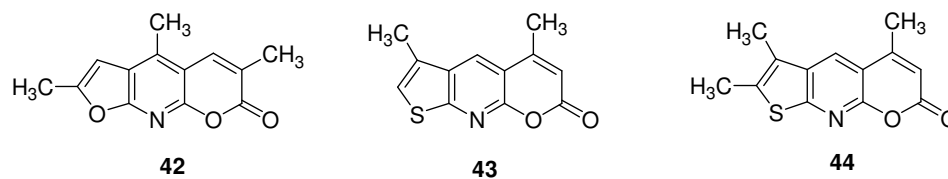


Figura 37 – Estruturas de análogos do psoraleno com três heteroátomos (42-44).

O composto **43** revelou, para além da ausência de eritema na pele, uma actividade antiproliferativa, em linhas de células tumorais, superior à do 8-MOP. Os estudos mostraram ainda que o número de ligações cruzadas desse composto com o ADN é também claramente superior ao que resulta do 8-MOP. Relativamente ao composto **44**, com mais um grupo metilo, verificou-se uma considerável diminuição do seu efeito antiproliferativo, quer em relação ao composto **43**, quer em relação ao 8-MOP. Tal facto pode ser devido a alguma dificuldade na sobreposição dos centros reactivos por efeitos estereoquímicos e à diminuição da sua solubilidade em meios aquosos (Dalla Via, 2002).

Chilin *et al.* (2002) sintetizaram furobenzoxazinonas (4-azapsoralenos, *e.g.*, **45** e **46**, Figura 38) com graus de substituição diferentes. Não se encontraram referências, às propriedades biológicas deste tipo de compostos.

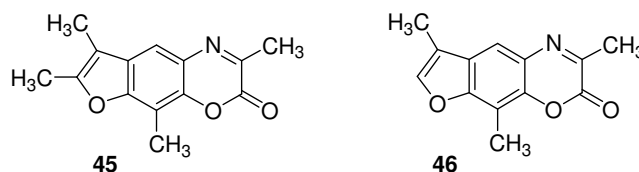


Figura 38 – Estruturas de análogos do psoraleno: furobenzoxazinonas substituídas.

Considerando a ausência de fototoxicidade das pirrolocumarinas (ver ponto 6.1.) Rodighiero *et al.* (1990) sintetizaram uma nova série de metiltriazolocumarinas, lineares e angulares, *e.g.*, os compostos **47** e **48** (Figura 39), partindo de aminocumarinas. Estes compostos revelaram propriedades espectroscópicas muito interessantes, como por exemplo um deslocamento da absorção, para maiores comprimentos de onda e valores do coeficiente de absorção molar elevados, em relação às furocumarinas correspondentes, pelo que se espera um acréscimo da sua fotorreatividade (Rodighiero, 1990).

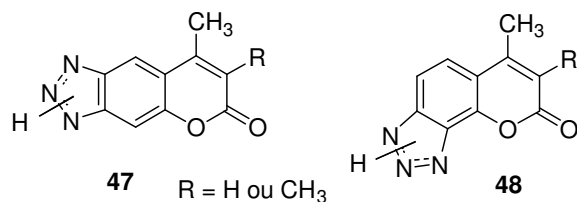


Figura 39 – Triazolocumarinas substituídas com potencial interesse biológico.

6.6. Derivados tetracíclicos de furocumarinas

a) Benzopsoralenos, tetra-hidrobenzopsoralenos e benzoangelicinas

Entre os derivados tetracíclicos de furocumarinas, os benzopsoralenos são, provavelmente, aqueles que receberam até agora maior atenção. Vários investigadores sintetizaram e estudaram as propriedades fotobiológicas de benzopsoralenos substituídos e não substituídos, e dos seus análogos saturados: os tetra-hidrobenzopsoralenos (Chilin, 1999; Gia, 1993; Palumbo, 1986).

A primeira síntese de benzopsoralenos foi realizada por MacLeod *et al.* (1972), pela mesma via que utilizou para a síntese de psoralenos (ponto 4.2. – Método B₁), mas partindo da 2-bromociclo-hexanona em vez da cloroacetona e utilizando no passo de aromatização a 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ). Mais tarde, Chilin *et al.* descreveram, de forma semelhante, a síntese de vários benzopsoralenos metilados substituídos, tal como o composto **49** (Chilin, 1999) (Figura 40).

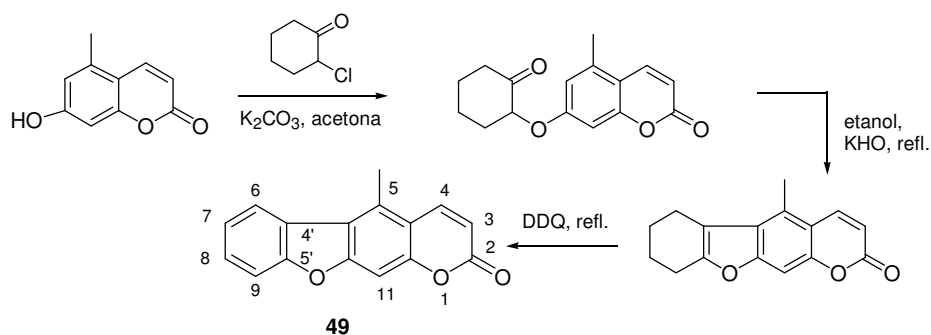


Figura 40 – Síntese de benzopsoralenos (Chilin, 1999).

Palumbo *et al.* estudaram as propriedades de benzopsoralenos lineares sem substituição e substituídos nas posições 4 e/ou 11 com o grupo metilo. Nos benzopsoralenos a densidade electrónica da ligação dupla 4',5' do anel de furano, está deslocada também sobre o anel benzénico. De acordo com esta análise, observou-se um deslocamento batocrómico do comprimento de onda de absorção ($\lambda_{\text{máx}} = 365 \text{ nm}$), em relação ao psoraleno 8-MOP ($\lambda_{\text{máx}} = 335 \text{ nm}$). Verificou-se também que a solubilidade destes compostos, em água, é semelhante à do 8-MOP e aumenta, consideravelmente, na presença do ADN (de 2,9 $\mu\text{g/ml}$ para 14 $\mu\text{g/ml}$) o que demonstra a interacção com esta molécula. Aliás, os resultados apontam para uma maior sobreposição dos benzopsoralenos com as bases do ADN o que favorece o processo de ligação antes da fotoadição, quando se compara com as furocumarinas. Os resultados obtidos por Palumbo *et al.* sugerem que os benzopsoralenos formem apenas monocicloadductos com o ADN resultantes da ligação com a dupla ligação 2,4 da parte da cumarina. Na realidade o anel de benzeno fundido com a ligação 4',5' inactiva este local em relação ao processo de fotoadição. De facto, o monoadducto formado na dupla ligação 3,4, não absorve a 365 nm impedindo assim a fotorreacção. A capacidade de fotoligação dos benzopsoralenos, com o ADN, é comparável à do 8-MOP (Palumbo, 1986).

Gia *et al.* (1993) fizeram a comparação entre as propriedades biológicas de benzopsoralenos lineares (**50**) e os correspondentes tetra-hidrobenzopsoralenos (**51**) (Figura 41).

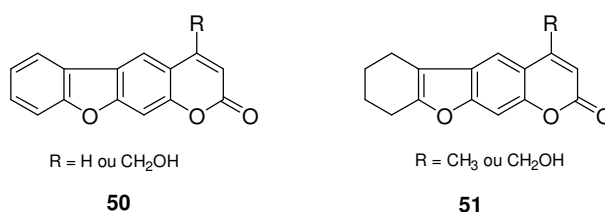


Figura 41 – Fórmulas de estrutura de benzopsoralenos e de tetra-hidrobenzopsoralenos com diferentes grupos substituintes.

Por comparação com o 8-MOP, foi demonstrado que a capacidade de complexação com o ADN não foi muito alterada no caso dos tetra-hidrobenzopsoralenos (o efeito estereoquímico não parece afectar as ligações com o ADN), mas aumentou significativamente para o caso dos benzopsoralenos. Contrariando os resultados obtidos por Palumbo *et al.* (1986), os benzopsoralenos e os

tetra-hidrobenzopsoralenos testados revelaram maior reactividade na ligação com o ADN que o 8-MOP, sendo que os primeiros apenas formam monoadductos e só o composto saturado metilado forma diadductos. Assim, demonstrou-se claramente, que os benzopsoralenos não eram capazes de fazer ligações cruzadas com as duas cadeias do ADN. Em relação à produção de oxigénio singuleto, quer os compostos saturados quer os insaturados revelaram valores comparáveis com os do 8-MOP e bastante inferiores ao composto de referência (3-CPS). Quanto à fototoxicidade na pele, apenas o composto que mostrou fazer ICL com o ADN revelou alguma toxicidade no teste realizado e ainda assim inferior à provocada pelo 8-MOP (Gia, 1993).

Com base nestes dados Chilin *et al.* (1999) conduziram um estudo mais aprofundado de novos benzopsoralenos substituídos com grupos hidroximetilo e dietilamino. Para além do acima referido, verificaram que o benzopsoraleno não substituído e alguns dos benzopsoralenos substituídos apresentavam uma actividade antiproliferativa superior à do 8-MOP, quer na ausência de luz, quer com irradiação UVA, e também uma maior capacidade de inibição da topoisomerase II. Todos os compostos mostraram uma menor actividade genotóxica (ou mutagénica) na presença de *E. coli* e menor fototoxicidade na pele que o 8-MOP.

Um grupo de investigadores estudou a 4,6-dimetilbenzoangelicina (**52**, Figura 42), tendo concluído que forma apenas monoadductos com o ADN numa proporção ligeiramente inferior à do 8-MOP, apesar de a afinidade do composto em relação ao ADN aumentar, no que se refere à intercalação (Vedaldi, 1992).

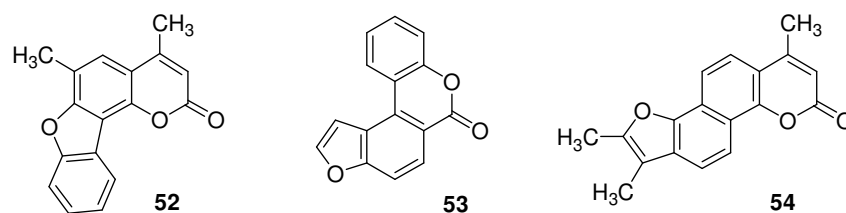


Figura 42 - Análogos tetracíclicos angulares do psoraleno com um anel benzénico adicional.

Hesse *et al.* sintetizaram um outro análogo angular do psoraleno (**53**, Figura 42), com um anel de benzeno que bloqueia o centro reactivo da cumarina e que foi sintetizado por uma reacção de *cross-coupling* do triflato (acoplamento de Suzuki) (Hesse, 2003).

Outros autores sintetizaram análogos com um anel de benzeno, entre o furano e a cumarina (**54**, Figura 42), com o objectivo de aumentar a distância entre estes e assim impedir o alinhamento necessário para a formação de diaductos (Adam, 1993). Não se encontraram referências às propriedades biológicas destes compostos.

b) Piridopsoralenos e piridazinopsoralenos

Com o objectivo de estudar as propriedades fotobiológicas de novos derivados monofuncionais dos psoralenos, Moron *et al.* (1983) sintetizaram piridopsoralenos tendo um anel de piridina (à partida capaz de aumentar a capacidade de intercalação com o ADN) fundido na dupla ligação 3,4 do anel de pirano (**55**) ou 4',5' do anel de furano (**56**) (Figuras 43 e 44).

A síntese do psoraleno com o anel de piridina fundido na dupla ligação 3,4 foi efectuada por condensação análoga à de Pechmann, seguida de aromatização, de forma análoga a um dos métodos descritos em 4.1. (Método A). Obtiveram assim o composto **55** (Moron, 1983) (Figura 43).

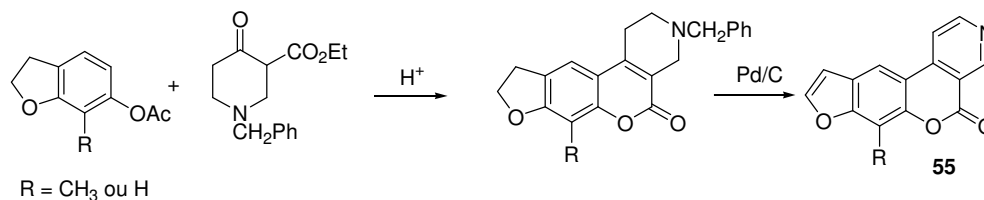


Figura 43 - Síntese de análogos tetracíclicos do psoraleno, com um anel fundido de piridina.

A síntese do piridopsoraleno **56**, com o anel de piridina fundido com o furano foi realizada em vários passos, envolvendo, em primeiro lugar, a síntese do composto tricíclico **a** (Figura 44). A condensação de Pechmann para fecho do anel, com este composto (**a**), não foi bem sucedida pelo que se usou a formilação de Duff. A ciclização foi então conseguida por vários processos sendo aqui descrito o que obteve melhores rendimentos (Moron, 1983). Foi demonstrado que alguns piridopsoralenos monofuncionais têm grande capacidade de intercalar com o ADN formando complexos não covalentes, tal como sucedeu com os benzopsoralenos (Gia, 1993).

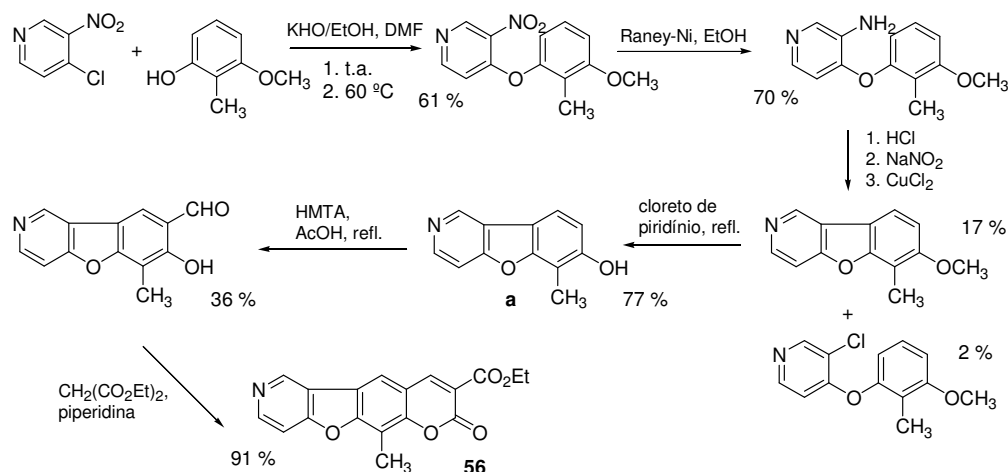


Figura 44 - Síntese de um piridopsoraleno (**56**).

Também com o objectivo de investigar o efeito da introdução de átomos de azoto no esqueleto policíclico, já que pode ocorrer um aumento da estabilidade do complexo formado pela interacção da molécula com o ADN, González-Gómez *et al.* (2003) decidiram acrescentar às furocumarinas angulares e lineares um anel de piridazina: compostos **57** e **58** (Figura 45). Para além disso, resolveram funcionalizar uma ou ambas as posições adjacentes aos átomos de azoto com funções amida porque é sabido que cadeias com funções amidas são das mais usadas em compostos anticancerosos. A construção do anel de piridazina no psoraleno efectuou-se por reacção de Diels-Alder (entre uma 3'-oxofurocumarina e uma tetrazina (**a**)) com libertação de azoto. O grupo éster foi convertido numa amida por reacção com uma amina cíclica (pirrolidina).

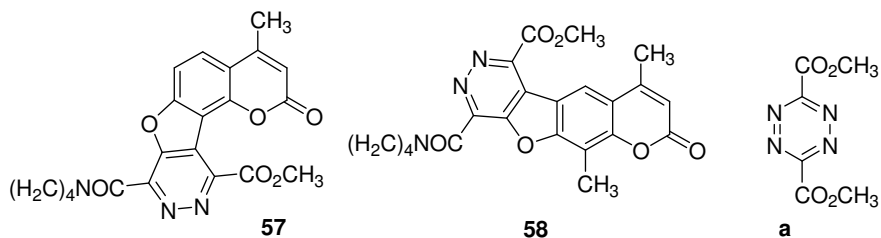


Figura 45 - Fórmulas de estrutura de piridazino-furocumarinas (**57** e **58**) e de um precursor (**a**).

c) Outros compostos tetracíclicos

Gia *et al.* (2005) sintetizaram ciclopentenopsoralenos (**59**, **60** e **61**), de modo análogo ao que foi descrito para os benzopsoralenos (Figura 46).

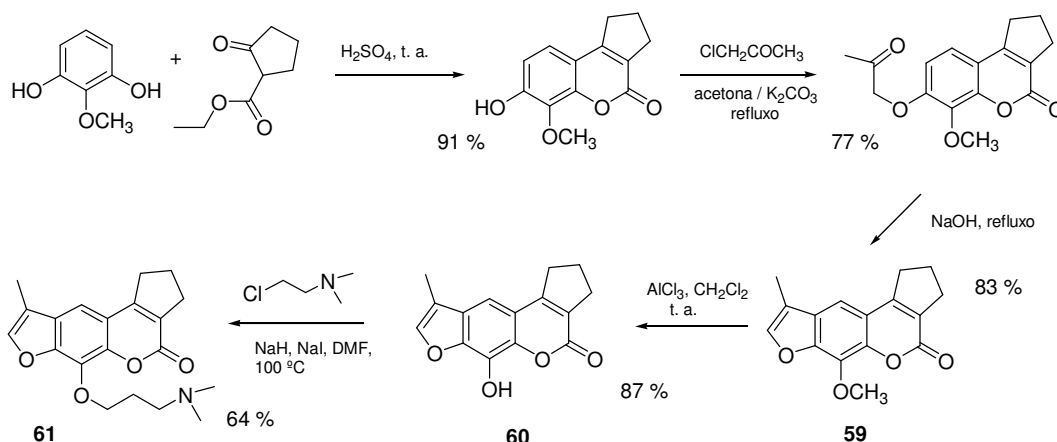


Figura 46 - Síntese de ciclopentenopsoralenos.

Os testes biológicos destes compostos revelaram resultados muito interessantes, essencialmente para o composto **61**. Este demonstrou uma actividade antiproliferativa em linhas celulares tumorais HeLa e HL-60 muito superior à do 8-MOP, na ausência de luz ou com irradiação, ao contrário dos compostos **59** e **60** que não mostraram fotoactividade. Nenhum dos três compostos evidenciou fototoxicidade para a pele. O composto final, **61**, revelou uma capacidade elevada de intercalar no ADN e de formar aductos, por acção da radiação, levando a crer que a cadeia de dimetilaminopropoxilo, protonável a um pH fisiológico, confere a este composto um aumento da capacidade de se ligar com o ADN. Em relação à formação de ICL, pelo composto **61**, verificou-se que ocorre numa percentagem análoga à do 8-MOP.

Também foram sintetizados compostos tetracíclicos com anéis com outros heteroátomos, como o enxofre ou o oxigénio: di-hidrotienopsoralenos (**62** e **63**), piranopsoralenos (**64**) e derivados metilados de difurocumarinas (**65**) (Chilin, 2001; Sosnovskikh, 2001; Yakout, 1999; Zoubir, 1999) (Figura 47). As difurocumarinas têm um interesse potencial pois prevê-se que a sua estrutura possa favorecer a intercalação com o ADN e posteriormente a formação de monoadductos (Chilin, 2001). Os di-hidrotienopsoralenos, tal como os tiopsoralenos (ponto **6.1.**) absorvem comprimentos de onda mais elevados (364 nm) e com maior intensidade que os psoralenos (Zoubir, 1999).

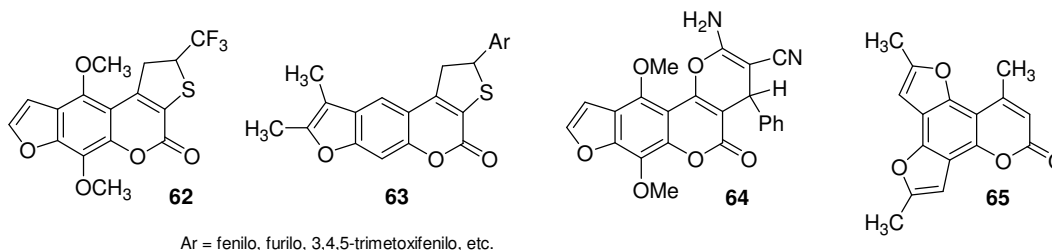


Figura 47 - Análogos tetracíclicos do psoraleno.

6.7. Heterodímeros

O grupo de S. Ropp sintetizou heterodímeros com uma α -metileno- γ -butirolactona ligada a uma furocumarina através de uma cadeia de polimetileno (**66**) ou de poliamida (**67**) (Figura 48). Sabe-se que α -metileno- γ -butirolactonas são bons electrófilos e reagem com resíduos nucleofílicos de proteínas formando ligações covalentes. Ensaio com dois compostos sintetizados **66** e **67** e com o 5-MOP revelaram que o heterodímero **66** apresentou uma actividade antiproliferativa de algumas células tumorais humanas (HL-60, K1 e A375), em geral, superior à do heterodímero **67** e muito superior à do 5-MOP, após irradiação com UVA ou na ausência de luz. Os dois heterodímeros não apresentaram fototoxicidade na pele de rato, ao contrário do 5-MOP (Ropp, 2004).

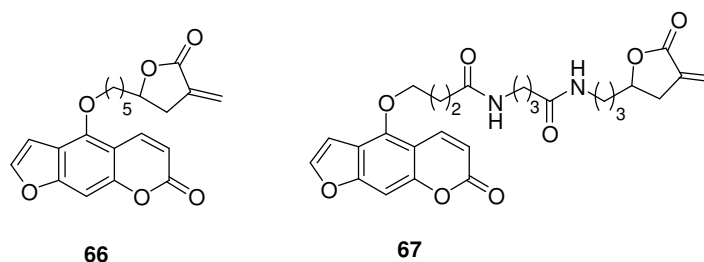


Figura 48 - Fórmulas de estrutura de alguns psoralenos sintetizados, com substituintes poliméricos.

6.8. Outros compostos análogos

A procura de derivados mais eficientes levou à síntese de compostos considerados, por alguns autores, como estruturalmente relacionados ou análogos de furocumarinas, mas cujas estruturas já se podem considerar bem distintas.

Por exemplo, Miolo *et al.* (1999) sintetizaram derivados da benzoquinolizina-5-ona, *e.g.*, **68** (Figura 49). Os estudos efectuados demonstraram que o composto **68** intercala com o ADN e que, após irradiação com UVA, forma cicloadductos com a timina através da dupla ligação 2,3. Esse composto mostrou ainda ter uma actividade, relativamente ao ADN, superior ao 8-MOP, ligando-se, preferencialmente, com seqüências ricas em A-T (adenina-timina), tal como foi demonstrado para outras furocumarinas (Miolo, 1999; Mobilio, 1995).

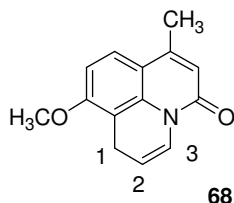


Figura 49 - Estrutura de uma benzoquinolizina.

Outros grupos propuseram a síntese de derivados da *xantiletina* (**69**, $R_1 = R_2 = H$; $R_3 = R_4 = CH_3$) e do seu análogo angular *seselina* (**70**, $R_1 = R_2 = R_3 = H$, $R_4 = R_5 = CH_3$) (Figura 50), compostos que ocorrem na natureza, onde o anel de furano é substituído por um pirano. Os compostos **69** e **70** foram preparados por ciclização, em *N,N*-dietilanilina de ésteres propargílicos das hidroxycumarinas apropriadas. A *xantiletina* liga-se ao ADN, formando apenas monoadductos através da dupla ligação 3,4, apesar de o fazer a uma taxa muito menor que o psoraleno, provavelmente, devido ao impedimento estereoquímico dos dois grupos metilo na posição 8 (R_3 e R_4) (Rodighiero, 1987b). Estes autores, sintetizaram derivados com grupos metilo em outras posições e, apenas um, ou nenhum grupo metilo, na posição 8. Jetter *et al.* (1990) sintetizaram produtos similares, mas di-hidrogenados (**71** e **72**) (Figura 50).

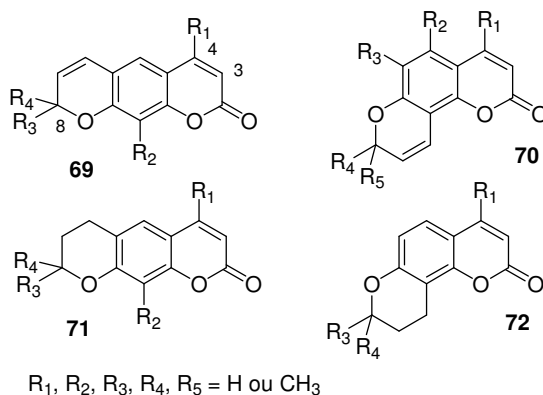


Figura 50 - Fórmulas de estruturas de análogos de psoralenos e de angelicinas.

As furocromonas *khellin* (**73**) e *visnagin* (**74**), isómeros de psoralenos, são compostos obtidos naturalmente e também utilizados na fotoquimioterapia do vitiligo e na terapia de outras doenças (Abdel-Rahman, 2002; Duarte, 1995; Reed, 1988) (Figura 51).

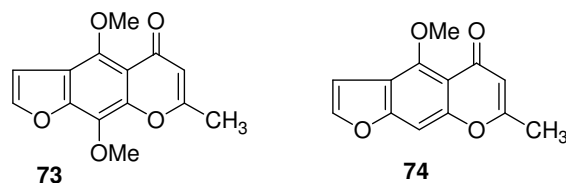


Figura 51 – Fórmulas de estrutura de furocromonas, isómeros do psoraleno.

A síntese de derivados destes compostos, tal como o composto **75**, foi proposta também por Abdel-Rahman *et al.* (2001), utilizando como reagentes o benzofurano e a *N,N*-dimetilformamida-dimetilacetal (DMF-DMA) (Figura 52). Não se encontram referências relativas às propriedades biológicas destes compostos.

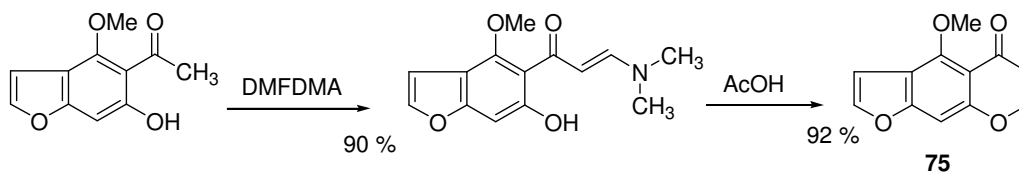


Figura 52 - Síntese de um isómero do metoxipsoraleno (**75**).

7. Conclusões

O conhecimento, já há séculos, da actividade biológica de extractos vegetais contendo psoralenos, e das suas aplicações em medicina, foram determinantes para o desenvolvimento continuado de novos métodos de síntese e o interesse ligado ao estudo das propriedades biológicas, fotofísicas e fotoquímicas desses compostos e de diversos derivados e análogos.

Foram sintetizados diversos análogos quer lineares quer angulares, com diferentes heteroátomos, com anéis fundidos, com substituintes polares, apolares, poliméricos ou iónicos. Muitos destes compostos revelaram propriedades muito

interessantes. No entanto, pode dizer-se que, apesar do conhecimento existente, o mecanismo da acção destes compostos ainda não está totalmente esclarecido.

Por exemplo, é geralmente aceite que, no tratamento PUVA da psoríase, a fotorreacção com o ADN é importante para a inibição do crescimento anormal das células e que a inactivação do sistema de enzimas (proteínas) é um factor que contribui para o efeito terapêutico dos psoralenos. No caso de outras doenças, que não são caracterizadas por um crescimento anormal de células, a explicação de que o tratamento PUVA funciona através da repressão da síntese do ADN, parece menos plausível. Há mesmo indicações de que o tratamento actua, nestes casos, sobre o sistema imunitário, envolvendo, possivelmente, as membranas das células desse sistema. Foi ainda sugerido que esta acção sobre o sistema imunitário pode ser a causa de cancro provocada pelo tratamento PUVA, quando este é prolongado (Henegouwen, 1989).

Alguns dos factos referidos até aqui podem ser resumidos como se indica nos parágrafos seguintes.

Efeitos no organismo dos psoralenos e derivados:

- são utilizados na terapia de várias doenças, como a psoríase, linfoma cutâneo das células T, infecções virais e outras doenças do sistema imunitário;
- são antiproliferativos, podendo ter um efeito letal nas células;
- provocam eritema na pele;
- podem ser a causa de cancro de pele apesar de haver indícios de que poderão ser utilizados no tratamento do melanoma.

Propriedades biológicas de psoralenos, análogos e derivados:

- podem gerar oxigénio singuleto e outras espécies reactivas de oxigénio;
- provocam a oxidação de aminoácidos, lípidos, ADN, etc.;
- formam diaductos através de ligações cruzadas covalentes com o ADN;
- podem formar apenas monoadductos com o ADN, dependendo da estrutura e do comprimento de onda da radiação;
- ligam-se preferencialmente a sequências ricas em A-T;
- provocam a formação de ligações cruzadas ADN-proteínas;

- estabelecem ligações com lípidos, com o ARN e com componentes importantes das membranas celulares;
- inibem a síntese de ácidos nucleicos, proteínas, enzimas (topoisomerase II) e o funcionamento de outros componentes celulares como os ribossomas e lisossomas;
- têm diferentes solubilidades em água;
- absorvem comprimentos de onda diferentes e com intensidades variadas;
- actuam, após activação de radiação UVA, mas também na ausência de luz.

A relação entre as propriedades e os efeitos no organismo ainda não está bem definida, podendo concluir-se que a síntese e o estudo da actividade biológica e terapêutica de novos análogos de psoralenos poderão ser a base para o esclarecimento do seu modo de actuação e da forma de reduzir os seus efeitos secundários, conduzindo à descoberta de um ou vários fármacos eficientes no tratamento de diversas doenças.

8. Apêndices

A- Vitiligo

O vitiligo (também chamado "Leucoderma") é um problema de pele caracterizado por perda de pigmentação, resultando manchas irregulares e despigmentadas na pele, ainda que a textura seja normal. Os registos indicam que é uma doença muito antiga sendo mencionada na Bíblia e em documentos do Antigo Egipto, Grécia e China. (Vitiligo Support International, 2004).

A causa precisa do vitiligo ainda não é bem compreendida. Muitos especialistas acreditam que resulta de um único ou da combinação de vários factores: genéticos, imunológicos, bioquímicos e neurológicos. O vitiligo pode ser genético pois é observado em famílias. Pode ser uma desordem relacionada com o sistema imunitário na qual o organismo destrói as suas próprias células, neste caso os melanócitos (células responsáveis pela formação do pigmento melanina, que dá cor à pele). Outras investigações tentam relacionar a doença com deficiência de vitaminas. Investigações recentes referem que a causa da doença pode estar relacionada com excesso de peróxido de hidrogénio na pele, julgando-se que os doentes podem não ter uma enzima própria (ou tê-la em quantidade insuficiente) para destruir o peróxido de hidrogénio que normalmente se acumula na pele (Vitiligo Support International, 2004).

Durante muitos anos os dermatologistas consideraram que a doença não tinha tratamento ou aconselharam tratamentos como a PUVA ou cremes com esteróides. Ainda que a PUVA seja indicada para alguns pacientes, têm surgido novas técnicas com grande sucesso. Hoje pode-se considerar a doença como tratável, apesar do tratamento levar a que a pigmentação completa precise de dois anos ou mais para se regenerar (Vitiligo Support International, 2004).

A doença não é contagiosa e não constitui, verdadeiramente um problema sério de saúde. Contudo, as pessoas com vitiligo e as suas famílias sabem que pode ser a causa de muito sofrimento, essencialmente, devido aos efeitos sociais relacionados com a aparência (National Vitiligo Foundation, 2004).

Afecta, pelo menos, uma em cada 100 pessoas em muitos países do globo, por exemplo a Inglaterra. Atinge pessoas de ambos os sexos e todas as raças. Pode surgir em qualquer idade, mas, em 50 % dos pacientes, a doença começa a desenvolver-se antes dos 25 anos (Vitiligo Society-UK, 2004).

B- Psoríase

A psoríase é uma doença crónica da pele e das articulações. A sua manifestação resulta, essencialmente, da proliferação acentuada das células epidérmicas (ceratinócitos) que, por esta razão, se acumulam e descamam na superfície cutânea, com aspecto comparável a fragmentos de cera (Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia, 2002). A forma mais comum é a *psoriasis vulgaris* e afecta a maioria dos doentes de uma forma moderada atingindo menos de 20 % da pele (Linden, 1999).

A psoríase é uma doença comum - está presente em cerca de 0,1 % a 3 % da população mundial (Linden, 1999). A sua causa ainda se encontra mal esclarecida, sendo que, nas famílias onde há indivíduos com psoríase, a prevalência aumenta para cerca de 30 %, significando que existe uma tendência, determinada geneticamente, para se sofrer de psoríase. Todavia, a transmissão hereditária não ocorre necessariamente de pais para filhos. A afecção muitas vezes "salta" gerações (Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia, 2002).

Normalmente, não afecta a saúde geral dos doentes, mas o seu impacto social e económico é muitas vezes subestimado, não lhe sendo atribuídos os cuidados devidos (Linden, 1999). É suficiente para reflectir sobre o seu impacto se for sabido que a psoríase foi descrita durante séculos como uma variante da lepra e julgada contagiosa, até que, em 1841, foi descrita como uma doença completamente distinta (Jong, 1997).

Actualmente, não há cura para a psoríase. O objectivo dos tratamentos é diminuir as lesões cutâneas de modo a que estas não interfiram substancialmente com a vida dos pacientes.

As várias modalidades podem ser divididas em: terapia tópica (corticosteróides), fototerapia (UVB ou PUVA) e terapia sistêmica (retinóides, etc.) (Linden, 1999).

9. Referências

Abdel-Rahman, A.-R. H.; Keshk, E. M.; El-Telbani, E. M. – Linearly fused furochromones by intramolecular enaminone reactions. *Z. Naturforsch.*, 57b (2002) 557-562.

Abegaz, B. M.; Ngadjui, B. T.; Folefoc, G. N.; Fotso, S.; Ambassa, P.; Bezabih, M.; Dongo, E.; Rise, F.; Petersen, D. – Prenylated flavonoids, monoterpenoid furocoumarins and other constituents from twigs of *Dorstenia elliptica* (Moraceae). *Phytochemistry*, 65 (2004) 221-226.

Adam, W.; Qian, X.; Saha-Moller, C. R. – Synthesis and photooxygenation of the 2*H*-4,8,9-Trimethylfuro[2',3':5,6]naphto[1,2-*b*]pyran-2-one, an unnatural furocoumarin with a benzene spacer. *J. Org. Chem.*, 58 (1993) 3769-2771.

Aquila, B. M. - A new synthesis of 8-methylpsoralen utilizing a palladium-copper catalyzed reaction to generate the furan ring and thus allowing for the generation of novel analogs in the 5'-position. *Tetrahedron Lett.*, 38:16 (1997) 2795-2798.

Averbeck, D.; Dardalhon; M; Magana-Schwencke, N. – Repair of furocoumarin-plus-UVA-induced damage and mutagenic consequences in eukaryotic cells. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 6 (1990) 221-236.

Averbeck, D.; Dardalhon; M; Magana-Schwencke, N.; Meira, L. B.; Meniel, V.- New aspects of the repair and genotoxicity of psoralen photoinduced lesions in DNA. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 14 (1992) 47-63.

Aynehchi, Y.; Aliabadi, Z.; Sormaghi M.H.S. - Furanocoumarins in the roots of *Heracleum persicum* Desf. In SHS Acta Horticulturae 73: I International Symposium on Spices and Medicinal plants (Germany). Ed.: Franz, C. H.; International Society for Horticulture Science, 1978.

Becker, R. S.; Maçanita, A. L. – Biological photosensitizers. Phototoxic agents of the future? *Rev. Port. Quím.*, 2 (1995) 30-44.

Bender, D. R.; Hearst, J. E.; Rapoport, H. – Psoralen synthesis. Improvements in furano ring formation. Application to the synthesis of 4,4',8'-trimethylpsoralen. *J. Org. Chem.*, 44:13 (1979) 2176-2180.

Bensasson, R. V.; Land, E. J.; Salet, C. – Triplet excited state of furocoumarins: reaction with nucleic acid bases and amino acids. *Photochem. Photobiol.*, 27 (1978) 273-280.

Bevilacqua, R.; Bordin, F. – Photo-C₄-cycloaddition of psoralen and pyrimidine bases: effect of oxygen and paramagnetic ions. *Photochem. Photobiol.*, 17 (1973) 191-194.

Bisagni, E. – Synthesis of psoralens and analogues. *J. Photochem. Photobiol. B : Biol.*, 14 (1992) 23-46.

Bordin, F. – Photochemical and photobiological properties of furocoumarins and homologues drugs. *Int. J. Photoenergy*, 1 (1999) 1-6.

Brendel, M.; Bonatto, D.; Strauss, M; Revers, L. F.;Pungartnik, C.; Saffi, J.; Henriques, J. A. P. – Role of PSO genes in repair of DNA damage of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.*, 544 (2003) 179-193.

Bridges, B. A. – Genetic damage induced by 254 nm ultraviolet light in *Escherichia coli*: 8-methoxypsoralen as protective agent and repair inhibitor. *Photochem. Photobiol.*, 14 (1971) 659-662.

Burton, J. M. - *Online Guide To Umbelliferae of British Isles*. (2002). Acedido em 12 de Dezembro de 2004 em www.spookspring.com/Umbels/burn_Sax.html.

Caffieri, S. – Furocoumarin photolysis: chemical and biological aspects. *Photochem, Photobiol. Sci.*, 1 (2002) 149-157.

Caporale, G.; Innocenti, G.; Guiotto, A.; Rodighiero, P.; Dall'Acqua F. – Biogenesis of linear *o*-alkylfuranocoumarins: a new pathway involving 5-hydroxymamesin. *Phytochemistry*, 20:6 (1981) 1283-1287.

Carbonare, M. D.; Pathak, M. A. – Skin photosensitising agents and the role of reactive oxygen species in photoaging. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 14 (1992) 105-124.

Carlassare, F.; Baccicheti, F.; Guiotto, A.; Rodighiero, P.; Gia, O.; Capozzi, A.; Pastorini, G.; Bordin, F. – Synthesis and photobiological properties of acetylpsoralen derivatives. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 5 (1990) 25-39.

Clarke, K.; Scrowston, R. M.; Sutton, T. M. – Substitution reactions of benzo[*b*]thiophen derivatives. Part VII. Reactions of 4-hydroxybenzo[*b*]thiophen, its 3-methyl derivative, and related compounds. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1973) 1196-1200.

Chen, T; Platz, M. S.; Robert, M.; Savéant, J.-M. ; Marcinek, A.; Rogowski, J. ; Gebicki, J. ; Zhu, Z. ; Bally T. – Electron transfer chemistry of psoralen and coumarin derivatives by means of radiolytic and electrochemical experiments. *J. Phys. Chem. A*, 101 (1997) 2124-2130.

Chilin, A.; Confente, A.; Pastorini, G.; Guiotto, A. – Synthesis of furo[3,2-*g*][1,4]benzoxazin-3-ones, new psoralen isosters. *Eur. J. Org. Chem.*, (2002) 1937-1940.

Chilin, A. Manzini, P. ; Caffieri, S. ; Rodighiero, P. ; Guiotto, A. – Difurocoumarins: psoralen analogs as photochemotherapeutic agents. *J. Heterocyclic Chem.*, 38 (2001) 431-434.

Chilin, A.; Marzano, C.; Guiotto, A.; Manzini, P.; Baccichetti, F.; Carlassare, F.; Bordin, F. – Synthesis and Biological Activity of (Hydroxymethyl)- and (Diethylaminomethyl)benzopsoralens. *J. Med. Chem.*, 42:15 (1999) 2936-2945.

Chimichi, S.; Boccalini, M.; Cosimelli, B. – A new convenient route to 2-oxoethoxycoumarins : key intermediates in the synthesis of natural products. *Tetrahedron*. 58:24 (2002) 4851-4858.

Chimichi, S.; Boccalini, M.; Cosimelli, B. ; Viola, G. ; Vedaldi, D. ; Dall'Acqua, F. – A convenient synthesis of psoralens. *Tetrahedron*, 58 (2002) 4859-4863.

Cole, R. S. – Light-induced cross-linking of DNA in the presence of a furocoumarin (psoralen). Studies with phage λ , *Escherichia coli*, and mouse leukaemia cells. – *Biochem. Biophys. Acta*, 254 (1970) 30-39.

Cole, R. S. – Psoralen monoadducts and interstrand cross-links in DNA. – *Biochem. Biophys. Acta*, 254 (1971) 30-39.

Dall'Acqua, F.; Vedaldi, D.; Caffieri, S.; Guiotto, A.; Rodighiero, P.; Baccichetti, F.; Carlassare, F.; Bordin, F. – New monofunctional reagents for DNA as possible agents for photochemotherapy of psoriasis: derivatives of 4,5'-dimethylangelicin. *J. Med. Chem.*, 24 (1981a) 178-184.

Dall'Acqua, F.; Vedaldi, D.; Caffieri, S.; Guiotto, A.; Rodighiero, P.; Baccichetti, F.; Carlassare, F.; Bordin, F. – New potential agents for photochemotherapy of psoriasis. Structure-activity study on the dark and photochemical interactions with DNA. *J. Med. Chem.*, 24 (1981b) 178-184.

Dalla Via, L.; Magno, S. M.; Rodighiero, P.; Gia, O. – Synthesis, photobiological activity and photoreactivity of methyl-thieno-8-azacoumarins, novel bioisosters of psoralen. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12 (2002) 1253-1257.

Duarte, J.; Perez-Vizcaino, F.; Torres, A. I.; Zarzuelo, A.; Jimenez, J. Tamargo, J. – Vasodilator effects of visnagin in isolated rat vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, 268:2 (1995) 115-122.

Edelson, R.L. – Photopheresis: present and future aspects. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 10 (1991) 165-174.

Fossa, P.; Mosti, L.; Menozzi, G.; Marzano, C.; Baccichetti, F.; Bordin, F. – Novel angular furo and thieno-quinolinones: synthesis and preliminary photobiological studies. *Bioorg. Med. Chem.*, 10 (2002) 743-751.

Foster, R.T.; Robertson, A.; Bushra, A. (in part) - Furano-compounds. Part VII. A Synthesis of 2:3- dihydrosoralen. *J. Chem. Soc.*, (1948) 2254-2258.

Gervais, J.; Schryver, F. C. – Photochemistry of some furo[3,2-g]-coumarin and 2,3-dihydrofuro[3,2-g]-coumarin derivatives. *Photochem. Photobiol.*, 21 (1975) 71-75.

Gia, O.; Dalla Via, L.; Magno, S. M.; Angelini, G.; Margonelli, A.; Rodighiero, P. – Thienocoumarin derivatives: interaction with nucleic acids and synthetic polydeoxyribonucleotides. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 56 (2000) 132-138.

Gia, O.; Magno, S. M.; Gonzalez-Diaz, H.; Quezada, E.; Santana, L.; Uriarte, E.; Dalla Via, L. – Design, synthesis and photobiological properties of 3,4-cyclopentenepsoralens. *Bioorg. Med. Chem.*, 13:1 (2005) 809-817.

Gia, O.; Mobilio, S.; Palumbo, M.; Pathak, M.A. – Benzo- and tetrahydrobenzo-psoralen congeners: DNA binding and photobiological properties. *Photochem. Photobiol.*, 57:3 (1993) 497-503.

Gia, O.; Uriarte, E.; Zagotto, G.; Baccichetti, F.; Antonello, C.; Marciani-Magno, S. – Synthesis and photobiological activity of new methylpsoralen derivatives. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 14 (1992) 95-104.

González-Gómez, J. C.; Santana, L.; Uriarte, E. – Synthesis and convenient functionalisation of pyridazinfurocoumarins: nitrogenated isosters of potent DNA inhibitors. *Tetrahedron*, 59 (2003) 8171-8176.

Guiotto, A.; Chilin, A.; Pastorini, G.; Palumbo, M. – Methylfuroquinolinones: new furocoumarin isosters as potential photoreagents toward DNA. *J. Heterocycl. Chem.*, 26 (1989) 917-922.

Guz, N. R.; Lorenz, P.; Stermitz, F. R. – New coumarins from *Harbouria trachypleura*: isolation and synthesis. *Tetrahedron Lett.*, 42 (2001) 6491-6494.

Hayakawa, K.; Yodo, M.; Ohsuki, S.; Kanematsu, K. – Novel bicycloannulation via tandem vinylation and intramolecular Diels-Alder Reaction of five-membered heterocycles: a new approach to construction of psoralen and azapsoralen. *J. Am. Chem. Soc.*, 106 (1984) 6735-6740.

Heindel, N. D.; Foster, N. Choudhuri, M. – Transfer hydrogenation of furocoumarin derivatives. *J. Org. Chem.*, 48 (1983) 3817-3819.

Heindel, N. D.; Laskin, J. D. – Reduced and quaternized psoralens as photoactivated therapeutics. *US Patent* 5.473.083 (1995).

Henegouwen, G. M. J. B.; Wijn, E. T.; Schoonderwoerd, S. A.; Dall'Acqua, F. – A method for determination of PUVA-induced *in vivo* irreversible binding of 8-methoxypsoralen (8-MOP) to epidermal lipids, proteins and DNA/RNA. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 3 (1989) 631-635.

Hesse, S.; Kirsch, G. – Synthesis of new furocoumarins analogues *via* cross-coupling reaction of triflate. *Tetrahedron Lett.*, 44 (2003) 97-99.

Horning, E. C.; Reisner, D. B. – Furocoumarins. Synthesis of 2,3-dihydropsoalens. *J. Am. Chem. Soc.*, 70 (1948) 3619-3620.

Horning, E. C.; Reisner, D. B. – Furocoumarin studies. Synthesis of psoralen and related furocoumarins. *J. Am. Chem. Soc.*, 72 (1950) 1514-1518.

Hübner, S.; Hehmann, M.; Schreiner, S. Martens, S. Lukačín, R. Matern, U. – Functional expression of cinnamate 4-hydroxylase from *Ammi majus* L. *Phytochemistry*, 64 (2003) 445-452.

Iperen, H. P.; van Henegouwen, G.M.J.B. – Clinical and mechanistic aspects of photopheresis: New trends in photobiology (invited review). *J. Photochem Photobiol. B: Biol.*, 39 (1997) 99-109.

Jabin, I.; Heindel, N. D.; Rapp, R. D.; Laskin, J. D. – Synthetic approaches to 3-substituted-5'-(*N*-pyridiniummethyl)-4',5'-dihydropsoalens [1]. *J. Heterocycl. Chem.*, 37 (2000) 31-39.

Jakobs, A. E.; Christiaens, L. – A convenient synthesis of thiopyrano[2,3-*e*]benzofuran: a new sulfur analogue of angelicine. *J. Org. Chem.*, 61 (1996) 4842-4844.

Jetter, M. M.; Heindel, N. D.; Laskin, J. D. – Novel synthesis of dihydroxanthyletin and dihydroseselin derivatives. *J. Heterocyclic Chem.*, 27 (1990) 995-997.

Jong, E. M. G. J. – The course of psoriasis. *Clin. Dermatol.*, 15 (1997) 687-692.

Kaufman, K. D.; Hewitt, L. E. – Synthetic furocoumarins. 10. Synthesis of α -methylbenzo[*b*]furano compounds. *J. Org. Chem.*, 45 (1980) 738-740.

Kaufman, K. D. – Synthetic furocoumarins. I. A new synthesis of methyl-substituted psoralenes and isopsoralenes. *J. Org. Chem.*, 26 (1961) 117-121.

Kramer, D. M.; Pathak, M. A. – Photoaddition of psoralen and of 4,5',8-trimethylpsoralen to DNA. *Photochem. Photobiol.*, 12 (1970) 333-337.

Lage, C.; Pádula, M.; Alencar, T. A. M.; Gonçalves, S. R. F.; Vidal, L. S.; Cabral-Neto, J.; Leitão, A. C. – New insights on how nucleotide excision repair could remove DNA adducts induced by chemotherapeutic agents and psoralens plus UV-A (PUVA) in *Escherichia coli* cells. *Mutat. Res.*, 544 (2003) 143-157.

Laquerbe, A.; Moustacchi, E.; Papadopoulo, D. – Genotoxic potential of psoralen cross-links *versus* monoadducts in normal human lymphoblasts. *Mutat. Res.*, 346 (1995) 173-179.

Lauharanta, J. – Photochemotherapy. *Clin. Dermatol.*, 15 (1997) 769-780.

Ledo, E.; Ledo, A. – Phototherapy, photochemotherapy and photodynamic therapy: unapproved uses or indications. *Clin. Dermatol.*, 18 (2000) 77-86.

Leite, V.C.; Santos, R.F.; Chen, L.C.; Guillo, L.A. – Psoralen derivatives and longwave ultraviolet irradiation are active *in vitro* against human melanoma cell line. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 76 (2004) 49-53.

Linden, K. G.; Weinstein, G. D. – Psoriasis: current perspectives with an emphasis on treatment. *Am. J. Med.*, 107 (1999) 595-605.

Llano, J.; Raber, J.; Eriksson, L. A. – Theoretical study of phototoxic reactions of psoralens. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 154 (2003) 235-243.

Lowe, N. J.; Chizvesky, V.; Gabriel, H. – Photo(chemo)therapy: general principles. *Clin. Dermatol.*, 15 (1997) 745-752.

Mal, D.; Bandhyopadhyay, M.; Murty, K. D. V. S. N.; Murty, K. V. S. N. – Anionic [4+2] cycloaddition strategy to linear furocoumarins: synthesis of 8-methoxypsoralen and its isoster. *Tetrahedron*, 54 (1998) 7525-7538.

MacLeod, J. K.; Worth, B. R. - Synthesis of benzofuranoid systems. I. Furocoumarins, benzofurans and dibenzofurans. *Tetrahedron Lett.*, 3 (1972) 237-240.

MacLeod, J. K.; Worth, B. R.; Wells, R. J. – Synthesis of benzofuranoid systems. IV. Total synthesis of cyperaquinone and conicaquinone. *Aust. J. Chem.*, 31 (1978) 1533-44.

March, J. - *Advanced Organic Chemistry*, 4ed, John Wiley & Sons, 1992.

Marzano, C.; Chilin, A.; Guiotto, A.; Baccichetti, F.; Carllassare, F.; Bordin, F. – Photobiological properties of 1-(3'-hydroxypropyl)-4,6,8-trimethylfuro[2,3-*h*]quinolin-2(1*H*)-one, a new furocoumarin analogue. *Il Farmaco*, 55 (2000) 650-658.

Marzano, C.; Chilin, A.; Baccichetti, F.; Bettio, F.; Guiotto, A.; Miolo, G.; Bordin, F. – 1,4,8-Trimethylfuro[2,3-*H*]quinolin-2(1*H*)-one, a new furocoumarin bioisoster. *Eur. J. Med. Chem.*, 39 (2004) 411-419.

Miolo, G.; Caffieri, S.; Vedaldi, D.; Baccichetti, F.; Marzano, C.; Lucchini, V.; Rodighiero, P.; Dall'Acqua, F. – Photochemical and photobiological studies on methylthioangelicins. *Il Farmaco*, 54 (1999) 134-144.

Miolo, G.; Moro, S.; Vedaldi, D.; Caffieri, S.; Guiotto, A.; Dall'Acqua, F. – New benzoquinolizin-5-one derivatives as furocoumarin analogs: DNA-interactions and molecular modeling studies. *Il Farmaco*, 54 (1999) 551-561.

Mobilio, S.; Tondelli, L.; Capobianco, M.; Gia, O. – Sequence specificity of tetrahydrobenzopsoralen photobinding to DNA. *Photochem. Photobiol.*, 61:2 (1995) 113-117.

Moron, J.; Nguyen, C. H.; Bisagni, E. – Synthesis of 5*H*-furo[3',2':6,7][1]benzopyrano[3,4-*c*]pyridin-5-ones and 8*H*-pyrano[3',2':5,6]benzofuro[3,2-*c*]pyridin-8-ones (pyridopsoralens). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1983) 225-229.

National Vitiligo Foundation. 2004. Acedido em 12 de Novembro de 2004, em www.nvfi.org.

Pathak, M.; Fitzpatrick, T. B. – The evolution of photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA): 2000 BC to 1992 AD. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 14 (1992) 3-22.

Palumbo, M.; Rodighiero, P.; Gia, O.; Guiotto, A.; Magno, S. M. – Benzofurocoumarins: new monofunctional DNA-photobinding agents. *Photochem. Photobiol.*, 44:1 (1986) 1-4.

Potapenko, A. Ya. – New trends in photobiology (Invited review) Mechanisms of photodynamic effects of furocoumarins. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 9 (1991) 1-33.

Reed, M. W.; Moore, H. W. – Efficient synthesis of furochromone and furocoumarin natural products (khellin, pimpinellin, isophellopterin) by thermal rearrangement of 4-furyl-4-hydroxycyclobutenones. *J. Org. Chem.*, 53 (1988) 4156-4171.

Rodenko, I. N.; Osipov, A. N.; Lysenko, E. P.; Potapenko, A. Ya. – Degradation of psoralen photo-oxidation products induced by ferrous ions. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 19 (1993) 39-48.

Rodighiero, P.; Chilin, A.; Pastorini, G. Guiotto, A.-Pyrrolocoumarin derivatives as potential photoreagents toward DNA. *J. Heterocyclic Chem.*, 24 (1987a) 1041-1043.

Rodighiero, P.; Chilin, A.; Pastorini, G. Guiotto, A.- Methyltriazolocoumarins: new furocoumarin isosters as potential photochemotherapeutic agents. *J. Heterocyclic Chem.*, 27 (1990) 1153-1158.

Rodighiero, P.; Manzini, P.; Pastorini, G.; Bordin, F.; Guiotto, A. – Synthesis of methyl derivatives of 8-desmethylxantyletine and 8-desmethylseseline, potential antiproliferative agents. *J. Heterocyclic Chem.*, 24 (1987b) 485-488.

Rodighiero, P.; Pastorini, G.; Chilin, A.; Marotto, A. – Synthesis of methyl derivatives of linear and angular thienocoumarins and thiopyranocoumarins. *J. Heterocyclic Chem.*, 35 (1998) 847-852.

Ropp, S.; Guy, J.; Berl, V.; Bischoff, P.; Lepoittevin, J.-P. – Synthesis and photocytotoxic activity of new α -methylene- γ -butyrolactone-psoralen heterodimers. *Bioorg. Med. Chem.*, 12 (2004) 3619-3625.

Rozhkov, R. V.; Larock, R. C. – Synthesis of dihydrofurocoumarins *via* palladium-catalyzed annulation of 1,3-dienes by *o*-iodoacetycoumarins. *Org. Lett.*, 5:6 (2003) 797-800.

Sardari, S.; Mori, Y.; Horita, K.; Micetich, R. G.; Nishibe, S.; Daneshtalab, M. – Synthesis and antifungal activity of coumarins and angular furanocoumarins. *Bioorg. Med. Chem.*, 7 (1999) 1933-1940.

Sinha, R. P.; Hader, D.-P. – UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 1 (2002) 225-236.

Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia. 2002. Acedido em 20 de Novembro de 2004, em www.dermo.pt/detalhes/?det=38.

Song, P.-L.; Harter, M. L.; Moore, T. A.; Herndon, W. C. – Luminescence spectra and photocycloaddition of the excited coumarins to DNA bases. *Photochem. Photobiol.*, 14 (1971) 521-530.

Song, P.-L. ; Tapley Jr., K.J. – Photochemistry and photobiology of psoralens. Review article. *Photochem. Photobiol.*, 29 (1979) 1177-1197.

Sosnovskikh, V. Y.; Usachev, B. I. – Reactions of 7-polyfluoroalkylnorkhellins with alkyl mercaptoacetates: a simple synthesis of dihydrothienopsoralens and benzofuran derivatives of 2-oxa-7-thiabicyclo[3.2.1]octane. *Tetrahedron Lett.*, 42 (2001) 5121-5122.

Stanjek, V.; Piel, J.; Boland, W. - Biosynthesis of furocoumarins: mevalonate-independent prenylation of umbelliferone in *Apium graveolens* (Apiaceae). *Phytochemistry*, 50 (1999) 1141-1145.

Stevenson P. C. ; Simmonds, M.S. J.; Yule, M.A. ; Veitch, N.C. ; Kite, G. C.; Irwin, D.; Legg, M. – Insect antifeedant furanocoumarins from *Tetradium daniellii*. *Phytochemistry*, 63 (2003) 41-46.

Tatchen, J.; Kleinschmidt, M.; Marian, C. M. – Electronic excitation spectra and singlet-triplet coupling in psoralen and its sulfur and selenium analogs. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 167 (2004) 201-212.

Traven, V. F.- New synthetic routes to furocoumarins and their analogues: a review. *Molecules*, 9 (2004) 50-66.

UMR Agronomie et Environnement INRA INPL (2003) - *Le Site Non-Officiel des Furocoumarines*. Acedido em 3 de Dezembro de 2004, em <http://www.ensaia.u-nancy.fr/lae/pageaccueil/AccueilUMRfr.htm>.

VanSickle, A. P.; Rapoport, H. – Azapsoralens. Synthesis of 8-azapsoralens. *J. Org. Chem.*, 55 (1990) 895-901.

Vedaldi, D.; Caffieri, S.; Miolo, G. ; Guiotto, A. ; Dall'Acqua, F. – Benzoangelicines : new monofunctional DNA photobinding agents. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 14 (1992) 81-93.

Vedaldi, D.; Dolmella, A.; Moro, S.; Miolo, G.; Viola, G.; Caffieri, S.; Dall'Acqua, F. – 1-Thioangelicin: crystal structure, computer-aided studies and photobiological activity. *Il Farmaco*, 59 (2004) 125-132.

Vidöczy, T.- Type I and Type II photosensitized reactions: reasons for dispute. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 14 (1992) 139-150.

Vitiligo Society-UK (2004). Acedido em 12 de Novembro de 2004, em www.vitiligosociety.org.uk.

Vitiligo Support International. 2004. Acedido em 12 de Novembro de 2004, em www.vitiligosupport.com.

Yakout, E. M. A.; Ibrahim, N. M.; Ghoneim, Kh. M.; Mahran, M. R. H. – Reactions of 4-hydroxycoumarin and 4-hydroxyfurocoumarins with α,β -unsaturated nitriles. Mass spectrometry of new γ -pyrano- α -pyran derivatives. *J. Chem Research (S)*, (1999) 652-653.

Yoshikawa, K.; Mori, N.; Sakakibara, S.; Mizuno, N.; Song, P.L. – Photo-conjugation of 8-methoxypsoralen with proteins. *Photochem. Photobiol.*, 29 (1979) 1127-1133.

Waszkowska, E.; Zarebska, Z.; Poznanski, J.; Zhukov, I. – Spectroscopic detection of photoproducts in lecithin model system after 8-methoxypsoralen plus UV-A treatment. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 55 (2000) 145-154.

Wasserman, H. H.; Berdahl, D. R. – The photooxidation of 8-methoxypsoralen. *Photochem. Photobiol.*, 35 (1982) 565-567.

Whittemore, M.; Heindel, N.; Jabin, I.; Guillon, C.; McNeel, T. E.; Rapp, R. D.; Heck, D. E.; Laskin, J. D. – Synthetic approaches to 4,8-dimethyl-5'-(*N*-pyridiniummethyl)-4',5'-dihydropsoalens and 4,8-dimethyl-5'-(*N*-aminomethyl)-4',5'-dihydropsoalens [1,2]. *J. Heterocycl. Chem.*, 38, (2001a) 909-916.

Whittemore, M.; Heindel, N.; Guillon, C.; McNeel, T.; Rapp, R.; Mariano, T.; Heck, D.; Laskin, J. – Synthetic approaches to 4,8-dimethyl-4'-(*N*-pyridiniummethyl)-4',5'-dihydropsoresalens and their activity against PAM 212 keratinocytes. *Heterocycles*, 55:6 (2001b) 1081-1094.

Wolnicka-Glubisz, A.; Rijnkels, J. M.; Sarna, T.; van Henegouwen, G. M. J. B. – Apoptosis in leukocytes induced by UVA in the presence of 8-methoxypsoralen, chlorpromazine or 4,6,4'-trimethylangelicin. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 68 (2002) 65-72.

Wulff, W. D.; McCallum, J. S.; Kung F.-A. – Two regio-complementary approaches to angular furanocoumarins with chromium carbene complexes: synthesis of sphondin, thiosphondin, heratomin and angelicin. *J. Am. Chem. Soc.*, 110 (1988) 7419-7434.

Zarebska, Z.; Waskowska, E.; Caffieri, S.; Dall'Acqua, F. – PUVA (psoralen+UVA) photochemotherapy: processes triggered in the cells. Review. *Il Farmaco*, 55 (2000) 515-520.

Zoubir, B.; Refouvelet, B.; Aubin, F.; Humbert, P.; Xicluna, A. – Dihydrothienopsoralens : new furocoumarins as potential photoreacting Agents. *J. Heterocycl. Chem.*, 36 (1999) 509-513.

CAPÍTULO II

Síntese de Benzopsoralenos

1. Contextualização

1.1. Objectivo deste estudo

O interesse e experiência do grupo em que me integro no estudo e síntese de corantes, cumarinas e compostos fotocromicos, conduziu ao estudo de outros compostos com propriedades fotofísicas interessantes para aplicação no campo da medicina.

Alguns factos descritos sobre psoralenos apesar de muito interessantes, eram, muitas vezes, inconclusivos, tais como (ver Cap I):

- a possível influência da formação de ligações cruzadas com o ADN na ocorrência de alguns dos efeitos secundários provocados pelos tratamentos PUVA;

- a probabilidade das reacções fotodinâmicas dos psoralenos desempenharem um papel importante na acção terapêutica desses compostos, podendo também serem responsáveis pela sua toxicidade;

- a capacidade de psoralenos substituídos na posição 3 do anel de pirano com o grupo éster CO_2Et gerarem oxigénio singuleto com rendimento elevado e de estes compostos não terem efeitos cancerígenos.

Assim, e dado o conhecimento da importância e das potencialidades reveladas pelos psoralenos, decidiu-se sintetizar análogos lineares e angulares desses compostos nos quais:

- a dupla ligação 4',5' do anel de furano estivesse fundida com um anel benzénico de forma a não ocorrer a formação de monoadductos;

- a posição 3 do anel de pirano contivesse o grupo éster.

1.2. Estratégia de síntese

A condensação de Knoevenagel, com *orto*-hidroxialdeídos aromáticos e um éster, seguida de fecho do anel, para dar origem à cumarina, é bem conhecida e, geralmente, ocorre com bons rendimentos (Jones, 1967). Decidiu-se começar a síntese pela formação de dibenzofuranóis, em seguida proceder à sua formilação e, finalmente, proceder ao fecho do anel. A síntese dos dibenzofuranos pode ser conseguida através de vários métodos (Gilman, 1939; Kemp, 1983; Sargent, 1982), tendo-se optado, neste

trabalho, pela formação de éteres difenílicos que foram depois ciclizados por reacção com acetato de paládio(II) e luz (Figura 1).

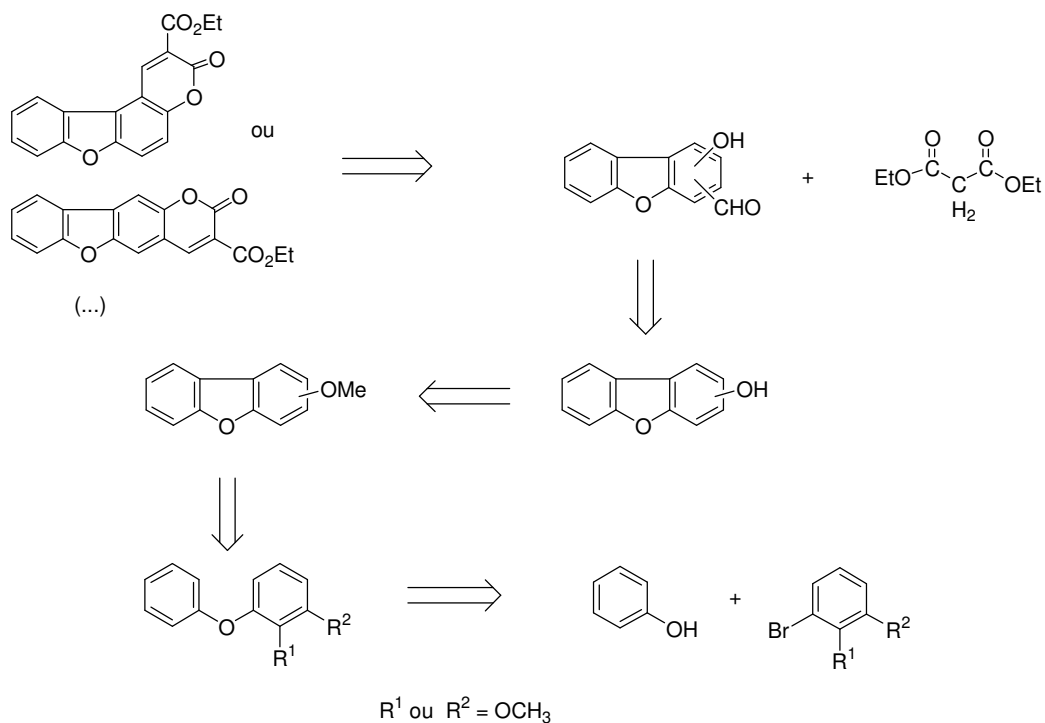


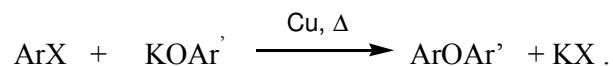
Figura 1 – Análise retróssintética de benzopsoralenos.

2. Apresentação e discussão dos resultados

2.1. Síntese de dibenzofuranóis

2.1.1. Síntese de éteres difenílicos

Existem vários métodos para a síntese de éteres difenílicos. Em 1904, Ullmann observou que, na presença de cobre metálico, a substituição nucleofílica de um átomo de halogéneo (X) presente num anel benzénico, por um grupo fenólico foi bem sucedida tendo proposto uma via de síntese de éteres difenílicos (Lindley, 1984; Moroz, 1974):



Este método de síntese, conhecido também como condensação ou acoplamento de Ullmann, tornou-se largamente usado quer laboratorial quer industrialmente, dada a sua importância para a síntese de produtos farmacêuticos e de outros materiais (Ma, 2003; Moroz, 1974). Entretanto, várias modificações deste método foram introduzidas, tais como: a utilização de sais de cobre ou óxidos de cobre como catalisadores; utilização do fenol juntamente com K_2CO_3 em vez de partir de fenóxidos de metais alcalinos (Bacon, 1965; Lindley, 1984; Moroz, 1974). Contudo, esta via de síntese continua a levantar alguns problemas, pelo menos ao nível industrial, nomeadamente, a necessidade de altas temperaturas, a utilização, em alguns casos, de sais de cobre em proporções superiores às estequiométricas, a irreprodutibilidade e a dificuldade de purificação dos produtos (Bates, 2002; Ma, 2003; Oliveira, 2002; Sawyer, 1998).

Têm sido estudadas alternativas, mas o baixo custo para sínteses industriais em larga escala continua a justificar a aplicação de reacções do tipo de Ullmann (Buck, 2002, Ma, 2003). Por exemplo, foram descritas diversas modificações tais como mediação por fluoreto de potássio – alumina / éter 18-coroa-6 (Sawyer, 1998), aquecimento por microondas (Li, 2003), uso de outros catalisadores como paládio (Buck, 2002; Ma, 2003) ou complexos de cobre (Bates, 2002) ou de condições menos drásticas e em menor tempo (utilizando 2,2,6,6-tetrametil-heptano-3,5-diona (TMHD) (Buck, 2002) ou α - e β -aminoácidos (Ma, 2003)).

Optou-se, neste trabalho, por uma variação do acoplamento de Ullmann original, em que se utiliza o fenol e o bromoanisole respectivo (éter bromofenílico e metílico) e como catalisador o Cu_2O visto ter sido já demonstrado que a eficiência deste óxido é superior à de Cu em pó ou de CuO (Lindley, 1984). Obtiveram-se os éteres difenílicos **1a** e **1b** com bons rendimentos, 78 % e 93 % respectivamente (Figura 2).

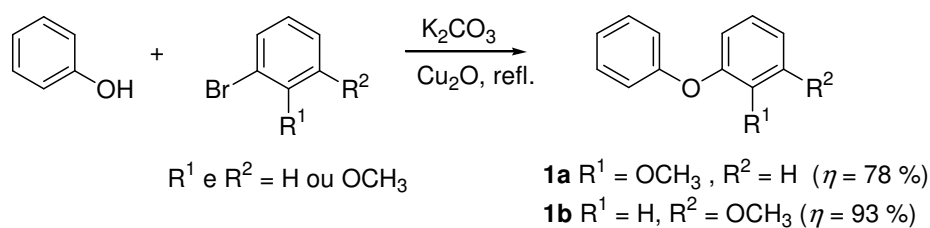


Figura 2 – Formação de éteres difenílicos.

Vários mecanismos têm sido propostos para o acoplamento de Ullmann, que envolvem: i) ataque nucleofílico; ii) a formação de um complexo π entre o metal e o halogeneto de arilo; iii) reacções radiculares. No caso da síntese de éteres, é aceite, geralmente, que se forma um complexo de fenóxido de cobre(I) e que este reage com o bromobenzeno (Lindley, 1984; Moroz, 1974). Pode, portanto, propor-se, para esta reacção, o mecanismo descrito na Figura 3.

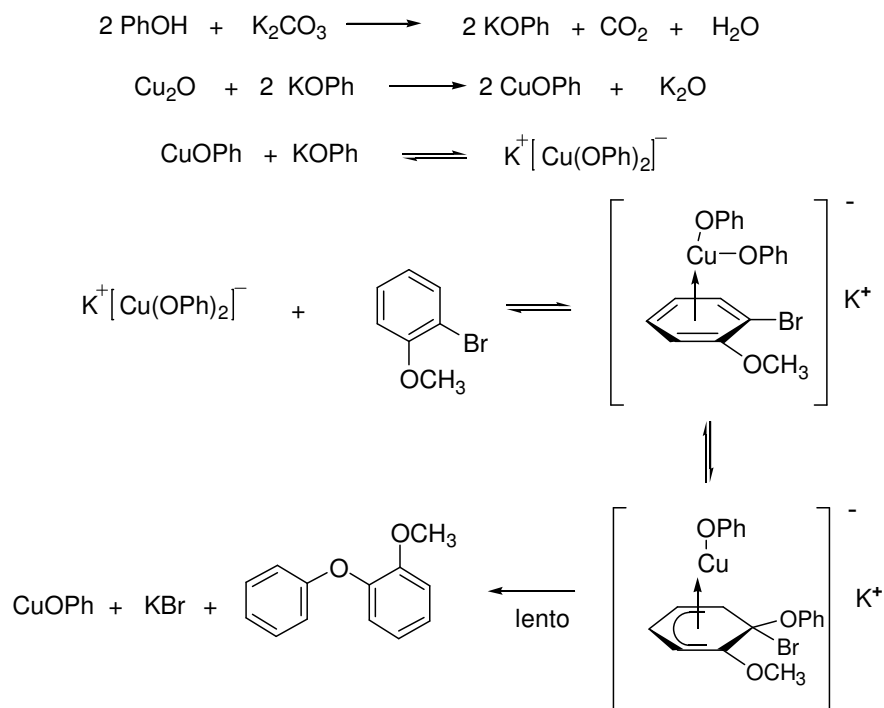


Figura 3 – Proposta de mecanismo para a síntese, do tipo Ullmann, de difeniléteres.

2.1.2. Ciclização com $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ e por via fotoquímica: síntese de metoxidibenzofuranos

O fecho de éteres difenílicos, para dar origem a um terceiro anel central, pode conseguir-se por vários métodos, sendo muito conhecidos a ciclização com acetato de paládio(II) e a ciclização através de irradiação com raios UV, em presença de iodo (Äkermark, 1975; Ames, 1983; Bedford, 2002; Clark, 1974; Kemp, 1983; Raposo, 1996; Sargent, 1982; Zeller, 1975).

Em estudos efectuados por outros autores, verificou-se que as velocidades de oxidação de hidrocarbonetos aromáticos por oxidantes tais como acetatos metálicos, são muito afectadas por ácidos fortes (Sheldon, 1981). O aumento das propriedades oxidantes (electrofilicas) dos acetatos metálicos, na presença de ácidos fortes tais como o ácido trifluoroacético (TFA) é uma característica geral deste tipo de oxidações (Äkermark, 1975; Clark, 1974; Raposo, 1996).

Por exemplo, o grupo de Äkermark *et al.* (1975) verificou que para ciclizar o difeniléter usando Pd(OAc)₂ (1:2, respectivamente), em CH₃COOH, era necessário 24 h ($\eta = 45\%$) enquanto que com o TFA era suficiente apenas 1 h e uma proporção de 1:1 de Pd(OAc)₂, obtendo-se ainda um rendimento melhor de dibenzofurano (87%). A velocidade e a proporção de acetato de paládio(II) necessários também se mostraram dependentes dos grupos substituintes no anel aromático, sendo que, quanto mais retiradores forem estes grupos, maiores são o tempo de reacção e a proporção de acetato necessários (Äkermark, 1975; Ames, 1983). A influência dos substituintes indica que possivelmente a reacção ocorre *via* um ataque electrofilico do paládio (II) ao anel aromático, já que o paládio(II) é um aceitador de 2 electrões, formando um intermediário complexo e determinante da velocidade da reacção (Äkermark, 1975; Clark, 1974). No entanto, verificou-se que este processo pode ser tornado catalítico, em relação ao paládio, caso seja usado o ácido TFA ou se realize a reacção a alta pressão numa mistura de oxigénio e azoto de 1:1. Também se verificou a existência de um mecanismo de competição de acoplamento intermolecular (Ames, 1983; Clark, 1974).

A ciclização de difeniléteres, com ou sem substituintes, por irradiação com luz UV (450 W), em solução de ciclo-hexano e na presença de iodo (proporção 1:1 em relação ao reagente) foi descrita por Zeller e Petersen (1975), tendo-se formado dibenzofuranos com rendimentos entre 40 e 60%.

Neste trabalho, utilizaram-se o método com acetato de paládio(II) e também a via fotoquímica já que se verificou que a ciclização dos compostos **1a** e **1b** pelo primeiro método não originou os três compostos possíveis e esperados (1-, 3- e 4-metoxidibenzofuranos).

A ciclização do éter **1a** ocorreu apenas com o acetato de paládio (II), utilizando AcOH (proporção de **1a** para o acetato: 1,1:1) ou TFA (proporção de **1a** para o acetato: 1:1,2), mas com baixos rendimento (15 % e 12 % respectivamente) (Figura 4). Como se referiu atrás, o aumento do tempo de reacção com o CH₃COOH e da proporção de acetato de paládio (II) utilizada poderia fazer aumentar os rendimentos obtidos. Contudo foi notória a diferença no tempo de reacção com os dois ácidos.

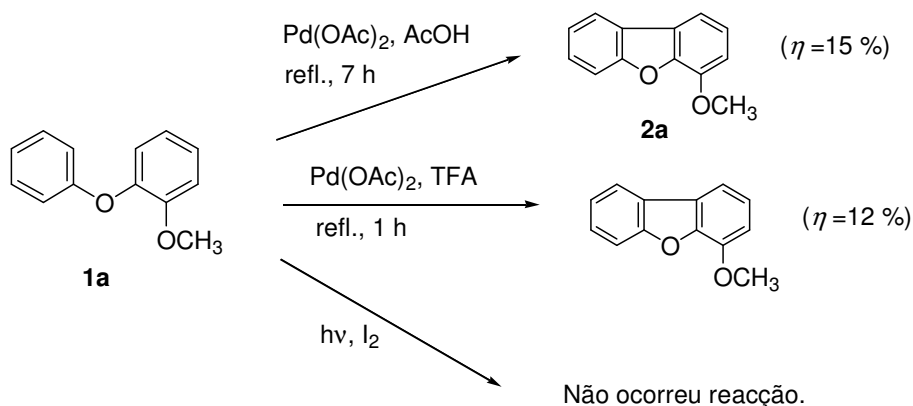


Figura 4- Ciclização do éter difenílico com proporções de **1a**, em relação ao acetato de paládio(II), de 1,1:1 e de 1:1,2, utilizando, respectivamente, o AcOH e o TFA.

A ciclização do difeniléter **1b**, com acetato de paládio(II) e com radiação UV permitiu obter os dibenzofuranos substituídos nas posições 1 e 3, respectivamente, **2b** e **2c** (Figura 5).

A proporção entre o éter **1b** e o Pd(OAc)₂ utilizada foi de 1,1:1. A proporção utilizada, na via fotoquímica, entre o éter **1b** e o iodo foi de 1,25:1 e o tempo de reacção 17 horas. Este método permitiu obter o dibenzofurano **2c**, substituído na posição 1, que não se conseguiu com o acetato de paládio(II) tal como já verificado por outros autores (Gilman, 1939).

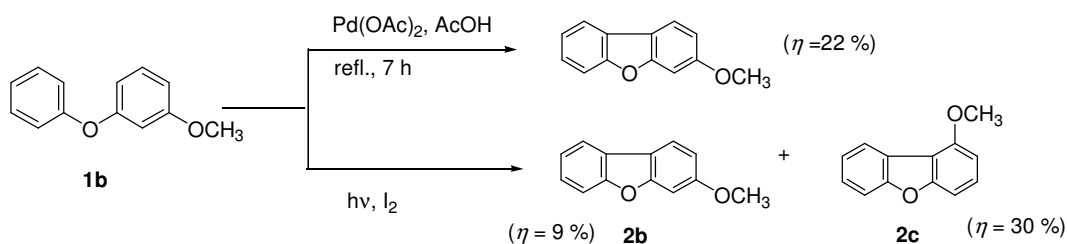


Figura 5 – Reacções de ciclização do éter **1b**.

O facto de se ter obtido o composto **2c**, apenas pela via fotoquímica deveu-se, possivelmente, a um impedimento estereoquímico, em relação à formação do complexo de paládio com a orientação necessária para obter **2c**. O mecanismo da ciclização, por via fotoquímica, não parece apresentar tais impedimentos. A ciclização ocorre, iniciando-se pela passagem do éter difenílico ao estado tripleto e posterior rearranjo electrocíclico que ocorre entre um par de electrões do oxigénio e os electrões das ligações π , formando-se, provavelmente, uma espécie intermediária: o ileto **A**. Este, numa última etapa é oxidado pelo iodo (Figura 6). Também se chama a este método fotoarilação orientada por um heteroátomo (Schultz, 1978; Zeller, 1975).

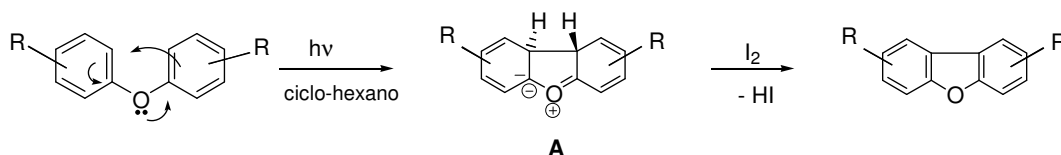


Figura 6 – Mecanismo da ciclização fotoquímica.

Para a irradiação usou-se uma lâmpada de mercúrio de média pressão (150 W) (emissões entre 220 e 1400 nm, com as principais linhas a 365, 436, 546 e 578 nm) (Gordon, 1972). A literatura (Dean, 1984) indica que vários dibenzofuranos substituídos e o próprio dibenzofurano não substituído apresentam comprimentos de onda de absorção máxima à volta dos 300 nm. Portanto, a radiação emitida pela lâmpada referida é capaz de provocar a excitação do metoxidibenzofurano.

2.1.3. Desmetilação de metoxidibenzofuranos

Tendo-se obtido os metoxidibenzofuranos e dado que se pretendia, de seguida, sintetizar aldeídos aromáticos com um grupo hidroxilo em posição *orto*, foi necessário proceder à desmetilação dos primeiros, ainda que depois se viesse a verificar que alguns dos métodos de formilação poderiam ter mais sucesso com metoxidibenzofuranos.

A clivagem de éteres é uma reacção muito versátil, tendo diversas aplicações, como por exemplo, na degradação e transformação de produtos naturais e em reacções de protecção dos álcoois que são inicialmente convertidos em éteres, seguindo-se a clivagem para desprotecção (Bhatt, 1983).

Para a clivagem de éteres, podem ser usados muitos reagentes, alguns com valor sintético limitado, outros capazes de clivar também ésteres e acetais. Há ainda aqueles em que é preciso utilizar condições drásticas como temperaturas elevadas (Bhatt, 1983; McOmie, 1968). Num artigo de revisão de Bhatt e Kulkarni (1983), são indicados diversos tipos de reagentes possíveis para a desmetilação tais como: ácidos de Brønsted e de Lewis, bases (hidróxidos, alcóxidos, amidas), compostos organometálicos, sais, *etc.*

Neste estudo, utilizou-se um ácido de Lewis, o tribrometo de boro (BBr_3) que foi referenciado mais tarde do que outros ácidos de Lewis (tal como o AlCl_3), mas que provou poder clivar éteres em condições suaves, sendo mais selectivo já que não afecta um elevado número de outros grupos funcionais, como grupos éster ou ligações duplas (Bhatt, 1983, McOmie, 1968).

Assim, aplicaram-se as condições inicialmente propostas, em 1942, e reintroduzidas, mais tarde, pelo grupo de McOmie. Dissolveu-se o dibenzofurano em diclorometano, adicionou-se o BBr_3 à solução a $-78\text{ }^\circ\text{C}$, deixou-se atingir a temperatura ambiente e hidrolisou-se por adição de gelo. Geralmente, a reacção é efectuada de modo a que exista 1 mol de BBr_3 para cada grupo éter ou outro grupo funcional com propriedades básicas de Lewis (Bhatt, 1983; McOmie, 1968 e 1973). Obtiveram-se rendimentos quase quantitativos em todas as desmetilações realizadas (Figura 7). O dibenzofuran-2-ol foi adquirido comercialmente.

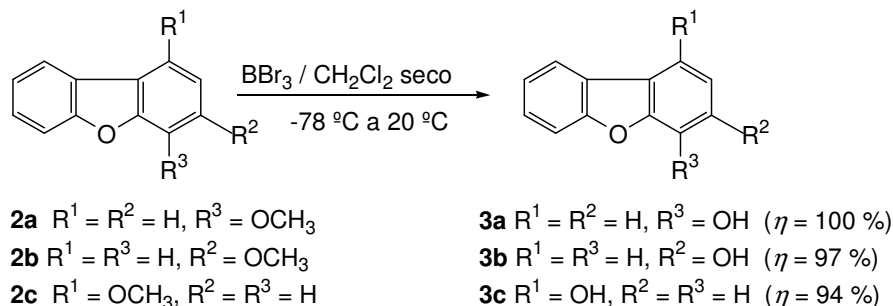


Figura 7 – Desmetilação de metoxidibenzofuranos.

A reacção de desmetilação é uma reacção de substituição do tribrometo de boro, no grupo mais substituído, seguindo, provavelmente *via* um complexo formado entre o BBr_3 e o oxigénio do grupo éter a clivar (Bhatt, 1983, McOmie, 1968) (Figura 8).

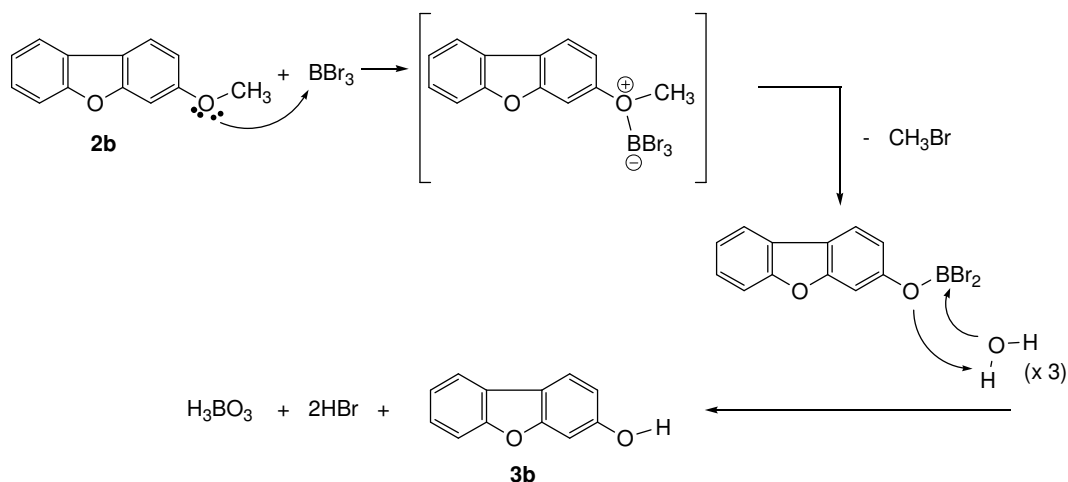


Figura 8 – Mecanismo de desmetilação do 3-metoxidibenzofurano (**2b**).

2.1.4. Síntese do dibenzofuran-4-ol via metalação

De modo a melhorar o rendimento da síntese do dibenzofuran-4-ol, realizou-se uma hidroxilação, *via* metalação do dibenzofurano comercial. A metalação do dibenzofurano procede normalmente, introduzindo o metal apenas na posição 4 (Gilman, 1935 e 1962). Assim, para a síntese do dibenzofuran-4-ol, utilizou-se butil-lítio (BuLi), ocorrendo a substituição do hidrogénio da posição 4 do dibenzofurano, pelo lítio, já que esta é a posição mais activada pelo oxigénio do anel de furano. Segue-se a formação do éster borónico e posterior oxidação com peróxido de hidrogénio (Figura 9) (Beak, 1982a; Kumar, 1997; Oliveira, 2002). Obteve-se o composto **3a** com um rendimento de 71 % (Figura 9), bem mais elevado que o rendimento global da síntese, referida anteriormente (12 %).

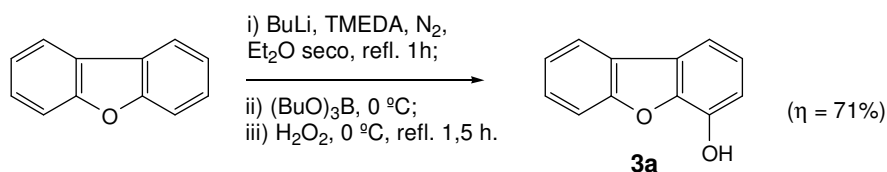


Figura 9 – Síntese do dibenzofuran-4-ol (**3a**) *via* metalação com BuLi .

2.2. Formação de dibenzofuranóis

2.2.1. Métodos de formação

A preparação eficiente de compostos aromáticos polissubstituídos é um dos problemas clássicos da Química Orgânica. O método mais comum envolve uma substituição electrofílica que muitas vezes é efectuada em condições rigorosas e não ocorre na posição desejada, podendo ainda produzir vários isómeros (Beak, 1982b; Snieckus, 1990) (Figura 10). A substituição electrofílica aromática é normalmente descrita como ocorrendo em três passos: a reacção ácido-base na qual se forma o electrófilo, o ataque do electrófilo ao anel, formando um carbocátion e, finalmente, a perda do próton por acção de uma base e consequente formação do produto final.

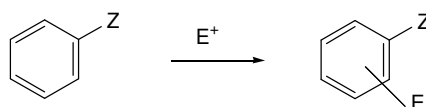


Figura 10- Substituição electrofílica aromática. Z = substituinte (carbono ou heteroátomo), E = electrófilo (halogéneo⁺, NO₂⁺, RCO⁺, etc).

Têm surgido vários métodos alternativos à substituição electrofílica, para a síntese dos compostos 1,2-dissubstituídos tais como: a) rearranjo sigmatrópico; b) substituição nucleofílica, se X for um bom grupo de saída e Z fortemente retirador; c) cicloadição com extrusão térmica de fragmentos estáveis de compostos não aromáticos; d) ciclização carbaniónica (Beak, 1982b; Snieckus, 1990) (Figura 11).

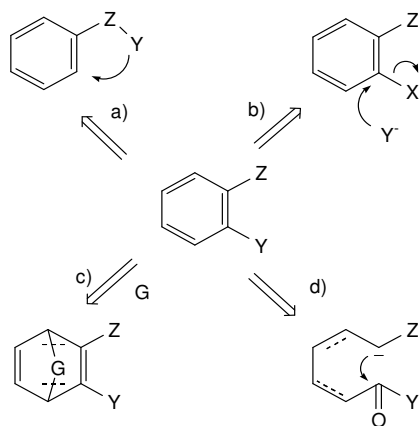


Figura 11 – Análise retrosintética de compostos aromáticos 1,2-dissubstituídos (excluindo a transformada de substituição electrofílica).

A importância dos aldeídos aromáticos como intermediários na indústria química e farmacêutica, faz com que o desenvolvimento de novos métodos de formilação e de formação de ligações C-C continue a ser um desafio. Ao contrário da acilação de compostos aromáticos, que pode ser conseguida através do método de Friedel-Crafts, a formilação, através dos métodos mais conhecidos, é mais difícil de realizar e tem mais inconvenientes do ponto de vista industrial (Kantlehner, 2003).

As estratégias de síntese continuam a basear-se na substituição electrofílica aromática seguindo dois caminhos diferentes (Bagno, 2001; Kantlehner, 2003):

i) reacções envolvendo a introdução do catião formilo (ou seus precursores) no núcleo aromático, geralmente em meio ácido, tais como as reacções de Gattermann e Koch (CO, HCl/ AlCl₃ e CuCl), de Gattermann (HCN, HCl/ AlCl₃ ou ZnCl₂), a modificação desta por Adams (HCl / Zn(CN)₂), as reacções de Vilsmeier-Haack (*N,N*-dimetilformamida (DMF) ou *N*-metilformanilida (*N*-MFA)/ POCl₃ ou COCl₂), de Gross-Rieche (Cl₂CHOCH₃/ AlCl₃ ou SnCl₄), a reacção de Olah, análoga à de Friedel-Crafts (HCOF / BF₃ ou BCl₃ ou BBr₃) e outras mais recentes como as que foram propostas por Kantlehner (N(CHO)₃ / AlCl₃);

ii) reacções em que se forma inicialmente a ligação C-C resultando compostos aromáticos substituídos com um grupo halometilo ou hidroximetilo que sofrem logo de seguida oxidação a aldeídos, tais como as reacções de Reimer-Tiemann (CHCl₃ / NaHO, meio básico), de Duff (hexametenotetramina (HMTA) / CH₃COOH ou CF₃COOH), de Sommelet (RCH₂X / HMTA) e de Casiraghi (HCHO / SnCl₄).

Mais recentemente, foram referidos outros métodos, por exemplo a formilação resultante do rearranjo de Fries de metanoatos de fenilo (Kantlehner, 2003).

Neste trabalho foram efectuadas várias reacções de formilação com o objectivo de introduzir o grupo formilo em posição adjacente ao hidroxilo dos dibenzofuranóis **3a-c**, sintetizados anteriormente, e do dibenzofuran-2-ol **3d** obtido comercialmente.

As tentativas para realizar a formilação de Vilsmeier-Haack (Marson, 1994; Jones, 1997) dos compostos **3a** e **3b** com POCl₃ / *N*-MFA e com POCl₃/ DMF e do composto **3c** com POCl₃/ DMF não resultaram, pelo que esse método não foi testado no composto **3d**. Também a formilação de Duff (Blazevic, 1979; Davies, 1958a) do composto **3c** (HMTA/CH₃COOH) não foi bem sucedida.

Foram então realizadas as reacções de formilação *via* litiação dos compostos **3a**, **b** e **d** e de Reimer-Tiemann dos compostos **3a** e **3c**, sendo os resultados apresentados de seguida.

2.2.2. Formilação *via* litiação de carbamatos

A descoberta independente de Gilman e Bebb e de Wittig e Fuhrman de que o grupo metoxilo no metoxibenzeno dirigia a litiação para uma posição *orto* em relação a esse grupo foi a propulsora de estudos sistemáticos de metalações dirigidas por grupos orientadores de metalação (DMGs – *Directed Metalation Groups*) que poderiam ajudar a solucionar a síntese de compostos aromáticos 1,2-dissubstituídos (Beak, 1982b; Snieckus, 1990).

O termo “metalção orientada” pode ser definido como a desprotonação de um carbono sp^2 , α em relação a um substituinte com um heteroátomo, de um substrato aromático ou alifático. A *orto*-metalção orientada (DoM – *Directed ortho Metalation*) refere-se, especificamente, ao caso de substratos aromáticos (Snieckus, 1980). Actualmente, a reacção de DoM refere-se à desprotecção de uma posição *orto* em relação a um grupo DMG, por uma base forte, normalmente um reagente de alquil-lítio, resultando espécies *orto*-litiadas. As espécies litiadas, após tratamento com reagentes electrofílicos, dão origem a produtos 1,2-dissubstituídos (Figura 12). Para que a desprotonação seja bem sucedida, o grupo DMG deve coordenar correctamente com a base de alquil-lítio e não sofrer, facilmente, ataque nucleofílico, por essa base. Apesar disso, têm-se verificado alguns casos de grupos directores, susceptíveis de ataque nucleofílico pelas bases de organolítio, mas que contudo, mantêm a sua estrutura e função como grupos orientadores de metalção em posição *orto* (Beak, 1982a, Snieckus, 1990).

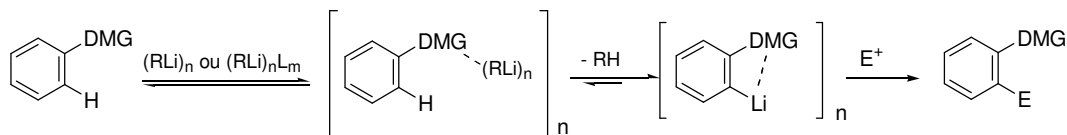


Figura 12 – Substituição electrofílica *via* *orto*-litiação orientada por um grupo DMG (L é um ligando, por exemplo, a TMEDA).

Verifica-se ainda que, em muitos casos, a formação de um complexo entre o lítio e o grupo funcional do DMG reforça não só a proximidade, mas também a ressonância e os efeitos estereoquímicos e indutivos, tornando difícil uma avaliação da contribuição destes factores para a obtenção do produto final. Os factos sugerem que este efeito do complexo (CIPE – *complex-induced proximity effect*), pode ser tão importante como os efeitos clássicos (Beak, 1986).

Neste trabalho decidiu-se realizar, por este método, a formilação dos dibenzofuranóis **3a**, **b** e **d**. A síntese foi então iniciada pela introdução do grupo DMG. A literatura indica que o grupo OCONEt_2 (carbamoílo) é um dos grupos mais eficientes na DoM (Snieckus, 1990).

A síntese de carbamatos (Lustig, 1967) efectuou-se por reacção dos dibenzofuranóis com o cloreto de *N,N*-dietilcarbamoílo (ClCONEt_2). A temperaturas de cerca de $100\text{ }^\circ\text{C}$ (**4a**) a reacção é completa, tendo-se obtido os resultados descritos na Figura 13.

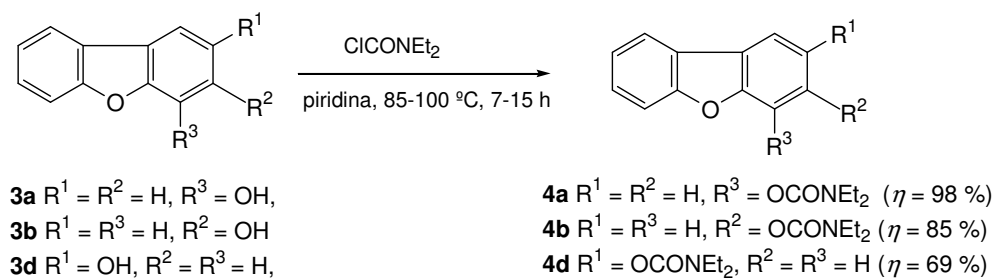


Figura 13 – Síntese dos dibenzofuranos substituídos com um DMG (OCONEt_2).

Para a litiação usou-se *sec*-BuLi, como base, em tetra-hidrofurano (THF), na presença de *N,N,N',N'*-tetrametiletilenodiamina (TMEDA).

Verificou-se que as bases de organolítio se dissociam na presença de solventes básicos (éteres, aminas) e formam agregados na presença de solventes como hidrocarbonetos. No entanto, agentes complexantes como a TMEDA (ligandos bidentados) quebram esses agregados e formam dímeros e monómeros, aumentando a sua basicidade e acelerando a reacção (Figura 14). A combinação *sec*-BuLi.TMEDA parece ser o agente metalante mais eficiente, efectuando a desprotonação do Me_4Si ,

1000 vezes mais rapidamente do que o BuLi.TMEDA, sendo que a reacção não ocorre na presença exclusiva de BuLi (Chadwick, 1979; Snieckus, 1990).

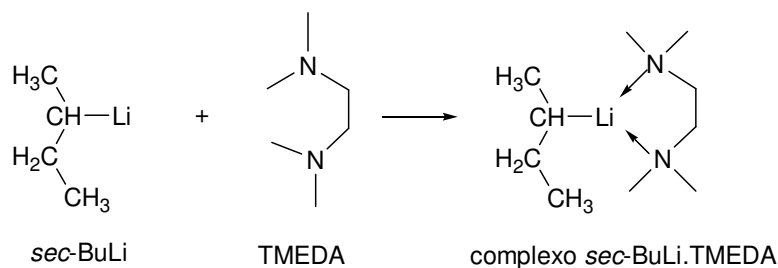


Figura 14 – Possível complexo formado entre a TMEDA e o *sec*-BuLi.

Não se conseguiu a formilação dos compostos **4a** e **b**, segundo este método. Para o composto **4d**, resultaram, directamente, os dois possíveis aldeídos **5a** e **5b** e, ainda assim, com baixos rendimentos (Figura 15).

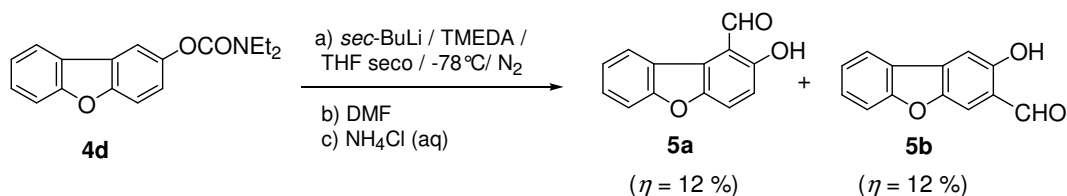


Figura 15 – Síntese de 1,2-hidroxialdeídos aromáticos *via* DoM.

A hidrólise de *o*-fenilcarbamatos a fenóis, requer, normalmente condições básicas rigorosas e agentes como o $\text{Li}[\text{AlH}_4]$. Contudo, em compostos *o*-hidroxilados, *o*-formilados ou *o*-carboxilados, os carbamatos sofrem hidrólise rápida *via* mecanismos em que esses grupos vizinhos auxiliam na reacção (reacção *anchimeric-assisted*) (Snieckus, 1990). Não foi portanto necessário um tratamento final da reacção em condições rigorosas (utilizou-se uma solução, ligeiramente ácida, de NH_4Cl).

2.2.3. Formilação de Reimer-Tiemann

A formilação de Reimer-Tiemann foi descoberta, em 1876, e é talvez o único método de formilação realizado em meio básico e não anidro. A primeira reacção foi realizada entre o fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) e triclorometano (CHCl_3), em meio alcalino (Wynberg, 1982).

Apesar da sua descoberta datar de há mais de 125 anos, as condições de reacção ainda não foram optimizadas. Nunca foram referidos rendimentos quantitativos, e são comuns rendimentos inferiores a 20 %. Contudo, verifica-se que muitas vezes a reacção de Reimer-Tiemann é o único método para a formilação de fenóis, por exemplo quando o anel aromático contém grupos electrorretiradores (Wynberg, 1982).

Existem trabalhos realizados com o objectivo de melhorar os rendimentos da reacção como a utilização de ultrassons (Cochran, 1990), a irradiação com luz UV (Hirao, 1974) e a utilização de um meio orgânico (CHCl_3) ligeiramente hidratado (com adição de NaHO sólido) (Thoer, 1988), tendo havido melhoria dos rendimentos, em vários compostos utilizados.

O composto **5a** foi já obtido, por outros autores, segundo este método (Feng, 2001). Neste trabalho sintetizaram-se, utilizando o mesmo método, os compostos **3a** e **3c**, tendo-se obtido, respectivamente, os aldeídos **5c** (15 %) e **5d** (17 %) (Figura 16).

Experimentou-se também a variante proposta por Thoer *et al.* (1988) tendo-se conseguido melhorar, ligeiramente, o rendimento da formilação de **3a** para 23 % (Figura 16).

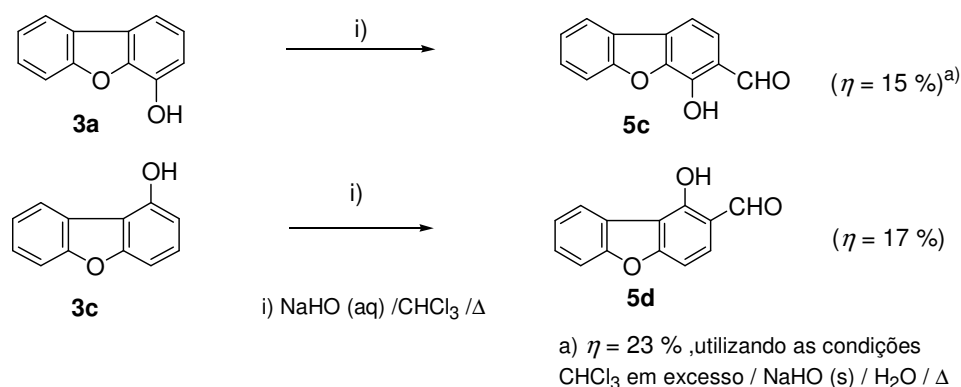


Figura 16 – Formilação de Reimer-Tiemann de dibenzofuranóis.

O mecanismo global da formilação de Reimer-Tiemann é bem conhecido, faltando, porém, o esclarecimento de alguns passos.

Inicialmente, envolve a formação de um carbanião que depois dá origem ao diclorocarbeno ($:CCl_2$) (Figura 17, Eq. 1 e 2). Há estudos que revelam que a velocidade de formação do carbanião, CX_3^- ($X = F, Cl, Br, I$), a partir de halometanos é $CHI_3 > CHBr_3 > CHCl_3 > CHCl_2F$, enquanto que a formação de di-halocarbénos a partir de CX_3^- é na ordem $F \gg Cl > Br > I$. Esta ordem é atribuída à capacidade de os halogéneos fornecerem electrões ao átomo de carbono de modo a estabilizá-lo (Parham, 1963). Portanto, o $CHCl_3$ é um bom reagente para a formação de carbenos.

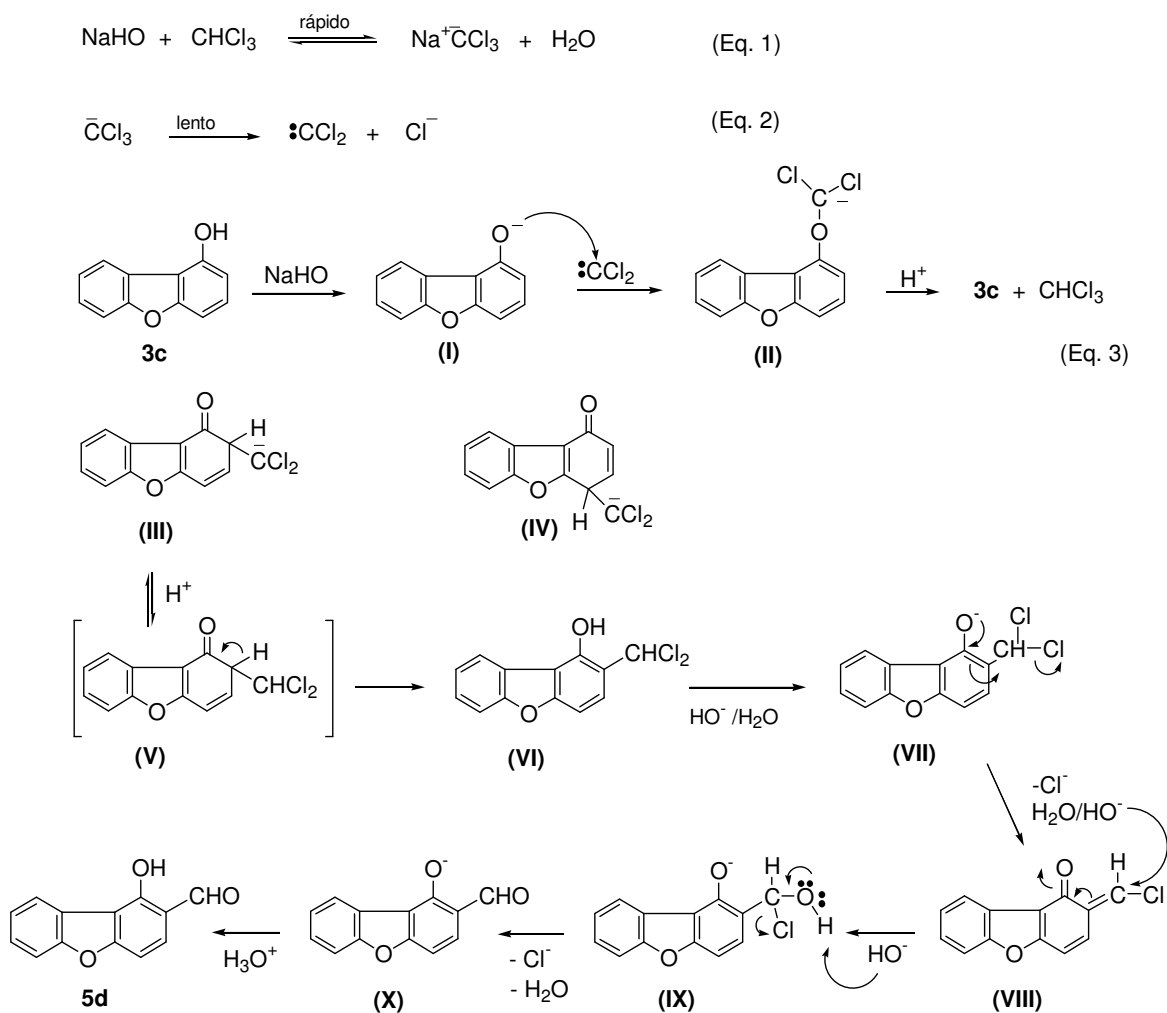


Figura 17 – Mecanismo da reacção de formilação de Reimer-Tiemann.

Os halocarbénos são espécies electofílicas e é comum, aquando da reacção com um composto onde existe um heteroátomo nucleofílico, ocorrer uma competição entre a

inserção do carbeno nas posições *orto* ou *para* em relação a esse heteroátomo e o próprio heteroátomo. Geralmente, o ataque ocorre sobretudo na posição *orto*, a menos que esta esteja ocupada (March, 1992).

Na reacção com o dibenzofuran-1-ol, **3c**, supõe-se, então, que a espécie **II**, forma-se após a adição do carbeno ao oxigénio (Eq. 3, Figura 17) e decompõe-se, originando o composto de partida ou produtos secundários (Parham, 1963; Wynberg, 1982). Do ataque às posições *orto* ou *para* podem resultar, respectivamente, as espécies **III** e **IV**. Na reacção efectuada neste trabalho, a espécie **III** deve ser predominante, já que não se obtiveram produtos de substituição na posição *para*. Esta espécie dá origem ao aldeído. Primeiro, forma-se o intermediário **V** que sofre rearranjo e origina a espécie neutra **VI**, da qual há algumas evidências experimentais. As hidrólises básica e ácida, produzem o aldeído **5d** (Wynberg, 1982) (Figura 17).

2.3. Síntese de benzopsoralenos *via* condensação de Knoevenagel

A condensação de Knoevenagel ocorre entre aldeídos ou cetonas e um composto contendo um grupo metileno, geralmente ligado a grupos retiradores de electrões como os grupos nitro, ciano e acilo e que possa ser activado por uma base orgânica ou inorgânica (Jones, 1967). Esta reacção é bem conhecida, por exemplo para a síntese do anel de oxopirano de cumarinas, partindo de *orto*-hidroxibenzaldeídos (Horning, 1965; Jones, 1967; Woods, 1965) tendo, mais recentemente, sido desenvolvidas tentativas para melhorar o seu rendimento (Chen, 2001; Gallastegui, 1984; Song, 2003; Watson, 1998).

Neste trabalho procedeu-se à reacção entre os aldeídos **5a-d** e o malonato de dietilo, na presença de piperidina e ácido acético, formando-se os benzopsoralenos **6a-d** com rendimentos variáveis 20-87 % (Figura 18).

Provavelmente, a reacção ocorre *via* formação de um sal de imínio que, de seguida, sofre ataque pelo carbanião resultante da desprotonação do grupo metileno do malonato de dietilo ($\text{CH}_2(\text{CO}_2\text{Et})_2$). Segue-se a hidrólise e a formação da lactona, por

ataque nucleofílico do oxigénio do grupo hidroxilo, ao carbonilo do grupo éster do malonato. Obtêm-se então os produtos finais com o anel de piranona e etanol.

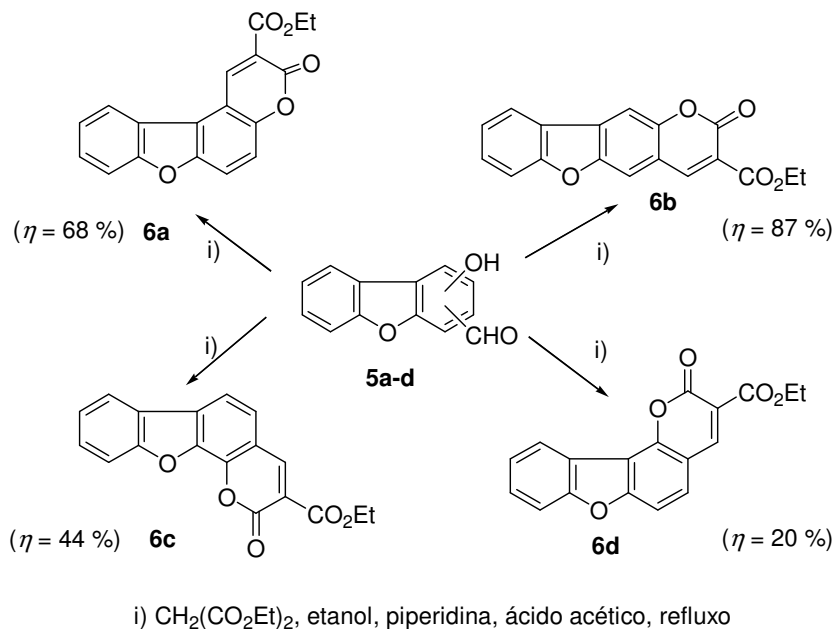


Figura 18 – Condensação dos dibenzofuranóis formilados (**5a-d**) com malonato de dietilo.

Fazendo uma retrospectiva, pode-se determinar os rendimentos globais para a síntese dos benzopsoralenos **6a-d** (Tabela I).

Tabela I – Resultados dos rendimentos globais de síntese dos benzopsoralenos **6a-d**.

benzopsoraleno	Reacção / η (%)					
	acoplamento	ciclização	desmetilação	formilação	fecho	global
a	-	-	-	8 ^c	68	6
b	-	-	-	8 ^c	87	7
c	(78) ^a	(15) ^a	(94) ^a / 71 ^b	23	44	(1) ^a 7
d	93	30	97	17	20	1

^a – Valores indicados apenas para comparação; este benzopsoraleno foi sintetizado com melhor rendimento, directamente, a partir do dibenzofurano;

^b – síntese do dibenzofuran-4-ol, directamente, a partir do dibenzofurano comercial;

^c – o rendimento da formilação inclui a síntese do carbamato.

Apesar de algumas etapas terem sido bem conseguidas, as dificuldades, essencialmente nas formulações e na ciclização diminuíram muito o rendimento global da síntese.

2.4. Caracterização estrutural dos compostos sintetizados

2.4.1. *Difeniléteres, metoxidibenzofuranos e dibenzofuranóis*

Os difeniléteres (**1a-b**), metoxidibenzofuranos (**2a-c**) e dibenzofuranóis (**3a-c**), já referidos na literatura, foram caracterizados por espectroscopia de IV e de RMN de próton, assim como pelo seu ponto de fusão.

A identificação dos dibenzofuranóis, obtidos a partir dos metoxidibenzofuranos foi fácil, devido ao aparecimento do singuleto de RMN de próton do grupo hidroxilo ($\delta(\text{OH})$: 5,21 a 5,55 ppm) e o desaparecimento do sinal do grupo metilo ($\delta(\text{CH}_3)$: 3,97 a 4,08 ppm). Também no IV (em óleo mineral) nota-se o aparecimento da distensão OH na região 3192-3421 cm^{-1} .

2.4.2. *Carbamatos*

Os carbamatos (**4a, b e d**), obtidos como óleos, foram apenas caracterizados por espectroscopia de IV e RMN de próton. Estes compostos apresentam impedimento na rotação da ligação amida C(O)-N (Lustig, 1967). Em RMN de ^1H , no composto **4a** aparecem dois quartetos (e dois tripletos) resolvidos, sendo possível observar ambos os sinais correspondentes a cada um dos grupos etilo (Figura 19), enquanto que nos compostos **4b e d** estes sinais aparecem sobrepostos (multipletos).

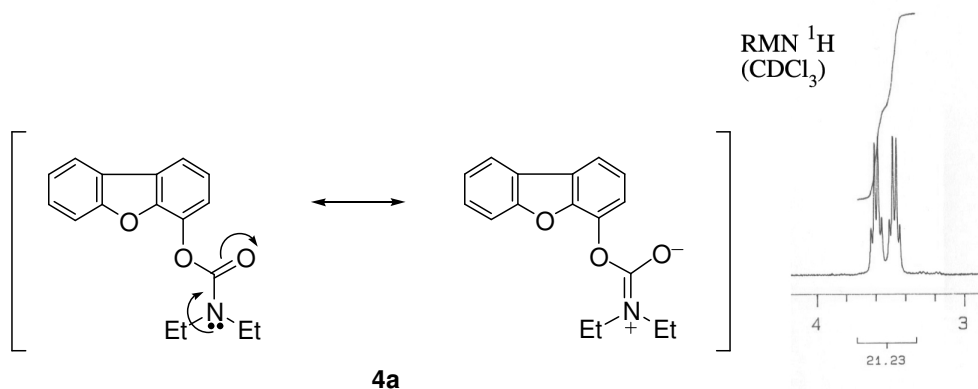
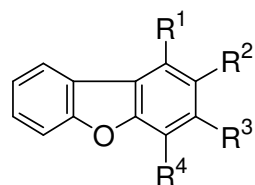


Figura 19 – Estruturas de ressonância para o carbamato **4a** e parte do espectro de RMN de próton, correspondente aos prótons CH₂ do grupo etilo

Também no espectro de absorção no IV, os carbamatos, são facilmente identificáveis pela banda intensa da distensão da ligação C=O (1720-1727 cm⁻¹).

2.4.3. Aldeídos

Os aldeídos, **5a-d**, (Figura 20) obtidos na forma de sólidos amarelos, foram caracterizados através do ponto de fusão e por espectroscopia de IV e de RMN de ¹H e de ¹³C. A análise elementar foi também realizada para alguns desses compostos; nos outros casos apenas a composição elementar do ião molecular foi obtida por espectrometria de massa de alta resolução. Alguns dos resultados encontram-se descritos na Tabela II.



Composto	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
5a	CHO	OH	H	H
5b	H	OH	CHO	H
5c	H	H	CHO	OH
5d	OH	CHO	H	H

Figura 20 – Estrutura dos aldeídos aromáticos **5a-d**.

Tabela II - Algumas características dos aldeídos **5a-d**.

Composto	p.f. / °C	IV, $\bar{\nu}$ /cm ⁻¹ (C=O)	RMN ¹ H, δ /ppm	
			OH	CHO
5a	135-138 ^a	1648	11,68	10,94
5b	214-216	1659	11,04	10,00
5c	165-167	1664	11,61	10,04
5d	111-113	1659	12,09	9,96

^a p.f. (Feng, 2001) = 118-121 °C

Nota-se que o ponto de fusão mais elevado é o do aldeído **5b** (214-216 °C) o que se pode atribuir ao facto de ser aquele que tem uma estrutura espacial linear o que, provavelmente, facilita o arranjo no estado sólido (Figura 21).

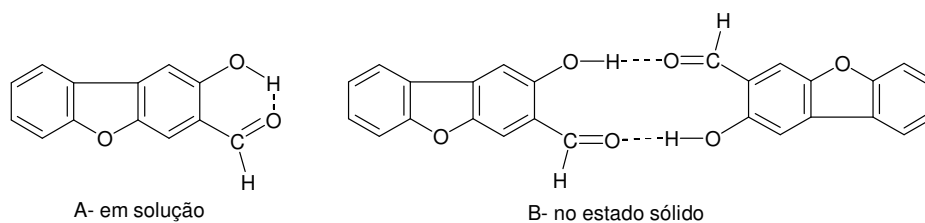


Figura 21 – Ligações intramoleculares no aldeído **5b**, em solução (A) e possível arranjo no estado sólido (B).

Os valores relativamente baixos da absorção, em IV, devidos à distensão C=O do aldeído, podem ser explicados pela formação de ligações de hidrogénio intra e intermoleculares (Figura 21).

As ligações de hidrogénio intramoleculares, desprotegendo o protão do grupo OH, também explicam os desvios químicos elevados, observados em RMN de protão. Note-se que os desvios apresentados pelo hidrogénio do grupo hidroxilo nos respectivos precursores, os dibenzofuranóis, variam entre os 5,21 e os 5,55 ppm. A atribuição dos sinais correspondentes aos grupos OH foi decidida por adição de D₂O.

Na Figura 22 apresenta-se o espectro de RMN de próton do aldeído **5c**.

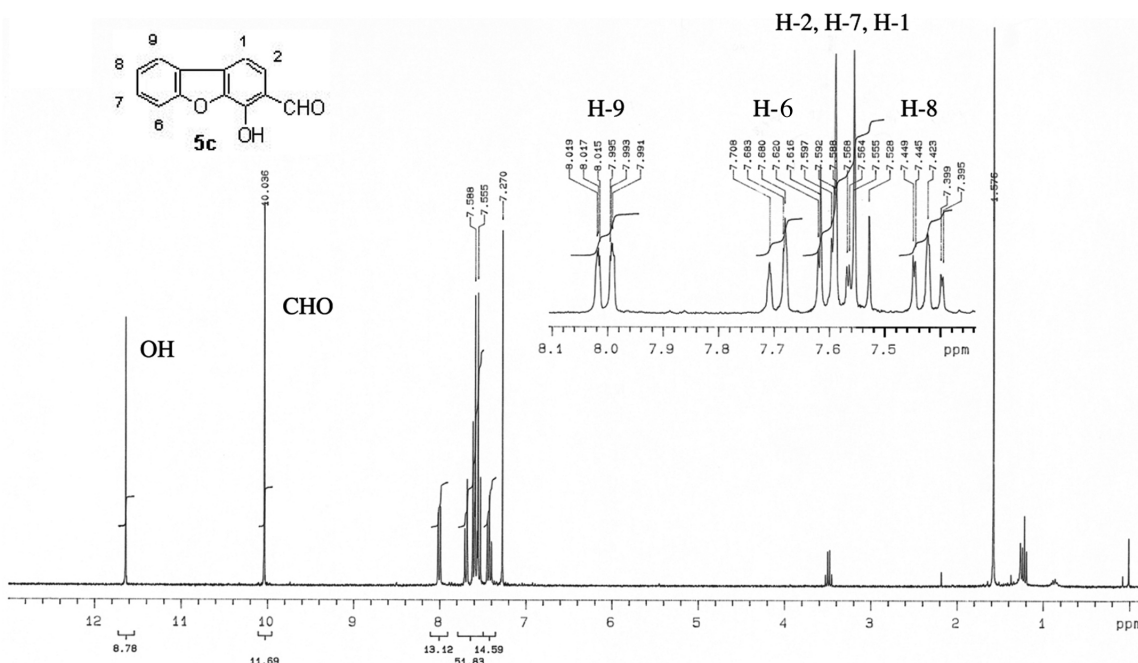


Figura 22 – Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do composto **5c**.

Neste espectro destacam-se os sinais dos referidos grupos OH e CHO e ainda dos dupletos correspondentes aos H-1 e H-2. Estes dupletos típicos de um sistema AB, com constantes de acoplamento *orto* (8 - 9 Hz) são a característica dos *orto*-hidroxialdeídos aromáticos “angulares”, **5a**, **c** e **d**. Também se pode evidenciar a posição relativa dos prótons do anel de benzeno não substituído: entre os sinais do H-6 e do H-9, o H-9 sempre mais desprotegido e entre os sinais do H-7 e do H-8, o H-7 sempre mais desprotegido. Ainda em relação aos prótons deste anel, o sinal do H-9 aparece sempre com desvios químicos mais elevados e, geralmente, menos definido, sendo designado duplete largo (dl). O mesmo acontece com os sinais dos prótons H-7 e H-8 que nem sempre aparecem bem definidos sendo designados por duplo tripleto (dt). Quando os sinais aparecem melhor definidos, é possível determinar os valores das três constantes de acoplamento sendo então designados por duplo duplete de dupletos (ddd).

2.4.4. Benzopsoralenos

Os benzopsoralenos (**6a-d**) foram caracterizados pelo ponto de fusão, por espectroscopia de absorção no UV-visível e no IV e por RMN de ^1H e espectrometria de massa. Realizou-se a análise elementar de alguns dos compostos e apenas a composição elementar do ião molecular, por espectrometria de massa de alta-resolução, foi obtida para os restantes compostos.

Em espectroscopia de IV observaram-se dois tipos de bandas de absorção correspondentes aos grupos $\text{C}=\text{O}$. Nos benzopsoralenos **6a** e **6b** observou-se uma banda larga e intensa, a 1771 e 1760 cm^{-1} , respectivamente, enquanto que em **6c** e **6d** foi possível observar duas bandas, mais estreitas, a 1755 e 1693 cm^{-1} para o **6c** (Figura 23) e a 1742 e 1700 cm^{-1} para o **6d**. As bandas entre 1742 e 1771 cm^{-1} correspondem a frequências anormalmente elevadas, devidas à distensão do grupo carbonilo, típicas das lactonas e devem-se à absorção do grupo carbonilo do anel de piranona (Brogden, 1984). As bandas com valores à volta dos 1700 cm^{-1} correspondem à $\text{C}=\text{O}$ do grupo CO_2Et . Encontra-se ainda referido na literatura (Brogden, 1984) o aparecimento de duas bandas entre 1552 e 1638 cm^{-1} , para este tipo de compostos, correspondentes à absorção devida à distensão da ligação $\text{C}=\text{C}$ do anel de piran-2-ona (Figura 23).

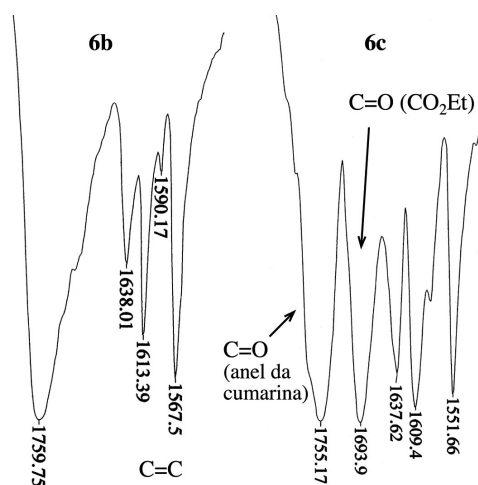


Figura 23 – Parte do espectro de IV (em KBr) dos benzopsoralenos **6b** e **6c**.

Sendo o espectro de IV indicativo da presença do anel de piran-2-ona, também os espectros de RMN de ^1H fornecem, rapidamente, a indicação da existência desse anel, essencialmente, pela presença, na região não aromática, de um quarteto e de um

tripeto correspondentes ao grupo etilo do CO₂Et e, ainda, de um ou mais singletos da parte da cumarina dos benzopsoralenos. Na Figura 24, apresenta-se o espectro do composto **6c**.

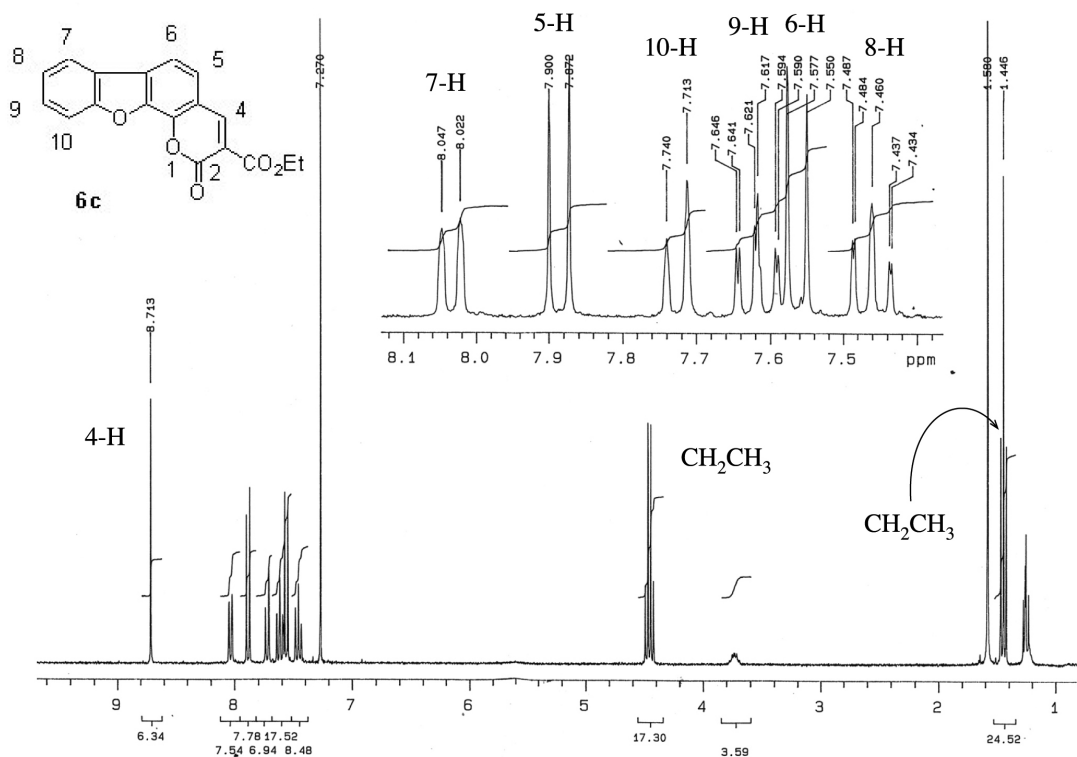


Figura 24 – Espectro de RMN de próton do composto **6c**.

Os espectros de UV-visível dos benzopsoralenos, traçados em etanol, apresentam uma banda intensa e alargada entre os 300 e os 400 nm, sendo os comprimentos de onda de absorção máxima, entre 333 e 349 nm, o que está de acordo com o previsto, já que os compostos apresentam uma cor amarela (Figura 25). Os valores mais elevados dos comprimentos de onda de absorção máxima para o dibenzofurano não substituído são 249 e 280 nm (Dean, 1984). A inclusão de um anel de piranona, substituído com o grupo CO₂Et, no dibenzofurano, para formar os benzopsoralenos, fez deslocar o comprimento de onda de absorção máximo, como seria de esperar.

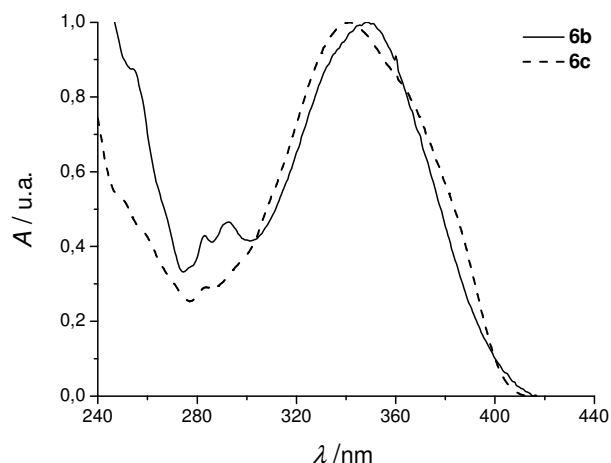


Figura 25 – Espectros de absorção no UV-visível dos compostos **6b** e **6c**, em etanol.

Na caracterização por espectrometria de massa obteve-se, para todos os compostos finais, o mesmo padrão de fragmentação inicial:

- o pico base correspondente ao fragmento M^+ ($m/z = 308$);
- a fragmentação do éster alifático ($m/z = 263$ e 236);
- a fragmentação da cumarina, dando origem, segundo alguns autores, a um anel de furano (Brogden, 1984) ($m/z = 208$);
- a fragmentação do anel de furano ($m/z = 179$);
- a perda da partícula CO do núcleo do dibenzofurano (Bird, 1984; Dean, 1984) ($m/z = 150$).

Na Figura 26 apresentam-se algumas das vias de clivagem possíveis, para o composto **6a**.

As referências da literatura consideram o anel de furano e o dibenzofurano, como sendo bastante estáveis, em termos da espectrometria de massa (Dean, 1984). Na realidade, as fragmentações que ocorrem nos compostos finais, com valores de m/z inferiores a 179, têm uma intensidade relativa inferior a 15 %, com exceção do que se observa para o composto **6c**.

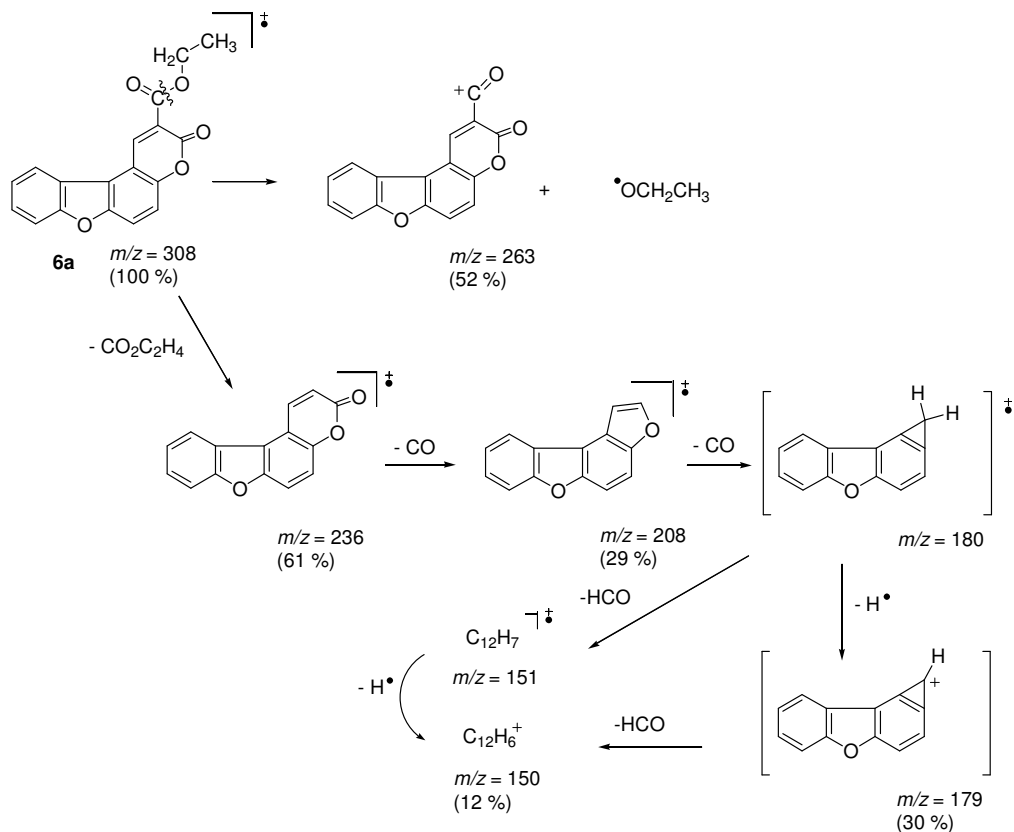


Figura 26 – Possíveis vias de fragmentação dos compostos finais, exemplificando para o composto **6a**.

3. Conclusões

A estratégia de síntese adotada permitiu sintetizar os benzopsoralenos **6a-d**, de acordo com o objetivo inicial. Estes compostos têm a dupla ligação 4',5' do anel de furano impedida por um anel de benzeno e, a posição 3 do anel da cumarina, substituída pelo grupo éster (Figura 27).

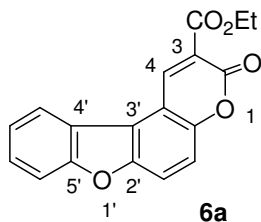


Figura 27- Indicação das posições relativas do anel benzênico e do grupo éster introduzidos, no composto **6a**.

Todos os produtos foram caracterizados estruturalmente.

A síntese foi conseguida com rendimentos globais baixos, sendo os passos determinantes a ciclização dos difeniléteres e, essencialmente, a formilação de dibenzofuranóis.

O estudo de propriedades fotofísicas, fotoquímicas e biológicas destes compostos será descrito no Capítulo V.

4. Parte Experimental

4.1. Instrumentação, métodos, solventes e reagentes utilizados

a) Espectroscopia

Infravermelho

Aparelho: espectrofotómetro FTIR - *Diffus-IR Bomem MB-Series*.

As amostras foram aplicadas directamente sobre células de NaCl, preparadas em pastilhas de KBr ou em óleo mineral (parafina). As bandas do óleo mineral, próximas de 3000 cm^{-1} e a 1455 cm^{-1} e 1378 cm^{-1} não foram indicadas na descrição dos espectros. As pastilhas de KBr (100 mg de KBr para ~ 3 mg de produto) foram preparadas utilizando uma prensa hidráulica.

Os resultados foram obtidos como espectros de transmitância (%) em função do número de onda, $\bar{\nu}$, (cm^{-1}).

UV-visível

Aparelho: espectrofotómetro *HITACHI 2000*.

Os espectros são obtidos como a absorvância em função do comprimento de onda, sendo sempre determinada uma linha de base, que desconta a absorção do solvente. A partir dos dados obtidos é determinado o valor do coeficiente de absorção molar, ϵ , em $\text{mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{cm}^{-1}$ e o respectivo $\log \epsilon$ para os valores de comprimento de onda, onde ocorrem máximos de absorção ($\lambda_{\text{máx}}$). Posteriormente, os espectros de

absorção no UV, dos compostos **6b** e **6c** (Figura 25) foram obtidos com um aparelho *SHIMADZU UV-2501 PC*, assim como, os espectros referidos nos capítulos III e IV.

RMN de ^1H e de ^{13}C

Aparelho: espectrofotômetro *Varian Unity Plus*.

A frequência de funcionamento do aparelho, para a determinação dos espectros de RMN ^1H , é de 300 MHz e no traçado dos espectros de RMN de ^{13}C é de 75,4 MHz. Os desvios em relação à referência (δ) são medidos em ppm e são determinados, tendo como referência o TMS (tetrametilsilano). As constantes de acoplamento (J) ^1H - ^1H são medidas em Hz. Algumas atribuições de sinais, em RMN de ^1H , são feitas com base em técnicas de dupla ressonância. Os espectros de RMN de ^{13}C foram traçados com base na técnica de “desacoplamento de prótons” (*proton decoupled*) que facilita a interpretação e permite identificar os átomos de carbono quaternários por serem os de menor intensidade (Fleming, 1989).

O solvente utilizado foi, em geral, o CDCl_3 , e, por vezes, a acetona- d_6 ou o DMSO-d_6 sendo apenas referido nestes dois últimos casos. Os solventes foram obtidos da Merck ou da Aldrich sendo sempre com um grau de deuteração superior a 99,5 %.

b) Espectrometria de Massa (EM)

Aparelho: espectrômetro *AutoSpecE*.

Os espectros foram obtidos por impacto electrónico (IE) através de injeção directa. São apresentados os valores de razão massa do ião por carga desse ião, m/z , que, geralmente, corresponde à massa do ião, por z ser normalmente 1, e da intensidade dos iões que atinge o analisador, em percentagem, relativa ao que ocorre em maior quantidade (int. rel. (%)).

Os espectros de massa de alta resolução (EM-AR) foram obtidos no mesmo espectrômetro, sendo referidos os valores das massas moleculares relativas para os iões moleculares constituídos pelos isótopos mais comuns (^1H , ^{12}C , ^{16}O).

c) Análise Elementar

Aparelho: analisador *Leco CHNS-932*, utilizando os padrões recomendados para cada tipo de compostos, por exemplo a acetanilida, para os hidroxialdeídos (5) e ácido esteárico, para os benzopsoralenos (6).

d) Pontos de fusão

Aparelho: *Gallenkamp*.

Os pontos de fusão não foram sujeitos a correcção. Após cada indicação do ponto de fusão, é referido o solvente da recristalização, caso tenha sido efectuada, e o ponto de fusão e solvente indicados na literatura, caso existam.

e) Reagentes e solventes

Os reagentes utilizados foram produtos PA ou “para síntese” das firmas *Merck*, *Aldrich*, *Sigma* ou *Fluka*.

Os solventes que foram utilizados tinham, em geral, elevado grau de pureza, e foram fornecidos por *Labskan*, *Merck*, *Vaz Pereira* e *Pronalab*.

O éter de petróleo utilizado foi sempre o resultante da fracção de destilação entre 40 °C e 60 °C.

f) Cromatografia

Na cromatografia em coluna (CC) foi usada, geralmente, sílica gel 60, sendo o tamanho dos grãos de 0,063 – 0,2 mm (70 - 230 mesh) e, por vezes, 0,04 – 0,063 mm (230 a 400 mesh) da *Merck* ou da *Macherey – Nagel*.

Nas cromatografias em camada fina (CCF) e preparativas (CP) foram utilizadas placas de vidro, com sílica gel 60 (espessuras 0,25 e 2,0 mm, respectivamente) e com indicador fluorescente UV₂₅₄, da *Macherey – Nagel*.

g) Secagem de solventes e gases

Os solventes foram secos segundo métodos já conhecidos (Gordon, 1972; Loewenthal, 1978), tal como exposto na Tabela III.

Tabela III – Métodos de secagem de alguns dos solventes utilizados

Solvente	Método de secagem
Diclorometano	Refluxo sobre P_2O_5 e destilação.
Éter dietílico	Adição de fio de sódio.
Piridina	Adição de KHO.
Tetra-hidrofurano	Refluxo sobre fio de sódio e vestígios de benzofenona, seguido de destilação.

O azoto foi seco, fazendo-o passar, sucessivamente, por ácido sulfúrico concentrado e por cloreto de cálcio anidro, intercalando com frascos de secagem vazios.

h) Instrumentos de fotoquímica

As experiências de ciclização foram efectuadas utilizando um sistema reactor, *UV Reactor System Heraeus*, com uma lâmpada de imersão de vapor de mercúrio de média pressão de 150 W (emissões entre 220 e 1400 nm com as principais linhas a 365, 436, 546 e 578 nm) (Gordon, 1972). A lâmpada, inserida num tubo de quartzo, foi arrefecida exteriormente (Figura 28). O sistema foi colocado dentro de uma “caixa” metálica preta de forma a proteger o observador da radiação ultravioleta.

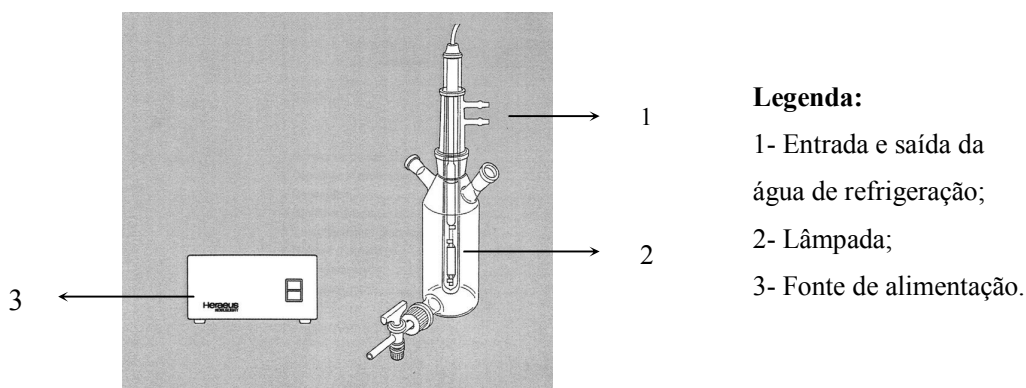


Figura 28 – Sistema utilizado nas experiências de fotoquímica.

4.2. Procedimentos de síntese

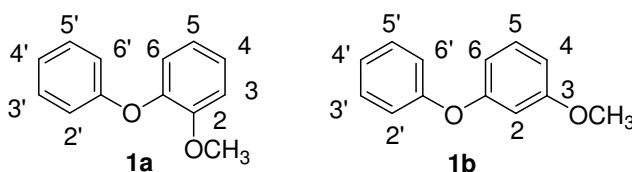
4.2.1. Síntese de dibenzofuranóis

a) Método geral de síntese dos éteres difenílicos

Aqueceu-se a refluxo, durante 1 h, uma mistura de bromoanisole (éter bromofenílico e metílico) (5,62 g; 30 mmol), fenol (3,5 g; 37 mmol), carbonato de potássio (2,1 g; 15 mmol) e óxido de cobre(I) (6,6 g; 46 mmol). Adicionou-se então outra porção de fenol (0,5 g; 5 mmol) e continuou-se o refluxo por mais 1,5 h. Após arrefecimento, até à temperatura ambiente, adicionou-se triclorometano (100 cm³) e filtrou-se a mistura, desprezando-se o sólido. Lavou-se a fase orgânica com uma solução aquosa 1 mol/dm³ de NaOH (5 x 25 cm³), secou-se (Mg SO₄) e removeu-se o solvente sob vácuo. Usou-se o produto sem mais purificação.

O éter fenílico e 2-metoxifenílico (**1a**) foi obtido como cristais incolores (78 %). **P.f.**: 75,5 – 77,0 °C (Lit.: 76 °C, Sartoretto (1937)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1597, 1581, 1491, 1299, 1261, 1222, 1175, 1151, 1110, 1021, 871, 748, 688. **RMN ¹H**, δ : 7,31 (2H, dt, $J = 7,2$ e 2,0 Hz, H-3' e H-5'); 7,18-7,11 (1H, ddd, $J = 7,2, 6,9$ e 1,8 Hz, H-4); 7,06 (1H, tt, $J = 7,5$ e 1,0 Hz, H-4'); 7,04-6,90 (5H, m, H-3, 5, 6, 2' e 6'); 3,85 (3H, s, OCH₃).

O éter fenílico e 3-metoxifenílico (**1b**) foi obtido como um óleo incolor, (93 %), (Lit.: Kranzfelder (1937)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (puro): 3066, 3039, 3004, 2958, 2940, 2835, 1586, 1486, 1450, 1263, 1217, 1139, 1042, 952, 759, 689. **RMN ¹H**, δ : 7,36 (2H, dt, $J = 7,2$ e 1,9 Hz, H-3' e H-5'); 7,24 (1H, t, $J = 8,0$ Hz, H-5); 7,13 (1H, tt, $J = 7,5$ e 1,2 Hz, H-C4'); 7,05 (2H, dd $J = 8,7$ e 1,2 Hz, H-2' e H-6'); 6,70 - 6,65 (1H, m, H-6); 6,63-6,59 (1H, m, H-4); 6,60 (1H, t, $J = 2,1$ Hz, H-2); 3,80 (3H, s, OCH₃),



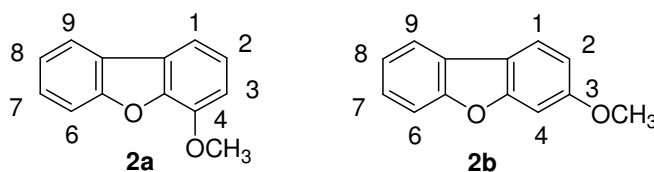
b) Método geral de ciclização de éteres difenílicos com acetato de paládio

A- Utilizando $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$

Colocou-se em refluxo, durante 7 horas, uma mistura do éter difenílico **1a** ou **b** (0,7 g; 3,5 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,7 g; 3,1 mmol) e ácido acético glacial (99,4 %; 8 cm^3). Após arrefecimento, adicionou-se triclorometano (50 cm^3) e filtrou-se a mistura, sendo, de seguida, o solvente removido sob vácuo. O ácido acético residual foi removido por co-distilação com hexano (Loewenthal, 1978). O resíduo oleoso castanho foi purificado por CC (triclorometano: éter de petróleo, 8:92).

A ciclização do éter **1a** produziu o **4-metoxidibenzofurano (2a)**, isolado como cristais incolores, (15 %). **P.f.**: 49,0 – 50,5 °C (Lit.: 52 °C (éter de petróleo), Gilman (1935)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 1636, 1601, 1583, 1502, 1451, 1428, 1334, 1312, 1272, 1196, 1180, 1152, 1131, 1095, 1023, 1008, 933, 844, 825, 783. **RMN ^1H** , δ : 7,95 (1H, dl, $J = 7,5$ Hz, H-9); 7,64 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-6); 7,57 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-3 ou H-1); 7,48 (1H, dt, $J = 7,2$ e 1,2 Hz, H-7); 7,36 (1H, dt, $J = 7,2$ e 0,9 Hz, H-8); 7,29 (1H, t, $J = 7,8$ Hz, H-2); 7,01 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-1 ou H-3); 4,08 (3H, s, OCH_3).

A ciclização do éter **1b** deu origem ao **3-metoxidibenzofurano (2b)**, que foi isolado como cristais incolores, (22 %). **P.f.** : 81,0 – 83,0 °C (Lit.: 95,0 – 95,5 °C, Erdtman (1961)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 1635, 1604, 1501, 1457, 1440, 1302, 1278, 1195, 1188, 1150, 1115, 1100, 1033, 938, 847, 830, 817, 761, 750, 720. **RMN ^1H** , δ : 7,87 (1H, dl, $J = 7,7$ Hz, H-9); 7,82 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-1); 7,54 (1H, dl, $J = 7,7$ Hz, H-6); 7,38 (1H, dt, $J = 7,7$ e 1,5 Hz, H-7); 7,32 (1H, dt, $J = 7,7$ e 1,5 Hz, H-8); 7,11 (1H, d, $J = 2,3$ Hz, H-4); 6,96 (1H, dd, $J = 8,5$ e 2,3 Hz, H-2); 3,92 (3H, s, OCH_3).



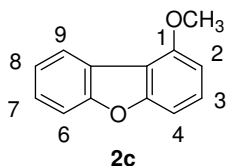
B- Utilizando CF_3CO_2H

Uma mistura do éter **1a** (1,0 g; 5,0 mmol), acetato de paládio(II) (1,3 g; 5,8 mmol) e ácido trifluoroacético (TFA) (99 %, 12 cm³) foi colocada em refluxo durante 1 hora. Depois de arrefecida a mistura reaccional, adicionou-se éter dietílico (50 cm³), filtrou-se, desprezando o resíduo sólido e removeu-se o solvente por vácuo. O ácido residual foi removido por sucessivas co-destilações com hexano. O óleo castanho resultante foi purificado por CC (triclorometano / éter de petróleo, 8:92) e o dibenzofurano **2a** foi obtido com um rendimento de 12 %. O p.f. e os dados espectroscópicos obtidos foram idênticos aos referidos atrás.

c) Método geral de síntese dos dibenzofuranos por ciclização fotoquímica

Uma solução do éter **1b** (0,6 g; 3,0 mmol) e iodo (0,6 g), em ciclo-hexano (700 cm³), foi irradiada durante 17 horas. Removeu-se o solvente por evaporação, tendo-se obtido um óleo viscoso castanho escuro. O solvente, assim removido, foi reutilizado em novas experiências. Os produtos de várias irradiações foram reunidos e purificados por CC (éter de petróleo / triclorometano, com aumento de polaridade).

O primeiro composto eluído foi o **1-metoxidibenzofurano (2c)** com uma proporção de eluente 94:6, tendo sido isolado como cristais incolores (30 %). **P.f.**: 53,5 – 55,0 ° C (Lit.: 56,0 – 57,5 °C, Forsen (1963)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1597, 1504, 1276, 1236, 1196, 1090, 847, 784, 751, 717. **RMN** ¹H, δ : 8,15 (1H, dl, $J = 7,5$ Hz, H-9); 7,56 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-6); 7,43 (1H, dt, $J = 7,2$ e 1,2 Hz, H-7); 7,40 (1H, t, $J = 8,1$ Hz, H-3); 7,35 (1H, dt, $J = 7,2$ e 1,0 Hz, H-8); 7,21 (1H, d, $J = 8,1$ Hz, H-4); 6,81 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-2); 4,07 (3H, s, OCH₃).



O segundo composto eluído foi o **3-metoxidibenzofurano (2b)**, com uma proporção de eluente 8:2, tendo sido isolado como cristais incolores (9 %). Os dados espectroscópicos obtidos foram similares aos referidos anteriormente.

d) Método geral de desmetilação usando BBr₃

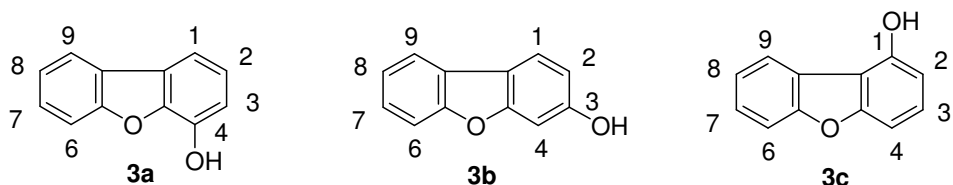
A uma solução do metoxidibenzofurano **2a** ou **c** (0,33 g; 1,66 mmol) em diclorometano seco a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, adicionou-se uma solução de tribrometo de boro em diclorometano ($3,32\text{ cm}^3$ de uma solução 1 mol/dm^3 , $3,32\text{ mmol}$), sob nitrogénio. Deixou-se a mistura em agitação, durante a noite, à temperatura ambiente e adicionou-se gelo picado (100 g), resultando uma mistura que foi extraída com diclorometano ($3 \times 20\text{ cm}^3$). Os extractos orgânicos foram combinados e extraídos com uma solução 1 mol/dm^3 de NaHO ($3 \times 20\text{ cm}^3$). A fase aquosa foi então acidificada com uma solução 5 mol/dm^3 de HCl e posteriormente extraída com éter dietílico ($3 \times 30\text{ cm}^3$). Os extractos orgânicos combinados foram secos (MgSO_4) e o solvente removido sob pressão reduzida. Os dibenzofuranóis **3a-c** foram usados sem posterior purificação.

O **dibenzofuran-4-ol (3a)** foi obtido como um sólido branco (100 %). **P.f.:** $99 - 101\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Lit.: $102\text{ }^{\circ}\text{C}$ (éter de petróleo ($65-75^{\circ}$) ou água), Gilman (1935)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 3192 (OH), 1639, 1604, 1311, 1249, 1192, 1080, 1050, 926, 844, 745. **RMN ^1H** , δ : 7,95 (1H, dl, $J = 7,5\text{ Hz}$, H-9); 7,60 (1H, dl, $J = 8,4\text{ Hz}$, H-6); 7,53 (1H, dd, $J = 7,8$ e $1,0\text{ Hz}$, H-1 ou H-3); 7,48 (1H, dt, $J = 8,4$ e $1,2\text{ Hz}$, H-7); 7,36 (1H, dt, $J = 7,5$ e $1,2\text{ Hz}$, H-8); 7,23 (1H, t, $J = 7,8\text{ Hz}$, H-2); 7,03 (1H, dd, $J = 8,1$ e $1,0\text{ Hz}$, H-3 ou H-1); 5,50 (1H, sl, OH).

O **dibenzofuran-3-ol (3b)** foi obtido como um sólido branco (97 %). **P.f.:** $137,0 - 138,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Lit.: $141,0-141,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (água), Erdtman (1961)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 3421 (OH), 1638, 1600, 1499, 1276, 1142, 1123, 950, 848, 741, 721. **RMN ^1H** , δ : 7,86 (1H, dl, $J = 7,5\text{ Hz}$, H-9); 7,79 (1H, d, $J = 8,4\text{ Hz}$, H-1); 7,53 (1H, dl, $J = 7,8\text{ Hz}$, H-6); 7,39 (1H, dt, $J = 7,5$ e $1,5\text{ Hz}$, H-7); 7,32 (1H, dt, $J = 7,2$ e $0,9\text{ Hz}$, H-8); 7,06 (1H, d, $J = 2,4\text{ Hz}$, H-4); 6,87 (1H, dd, $J = 8,1$ e $2,1\text{ Hz}$, H-2); 5,21 (1H, s, OH).

O **dibenzofuran-1-ol (3c)** foi obtido como um sólido branco (94 %). **P.f.:** $136 - 138\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Lit.: $140,0 - 140,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, água (Gilman, 1939)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (Nujol): 3271 (OH), 1640, 1598, 1503, 1271, 1234, 1196, 1030, 1106, 775, 738, 709. **RMN ^1H** , δ : 8,12 (1H, dl, $J = 7,5\text{ Hz}$, H-9); 7,56 (1H, dl, $J = 7,8\text{ Hz}$, H-6); 7,45 (1H, dt, $J = 8,1$ e $1,5\text{ Hz}$, H-7); 7,36 (1H, dt, $J = 7,2$ e $1,2\text{ Hz}$, H-8); 7,30 (1H, t, $J = 8,4\text{ Hz}$, H-3); 7,18 (1H, dd, $J =$

8,4 e 0,6 Hz, H-2 ou H-4); 6,72 (1H, dd, $J = 8,1$ e $0,6$ Hz, H-4 ou H-2); 5,55 (1H, sl, OH).



e) Hidroxilação do dibenzofurano comercial

A uma solução de dibenzofurano comercial (2,0 g; 11,9 mmol) em éter dietílico seco (50 cm³) e *N,N,N',N'*-tetrametiletilenodiamina (TMEDA) (2,3 g; 14,2 mmol) adicionou-se uma solução 2,5 mol/dm³ de BuLi, em hexano (5,0 cm³; 12,5 mmol), com agitação e atmosfera de azoto. A mistura esteve em refluxo durante 1 hora e observou-se a formação de um precipitado amarelo. De seguida, arrefeceu-se até 0 °C e adicionou-se tributilborato (3,9 cm³; 14,2 mmol) até ao desaparecimento do precipitado. Após 45 min, nessas condições, a mistura foi deixada durante uma hora até atingir a temperatura ambiente. Arrefeceu-se a mistura, novamente, até 0 °C e adicionou-se uma solução de H₂O₂ a 30 % (5 cm³) gota a gota, com agitação vigorosa, tendo-se formado um precipitado amarelo. De seguida, manteve-se a mistura em refluxo durante 1,5 horas, e então arrefeceu-se até 0 °C e acidificou-se com uma solução aquosa de HCl 5 mol/dm³ (10 cm³). A fase orgânica foi lavada com uma solução gelada de sulfato de amónio e ferro (II) a 10 %, (NH₄)₂Fe(SO₄)₂·H₂O, (2 x 50 cm³) e extraída com uma solução de NaHO 2 mol/dm³ (3 x 50 cm³). Os extractos aquosos combinados foram acidificados, extraídos com éter dietílico (3 x 100 cm³) e secos (MgSO₄). Removeu-se o solvente sob pressão reduzida e obteve-se um óleo cor de laranja (2,15 g). A este óleo adicionou-se sílica e extraiu-se com uma mistura de éter dietílico e éter de petróleo a 5 %. Obteve-se o dibenzofuran-4-ol (**3a**) como um sólido branco (1,56 g; 71 %). O p.f. e os dados espectroscópicos foram idênticos aos que se referiram anteriormente, para o composto **3a**.

4.2.2. Síntese de carbamatos

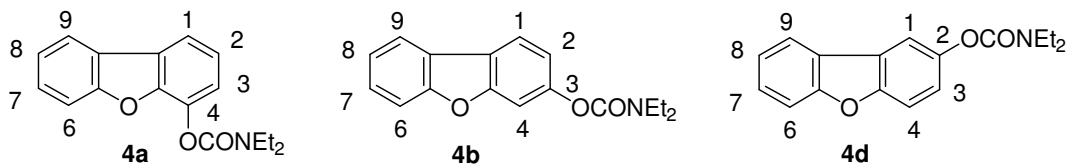
Método geral

Aqueceu-se uma solução do dibenzofuranol **3a**, **b** ou **d** (0,6 g; 3,26 mmol) em piridina seca (3 cm³) e cloreto de *N,N*-dietilcarbamoílo (0,48 cm³; 3,76 mmol) durante 7 a 15 h a 85-100 °C. Verteu-se a mistura sobre gelo picado (75 g) e extraiu-se com éter dietílico (3x 25 cm³), sendo os extractos orgânicos lavados com uma solução de NaHO 2 mol/dm³ (3x 25 cm³) e água (3x 25 cm³), tendo sido posteriormente secos (MgSO₄). Após a evaporação do solvente obteve-se o correspondente *N,N*-dietilcarbamato **4a**, **b** ou **d** que foi usado sem outra purificação.

O *N,N*-dietilcarbamato de dibenzofuran-4-ilo (**4a**) foi obtido como um óleo castanho claro (98 %). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (puro): 3390, 3062, 2975, 2934, 1727 (C=O), 1588, 1473, 1452, 1421, 1309, 1274, 1253, 1212, 1153, 1084, 963, 847, 750. **RMN** ¹**H**, δ : 7,95 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-9); 7,79 (1H, dd, $J = 7,2$ e $2,1$ Hz, H-3 ou H-1); 7,59 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-6); 7,46 (1H, dt, $J = 8,4$ e $1,2$ Hz, H-7); 7,35 (1H, dt, $J = 7,5$ e $1,2$ Hz, H-8); 7,35 - 7,26 (3H, *m*, H-2 e H-3 ou H-1); 3,60 (2H, q, $J = 7,7$ Hz, CH₂CH₃); 3,46 (2H, q, $J = 7,7$ Hz, CH₂CH₃); 1,40 (3H, t, $J = 7,7$ Hz, CH₂CH₃); 1,27 (3H, t, $J = 7,7$ Hz, CH₂CH₃).

O *N,N*-dietilcarbamato de dibenzofuran-3-ilo (**4b**) foi obtido como um óleo castanho claro (85 %). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (puro): 3348, 3071, 2975, 2934, 1723 (C=O), 1602, 1589, 1455, 1416, 1381, 1253, 1158, 1115, 968, 751, 722. **RMN** ¹**H**, δ : 7,93 (1H, dl, $J = 7,5$ Hz, H-9); 7,90 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1); 7,56 (1H, dl, $J = 7,5$ Hz, H-6); 7,44 (1H, dt, $J = 7,5$ e $1,3$ Hz, H-7); 7,39 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-4); 7,34 (1H, dt, $J = 7,5$ e $1,3$ Hz, H-8); 7,14 (1H, dd, $J = 8,3$ e $1,8$ Hz, H-2); 3,55-3,35 (4H, *m*, 2xCH₂CH₃); 1,35-1,15 (6H, *m*, 2xCH₂CH₃).

O *N,N*-dietilcarbamato de dibenzofuran-2-ilo (**4d**) foi obtido como um óleo castanho claro (69 %). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (puro): 3411, 3064, 2975, 2934, 1720 (C=O), 1590, 1470, 1448, 1418, 1262, 1210, 1166, 962, 843, 750. **RMN** ¹**H**, δ : 7,91 (1H, dl, $J = 7,5$ Hz, H-9); 7,73 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-1); 7,57 (1H, dl, $J = 7,5$ Hz, H-6); 7,54 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-4); 7,47 (1H, dt, $J = 7,5$ e $1,0$ Hz, H-7); 7,34 (1H, dt, $J = 7,2$ e $1,0$ Hz, H-8); 7,21 (1H, dd, $J = 9,0$ e $2,1$ Hz, H-3); 3,60-3,40 (4H, *m*, 2xCH₂CH₃); 1,40-1,20 (6H, *m*, 2xCH₂CH₃).

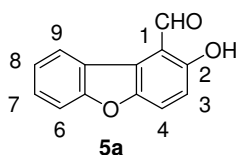


4.2.3. Formilações

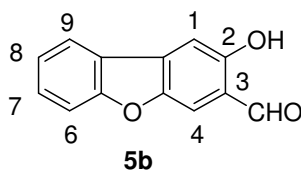
a) Formilação do carbamato 4d

Adicionou-se uma solução do *sec*-BuLi (1,5 cm³ de uma solução 0,13 mol/dm³, em ciclo-hexano; 1,95 mmol), sob N₂, a uma mistura de TMEDA (0,314 g; 1,95 mmol), em THF seco, a -78 °C e com agitação. Após 5 minutos foi adicionada uma solução do carbamato 4d (0,500 g; 1,77 mmol) em THF seco (6 cm³). Depois de 90 minutos de reacção, juntou-se DMF (0,285 g; 3,9 mmol), a mistura foi deixada nessas condições durante 1,5 h até atingir a temperatura ambiente e depois sob agitação, durante 48 h. Neste período, a solução mudou de amarelo para castanho. Adicionou-se uma solução saturada de cloreto de amónio, NH₄Cl (75 cm³) e extraiu-se a mistura com triclorometano (3 x 20 cm³). Os extractos orgânicos foram combinados e secos (MgSO₄) e o solvente removido sob pressão reduzida, resultando um óleo castanho. Esta mistura foi submetida a CC (éter de petróleo / triclorometano 95:5).

O primeiro composto eluído foi o **2-hidroxidibenzofurano-1-carbaldeído (5a)** como um sólido amarelo (12 %). **P.f.**: 135-138 °C (Lit: 118-121 °C, Feng (2001)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr) 3442, 3068, 2925, 2882, 1648 (C=O), 1621, 1577, 1502, 1456, 1436, 1387, 1359, 1297, 1255, 1176, 1022, 992, 914, 840, 799, 747. **RMN** ¹H, δ : 11,68 (1H, s, OH); 10,94 (1H, s, CHO); 8,04 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-9); 7,76 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-4); 7,64 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-6); 7,56 (1H, dt, $J = 7,5$ e 1,2 Hz, H-7); 7,41 (1H, dt, $J = 7,5$ e 1,2 Hz, H-8); 7,09 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3). **RMN** ¹³C, δ : 192,59 (CHO); 159,57; 157,11; 149,34; 128,21 (CH); 123,92; 123,34 (2xCH); 122,47; 121,00 (CH); 116,94 (CH); 114,49; 112,42 (CH). **AE**, valores obtidos: C = 73,38, H = 4,02 %; valores teóricos para C₁₃H₈O₃: C = 73,58, H = 3,80 %.



O segundo composto eluído foi **2-hidroxi-3-carbaldeído dibenzofurano** (**5b**) como um sólido amarelo (12 %). **P.f.**: 214 – 216 °C. **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3432, 3070, 2926, 2872, 1659 (C=O), 1581, 1438, 1383, 1341, 1298, 1196, 863, 818, 784, 749. **RMN** ^1H , δ : 11,04 (1H, s, OH); 10,00 (1H, s, CHO); 7,99 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-9); 7,72 (1H, s, H-4); 7,59-7,57 (1H, m, H-7); 7,51 (1H, s, H-1); 7,41-7,36 (1H, m, H-6 e H-8). **RMN** ^{13}C , δ : 195,71 (CHO); 158,74; 157,72; 149,29; 132,52; 129,86 (CH); 123,13 (CH); 122,17 (CH); 119,02; 115,25 (CH); 112,08 (CH); 107,94 (CH); falta um sinal que provavelmente, está sobreposto sobre os sinais a 157,72 ou 119,02 ppm. **AE**, valores obtidos: C = 73,28, H = 3,96 %; valores teóricos para $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_3$: C = 73,58, H = 3,80 %.



b) *Formilação de Reimer-Tiemann*

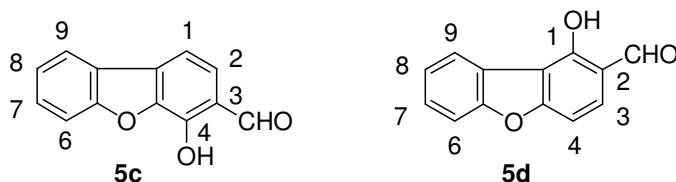
Método 1

Aqueceu-se uma solução do dibenzofuranol **3a** ou **3c** (0,480 g; 2,6 mmol) em água (50 cm^3) contendo NaHO (1,04 g; 26 mmol), a 60-65 °C, com agitação. Adicionou-se à mistura triclorometano (0,930 g; 7,8 mmol) gota a gota, durante 30 min. Aqueceu-se a mistura até 90 °C e manteve-se nestas condições durante 15 min. Após arrefecimento, acidificou-se a mistura reaccional, com HCl 2 mol dm^{-3} e extraiu-se com éter dietílico (3 x 25 cm^3). Secaram-se os extractos orgânicos combinados (MgSO_4) e removeu-se o solvente, sob pressão reduzida, resultando um óleo castanho, que se mostrou impuro, por CCF. Após purificação desta mistura por CC (éter dietílico / éter de petróleo, 5:95) obteve-se o correspondente aldeído **5c** (15 %) ou **5d** (17 %).

A formilação do dibenzofuran-4-ol (**3a**) produziu o **4-hidroxi-3-carbaldeído dibenzofurano** (**5c**) como um sólido amarelo claro. **P.f.**: 165-167 °C. **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3200, 3058, 2923, 2848, 1664 (C=O), 1571, 1494, 1471, 1455, 1430, 1394, 1336, 1278, 1216, 1091, 966, 930, 861, 806, 792, 767, 726. **RMN** ^1H , δ : 11,61 (1H, s, OH); 10,04

(1H, s, CHO); 8,01 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-9); 7,70 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-6); 7,61 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-2); 7,59 (1H, dt, $J = 7,0, 1,2$ Hz, H-7); 7,54 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-1); 7,42 (1H, dt, $J = 7,8, 1,2$ Hz, H-8). **RMN** ^{13}C , δ : 196,38 (CHO); 157,68; 148,11; 143,11; 131,99; 129,32 (CH); 127,61 (CH); 123,41 (CH); 123,20; 121,63 (CH); 118,93; 112,43 (CH); 111,64 (CH). **EM** m/z (int. rel.): 213 ($[M+1]^+$, 17), 212 (M^+ , 100), 211 (100), 166 (10), 127 (12), 92 (8), 77 (6), 75 (6), 63 (6). **EM-AR**: 212,0482 (M^+ ($\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_3$) calculado: 212,0473).

A formulação do dibenzofuran-1-ol (**3c**) produziu o **1-hidroxidibenzofurano-2-carbaldeído (5d)** como um sólido amarelo (17 %). **P.f.**: 111-113 °C (Lit.: Cagniant (1976), p.f. não apresentado). **IV** $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3429, 3128, 2924, 2853, 2831, 1659 (C=O), 1584, 1146, 1427, 1368, 1291, 1280, 1247, 1210, 1192, 1088, 1032, 841, 755, 658. **RMN** ^1H , δ : 12,09 (1H, s, OH); 9,96 (1H, s, CHO); 8,21 (1H, dl, $J = 7,2$ Hz, H-9); 7,63 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-3); 7,60 (1H, dl, $J = 7,2$ Hz, H-6); 7,50 (1H, dt, $J = 8,1$ e $1,5$ Hz, H-7); 7,43 (1H, dt, $J = 7,5$ e $1,2$ Hz, H-8); 7,23 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-4). **RMN** ^{13}C , δ : 195,75 (CHO); 161,66; 159,10; 155,82; 132,84 (CH); 127,07 (CH); 123,81 (CH); 123,09 (CH); 122,56; 116,08; 113,16; 111,32 (CH); 104,59 (CH). **EM**, m/z (int. rel.): 213 ($[M+1]^+$, 14), 212 (M^+ , 100), 211 (76), 183 (10), 155 (13), 149 (11), 127 (9), 97 (8), 83 (8), 71 (9), 69 (10). **EM-AR**: 212,0467 (M^+ ($\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_3$) calculado: 212,0473).



Método 2

Pelo método proposto por Thoen *et al.* (1988), dissolveu-se o dibenzofuran-4-ol (**3a**) (0,095 g; 0,52 mmol) em CHCl_3 (8 cm^3) e adicionou-se, com agitação, NaHO (0,10 g, 2,5 mmol) e água ($0,12 \text{ cm}^3$; 6,7 mmol). Colocou-se a mistura em refluxo durante 1,5 h e, após este intervalo de tempo, adicionou-se outra porção de NaHO (0,10 g; 2,5 mmol). Ao fim de mais 0,5 h juntou-se outra porção da mesma base (0,050 g; 1,2 mmol). Depois de um total de 3 h de refluxo, repetiu-se o procedimento referido para o Método 1, obtendo-se o correspondente 4-hidroxidibenzofurano-3-carbaldeído (**5c**) (23 %), descrito anteriormente.

4.2.4. Síntese de benzopsoralenos – condensação de Knoevenagel

Método geral

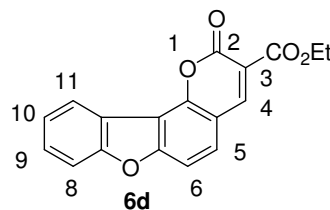
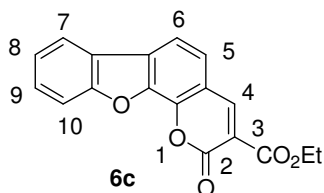
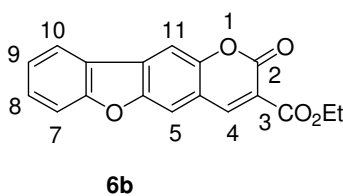
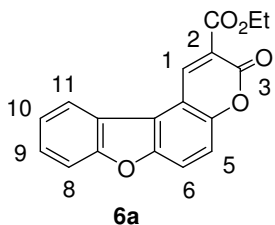
Dissolveu-se o hidroxialdeído **5** (0,0375 g; 0,177 mmol) em etanol, a quente (10 cm³) e adicionou-se uma solução de malonato de dietilo (0,032 g; 0,20 mmol) em etanol (1 cm³), piperidina (1 gota) e ácido acético (1 gota). Colocou-se a mistura em refluxo, durante 5 h, e deixou-se a 0 °C, durante a noite. Filtrou-se a mistura e recristalizou-se o precipitado de etanol.

A partir do 2-hidroxidibenzofurano-2-carbaldeído (**5a**), obteve-se o **3-oxo-3H-benzofuro[3,2-f]cromeno-2-carboxilato de etilo (6a)** como cristais amarelos (68 %). **P.f.**: 167-169 °C (etanol). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 349 (4,25). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3088, 2997, 2941, 1771 (forte e larga, C=O), 1615, 1567, 1478, 1448, 1432, 1372, 1280, 1236, 1126, 1096, 1034, 979, 950, 818, 794, 750. **RMN ¹H**, δ : 9,30 (1H, s, H-1); 8,22 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-11); 7,86 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5 ou H-6); 7,70 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-8); 7,61 (1H, dt, $J = 7,5$ e 1,5 Hz, H-9); 7,50 (1H, dt, $J = 7,5$ e 1,5 Hz, H-10); 7,47 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-6 ou H-5); 4,50 (2H, q, $J = 7,2$ Hz, CH₂CH₃); 1,50 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH₂CH₃). **EM**, m/z (int. rel.): 309 ($[M+1]^+$, 20), 308 (M^+ , 100), 263 (52), 236 (61), 208 (29), 179 (30), 150 (12), 90 (6). **AE**, valores obtidos: C = 69,86, H = 4,05 %; valores teóricos para C₁₃H₈O₃: C = 70,13, H = 3,92 %.

A partir do 2-hidroxidibenzofurano-3-carbaldeído (**5b**), obteve-se o **2-oxo-3H-benzofuro[2,3-g]cromeno-3-carboxilato de etilo (6b)** como cristais amarelos (87 %). **P.f.**: 186-187 °C (etanol). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 348 (4,47). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3063, 2983, 2905, 1760 (forte e largo, C=O), 1638, 1613, 1568, 1455, 1433, 1396, 1366, 1257, 1206, 1040, 859, 798, 749. **RMN ¹H**, δ (acetona-d₆): 8,85 (1H, s, H-4), 8,30 (1H, dl, $J = 7,5$ Hz, H-10); 8,17 (1H, s, H-11 ou H-5); 8,16 (1H, s, H-5 ou H-11); 7,74 (1H, dl, $J = 8,9$ Hz, H-7); 7,70 (1H, dt, $J = 7,8$ e 1,2 Hz, H-8); 7,51 (1H, dt, $J = 7,2$ e 1,5 Hz, H-9); 4,37 (2H, q, $J = 7,2$ Hz, CH₂CH₃); 1,38 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH₂CH₃). **EM**, m/z (int. rel.): 309 ($[M+1]^+$, 20), 308 (M^+ , 100), 263 (68), 236 (65), 208 (30), 179 (34), 150 (11), 90 (8). **AE**, valores obtidos: C = 70,28, H = 4,10 %; valores teóricos para C₁₃H₈O₃: C = 70,13, H = 3,92 %.

A partir do 4-hidroxidibenzofurano-3-carbaldeído (**5c**), obteve-se o **2-oxo-3H-benzofuro[3,2-*h*]cromeno-3-carboxilato de etilo (6c)** como cristais de cor “amarelo-claro” (44 %). **P.f.**: 215-217 °C (etanol). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 341 (4,27). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3057, 2967, 1755 (C=O), 1693 (C=O), 1638, 1609, 1552, 1474, 1432, 1364, 1312, 1259, 1215, 1026, 976. **RMN ¹H**, δ 8,70 (1H, s, H-4); 8,03 (1H, dl, $J = 7,5$ Hz, H-7); 7,89 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5); 7,73 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-10); 7,62 (1H, dt, $J = 7,2$ e $1,5$ Hz, H-9); 7,56 (1H, d, $J = 8,1$ Hz, H-6); 7,46 (1H, dt, $J = 7,5$ e $0,9$ Hz, H-8); 4,45 (2H, q, $J = 7,2$ Hz, CH_2CH_3); 1,45 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH_2CH_3). **EM**, m/z (int. rel.): 309 ($[M+1]^+$, 20), 308 (M^+ , 100), 263 (80), 236 (60), 208 (40), 179 (47), 150 (18), 138 (25), 97 (14), 90 (9), 85 (36), 70 (85). **EM-AR**: 308,0690 (M^+ ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_5$) calculado: 308,0685).

A partir do 1-hidroxidibenzofurano-2-carbaldeído (**5d**), obteve-se o **2-oxo-2H-benzofuro[2,3-*h*]cromeno-3-carboxilato de etilo (6d)** isolado como cristais de cor “amarelo-claro” (20 %). **P.f.**: 172-175 °C (etanol). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 333 (4,22), 292 (4,17), 279 (4,41), 270 (4,33), 250 (4,23). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3053, 2985, 2923, 1742 (C=O), 1700 (C=O), 1611, 1567, 1436, 1287, 1245, 1209, 1059, 812, 753. **RMN ¹H**, δ 8,72 (1H, s, H-4); 8,45 (1H, dl, $J = 8,7$ Hz, H-11); 7,69 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5), 7,66 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-8); 7,58 (1H, dt, $J = 7,5$ e $1,5$ Hz, H-9), 7,56 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-6); 7,50 (1H, dt, $J = 7,2$ e $1,2$ Hz, H-10); 4,45 (2H, q, $J = 7,2$ Hz, CH_2CH_3); 1,45 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH_2CH_3). **EM**, m/z (int. rel.): 309 ($[M+1]^+$, 20), 308 (M^+ , 100), 263 (69), 236 (48), 208 (29), 179 (32), 151 (6), 150 (5), 90 (6). **EM-AR**: 308,0689 (M^+ ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_5$) calculado: 308,0685).



5. Referências

Åkermark, A.; Ebersson, L.; Jonsson, E.; Pettersson, E.; - Palladium-promoted cyclization of diphenyl ether, diphenylamine and related compounds. *J. Org. Chem.*, 40:9 (1975) 1365-1367.

Ames, D. E.; Opalko, A. – Synthesis of dibenzofurans by palladium-catalysed intramolecular dehydrobromination of 2-bromophenyl phenyl ethers. *Synthesis*, 1983, 234.

Bacon, R. G. R.; Stewart, O. J. – Metal ions and complexes in organic reactions. Part IV. Copper-promoted preparations of diaryl ethers and competing hydrogen-transfer process. *J. Chem. Soc.*, (1965) 4953-4961.

Bagno, A.; Kantlehner, W.; Scherr, O.; Vetter, J.; Ziegler, G. – New formylating agents – preparative procedures and mechanistic investigations. *Eur. J. Org. Chem.*, (2001) 2974-2954.

Bates, C. G.; Gujadhur, R. K.; Venkataraman, D. – A general method for the formation of aryl-sulfur bonds using copper(I) catalysts. *Org. Lett.*, 4:16 (2002) 2803-2806.

Beak, P.; Brown, R. A. – The tertiary amide as an effective director of *ortho* lithiation. *J. Org. Chem.*, 47 (1982a) 34-46.

Beak, P.; Snieckus, V. – Directed lithiation of aromatic tertiary amides: an evolving synthetic methodology for polysubstituted aromatics. *Acc. Chem. Res.*, 15 (1982b) 306-312.

Beak, P.; Meyers, A. I. – Stereo- and regiocontrol by complex induced proximity effects: reactions of organolithium compounds. *Acc. Chem. Res.*, 19 (1986) 356-363.

Bedford, R. B.; Cazin, C. S. J. – A novel catalytic one-pot synthesis amination and C-H activation. *Chem. Commun.*, (2002) 2310-2311.

Bhatt, M. V.; Kulkarni, S. U. – Cleavage of ethers. *Synthesis, Reviews* (1983) 249-282.

Bird, C. W.; Cheeseman, G. W. H. – Structure of five-membered rings with one heteroatom. Vol. 4, Ed.s Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Pergamon Press, 1984, pp. 1-38.

Blazevic, N.; Kolban, D.; Belin, B.; Sunjic, V.; Kajfez, F. – Hexamethylenetetramine, a versatile reagent in organic synthesis (Reviews). *Synthesis*, (1979) 161-176.

Brogden, P. J.; Gabbutt, C. D.; Hepworth, J. D. – Pyrans and fused pyrans: (i) structure. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Vol.3, Ed.s Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Pergamon Press, 1984, pp. 574-645.

Buck, E.; Song, Z. J., Tschaen, D.; Dormer, P. G.; Volante, R.P.; Reider, P. J. – Ullmann diaryl ether synthesis: rate acceleration by 2,2,6,6-tetramethylheptane-3,5-dione. *Org. Lett.*, 4:9 (2002) 1623-1626.

Cagniant, M. M. P.; Kirsch, G. – De l'utilisation de deux techniques récentes pour l'élaboration d'une méthode générale de synthèse des composés benzo[*b*]furaniques polycycliques et polyhétérocycliques. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 282: C (1976) 465-468.

Chadwick, D. J.; Cliffe, I.A.- Reaction between *N*-alkylpyrroles and alkyl-lithium reagents. The role of nitrogen substituent, solvent, alkyl-lithium, and complexing agents. *J. Chem. Soc. Perkin I*, (1979) 2845-2850.

Chen, J.; Zhang, Y. – Samarium (III) triiodide catalysed reaction of salicylaldehydes with active methylene compounds. *J. Chem. Research (S)*, (2001), 394-395.

Clark, F. R. S.; Norman, R. O. C.; Thomas, C. B.; Willson, J. S. – Reactions of palladium(II) with organic compounds. Part II. Oxidation of some benzenoid compounds in trifluoroacetic acid. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1974) 1289-1294.

Cochran, J. C. ; Melville, M. G. – The Reimer-Tiemann reaction, enhanced by ultrasound. *Synth. Commun.*, 20:4 (1990) 609-616..

Davies, J. S. H.; Lamb, F.; Suschitzky, H. – Studies in xanthone series. Part II. Preparation and reactions of 1-formyl-2-hydroxyxanthone. *J. Chem Soc.* (1958a) 1790-1793.

Dean, F. M. – Furans and their benzo derivatives: (i) structures. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Vol.4, Ed.s Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Pergamon Press, 1984, pp 531-596.

Erdtman, H.; Haglid, F.; Stjernström, N. E.- III. The Synthesis of unsymmetrical biphenyl derivatives by mixed Ullmann coupling. *Acta Chem. Scand.*, 15 (1961) 1761-1764.

Feng, K.- C.; Griffiths, J. – Thermochromic and photochromic properties of some new spiropyran systems. *Adv. in Col. Sci. Technol.*, 4:1 (2001) 12-20.

Fleming, I. - *Spectroscopic methods in organic chemistry*, 4th Ed., McGraw-Hill Book Company (UK) Limited, London, 1989.

Forsen, S.; Stjernstrom, N. E. - Complex dibenzofurans. VII. A PMR spectroscopic investigation of demethylation and dehydration products of 2,2',3,3',6,6'-hexamethoxybiphenyl. *Arkiv Kemi*, 21:7(1963) 65.

Gallastegui, J.; Lago, J. M.; Palomo, C. – Simple one-step route to substituted coumarins. *J. Chem. Research (S)*, (1984) 170-171.

Gilman, H.; McNinch, H. A. – Stabilities and some reactions of benzylolithium and *o*-methylbenzylolithium. *J. Am. Chem. Soc.*, 27 (1962) 1889-1891.

Gilman, H.; Young, R. V. – Dibenzofuran. V. Dimetalation. *J. Am. Chem. Soc.*, 57 (1935) 1121-1123.

Gilman, H.; Ess, P. R. V. – Dibenzofuran. XI. Substituents in the 1-position. *J. Am. Chem. Soc.* 61, (1939), 1365-1371.

Gordon, A. J.; Ford, R. A.- *The Chemist's Companion: A Handbook of Practical Data Techniques and References*. John Wiley & Sons, 1972.

Hirao, K.; Ikegame, M.; Yonemitsu, O. – Photo-Reimer-Tiemann reaction of phenols, anilines and indolines. *Tetrahedron*, 30 (1974) 2301-2305.

Horning, E. C.; Horning, M. G.; Dimmig, D. A. - 3-Carboxycoumarin. *Org. Synth.*, Coll. Vol. III (1965) 165-167.

Jones, G. - The Knoevenagel Condensation; *Org. React.*, 15 (1967) 205-582.

Jones, G.; Stanforth, S. P. – The Vilsmeier reaction of fully conjugated carbocycles and heterocycles. *Org. React.*, 49 (1997) 1-325.

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

Kemp, M. S.; Burden, R. S.; Loeffler, R. S. T. – Isolation, structure determination, and total synthesis of the dibenzofurans α - and β -pyrufuran, new phytoalexins from the wood of *Pyrus communis* L.. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1983) 2267-2272.

Kranzfelder, A. L.; Verbanc, J. J.; Sowa, F. J. - The cleavage of diphenyl ethers by sodium in liquid ammonia. II. Meta-substituted diphenyl ethers. *J. Org. Chem.* 59 (1937) 1488.

Kumar, A. – Structure-property relationship of heterofused benzopyran. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 297 (1997) 147-154.

Li, F.; Wang, Q. Ding, Z.; Tao, F. – Microwave-assisted synthesis of diaryl ethers without catalyst. *Org. Lett.*, 5:12 (2003) 2169-2171.

Lindley, J. – Copper assisted nucleophilic substitution of aryl halogen: Tetrahedron report number 163. *Tetrahedron*, 40:9 (1984) 1433-1456.

Loewenthal, H. J. E. - *Guide for the Perplexed Organic Experimentalist*. Heyden & Son, 1978.

Lustig, E.; Benson, W. R.; Duy, N. – Hindered rotation in *N,N*-dimethylcarbamates. *J. Org. Chem.*, 32 (1967), 851-852.

Ma, D.; Cai, Q.; Zhang, H. – Mild method for Ullmann coupling reaction of amines and aryl halides. *Org. Lett.*, 5:14 (2003) 2453-2455.

March, J. - *Advanced Organic Chemistry*, 4ed, John Wiley & Sons, 1992.

Marson, C. M.; Giles, P. R. - *Synthesis Using Vilsmeier Reagents*, CRC Press, Inc: New York, 1994, pp 48-80.

McOmie, J. F. W.; West, D. E. – 3,3'-Dihydroxybiphenyl. *Org. Syntheses*, Coll. Vol. V (1973) 412-414.

McOmie, J. F. W.; Watts, M. L.; West, D. E. – Demethylation of aryl methyl ethers by boron tribromide. *Tetrahedron*, 24 (1968) 2289-2292.

Moroz, A. A.; Shvartsber, M. S. – The Ullmann ether condensation. *Russian Chemical Reviews*, 43:8 (1974) 679-689.

Oliveira, M., M. S. – *Síntese e Propriedades Espectrocinéticas de 2H-Cromenos Derivados de Carbazoles, de Dibenzofuranos e de Dibenzotiofenos*. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (Departamento de Química), 2002. Dissertação de Doutoramento.

Parham, W. E.; Schweizer, E. E. – Halocyclopropanes from halocarbenes. *Org. React.*, 13 (1963) 56-88.

Raposo, M. M. M. – *Estudos de síntese em carbazolas e piridocarbazolas*. Braga: Universidade do Minho (Departamento de Química), 1996. Dissertação de Doutoramento.

Sargent, M. V.; Stransky, P. O. – Naturally occurring dibenzofurans. Part 1. A synthesis of cannabifuran. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1982) 1605- 1610.

Sartoretto, P. A.; Sowa, F. J. – The cleavage of diphenyl ethers by sodium in liquid ammonia. I. *Ortho* and *para* substituted diphenyl ethers. *J. Org. Chem.*, 59 (1937) 603-606

Sawyer, J. S.; Schmittling, E. A.; Palkowitz, J. A.; Smith, W. J. – Synthesis of diaryl ethers, diaryl thioethers and diarylamines mediated by potassium fluoride-alumina and 18-crown-6: expansion of scope and utility. *J. Org. Chem.*, 63 (1998) 6338-6343.

Sheldon, R. A.; Kochi, J. K. – *Metal-catalyzed oxidations of organic compounds*. Academic Press, New York, 1981.

Schultz, A. G.; Fu, W. Y.; Lucci, R. D.; Kurr, B. G.; Lo, K. M.; Boxer, M. – Heteroatom directed photoarylation. Synthetic potential of the heteroatom sulfur. *J. Am. Chem. Soc.*, 100:7 (1978) 2140-2149.

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

Snieckus, V. – Directed *ortho* metalation. Tertiary amide and *O*-carbamate directors in synthetic strategies for polysubstituted aromatics. *Chem. Rev.*, 90:6 (1990) 879-933.

Snieckus, V. - Heterocycles via *ortho*-lithiated benzamides. *Heterocycles*, 14:10 (1980) 1649-1676.

Thoer, A.; Denis, G.; Delmas, M.; Gaset, A. – The Reimer-Tiemann reaction in slightly hydrated solid-liquid medium: a new method for the synthesis of formyl and diformyl phenols. *Synth. Commun.*, 18 (1988) 2095-2101.

Watson, B. T.; Christiansen, G. E. – Solid phase synthesis of substituted coumarin-3-carboxylic acids via the Knoevenagel condensation. *Tetrahedron Lett.*, 39 (1998) 6087-6090.

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

Woods, L. L.; Sapp, J. – Coumarin-3-carboxylic acids. *J. Org. Chem.*, 30 (1965) 312-313.

Zeller, K.-P.; Petersen, H.- Photochemische herstellung von dibenzofuranen und dibenzothiophenen. *Synthesis*, (1975) 532-533.

CAPÍTULO III

**Síntese de Benzopsoralenos Polissubstituídos.
Rearranjo de Fries do Etanoato de
Dibenzofuran-2-ilo.**

1. Contextualização

1.1. Objectivo deste estudo

Os benzopsoralenos, cuja síntese foi descrita no Capítulo II apresentam um grupo substituinte (CO₂Et) do sistema tetracíclico. Contudo, foi descrito por diversos autores que os psoralenos e as angelicinas substituídas com um ou mais grupos metilo tinham maior capacidade de fotorreação com o ADN (ver Cap. I). Por esta razão, decidiu-se sintetizar compostos análogos aos benzopsoralenos já descritos, com o grupo éster e/ou outros grupos substituintes (CH₃, CN e o *para*-nitrofenilo). Estes grupos poderão influenciar as propriedades biológicas e fotofísicas dos benzopsoralenos, que foram testados posteriormente.

1.2. Estratégia de síntese

O rearranjo de Fries, com derivados de cumarinas é uma via possível para a síntese de psoralenos substituídos (ver Cap. I). Neste estudo decidiu-se realizar a síntese de alguns benzopsoralenos, usando como precursor o dibenzofuran-2-ol, através do rearranjo de Fries. O facto deste rearranjo poder dar-se, catalisado por um ácido de Lewis ou por *via* fotoquímica determinou a realização de um estudo sistemático de modo a encontrar as condições experimentais que conduzissem aos melhores rendimentos.

Outra via possível de síntese de benzopsoralenos polissubstituídos é através de reacções de substituição, nos benzopsoralenos já sintetizados (Cap. II).

1.3. Rearranjo de Fries catalisado *versus* rearranjo de Fries fotoquímico

O rearranjo de Fries foi estudado, pela primeira vez, em 1908 (Banks, 1986), e consiste na conversão de um éster fenólico numa fenilcetona com um grupo hidroxilo em posição *orto* ou em posição *para*, ou numa mistura das duas, ocorrendo,

normalmente na presença de um ácido de Lewis, tal como o AlCl_3 , com ou sem solvente (Figura 1).

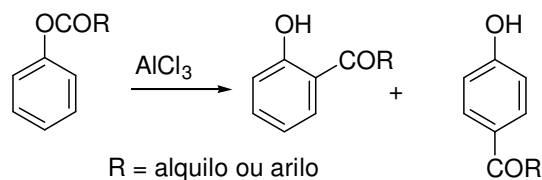


Figura 1 – Rearranjo de Fries catalisado por AlCl_3 .

A síntese destas cetonas envolve, normalmente, dois passos: a preparação do éster seguida do rearranjo. Geralmente, o rendimento dos dois passos: preparação do éster e rearranjo de Fries é superior ao obtido numa acilação de Friedel-Crafts do fenol de partida, quando se pretende sintetizar compostos similares. A escolha das condições da reacção de Fries (temperatura, solvente, catalisador, proporção catalisador / éster) influencia a composição dos produtos da reacção e permite adaptá-la a um grande variedade de ésteres (Banks, 1986; Blatt, 1942). Recentemente, o rearranjo com AlCl_3 , foi também observado em arilssulfonatos e sulfonanilidas, com irradiação de microondas, tendo sido obtidos rendimentos muito elevados e uma selectividade *orto* elevada (Das, 2000).

O mecanismo do rearranjo catalisado por um ácido de Lewis ainda não está completamente esclarecido, sendo apontadas várias possibilidades: só intramolecular, só intermolecular e parcialmente intra e intermolecular (Banks, 1986; Blatt, 1942; Tarbell, 1952).

Os resultados mais recentes apontam para um mecanismo maioritariamente intermolecular, como foi demonstrado, por exemplo para o caso do rearranjo de derivados de tiofeno (Banks, 1986) utilizando o método de *crossover*. Também o rearranjo do benzoato de fenilo, em clorobenzeno, com AlBr_3 , utilizando marcação isotópica, revelou que o mecanismo é maioritariamente intermolecular e que ocorre em duas fases. Inicialmente, um processo envolvendo um estado de transição cíclico entre 2 moléculas de éster e uma do catalisador, dá origem a produtos de rearranjo *orto* e, por isso, a razão inicial de produtos *orto/para* é elevada. Numa segunda fase, mais longa, ocorre a formação e heterólise de um complexo entre o éster e o catalisador originando

um par iónico ($\text{PhCO}^+\text{PhOAlBr}_3^-$), a partir do qual se formam os produtos *orto* e *para*, por ataque electrofílico do carbocatião, numa razão entre produtos *orto/para* constante (Dawson, 1985 e 1989).

Apesar do rearranjo de Fries ocorrer, geralmente com catálise ácida, foi já demonstrado que pode também ocorrer em condições aniónicas, quando é promovido por uma metalação prévia, com uma base de lítio. Neste caso o rearranjo é intramolecular e direccionado apenas para a posição *orto* (Miller, 1987; Sibi, 1983; Horne, 1990). Na Figura 2 apresentam-se exemplos de reacções deste tipo (Miller, 1987).

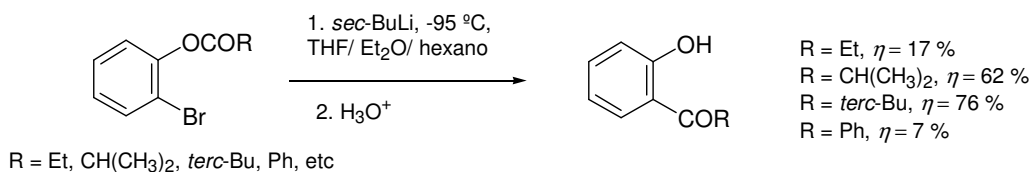


Figura 2 –Rearranjo de Fries, em condições aniónicas.

O rearranjo de Fries fotoquímico foi, pela primeira vez, observado, em 1960, por Anderson e Reese (Anderson, 1963). Tal como no rearranjo catalisado, a conversão, induzida por radiação, de ésteres fenólicos, resulta em *orto*- e *para*-hidroxifenilcetonas. O mesmo tipo de reacção ocorre em diversos ésteres aromáticos e em outros compostos aromáticos como: éteres, sulfonamidas, sulfonatos, carbamatos, carbonatos, cinamatos, amidas, anilidas, succinatos, cetonas e alguns sistemas heterocíclicos (Bonesi, 1997; Lally, 1991; Kalmus, 1974).

Apesar da semelhança, em termos de produtos obtidos, com o rearranjo térmico, o rearranjo de Fries fotoquímico ocorre segundo um mecanismo bem distinto. Sandner *et al.* (1968) propuseram que a reacção ocorria *via* um estado de transição resultante de um rearranjo sigmatrópico concertado. No entanto, é, actualmente mais aceite, a ideia inicial, proposta em 1962, de que, após a excitação das moléculas do éster (**I**), por irradiação, ocorre uma clivagem homolítica da ligação ArO-COR , originando os radicais ariloxilo e acetilo (Figura 3). Estes, ficam aprisionados numa gaiola de solvente (*solvent cage*) até que se recombinem, formando, através dos intermediários **II** e **III**, os produtos do rearranjo **IV** e **V**, ou escapem, dando origem ao fenol (**VI**) por remoção de um hidrogénio do solvente (Beck, 1982; Haga, 1996; Shine, 1987; Kalmus, 1974).

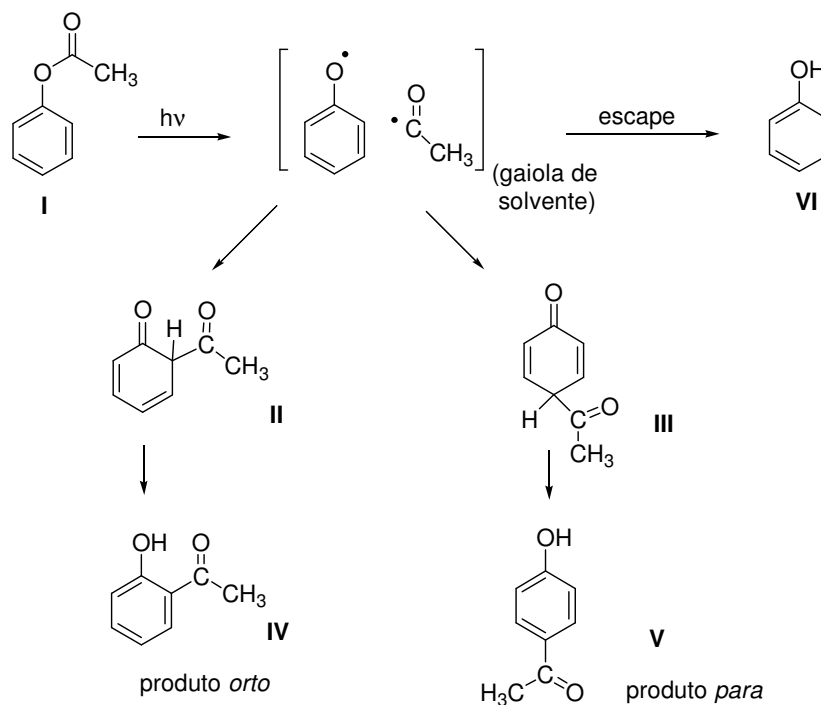


Figura 3 – Mecanismo do rearranjo de Fries fotoquímico do benzoato de metilo (Beck, 1982; Kalmus, 1974).

Assim, enquanto o rearranjo catalisado envolve maioritariamente, espécies iónicas, o rearranjo fotoquímico prossegue *via* espécies radicalares. Este mecanismo foi demonstrado por espectroscopia de absorção de transientes, após fotólise de um éster (Beck, 1982; Kalmus, 1974) e pela não ocorrência de produtos *orto* ou *para* aquando da irradiação de acetato de fenilo no estado gasoso (o que implica a não existência de um mecanismo concertado) (Meyer, 1972).

O mecanismo radicalar, foi defendido depois de se ter observado que o rendimento do produto *orto* não era afectado pela viscosidade do solvente sendo, porém, afectada a formação do fenol (Sandner, 1968; Kalmus, 1974). Segundo esta teoria, a curta distância entre a gaiola de solvente e a posição *orto* impede que o solvente influencie o rendimento do produto *orto*.

No entanto, este tema é, ainda, controverso, tendo sido também referido na literatura, que a natureza física e química do solvente afecta a reacção, mas não através de uma relação directa (Beck, 1982) e que, de uma forma geral, um aumento da viscosidade, faz aumentar sobretudo o rendimento dos produtos *orto* e diminuir a percentagem de fenol formado. Este efeito ocorre sobretudo com solventes de elevada

viscosidade o que pode indiciar uma competição entre o mecanismo radicalar e o mecanismo concertado que origina apenas produtos *orto* (Haga, 1996).

Contudo, o aumento da formação dos produtos do rearranjo com o aumento da viscosidade, está também de acordo com a hipótese da formação de um par de radicais, pois, o escape é menor neste caso e a recombinação intramolecular dentro da gaiola de solvente é favorecida (Haga, 1996).

Apesar de, nos dois tipos de reacções terem sido referidas as posições *orto* e *para* como posições preferenciais de rearranjo, observou-se que este pode ocorrer, em alguns casos, também na posição *meta*, por via fotoquímica (Lally, 1991) ou catalisada por ácido (Chorn, 1984). No caso de o rearranjo ser catalisado por um ácido, este pode ocorrer em posições de um segundo anel, se este existir (Cui, 1996). Verificou-se ainda que a utilização de superfícies poliméricas ou meios com agentes encapsulantes como a β -ciclodextrina podem influenciar a orientação do rearranjo (Veglia, 1990; Warshawsky, 1978).

Sabe-se ainda que a reacção fotoquímica ocorre sobretudo através do estado excitado singuleto $S_1(n,\pi^*)$ apesar de poder existir o envolvimento de estados tripletos (Haga, 1996; Kalmus, 1974; Molokov, 1997; Sandner, 1968; Turro, 1991).

Está também bem estabelecido que este tipo de rearranjo é apenas intramolecular, ao contrário do rearranjo catalisado com ácido. Estas conclusões foram confirmadas por experiências de *crossover* com e sem marcação isotópica (Anderson, 1963; Cui, 1996; Kalmus, 1974; Sandner, 1968; Shine, 1987).

No entanto, no caso de derivados da anilina, por exemplo, fenilsulfamato de sódio ($C_6H_5NHSO_3Na$), o rearranjo é também intramolecular, mas ocorre *via* estado tripleto (Lally, 1991).

Os dois tipos de rearranjo têm sido várias vezes referidos como processos para a síntese de precursores e de compostos orgânicos, tais com psoralenos (ver Cap. I) e outros, como xanten-9-onas e naftoquinonas (Chorn, 1984; Crouse, 1981; Horne, 1990; Lewis, 1981; Lown, 1984). Para além do interesse em síntese, o rearranjo de Fries parece ter um papel importante na degradação de poliésteres, policarbonatos e poliamidas (Molokov, 1997). A elevada sensibilidade destes rearranjos às condições do

meio, motiva a sua utilização como prova da polaridade ou das dimensões de “cavidades” que fazem parte de alguns meios reaccionais (Cui, 1996). Para isso é, necessariamente, importante o conhecimento do seu mecanismo.

2. Apresentação e discussão dos resultados

2.1. Síntese de precursores: estudo do rearranjo de Fries do etanoato de dibenzofuran-2-ilo

2.1.1. Rearranjo de Fries catalisado por $AlCl_3$

Decidiu-se estudar o rearranjo de Fries do éster (**2**) que se preparou a partir do dibenzofuran-2-ol comercial (**1**) e de anidrido acético, em piridina (Vogel, 1989) com um rendimento quase quantitativo (Figura 4).

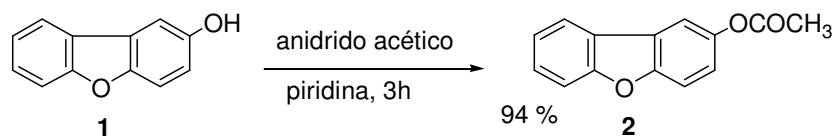


Figura 4 – Preparação do éster **2** a partir do dibenzofuran-2-ol (**1**).

As primeiras experiências foram realizadas em diclorometano, usando como ácidos de Lewis o $AlCl_3$ ou o $TiCl_4$, à temperatura ambiente ou em refluxo. Nestas condições o rearranjo não ocorreu. Utilizando $AlCl_3$ e CH_2Cl_2 , em refluxo, verificou-se um elevado grau de decomposição que foi detectado por cromatografia em camada fina. Com $TiCl_4$, também em refluxo com CH_2Cl_2 , obteve-se apenas o composto de partida e o fenol cujos rendimentos foram determinados por cromatografia em coluna (Tabela I).

Alguns autores utilizaram solventes com maior ponto de ebulição como o clorobenzeno ou o nitrobenzeno (Blatt, 1942). Neste estudo, dada a elevada decomposição que se obteve com CH_2Cl_2 , experimentou-se então a reacção sem solvente, a diferentes temperaturas, tendo resultado, surpreendentemente, diversos produtos de rearranjo que foram isolados por cromatografia em coluna (Figura 5).

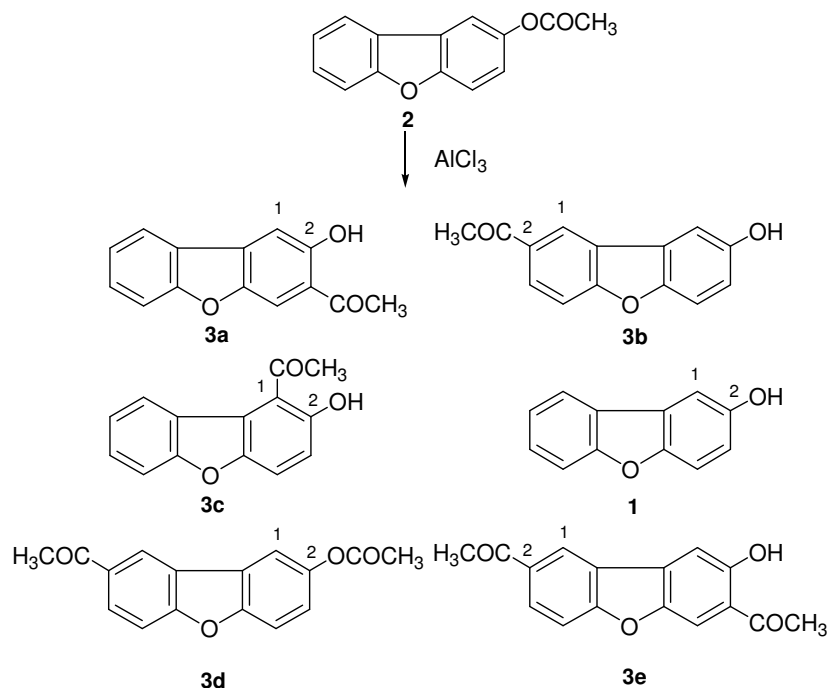


Figura 5 – Produtos resultantes do rearranjo catalisado com AlCl_3 sem solvente.

Determinou-se, por cromatografia líquida a alta pressão (HPLC), a percentagem de cada um dos compostos nas misturas reacionais (com exceção da mistura resultante da reacção com TiCl_4) sendo os resultados apresentados na Tabela I.

Tabela I - Resultados das experiências do rearranjo de Fries catalisado, obtidos por HPLC.

Exp.	Condições	Produtos / rendimento (%)						
		2	3a	3b	3c	3d	3e	1
1	2 AlCl_3 , CH_2Cl_2 , 7 dias, 20 °C	94	0	0	0	0	0	2
2	2 AlCl_3 , CH_2Cl_2 , 30 min, refl.	9	4	0	0	4	0	0
3	2 TiCl_4 , CH_2Cl_2 , 3h, refl. ^{a)}	64	0	0	0	0	0	27
4	2 AlCl_3 , 15 min, 130 °C	17	31	28	3	7	1	10
5	2 AlCl_3 , 130 °C → 150 °C, 15 min	19	27	16	3	4	0	11

^{a)} Rendimento obtido por cromatografia em coluna.

Os principais produtos do rearranjo sem solvente foram, à parte o fenol (**1**), o produto de rearranjo *orto*, a cetona 2-hidroxi-dibenzofuran-3-ílica e metílica (**3a**), e a cetona 8-hidroxi-dibenzofuran-2-ílica e metílica (**3b**). Apenas se obteve vestígios do produto de rearranjo *para*, a cetona 2-hidroxi-dibenzofuran-1-ílica e metílica (**3c**). Entre outros produtos obtidos foram identificados o etanoato de 8-acetildibenzofuran-2-ilo (**3d**) e a dicetona 8-hidroxi-dibenzofuran-2,7-diílica e dimetílica (**3e**).

Os produtos foram todos devidamente caracterizados sendo os grupos hidroxilo, cetona e éster de cada composto identificados e diferenciados por espectroscopia de infravermelho (IV) e de ressonância magnética nuclear de protão (RMN-¹H) (Tabela II). Evidencia-se a maior frequência associada à absorção de IV dos grupos éster e a maior desprotecção do grupo metilo quando ligado à cetona. Também se nota a maior desprotecção do protão do grupo OH, quando em posição *orto*, em relação à cetona, devido à de formação de ligações de hidrogénio.

Tabela II – Alguns dados espectroscópicos dos produtos do rearranjo de Fries.

Composto	IV $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	RMN - ¹ H δ / ppm^c	
		OH	CH ₃
dibenzofuran-2-ol (1)	3272 (OH) ^a	5,01	-
etanoato de dibenzofuran-2-ilo (2)	1755 (C=O, éster) ^b	-	2,37 (éster)
cetona 2-hidroxi-dibenzofuran-3-ílica e metílica (3a)	OH, não aparece 1631 (C=O, cetona) ^a	12,25	2,74 (cetona)
cetona 8-hidroxi-dibenzofuran-2-ílica e metílica (3b)	3193 (OH) 1660 (C=O, cetona) ^b	8,62	2,72 (cetona)
cetona 2-hidroxi-dibenzofuran-1-ílica e metílica (3c)	3177 (OH) 1654 (C=O, cetona) ^a	11,25	2,91 (cetona)
etanoato de 8-acetildibenzofuran-2-ilo (3d)	1745 (C=O, éster) 1672 (C=O, cetona) ^a	-	2,38 (éster) 2,71 (cetona)
dicetona 8-hidroxi-dibenzofuran-2,7-diílica e dimetílica (3e)	OH, não aparece 1679, 1628 (C=O, cetona) ^a	12,27	2,73 (cetona) 2,76 (cetona)

^a) KBr; ^b) óleo mineral; ^c) em CDCl₃, excepto para o composto **3b** (acetona-d₆).

A temperatura de reacção sem solvente, foi escolhida de modo a atingir, pelo menos, a temperatura de fusão da mistura reaccional. Dado que o ponto de fusão do éster é de 114 °C, iniciou-se por um aquecimento a 130 °C, tendo-se observado a libertação de vapores brancos (HCl). De modo a obter uma mistura mais homogénea dos componentes da reacção, numa outra experiência, elevou-se a temperatura até aos 150 °C, tendo-se obtido resultados muito diferentes (Exp. 1; Tabela I).

O tempo curto da reacção (apesar de não ter existido uma taxa de conversão de 100 %) está de acordo com alguns registos de outros autores (Blatt, 1942; Hart, 1985).

De acordo com a teoria mais aceite de que ocorre a formação de um par iónico, propõe-se os passos esquematizados na Figura 6, para a reacção realizada, sem solvente, sendo a maioria dos produtos, provavelmente, o resultado de uma reacção intermolecular. No entanto, os produtos **3a** e **3c** poderão resultar de um rearranjo inter ou intramolecular. Note-se que o par iónico se forma a partir do complexo, entre o AlCl_3 e o éster, não representado na Figura 6.

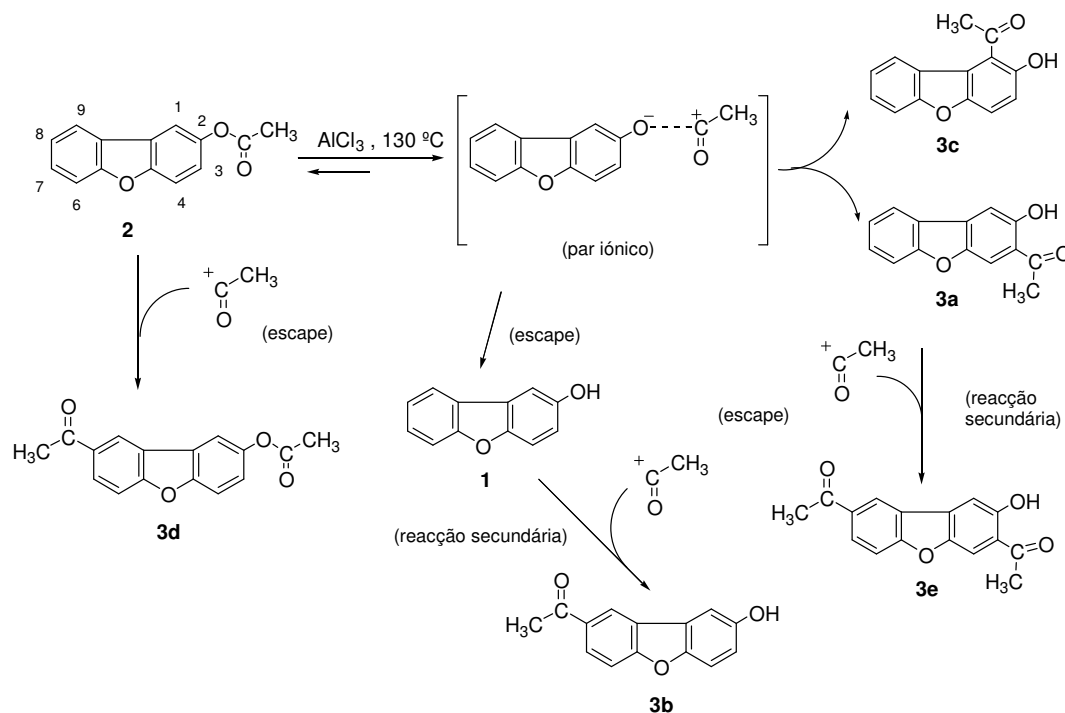


Figura 6 – Etapas da reacção de Fries catalisada.

Nas experiências realizadas, dever-se-ia esperar quantidades semelhantes de cada produto resultante da substituição na posição orto (**3a** e **3c**) mas tal não se verificou, sendo a quantidade de **3a** muito superior à de **3c** (Tabela I - Exp. 4 e 5). A justificação para que quase não ocorra rearranjo na posição 1 poderá estar no impedimento estereoquímico, devido à proximidade do H-9 do dibenzofurano e/ou do complexo formado pelo catalisador e o ião dibenzofuranolato.

Curiosamente, verificou-se que a substituição na posição 8, conduziu a quantidades apreciáveis do produto **3b** o que pode ser explicado por esta ser uma posição muito favorável a uma substituição electrofílica. Os produtos **3e** e **3d**, resultantes de reacções secundárias, confirmam a preferência pelo ataque às posições 3 e 8 do ião dibenzofuranolato.

Convém ainda referir a existência de outros produtos secundários, minoritários, que não foram identificados, após cromatografia em coluna, mas cuja presença foi detectada por HPLC (Figura 7).

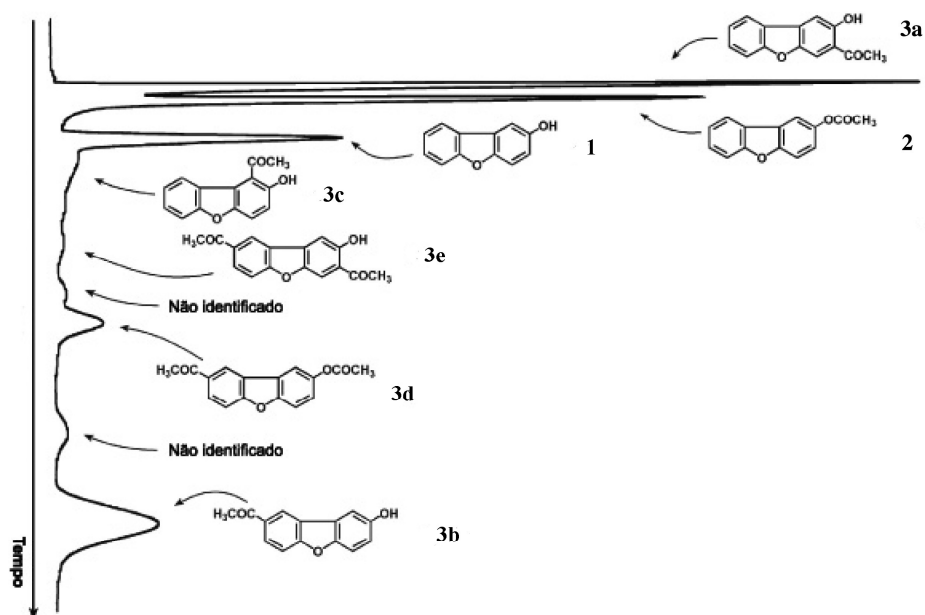


Figura 7 – Cromatograma da experiência 4 (ver Tabela I). Condições: coluna *LichroCART* (5 μm , sílica 60; 25 cm x 4 mm); fase móvel AcOEt / hexano 20:80; fluxo 1,6 ml/min; detector UV-visível (290 nm, 0,64 AUFs); volume de amostra: 5 μl .

Os resultados obtidos estão de acordo com os obtidos por Cui et al. (1996) com o etanoato de naft-2-ilo.

Os estudos de HPLC foram realizados utilizando uma coluna de sílica, eluente constituído por acetato de etilo / hexano 20:80, a um fluxo constante de 1,6 cm³/min. A cromatografia realizada foi de fase “normal”, ou seja a polaridade da fase estacionária era superior à da fase móvel e portanto os compostos que foram eluídos em primeiro lugar são os menos polares (Lindsay, 1992). A detecção dos compostos foi realizada, num espectrofotómetro de UV-visível, a 290 nm, por ser este o comprimento de onda em que todos os compostos isolados tinham uma absorvância aceitável, para concentrações da ordem de 10⁻⁵ mol dm⁻³.

A percentagem de cada composto nas misturas examinadas foi determinada com base em rectas de calibração da altura do pico ou da área, em função da concentração de soluções de cada composto (calibração externa). Os resultados obtidos, através da altura do pico em função da concentração, foram os mais coerentes para a generalidade dos compostos. Por exemplo, para o composto **3c** cujo pico se encontra, em parte, sobreposto com o do composto **1**, esta foi a opção escolhida.

Apesar de terem sido feitas várias experiências, com diferentes eluentes e a diferentes pressões (fluxos), não foi possível encontrar um cromatograma com melhor resolução do pico correspondente ao composto **3c**, sem afectar seriamente a resolução dos restantes picos. Note-se que a polaridade dos compostos **1**, **2**, **3a** e **3c** é bastante inferior à dos compostos **3b**, **3d** e **3e**, o que dificultou a obtenção de um cromatograma que permitisse resolver todos os sinais.

De evidenciar ainda que os resultados obtidos contêm erros experimentais que não foram determinados. Segundo Robards (1994) os erros resultantes da injeção são estimados entre 10 a 20 % e a estes podemos acrescentar os erros, por exemplo, das medições da altura dos picos.

2.1.2. Rearranjo de Fries fotoquímico

A reacção de Fries fotoquímica foi inicialmente realizada numa experiência piloto, em micro-escala. Fez-se a irradiação de soluções de etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**), em diferentes solventes (etanol, acetonitrilo e hexano), a dois comprimentos de onda diferentes: 254 e 350 nm. Por CCF, detectou-se que a reacção ocorreu em todas as soluções, mas apenas com a irradiação a 254 nm, como seria de esperar, já que o éster não absorve a 350 nm.

Fez-se, então, a exposição de soluções de concentração $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ do composto **2**, em diferentes solventes (etanol, ciclo-hexano, diclorometano e acetonitrilo), à radiação de uma lâmpada de Hg de baixa pressão (16 W, principal emissão a 254 nm, Gordon (1972)), num reactor, com rotação. Para fazer um estudo da influência da concentração, prepararam-se e irradiaram-se também soluções de concentrações $2,0 \times 10^{-3}$ e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, em etanol. A irradiação efectuou-se durante várias horas e retiram-se amostras periodicamente. Estas foram analisadas, por HPLC, nas mesmas condições que foram utilizadas para o rearranjo catalisado. Terminou-se a irradiação quando se verificou a conversão da maior parte do composto de partida.

A reacção de Fries fotoquímica revelou-se mais eficiente que a reacção de Fries catalisada. Os produtos principais foram os produtos de rearranjo *orto*, a cetona 2-hidroxidibenzofuran-1-ílica e metílica (**3c**) e a cetona 2-hidroxidibenzofuran-3-ílica e metílica (**3a**) estando o composto **3c** presente numa proporção sempre mais elevada (Tabela III).

Tabela III – Resultados do rearranjo de Fries fotoquímico. Os resultados são referidos em relação ao rendimento máximo de **3a** e de **3c**, em cada solvente. Indicam-se também os valores do dipolo eléctrico e da viscosidade para cada solvente (Earll, 1999).

Solvente			Produtos / Rendimento (%)					Tempo de reacção (h)
Designação	Dipolo (D)	Viscosidade (mP.s, a 20 °C)	2	3a	3c	1	Total ^{c)}	
Ciclo-hexano	0	1,02	12	21	32	2	67	21
Etanol	0,88	1,2	13	20 ^{a)}	27	12	72	5
Diclorometano	1,60	0,43	5	19	41	10	75	5
Acetonitrilo	3,92	0,36	37	12 ^{b)}	16	12	77	2,25

a) 22 % para 9 h de reacção; b) 14 % para 3,5 h de reacção; c) Soma dos rendimentos de **1**, **2**, **3a** e **3c**.

Os rendimentos da reacção mostraram ser dependentes do solvente e do tempo da reacção. Os melhores resultados foram obtidos em diclorometano (41 % de **3c** e 19 % de **3a**) ao fim de 5 h de exposição. Em etanol e em ciclo-hexano, os rendimentos foram semelhantes, mas inferiores aos da reacção em diclorometano. A reacção foi pouco eficiente em acetonitrilo, apesar de o rendimento máximo ser atingido mais rapidamente (Tabela II).

Verificou-se ainda uma tendência para o aumento de reacções secundárias ao longo do tempo de irradiação. Tal pode ser evidenciado pela percentagem de produtos total (inferior a 100 %), quando se atingiu o máximo de rendimento (Tabela III).

Também nas Figuras 8, 9 e 10 observa-se que, à medida que a conversão de **2** aumenta, a formação dos compostos **3a** e **3c** aumenta, até atingir um máximo. Supõe-se que, a partir deste momento, a formação destes produtos é inferior ao grau de decomposição, havendo então uma diminuição da percentagem de cada produto presente na mistura. Este facto indica que os fotoprodutos participam nessas reacções secundárias

A decomposição referida não é tão evidente nas reacções em ciclo-hexano, sendo mesmo de notar que, neste caso os produtos de rearranjo *orto* (**3a** e **3c**) não diminuem a sua concentração, apesar de, a partir das 15 horas, a taxa de aumento ser muito reduzida. Note-se que esta diferença, em relação ao ciclo-hexano, pode dever-se ao facto de ocorrer precipitação de produtos neste solvente, pelo que, grande parte dos fotoprodutos não estando em solução, não podiam participar nas reacções secundárias.

A decomposição dos fotoprodutos, eventualmente em produtos poliméricos, está de acordo com o observado por Sandner *et al.* (1968) e por Kalmus e Hercules (1974) que realizaram estudos de irradiação de soluções puras dos fotoprodutos de reacções realizadas por esses investigadores.

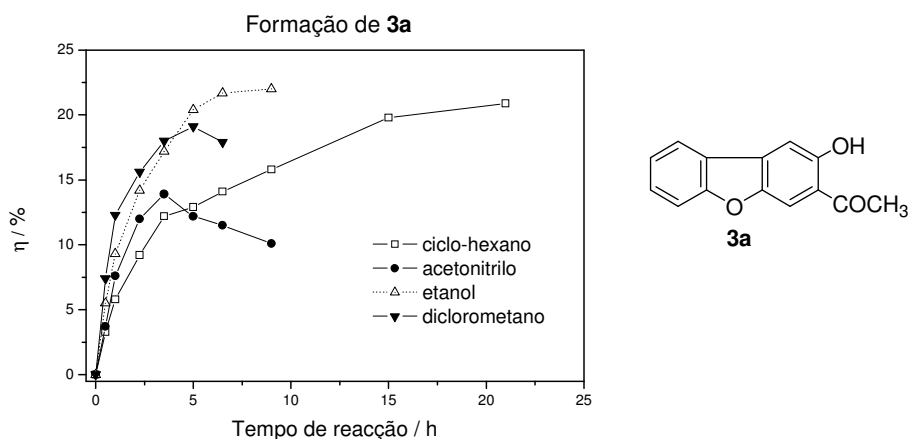


Figura 8 – Formação, por *via* fotoquímica, da cetona **3a**, em diferentes solventes.

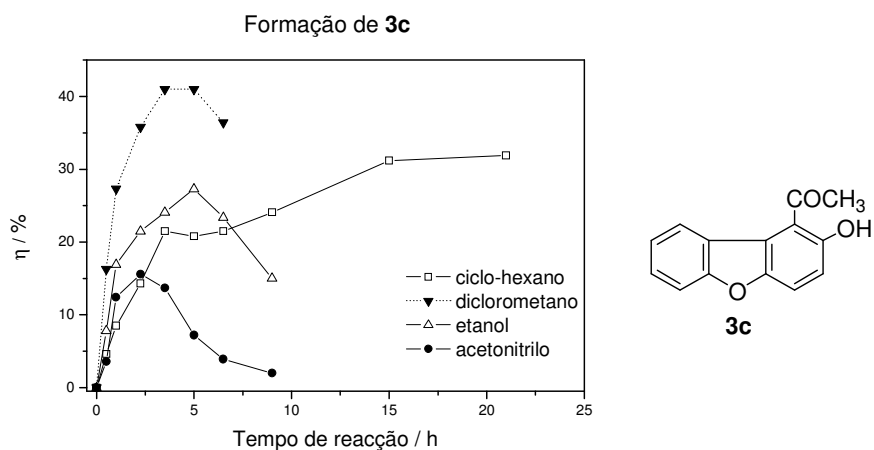


Figura 9 – Formação, por *via* fotoquímica, da cetona **3c**, nos diferentes solventes.

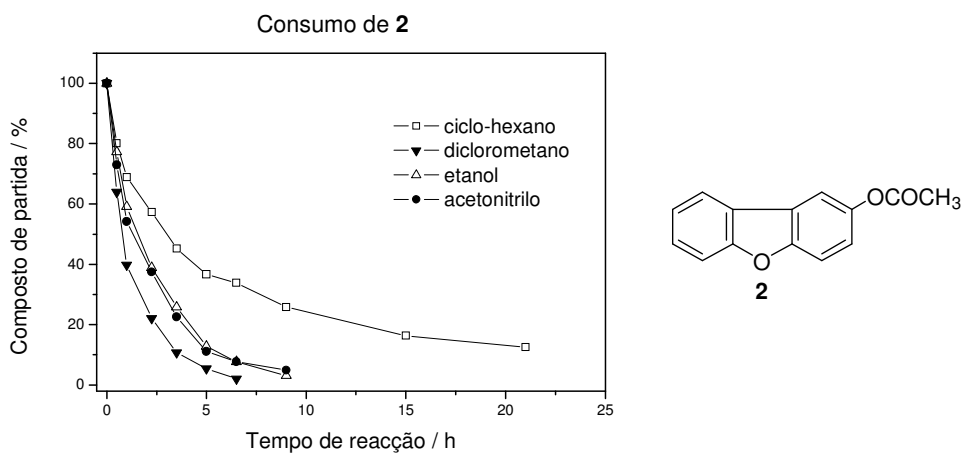


Figura 10 – Consumo do etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**), ao longo das reações fotoquímicas realizadas em diferentes solventes.

É ainda possível verificar que a taxa de conversão de **2** é mais elevada em diclorometano e não em acetonitrilo (Figura 10). Comparando este dado com a informação de que a reação atinge o seu rendimento máximo, mais rapidamente em acetonitrilo do que em diclorometano, pode-se inferir que, neste solvente, os fotoprodutos têm maior tendência em participar em reações secundárias.

Em todos os solventes, a análise por HPLC mostrou, ao longo do tempo, um aumento da formação de espécies não identificadas, com tempos de retenção inferiores aos de **3a** e de **3c** e, ainda, em diclorometano, também algumas espécies com elevados

tempos de retenção (mas que não coincidem com os identificados no rearranjo catalisado por ácido) (Figura 11).

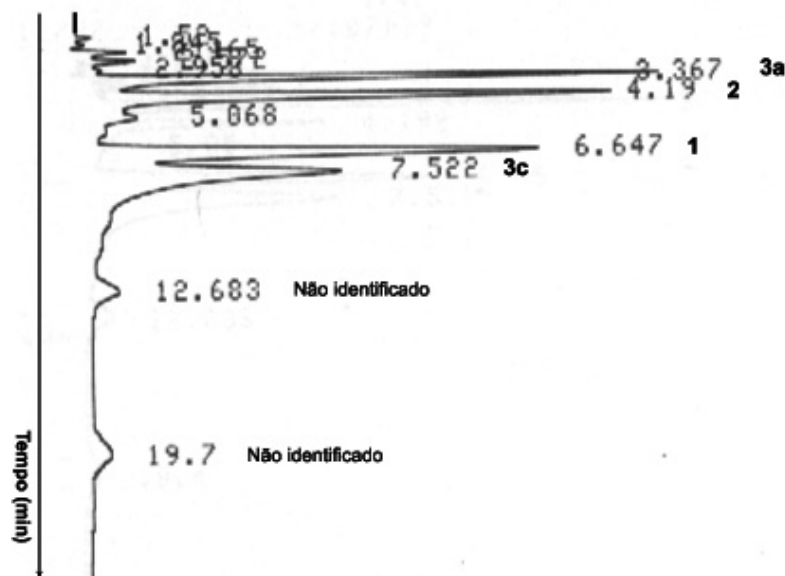


Figura 11 – Cromatograma do rearranjo fotoquímico, do etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**), em CH_2Cl_2 , ao fim de 3,5 h de irradiação.

Os resultados foram também analisados em termos de variação da razão das quantidades **3a/3c** como função da taxa de conversão de **2** (Figura 12). O valor dessa razão é inferior à unidade e aproximadamente constante ao longo de cada reacção, até que se atinge uma elevada conversão de **2**; então, a razão **3a/3c** aumenta drasticamente. Este facto indica que o produto **3c** se decompõe mais rapidamente que o produto **3a** perto do fim da reacção.

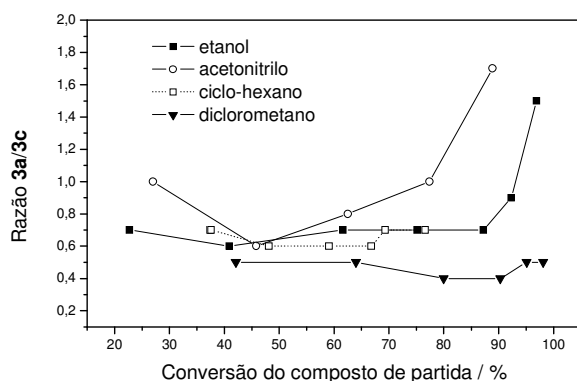


Figura 12 – Razão entre as quantidades produzidas de **3a/3c**, como função da conversão de **2**, ao longo das reacções fotoquímicas, efectuadas em diferentes solventes.

Relativamente ao esclarecimento sobre o mecanismo da reacção e a influência do solvente, não é possível estabelecer uma relação directa entre a viscosidade do solvente e os resultados do rearranjo. No entanto, é possível verificar que em ciclohexano, o solvente menos polar e um dos mais viscosos usados, a velocidade da reacção e a produção de dibenzofuran-2-ol (**1**) é menor. Este resultado está de acordo, com a teoria da formação do par de radicais numa gaiola de solvente já que, neste caso, o escape do radical acetilo para dar origem ao composto **1** é mais difícil de ocorrer. Também a recombinação do par de radicais para dar origem ao éster pode ser favorecida, tornando mais lenta a reacção.

Com a intenção de estudar o efeito da concentração do composto de partida (**2**), no rearranjo, fez-se a irradiação de soluções de concentrações (1×10^{-3} , 2×10^{-3} e $5 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$) tal como se descreveu anteriormente. A título de exemplo, apresenta-se a percentagem de formação de **3a** em função do tempo (Figura 13). Pode-se verificar que nas soluções diluídas o rendimento é menor e atinge-se mais rapidamente o ponto máximo, sendo de 16 % para a solução mais diluída (C_3) contra os 22 % da solução mais concentrada (C_1).

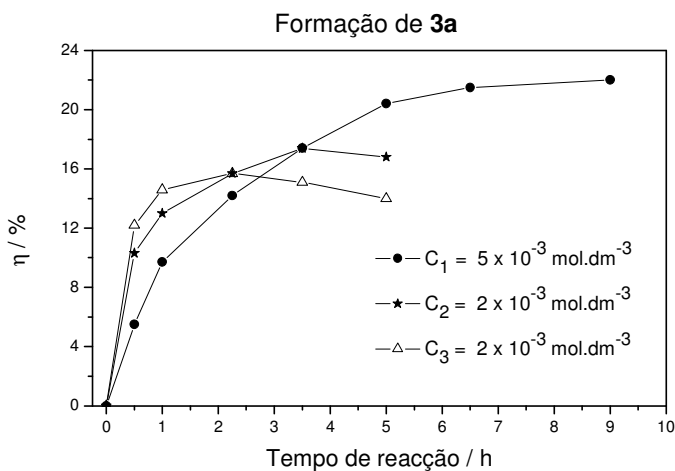


Figura 13 – Formação da cetona **3a**, aquando da irradiação de soluções etanólicas, com diferentes concentrações de etanoato de dibenzofuran-2-ol (**2**).

2.1.3. Estudo computacional e comparação com os resultados experimentais

Foram realizados alguns estudos computacionais, utilizando métodos baseados na mecânica quântica que são os mais usados em modelação molecular. Os métodos baseados na mecânica quântica têm em conta todos os electrões que fazem parte da molécula e as interacções entre eles, permitindo determinar propriedades que dependem da distribuição electrónica, como a quebra e a formação de ligações (Leach, 2001). Podem-se dividir em métodos *ab initio* (“desde o início”), semi-empíricos e da Teoria do Funcional da Densidade.

Os cálculos referidos neste trabalho foram realizados com base em métodos semi-empíricos (PM3 e ZINDO/S) e utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT - *Density Functional Theory*). Estes métodos foram seleccionados tendo-se em vista o facto de poderem fornecer uma boa descrição dos sistemas experimentais estudados. Particularmente, tem-se referido que as abordagens da Teoria do Funcional de Densidade, sobretudo utilizando o funcional híbrido B3LYP, além de representarem um custo computacional muito menor do que com os métodos equivalentes *ab initio*, fornecem, nos cálculos dependentes do tempo, uma ordenação correcta dos estados electrónicos e as energias de excitação com desvios de poucas décimas de eV (Bauernschmitt, 1996; Kock, 2001). Os métodos PM3 e ZINDO/S, classificados como semi-empíricos, baseiam-se na introdução de parâmetros atómicos empíricos, no sentido de simplificar a resolução da equação de Schrödinger. Já os métodos da Teoria do Funcional de Densidade partem dos mesmos princípios que regem os métodos *ab initio*, mas fazem um tratamento diferente da equação de Schrödinger, sendo assim capazes de fornecer informações mais quantitativas acerca das propriedades estudadas. Esses métodos foram desenvolvidos por diferentes grupos, sendo apropriados muitas das vezes a diferentes objectivos (ex. prever o espectro electrónico, propriedades termodinâmicas e estruturais, etc.) (Leach, 2001).

Além destes métodos, há aqueles que se baseiam em campos de forças e que têm em conta apenas a energia do sistema como função das posições dos núcleos dos átomos. Estes métodos são baseados na mecânica molecular e são utilizados para sistemas contendo um número elevado de átomos, já que se fosse aplicada a mecânica quântica a estes sistemas, os cálculos seriam demasiado morosos (Leach, 2001).

Os cálculos que aqui se apresentam foram realizados na Universidade Federal da Uberlândia, pelo grupo do Prof. António Eduardo da Hora Machado (Laboratório de Fotoquímica - Instituto de Química), sendo apresentados, de seguida, alguns dos resultados e a comparação com os dados obtidos experimentalmente.

Na Figura 14 apresenta-se um gráfico que traduz os resultados dos cálculos realizados (método PM3) para a reacção catalisada com (AlCl₃) e não catalisada (não fotoquímica), da energia como ΔH_f do éster **2** em função do comprimento da ligação ArO-COR até atingir o estado de transição, (formação do par iónico). Para a reacção não catalisada indica-se ainda a variação de energia, desde esse estado de transição, até à formação do produto *orto* correspondente, **3a**.

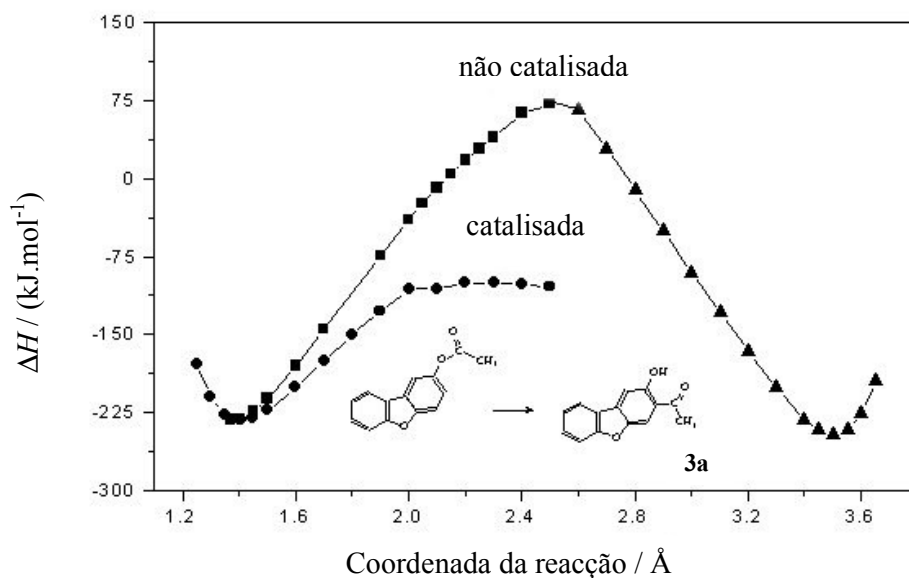


Figura 14 – Coordenada da reacção (em Å, 1 Å = 1 x 10⁻¹⁰ m), calculada utilizando o método PM3, considerando a formação da cetona **3a** para a reacção catalisada por AlCl₃ e não catalisada.

Verifica-se uma diferença de 171 kJ/mol entre a reacção catalisada e não catalisada, o que justifica a necessidade de um catalisador. Ainda assim, a diferença entre o estado fundamental e o estado de transição para a reacção catalisada é de 135 kJ/mol, valor relativamente elevado e que explica o facto de a reacção não ter ocorrido em diclorometano, em refluxo (40 °C) ou à temperatura ambiente.

Apresentam-se, na Tabela IV as entalpias molares padrão de formação para os compostos obtidos no rearranjo de Fries catalisado e fotoquímico. Como se pode verificar, os produtos predominantes (**3a** e **3b** no rearranjo catalisado e **3a** e **3c** no rearranjo fotoquímico) têm uma entalpia de formação inferior à do composto de partida (**2**) o que corresponde, a produtos mais estáveis termodinamicamente e está de acordo com os dados experimentais.

Tabela IV – Valores calculados (PM3) das entalpias molares padrão de formação dos produtos obtidos na reação de Fries.

Composto	$\Delta H_f^0 / (\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
dibenzofuran-2-ol (1)	-81,26
etanoato de dibenzofuran-2-ilo (2)	-232,74
cetona 2-hidroxi-dibenzofuran-3-ílica e metílica (3a)	-250,11
cetona 8-hidroxi-dibenzofuran-2-ílica e metílica (3b)	-255,02
cetona 2-hidroxi-dibenzofuran-1-ílica e metílica (3c)	-245,31
etanoato de 8-acetildibenzofuran-2-ilo (3d)	-406,72
dicetona 8-hidroxi-dibenzofuran-2,7-diílica e dimetílica (3e)	-422,42

Na Figura 15 apresentam-se as distribuições de carga previstas (método DFT) para o anião dibenzofuranolato e do radical dibenzofuranoxilo, no estado fundamental.

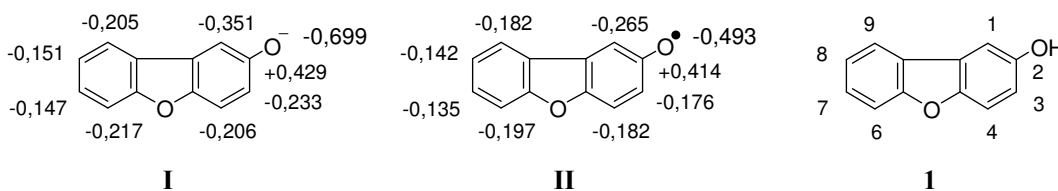


Figura 15 – Distribuições de carga previstas para o estado fundamental, no anião dibenzofuranolato (**I**) e no radical correspondente, **II**, e numeração dos átomos do composto **1**.

As distribuições de carga indicam que a posição 1 é a que apresenta maior carga negativa, sendo de 1,5 a razão entre as cargas das posições 1 e 3, nas duas espécies.

No rearranjo de Fries catalisado com AlCl_3 , a proporção entre as cetonas **3c** e **3a** correspondentes ao ataque eletrofilico, respectivamente, nas posições 1 e 3 está longe de ser 1,5, porque apenas se registaram vestígios do composto **3c**. Tal pode dever-se ao

impedimento estereoquímico causado pelo H da posição 9, e/ou pelo complexo formado entre o AlCl_3 e o éster, como anteriormente já se referiu. Apesar da posição 8 não ser a “mais negativa” verificou-se também o rearranjo, com substituição na posição 8, em elevada percentagem (composto **3b**) o que se pode explicar por efeitos de ressonância.

No rearranjo de Fries fotoquímico não existe o impedimento causado pela formação do complexo e, assim, a razão das quantidades obtidas dos produtos **3c/3a** corresponde aproximadamente a 1,5 para a maioria dos solventes (ver Tabela III), o que está de acordo com os cálculos realizados.

Ainda em relação à reacção fotoquímica, fez-se a previsão (método DFT dependente do tempo) do espectro electrónico do etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**), com as cinco primeiras energias de excitação. Na Figura 16 apresenta-se esse espectro, obtido teoricamente (linhas verticais), para a molécula isolada sobreposto ao espectro UV-visível obtido com o auxílio de um espectrofotómetro, em acetato de etilo. A transição menos energética prevista (283 nm), com força de oscilador 0,0640, corresponde à transição $S_0 \rightarrow S_1$ (n, π^*) (ombro a 295 nm, no espectro experimental) o que é consistente com uma transição apenas parcialmente permitida e um valor de ϵ baixo. Já a transição a 267 nm, com força de oscilador 0,2365 corresponde à $S_0 \rightarrow S_2$ (máximo a 284 nm, no espectro experimental). Esta última transição, dada a sua força de oscilador, é π, π^* .

O espectro teórico apresenta um desvio médio de ~15 nm (~0,23 eV) para valores de comprimentos de onda mais baixos, o que é coerente com as previsões feitas utilizando o método DFT dependente do tempo (Bauernschmitt, 1996; Kock, 2001). No entanto, não se pode eliminar a possibilidade de que parte dessa diferença pode ser devida ao efeito do solvente, bastante polar, utilizado no espectro obtido experimentalmente, já que o espectro teórico foi previsto para uma molécula isolada. Deve-se realçar que, dependendo da relação soluto-solvente, o espectro electrónico de uma molécula solvatada tende a apresentar maior complexidade que o obtido para moléculas isoladas (Turro, 1991; Gilbert, 1991).

Os cálculos utilizando os métodos semi-empíricos PM3 e ZINDO/S também confirmam que a transição $S_0 \rightarrow S_1$ resulta num estado excitado n, π^* .

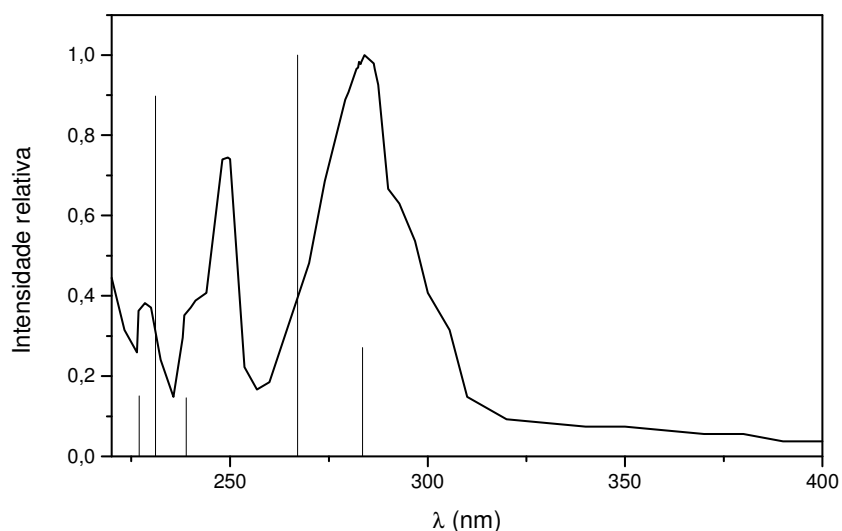


Figura 16 – Espectro de UV- visível do etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**) em acetato de etilo. As linhas verticais representam o espectro electrónico calculado para a molécula isolada.

Os valores teóricos diferem dos referidos anteriormente (Oliveira, 2004), em virtude da utilização de uma outra abordagem DFT dependente do tempo. Contudo, a previsão relativa à ordenação dos estados excitados é similar. A abordagem aqui apresentada é mais realista, pois forneceu forças de oscilador mais compatíveis com as probabilidades esperadas para as transições observadas, considerando-se os seus coeficientes de absorção molar.

Os resultados estão de acordo com o referido por outros autores, para o rearranjo de Fries fotoquímico, que define como estado excitado do composto de partida o estado $S_1(n,\pi^*)$ a partir do qual ocorre a clivagem homolítica que dá origem ao par de radicais.

Tendo em conta este dado, o espectro em acetato de etilo e as informações da Tabela IV, construiu-se o diagrama de energias, descrito na Figura 17, para o rearranjo de Fries fotoquímico do etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**).

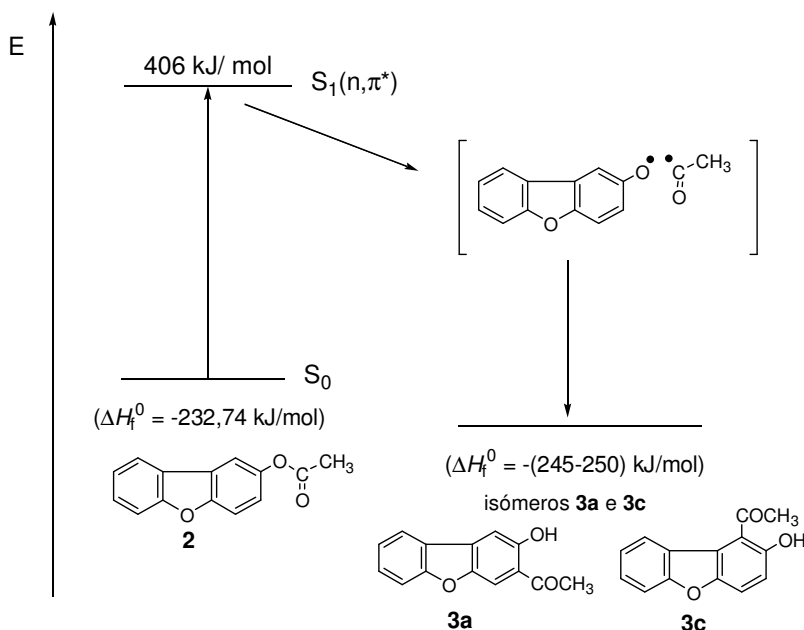


Figura 17 – Diagrama hipotético de energias para o rearranjo de Fries fotoquímico do composto **2**.

2.2. Síntese de benzopsoralenos polissubstituídos

2.2.1. Formação do anel de piranona via condensação de Knoevenagel

A preparação dos compostos finais foi realizada a partir das cetonas sintetizadas por rearranjo de Fries. Como o carbono da cetona está menos activado do que se fosse o carbono de um aldeído supôs-se que o fecho do anel não ocorreria, facilmente, utilizando o “método tradicional” *via* condensação de Knoevenagel (ver Cap. II).

Assim, decidiu-se realizar, da mesma forma o fecho do anel *via* condensação de Knoevenagel, mas por um método desenvolvido por Gallastegui *et al.* (1984). Neste método utiliza-se um composto de fósforo que funciona como activador do grupo carbonilo para se conseguir a condensação e fecho do anel. Podem ser usados vários compostos de fósforo, *e.g.*, o diclorofosfato de fenilo ($\text{POP}(\text{O})\text{Cl}_2$) e o oxiclureto de fósforo (POCl_3). Como bases podem ser usadas a trietilamina ou o 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) e geralmente as reacções ocorrem em solventes halogenados. O método utiliza ácido acético substituído, em vez de ésteres como o malonato de dietilo ou derivados.

As duas cetonas aromáticas, sintetizadas com um grupo hidroxilo em posição *orto*, deram origem aos compostos **4**, **5** e **6**, por este método (Figuras 18 e 19). Para a síntese dos compostos **4** e **6**, utilizou-se o ácido etoxicarboniletanóico (malonato de monoetilo) como reagente para a condensação, enquanto que para sintetizar o composto **5** utilizou-se o ácido *para*-nitrofenilacético. A síntese do composto **6**, não foi bem sucedida, nas mesmas condições que os compostos **4** e **5**, pelo que se decidiu usar um solvente com o ponto de ebulição mais elevado, o 1,2-diclorobenzeno (p. e. = 180,5 °C) em vez do 1,2-dicloroetano (p.e. = 83,5 °C) e como base o DBU (Figura 19).

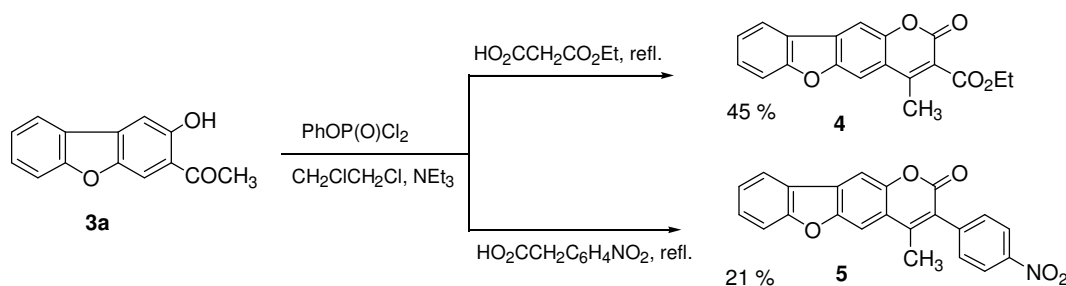


Figura 18 – Esquema da síntese dos compostos finais **4** e **5**, a partir da cetona **3a**.

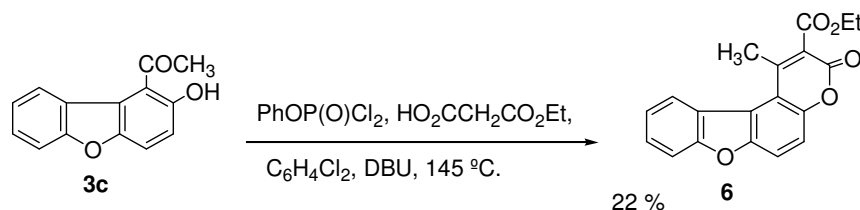


Figura 19 – Esquema da síntese do composto final **6**, a partir da cetona **3c**.

2.2.2. Síntese do benzopsoraleno com o grupo ciano

Sabendo-se que a posição 4 do anel de piranona é sempre muito desprotegida, para a introdução de um substituinte, diferente do CH₃, nessa posição, experimentou-se a bromação (substituição electofílica do H), seguida de uma ciano-desalogenação (Luo, 2001), de um benzopsoraleno, sintetizado anteriormente, e descrito no Capítulo II. A reacção tem a vantagem de se realizar em *one-pot* (sem necessidade de isolar os produtos das etapas intermédias da síntese). O rendimento foi elevado, tendo-se obtido o composto final **7**, directamente, por precipitação da mistura reaccional (Figura 20).

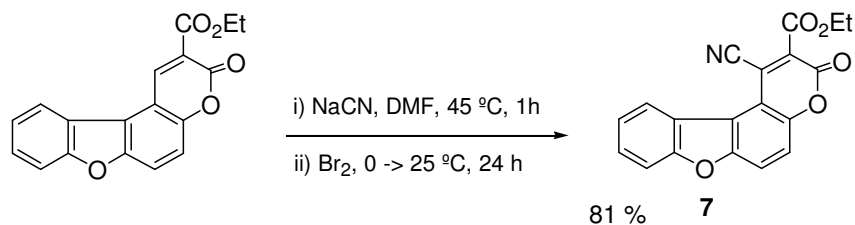


Figura 20 – Esquema da síntese do benzopsoraleno **7**.

2.2.3. Caracterização estrutural dos benzopsoralenos polissubstituídos

De uma forma geral, as propriedades espectroscópicas dos compostos **4-7** são semelhantes às que foram referidas e descritas no Capítulo II, para os benzopsoralenos monossubstituídos. Os compostos foram caracterizados pelo ponto de fusão, por espectroscopia de absorção de UV-visível, infravermelho, RMN de ¹H e de ¹³C e por espectrometria de massa. A análise elementar também foi realizada para alguns desses compostos; nos outros casos apenas a composição elementar do ião molecular foi obtida por espectrometria de massa de alta resolução.

Pode destacar-se para os compostos **4-6** o aparecimento do singuleto correspondente aos prótons do grupo CH₃, em espectroscopia de RMN entre 2,56-3,00 ppm. Para o composto **5** observou-se ainda, no espectro de RMN de próton, os sinais típicos de um anel benzénico *para*-substituído correspondente ao substituinte *para*-nitrofenilo: dois dupletos, a 8,43 e 7,80 ppm ($J = 8,7$ Hz). No composto **7**, a presença do grupo ciano, tornou-se evidente pelo desaparecimento do singuleto correspondente ao H-1 do composto de partida, em RMN de próton, e pelo existência de uma banda fraca a 2233 cm⁻¹ em espectroscopia de infravermelho. A fraca solubilidade do composto **7** não permitiu a identificação de todos os sinais, por RMN de ¹³C.

Em absorção de UV-visível verifica-se que ocorreram desvios hipsocrômicos dos máximos de absorção de cerca de 17 nm nos compostos com o grupo CH₃ (**4-6**) e o desvio batocrômico de 20 nm no composto com o grupo CN (**7**), em relação aos compostos monossubstituídos (ver Cap. II). Assim, pode dizer-se que, neste caso, o grupo *para*-nitrofenilo, tem um papel semelhante ao do grupo CO₂Et. Estes desvios são

os esperados por o grupo CH_3 ser electroador, por efeitos indutivo e de hiperconjugação, enquanto que o grupo CN é electrorretirador por efeitos indutivo e mesomérico (Sykes, 1989). Na Figura 21 pode observar-se o espectro de absorção de cada um dos benzopsoralenos (bps), sendo notória, a diferença entre o comprimento de onda de absorção máximo do composto **7** e dos outros compostos.

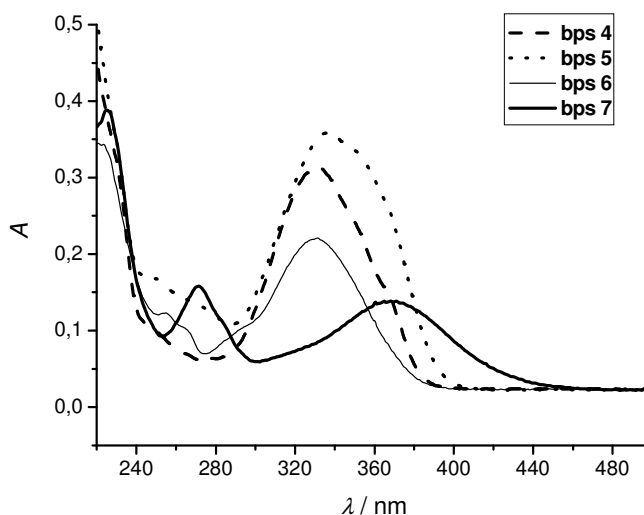


Figura 21 - Espectros de absorção dos compostos **4-7**, em etanol, para concentrações de $1 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$.

Os compostos **4** e **6**, com os grupos CH_3 e CO_2Et , revelaram-se os menos estáveis, em espectrometria de massa, por impacto electrónico, uma vez que o pico mais intenso não corresponde ao ião molecular. Nos dois compostos ocorrem as seguintes fragmentações:

- um fragmento correspondente a $[M-16]^+$, mas, em pequena percentagem (6-8 %), provavelmente correspondente à perda de CH_4 ;
- pico base, correspondente a $[M-46]^+$ e que se pode atribuir a $[M - \text{OC}_2\text{H}_6]^+$, ou seja, perda do grupo OEt e de um H proveniente, provavelmente, do grupo CH_3 ;
- um fragmento que se pode associar a $[M-72]^+$, devido à perda de $\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_4$.

Note-se que nos benzopsoralenos análogos a estes, mas apenas com o grupo substituinte CO_2Et (ver Cap. II), o pico base corresponde ao ião molecular e a primeira fragmentação corresponde a $[M-45]^+$, o que significa que ocorreu a quebra homolítica da ligação O-COEt do grupo éster. O facto de nos compostos descritos neste capítulo

haver a perda de um fragmento correspondente a $m/z = 46$ indica o envolvimento do grupo CH_3 e, portanto, confirma a presença deste grupo numa posição *orto* relativamente ao grupo éster.

Nos compostos **5** e **7**, com os grupos *para*-nitrofenilo ($\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$) e ciano (CN), respectivamente, os picos bases correspondem aos iões moleculares, sendo o composto **5** ainda mais estável do que o **7**, pois este sofre mais fragmentações. Nas Figuras 22 e 23 apresentam-se vias de fragmentação possíveis para os dois compostos.

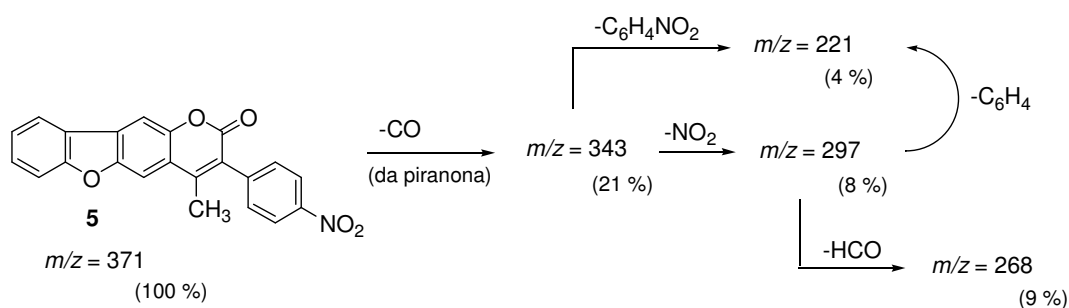


Figura 22 – Fragmentações possíveis, por espectrometria de massa, do composto **5**.

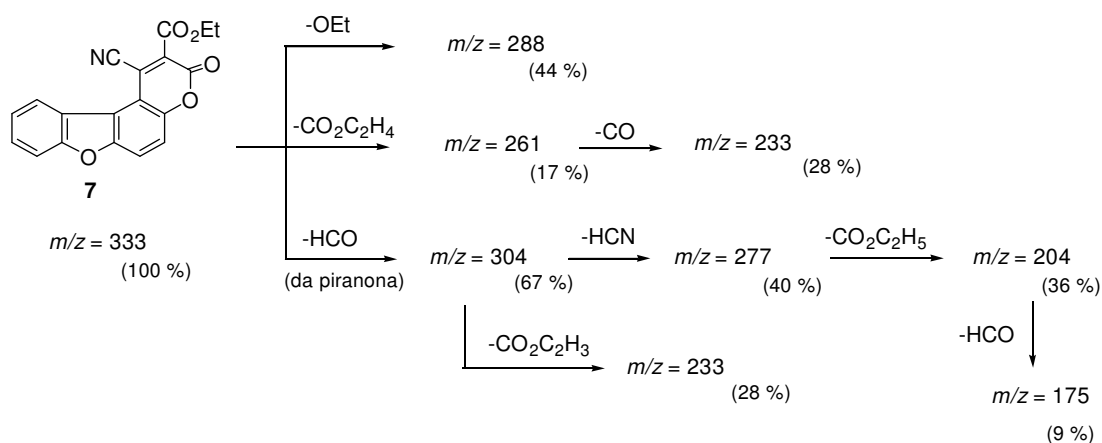


Figura 23 – Vias de fragmentação possíveis, por espectrometria de massa, do composto **7**.

3. Conclusões

Neste estudo, concretizaram-se os objectivos propostos, tendo-se sintetizado 4 benzopsoralenos polissubstituídos.

Dos 4 compostos finais sintetizados, 3 foram obtidos a partir dos dois produtos principais provenientes do rearranjo de Fries do etanoato de dibenzofuran-2-ilo, por uma variação do método usual da condensação de Knoevenagel.

Foi possível fazer um estudo sistemático, por HPLC, do rearranjo de Fries catalisado e fotoquímico e comparar os resultados experimentais com os teóricos obtidos por aplicação de cálculos computacionais. Verificou-se que os resultados obtidos estão de acordo com o que vários autores tinham já referido: o rearranjo catalisado ocorre *via* um par iónico formado a partir do complexo catalisador-composto de partida, podendo ocorrer produtos resultantes de um rearranjo intra e intermolecular; o rearranjo fotoquímico ocorre *via* um par radicalar aprisionado numa gaiola de solvente e é formado a partir do estado excitado S_1 (n,π^*). Para obter os dois compostos de rearranjo *orto* utilizados para a síntese dos benzopsoralenos, a melhor via foi o rearranjo fotoquímico, porque, no rearranjo catalisado um dos compostos *orto* forma-se, apenas, minoritariamente.

4. Parte experimental

4.1. Procedimentos de síntese

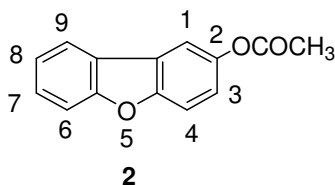
As características de solventes, reagentes, equipamentos e métodos, são as que foram indicadas no Capítulo II, salvo indicações em contrário.

4.1.1. Síntese do etanoato de dibenzofuran-2-ilo

Refluxou-se, com agitação, uma mistura de dibenzofuran-2-ol (**1**) (2,78 g; 15,1 mmol), piridina (25 cm³) e anidrido acético (7,1 cm³; 75,3 mmol), durante 3 h.

Adicionou-se gelo picado (100 g) e deixou-se a mistura a agitar até à formação de um precipitado bege. Filtrou-se o sólido que foi, depois cristalizado a partir do etanol.

O **etanoato de dibenzofuran-2-ilo (2)** foi obtido como cristais incolores (3,35 g; 94 %). **P.f.**: 113,5-114,5 °C (etanol) (Lit.: 115-116 °C (propanol), Gilman (1954)). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , AcOEt): 284 (4,30). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1755 (C=O), 1224, 1158, 1112, 929, 892, 834, 745, 724. **RMN ¹H**, δ : 7,91 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-9); 7,69 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-1); 7,58 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-6), 7,56 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-4); 7,49 (1H, dt, $J = 7,8$ e 1,5 Hz, H-7); 7,35 (1H, dt, $J = 7,5$ e 0,9 Hz, H-8); 7,17 (1H, dd, $J = 8,7$ e 2,4, Hz, H-3); 2,37 (3H, s, CH₃). **AE**, valores obtidos: C = 74,04, H = 4,68 %; valores teóricos para C₁₄H₁₀O₃: C = 74,32, H = 4,46 %.



4.1.2. Rearranjo de Fries catalisado por ácidos de Lewis

a) Com solvente

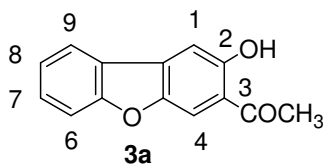
Adicionou-se a uma solução de etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**) (0,23 g; 1,0 mmol) em diclorometano (10 ml), o ácido de Lewis (2,0 mmol de AlCl₃, sólido, ou TiCl₄, 1 mol dm⁻³, em CH₂Cl₂). Manteve-se a mistura em agitação, à temperatura ambiente ou em refluxo, dependendo das experiências. Adicionou-se então ácido clorídrico (2 mol dm⁻³) e gelo picado deixando a mistura em agitação por mais 15 min. Extraiu-se a fase aquosa com CH₂Cl₂ (3 x 25 cm³). De seguida, juntaram-se e secaram-se (MgSO₄) os extractos orgânicos e evaporou-se o solvente, obtendo-se um sólido. Após análise da mistura por CCF (éter dietílico /éter de petróleo 3:7), foi preparada e diluída uma solução, em acetato de etilo, do sólido final, para posterior análise por HPLC.

b) Sem solvente

Aqueceu-se, sob árgon, durante 15 min, a diferentes temperaturas, uma mistura de etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**) (0,45 g; 2,0 mmol) e AlCl_3 (0,53 g; 4,0 mmol). Deixou-se então arrefecer a mistura e adicionou-se gelo picado e HCl conc. (5,0 cm^3). Manteve-se a mistura resultante em agitação por mais 15 min e extraiu-se com éter dietílico (3 x 30 cm^3). Os extractos resultantes foram combinados, secos (MgSO_4) e o solvente evaporado a pressão reduzida. Foi preparada e diluída uma solução, em acetato de etilo, de parte do resíduo final de cada experiência, para análise por HPLC.

Os sólidos das várias experiências foram combinados e separados por CC (acetato de etilo/ éter de petróleo, em proporções de 4 % a 60 %).

A **cetona 2-hidroxdibenzofuran-3-ílica e metílica (3a)**, foi o primeiro composto eluído tendo sido obtido como cristais amarelo intenso. **P.f.:** 170,0-172,0 °C (etanol) (Lit.: 168-169 °C (etanol / propanol / água), Gilman (1954)). **UV,** $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , AcOEt): 365 (3,71), 315 (4,44), 280 (4,01). **IV,** $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 1650, 1631 (intensa, C=O), 1609, 1590, 1459, 1426, 1370, 1328, 1218, 865, 817, 749, 660. **RMN ^1H ,** δ : 12,25 (1H, s, OH); 7,95 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-9); 7,90 (1H, s, H-4); 7,57-7,53 (1H, m, H-7); 7,48 (1H, s, H-1); 7,41 - 7,31 (2H, m, H-6 e H-8); 2,74 (3H, s, CH_3). **AE,** valores obtidos: C = 74,32, H = 4,46 %; valores teóricos para $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_3$: C = 74,09; H = 4,70 %.

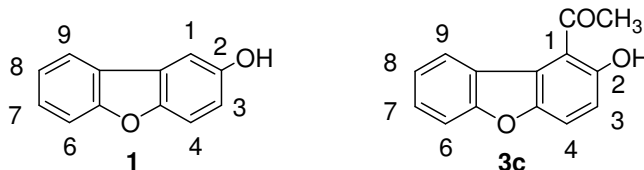


O **etanoato de dibenzofuran-2-ilo (2)**, o segundo composto eluído, foi obtido como cristais incolores; sendo o p. f. e os dados espectroscópicos obtidos idênticos aos que foram indicados anteriormente.

O **dibenzofuran-2-ol (1)**, o terceiro composto eluído, foi obtido como cristais de cor bege. **P.f.:** 133,5-134,5 °C (Lit.: 134 °C (etanol), Gilman (1939)). **UV,** $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ ,

AcOEt): 324 (3,73), 290 (4,19). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3272 (OH), 1600, 1482, 1447, 1361, 1334, 1308, 1282, 1214, 1191, 1168, 1150, 1017, 869, 842, 801, 743. **RMN ^1H** , δ : 7,89 (1H, dl, $J = 7,5$ Hz, H-9); 7,55 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-6); 7,46 (1H, dt, $J = 8,2$ e 1,2 Hz, H-7); 7,44 (1H, d, $J = 9$ Hz, H-4); 7,38 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-1); 7,32 (1H, dt, $J = 7,8$ e 1,2 Hz, H-8); 6,97 (1H, dd, $J = 8,7$ e 2,4 Hz, H-3); 5,01 (1H, sl, OH).

A **cetona 2-hidroxidibenzofuran-1-ílica e metílica (3c)**, o quarto composto eluído, foi obtido como cristais amarelos. **P.f.**: 154,5-155,5 °C (etanol / hexano) (Lit.: 105-110 °C, Gilman (1954)). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , AcOEt): 302 (4,02). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3177(OH), 1654 (C=O), 1592, 1454, 1432, 1368, 1277, 1263, 1079, 889, 809, 739, 730. **RMN ^1H** , δ : 11,25 (1H, s, OH); 8,03 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-9); 7,69 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-4); 7,62 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-6); 7,51 (1H, dt, $J = 7,2$ e 1,2 Hz, H-7); 7,36 (1H, dt, $J = 8,4$ e 1,2 Hz, H-8); 7,12 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3); 2,91 (3H, s, CH_3). **AE**, valores obtidos: C = 74,32, H = 4,46 %; valores teóricos para $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_3$: C = 74,52, H = 4,81 %.

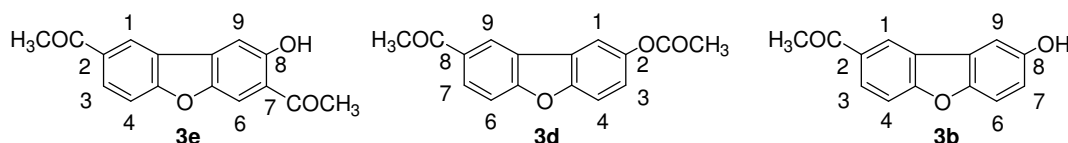


A **dicetona 8-hidroxidibenzofuran-2,7-diílica e dimetílica (3e)**, o quinto composto eluído, foi obtido como cristais amarelos. **P.f.**: 224,5-226,0 °C (etanol). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , AcOEt): 365 (3,70), 275 (4,67). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 1679 (C=O), 1651, 1628 (intensa, C=O), 1423, 1359, 1324, 1239, 1213, 1128, 944, 823, 785. **RMN ^1H** , δ : 12,27 (1H, s, OH), 8,57 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-1); 8,20 (1H, dd, $J = 8,7$ e 1,8 Hz, H-3); 7,94 (1H, s, H-6); 7,60 (1H, d, $J = 8,7$ Hz, H-4); 7,54 (1H, s, H-9); 2,76 (3H, s, 3-COCH₃ ou 9-COCH₃); 2,73 (3H, s, 9-COCH₃ ou 3-COCH₃). **AE**, valores obtidos: C = 71,63, H = 4,52 %; valores teóricos para $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$: C = 71,71, H = 4,67 %.

O **etanoato de 8-acetildibenzofuran-2-ilo (3d)**, o sexto composto eluído, foi obtido como cristais amarelos. **P.f.**: 145,0-147,0 °C (acetato de etilo /hexano). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , AcOEt): 292 (4,04), 249 (4,52). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1745 (C=O), 1672

(C=O), 1634, 1596, 1287, 1245, 1216, 1155, 1015, 904, 823, 807. **RMN ^1H** , δ : 8,52 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-9); 8,12 (1H, dd, $J = 8,7$ e $2,1$ Hz, H-7); 7,73 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-1) 7,59 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-6); 7,57 (1H, d, $J = 8,7$ Hz, H-4); 7,22 (1H, dd, $J = 9,0$ e $2,4$ Hz, H-3); 2,71 (3H, s, COCH_3); 2,38 (3H, s, OCOCH_3). **AE**, valores obtidos: C = 71,63, H = 4,52 %; valores teóricos para $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$: C = 71,61, H = 4,75 %.

A **cetona 8-hidroxidibenzofuran-2-ílica e metílica (3b)**, o último composto eluído, foi obtido como cristais “amarelo acastanhados”. **P.f.**: 223,5-225,5 °C (acetato de etilo / hexano). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , AcOEt): 326 (3,70), 248 (4,62). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 3193 (OH), 1660 (C=O) 1596, 1580, 1304, 1286, 1263, 1185, 1169, 1113, 1019, 864, 824, 723. **RMN ^1H** , δ (acetona- d_6): 8,73 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-1); 8,62 (1H, sl, OH); 8,18 (1H, dd, $J = 9,0$ e $1,8$ Hz, H-3); 7,68 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-4); 7,64 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-9); 7,54 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-6); 7,11 (1H, dd, $J = 9,0$ e $2,4$ Hz, H-7); 2,72 (3H, s, CH_3). **AE**, valores obtidos: C = 74,31, H = 4,46 %; valores teóricos para $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_3$: C = 74,32, H = 4,50 %.



4.1.3. Rearranjo de Fries fotoquímico

a) Teste piloto

O teste piloto do rearranjo fotoquímico, foi efectuado num reactor (*Semi-micro Photochemical Reactors, model RS-55* - Photochemical Reactors Ltd., UK) com duas células de 1 cm, em quartzo, que foram irradiadas a diferentes comprimentos de onda (254 nm ou 350 nm, lâmpadas de 4 W), durante 30 min. Utilizaram-se soluções do etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**), em etanol, acetonitrilo e hexano. Por CCF foi possível verificar que ocorreu reacção com todos os solventes, mas apenas a 254 nm.

b) Experiências em maior escala

As restantes experiências do rearranjo de Fries foram realizadas utilizando um sistema rotativo em carrossel (*Annular Photoreactor, Model APQ 40 – Photochemical Reactors Limited*) com uma lâmpada de vapor de mercúrio de baixa pressão de 16 W (emissão a 185 e 254 nm). A lâmpada foi posicionada no centro do carrossel a 4 cm dos tubos de quartzo (capacidade: cerca de 25 cm³, diâmetro: 1 cm) que continham as soluções (Figura 24).

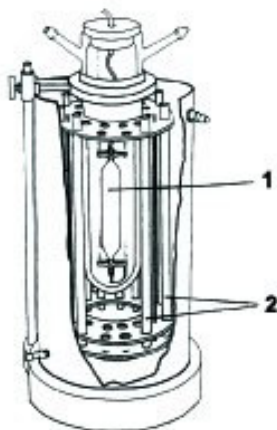


Figura 24 – Reactor fotoquímico.

Legenda: 1 – lâmpada; 2- tubos de quartzo no carrossel.

As soluções foram preparadas em ciclo-hexano, diclorometano e acetonitrilo, com a concentração de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$. Foram ainda preparadas e irradiadas soluções mais diluídas (2×10^{-3} e $1 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$), em etanol.

Os tubos com as soluções foram rolhados, para evitar o contacto com o ar, e cobertos com folha de alumínio, pelo exterior, na parte contrária à que se encontra virada para a lâmpada, de modo a aumentar a intensidade das irradiações. Foram recolhidas amostras de 0,50 cm³, ao fim de 0,5 h, 1 h, 2,25 h, 3,5 h, 5h, 6,5 h, etc. de reacção, para análise por HPLC. O tubo com a solução em ciclo-hexano, foi bem agitado para homogeneização da solução, já que ocorreu formação de um precipitado. As amostras retiradas, desta solução, foram evaporadas e diluídas novamente num solvente mais polar, o acetato de etilo, para análise por HPLC.

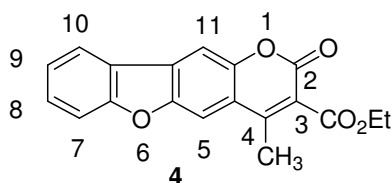
Não foi utilizado o sistema de arrefecimento da lâmpada, pelo que se efectuaram pausas de 30 min em cada paragem para recolha de amostras.

4.1.4. Síntese dos benzopsoralenos substituídos

a) A partir da cetona 3a

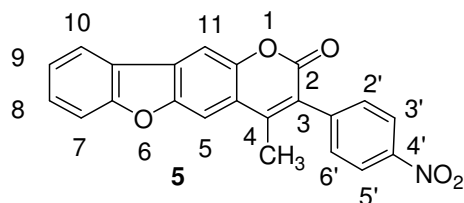
A uma solução da cetona 2-hidroxi-2-(2-benzofuran-3-ílica) e metílica (**3a**) (0,120 g; 0,531 mmol), em 1,2-dicloroetano (8 cm³), adicionaram-se trietilamina (0,161 g; 1,59 mmol) e ácido etoxicarbonilético (HOOCCH₂CO₂Et) (0,080 g; 0,61 mmol). Colocou-se a mistura a 0 °C e adicionou-se, então, diclorofosfato de fenilo (PhOP(O)Cl₂; 0,130 g; 0,616 mmol), gota a gota e com agitação. Manteve-se a mistura reaccional nestas condições durante 30 min. De seguida, aqueceu-se a mistura em refluxo durante 4 h e, após arrefecimento, adicionou-se água (20 cm³) e éter dietílico (20 cm³). Separou-se a fase orgânica, secou-se (MgSO₄) e evaporou-se o solvente. O resíduo assim obtido foi purificado por CC (acetato de etilo / éter de petróleo). O primeiro composto eluído foi a cetona de partida (0,064 g; 53 %).

O **4-metil-2-oxo-2H-benzofuro[2,3-g]cromeno-3-carboxilato de etilo (4)** foi o segundo composto eluído, obtido como cristais amarelos (0,077g; 45 %). **P.f.**: 234,5-236,0 °C (etanol). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , EtOH): 331 (4,50). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 2988, 1734 (C=O), 1698 (C=O), 1642, 1625, 1573, 1458, 1430, 1401, 1375, 1338, 1300, 1278, 1233, 1206, 1149, 1081, 1059, 1031, 863. **RMN ¹H**, δ : 8,02 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, 10-H); 7,87 (1H, s, 11-H ou 5-H); 7,83 (1H, s, 5-H ou 11-H); 7,63-7,55 (2H, m, 7-H e 8-H); 7,45-7,39 (1H, m, 9-H); 4,47 (2H, q, $J = 7,1$ Hz, CH₂CH₃); 2,57 (3H, s, CH₃); 1,44 (3H, t, $J = 7,1$ Hz, CH₂CH₃). **RMN ¹³C**, δ : 171,15; 164,96; 157,96; 152,57; 149,92; 149,17; 129,54 (CH); 128,73; 123,42 (CH); 123,00; 121,85 (CH); 121,07; 118,18; 112,05 (CH); 108,30 (CH); 107,04 (CH); 62,22 (CH₂CH₃); 16,48 (Ar-CH₃); 14,18 (CH₂CH₃). **EM**, m/z (int. rel.): 323 (2, [M+1]⁺), 322 (61, M⁺), 306 (6), 277 (51), 276 (100), 250 (12), 208 (17), 165 (10). **EM-AR**, M⁺: 322,0836 (M⁺(C₁₉H₁₄O₅) calculado: 322,0841). **AE**, valores obtidos: C = 70,57, H = 4,58 %; valores teóricos para C₁₉H₁₄O₅: C = 70,80, H = 4,38 %.



A uma solução da cetona 2-hidroxi-2-(2-hidrodifenil)benzofuran-3-ona e metilica (**3a**) (0,119 g; 0,526 mmol), em 1,2-dicloroetano (6 cm³), adicionaram-se trietilamina (0,177 g; 1,75 mmol) e ácido 4-nitrofenilacético (C₆H₄NO₂COOH; 0,102 g; 0,564 mmol). Adicionou-se a esta mistura, a 0 °C, gota a gota e com agitação, diclorofosfato de fenilo (PhOP(O)Cl₂; 0,130 g; 0,616 mmol). Manteve-se a mistura nestas condições 30 min e depois aqueceu-se, em refluxo, durante 3 h e 30 min. Adicionou-se água (15 cm³), extraiu-se a mistura com acetato de etilo (3 x 15 cm³), secou-se (MgSO₄) e evaporou-se o solvente a pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em acetona, tendo precipitado o composto final pela adição de éter de petróleo.

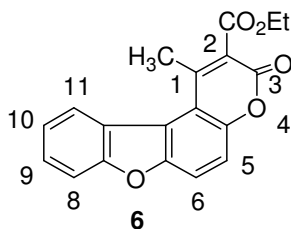
O **4-metil-3-(4'-nitrofenil)-2H-benzofuro[2,3-g]cromeno-2-ona (5)** foi obtido como cristais amarelos (0,040 g; 21 %). **P.f.** > 300 °C (decompõe-se) (AcOEt/CHCl₃). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , EtOH): 336 (4,56). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 1698 (C=O), 1643, 1597, 1569, 1517, 1345, 1331, 1143, 983, 856, 768. **RMN** ¹H (acetona-d₆), δ : 8,43 (2H, d, $J = 8,7$ Hz, 3'-H e 5'-H); 8,32 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, 10-H); 8,21 (2H, s, 5-H e 11-H); 7,80 (2H, d, $J = 8,7$ Hz, 2'-H e 6'-H); 7,77 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, 7-H); 2,56 (3H, s, CH₃); 7,71 (1H, dt, $J = 7,8$ e 1,0 Hz, 8-H); 7,54 (1H, dt, $J = 7,8$, 1,0 Hz, 9-H). **RMN** ¹³C, δ : 157,95; 152,65; 148,99; 147,66; 141,41; 131,47 (2C; 3'-CH e 5'-CH); 129,41 (CH); 128,20; 125,05; 123,67 (2C; 2'-CH e 6'-CH); 123,41 (CH); 123,12; 121,82 (CH); 119,13; 116,32; 112,06 (CH); 108,19 (CH); 106,97 (CH); 17,14 (CH₃); não é possível definir a posição exacta do sinal de um dos átomos com maior desvio químico, provavelmente o C=O, devido à fraca solubilidade do composto. **EM**, m/z (int. rel.): 372 (25, [M+1]⁺), 371 (100, [M]⁺), 343 (21), 297 (8), 268 (9), 239 (7), 221 (4). **EM-AR**, M^+ : 371,0797 (M^+ ; (C₂₂H₁₃O₅) calculado: 371,0794).



b) A partir da cetona **3c**

Adicionaram-se, a uma solução da cetona 2-hidroxi-2-benzofuran-1-ílica e metílica (**3c**) (0,094 g; 0,42 mmol), dissolvida em 1,2-diclorobenzeno (1,2 cm³), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) (0,24 cm³; 1,6 mmol) e malonato de monoetilo (0,070 g; 0,53 mmol). A mistura foi colocada a 0 °C e então adicionou-se, gota a gota e com agitação, diclorofosfato de fenilo (PhOP(O)Cl₂; 0,11 cm³; 0,74 mmol). Manteve-se a mistura reaccional nestas condições durante 30 min e depois aqueceu-se a 145 °C durante 2 h e 30 min. Após arrefecimento, verteu-se a mistura sobre gelo picado e extraiu-se com diclorometano (3 x 25 cm³). Os extractos combinados foram secos (MgSO₄) e o solvente evaporado a pressão reduzida. O resíduo resultante foi separado por CC (acetato de etilo / éter de petróleo). O primeiro composto eluído foi a cetona de partida (0,029 g; 31 %).

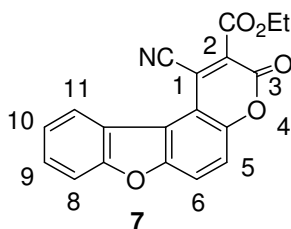
O **1-metil-3-oxo-3H-benzofuro[3,2-f]cromeno-2-carboxilato de etilo (6)**, foi o segundo composto eluído, obtido como um sólido amarelo claro (0,030 g; 22 %). **P.f.**: 151,5-153,0 °C (CHCl₃/hexano). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , EtOH): 332 (4,34). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 1731 (C=O), 1707 (C=O), 1586, 1466, 1438, 1368, 1352, 1300, 1285, 1248, 1233, 1103, 1058, 820, 747. **RMN** ¹H, δ 8,26 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, 11-H); 7,84 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, 5-H ou 6-H); 7,92 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, 8-H); 7,57 (1H, dt, $J = 7,8$ e 1,0 Hz, 9-H); 7,52 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, 6-H ou 5-H); 7,40 (1H, dt, $J = 7,8$ e 1,0 Hz, 10-H); 4,50 (2H, q, $J = 7,1$ Hz, CH₂CH₃); 3,00 (3H, s, CH₃); 1,46 (3H, t, $J = 7,1$ Hz, CH₂CH₃). **RMN** ¹³C, δ : 171,10; 165,04; 157,19; 153,25; 150,61; 150,28; 128,10 (CH); 124,98 (CH); 122,98 (CH); 122,74; 121,80; 120,36; 117,12 (CH); 116,70 (CH); 115,55; 112,47 (CH); 62,22 (CH₂CH₃); 20,99 (Ar-CH₃); 14,14 (CH₂CH₃). **EM**, m/z (int. rel.): 322 (16, M^+), 306 (8), 277 (23), 276 (100), 250 (16), 208 (17), 165 (14). **EM-AR**, M^+ : 322,0825 (M^+ (C₁₉H₁₄O₅) calculado: 322,0841). **AE**, valores obtidos: C = 70,66, H = 4,51 %; valores teóricos para C₁₉H₁₄O₅: C = 70,80, H = 4,38 %.



c) A partir do benzopsoraleno

Dissolveu-se, em DMF (2,0 cm³), o benzopsoraleno 3-oxo-3*H*-benzofuro[3,2-*f*]cromeno-2-carboxilato de etilo (composto **6a** do Cap.II) (0,040 g; 0,13 mmol), adicionou-se cianeto de sódio (0,013 g; 0,26 mmol) e colocou-se a mistura a 45 °C, durante 1 h. Arrefeceu-se até aos 0 °C e adicionou-se uma solução de bromo (0,027 g; 0,17 mmol), em DMF (0,5 cm³), gota a gota e com agitação, ao longo de 2 h. Manteve-se a mistura, à temperatura ambiente e com agitação, durante 24 h. Como tratamento final, adicionou-se água (10 cm³), que fez precipitar o composto final, sendo então este filtrado.

O **1-ciano-3-oxo-3*H*-benzofuro[3,2-*f*]cromeno-2-carboxilato de etilo (7)** foi obtido como cristais amarelo intenso (0,035 mg; 81 %). **P.f.**: 198,5-200,0 °C (etanol). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , EtOH): 368 (4,14); 271 (4,20). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 2233 (CN), 1736 (forte, C=O), 1727 (forte, C=O), 1584, 1555, 1468, 1418, 1368, 1347, 1289, 1245, 1228, 1106, 1066, 1048, 855, 821, 768, 757, 700, 665. **RMN ¹H**, δ : 8,97 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, 11-H); 7,96 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, 5-H ou 6-H); 7,70 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, 8-H); 7,63 (1H, dt, $J = 7,8$ e 1,0 Hz, 9-H); 7,54 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, 6-H ou 5-H); 7,49 (1H, dt, $J = 7,8$, 1,0 Hz, 10-H); 4,59 (2H, q, $J = 7,1$ Hz, CH₂CH₃); 1,51 (3H, t, $J = 7,1$ Hz, CH₂CH₃). **RMN ¹³C**, δ : 161,61; 157,29; 154,87; 151,27; 153,13; 130,36; 129,15 (CH); 126,23 (CH); 123,53 (CH); 122,40; 121,79; 120,23; 118,69 (CH); 116,57 (CH); 115,07; 112,19 (CH); 110,37; 63,75 (CH₂CH₃); 13,90 (CH₂CH₃). **EM**, m/z (int. rel.): 334 (21, [M+1]⁺), 333 (100, M⁺), 305 (32), 304 (67), 288 (44), 277 (40), 261 (17), 233 (28), 204 (36), 175 (9). **EM-AR**: 331,0631 (M⁺ (C₁₉H₁₁NO₅) calculado: 333,0637).



4.2. Análises por HPLC

a) Instrumentos

Os cromatogramas de HPLC foram obtidos utilizando uma bomba *JASCO PU-980*, uma válvula de injeção *RHEODYNE – 7725i* de capacidade 20 μ l, um detector de UV-visível *JASCO UV-975* e um registador/integrador *Shimadzu C-R6A Chromatopac*.

b) Coluna

Optou-se por uma coluna de fase “normal” pois os produtos com mais interesse no estudo (rearranjo orto) têm uma polaridade muito baixa e são pouco solúveis em misturas de água e etanol ou metanol.

A coluna utilizada foi uma *LichroCART*, 250 mm x 4 mm, empacotamento *Lichrospher* (Si 60, 5 μ m) da Merck. A coluna foi previamente activada fazendo lavagens sucessivamente com etanol, etanoato de etilo, triclorometano e hexano. Quando necessário a coluna foi lavada utilizando esta sequência no sentido inverso. Utilizou-se ainda uma pré-coluna (*guard column*) para proteger a coluna principal de contaminantes.

c) Solventes

Os solventes de qualidade PA foram previamente filtrados com filtro de 0,45 μ m (*Millipore*) num sistema da mesma marca. Posteriormente foram desarejados colocando-os 30 minutos sob o efeito de ultrassons.

d) Condições de realização de cada ensaio

Encontrou-se o melhor compromisso de resolução com um fluxo constante de 1,6 cm^3/min e uma fase móvel constituída por uma mistura de etanoato de etilo /hexano numa proporção de 1:4. Utilizou-se um comprimento de onda de detecção fixo de $\lambda = 290$ nm que foi definido, após se ter verificado que todos os compostos previamente isolados absorviam aí e não os solventes (etanoato de etilo: $\lambda_{\text{máx}}$ absorção (UV cut-off)

= 255 nm; hexano: máximo $\lambda_{\text{máx}}$ absorção = 200 nm) (Lindsay, 1992; Gordon, 1972). Utilizou-se no detector um alcance máximo de absorvância de 0,64 AUFs (*Absorvance Units Full Scale*). A velocidade do papel escolhida no registador foi de 3 mm/min. Foi nestas condições que foram traçados todos os cromatogramas.

e) Injecção

Fez-se a injecção, manualmente, utilizando uma válvula de injecção. Neste sistema a amostra é inicialmente transferida, com uma micro-seringa à pressão atmosférica, para um contentor existente nessa válvula. Quando a válvula é virada da posição de carregamento (load) para a de injecção, a amostra fica à pressão da fase móvel e é automaticamente transferida para a coluna (Lindsay, 1992; Robards, 1994).

O volume de injecção foi sempre constante e com valor de 5 μl , injectado com uma micro-seringa de 10 μl Hamilton. Teve-se sempre o cuidado de evitar a existência de bolhas de ar, aquando do enchimento da seringa.

f) Calibração

A conversão dos resultados dos cromatogramas em concentração poderia ter sido feita com o auxílio do registador, mas optou-se por fazer uma calibração externa, obtendo-se, para isso, rectas de calibração com soluções dos compostos puros (padrões) com concentrações da ordem de 10^{-3} a 10^{-5} mol/dm³.

Os padrões foram isolados por CC. Todas as amostras padrão foram preparadas em etanoato de etilo, solvente no qual foi feita a determinação do espectro de UV-visível.

As rectas de calibração foram traçadas com a altura ou a área do pico, em função da concentração. Os resultados da função obtidos através da altura em função da concentração, foram os mais coerentes, como por exemplo, para o composto **3c** cujo pico se encontra em parte sobreposto com o do composto **1**, pelo que para a generalidade dos compostos, esta foi a opção escolhida. A altura dos picos foi medida manualmente (Johnson, 1978) e a área foi obtida directamente através do registador.

Nas Figuras 25 e 26 apresentam-se as rectas obtidas para os compostos das soluções padrão de **2** e **3a**.

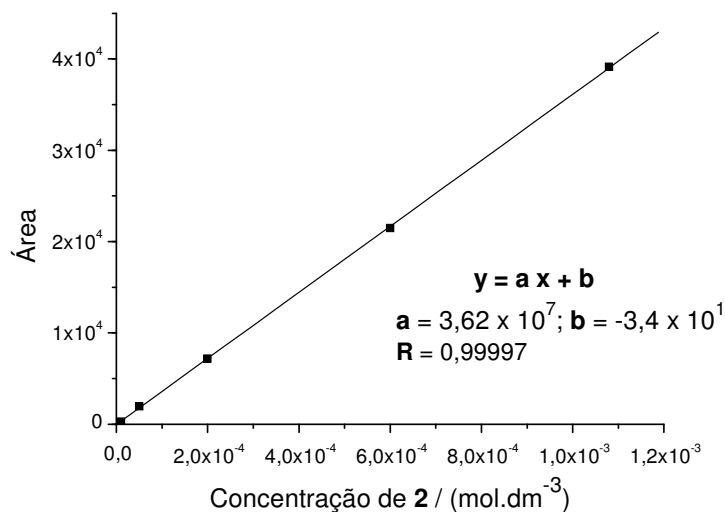


Figura 25 – Gráfico correspondente à calibração externa feita para o produto 2.

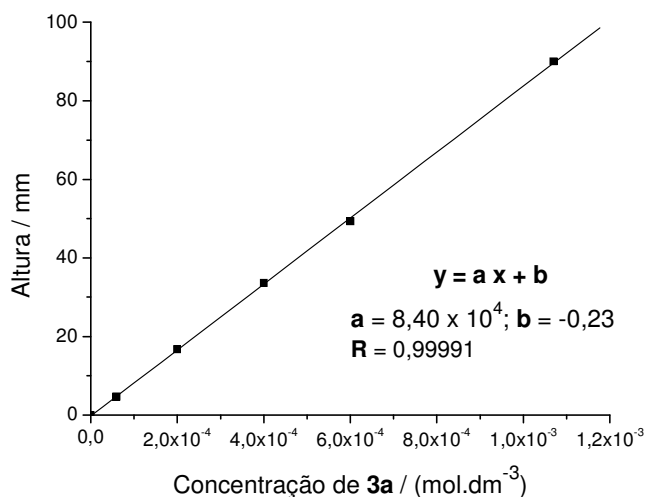


Figura 26 – Gráfico correspondente à calibração externa feita para o produto 3a.

4.3. Cálculos teóricos

Os cálculos de mecânica-quântica foram realizados com métodos semi-empíricos (PM3 e ZINDO/S) ou baseados na teoria do funcional de densidade (Density Functional Theory -DFT). Os métodos referidos foram usados através dos programas de

software HYPERCHEM 5.11 Pro (1999), AMPAC 6.56 PC (1999) e GAUSSIAN 98W (2002), instalados em computadores compatíveis (PC).

A modelação do etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**), foi inicialmente feita utilizando o método PM3 (cálculo com UHF, gradiente 0,1000 kcal/Å mol, algoritmo de optimização Polak-Ribiere) (HYPERCHEM, 1999).

De seguida, foi aplicado o método DFT B3LYP, usando uma função-base Gaussiana (6-31G*), para refinar a estrutura e avaliar a distribuição de carga, no estado fundamental, do ião 2-dibenzofuranolato e do radical 2-dibenzofuranoxilo. Na optimização com o método DFT, foi utilizado o gradiente de Berny. O limite de convergência pedido, na matriz de densidade RMS, foi 1×10^{-8} e os valores limite utilizados para a força e deslocamento máximos foram, respectivamente, 0,000450 e 0,001800 u.a.. Também o espectro electrónico do composto etanoato de dibenzofuran-2-ilo (**2**) foi previsto utilizando cálculos dependentes do tempo com o método de DFT (B3LYP/6-31G*) (GAUSSIAN, 2002).

A coordenada da reacção calculada para a formação do produto **3a** do rearranjo de Fries catalisado e não catalisado, foi obtida usando o método PM3 (AMPAC, 1999). Este método foi também utilizado para estimar os calores padrão ΔH_f^0 para o reagente de partida e para os restantes produtos isolados.

5. Referências

- Anderson, J. C.; Reese, C. B. – The photochemical Fries reaction. *J. Chem Soc.*, (1963) 1781-84.
- Banks, M. R. – Fries rearrangement of some 3-acetoxy- and 3-propionyloxy-thiophenes reaction. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1986) 507-513.
- Bauernschmitt, R.; Ahlrichs, R. – Treatment of electronic excitations within the adiabatic approximation of time dependent density functional theory. *Chem. Phys. Letters*, 256 (1996) 454-464.
- Beck, S. M.; Brus, L. E. – Transient intermediates in the photo-Fries isomerization of phenyl acetate via spontaneous Raman spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, 104 (1982) 1805-1808.
- Blatt, A.H. - The Fries Reaction. *Org. React.*, Vol. I (1942) 342-369.
- Bonesi, S.; Erra-Balsells, R. – Photochemistry of N-acetyl and N-benzoyl carbazoles: photo-Fries rearrangement and induced single electron transfer. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 110:3 (1997) 271-284.

Chorn, T. A.; Giles, R. G. F.; Grenn, I. R.; Hugo, V. I.; Mitchell, P. R. K.; Yorke, S. C. – The acetylation of naphthoquinones. The synthesis of 3-acetyl-5-methoxy- and 3-acetyl-5,7-dimethoxy-1,4-naphthoquinones. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1984) 1339-1343.

Crouse, D. J.; Hurlbut, S. L.; Wheeler, D. M. S. – Photo-Fries rearrangements of 1-naphthyl esters in the synthesis of 2-acylnaphthoquinones. *J. Org. Chem.*, 46 (1981) 374-378.

Cui, C.; Wang, X.; Weiss, R. G. – Investigation of the photo-Fries rearrangements of two 2-naphthyl alkanoates by experiment and theory. Comparison with the acid catalysed reactions. *J. Org. Chem.*, 61 (1996) 1962-1974.

Das, B.; Madhusudhan, P.; Venkataiah, B. – Fries rearrangement of arylsulfonates and sulfonanilides under microwave irradiation. *J. Chem. Research (S)*, (2000) 200-201.

Dawson, I. M.; Hart, L. S.; Littler, J. S. – Aromatic rearrangements in the benzene series. Part 3. Rearrangement of isotopically labeled phenyl benzoates: intermolecularity of the *ortho*-directed rearrangement. Criteria for determining the intra-/inter-molecularity of aromatic rearrangements. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, (1985) 1601-1606.

Dawson, I. M.; Gibson, J. L.; Hart, L. S.; Waddington, C. R. - Aromatic rearrangements in the benzene series. Part 5. The Fries rearrangement of phenyl benzoate: the rearranging species. The effect of tetrabromoaluminate ion on the *ortho/para* ratio: the non-involvement of the proton as a co-catalyst. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, (1989) 2133-2139.

Earll, M. – *Mark Earll's Web Page: LC Calc^(TM) Online. A Handy Calculator for HPLC Computations*, 1999. Acedido em 20 de Maio de 2005, em http://www.raell.demon.co.uk/chem/calcs/LC_calc/index.htm.

Gallastegui, J.; Lago, J. M.; Palomo, C. – Simple one-step route to substituted coumarins. *J. Chem. Research (S)*, (1984) 170-171.

Gilbert, A.; Baggott, J. – *Essentials of molecular photochemistry*. Blackwell Scientific Publications, 1991.

Gilman, H.; Cook, T. H.; Hogg, J. A.; Swiss, J.; Johnson, R. G. – Some 1,2-, 2,3- and 3,4-disubstituted dibenzofurans. *J. Am. Chem. Soc.*, 76 (1954) 5783-5784.

Gilman, H.; Ess, P. R. V. – Dibenzofuran. XI. Substituents in the 1-position. *J. Am. Chem. Soc.*, 61 (1939) 1365-1371.

Gordon, A. J.; Ford, R. A. - *The Chemist's Companion: A Handbook of Practical Data Techniques and References*. John Wiley & Sons, 1972.

Haga, N.; Takayanagi, H. – Mechanisms of the photochemical rearrangement of diphenyl ethers. *J. Org. Chem.*, 61 (1996) 735-745.

Hart, L. S.; Waddington, C. R. – Aromatic Rearrangements in the benzene series. Part 4. Intramolecularity of both *ortho*- and *para*-rearrangements of benzyl phenyl ether as shown by labeling experiments. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, (1985) 1607-1612.

Horne, S.; Rodrigo, R. – A complex induced proximity effect in the anionic Fries rearrangement of *o*-iodophenyl benzoates: synthesis of dihydro-*O*-methylsterigmatocystin and other xanthenes. *J. Org. Chem.*, 55 (1990) 4520-4522.

- Johnson, E. L.; Stevenson, R. - *Basic Liquid Chromatography*. Varian Associates, Inc., 1978, p. 228.
- Kalmus, C. E.; Hercules, D. H. - A mechanistic study of the photo-Fries rearrangement of phenyl acetate. *J. Am. Chem. Soc.*, 96:4 (1974) 449-456.
- Koch, W.; Holthausen, M.C. - *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, 2nd Ed., Wiley-VCH, Fed. Rep. Germany, 2001.
- Lally, J. M.; Spillane, W. J. - The photochemistry of *para*-substituted phenylsulphamates - photo-Fries rearrangements. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.*, (1991) 803-807.
- Leach, A. R. - *Molecular Modelling. Principles and Applications*. 2th Ed. Pearson Education, 2001.
- Lewis, J. R. Paul, J. G. - Oxidative coupling. Part 11, Approaches to the synthesis of bikaverin. *J. Chem. Soc. Perkin I*, (1981) 770-775.
- Lindsay, S. - *High Performance Liquid Chromatography*, 2nd Ed.. John Wiley & Sons Ltd, 1992.
- Lown, J. W.; Sondhi, S. M. - Regiospecific synthesis of redox inactive ring C modified aglycones related to anthracyclines. Application of photo-Fries rearrangement and novel nucleophile-catalyzed rearrangements leading to the xanto[2,3-*g*]tetralin and xanto[2,3-*f*]tetralin systems. *J. Org. Chem.*, 49 (1984) 2844-2856.
- Luo, X.; Naiyun, X.; Cheng, L.; Huang, D. - Synthesis of coumarin dyes containing *N*-alkylsulfonamide groups. *Dyes and Pigments*, 51 (2001) 153-159.
- Meyer, J. W.; Hammond, G. S. - Mechanisms of photochemical reactions in solution. LXX. Photolysis of aryl esters. *J. Am. Chem. Soc.*, 94:7 (1972) 2219-2228.
- Miller, J. A. - The metal-promoted Fries rearrangement. *J. Org. Chem.*, 52 (1987) 322-323.
- Molokov, I. F.; Tsentelovich, Y. P.; Yurkovskaya, A. V.; Sagdeev, R. Z. - Investigation of the photo-Fries rearrangement reactions of 1- and 2-naphthyl acetates. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 110 (1997) 159-165.
- Oliveira, A. M. A. G.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Raposo, M. M. M.; Griffiths, J.; Machado, A. E. H. - Fries Rearrangement of dibenzofuran-2-yl-ethanoate under photochemical and Lewis-acid-catalysed conditions. *Tetrahedron*, 60 (2004) 6145-6154.
- Robards, K.; Haddad, P.R.; Jackson, P. E.; *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*, Academic Press Limited, 1994.
- Sandner, M. R.; Hedaya, E. and Trecker, D. J. - Mechanistic studies of the photo-Fries reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, 90:26 (1968) 7249-7254.
- Sibi, M. P.; Snieckus, V. - The directed *ortho* lithiation of *o*-aryl carbamates. An anionic equivalent of the Fries rearrangement. *J. Org. Chem.*, 48 (1983) 1935-1937.
- Shine, H. J.; Subotkowski, W. - Kinetic (¹⁸O and ¹⁴C) and magnetic (¹³C) isotope effects in the photo-Fries rearrangement of 4-methoxyphenyl acetate. *J. Org. Chem.*, 52 (1987) 3815-3821.
- Sykes, P. - *Guia de Mecanismos da Química Orgânica*. Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 1989.
- Tarbell, D. S.; Petropoulos, J. C. - The action of aluminum bromide on benzyl phenyl ether. *J. Am. Chem. Soc.*, 74 (1952) 244-248.

Turro, N. J. – *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, USA, 1991, p. 542.

Veglia, A. V.; Sánchez, A. M.; Rossi, R. H. – Change of selectivity in the photo-Fries of phenyl acetate induced by β -Cyclodextrin. *J. Org. Chem.*, 55 (1990) 4083-4086.

Vogel, A. I.; *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5th ed. Revised. Eds. Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Smith, P. W. G.; Tatchell, A. R.. Longman Group UK Limited, 1989, p. 1248.

Warshawsky, A.; Kalir, R.; Patchornik, A. – Interpolymeric reactions. The Fries rearrangement of acetoxy and benzyloxy derivatives of 4-hydroxy-3-nitrobenzylated polystyrene and 5-polystyrylmethyl-8-quinolinol. *J. Am. Chem. Soc.*, 100:14 (1978) 4544-4550.

6. Aplicações lógicas (Software)

AMPAC Version 6.56. Semichem, Inc., USA, 1999.

GAUSSIAN 98, Revision A.11.4. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Zakrzewski, V. G.; Montgomery Jr., J. A.; Stratmann, R. E.; Burant, J. C.; Dapprich, S.; Millam, J. M.; Daniels, A. D.; Kudin, K. N.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Tomasi, J.; Barone, V.; Cossi, M.; Cammi, R.; Mennucci, B.; Pomelli, C.; Adamo, C.; Clifford, S.; Ochterski, J.; Petersson, G. A.; Ayala, P. Y.; Cui, Q.; Morokuma, K.; Rega, N.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Cioslowski, J.; Ortiz, J. V.; Baboul, A. G.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Gomperts, R.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Andres, J. L.; Gonzalez, C.; Head-Gordon, M.; Replogle, E. S. and Pople, J. A.. Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2002.

HYPERCHEM 5.11 Pro Computational Chemistry. Hypercube, USA, 1999.

CAPÍTULO IV

Síntese de Derivados de Piranoxantonas e de Piranocarbazoles

1. Contextualização

1.1. Objectivo deste estudo

O presente estudo teve como objectivo a síntese de derivados de piranoxantenonas e de piranocarbazoles, mais propriamente carboxilatos de etilo (ésteres).

Os estudos realizados por diversos autores com estruturas análogas às dos psoralenos (ver Cap. I), a síntese de novos análogos dos psoralenos (ver Cap. II e III) e o conhecimento de que existem xanten-9-onas e carbazoles com propriedades biológicas e fotofísicas reconhecidas, serviram de base para que se julgasse interessante a síntese de outros compostos tetracíclicos similares aos que foram descritos no Capítulo II, mas com um núcleo de xanten-9-ona ou de carbazole. Assim, descreve-se, neste capítulo, a síntese de análogos de benzopsoralenos, com modificações ao nível do anel do furano.

1.2. Xanten-9-onas e carbazoles: estruturas e ocorrência natural

A xanten-9-ona é usualmente conhecida como xantona cuja estrutura, representada por **1**, é derivada do hidrocarboneto policíclico *9H*-xanteno (**2**). A numeração dos átomos da sua estrutura, apresentada na Figura 1, é uma excepção à numeração sistemática.

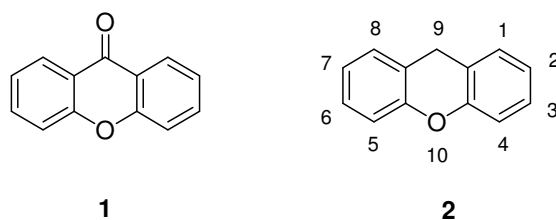


Figura 1 – Estruturas da xanten-9-ona (**1**) e do *9H*-xanteno (**2**) e numeração sistemática dos átomos.

Os carbazoles são normalmente conhecidos pelo seu isómero *9H*-carbazole (**3**). Tal como acontece com o xanteno, também a numeração dos átomos do composto é uma excepção à numeração sistemática (Figura 2).

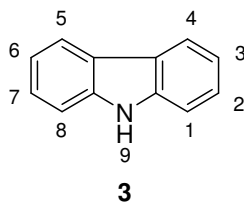


Figura 2 – Estrutura e numeração dos átomos do *9H*-carbazole.

Quer o *9H*-xanteno, quer o *9H*-carbazole são os isómeros mais comuns, e são, muitas vezes, referidos sem o “hidrogénio indicado”, *9H*, o que é aceite pela IUPAC, (Moss, 1998). O mesmo procedimento será seguido nesta tese. Também aqui será utilizado o nome genérico de xantona, em vez de xanten-9-ona, em compostos tetracíclicos, para facilitar a compreensão do texto.

A maioria das xanten-9-onas ocorre em apenas duas famílias de plantas superiores (Guttiferae e Gentianaceae) (Bennett, 1989; Fernandes, 1996; Sandulache, 2001). Alguns exemplos simples são a 2-metoxixanten-9-ona e a 3-hidroxixanten-9-ona, isoladas de várias espécies da família Guttiferae ou, mais complexos, as xantonas tetracíclicas, como a piranoxantona **4**, também conhecida como hiperxantona, por ser extraída de uma planta do género *Hypericum* e a furanoxantona **5**, isoladas de espécies da mesma família Guttiferae (Figura 3) (Bennett, 1989; Finnegan, 1972; Inuma, 1996).

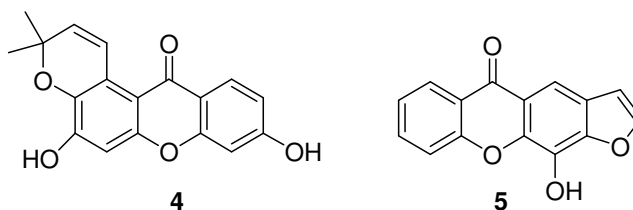


Figura 3 - Estruturas de alguns derivados de xanten-9-onas que ocorrem na Natureza.

Os carbazoles ocorrem na Natureza, de uma forma muito mais restrita do que as xanten-9-onas, como por exemplo na planta *Murraya koenigii* Spreng que pertence à família Rutaceae (Chowdhury, 1987; Sekar, 1994). Os compostos isolados são muitas vezes referidos como alcalóides de carbazole, devido às suas propriedades básicas provocadas pela existência do núcleo de pirrole. Alguns dos derivados que ocorrem naturalmente são os alcalóides conhecidos como piridocarbazoles, por exemplo, a

elipticina **6** (Garbett, 2004; Hewlins, 1981) e o indolocarbazole, conhecido como rebecamicina (**7**) (Marques, 2001) (Figura 4).

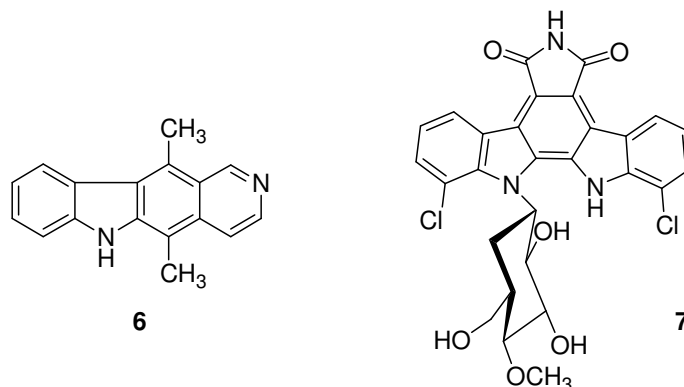


Figura 4 – Estruturas de carbazoles que ocorrem na Natureza.

1.3. Propriedades biológicas e/ou fotofísicas de derivados das xanten-9-onas e dos carbazoles

Os derivados das xanten-9-onas são conhecidos, entre outras, pelas suas propriedades anti-tumorais, anti-inflamatórias, anti-trombóticas, anti-fúngicas, anti-alérgicas e pelos seus efeitos neurofarmacológicos (Fernandes, 1996; Ghirtis, 2000; Sandulache, 2001; Saraiva, 2002).

Algumas oxopiranoxantonas foram já sintetizados, contudo sem incluírem o grupo CO₂Et (Davies, 1958a; Kondedeshmukh, 1994; Patolia, 1983), mas não se encontraram referências de estudos das suas propriedades biológicas.

Alguns derivados de carbazoles mostraram já ter importantes propriedades biológicas como actividade antimicrobiana, ou outras relacionadas com o combate à pneumonia, associada, muitas vezes, à SIDA (anti-PCP – anti-*Pneumocystis carinii* pneumonia) (Patrick, 1997). Os piridocarbazoles, *e.g.*, a elipticina e a olivacina revelaram ter propriedades anti-tumorais (Garbett, 2004; Hewlins, 1981; Murakami, 1983; Patel, 1985, Oliveira-Campos, 1982; Raposo, 1996). Outros derivados, como os indolocarbazoles são biologicamente activos, apresentando propriedades antibióticas, antifúngicas, antimicrobianas, antitumorais e hipotensivas (Marques, 2001).

Na literatura podem encontrar-se, também, compostos com o núcleo de carbazole que revelaram propriedades fotofísicas interessantes, por exemplo, compostos fotossensibilizadores (Park, 1998), fotorrefractivos (Zhang, 1997) ou fotocromicos (Oliveira, 2001).

2. Apresentação e discussão dos resultados

2.1 Síntese de derivados de piranoxantonas

A síntese de derivados de piranoxantenonas foi realizada a partir de metoxixanten-9-onas ou hidroxixanten-9-onas, obtidas por métodos já conhecidos (Coelho, 2001; Davies, 1958b; Fernandes, 1996; Hepworth, 1996; Quillinan, 1973; Sandulache, 2001; Ullmann, 1905).

A metodologia seguida foi a mesma que se utilizou para a síntese dos benzopsoralenos (ver Cap. II): a síntese de aldeídos aromáticos com um grupo hidroxilo em posição *orto*, por vários métodos de formilação, e posterior condensação de Knoevenagel e fecho do anel, originando os compostos com um anel de piranona fundido.

2.1.1. Síntese de piranoxantonas via formilação de hidroxixanten-9-onas

a) Formilação de Duff

Para obter os aldeídos necessários, uma das vias de formilação utilizada foi a formilação de Duff com hexametenotetramina (HMTA) e ácido acético (Blazevic, 1979; Davies, 1958a), tendo a reacção sido testada em todas as hidroxixanten-9-onas **8** (Figura 5).

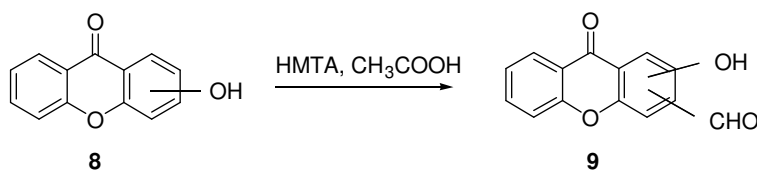


Figura 5 - Esquema da formilação de Duff.

Foi sempre obtido apenas um produto final (reação regioespecífica), mesmo no caso em que a substituição electrofílica poderia ocorrer em qualquer das posições *ortho* ao grupo hidroxilo (Figura 6).

O rendimento obtido foi satisfatório, no que toca aos aldeídos **9b** e **9c** (Figura 6), sendo semelhante ao referido na literatura, para o composto **9c** e mesmo superior ao descrito, para o composto **9b** (34 % para ambos, segundo Puranik e Rajagopal (1963) e Davies *et al.* (1958a), respectivamente).

No entanto, o rendimento das reacções nas quais se obtiveram os produtos **9a** e **9d** foi baixo e o isolamento dos produtos difícil, sendo, possivelmente, esta a razão pela qual ainda não estão descritos na literatura. Atribui-se tais factos a reacções secundárias já que a quantidade de produto de partida recuperado foi sempre reduzida.

Composto	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	η (%)
9a	OH	CHO	H	H	13
9b	CHO	OH	H	H	56
9c	H	H	OH	CHO	32
9d	H	H	CHO	OH	17

Figura 6 - Resultados da formilação de Duff de hidroxixanten-9-onas.

O mecanismo da formilação de Duff ainda não está bem esclarecido. Porém, alguns autores propuseram a ocorrência de uma aminometilação, por reacção entre o fenol e a HMTA, formando uma amina secundária. Esta sofre, de seguida, a reacção de Sommelet, ou seja oxidação do grupo CH₂ da amina, por intermédio de outra molécula de HMTA, originando o aldeído e uma amina (Angyal, 1954; Blazevic, 1979). Este mecanismo foi confirmado pelo estudo de uma variação da reacção de Duff, com ácido trifluoroacético (CF₃COOH) (Smith, 1972). Supõe-se que o mesmo mecanismo pode ser transposto, por exemplo, para a 3-hidroxixanten-9-ona, tal como se mostra na Figura 7.

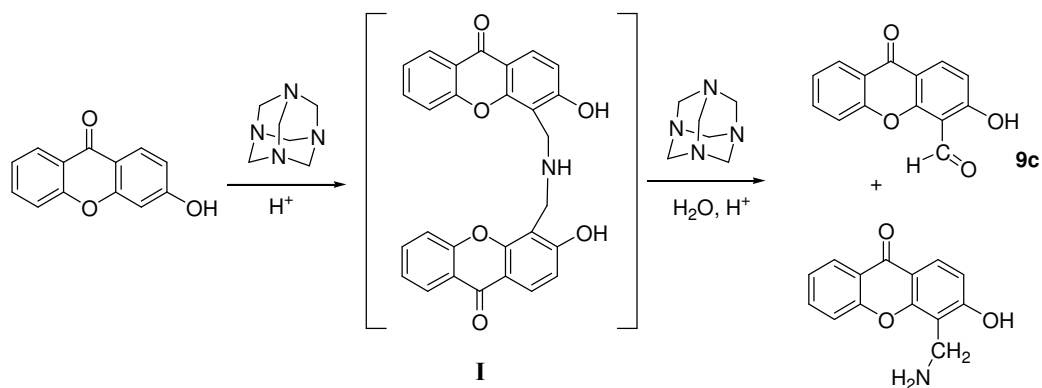


Figura 7 – Esquema da formilação de Duff, da 3-hidroxixanten-9-ona para obter o aldeído **9c**, via a possível formação da amina secundária **I**.

b) Formilação de Reimer-Tiemann

Para tentar melhorar os rendimentos de formilação, essencialmente os das reacções iniciadas com a 1- ou a 4-hidroxixanten-9-ona, realizou-se a formilação de Reimer-Tiemann em meio aquoso (CHCl_3 / NaHO) (ver Cap. II). A partir da 1-hidroxixanten-9-ona obteve-se o aldeído **9a** mas o rendimento foi ainda mais baixo (6 %).

c) Formilação via litiação de carbamatos

Na tentativa de formular a posição 3 da 2-hidroxixanten-9-ona, assim como de melhorar os rendimentos da formilação em outras posições, realizou-se a reacção de formilação *via* litiação de carbamatos, seguindo a metodologia apresentada por Snieckus (ver Cap. II).

Os carbamatos **10a** e **10b** foram sintetizados através da reacção entre as 2 e 3-hidroxixanten-9-onas e o cloreto de *N,N*-dietilcarbamoilo (Figuras 8 e 9).

De seguida, utilizaram-se diferentes bases de alquil-lítio, (*sec*-BuLi e BuLi) para desprotonar a posição *orto* ao grupo carbamato. Apenas a 2-hidroxixanten-2-ona sofreu formilação na posição 3, com *sec*-BuLi e tratamento com dimetilformamida (DMF) (Figuras 8 e 9).

Contudo, a formilação da 2-hidroxixanten-9-ona não se mostrou reprodutível. Apesar de ter sido repetida diversas vezes, em condições análogas, apenas ocorreu uma vez, formando-se o aldeído **9e** (com um rendimento muito baixo), sendo o produto final difícil de isolar.

De notar a diferença entre esta reacção e a que se realizou com o dibenzofuran-2-ol (ver Cap.II). Na reacção com o dibenzofuran-2-ol ocorreu a substituição nas duas posições *orto* enquanto que na formilação da 2-hidroxixanten-9-ona esta ocorreu só numa das posições e apenas numa das tentativas. A explicação para este facto deve estar relacionada com a desactivação do anel de benzeno pelo grupo C=O da xanten-9-ona.

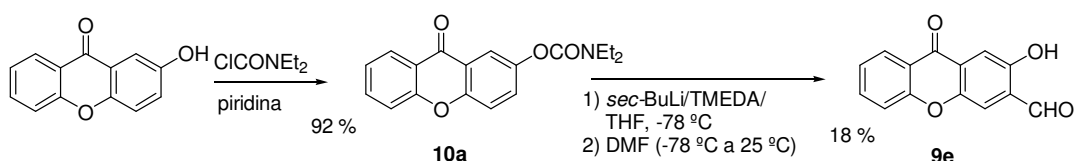


Figura 8 – Formilação da 2-hidroxixanten-9-ona, *via* litação do carbamato **10a**.

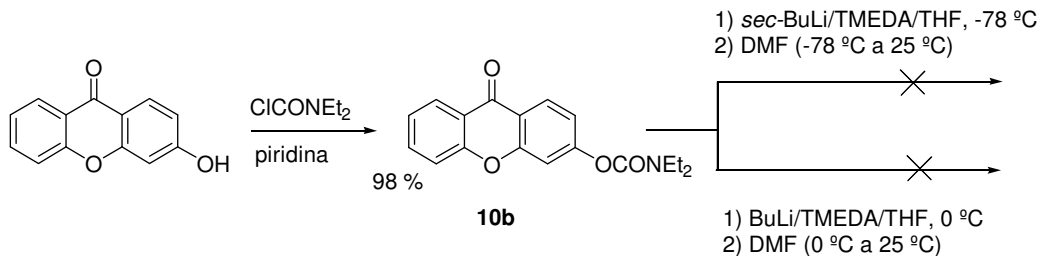


Figura 9 – Tentativas de formilação da 3-hidroxixanten-9-ona.

d) Formação do anel de piranona

Os compostos finais foram obtidos a partir dos aldeídos **9b**, **9c** e **9e**, por condensação de Knoevenagel e fecho do anel, com malonato de dietilo, piperidina e CH₃COOH, em etanol (ver Cap. II). Sintetizaram-se, assim os compostos **11a**, **11b** e **11c**, com rendimentos de 50, 55 e 63 %, respectivamente (Figura 10).

Não foram isolados os compostos finais a partir de **9a** e **9d** por estes terem sido obtidos, em forma impura e com baixos rendimentos. O composto final **11c**, apenas foi

sintetizado uma vez (a reação não foi reprodutível, ver alínea c, deste ponto) e em quantidade insuficiente para que fossem analisadas as suas propriedades fotofísicas, fotoquímicas e biológicas.

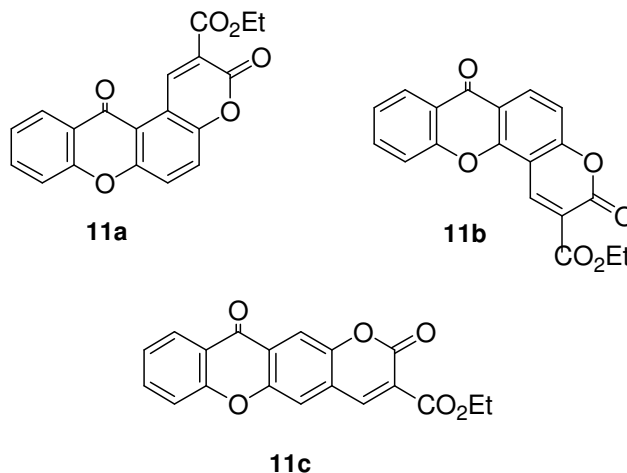


Figura 10 – Estruturas dos compostos derivados de piranoxantonas, **11a-c**.

Com a intenção de se obterem melhores rendimentos e, à luz do trabalho realizado anteriormente (ver Cap. III), foram também sintetizados os compostos finais **11a** e **11b**, realizando a condensação e fecho do anel com malonato de mono-etilo ($\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$), diclorofosfato de fenilo ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OP}(\text{O})\text{Cl}_2$) e trietilamina, em 1,2-dicloroetano (ver Cap. III). Com esta variante, os rendimentos foram inferiores aos obtidos anteriormente: 31 e 41 %, respectivamente, para **11a** e **11b**.

2.1.2. Síntese de derivados de piranoxantonas via xantenos

a) Redução de xanten-9-onas

Com vista a formular, mais facilmente, outras posições das xanten-9-onas realizou-se a sua redução a xantenos, utilizando o tetra-hidroaluminato de lítio, $\text{Li}[\text{AlH}_4]$, em éter dietílico seco, refluxo e, posteriormente, hidrólise do complexo formado (Mustafa, 1957; Pillai, 1986). Obtiveram-se, a partir da 2-metoxixanten-9-ona e da 3-metoxixanten-9-ona, o 2-metoxixanteno (**12a**) e o 3-metoxixanteno (**12b**), respectivamente.

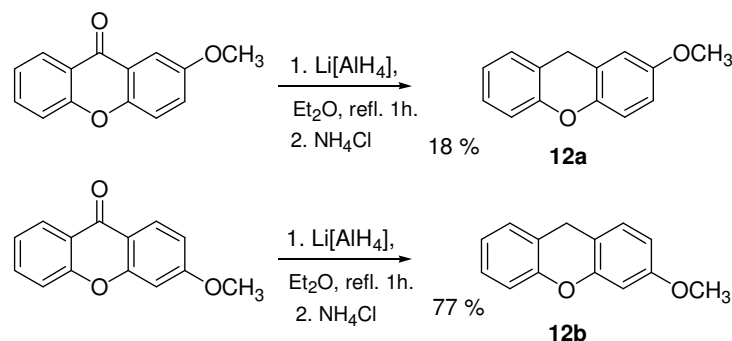


Figura 11 – Redução de xanten-9-onas.

O tetra-hidroaluminato de lítio tem a vantagem de não reduzir ligações duplas ou triplas carbono-carbono, mas reage facilmente com a água e álcoois (March, 1992), pelo que foi essencial a utilização de atmosfera inerte e solventes secos. Ainda assim, o rendimento da formação de **12a** foi bastante baixo, relativamente ao de **12b**. Está referido (Mustafa, 1957) que altas temperaturas e tempos de reacção mais longos parecem produzir rendimentos quase quantitativos pelo que as reduções realizadas poderiam ser, aparentemente, facilmente optimizadas. No entanto, Mustafa e Hishmat (1957) referiram, também, que a redução ocorre mais facilmente em cetonas aromáticas que contenham um grupo amino ou metoxilo em posições *orto* ou *para* em relação ao grupo carbonilo, o que foi realmente verificado neste trabalho.

b) Formilação de Vilsmeier de xantenos e desmetilação

Com o objectivo de sintetizar aldeídos aromáticos com um grupo hidroxilo em posição *orto*, experimentou-se a formilação de Vilsmeier, também chamada de Vilsmeier-Haack, dos metoxixantenos sintetizados, seguida de desmetilação.

Este método de formilação é dos mais comuns para a formilação de anéis aromáticos, desde que estes estejam activados. Utiliza um cloreto ácido ($POCl_3$, $COCl_2$, etc) e uma formamida *N,N*-dissubstituída (dimetilformamida, *N*-metilformanilida, etc) que formam o chamado reagente de Vilsmeier que ataca a espécie a formilar. Desde 1927, ano em que foi descrita esta reacção por Vilsmeier e Haack, várias alternativas têm sido propostas no que toca ao ácido, à amida e às condições da reacção (solvente e temperatura), usadas inicialmente (Jones, 1997; Marson, 1994). Recentemente, foram divulgados estudos desta reacção que se revelaram prometedores, usando radiação

microondas, com vista a evitar os problemas ambientais devidos à utilização dos ácidos e a melhorar os tempos da reacção (Dinakaran, 2000; Paul, 2000).

Neste trabalho, testou-se a reacção dos metoxixantenos com os reagentes mais comuns. A formilação do 2-metoxixanteno (**12a**) não ocorreu, utilizando POCl_3 e dimetilformamida (DMF) ou utilizando POCl_3 e *N*-metilformanilida (*N*-MFA) (Figura 12).

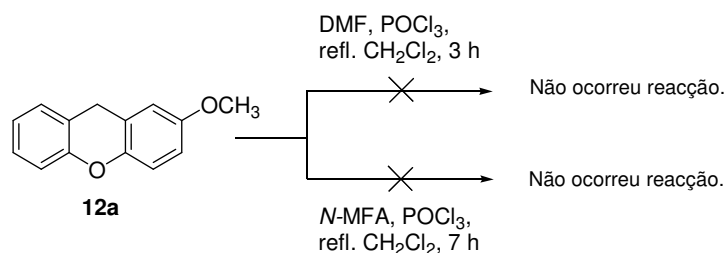


Figura 12 – Tentativas de formilação do 2-metoxixanteno (**12a**).

Porém, o 3-metoxixanteno (**12b**) foi formilado com POCl_3 e *N*-MFA, em CH_2Cl_2 , com 31 % de rendimento. Em 1,2-diclorobenzeno e com os mesmos reagentes o rendimento foi de 21 %. A formilação, com POCl_3 e DMF, não foi bem sucedida (Figura 13).

De seguida, o formilxanteno **13** foi desmetilado com tribrometo de boro (ver Cap. II) com um rendimento quantitativo, resultando o 3-hidroxixanteno-2-carbaldeído (**14**) (Figura 13). De notar que ao fim de 35 dias o produto **14** apresentava já, em cromatografia em camada fina, duas manchas, uma das quais na origem que foi isolada por cromatografia. Depois de feito espectro de RMN de ^1H , o resultado apontou para que o produto extraído fosse a xantona correspondente (3-hidroxi-9-oxoxanteno-2-carbaldeído).

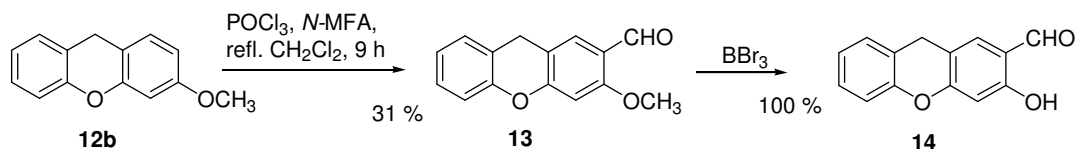


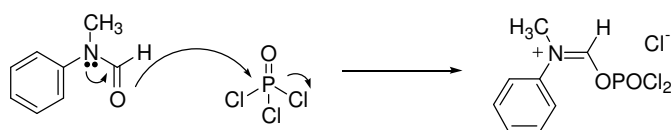
Figura 13 – Formilação, seguida de desmetilação do 3-metoxixanteno (**12b**).

Os resultados obtidos, confirmam que, apesar deste método de formilação ser muito conhecido e útil, apenas resulta em compostos suficientemente activados. De

facto, o composto **12b** está activado nas posições 2 e 4 pelos dois grupos com oxigénio, enquanto que o **12a** está activado nas posições 1 e 3 pelo grupo metoxilo, mas não pelo oxigénio do pirano, pelo que não foi possível a formilação deste.

O mecanismo desta reacção é bem conhecido. Pode-se considerar que a reacção ocorre em 2 passos distintos, iniciando-se pela formação do já referido reagente de Vilsmeier, um cloreto de imínio, neste caso entre a *N*-MFA e o POCl_3 (Figura 14, Esquema 1). Este sal é um electrófilo relativamente fraco, razão pela qual são necessários anéis activados. Depois ocorre a substituição electrofílica e a hidrólise, obtendo-se assim o aldeído **13** (Figura 14, Esquema 2).

Esquema 1



Esquema 2

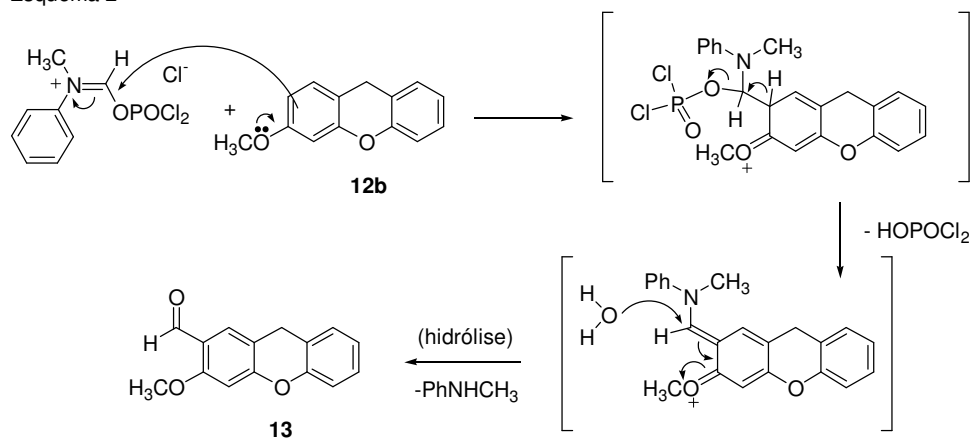


Figura 14 - Mecanismo da formilação de Vilsmeier-Haack do 3-metoxixanteno (**12b**), segundo dois passos: formação do reagente de Vilsmeier (Esquema 1) e substituição electrofílica seguida de hidrólise (Esquema 2).

c) Síntese do derivado da piranoxantona

Para realizar a anelação final fez-se a condensação de Knoevenagel e fecho do anel, tal como descrito para os aldeídos **9**, entre o xanteno **14** e o malonato de dietilo, obtendo-se o composto **15** com um rendimento de 73 % (Figura 15).

Para obter a piranoxantona final foi necessário efectuar a oxidação do piranoxanteno **15**. Existem vários métodos referidos na literatura para a oxidação de xantenos, com rendimentos elevados, por exemplo, com ozono (Matsui, 1984), com oxigénio e quantidades catalíticas de *N*-hidroxinaftalimida (Ishii, 1995) ou KMnO_4 sobre Al_2O_3 (Zhao, 1994). Experimentou-se a oxidação prévia do xanteno **13**, com KMnO_4 sobre Al_2O_3 , mas a reacção não foi bem sucedida. Utilizou-se então outro método já descrito para piranoxantenos (Coelho, 2001; Pillai, 1986) no qual o agente oxidante é CrO_3 , óxido de crómio (VI), em piridina. Assim, foi possível obter a piranoxantona linear **16**, com bom rendimento (Figura 15).

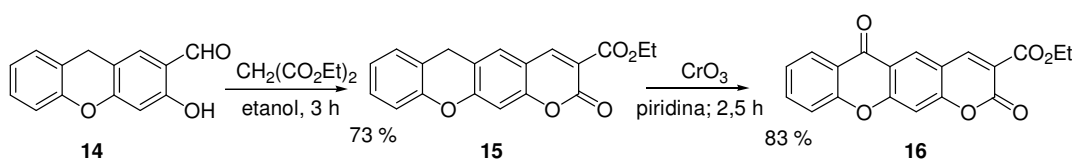


Figura 15 – Condensação do aldeído **14** com malonato de dietilo e oxidação do piranoxanteno **15**.

Verificou-se que os xantenos obtidos são bastante instáveis decompondo-se facilmente, pela acção da temperatura ou da luz. Este facto é acentuado quando os produtos não têm um grau de pureza elevado. Um dos produtos provenientes da sua decomposição é, certamente, o resultante da oxidação a xanten-9-ona como já foi referido em relação ao 3-hidroxixanteno-2-carbaldeído. Também esse facto foi confirmado através de um dos espectros de massa do piranoxanteno **15** que, por ter sido realizado bastante tempo após a síntese do composto, e não ter sido mantido em atmosfera inerte, apresentou dois picos correspondentes a massas elevadas: um correspondente à piranoxantona **16** ($m/z = 336$) e outro ao piranoxanteno **15** ($m/z = 322$).

2.2. Síntese de derivados de piranocarbazoles

A síntese dos derivados de piranocarbazoles foi efectuada apenas a partir do carbazol-2-ol, um composto obtido comercialmente. A estratégia de síntese foi análoga à que se seguiu anteriormente: a síntese de aldeídos aromáticos substituídos em posição *orto* pelo grupo hidroxilo e a condensação com malonato de dietilo.

2.2.1. Formação do carbazol-2-ol

O estudo da formação de Vilsmeier de carbazoles tem sido bastante descrito na literatura, por exemplo de tetra-hidrocarbazoles, do carbazol-1-ol e de *N*-metilcarbazoles (Das, 1999; Jones, 1997; Marson, 1994; Murakami, 1983 e 1988; Patel, 1985; Queiroz, 1993).

A formação do carbazol-2-ol foi realizada, segundo a reação de Vilsmeier (POCl_3 , *N*-MFA), na posição 3, por Joshi e Rane (1968) com um rendimento de 30 % e mais tarde por Joshi *et al.* (1969), nas posições 1 e 3. Nesta referência, é indicada a obtenção dos dois isômeros (2-hidroxicarbazol-1-carbaldeído e 3-carbaldeído), a partir da mesma reação com rendimentos de 9 % e 26 %, respectivamente.

Resolveu-se então estudar a formação do carbazol-2-ol, segundo os métodos de Reimer-Tiemann e de metalação de carbamatos, seguida de reação com DMF, já discutidas anteriormente (ver Cap. II), com vista a melhorar o rendimento dessa formação e obter, possivelmente, o isômero formado na posição 1.

Na formação de Reimer-Tiemann, em meio aquoso, obteve-se, exclusivamente, o 2-hidroxicarbazol-1-carbaldeído (**17a**), com um rendimento de 20 %, após purificação por cromatografia em coluna (Figura 16).

Através do segundo método de formação, fez-se a síntese do carbamato **18**, com um rendimento de 92 % e, depois, por litiação (*sec*-BuLi/TMEDA) seguida de reação com DMF, obteve-se, exclusivamente o 2-hidroxicarbazol-3-carbaldeído (**17b**), com um rendimento de 32 %, após purificação por cromatografia em coluna (Figura 16).

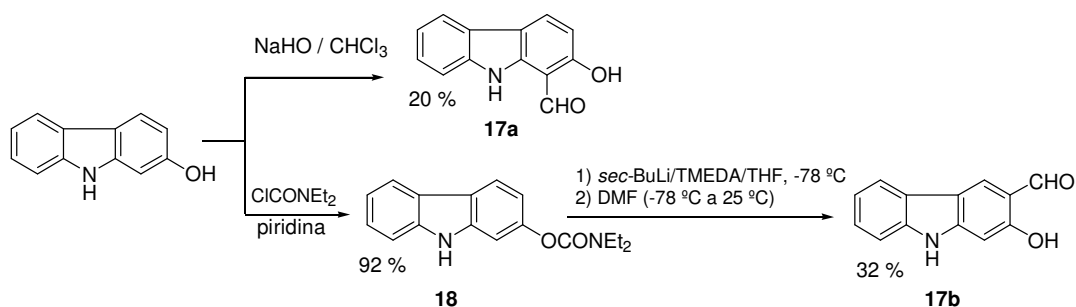


Figura 16 – Formação do carbazol-2-ol, segundo Reimer-Tiemann e *via* litiação.

2.2.2. Formação do anel de piranona

A síntese do anel de piranona, foi realizada como se descreveu, anteriormente, para as xantonas, ou seja *via* condensação de Knoevenagel, tendo sido, contudo, necessário a separação dos produtos finais por cromatografia. Os piranocarbazoles foram obtidos com um rendimento de 68 % para o piranocarbazole angular (**19a**) e de 20 % para o piranocarbazole linear (**19b**) (Figura 17). Os dois produtos finais revelaram-se instáveis, aparentemente, na presença de luz, de solvente ou quando em contacto com sílica ou ar. Tal verificou-se experimentalmente pelo aparecimento de sinais que não pertenciam ao composto no espectro de RMN de ^1H e pela alteração da cor dos compostos de amarelo para esverdeado, no processo de isolamento.

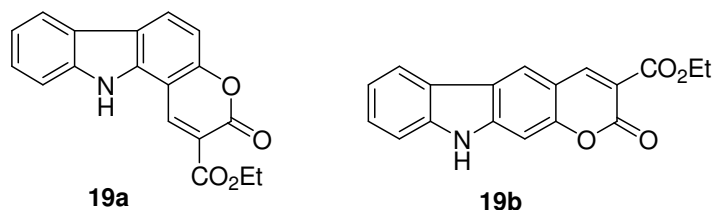


Figura 17 – Estruturas dos derivados de piranocarbazole angular (**19a**) e linear (**19b**).

2.3. Caracterização estrutural dos compostos sintetizados

2.3.1. Caracterização genérica dos compostos sintetizados

Os compostos finais sintetizados foram caracterizados por espectroscopia de RMN, IV e UV, por espectrometria de massa e pelo seu ponto de fusão. A análise elementar também foi realizada para alguns dos produtos finais; nos outros casos apenas a composição elementar do ião molecular foi obtida por espectrometria de massa de alta resolução.

Os restantes compostos, especialmente aqueles já referidos anteriormente na literatura foram, em geral, caracterizados apenas por espectroscopia de RMN, IV e pelo seu ponto de fusão.

Os carbaldeídos com um núcleo de xanten-9-ona (**9a-e**) de xanteno (**14**) e de carbazole (**17a-b**) e os carbamatos (**10a-b** e **18**) apresentam características análogas às já referidas para os dibenzofuranos (ver Cap. II).

De realçar que, em geral, o H aromático mais desprotegido das xanten-9-onas (H-8, d largo, $\delta \sim 8,3$ ppm) apresenta desvios químicos mais altos do que o H aromático mais desprotegido dos dibenzofuranos (H-9, d largo, $\delta \sim 8,0$ ppm), o que está de acordo com a proximidade do grupo C=O da xanten-9-ona.

Quanto aos xantenos (**12-15**), estes são perfeitamente distinguíveis das xanten-9-onas, por RMN de protão, devido ao aparecimento de um sinal correspondente ao CH₂ a cerca de 4,0 ppm, o que está de acordo com a literatura (Brodgen, 1984).

Na caracterização e identificação dos carbazoles (**17-19**) foi sempre tido em conta o aparecimento do sinal correspondente ao grupo NH, que por espectroscopia de infravermelho aparecia como uma banda estreita por volta dos 3300-3400 cm⁻¹. Em RMN de ¹H, o singuleto correspondente ao protão do grupo amino aparece em posições variáveis. Assumiu-se que o seu desvio químico é inferior ao do protão do grupo OH, nos aldeídos aromáticos, com este grupo em posição *orto*, já que o oxigénio é mais electronegativo e as ligações de hidrogénio por formação de um quelato com o grupo CHO desprotegem mais o protão do grupo OH.

2.3.2. Espectroscopia de RMN mono e bidimensional dos derivados de piranoxantonas e de piranocarbazoles

Os compostos finais foram também caracterizados por RMN de ¹H e por RMN de ¹³C desacoplado. Foram ainda traçados os espectros bidimensionais utilizando as técnicas HMQC e HMBC, de correlação heteronuclear H-C. A baixa solubilidade dos compostos finais dificultou a obtenção dos espectros de RMN de ¹³C e dos espectros bidimensionais referidos. Por esta razão, não foi possível obter o espectro completo do composto linear **16**. A título de exemplo, apresentam-se os espectros da piranoxantona angular **11b** e do piranocarbazole linear **19b**.

a) piranoxantona

Este composto, cuja numeração dos átomos é atribuída considerando uma rotação da estrutura de forma a que o anel de piranona se encontre no quadrante superior direito (Figura 18), apresenta um espectro de RMN de próton (CDCl_3) típico, na zona aromática:

- H-1 (singuleto, a 9,21 ppm);
- H-6 e H-5 (dupletos, a 8,59 e 7,36 ppm);
- H-8 e H-11 (1 duplo duplete e 1 duplete largo, a 8,39 e 7,67 ppm);
- H-10 e H-9 (duplos dupletos de dupletos, a 7,84 e 7,51 ppm);
- CH_2 (quarteto, a 4,50 ppm);
- CH_3 (triplete, a 1,48 ppm).

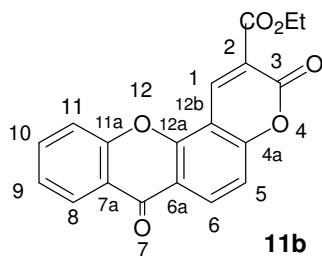


Figura 18 – Estrutura e numeração sistemática dos átomos do derivado de piranoxantona **11b**.

Depois de definidos quais os desvios químicos de cada próton, o espectro de HMQC deste composto permitiu atribuir os sinais correspondentes aos átomos de carbono aromáticos terciários (Figura 19) e os sinais de CH_2 e CH_3 (que não se apresentam na figura).

A atribuição dos restantes sinais, correspondentes aos átomos de carbono aromáticos, foi feita por HMBC, sendo apresentados os espectros correspondentes a expansões da zona aromática (Figuras 20 e 21).

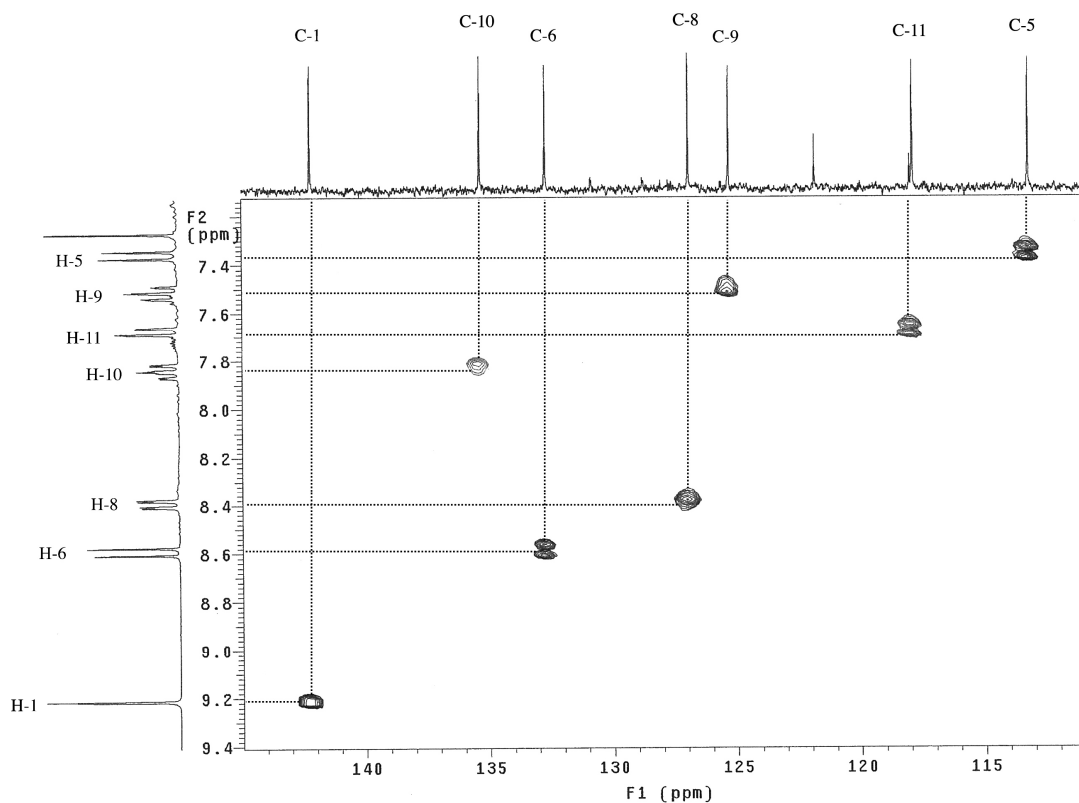


Figura 19 - Espectro de HMQC (CDCl_3) do composto **11b**, na zona aromática.

Por exemplo, segundo o espectro mostrado na Figura 20, foi possível atribuir o sinal correspondente ao carbono C-7 por este estar correlacionado a três ligações com H-6 e H-8. O seu desvio químico elevado está de acordo com o facto de ser um grupo cetona, $\text{C}=\text{O}$. Também, na mesma figura pode verificar-se que o átomo de carbono da ligação $\text{C}=\text{O}$ do éster (CO_2Et) foi identificado por estar correlacionado com H-1. Este facto foi confirmado por observação do espectro completo que mostrou que esse carbono também está correlacionado com os hidrogénios do grupo CH_2 .

Na expansão abaixo dos 150 ppm (Figura 21), é possível atribuir o sinal correspondente a C-7a devido à sua correlação com H-9 e H-11. Os sinais correspondentes aos átomos de carbono C-12b e C-2 estão demasiado sobrepostos para que seja possível identificar qual corresponde a cada um. No entanto, a correlação com H-1 e H-5 não deixa dúvidas de que os sinais naquela zona correspondem àqueles átomos de carbono.

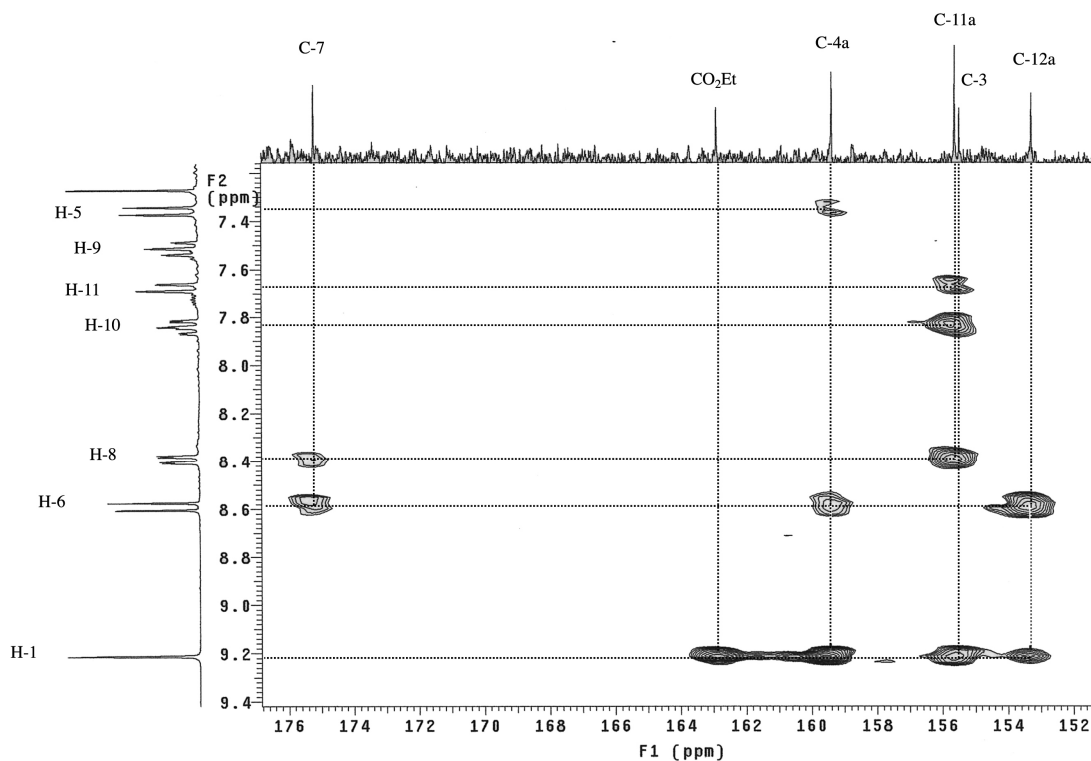


Figura 20 - Espectro de HMBC (CDCl_3) acima de 150 ppm do composto **11b**.

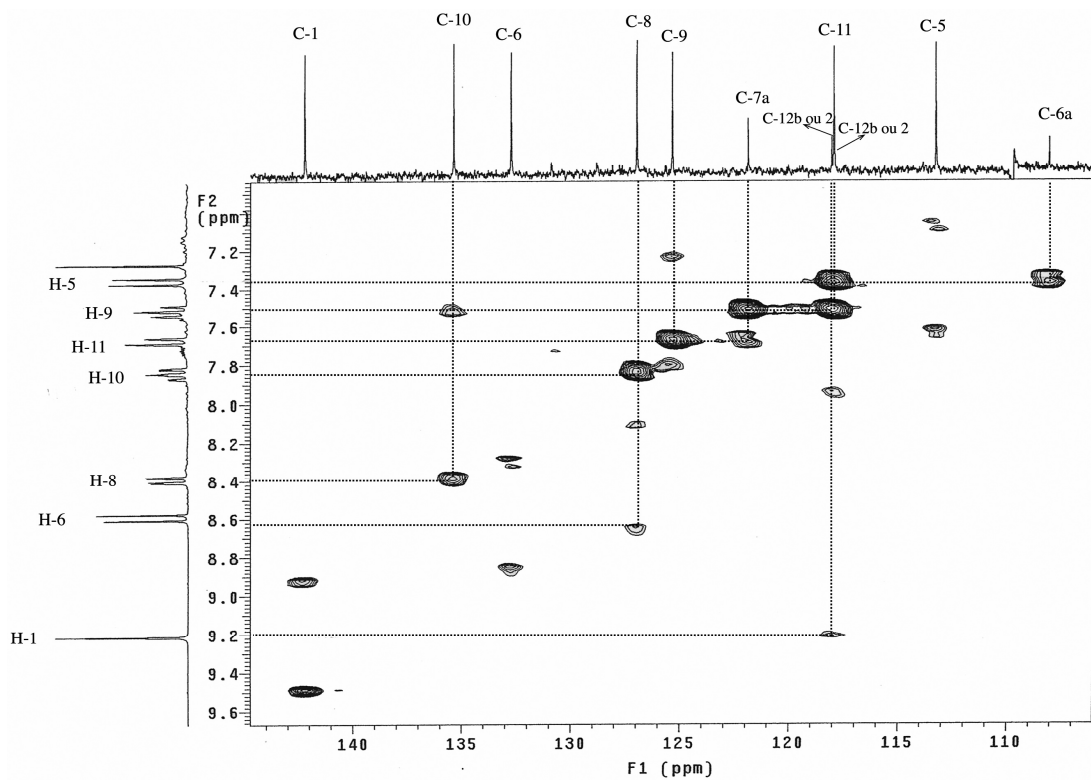


Figura 21 – Espectro de HMBC (CDCl_3) entre os 105 e os 145 ppm do composto **11b**.

A atribuição final dos sinais correspondentes aos átomos de carbono do composto referido encontra-se na Figura 22.

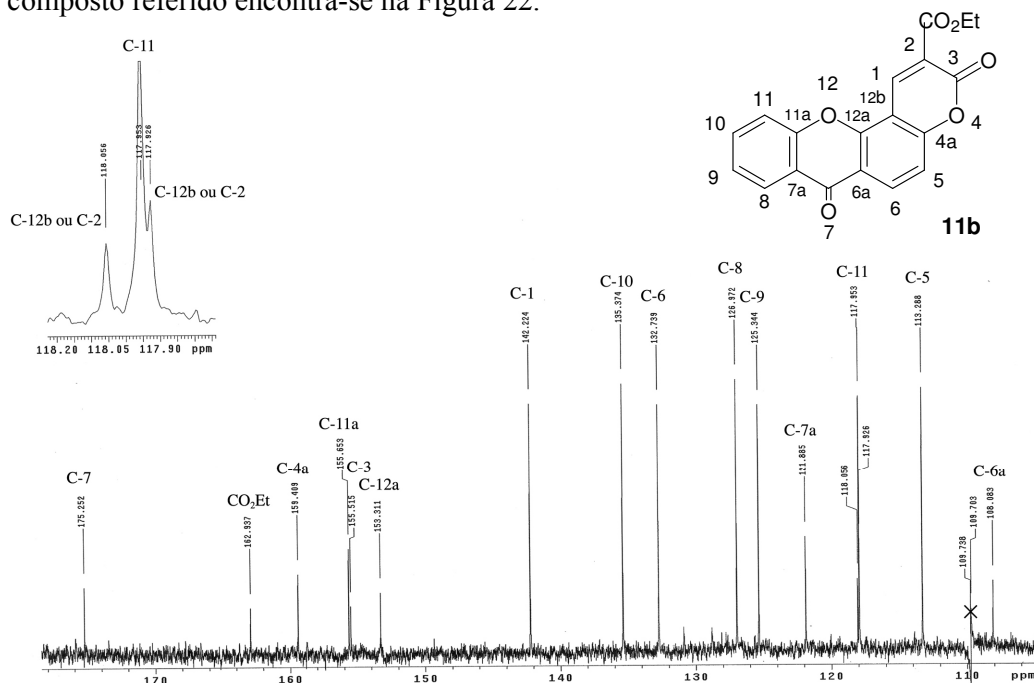


Figura 22 – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3) da zona aromática do composto **11b** com os sinais atribuídos e uma expansão dos três sinais quase sobrepostos correspondentes a C-2, 11 e 12b.

Os valores dos desvios químicos obtidos estão de acordo com o definido na literatura para a xanten-9-ona e a cumarina não substituídas, mesmo considerando a possível influência do solvente (Figura 23) (Brogden, 1984).

A maior variação ocorre no carbono C-6a (108,1 ppm), cujo desvio é bastante inferior ao da xanten-9-ona não substituída (121,1 ppm). Tal deve-se, certamente, ao efeito de protecção, por efeito mesomérico, pelo oxigénio da cumarina, que se encontra em posição *para* em relação a esse carbono.

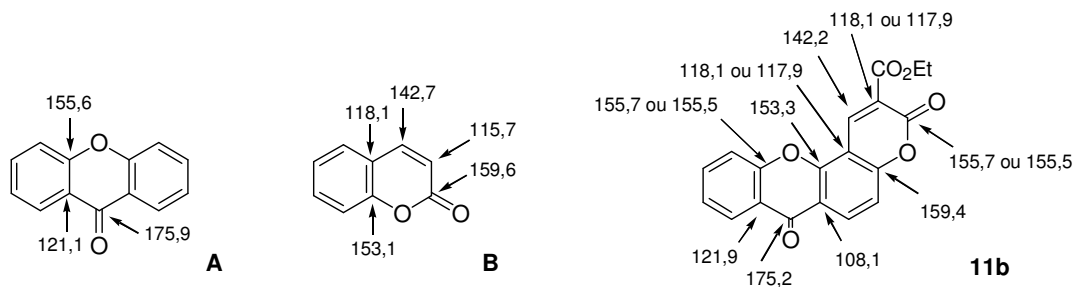


Figura 23 – Desvios químicos de RMN de ^{13}C na xanten-9-ona **A** (em DMSO-d_6), na cumarina **B** (em CDCl_3) e nas mesmas posições relativas, no composto **11b** (em CDCl_3).

b) piranocarbazole

A estrutura do piranocarbazole **19b** e a numeração atribuída aos átomos que o constituem estão representadas na Figura 24. A numeração foi atribuída de acordo com a primeira regra a obedecer quando existe mais do que uma orientação “horizontal” possível do sistema de anéis fundidos: a soma dos números atribuídos aos heteroátomos deve ser a mais baixa possível (Moss, 1998).

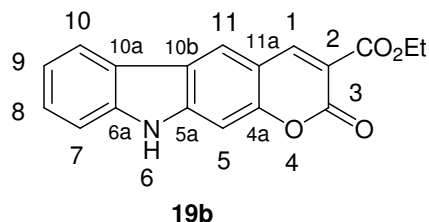


Figura 24 – Estrutura e numeração sistemática dos átomos do piranocarbazole **19b**.

Este composto apresenta um espectro de RMN de próton pouco resolvido, mas onde se distinguem, perfeitamente, na zona aromática (DMSO- d_6), 3 singletos largos (sl), 2 dupletos largos (dl) e 2 tripletos largos (tl) correspondentes aos átomos de hidrogénio aromáticos (Figura 25). Os sinais dos singletos foram atribuídos com base em considerações sobre os efeitos de protecção e desprotecção por efeito mesomérico.

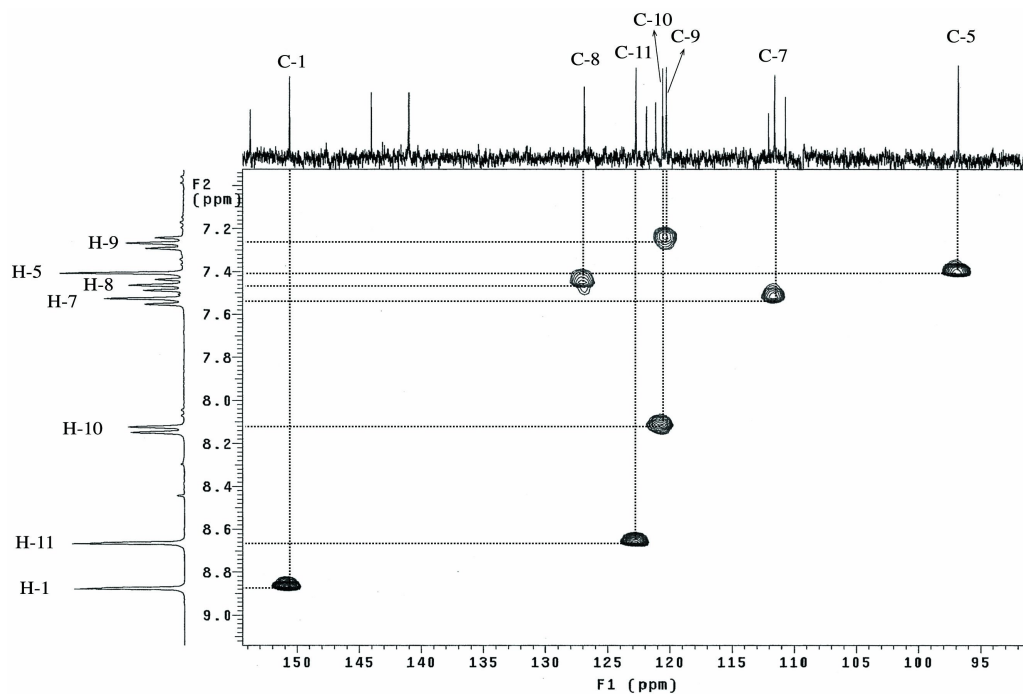


Figura 25 – Espectro de HMQC (DMSO- d_6) da zona aromática do piranocarbazole **19b**.

Depois de traçado o espectro de RMN de ^{13}C , o espectro bidimensional obtido, através da técnica de HMQC permitiu identificar os átomos de carbono não quaternários (Figura 25).

O espectro de correlação a longa distância, HMBC, permitiu atribuir os restantes sinais correspondentes aos átomos de carbono quaternários (Figuras 26 e 27).

Na Figura 26 pode observar-se que a atribuição do sinal correspondente, por exemplo, a C-4a é feita porque este carbono está correlacionado com H-5 (2 ligações) e com H-1 e H-11 (3 ligações) enquanto que, por exemplo, o C-3 só apresenta correlação com H-1, o único hidrogénio que se encontra a 3 ligações.

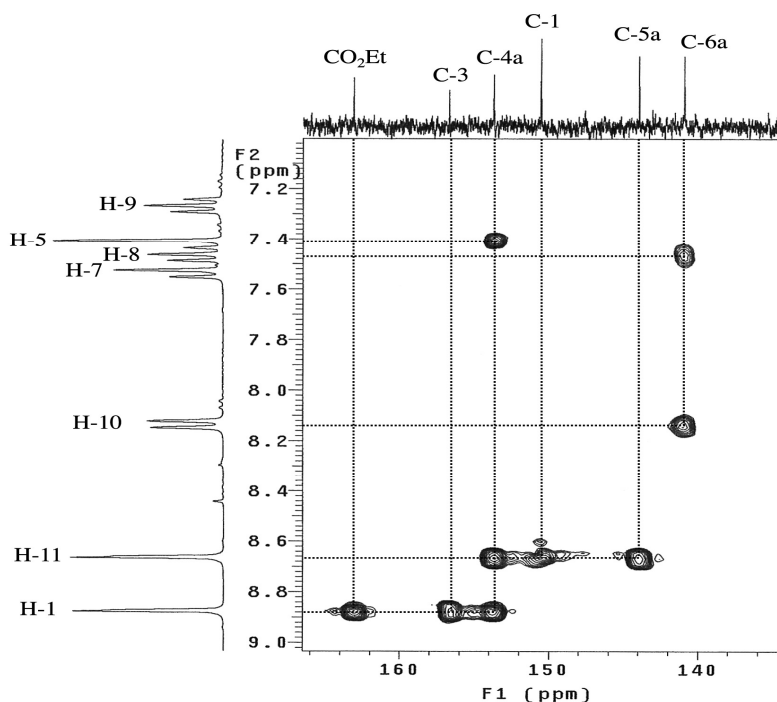


Figura 26 - Espectro de HMBC (DMSO- d_6) acima de 135 ppm do composto **19b**.

Na expansão da zona aromática com desvios mais baixos (Figura 27) pode-se notar que os únicos sinais que não têm correlações de HMBC são o C-2 e o C-5. Contudo, como o C-5 foi identificado por HMQC, o sinal de C-2 é atribuído, por exclusão de partes.

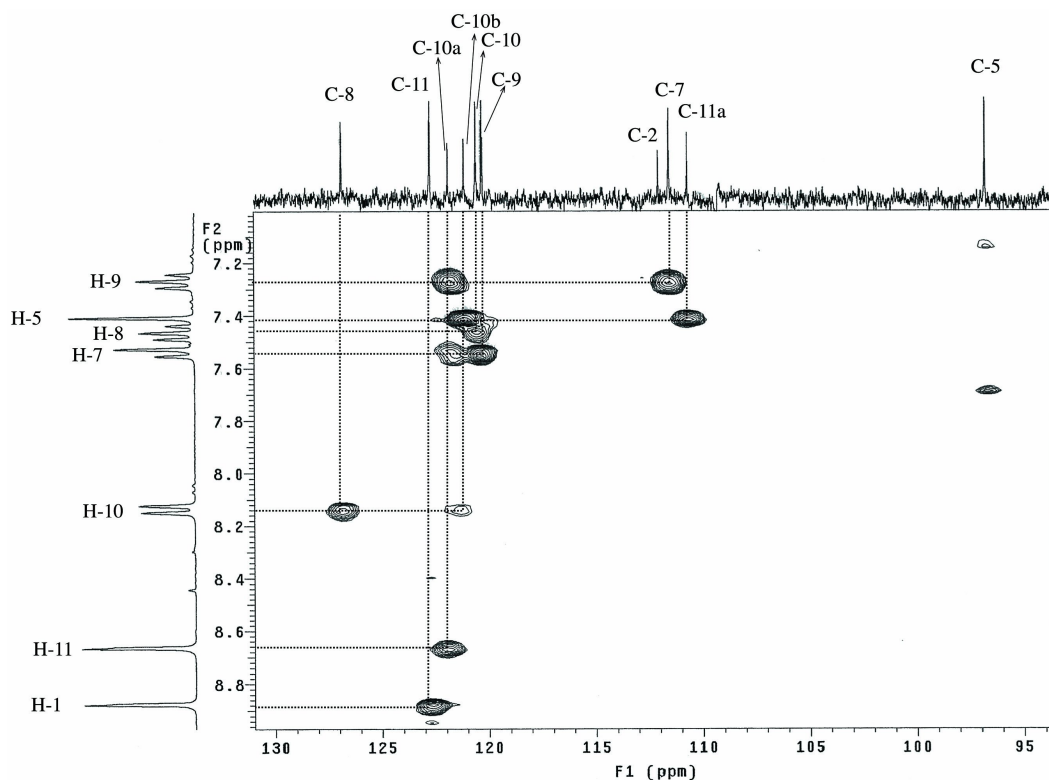


Figura 27 – Espectro de HMBC (DMSO- d_6) entre os 95 e os 130 ppm do composto **19b**.

Os desvios químicos observados estão de acordo com os que são referidos, na literatura, para a piranoxantona (**11b**) e para a cumarina e o carbazole sem substituição (Brogden, 1984; Bird, 1984). De facto, apenas os desvios dos átomos de carbono do anel **C** sofrem alterações devido à fusão com o anel de piranona e, também, a presença do grupo CO_2Et faz alterar ligeiramente os desvios dos átomos de carbono do anel onde se encontra (anel **D**) (Figura 28).

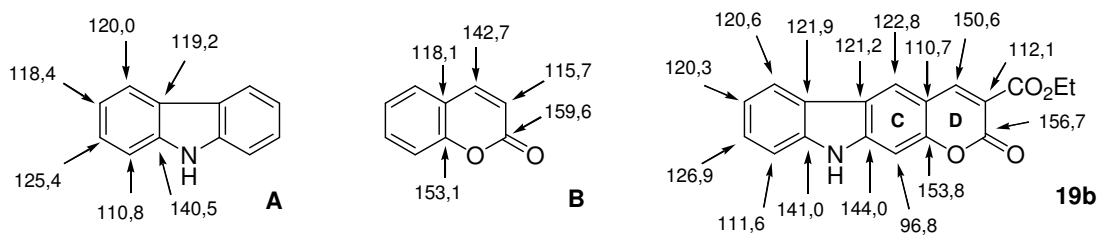


Figura 28 – Desvios químicos de RMN ^{13}C no carbazole **A** (DMSO- d_6), na cumarina **B** (em CDCl_3) e nas mesmas posições relativas no composto **19b** (em DMSO- d_6).

2.3.3. Espectrometria de massa dos derivados de piranoxantonas e de piranocarbazoles

Na caracterização por espectrometria de massa dos compostos finais das piranoxantonas **11a-c** e **16** e dos piranocarbazoles **19a-b** obteve-se, o mesmo padrão de fragmentação inicial que foi observado para os benzopsoralenos monossustituídos (ver Cap. II). Este padrão de fragmentação resulta de (Figuras 29 e 30):

- o pico correspondente ao ião molecular M^+ ;
- a fragmentação do éster alifático: perda de $\cdot\text{OEt}$, $[M - 45]^+$;
- a clivagem da ligação entre o éster e o anel aromático resultando $[M - \text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_4]^+$;
- a fragmentação do sistema de cumarina, perdendo CO.

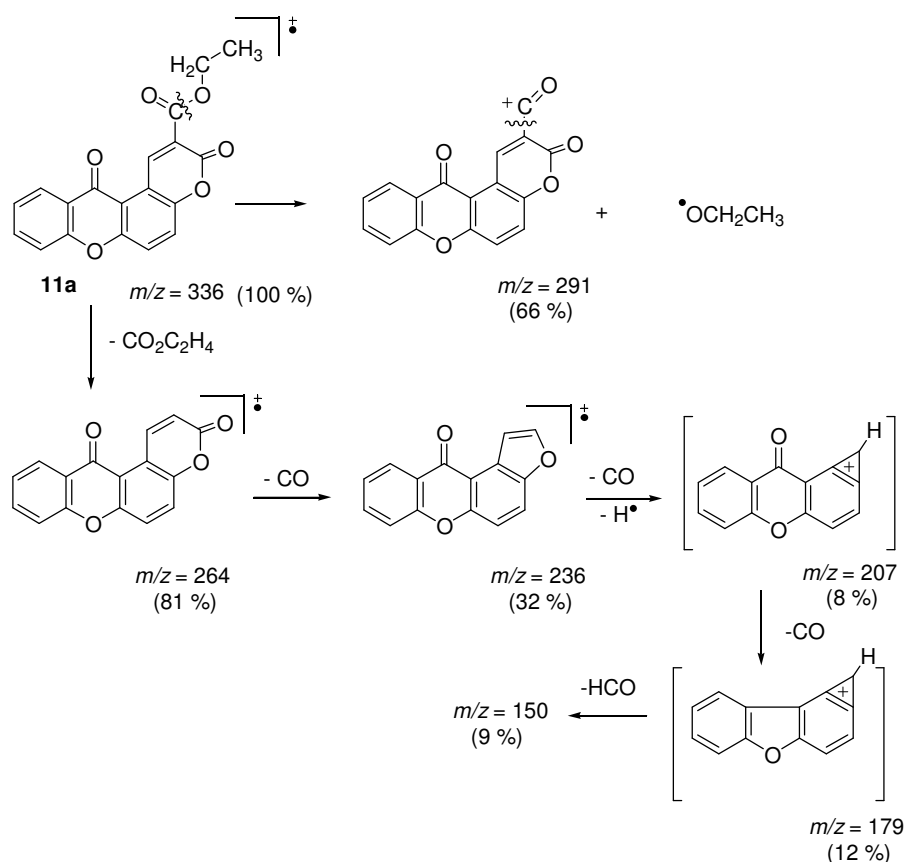


Figura 29 – Vias possíveis de fragmentação do composto **11a**.

De seguida, quer na piranoxantona quer no piranocarbazole, pode ocorrer a fragmentação dos anéis do furano e /ou do pirrole (Bird, 1984; Dean, 1984; Jones, 1996). As piranoxantonas podem perder ainda, numa das fases do processo, a partícula CO do núcleo da xantona, transformando-se num núcleo de furano (Brogden, 1984). As Figuras 29 e 30 indicam possíveis caminhos da fragmentação de uma das piranoxantonas (Figura 29) e de um dos piranocarbazoles (Figura 30).

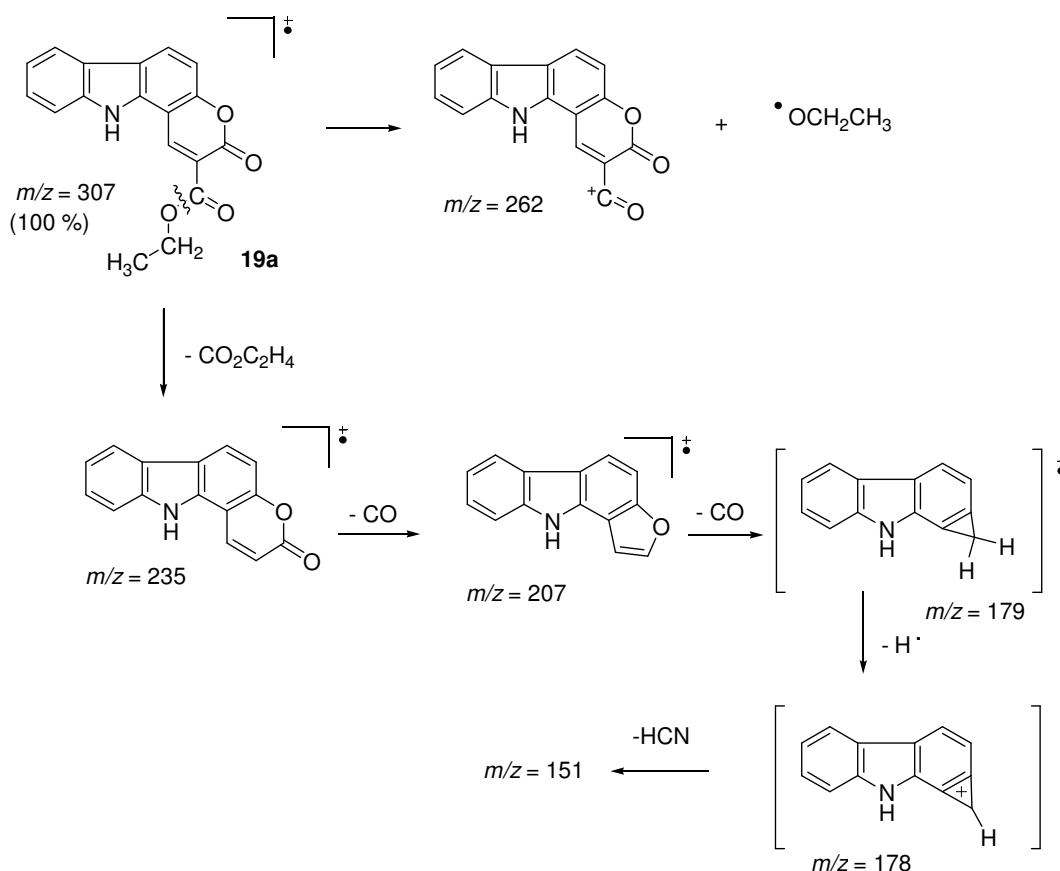


Figura 30 – Vias possíveis de fragmentação do composto **19a**.

Excepcionalmente, o composto **11c** apresenta no seu espectro o ião molecular como sendo a massa molecular prevista +1. Tal pode dever-se à auto-ionização, através de uma reacção ião molécula do tipo $M^+ + M \rightarrow [M+H]^+ + [M-H]\cdot$. Outra hipótese será a ocorrência de uma reacção do tipo $2M^+ \rightarrow [M+H]^+ + [M-H]^+$ já que o espectro de RMN de protão não indica a abertura de qualquer anel (todos os sinais, excepto os do grupo etilo, são aromáticos) nem o aparecimento de qualquer grupo OH. Curiosamente, o mesmo ocorreu no espectro de massa do correspondente aldeído **9e**.

3. Conclusões

Utilizando diferentes métodos de formilação e posterior condensação conseguiu-se obter vários compostos com núcleos de xante-9-onas e carbazoles, análogos aos benzopsoralenos já sintetizados, como foi referido nos capítulos II e III.

As reacções de formilação tiveram, em alguns casos, rendimentos muito baixos, pelo que não foi possível, nesses casos, sintetizar os compostos finais. Tal como referido, aquando da discussão sobre a síntese dos benzopsoralenos, a fraca activação do anel aromático é tida como a principal razão pela qual os rendimentos das formilações são baixos. A redução da xanten-9-ona, com vista a uma formilação mais fácil, foi um método bem sucedido.

4. Parte experimental

As características de solventes, reagentes, equipamentos e métodos são as que foram indicadas no Capítulo II, salvo outras indicações.

4.1. Síntese de piranoxantonas *via* formilação de hidroxixanten-9-onas

a) Formilação de Duff

Método geral

Num balão de 100 cm³, colocou-se uma solução de hidroxixanten-9-ona (1,00 mmol), em ácido acético 99,8 % (15 cm³), e adicionou-se a hexametenotetramina (HMTA) (3,39 mmol). A mistura ficou em refluxo, num banho de óleo a uma temperatura de 130-140 °C, entre 2 a 7 horas. Fez-se a hidrólise da solução adicionando ácido clorídrico 10 % (30 cm³) e deixando, em refluxo, a mistura reaccional durante

mais 20 min. Verteu-se a mistura sobre gelo picado (100 cm³) e extraiu-se com éter dietílico (3 x 60 cm³). Juntaram-se as fases orgânicas, secou-se (MgSO₄) e concentrou-se a mistura. Foi necessário recorrer à CC ou à CP, para isolar os aldeídos **9a** e **9d**. O composto **9b** precipitou da mistura ácido acético – éter etílico. O controlo cromatográfico fez-se por CCF (éter dietílico/éter de petróleo, 1:1), sendo os aldeídos facilmente identificáveis em CCF por apresentarem uma cor amarela no visível, enquanto que as hidroxixanten-9-onas revelam uma cor azul a 254 nm. Todos os aldeídos foram obtidos sob a forma de cristais de cor amarela quando recristalizados do etanol.

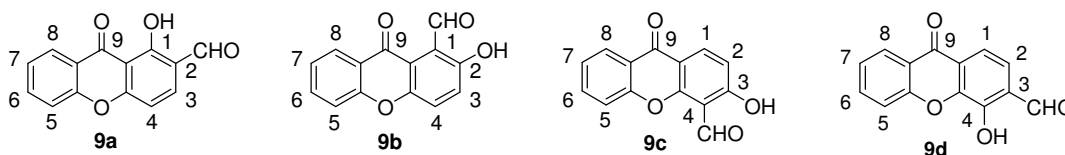
O **1-hidroxi-9-oxoxanteno-2-carbaldeído (9a)** foi obtido com um rendimento de 13 %. **P.f.**: 149-152 °C (etanol). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1679 (C=O), 1645 (C=O), 1614, 1573, 1465, 1283, 1255, 1063, 828, 769, 711, 639. **RMN ¹H**, δ : 13,54 (1H, s, OH); 10,62 (1H, s, CHO); 8,34 (1H, dd, $J = 7,8$ e $1,5$ Hz, H-8); 8,24 (1H, d, $J = 8,7$ Hz, H-3); 7,86 (1H, ddd, $J = 8,4$, $7,5$ e $2,1$ Hz, H-6); 7,62 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-5); 7,51 (1H, ddd, $J = 8,0$, $7,2$ e $1,2$ Hz, H-7); 6,91 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-4). **EM**, m/z (int. rel.): 241 (13), 240 (78, M^+), 239 (100), 212 (16), 183 (6), 155 (8), 127 (9), 92 (6). **EM-AR**: M^+ : 240,0415 (M^+ (C₁₄H₈O₄) calculado: 240,0423).

O **2-hidroxi-9-oxoxanteno-1-carbaldeído (9b)** foi obtido com um rendimento de 56 %. **P.f.**: 164-166 °C (etanol) (Lit.: 163 °C (éter de petróleo), Davies (1958a)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1640 (forte, C=O), 1465, 1330, 1304, 1233, 1211, 1152, 1057, 880, 846, 817, 752. **RMN ¹H**, δ : 13,02 (1H, s, OH); 11,59 (1H, s, CHO); 8,34 (1H, dd, $J = 7,8$ e $1,5$ Hz, H-8); 7,78 (1H, ddd, $J = 7,8$, $7,5$ e $1,5$ Hz, H-6); 7,75 (1H, d, $J = 9,6$ Hz, H-4 ou H-3); 7,53 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-5); 7,48-7,40 (2H, m, H-7 e H-3 ou H-4).

O **3-hidroxi-9-oxoxanteno-4-carbaldeído (9c)** foi obtido com um rendimento de 32 %. **P.f.**: 212-215 °C (etanol) (Lit: 223 °C (etanol), Puranik (1963)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1650 (forte, C=O), 1615, 1463, 1414, 1344, 1316, 1215, 1168, 1068, 819, 760, 735, 680. **RMN ¹H**, δ : 12,66 (1H, s, OH); 10,74 (1H, s, CHO); 8,48 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-1) 8,36 (1H, dd, $J = 7,8$ e $1,8$ Hz, H-8); 7,78 (1H, ddd, $J = 8,6$, $7,5$ e $1,5$ Hz, H-6); 7,56 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-5); 7,47 (1H, ddd, $J = 7,5$, $6,6$ e $1,0$ Hz, H-7); 6,99 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-1). **EM**, m/z (int. rel.): 241 (16), 240 (100, M^+), 239 (97), 222 (4), 194 (8),

155 (6), 127 (7), 92 (4), 69 (7). **EM-AR**, M^+ : 240,0423 ($M^+(C_{14}H_8O_4)$ calculado: 240,0423).

O **4-hidroxi-9-oxoxanteno-3-carbaldeído (9d)** foi obtido com um rendimento de 17 %. **P.f.**: 166-169 °C (sem recrist.). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1667 (forte, C=O), 1632 (C=O), 1612, 1463, 1345, 1293, 1234, 1216, 1297, 1019, 982, 904, 829, 806, 759, 743, 689. **RMN ^1H** , δ : 11,70 (1H, s, OH); 10,10 (1H, s, CHO); 8,36 (1H, dd, $J = 7,8$ e 1,8 Hz, H-8); 7,96 (1H, d, $J = 8,1$ Hz, H-2 ou H-1); 7,82 (1H, ddd, $J = 8,7$; 6,9 e 1,5 Hz, H-6); 7,68 (1H, d largo, $J = 8,7$ Hz, H-5); 7,58 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-1 ou H-2); 7,46 (1H, ddd, $J = 8,1$, 6,9 e 1,0 Hz, H-7). **EM**, m/z (int. rel.): 241 (16), 240 (100, M^+), 239 (54), 222 (4), 194 (17), 183 (6), 155 (6), 127 (6), 120 (6), 92 (3), 69 (3), 63 (3). **EM-AR**, M^+ : 240,0420 ($M^+(C_{14}H_8O_4)$ calculado: 240,0423).



b) *Formilação de Reimer-Tiemann*

A uma solução de NaHO (150 mg; 3,75 mmol) em água (10 cm³), adicionaram-se a 1-hidroxixanten-9-ona (71 mg; 0,34 mmol) e o triclorometano (160 mg; 1,34 mmol). Colocou-se a mistura, com agitação, num banho a 65 °C - 75 °C durante 30 min. Depois, aqueceu-se, durante 15 min, a 90 °C, deixou-se arrefecer e acidificou-se com HCl (2,0 cm³; 2,0 mol/dm³). Extraiu-se a mistura com éter dietílico, juntaram-se as fases orgânicas, evaporou-se o solvente e separou-se o produto por CC. O produto principal, o **1-hidroxi-9-oxoxanteno-2-carbaldeído (9a)** (5 mg, 6 %), foi recolhido com o eluente éter dietílico / éter de petróleo, numa proporção de 2:8. O controlo cromatográfico foi feito por CCF (éter dietílico / éter de petróleo, 1:1). Os dados espectroscópicos do produto foram análogos aos obtidos anteriormente

c) **Formilação via litição de carbamatos**

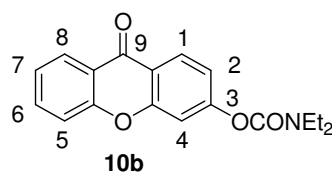
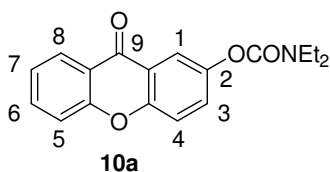
i) **Síntese de carbamatos**

Método geral

Colocou-se a hidroxixanten-9-ona (0,44 mmol) num tubo de vidro, com rolha roscada, dissolveu-se em piridina seca (1,5 cm³) e adicionou-se o cloreto de *N,N*-dietilcarbamóilo (0,83 mmol). Aqueceu-se a mistura, a 100 °C num banho de óleo, durante 16-17 horas. Verteu-se a mistura reaccional sobre gelo moído (75 cm³) e extraiu-se com éter dietílico (3 x 20 cm³). Lavou-se a fase orgânica com ácido clorídrico, 0,2 mol/dm³ (2 x 30 cm³) e secou-se com sulfato de magnésio anidro. Após evaporação do solvente a pressão reduzida obteve-se o carbamato sob a forma de um óleo. O controlo cromatográfico fez-se por CCF (éter dietílico/éter de petróleo, 7:3).

Obteve-se o *N,N*-dietilcarbamato de 9-oxoxanten-2-ilo (**10a**), sob a forma de um óleo castanho muito claro (608 mg, 92 %). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (filme sobre NaCl): 2971, 2934, 1708 (forte, C=O), 1660 (forte, C=O), 1625, 1611, 1466, 1422, 1317, 1275, 1257, 1160, 1137, 1101, 956, 868, 753. **RMN** ¹H, δ : 8,35 (1H, dd, $J = 8,1$ e $1,8$ Hz, H-8); 8,03 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-1); 7,75 (1H, ddd, $J = 8,4, 7,2$ e $1,8$ Hz, H-6); 7,57 (1H, dd, $J = 9,0$ e $2,7$ Hz, H-3); 7,54 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-4); 7,51 (1H, dl, $J = 9,0$ Hz, H-5); 7,40 (1H, ddd, $J = 8,0, 6,9$ e $1,2$ Hz, H-7); 3,45 (4H, m, 2xCH₂CH₃); 1,30 (6H, m, 2xCH₂CH₃).

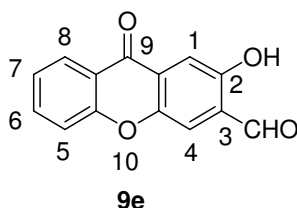
Obteve-se o *N,N*-dietilcarbamato de 9-oxoxanten-3-ilo (**10b**), sob a forma de um óleo castanho claro (142 mg, 98 %). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (filme sobre NaCl): 2966, 2933, 1725 (forte, C=O), 1664 (forte, C=O), 1620, 1464, 1422, 1381, 1320, 1247, 1157, 1104, 983, 870, 801, 758, 667. **RMN** ¹H, δ : 8,35 (1H, dl, $J = 7,5$ e $2,1$ Hz, H-8); 8,35 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, H-1); 7,74 (1H, ddd, $J = 8,4, 6,9$ e $1,8$ Hz, H-6); 7,49 (1H, dl, $J = 8,7$ Hz, H-5); 7,40 (1H, ddd, $J = 7,7, 7,5$ e $0,9$ Hz, H-7); 7,37 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-4); 7,18 (1H, dd, $J = 9,0$ e $2,1$ Hz, H-2); 3,45 (4H, m, 2xCH₂CH₃); 1,30 (6H, m, 2xCH₂CH₃).



ii) Litição, seguida de formulação com DMF

Para um balão de 25 cm³ e de 3 tubuladuras adicionou-se a tetrametiletilenodiamina, TMEDA, (228 mg; 1,4 mmol) dissolvida em THF seco (4 cm³). Colocou-se o balão, num banho de acetona e neve carbónica (-78 °C), com agitação e sob atmosfera de azoto e adicionou-se *sec*-BuLi (1,5 cm³ de solução 0,13 mol/dm³, em ciclo-hexano; 2,0 mmol). A mistura reaccional ficou nestas condições durante 5 min e, de seguida, juntou-se o carbamato **10a**, (200 mg; 0,64 mmol), dissolvido em THF seco (4 cm³). Após mais 1 h, adicionou-se a DMF (104 mg; 1,4 mmol). Manteve-se a mistura reaccional a -78 °C, por mais 2 h, e deixou-se aquecer até à temperatura ambiente. Adicionou-se então uma solução saturada de cloreto de amónio (50 cm³) e extraiu-se com éter dietílico (3 x 20 cm³). Juntaram-se as fases orgânicas, secou-se (MgSO₄) e evaporou-se o solvente da mistura, obtendo-se um sólido que foi separado por CC (éter dietílico / éter de petróleo, em várias proporções). Obteve-se o aldeído com o eluente numa proporção de 10 % de éter dietílico / éter de petróleo. O controlo cromatográfico foi feito por CCF (éter dietílico / éter de petróleo, 7:3).

Isolou-se o **2-hidroxi-9-oxoxanteno-3-carbaldeído (9e)** sob a forma de cristais amarelos (28 mg, 18 %). **RMN ¹H**, δ : 10,60 (1H, s, OH); 9,90 (1H, s, CHO); 7,66 (1H, m, H-8); 7,38-7,30 (3H, m, H-1, H-4 e H-6); 7,20 (1H, tl, $J = 7,5$ Hz, H-7); 7,12 (1H, dd, $J = 7,8$ e 1,2 Hz, H-5). **EM**, m/z (int. rel.): 242, (15), 241, (100, $[M+1]^+$), 240 (2, M^+), 213 (10), 100 (33), 72 (9). **EM-AR**, M^+ : 240,0429 ($M^+(C_{14}H_8O_4)$ calculado: 240,0423); 241,0503 ($[M+1]^+(C_{14}H_9O_4)$ calculado: 241,0501).



d) Formação do anel de piranona

i) Método geral com malonato de dietilo

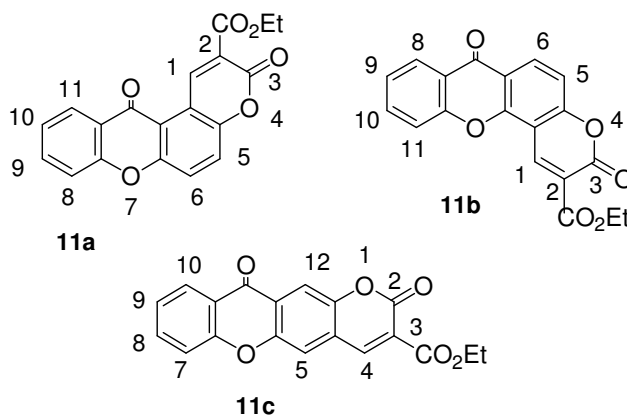
Num balão de 100 cm³, dissolveu-se o aldeído **9** (38 mg; 0,16 mmol), em etanol (6 cm³), a quente, e adicionou-se o malonato de dietilo (35 mg, 0,22 mmol), previamente dissolvido em etanol (1 ml), piperidina (1 gota) e ácido acético (1gota). Colocou-se a mistura reaccional em refluxo, durante 3,5 horas. O produto final precipitou sob a forma de um sólido amarelo que foi filtrado e lavado com etanol a frio. Evaporou-se o solvente das “águas mãe”, obtendo-se um resíduo que foi separado por CP, tendo-se obtido outra fracção do éster sob a forma de um sólido amarelo (27 mg no total, 50 %). O controlo cromatográfico foi feito por CCF (triclorometano / metanol, 99:1).

Obteve-se o **3,12-dioxopirano[3,2-*a*]xanteno-2-carboxilato de etilo (11a)**, a partir do 2-hidroxi-9-oxoxanteno-1-carbaldeído (**9b**), como um sólido amarelo (27 mg, 50 %), recristalizado de triclorometano / éter de petróleo. **P.f.**: 220-222 °C. **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 395 (3,94); 377 (3,99); 298 (4,22). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1769 (forte, C=O), 1641 (C=O), 1611, 1594, 1562, 1466, 1327, 1249, 1227, 1207, 1119, 1035, 968, 900, 834, 799, 774, 725, 684. **RMN ¹H**, δ : 10,57 (1H, s, H-1); 8,34 (1H, dd, $J = 8,4$ e 1,7 Hz, H-11); 7,84 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5 ou H-6); 7,82 (1H, ddd, $J = 8,4, 7,0$ e 1,7 Hz, H-9); 7,73 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-6 ou H-5); 7,58 (1H, br d, $J = 8,4$ Hz, H-8); 7,49 (1H, ddd, $J = 7,6, 7,0$ e 1,2 Hz, H-10); 4,48 (2H, q, $J = 7,5$ Hz, CH₂CH₃); 1,47 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH₂CH₃). **RMN ¹³C**, δ : 177,76; 162,76; 155,83; 155,04; 153,92; 152,26; 146,11 (CH); 135,39 (CH); 126,52 (CH); 124,94 (CH); 124,90 (CH); 123,87 (CH); 122,19; 120,15; 117,76 (CH); 115,89; 115,72, 62,05 (CH₂); 14,24 (CH₃). **EM**, m/z (int. rel.): 337 (21), 336 (100, M^+), 308 (9), 291 (66), 264 (81), 236 (32), 223 (3), 212 (5), 207 (8), 179 (12), 150 (9). **EM-AR**, M^+ : 336,0635 ($M^+(\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{O}_6)$ calculado: 336,0634). **AE**, valores obtidos: C = 67,01, H = 3,71 %; valores teóricos para C₁₉H₁₂O₆.1/4H₂O: C = 66,96; H = 3,70 %.

O **3,7-dioxopirano[2,3-*c*]xanteno-2-carboxilato de etilo (11b)** foi obtido a partir da 3-hidroxi-9-oxoxanteno-4-carbaldeído (**9c**) sob a forma de cristais amarelos e

recristalizado de etanol (26 mg, 55 %). **P.f.**: 196-197 °C. **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 350 (4,04); 328 (4,13); 307 (4,08); 276 (4,38). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1771 (forte, C=O), 1660 (C=O), 1624, 1463, 1262, 1232, 1083, 1019, 965, 793, 773, 722, 630. **RMN ^1H** , δ : 9,21 (1H, s, H-1); 8,59 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-6); 8,39 (1H, dd, $J = 7,8$ e 1,5 Hz, H-8); 7,84 (1H, ddd, $J = 8,7$, 7,2 e 1,5 Hz, H-10); 7,67 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-11); 7,51 (1H, ddd, $J = 7,7$, 7,2 e 1,2 Hz, H-9); 7,36 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5); 4,50 (2H, q, $J = 6,9$ Hz, CH_2CH_3); 1,48 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH_2CH_3). **RMN ^{13}C** , δ : 175,25 (C-7); 162,94 (CO_2Et); 159,41 (C-4a); 155,65 (C-11a); 155,52 (C-3); 153,31 (C-12a); 142,22 (C-1); 135,37 (C-10); 132,74 (C-6); 126,97 (C-8); 125,34 (C-9); 121,88 (C-7a); 118,06 (C-12b ou C-2); 117,95 (C-11); 117,93 (C-12b ou C-2); 113,29 (C-5); 108,083 (C-6a); 62,43 (CH_2); 14,26 (CH_3). **EM**, m/z (int. rel.): 337 (18), 336 (83, M^+), 308 (4), 291 (85), 264 (100), 236 (28), 207 (24), 179 (8), 150 (8), 87 (6), 75 (4). **EM-AR**, M^+ : 336,0639 (M^+ (C₁₉H₁₂O₆) calculado: 336,0634).

O **2,11-dioxopirano[2,3-*b*]xanteno-3-carboxilato de etilo (11c)** foi obtido a partir da 2-hidroxi-9-oxoxanten-3-carbaldeído (**9e**) como um sólido amarelo (16 mg, 63 %). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 368 (3,53); 301 (4,13). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (filme sobre NaCl): 1752 (forte, C=O), 1633 (C=O), 1556, 1478, 1453, 1426, 1378, 1289, 1263, 1227, 1038, 899, 666. **RMN ^1H** , δ : 8,50 (1H, s, H-4, H-5 ou H-12); 7,72-7,66 (2H, m, H-10 e H-4 ou H-5 ou H-12); 7,36 (1H, dt, $J = 7,5$ e 2,1 Hz, H-8); 7,34 (1H, s, H-4 ou H-5 ou H-12); 7,24 (1H, td, $J = 7,5$ e 1,7 Hz, H-9); 7,18 (1H, dd, $J = 8,1$ e 1,0 Hz, H-7); 7,45 (2H, q, $J = 8,0$ Hz, CH_2CH_3); 1,40 (3H, t, $J = 8,0$ Hz, CH_2CH_3). **EM**, m/z : 338 (22), 337 (100, $[M+1]^+$), 336 (4, M^+), 309 (4), 265 (3), 236 (5), 208 (3). **EM-AR**, M^+ : 336,0623 (M^+ (C₁₉H₁₂O₆) calculado: 336,0634).



ii) Método geral com malonato de monoetilo

A uma solução do aldeído **9** (35 mg; 0,15 mmol), em 1,2-dicloroetano (4 cm³), adicionaram-se a trietilamina (44 mg; 0,44 mmol) e malonato de monoetilo (HO₂CCH₂CO₂Et; 29 mg; 0,22 mmol). Colocou-se a mistura a 0 °C e adicionou-se, gota a gota e com agitação, uma solução de diclorofosfato de fenilo, (C₆H₅OP(O)Cl₂; 35 mg; 0,17 mmol), em dicloroetano (1 cm³). A mistura passou de amarelo a incolor. Manteve-se, nestas condições, por 10 min e depois aqueceu-se até ao refluxo durante 2 h, em banho de óleo. Após arrefecimento, adicionou-se água (10 cm³) e deixou-se algum tempo em agitação. Extraíu-se a fase aquosa com diclorometano, secou-se (MgSO₄) e removeu-se o solvente, por destilação a pressão reduzida, tendo-se formado um óleo.

A partir do aldeído **9b**, obteve-se o **3,12-dioxopirano[3,2-*a*]xanteno-2-carboxilato de etilo (11a)** que se cristalizou de diclorometano / éter de petróleo e originou cristais de cor amarelo-acastanhado (32 mg, 31 %).

A partir do aldeído **9c**, obteve-se o **3,7-dioxopirano[2,3-*c*]xanteno-2-carboxilato de etilo (11b)** que se cristalizou de etanol a quente e originou cristais de cor amarelo-acastanhado (20 mg, 41 %).

As propriedades espectroscópicas destes compostos foram análogas às das amostras obtidas, através do método anterior.

4.2. Síntese de piranoxantonas *via* xantenos

a) Redução de xanten-9-onas

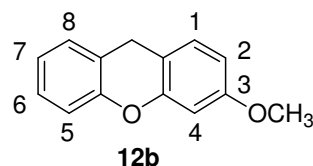
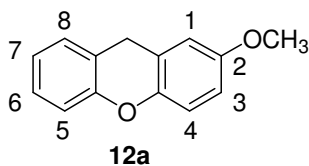
Método geral

Pesou-se o Li[AlH₄] (200 mg; 5,3 mmol), para um balão com 3 tubuladuras, colocou-se sob atmosfera de azoto e adicionou-se éter dietílico seco (5 cm³). Adicionou-se à mistura, gota a gota, com agitação magnética, a 0 °C (banho de gelo), uma solução da metoxixantona (300 mg; 1,3 mmol) em éter dietílico seco (80 cm³) e aqueceu-se a

mistura reaccional, em refluxo, durante 1 hora. Após a reação, adicionou-se à mistura uma solução saturada de cloreto de amônio (50 cm³) e acetato de etilo (30 cm³) e deixou-se em agitação durante 5 min. A mistura ficou em repouso durante a noite, após o qual se formou um resíduo branco que foi eliminado por filtração. Separou-se a fase orgânica e extraiu-se a fase aquosa com diclorometano. As fases orgânicas foram reunidas e secas (MgSO₄). Por evaporação, obteve-se um óleo amarelo (275 mg) que foi purificado por CC, sendo o produto recolhido com uma mistura de éter dietílico e éter de petróleo na proporção de 5:95. Após evaporação do solvente, obteve-se o metoxixanteno. O controlo cromatográfico foi feito com CCF (éter dietílico / éter do petróleo, 3:7).

O **2-metoxixanteno (12a)** foi obtido sob a forma de cristais incolores (245 mg, 18 %). **P.f.**: 67-70 °C (triclorometano / hexano) (Lit.: 68-70 °C (hexano), Jojima (1972)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 2995, 2963, 1621, 1608, 1582, 1497, 1485, 1455, 1248, 1208, 1154, 1037, 848, 818, 576. **RMN ¹H**, δ : 7,23-7,15 (2H, m, H-6 e H-8); 7,06-6,99 (2H, m, H-5 e H-7); 6,99 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, H-4); 6,76 (1H, dd, $J = 8,6$ e $2,7$ Hz, H-3); 6,71 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-1); 4,05 (2H, s, CH₂); 3,80 (3H, s, OCH₃). A secagem de uma parte dos cristais, durante 12 h, a 42 °C, para posterior análise, verificou-se a sua decomposição, tendo desaparecido o sinal de RMN ¹H correspondente ao CH₂.

O **3-metoxixanteno (12b)** foi obtido sob a forma de cristais incolores (212 mg, 77 %). **P.f.**: 78-82 °C (diclorometano / éter de petróleo) (Lit.: 79-80 °C (hexano), Jojima (1972)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 3059, 2996, 2840, 1604, 1577, 1486, 1444, 1314, 1237, 1150, 1093, 963, 836, 760. **RMN ¹H**, δ (acetona-d₆): 7,28-7,19 (2H, m, H-8 e H-6); 7,15 (1H, dl, $J = 8,3$ Hz, H-1); 7,09-7,01 (2H, m, H-5 e H-7); 6,67 (1H, dd, $J = 8,3$ e $2,5$ Hz, H-2); 6,62 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H-4); 4,00 (2H, s, CH₂); 3,81 (3H, s, OCH₃).



b) Formilação de Vilsmeier de metoxixantenos

Adicionou-se POCl_3 ($0,040 \text{ cm}^3$; $0,43 \text{ mmol}$), lentamente e a $0 \text{ }^\circ\text{C}$, a uma solução de *N*-metilformanilida, *N*-MFA, ($\text{PhN}(\text{Me})\text{CHO}$; $0,060 \text{ cm}^3$; $0,69 \text{ mmol}$), em diclorometano (3 cm^3). A mistura adquiriu uma cor amarela. Juntou-se o 3-metoxixanteno (**12b**) (64 mg ; $0,30 \text{ mmol}$) dissolvido em diclorometano (7 cm^3). A mistura que adquiriu um tom mais escuro, ficou em refluxo e com agitação magnética, durante 9 horas. Após arrefecimento, adicionou-se diclorometano (10 cm^3) e água (15 cm^3) e separou-se a fase orgânica que, entretanto, adquiriu uma cor verde-escuro. Lavou-se a fase orgânica com HCl , 10 % (10 cm^3), com NaHCO_3 , 5 % (m/m) ($2 \times 15 \text{ cm}^3$), secou-se (MgSO_4) e evaporou-se o solvente. Obteve-se um óleo de cor castanha (112 mg) que foi purificado por CC. Recuperou-se parte do 3-metoxixanteno (20 mg , 31%) eluindo com uma mistura de éter dietílico / éter do petróleo, 2:98, e o aldeído com a mesma mistura de solventes, na proporção de 5:95. O controlo cromatográfico foi feito com CCF (éter dietílico / éter do petróleo, 3:7).

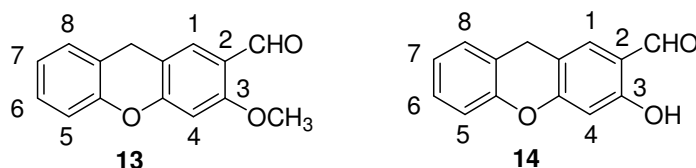
O **3-metoxixanteno-2-carbaldeído (13)** foi obtido sob a forma de cristais de cor ligeiramente amarela que não foram recristalizados (22 mg , 31 %). **P.f.**: $156\text{-}158 \text{ }^\circ\text{C}$, com alguma decomposição a $125 \text{ }^\circ\text{C}$ (Lit.: $154 \text{ }^\circ\text{C}$ (sem indicação de solvente), Kondedeshmukh (1994)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (KBr): 1671 (C=O), 1628, 1609, 1572, 1505, 1468, 1445, 1426, 1405, 1330, 1307, 1290, 1235, 1185, 1113, 1015, 963, 894, 830, 773, 753. **RMN ^1H** , δ : 10,34 (1H, s, CHO); 7,77 (1H, s, H-1); 7,25-7,18 (2H, m, H-6 e H-8); 7,11-7,03 (2H, m, H-5 e H-7); 6,64 (1H, s, H-4); 4,01 (2H, s, CH_2); 3,93 (3H, s, OCH_3).

c) Desmetilação do 3-metoxixanteno-2-carbaldeído

Num balão de três tubuladuras de 100 cm^3 adicionou-se uma solução do 3-metoxixanteno-2-carbaldeído (**13**) (70 mg ; $0,29 \text{ mmol}$), em diclorometano seco (5 cm^3). Colocou-se a mistura num banho de acetona e neve carbónica, sob azoto seco, com agitação. Adicionou-se a solução 1 mol/dm^3 de tribrometo de boro (já com alguma decomposição), em excesso, ($2,0 \text{ cm}^3$; $2,0 \text{ mmol}$) e a mistura adquiriu uma cor castanha. Deixou-se a mistura reaccional naquelas condições, durante 3,5 horas, mas permitindo que atingisse a temperatura ambiente. Adicionou-se gelo picado (30 cm^3) e

diclorometano (10 cm³) e agitou-se. As duas fases líquidas foram separadas e a fase aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 10 cm³). Juntaram-se as fases orgânicas, secou-se (MgSO₄) e evaporou-se o solvente. Obteve-se um sólido que foi sujeito a CC, sendo o 3-hidroxi-xanteno-2-carbaldeído (**14**) obtido quantitativamente com o eluente de éter dietílico / éter de petróleo na proporção 1:9. O controlo cromatográfico foi feito por CCF (éter dietílico / éter de petróleo, 3:7).

O **3-hidroxi-xanteno-2-carbaldeído (14)** foi obtido sob a forma de um sólido de cor amarela muito clara (67 mg, 100 %) e não foi recristalizado. **P.f.**: 172-174 °C (Lit: 159 °C (não recristalizado), Kondedeshmukh (1994)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1664 (forte, C=O), 1619, 1593, 1570, 1293, 1245, 1186, 1148, 968, 880, 869, 759, 726. **RMN** ¹H, δ 11,15 (1H, s, OH); 9,78 (1H, s, CHO); 7,37 (1H, sl, H-1); 7,28-7,16 (2H, m, H-6 e H-8); 7,12-7,06 (2H, m, H-5 e H-7); 6,64 (1H, s, H-4); 4,04 (2H, s, CH₂). De notar que ao fim de cerca de 35 dias o produto, não guardado em atmosfera inerte, apresentava, em CCF duas manchas, uma das quais na origem que parecia corresponder ao 3-hidroxi-9-oxoxanteno-2-carbaldeído.



d) Formação do anel de pirano

Colocou-se, num balão de 100 cm³, uma solução do 3-hidroxi-xanteno-2-carbaldeído (**14**) (68 mg; 0,30 mmol), em etanol (14 cm³). A quente e com agitação, adicionou-se uma solução de malonato de dietilo (61 mg; 0,38 mmol), em etanol (1 cm³) e piperidina (1 gota) e ácido acético (1gota); a solução adquiriu uma tonalidade amarela. Colocou-se a mistura reaccional, em refluxo, num banho de óleo e com agitação, durante 3 horas, tendo-se notado que, ao fim de 2,5 h, precipitou um composto que, depois, se verificou ser o produto final. Arrefeceu-se a mistura, e filtrou-se o precipitado, lavando-o com etanol, obtendo-se assim a cumarina **15**, sob a forma de cristais. Por CP foi recuperado ainda o aldeído de partida (7,0 mg; 10 %) e mais algum produto final. O controlo cromatográfico foi feito por CCF com triclorometano. A

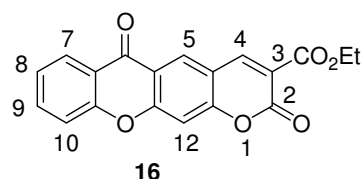
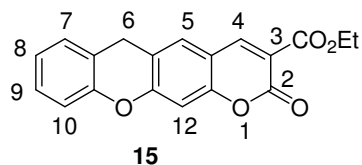
cumarina é facilmente identificável por CCF, já que, a 254 nm é observada com uma cor azul claro. Após algum tempo de armazenamento, verifica-se a sua decomposição, aparentemente, se não estiver bem seco ou se existir exposição à luz. Essa decomposição resulta, provavelmente da sua oxidação, já que numa das amostras analisada supôs-se ser a correspondente xantona, por CCF e EM.

O **2-oxo-pirano[3,2-*b*]xanteno-3-carboxilato de etilo (15)** foi obtido sob a forma de agulhas de cor bege (78 mg, 73 %). **P.f.**: 240-242 °C (etanol, a quente). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1769 (C=O), 1752 (C=O), 1632, 1615, 1564, 1456, 1303, 1295, 1275, 1233, 1195, 1136, 1033, 991, 907, 847, 797, 750, 731, 666. **RMN ¹H**, δ 8,49 (1H, s, H-4); 7,43 (1H, s, H-5); 7,30-7,20 e 7,15-7,08 (4H, 2 x m, H-7, 8, 9 e 10); 7,03 (1H, s, H-12); 4,42 (2H, q, $J = 6,9$ Hz, CH_2CH_3); 4,13 (2H, s, CH_2); 1,42 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH_2CH_3). **RMN ¹³C**, δ 163,53; 157,13; 157,09; 155,61; 150,89; 148,56 (CH); 129,98 (CH); 129,20 (CH); 128,48 (CH); 124,48 (CH) 119,53; 118,93; 116,95 (CH); 115,70; 114,02; 104,42 (CH); 62,07 (CH_2CH_3); 27,23 (CH₂); 14,53 (CH₃). **EM**, m/z (int. rel.): 323 (20), 322 (100, M^+), 321 (73), 293 (13), 277 (23), 250 (17), 221 (17), 193 (8), 163 (6), 138 (8). No espectro de massa de uma amostra do composto com menor grau de pureza observaram-se outros picos intensos m/z (int. rel.): 336 ($M^+ + 16 - 2$), 291, 264, 236, 207, 179, 150. **EM-AR**, M^+ : 322,0845 (M^+ (C₁₉H₁₄O₅) calculado: 322,0841).

e) Oxidação do piranoxanteno

Num balão de 50 cm³ colocou-se o piranoxanteno **15** (32 mg; 0,10 mmol) dissolvido em piridina (5 cm³). Adicionou-se o óxido de crómio (VI), CrO₃, (40 mg; 0,40 mmol), em pó, e deixou-se em agitação à temperatura ambiente durante 2,5 h, tendo a mistura ficado de cor castanho escuro e com um sólido insolúvel. Verteu-se a mistura reaccional sobre HCl 2 mol/dm³ (30 cm³) e extraiu-se com misturas de triclorometano e acetato de etilo (4 x 30 cm³). Secou-se (MgSO₄), evaporou-se o solvente das fases orgânicas combinadas e recristalizou-se o sólido resultante de triclorometano / metanol a quente. O controlo cromatográfico foi feito por CCF (com triclorometano / metanol, proporção 99:1).

O **2,6-dioxipirano[3,2-*b*]xanteno-3-carboxilato de etilo (16)** obteve-se puro, sob a forma de um sólido fino branco (28 mg, 83 %). **P.f.**: 305-307 °C (CHCl₃ / CH₃OH, decomposição a partir de 300 °C). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 360 (3,80); 267 (4,46). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 1768 (C=O), 1652 (C=O), 1623, 1607, 1561, 1465, 1352, 1222, 1139, 1027, 973, 846, 795, 762, 692. **RMN** ¹H, δ (CDCl₃ + CD₃OD): 8,64 (1H, s, H-4 ou H-5); 8,62 (1H, s, H-4 ou H-5); 8,29 (1H, dd, $J = 8,1$ e $1,8$ Hz, H-7); 7,77 (1H, ddd, $J = 8,4$, $7,2$ e $1,8$ Hz, H-9); 7,50 (1H, dl, $J = 8,4$ Hz, H-10); 7,42 (1H, ddd, $J = 7,9$, $6,9$ e $1,2$ Hz, H-8); (1H, s, H-12); 4,38 (2H, q, $J = 6,9$ Hz, CH₂CH₃); 1,38 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH₂CH₃). **RMN** ¹³C, δ (CDCl₃ + CD₃OD): 148,23 (CH); 135,80 (CH); 130,08 (CH); 126,68 (CH); 124,97 (CH); 118,02 (CH); 105,07 (CH); 62,13 (CH₂); 13,95 (CH₃); não são apresentados os sinais correspondentes aos átomos de carbono quaternários por não terem sido identificados, devido à baixa solubilidade do composto. **EM**, m/z (int. rel.): 337 (21), 336 (98, M^+), 308 (4), 291 (100), 264 (93), 236 (24), 207 (18), 179 (8), 150 (6), 145 (5). **EM-AR**, M^+ : 336,0633 (M^+ (C₁₉H₁₂O₆) calculado: 336,0634). **AE**, valores obtidos: C = 67,43, H = 3,71 %; valores teóricos para C₁₉H₁₂O₆: C = 67,86, H = 3,60 %.

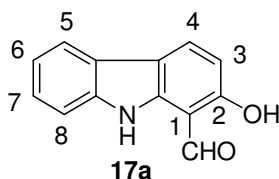


4.3. Síntese de piranocarbazoles

a) *Formilação de Reimer-Tiemann*

Num balão de 250 cm³, adicionou-se o carbazol-2-ol (2,0 g; 11 mmol) a uma solução de NaHO 30 % (m/m) (100 cm³) e colocou-se a mistura a uma temperatura de 60-65 °C. Adicionou-se o triclorometano (30 cm³) em 3 porções, com 15 min de intervalo. Depois de 2,5 horas de refluxo, removeu-se o CHCl₃ em excesso por destilação a pressão reduzida e extraiu-se a mistura com acetato de etilo. Juntaram-se as fases orgânicas, evaporou-se o solvente e separou-se o produto por CC que foi recolhido com o eluente éter dietílico / éter de petróleo, numa proporção de 1:9. O controlo cromatográfico foi feito por CCF (éter dietílico / éter de petróleo, 7:3).

O **2-hidroxicarbazole-1-carbaldeído (17a)** foi obtido sob a forma de cristais amarelos (não recristalizados) (0,46 g; 20 %). **P.f.**: 219-220 °C (com decomposição a partir dos 200 °C) (Lit.: 232 °C (etanol), Joshi (1969)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 3405 (NH), 1633 (C=O), 1598, 1318, 1278, 1206, 1170, 1115, 1085, 1032, 938, 784, 775, 757, 743, 722. **RMN ¹H**, δ (acetona-d₆): 11,16 (1H, sl, OH); 10,69 (1H, s, CHO); 10,33 (1H, sl, NH); 8,27 (1H, d, $J = 8,1$ Hz, H-4); 8,06 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-5); 7,71 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-8); 7,39 (1H, ddd, $J = 7,9, 7,5$ e $1,5$ Hz, H-7); 7,25 (1H, ddd, $J = 7,9, 6,9$ e $1,0$ Hz, H-6); 6,85 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-3).



b) Formilação via litição de carbamatos

i) Síntese do carbamato

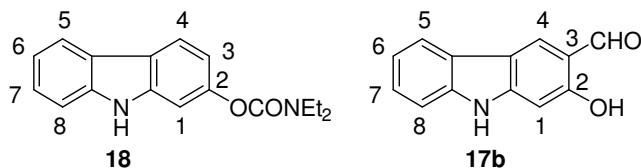
A uma solução de carbazol-2-ol (0,450 g; 2,45 mmol) em piridina seca (2 cm³) adicionou-se cloreto de *N,N*-dietilcarbamoilo (0,745 g; 5,49 mmol) e aqueceu-se 4 horas, a 100 °C. Vereteu-se a mistura sobre gelo picado (75 g) e extraiu-se com éter dietílico (3x 25 cm³). Lavou-se a fase orgânica com uma solução 2,0 mol/dm³ de NaHO (3 x 25 cm³) e água (3 x 25 cm³) e secaram-se (MgSO₄). Após a evaporação do solvente obteve-se o carbamato (**18**).

O ***N,N*-dietilcarbamato de carbazol-2-ilo (18)** foi obtido como um óleo ligeiramente acastanhado (0,634 g; 92 %) e foi usado sem purificação. **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (filme sobre NaCl): 3408, 3307 (NH), 2975, 2934, 1700 (forte, C=O), 1633, 1611, 1461, 1422, 1380, 1326, 1271, 1230, 1166, 1119, 1002, 971, 865, 748, 727, 666. **RMN ¹H**, δ 8,26 (1H, sl, NH); 7,94 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-5); 7,89 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-4); 7,40-7,33 (2H, m, H-7 e H-8); 7,24-7,18 (1H, m, H-6); 7,20 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-1); 6,95 (1H, dd, $J = 8,4$ e $2,1$ Hz, H-3); 3,60 - 3,40 (4H, m, 2x CH_2CH_3); 1,40-1,20 (6H, m, 2x CH_2CH_3).

ii) Formilação do carbamato

A uma solução de *sec*-BuLi (solução 1,3 mol/dm³, em ciclo-hexano; 6,75 cm³; 8,8 mmol), a -78 °C (neve carbónica e acetona), sob N₂ e com agitação, adicionou-se TMEDA (0,783 g; 6,7 mmol) e THF seco (8 cm³). Deixou-se a mistura nestas condições; após 5 min adicionou-se uma solução do carbamato **18** (0,634 g; 2,25 mmol), em THF seco (6 cm³) e, após 1 hora, adicionou-se a DMF (0,70 cm³; 9,1 mmol). Deixou-se a mistura atingir a temperatura ambiente (2 horas) e em agitação durante mais 48 horas. Durante este período a mistura reaccional mudou da cor inicial amarelo, para castanho. Adicionou-se então uma solução saturada de cloreto de amónio (75 cm³), agitou-se e extraiu-se a fase aquosa com triclorometano (3 x 20 cm³). Reuniram-se os extractos orgânicos, secaram-se (MgSO₄) e removeu-se o solvente, sob pressão reduzida, resultando uma mistura de compostos (óleo castanho) que foi submetida a CC (eluente: misturas de acetato de etilo / éter de petróleo). O produto principal isolado foi o 2-hidroxicarbazole-3-carbaldeído e foi usado sem recristalização. O controlo cromatográfico foi feito por CCF (éter dietílico / éter de petróleo, 7:3).

O **2-hidroxicarbazole-3-carbaldeído (17b)** isolou-se como um sólido amarelo (150 mg, 32 %). **P.f.**: 232-233 °C (com decomposição a partir dos 200 °C) (Lit.: 240 °C (etanol), Joshi (1969)). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 3371 (NH), 1704, 1644 (forte, C=O), 1326, 1250, 1205, 1167, 1015, 896, 871, 855, 822, 772, 721. **RMN** ¹H, δ : 11,51 (1H, s, OH); 10,77 (1H, s largo, NH); 10,04 (1H, s, CHO); 8,51 (1H, s, H-4); 8,13 (1H, dl, J = 7,5 Hz, H-5); 7,54 (1H, dl, J = 8,1 Hz, H-8); 7,43 (1H, ddd, J = 8,1, 7,2 e 1,2 Hz, H-7); 7,27 (1H, ddd, J = 8,1, 7,2 e 0,9 Hz, H-6); 6,94 (1H, s, H-1).



c) Formação do anel de piranona

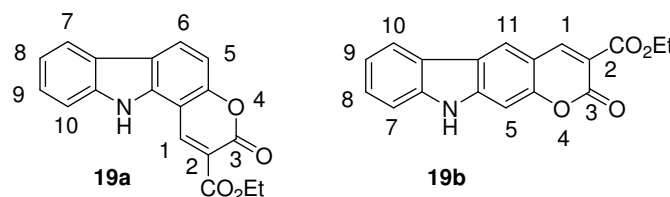
Método geral

A uma solução do aldeído **17** (24 mg, 0,11 mmol), em etanol (6 cm³), adicionou-se o malonato de dietilo (30 mg, 0,18 mmol) e uma gota de ácido acético e outra de piperidina. Colocou-se a mistura em refluxo, em banho de óleo e com agitação, durante 5 h. Evaporou-se o solvente a pressão reduzida e fez-se CP da mistura resultante (éter dietílico / éter de petróleo, 7:3), tendo-se obtido o produto ciclizado que se revelou instável quando em contacto com a sílica. Fez-se o controlo cromatográfico por CCF (éter etílico / éter de petróleo, 7:3) e o produto ciclizado mostrou cor amarelo forte, na placa de CCF, com radiação visível, e fluorescência, com radiação de 365 nm.

O composto **3-oxopirano[3,2-*a*]carbazole-2-carboxilato de etilo (19a)** obteve-se, a partir do 2-hidroxicarbazole-1-carbaldeído (**17a**), sob a forma de um sólido amarelo (24 mg, 68 %) e foi recristalizado do triclorometano / ciclo-hexano, tendo-se ainda recuperado composto de partida (17 %). **P.f.**: 211-212 °C (com decomposição). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 394 (4,39); 320 (4,40); 286 (4,40). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ (óleo mineral): 3341 (NH), 1746 (forte, C=O), 1614, 1345, 1330, 1257, 1217, 1193, 1117, 1089, 1034, 798, 776, 739, 666. **RMN ¹H**, δ (acetona-d₆): 11,49 (1H, sl, NH); 9,25 (1H, sl, H-1); 8,50 (1H, dl, $J = 8,7$ Hz, H-6); 8,18 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-7); 7,64 (1H, dl, $J = 8,1$ Hz, H-10); 7,48 (1H, ddd, $J = 8,1, 7,2$ e $1,2$ Hz, H-9); 7,32 (1H, ddd, $J = 7,4, 7,2$ e $0,9$ Hz, H-8); 7,22 (1H, dl, $J = 8,7$ Hz, H-5); 4,40 (2H, q, $J = 6,9$ Hz, CH₂CH₃); 1,41 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH₂CH₃). **RMN ¹³C**, δ (acetona-d₆): 164,00 (CO₂Et); 156,88 (C=O); 155,55 (C-4a); 144,73 (C-1); 140,97 (C-10a); 137,88 (C-11a); 127,53 (C-6); 126,63 (C-9); 123,51 (C-7a); 121,22 (C-8); 120,77 (C-7); 120,21 (C-6a); 116,57 (C-2); 112,26 (C-10); 108,27 (C-5); 104,39 (C-11b); 61,89 (CH₂); 14,56 (CH₃). **EM**, m/z (int. rel.): 308 (20), 307 (100, M^+), 262 (19), 235 (33), 207 (11), 178 (17). **EM-AR**, M^+ : 307,0840 (M^+ (C₁₈H₁₃NO₄) calculado: 307,0845).

O **3-oxopirano[2,3-*b*]carbazole-2-carboxilato de etilo (19b)** obteve-se, a partir do 2-hidroxicarbazole-3-carbaldeído (**17b**), sob a forma de um sólido amarelo (31 mg, 20 %), tendo-se ainda recuperado composto de partida (27 %). **P.f.**: 335-336 °C (com decomposição). **UV**, $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ , etanol): 370 (4,49); 305 (4,89); 275 (5,08). **IV**, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$

(óleo mineral): 3271 (NH), 1765 (C=O), 1746 (C=O), 1636, 1596, 1569, 1276, 1241, 1200, 1044, 1016, 795, 725, 665. **RMN ¹H**, δ (DMSO-d₆): 11,91 (1H, sl, NH); 8,88 (1H, s, H-1); 8,67 (1H, s, H-11); 8,13 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-10); 7,55 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz, H-7); 7,46 (1H, tl, $J = 8,1$ Hz, H-8); 7,41 (1H, s, H-5); 7,27 (1H, tl, $J = 7,5$ Hz, H-9); 4,28 (2H, q, $J = 7,2$ Hz, CH₂CH₃); (3H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₂CH₃). **RMN ¹³C**, δ (DMSO-d₆): 163,11 (CO₂Et); 156,74 (C=O); 153,75 (C-4a); 150,59 (C-1); 144,04 (C-5a); 141,01 (C-6a); 126,89 (C-8); 122,76 (C-11); 121,91 (C-10a); 121,16 (C-10b); 120,60 (C-10); 120,32 (C-9); 112,08 (C-2); 111,59 (C-7); 110,73 (C-11a); 96,83 (C-5); 60,88 (CH₂); 14,20 (CH₃). **EM**, m/z (int. rel.): 308 (20), 307 (100, M^+), 262 (45), 235 (41), 207 (25), 178 (25), 89 (12), 69 (51). **EM-AR**, M^+ : 307,0848 (M^+ (C₁₈H₁₃NO₄) calculado: 307,0845).



5. Referências

- Angyal, S. J. - The Sommelet reaction. *Org. React.*, 5 (1954) 198-217.
- Bennett, G. J.; Lee, H.-H. - Xanthenes from *Guttiferae* (Review Article Number 43). *Phytochemistry*, 28:4 (1989) 967-998.
- Bird, C. W.; Cheeseman, G. W. H. - Structure of five-membered rings with one heteroatom. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Vol. 4, Ed.s Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Pergamon Press, 1984, pp. 1-38.
- Blazevic, N.; Kolban, D.; Belin, B.; Sunjic, V.; Kajfez, F. - Hexamethylenetetramine, a versatile reagent in organic synthesis (Reviews). *Synthesis*, (1979) 161-176.
- Brogden, P. J.; Gabbutt, C. D.; Hepworth, J. D. - Pyrans and fused pyrans: (i) structure. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Vol.3, Ed.s Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Pergamon Press, 1984, pp. 574-645.
- Coelho, P. J.; Carvalho, L. M.; Silva, J. C.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Samat, A.; Guglielmetti, R. - Synthesis and Photochromic Behavior of Novel Annulated 2H-Chromenes Derived from Hydroxy-9H-xanthen-9-ones. *Helv. Chim. Acta*, 84 (2001) 117-123.
- Chowdhury, B. K.; Hirani, S. K.; Mustapha, A. Bhattacharyya, P. - Photochemical oxidation of the 3-methyl group of carbazole alkaloids. *Chem. Ind.*, (1987) 128-129.

Das, G. K.; Choudhury, B.; Das, K.; Das B. P. – Vilsmeier reaction on carbazole: theoretical and experimental aspects. *J. Chem. Research (S)*, (1999) 244-245.

Davies, J. S. H.; Lamb, F.; Suschitzky, H. – Studies in xanthone series. Part II. Preparation and reactions of 1-formyl-2-hydroxyxanthone. *J. Chem Soc.*, (1958a) 1790-1793.

Davies, J. S. H.; Scheinmann, F. Suschitzky, H. – 2,2',4 and 2,2',6-trihydroxybenzophenone. *J. Org. Chem.*, 23 (1958b) 307-308.

Dean, F. M. – Furans and their benzo derivatives: (i) structures. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Vol.4, Ed.s: Katritzky, A. R.; Rees, C. W., Pergamon Press, 1984, pp 531-596.

Dinakaran, K.; Perumal, P. T. – Microwave induced formation of 3-chloro-5-aryl-penta-2,4-dien-1-als and 3-chloro-(5-formylaryl)-penta-2,4-dien-1-als by Vilsmeier reaction. *Indian J. Chem.*, 39B (2000) 135-136.

Fernandes, Eduarda G. R. – *Síntese e Elucidação Estrutural de Xantonas, Xantonolignóides e Determinação da Actividade Biológica*. Porto: Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 1996. Dissertação de Doutoramento.

Finnegan, R. A.; Patel, J. K. – Constituents of *Mammea Americana* L. part X. The isolation of some mono- and di-hydroxyxanthenes. Observations on the synthesis of 1,5-, 1,6 and 1,7-dihydroxyxanthone. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, (1972) 1896-1901.

Garbett, N.C; Graves, D.E - Extending Nature's Leads: The Anticancer Agent Ellipticine. (Review article). *Curr. Med. Chem.*, 4 (2004) 149-172.

Ghirtis, K.; Pouli, N.; Marakos, P.; Skaltsounis, A.-L. ; Caignard, D. H. ; Atasssi, G. – Synthesis and conformational analysis of some new pyrano[2,3-*c*]xanthen-7-one and pyrano[2,3-*b*]xanthen-6-one derivatives with cytotoxic activity. *Heterocycles*, 53:1 (2000) 93-105.

Hepworth, J. D.; Gabbutt, C. D.; Heron, B. M.- Pyrans and their benzoderivatives: (iii) synthesis and applications. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Eds.: Katritzky, A. R.; Rees, C.W.; Scriven, E. F. V., Pergamon, 1996, vol. 5, 351-467.

Hewlins, M. J. E.; Jackson, A. H.; Oliveira-Campos, A. M.; Shanno, P. V. R. – A novel trimethoxyellipticine. *Chem. Ind.*, (1981) 338.

Ishii, Y.; Nakayama, K.; Takeno, M.; Sakagushi, S.; Iwahama, T.; Nishiyama, Y. – A novel catalysis of *N*-hydroxyphthalimide in the oxidation of organic substrates by molecular oxygen. *J. Org. Chem.* 60 (1995) 3934-3935.

Inuma, M.; Tosa, H.; Tanaka, T.; Riswan, S. – Two furanoxanthenes from *Mammea Acuminata*. *Phytochemistry*, 42:1 (1996) 245-247.

Jojima, T; Takeshiba, H.; Konotsune, T. – Pyridazines. I. Novel intramolecular cycloaddition of 3-chloro-6-(2-allylphenoxy)pyridazines. *Chem. Pharm. Bull.* 20 (1972) 2191-2203.

Jones, G. B.; Chapman, B. J. – Pyrroles and their benzo derivatives: structure. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Vol. 2, Eds. Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Scriven, E. F. V.; Pergamon, 1996, 1-37.

Jones, G.; Stanforth, S. P. – The Vilsmeier reaction of fully conjugated carbocycles and heterocycles. *Org. React.*, 49 (1997) 1-325.

- Joshi, B. S.; Kamat, V. N.; Rane, D. F. – Revised constitution of naphthol AS-LB. *J. Chem. Soc. (C)*, (1969) 1518-1521.
- Joshi, B. S.; Rane, D. F. – Synthesis of heptaphylline. *Chem. Ind.*, (1968) 685.
- Kondedeshmukh, R. S.; Paradkar, M. V. – Synthesis of linear pyranoxanthenes. *Synthetic Commun.* 24:5 (1994) 659-664.
- March, J. - *Advanced Organic Chemistry*, 4ed, John Wiley & Sons, 1992.
- Marson, C. M.; Giles, P. R. - *Synthesis Using Vilsmeier Reagents*. CRC Press, Inc: New York, 1994, pp 48-80.
- Marques, M. M. M. S. B. - *Estudos em Alcalóides Indolocarbazoles*. Lisboa: Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, 2001. Dissertação de Doutoramento.
- Matsui, M.; Miyamoto, Y.; Shibata, K.; Takase, Y. – Ozonation of xanthene. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 57 (1984) 603-604.
- Moss, G. P. - Nomenclature of fused and bridged fused ring systems (IUPAC Recommendations 1998). *Pure & Appl. Chem.*, 79:1 (1998) 143-218.
- Murakami, Y.; Yokoyama, Y.; Okuyama, N. – The Vilsmeier-Hack reaction of *N*-alkyl-1,2,3,4-tetrahydrocarbazoles and the synthetic application to olivacine and ellipticine. *Tetrahedron Lett.*, 24:21 (1983) 2189-2192.
- Murakami, Y.; Yokoyama, Miura, T.; Nozawa, S.; Takeda, E.; Suzuki, H. – Regioselectivity in the Vilsmeier-Hack reaction of *N*-benzyl-1,2,3,4-tetrahydrocarbazole. *Heterocycles*, 27:10 (1988) 2341-2345.
- Mustafa, A; Hishmat, O. H. – Reactions of hydroxyxanthenes. IV. Action of lithium aluminium hydride and diazomethane on hydroxyxanthenes. *J. Org. Chem.*, 22 (1957) 1644-1647.
- Oliveira-Campos, Ana M. F. – *Synthetic Studies on Indoles and Analogues of Ellipticine*. Wales: University of Wales, 1982. Thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy.
- Oliveira, M. M.; Carvalho, L. M.; Moustrou, C.; Samat, A.; Guglielmetti, R.; Oliveira-Campos, A. M. F. – Synthesis and photochromic behaviour of novel 2*H*-1-benzopyrans (= 2*H*-chromenes) derived from hydroxycarbazoles. *Helv. Chim. Acta*, 84 (2001) 1163-1171.
- Park, M.; Buck, J. R.; Rizzo, C. J. – A convenient synthesis of 3,6-substituted carbazoles via nickel catalysed cross-coupling. *Tetrahedron*, 54 (1998) 12707-12714.
- Patolia, R. J.; Trivedi, K. N. – Studies in synthesis of xanthone derivatives: Part III – A New one step synthesis of xanthenes. *Indian J. Chem.*, 22B (1983) 444-447.
- Patel, B. P. J. – Synthesis of formylcarbazole derivatives and acetylcarbazole. *J. Indian Chem. Soc.* 62 (1985) 534-536.
- Patrick, D. A.; Boykin, D. W.; Tanious, F. A.; Spychala, J.; Bender, B.C.; Hall, J. E.; Dykstra, C.C.; Ohemeng, K.A.; Tidwell, R.R. – Anti-*Pneumocystis carinii* pneumonia activity of dicationic carbazoles. *Eur. J. Med. Chem.* 32 (1997) 781-783.
- Paul, S.; Gupta, M.; Gupta, R. – Vilsmeier reagent for formylation in solvent-free conditions using microwaves. *Synlett*, 8 (2000) 1115-1118.

Pillai, R. K. M.; Naiksatam, P. ; Johnson, F. ; Rajagoplan, R. Watts, P. C.; Criccio, R.; Borrás, S. – Thermorubin II: 1,3-dihydroxy-9H-xanthenes and 1,3-dihydroxy-9H-xanthenes. New methods of synthesis. *J. Org. Chem.*, 51 (1986) 717-723.

Puranik, G. S.; Rajagopal, S.. *India Ber.*, 96 (1963) 976-979.

Queiroz, M. J. R. P. – *Estudos de Síntese em Precursores de Elipticinas*. Braga: Departamento de Química da Universidade do Minho, 1993. Dissertação de Doutoramento.

Quillinan, A. J., Acheinmann, F.- Studies in xanthone series. Part XII. A general synthesis of polyoxygenated xanthenes from benzophenone precursors. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1* (1973) 1329-1337.

Raposo, M. M. M. – *Estudos de Síntese em Carbazolas e Piridocarbazolas*. Braga: Departamento de Química da Universidade do Minho, 1996. Dissertação de Doutoramento.

Sandulache, Angela – *Novas Metodologias de Síntese de Xantonas*. Aveiro: Departamento de Química da Universidade de Aveiro, 2001. Dissertação de Doutoramento.

Saraiva, L.; Fresco, P.; Pinto, E.; Sousa, E.; Pinto, M.; Gonçalves, J. – Synthesis and *in vivo* modulatory activity of protein kinase C of xanthone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* 10 (2002) 3219-3227.

Sekar, M.; Prasad, K. J. Rajendra – A one-step synthesis of girinimbine isomers and their analogues. *Indian J. Chem.*, 33B (1994) 479-480.

Smith, W. E. - A Convenient Reduction of the Carbon-Nitrogen Double Bond. *J. Org. Chem.*, 37: 24 (1972) 3972-3973.

Ullmann, F.; Zlokasoff, M. – Ueber arylsalicylsäuren un deren Ueberführung in xanthone. *Ber. D. Chem. Ges.*, 38 (1905) 2111-2119.

Zhang, Y.; Wada, T.; Wang, L.; Sasabe, H. – A novel approach to the synthesis of conjugated carbazole trimers as multifunctional chromophores for photorefractive materials. *Tetrahedron Lett.*, 38: 10 (1997) 1785-1788.

Zhao, D.; Lee, D. G. – Heterogeneous permanganate oxidations; Part 6: Selective oxidation of arenes. *Synthesis*, (1994) 915-916.

CAPÍTULO V

Estudos Fotofísicos, Fotoquímicos e Biológicos

Parte A

Estudos fotofísicos e fotoquímicos

1. Contextualização

1.1. Objectivo deste estudo

A Fotoquímica teve um papel fundamental na história do nosso planeta. Muito antes de a vida surgir, a atmosfera da Terra era de natureza vulcânica, consistindo basicamente em metano, dióxido de carbono, vapor de água e azoto. A luz UV proveniente do Sol dissociou estas moléculas em espécies muito reactivas que poderão ter actuado na origem da vida no nosso planeta. Ainda hoje em dia, a decomposição do oxigénio, pela luz do Sol, é o processo fotoquímico de maior intensidade que ocorre na atmosfera da Terra (Rohatgi-Mukherjee, 1992).

Também no nosso organismo diversos processos fotoquímicos podem estar na origem de algumas doenças e na terapia de outras. Os egípcios, para tratar a doença vitiligo, utilizavam plantas que continham substâncias, mais tarde identificadas como psoralenos, e expunham-se ao Sol, demonstrando assim, empiricamente, que uma das formas de acção dos psoralenos está directamente relacionada com a acção da radiação sobre estes compostos. Foi, já no século XX, demonstrado que alguns dos psoralenos e seus análogos geravam espécies reactivas de oxigénio, como o oxigénio singuleto, interferindo nos processos celulares, por exemplo, oxidando aminoácidos e lípidos (ver Cap. I).

Quando se introduziu o grupo éster em alguns dos compostos análogos do psoraleno sintetizados, como está descrito nos capítulos II-IV, previu-se que esses compostos seriam capazes de gerar oxigénio singuleto com rendimentos elevados, por comparação com o 3-CPS, estudado por outros autores. Também diversas referências indicam que os psoralenos reagem com o ADN, após irradiação, a partir do estado tripleto, o que indica uma maior probabilidade de ocorrer a produção de oxigénio singuleto (reacções dependentes do oxigénio – *Tipo II*) (ver Cap. I).

Assim, decidiu-se investigar, o rendimento de formação de oxigénio singuleto dos compostos sintetizados.

1.2. Os psoralenos como fotossensibilizadores na formação de oxigênio singuleto

Tal como foi descrito no Capítulo I (5.1.), os fotossensibilizadores podem actuar, essencialmente, através de reacções fotodinâmicas (dependentes do oxigénio: *Tipos I e II*), reacções independentes do oxigénio (*Tipo III*) e reacções de ionização.

É através de reacções do *Tipo II*, envolvendo transferência de energia que é produzido o oxigénio singuleto.

O oxigénio é uma molécula diatómica e, na Figura 1, apresenta-se um esquema das orbitais moleculares geradas a partir das orbitais atómicas 2p.

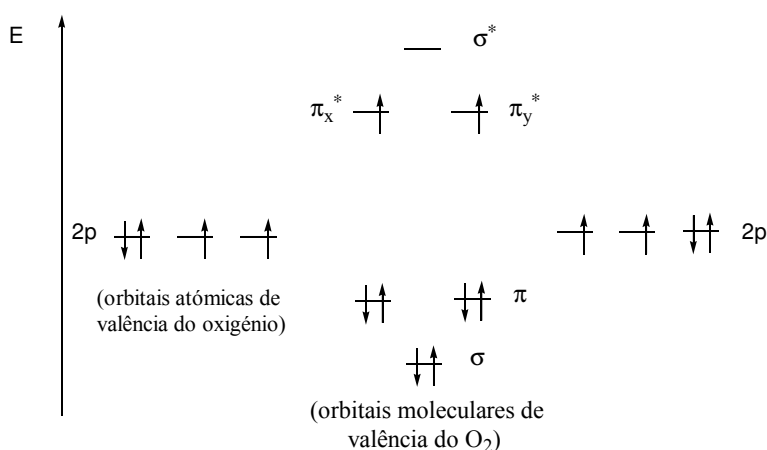


Figura 1 – Orbitais moleculares do oxigênio geradas a partir das orbitais atómicas 2p.

O estado fundamental da molécula de oxigénio corresponde ao estado tripleto ($^3\Sigma_g$) e é também, muitas vezes, representado por T_0 ou por 3O_2 . O termo oxigénio singuleto refere-se, geralmente, ao primeiro estado excitado da molécula (S_1 , $^1\Delta_g$ ou 1O_2) (Figura 2). Neste estado, os dois electrões nas orbitais π^* estão emparelhados, sendo, por isso, o momento total de spin, S , igual a 0 e $2S+1 = 1$ (a multiplicidade do estado energético corresponde, portanto, a um estado singuleto). Ambos os electrões têm o mesmo valor de momento angular (± 1) já que pertencem à mesma orbital (π) e, assim, o momento angular total, correspondente à soma dos momentos, é ± 2 , sendo o estado da molécula representado pelo símbolo Δ . O símbolo “g” (do inglês gerade ou simétrica) refere-se à simetria das orbitais em relação ao eixo da ligação (Rohatgi-Mukherjee, 1992; Turro, 1991) (Figura 2).

O segundo estado excitado ($^3\Sigma_g$) não costuma ser considerado, por ter um tempo de vida curto em solução (10^{-12} s), relativamente ao primeiro estado excitado ($10^{-3} - 10^{-6}$ s) (Wasserman, 1995).

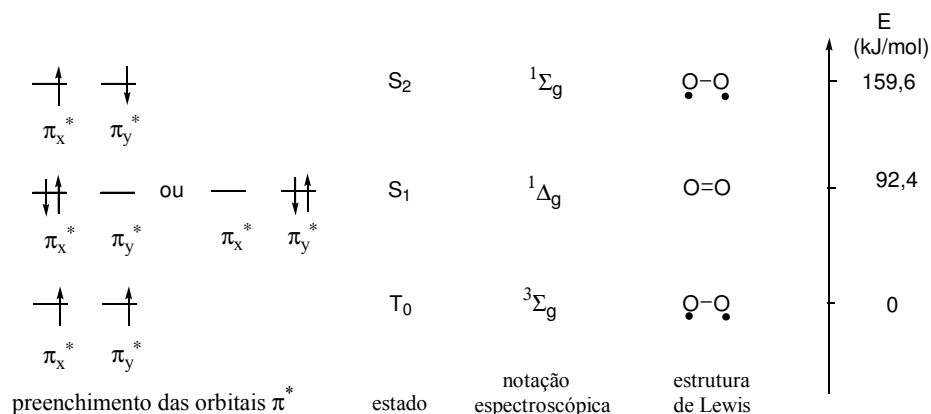
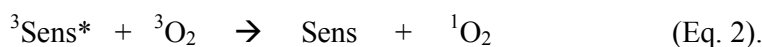
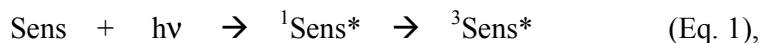


Figura 2 - Dados sobre os primeiros estados energéticos da molécula de O_2 , considerando apenas os electrões das orbitais de valência π^* (Gilbert, 1991; Turro, 1991).

A transição $^3\text{O}_2 \rightarrow ^1\text{O}_2$ é proibida ($\Delta S \neq 0$) pelo que a excitação directa (através de radiação), a partir do estado fundamental, é muito improvável, assim como também é pouco provável a desexcitação, a partir do primeiro estado excitado. No entanto, quando a excitação ocorre, a energia “suplementar” de 92,4 kJ/mol e o facto de se tratar de um estado singuleto, faz com que o $^1\text{O}_2$ possa reagir, sem restrições, com a maioria das moléculas, cujo estado fundamental é também um estado singuleto, formando peróxidos (Becker, 1995; Gilbert, 1991).

A produção do oxigénio singuleto pode ocorrer indirectamente, através de transferência de energia de um fotossensibilizador (Sens). Para que o processo seja permitido, o fotossensibilizador precisa de ser inicialmente excitado ao estado tripleto reagindo depois com o oxigénio no estado tripleto (Eq. 1 e 2). Os estados tripletos dos dois compostos são anulados, transferindo-se energia que origina o oxigénio singuleto ($^1\text{O}_2$):



Os compostos sintetizados, análogos do psoraleno (Figura 3), têm diferentes cromóforos, sendo as principais transições: $\sigma \rightarrow \sigma^*$, de elevada energia e associadas ao grupo alquilo, $\pi \rightarrow \pi^*$, típicas de sistemas insaturados e aromáticos e $n \rightarrow \pi^*$, típicas dos grupos carbonilo, ciano e nitro (Gilbert, 1991).

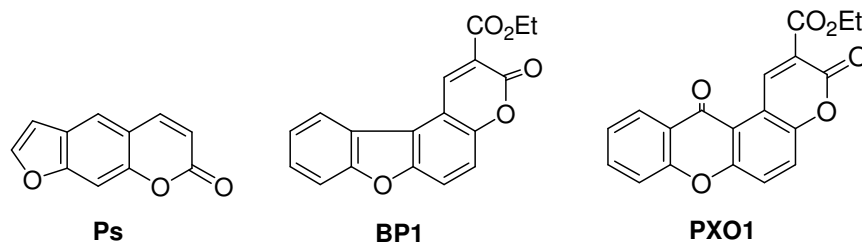


Figura 3 – Estrutura de análogos do psoraleno (Ps) sintetizados: um benzopsoraleno (BP1) e uma piranoxantona (PXO1).

Para que estes compostos actuem como fotossensibilizadores da reacção em que se produz o oxigénio singuleto, precisam de ser excitados ao estado tripleto, o que pode acontecer através de transições não radiativas cruzadas entre estados com diferentes momentos de spin (intersystem crossing, ISC). Estas podem ser, de acordo com as regras de El Sayed (Gilbert, 1991, Turro, 1991):

- $S_1(\pi, \pi^*) \rightarrow T_1(\pi, \pi^*)$ ou $S_1(n, \pi^*) \rightarrow T_1(n, \pi^*)$, “não permitidas”;
- $S_1(\pi, \pi^*) \rightarrow T_1(n, \pi^*)$ ou $S_1(n, \pi^*) \rightarrow T_1(\pi, \pi^*)$, “permitidas”.

Sabe-se ainda que, nos compostos de carbonilo α,β -insaturados, os estados singuleto excitados $^1(n, \pi^*)$ e $^1(\pi, \pi^*)$ são pouco energéticos podendo apresentar bandas de absorção até 320 nm. Para além disso, as transições dos estados singuleto para os estados tripleto $^3(n, \pi^*)$ e $^3(\pi, \pi^*)$ ocorrem com um rendimento quântico próximo de 1. Estes estados tripleto têm energias aproximadamente iguais, dependendo a posição relativa, entre eles, das posições de grupos substituintes e do solvente. Portanto, na prática, os estados excitados mais importantes, a considerar, para este tipo de compostos são os estados tripleto (Gilbert, 1991; Turro, 1991).

Outros autores demonstraram que uma eficiência elevada na produção de oxigénio singuleto está, geralmente, associada ao estado $^3(\pi, \pi)^*$ (Darmanyan, 1993).

Como já referido no Capítulo I (ponto 5.2.) diversos trabalhos demonstraram que os psoralenos reagem fotoquimicamente com o ADN, a partir do estado tripleto. Mantulin e Song (1973) demonstraram ainda que o estado tripleto com menor energia de cumarinas e derivados, como o psoraleno, é do tipo $^3(\pi, \pi^*)$, sendo este estado atribuído, sobretudo, à excitação dos electrões π da dupla ligação entre os átomos de carbono 3 e 4 do anel de piranona.

Na Figura 4 apresenta-se o diagrama de Jablonski qualitativo e alguns dados, obtidos para diversos psoralenos (psoraleno não substituído, 8-MOP, 5-MOP, etc) que confirmam o que se referiu no parágrafo anterior (Mantulin, 1973; Song, 1979).

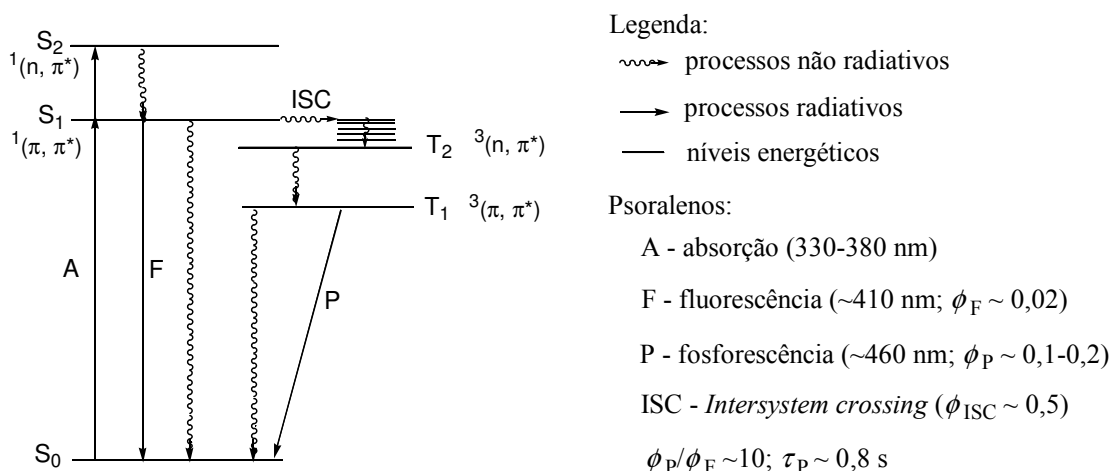


Figura 4 – Diagrama de Jablonski e dados experimentais, em etanol, referentes a diversos psoralenos (psoraleno, 8-MOP, 5-MOP, etc) (Mantulin, 1973; Song, 1979).

Sendo o estado tripleto de menor energia um estado $(\pi, \pi)^*$ e o rendimento quântico do estado tripleto (correspondente a ϕ_{ISC}), assim como o tempo de vida desse estado (correspondente a τ_P) relativamente elevados (Figura 4), não é de surpreender o facto de os psoralenos poderem sensibilizar a produção de oxigénio singuleto. No entanto, excepto para o 3-CPS, os rendimentos são, geralmente, baixos (Tabela I).

De facto, Knox *et al.* (1988), mostraram que furocumarinas lineares e angulares, com grupos substituintes externos de carbonilo, em conjugação com o sistema aromático, (*e.g.*, um grupo éster na posição 3) têm rendimentos de conversão no estado tripleto e de produção de oxigénio singuleto mais elevados do que as furocumarinas sem este tipo de substituição.

Tabela I – Rendimento quântico de produção do oxigénio singuleto de alguns psoralenos, em benzeno (Redmond, 1999).

Composto	Φ_{Δ}
Psoraleno	0,012
5-Metoxipsoraleno (5-MOP)	0,021
8-Metoxipsoraleno (8-MOP)	0,004
4,5',8-Trimetilpsoraleno (TMP)	0,084
Psoraleno-3-carboxilato de etilo (3-CPS)	0,30

Assim, é de esperar que os benzopsoralenos sintetizados, bem como os outros compostos, com um sistema de cumarina substituído na posição 3, possam ter rendimentos elevados de produção de oxigénio singuleto.

De notar ainda que a produção de oxigénio singuleto é dependente da eficiência da transferência de energia entre o sensibilizador e o $^3\text{O}_2$, sendo esta eficiência dependente da natureza do solvente e sobretudo do tempo de vida do estado tripleto do sensibilizador (Becker, 1995; Gilbert, 1991).

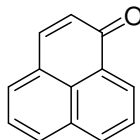
2. Apresentação e discussão dos resultados

2.1. Determinação do rendimento de formação de oxigénio singuleto e de outras constantes fotofísicas

A detecção e medida do rendimento da produção de oxigénio singuleto pode ser efectuada através de diversos métodos que foram desenvolvidos ao longo dos anos, tais como métodos calorimétricos (calorimetria fotoacústica), métodos fotoquímicos (utilizando supressores) ou métodos de determinação através de medidas resolvidas no tempo, da fosforescência do $^1\text{O}_2$ (Arakane, 1996; Gorman, 1987; Krajlić, 1978; Schmidt, 1994). Neste estudo utilizaram-se os dois últimos tipos de métodos.

Em geral, estes métodos utilizam um fotossensibilizador padrão, cujo rendimento de produção de oxigénio singuleto é elevado e bem definido e que serve de comparação para determinação do rendimento da amostra (Schmidt, 1994).

Neste trabalho utilizou-se como padrão a 1H-fenalen-1-ona conhecida simplesmente como fenalenona (**Fen**) (Figura 5). Este composto, tem um rendimento de formação de oxigénio singuleto de $0,98 \pm 0,02$ (a 25 °C, em metanol) (Schmidt, 1994).



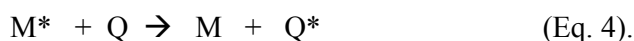
Fen

Figura 5 – Fórmula de estrutura do fotossensibilizador padrão: fenalenona (**Fen**).

2.1.1. Método fotoquímico: utilização de supressores

Um supressor (Q, em inglês quencher) é uma molécula que interage ou reage com outra molécula que se encontra no estado excitado, competindo desta forma com a emissão espontânea dessa molécula e fazendo diminuir o tempo de vida da molécula excitada. A intensidade total da emissão dessa espécie é reduzida de uma forma proporcional à concentração do supressor (Gilbert, 1991).

As reacções de supressão podem ocorrer através de processos físicos, por exemplo, através da formação de um exciplexo - complexo no estado excitado formado entre a molécula excitada, M^* , e o supressor, Q, (Eq. 3), que decai, emitindo radiação a comprimentos de onda superiores aos emitidos pela molécula excitada, ou através de um processo de transferência de energia (Eq. 4) (Turro, 1991):



Na realidade, no processo de fotossensibilização em que se produz o oxigénio singuleto, o oxigénio no estado fundamental (3O_2) actua como supressor do estado tripleto do fotossensibilizador (compare-se a Eq. 2 com a Eq. 4).

O processo de supressão pode ocorrer também através de processos químicos em que ocorre transferência de electrões podendo resultar produtos de adição, espécies iónicas e/ou radicalares.

A supressão do oxigénio singuleto, ocorre, numa fase inicial, por transferência de carga para o oxigénio formando-se espécies radicalares e/ou iónicas como o anião superóxido (Turro, 1991). Posteriormente, ou então de uma forma concertada, podem formar-se diferentes produtos resultantes de:

- transferência de hidrogénio atómico seguido de adição (formação de hidroperóxidos alílicos);
- cicloadições [2+2] e [4+2] (formação de 1,2-dioxetanos e de endoperóxidos, respectivamente);
- oxigenação (formação de óxidos).

Para a determinação, através de métodos fotoquímicos da eficiência de produção do $^1\text{O}_2$, dos compostos sintetizados, utilizou-se como supressor o 1,3-difenilbenzo[1,2-c]furano, conhecido como 1,3-difenilisobenzofurano (Dfb). Este composto tem sido muito utilizado em estudos sobre o oxigénio singuleto (Matheson, 1974) pois reage rapidamente com o oxigénio singuleto (Figura 6), originando um endoperóxido instável (**a**) que se decompõe no 1,2-dibenzoílbenzene (**b**). Os pormenores sobre esta reacção são ainda controversos (Kierkus, 1995; Young, 1971).

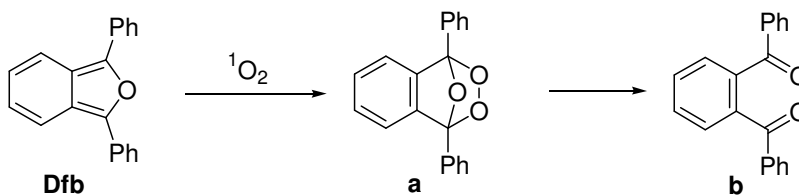
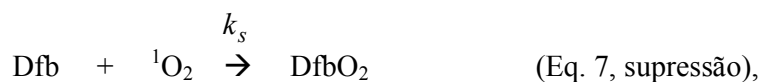
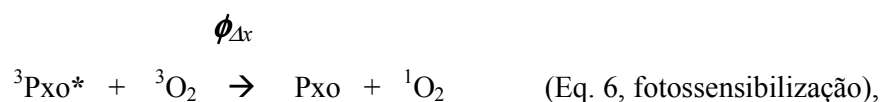
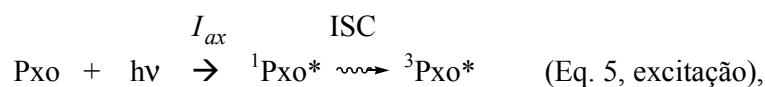


Figura 6 – Reacção de supressão do oxigénio singuleto pelo **Dfb**.

Na irradiação das soluções, em metanol, constituídas por amostra + supressor, padrão + supressor e supressor utilizou-se uma lâmpada de mercúrio (1000 W) e um filtro cuja transmitância é nula fora do intervalo 300-400 nm e máxima a 360 nm, intervalo este onde absorvem todos os compostos sintetizados e também o padrão (fenalenona). As soluções foram agitadas durante a irradiação, de modo a manter uma concentração constante de oxigénio ($^3\text{O}_2$) em solução. Utilizou-se um radiómetro equipado com um sensor específico para a radiação UVA, para medir o fluxo energético por unidade de área (φ , em W/m^2). Mediu-se a absorvância da solução irradiada ao fim de intervalos de tempo constantes (2 min), no comprimento de onda de absorção

máxima do supressor (417 nm), onde os compostos sintetizados e a fenalenona praticamente não absorvem.

A título de exemplo, explica-se de seguida, a medição do rendimento de produção de oxigénio singuleto de uma das piranoxantonas sintetizadas (Pxo), sendo o $^1\text{O}_2$ suprimido pelo 1,3-difenilisobenzofurano (Dfb). Supõe-se que as principais reacções que ocorrem são (Gorman, 1987):



A determinação do rendimento de produção de oxigénio singuleto da xantona ($\phi_{\Delta x}$) é efectuada com base na velocidade da reacção de supressão (Eq. 7). Sendo esta uma reacção bimolecular, entre o Dfb e o $^1\text{O}_2$, onde se forma o produto de adição referido, pode definir-se que (Rohatgi-Mukherjee, 1992; Turro, 1991):

$$v_x = k_s [\text{Dfb}] [^1\text{O}_2] \quad (\text{Eq. 9})$$

A concentração de oxigénio singuleto [$^1\text{O}_2$] depende do rendimento de produção de oxigénio singuleto pela Pxo ($\phi_{\Delta x}$) (Eq. 6) e da taxa de radiação absorvida pela piranoxantona (I_{ax}), se considerarmos que $\phi_{\text{ISC}} \sim 1$. A grandeza, I_a , também designada como intensidade de luminescência, é um dos parâmetros fundamentais para estudos de quimiluminescência e é medida em moles de fotões, por segundo e por decímetro cúbico (Turro, 2001). No entanto e dado que pode ocorrer a desactivação do $^1\text{O}_2$ pelo solvente com uma constante de velocidade, k_d , (Eq. 8), a concentração de $^1\text{O}_2$ na

solução, é então constante e definida pela seguinte expressão (Rohatgi-Mukherjee, 1992):

$$[{}^1\text{O}_2] = \frac{I_{ax}\phi_{\Delta x}}{k_d} \quad (\text{Eq. 10}).$$

Assim sendo, a Eq. 9 pode ser rescrita da seguinte forma:

$$v_x = \frac{k_s[\text{Dfb}]I_{ax}\phi_{\Delta x}}{k_d} \quad (\text{Eq. 11}).$$

A velocidade da reacção pode ser também definida em termos da taxa de decréscimo de [Dfb] resultando a Eq. 12:

$$-\frac{d[\text{Dfb}]}{dt} = \frac{k_s[\text{Dfb}]I_{ax}\phi_{\Delta x}}{k_d} \quad (\text{Eq. 12}).$$

Integrando esta equação entre os instantes $t = 0$ e $t = t$, obtém-se uma equação linear de primeira ordem:

$$\ln [\text{Dfb}]_t = -\frac{k_s I_{ax} \phi_{\Delta x}}{k_d} t + C_1 \quad (\text{Eq. 13}).$$

A lei de Beer-Lambert permite definir a absorvância (A) em função da [Dfb]:

$$A = \varepsilon l [\text{Dfb}] \quad (\text{Eq. 14}).$$

Portanto, a Eq. 13 pode ser rescrita como:

$$\ln A = -\frac{k_s I_{ax} \phi_{\Delta x}}{k_d} t + C_2 \quad (\text{Eq. 15}).$$

Assim, de acordo com a Eq. 15, é possível obter gráficos lineares de $\ln A = f(t)$, correspondente a uma equação de primeira ordem. Num dos ensaios realizados com o composto **PXO1** (ver Figura 3), em metanol, obteve-se o gráfico representado na Figura 7.

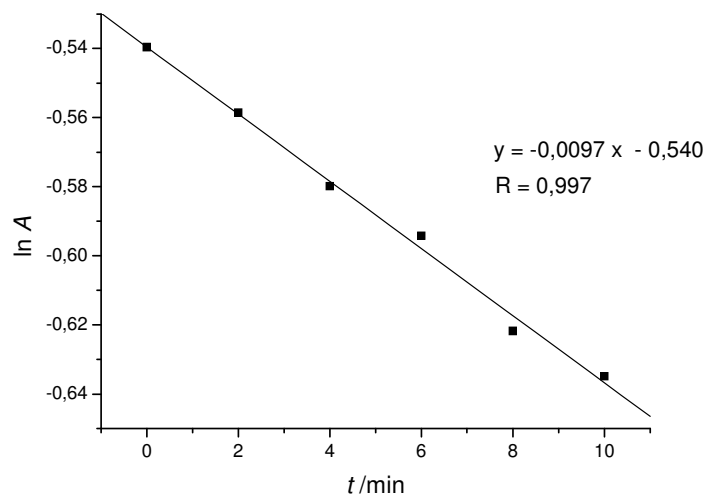


Figura 7 – Gráfico obtido no estudo da cinética da reacção de supressão do oxigénio singuleto, utilizando como sensibilizador o composto **PXO1**.

Este gráfico comprova que o processo é bimolecular e a sua velocidade é descrita pela Eq. 9. O declive da recta obtida corresponde à constante da velocidade (k_x) para o processo global de sensibilização e supressão:

$$k_x = - \frac{k_s I_{ax} \phi_{\Delta x}}{k_d} \quad (\text{Eq. 16}).$$

Neste ensaio, obteve-se $k_x = -0,0097 \text{ min}^{-1}$. Mediu-se ainda a diferença entre o fluxo energético, inicial e final, por unidade de área, resultando como fluxo absorvido por este composto $\phi_{ax} = 0,11 \text{ W/m}^2$.

Efectuou-se um ensaio, nas mesmas condições, para o padrão, a fenalenona, e obteve-se a constante equivalente a k_x , mas para o padrão, $k_p = -0,0076 \text{ min}^{-1}$ e $\phi_{ap} = 0,09 \text{ W/m}^2$.

Como o supressor pode sofrer degradação por fotólise directa, tendo em conta que este absorve radiação, na faixa de irradiação embora com pouca intensidade,

determinou-se também o valor da constante cinética k_x para o supressor, nas mesmas condições experimentais utilizadas para o padrão e para a amostra, tendo-se obtido um valor de $k_{\text{Dfb}} = -0,0007 \text{ min}^{-1}$, que foi subtraído às constantes do padrão e do composto a testar.

Pode converter-se matematicamente a Eq. 16 e definir a expressão para a constante da velocidade da reacção de supressão:

$$k_s = \frac{k_x k_d}{I_{ax} \phi_{\Delta x}} \quad (\text{Eq. 17}).$$

A constante da velocidade da reacção de supressão (k_s) é a mesma para o processo com a amostra e com o padrão. Os valores de k_d também são iguais nas duas reacções, dado que o solvente é o mesmo e o valor de ϕ_a é, directamente, proporcional ao de I_a . Assim, se os ensaios com a amostra fotossensibilizadora (x) e o padrão (p) forem realizadas nas mesmas condições, pode-se igualar as expressões de k_s para os dois compostos e obter a expressão traduzida pela Eq. 18, para determinação do rendimento de formação de oxigénio singuleto da amostra (x):

$$\phi_{\Delta x} = \frac{k_x \phi_{ap}}{k_p \phi_{ax}} \phi_{\Delta p} \quad (\text{Eq. 18}).$$

Com base nesta equação e nos valores indicados anteriormente, obteve-se nesse ensaio, um valor de rendimento de formação de oxigénio singuleto, para o composto **PXO1** de:

$$\phi_{\Delta (\text{PXO1})} = 1,05.$$

Um método análogo foi desenvolvido por Krajlić e Moshni (1978) sendo muito usado para a determinação do oxigénio singuleto em soluções aquosas. Nesse método fotoquímico é utilizando um corante que sofre descoloração quando reage com a espécie intermediária (um peróxido) que se forma entre o supressor utilizado e o $^1\text{O}_2$.

2.1.2. Métodos fotofísicos: medidas temporais baseadas na fosforescência do oxigênio singuleto

O rendimento da produção de oxigênio singuleto da maioria dos compostos sintetizados foi determinado por medições fotofísicas, utilizando a fosforescência do oxigênio singuleto. Esta fosforescência corresponde a uma energia de 94 kJ/mol (1270 nm) do decaimento do $^1\Delta_g$.

As determinações experimentais foram realizados fazendo irradiação pulsada com um laser e medindo o decaimento da fosforescência do oxigênio singuleto resolvido no tempo. A diferença de potencial do sinal emitido pelo 1O_2 é proporcional à energia do feixe do laser e à quantidade de oxigênio singuleto produzido. Os resultados foram também determinados em relação a um padrão (fenalenona) de modo a eliminar possíveis influências do solvente.

Os resultados finais são determinados com base na razão de intensidades da radiação emitida pela amostra (I_x) e pelo padrão (I_p):

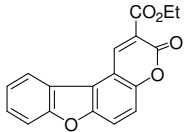
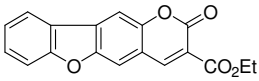
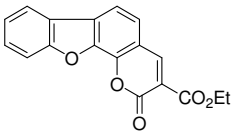
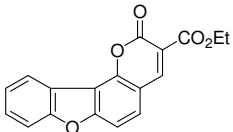
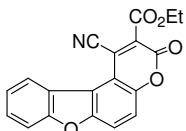
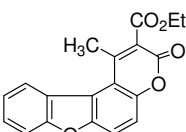
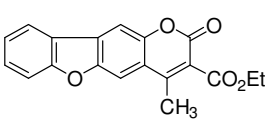
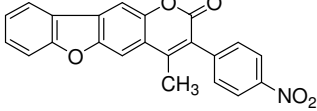
$$\phi_{\Delta x} = \frac{I_x}{I_p} \phi_{\Delta p} \quad (\text{Eq. 19}).$$

2.1.3. Resultados finais

Com base nos métodos descritos nos pontos anteriores, determinou-se o rendimento de produção de oxigênio singuleto para os compostos sintetizados: benzopsoralenos (Tabela II), piranoxantonas e piranocarbazoles (Tabela III).

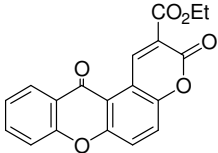
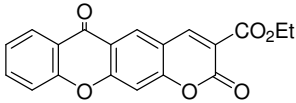
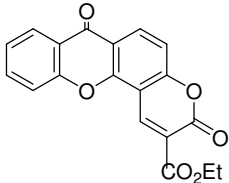
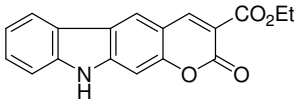
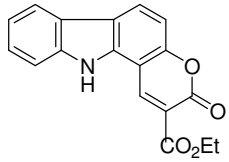
Pode-se verificar que a maioria dos benzopsoralenos têm rendimentos de formação de oxigênio singuleto elevados. As piranoxantonas também apresentam uma boa eficiência, ao contrário dos piranocarbazoles, em que a produção de 1O_2 é praticamente nula.

Tabela II – Valores do rendimento de produção do oxigênio singuleto (ϕ_{Δ}), CHCl_3 , dos benzopsoralenos (BP) sintetizados, determinados com base no método fotoquímico (*Método 1*) e na fosforescência do $^1\text{O}_2$ (*Método 2*).

Composto	ϕ_{Δ}	
	<i>Método 1</i>	<i>Método 2</i>
 BP 1 (6a, Cap. II)	0,87 ^{a)}	0,99
 BP 2 (6b, Cap. II)	1,00 ^{a)}	0,97
 BP 3 (6c, Cap. II)	0,67	0,72
 BP 4 (6d, Cap. II)	0,79	0,54
 BP 5 (7, Cap. III)	1,00	0,92
 BP 6 (6, Cap. III)	0,70	0,72
 BP 7 (4, Cap. III)	0,18	0,41
 BP 8 (5, Cap. III)	b)	1,04

^{a)}(Paula, 2003); ^{b)} Não foi determinado.

Tabela III – Valores do rendimento de produção do oxigênio singuleto (ϕ_{Δ}), em metanol, para as piranoxantonas (PXO) e os piranocarbazoles (PCE) sintetizados, determinados com base no método fotoquímico (*Método 1*) e na fosforescência do $^1\text{O}_2$ (*Método 2*).

Composto	ϕ_{Δ}	
	<i>Método 1</i>	<i>Método 2</i>
 PXO 1 (11a, Cap. IV)	1,00	1,00
 PXO 2 (16, Cap. IV)	0,31	0,37
 PXO 3 (11b, Cap. IV)	0,27	0,35
 PCE 1 (19b, Cap. IV)	a)	0,05
 PCE 2 (19a, Cap. IV)	a)	0,04

a) Não foi determinado.

Os dois métodos produziram resultados análogos para a maioria dos compostos. Embora os resultados obtidos através da fosforescência de $^1\text{O}_2$ possam parecer mais fiáveis que os resultados obtidos através do método fotoquímico, ambos são igualmente credíveis já que as duas metodologias partem de aproximações e o processo experimental é facilmente sujeito a erros. Deve-se realçar que os resultados apresentados neste trabalho, para as medidas resolvidas no tempo, foram obtidos com

uma única medida experimental, enquanto que nas medidas em estado estacionário (fotoquímicas) foram efectuados, no mínimo, três ensaios para cada determinação. O desvio nestas medidas situa-se entre 5 e 10 %. Os valores obtidos com o método resolvido no tempo, são, na verdade, considerados como uma prova de validação da metodologia utilizada nas determinações em regime estacionário.

Considerando o elevado rendimento de formação de oxigénio singuleto, por exemplo dos benzopsoralenos **BP1** e **BP2**, pode-se ainda prever que, para estes compostos, o estado excitado tripleto responsável pela fotossensibilização é um estado π, π^* , de acordo com o que se referiu anteriormente.

A razão para alguns dos compostos sensibilizarem a formação de oxigénio singuleto com eficiência considerável deve-se a tempos de vida longos dos seus estados tripleto (da ordem de 10^{-8} s). Note-se que a fenalenona, sendo um bom fotossensibilizador, tem um tempo de vida do estado tripleto da ordem de 10^{-9} s (Machado, 2001).

Estes estudos foram realizados nos Laboratórios de Fotoquímica, de Espectroscopia Resolvida no Tempo e de Cinética Rápida e Fotoquímica, respectivamente, da Universidade Federal da Uberlândia, da Universidade Federal do Rio de Janeiro e da Universidade de S. Paulo, pelo Prof. Antonio Eduardo da Hora Machado e por elementos do seu grupo de investigação. Durante uma visita à Universidade da Uberlândia, a autora colaborou nas determinações realizadas pelo método fotoquímico.

3. Conclusões

Os resultados obtidos para a produção do oxigénio singuleto, dos benzopsoralenos cuja síntese foi descrita nos capítulos II e III, revelaram-se muito interessantes, já que, mesmo considerando o bom rendimento esperado, por comparação com o 3-CPS, ultrapassaram as expectativas.

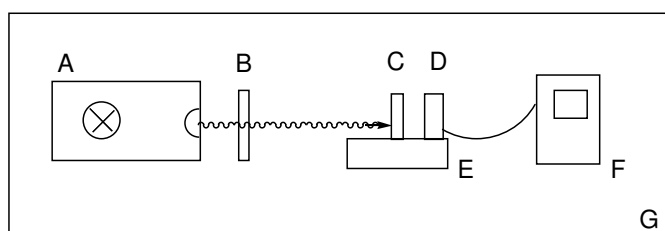
Ambos os métodos utilizados deram resultados semelhantes o que, tendo em conta as diversas variáveis experimentais, torna os valores apresentados bastante fiáveis.

4. Parte experimental

4.1. Determinação do rendimento de formação de $^1\text{O}_2$ pelo método fotoquímico

Foram preparadas soluções dos fotossensibilizadores (benzopsoralenos, piranoxantonas, piranocarbazoles e fenalenona (*Aldrich*)) com concentrações da ordem de 10^{-5} mol.dm⁻³ ao qual se adicionou o supressor, 1,3-difenilisobenzofurano (*Aldrich*), no estado sólido, de modo a que a concentração deste fosse cerca de cinco vezes superior à dos fotossensibilizadores. Preparou-se ainda uma solução apenas com o supressor. As soluções foram irradiadas durante 10 min, com agitação, sendo medida a absorvância da solução, de 2 em 2 minutos, num espectrofotómetro (*Shimadzu UV-1201*). Registaram-se os valores dos fluxos energéticos por unidade de área, medidos no radiómetro (*Solar Light PMA 2100*), equipado com um sensor específico para o UVA, no início e no fim de cada ensaio.

O sistema para irradiação e medição do fluxo energético, esquematizado na Figura 8, foi construído no Laboratório de Fotoquímica da Universidade Federal da Uberlândia. Utilizou-se uma lâmpada de mercúrio de 1000 W (principais emissões 310–1000 nm) e um filtro (*Ocean Optics, Inc U360*) que permite a transmissão da radiação entre 300-400 nm (máximo a 360 (70 %)).



Legenda:

- A- Lâmpada com sistema de refrigeração e de espelhos para colimar o feixe.
- B- Filtro.
- C- Solução em célula de quartzo.
- D- Sensor do radiómetro.
- E- Suporte com placa de agitação.
- F- Radiómetro.
- G- Caixa fechada.

Figura 8 – Esquema da montagem efectuada para a irradiação das amostras e medição do fluxo energético.

4.2. Determinação do rendimento de formação de $^1\text{O}_2$ através da sua fosforescência

A determinação do rendimento de formação do oxigénio singuleto foi efectuada em soluções, com valores de absorvância de 0,300, a um comprimento de onda de 355 nm.

Foi usado um aparelho de medição resolvida no tempo LP 900 Edinburgh Analytical Instruments, com um laser de pulsos (intervalos de 5 ns, a 355 nm) fornecido por Nd-YAG CONTINUUM SURELITE II (Q-switched em 200 μs). As amostras e o padrão foram excitadas com diferentes pulsos de energia (0 a 8 mJ), sendo medida a intensidade da emissão a 1270 nm com um detector NORTH COAST EO-817.

O rendimento de produção de oxigénio singuleto foi determinado usando como padrão a fenalenona. A razão das intensidades emitidas pela amostra e pelo padrão I_x/I_p calculou-se a partir dos declives do gráfico da intensidade do sinal em função do pulso de energia do laser.

5. Referências

Arakane, K.; Ryo, A.; Takarada, K.; Masunaga, T.; Shinmoto, K.; Kobayashi, R.; Mashiko, S.; Nagano, T.; Hirobe, M. – Measurement of 1268 nm emission for comparison of singlet oxygen ($^1\Delta_g$) production efficiency of various dyes. *Chem. Pharm. Bull.*, 44:1 (1996) 1-4.

Becker, R. S.; Maçanita, A. L. – Biological photosensitizers. Phototoxic agents of the future? *Rev. Port. Quím.*, 2 (1995) 30-44.

Darmanyan, A. P.; Foote, C. S. – Solvent effects on singlet oxygen yield from n,π^* and π,π^* triplet carbonyl compounds. *J. Phys. Chem.*, 97 (1993) 5032-5035.

Gilbert, A.; Baggott, J. – *Essentials of Molecular Photochemistry*. Blackwell Scientific Publications, 1991.

Gorman, A. A.; Hamblett, I.; Lambert, C.; Rescott, A. L.; Rodgers, M. A. J.; Spence, H. M. – Aromatic ketone-naphthalene systems as absolute standards for triplet-sensitized formation of singlet oxygen, O_2 ($^1\Delta_g$), in organic and aqueous media: a time resolved luminescence study. *J. Am. Chem. Soc.*, 109 (1987) 3091-3097.

Kierkus, P. C. – 1,3-Diphenylisobenzofuran. In *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; Ed. Paquette, L.A.; Vol. 4; John Wiley & Sons, 1995, p. 2223-2225.

Knox, C. N.; Land, E. J.; Truscott, T. G. – Triplet state properties and triplet-state-oxygen interactions of some linear and angular furocoumarins. *J. Photochem. Photobiol. B*, 1 (1988) 315-321.

Krajlić, I.; Mohsni, S. – A new method for the detection of singlet oxygen in aqueous solutions. *Photochem. Photobiol.*, 28 (1978), 577-581.

Machado, A. E. H.; Miranda, J. A.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Severino, D.; Nicodem, D. E. - Photophysical properties of two new psoralen analogs. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, 146 (2001) 75-81.

Mantulin, W. W.; Song, P.-S. – Excited states of skin-sensitizing coumarins and psoralens. Spectroscopic studies. *J. Am. Chem. Soc.*, 95:16 (1973) 5122-5129.

Matheson, I. B. C.; Lee, J.; Yamanashi, B. S.; Wolbarsht, M. L. – Measurements of the absolute rate constants for singlet molecular oxygen ($^1\Delta_g$) reaction with 1,3-diphenylisobenzofuran and physical quenching by ground state molecular oxygen. *J. Am. Chem. Soc.*, 96:11 (1974) 3343-3348.

Paula, R. – *Aplicação de uma Cumarina como Sonda Fluorescente e Caracterização Fotofísica e Espectroscópica de Três Análogos de Psoraleno em Meios Homogêneo e Microheterogêneo*. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, 2003.

Redmond, R. W.; Gamlin, J. N. – A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules. Invited Review. *Photochem. Photobiol.*, 70:4 (1999) 391-475.

Rohatgi-Mukherjee, K. K. - *Fundamentals of Photochemistry*, Revised Ed.. Wiley Eastern Limited, 1992.

Schmidt, R.; Tanielian, C.; Dunsbach, R.; Wolff, C. – Phenalenone, a universal reference compound for the determination of quantum yields of singlet oxygen $O_2(^1\Delta_g)$ sensitisation. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 79 (1994) 11-17.

Song, P.-L. ; Tapley Jr., K.J. – Photochemistry and photobiology of psoralens. Review article. *Photochem. Photobiol.*, 29 (1979) 1177-1197.

Turro, N. J. – *Modern Molecular Photochemistry*. University Science Books, 1991.

Young, R. H.; Wehrly, K.; Martin, R. L. – Solvent effects in dye-sensitized photooxidation reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, 93:22 (1971) 5774-5779.

Wasserman, H. H.; DeSimone, R. W. – *Singlet Oxygen*. In *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; Ed. Paquette, L.A.; Vol. 6; John Wiley & Sons, 1995, p. 4478-4484.

Parte B

Estudos biológicos

1. Contextualização: objectivo deste estudo

A psoríase é uma das doenças em que se utiliza o tratamento PUVA. Sendo esta doença resultante de uma proliferação acentuada de células epidérmicas, trabalhos de investigação sobre a acção de análogos e derivados de psoralenos cedo começaram a incluir testes biológicos em que foi avaliada a capacidade antiproliferativa dos compostos, sob a acção de luz UVA. Dado o interesse crescente nesta classe de fármacos, foram também realizados alguns testes de actividade antiproliferativa na ausência da luz em linhas celulares normais e tumorais. Vários grupos de investigação estudaram a actividade antiproliferativa de análogos do psoraleno, perante algumas linhas celulares tumorais e não tumorais, tendo-se verificado que esses compostos revelaram ser 100 vezes mais activos que o 8-MOP, tanto na ausência de luz como quando foram irradiados com UVA (ver Cap. I).

Também alguns trabalhos realizados com kielcorinas (Figura 1), compostos com alguma analogia às piranoxantonas sintetizadas, revelaram que aqueles compostos têm uma actividade inibitória moderada em algumas linhas celulares tumorais humanas, assim como, um efeito compatível com a inibição de algumas isoformas da enzima cínase C, de proteínas associadas a processos de tumorigénese (Pinto, 2003; Saraiva, 2003; Sousa, 2002 e 2003).

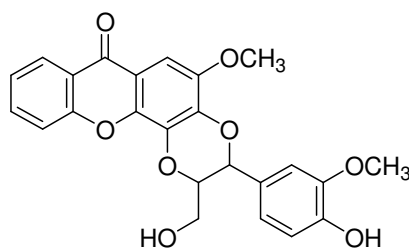


Figura 1 – Fórmula de estrutura de uma kielcorina.

Assim, resolveu-se avaliar a actividade antiproliferativa (ou inibidora do crescimento), na ausência de luz, dos compostos cuja síntese foi descrita nos capítulos II a IV, perante diferentes linhas celulares tumorais humanas.

2. Apresentação e discussão dos resultados

2.1. Actividade antiproliferativa dos compostos sintetizados em linhas celulares tumorais humanas

O Instituto Nacional do Cancro dos Estados Unidos da América (NCI: *National Cancer Institute*) desenvolveu no início dos anos 90 um programa de rastreio de novos fármacos potencialmente anti-cancerígenos onde é avaliada a actividade citotóxica (ou inibidora do crescimento celular) dos diferentes compostos químicos, relativamente a um conjunto de 60 linhas celulares tumorais humanas. Estima-se que sejam analisados 400 compostos por semana. Quando as actividades dos compostos são promissoras, são de seguida realizados testes *in vivo* e estudos acerca de possíveis relações entre a estrutura dos compostos testados e as biomoléculas alvo da célula maligna (Boyd, 1987; Monks, 1991).

Neste trabalho foi avaliada a actividade citotóxica dos compostos sintetizados, benzopsoalenos (BP), piranoxantonas (PXO) e piranocarbazoles (PCE), em três linhas celulares tumorais humanas, nomeadamente MCF-7 (cancro da mama), NCI-H460 (cancro do pulmão) e SF-268 (cancro do sistema nervoso central). Foi seguido o procedimento adoptado no programa do NCI, o qual avalia indirectamente o crescimento das linhas celulares através da quantificação do conteúdo proteico celular pelo corante sulforrodamina B (Monks, 1991). Estes ensaios biológicos foram realizados no Centro de Estudos de Química Orgânica, Fitoquímica e Farmacologia da Universidade do Porto (CEQOFFUP), na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, pelo grupo da Prof. Doutora Maria de São José Nascimento. Os resultados destas experiências são apresentados na Tabela I. Os compostos foram numerados, tal como consta na *Parte A* deste capítulo.

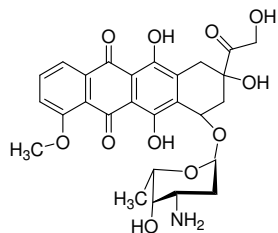
Os resultados foram expressos em termos de GI_{50} , em $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ($= 1 \times 10^{-6} \text{ mol}/\text{dm}^3$). O valor de GI_{50} (*growth inhibition*) corresponde à concentração do composto que causa 50 % de inibição do crescimento celular. Os valores de GI_{50} foram calculados com a ajuda de um programa fornecido pelo NCI, o qual elabora, para cada composto e para cada linha celular, uma curva “dose-resposta”.

Tabela I – Efeito dos benzopsporalenos (BP), piranoxantonas (PXO) e piranocarbazoles (PCE) no crescimento de linhas celulares tumorais humanas.

Composto	$GI_{50} / (x 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3})^a$		
	MCF-7	NCI-H460	SF-268
BP 1	13,9 ± 1,2	20,4 ± 1,1	17,6 ± 1,4
BP 2	> 100	> 100	> 100
BP 3	> 150	> 150	120,3 ± 8,4
BP 4	19,4 ± 1,9	31,2 ± 1,8	115,7 ± 10,2
BP 5	> 150	> 150	> 150
BP 6	> 150	> 150	> 150
BP 7	> 150	> 150	> 150
BP 8	58,4 ± 8,8	82,7 ± 4,5	72,7 ± 1,6
PXO 1	48,2 ± 3,4	≥ 150	≥ 150
PXO 2	> 150	> 150	> 150
PXO 3	138,8 ± 4,8	142,7 ± 6,0	145,7 ± 3,0
PCE 1	> 150	> 150	> 150
PCE 2	11,6 ± 0,5	36,0 ± 4,0	20,6 ± 1,5

^{a)} Os resultados representam as médias ± SEM de 3-6 ensaios independentes, realizados em duplicado.

Apresentam-se ainda os valores de GI_{50} , obtidos nas mesmas condições, para a doxorubicina, um fármaco de referência, utilizado em tratamentos do cancro (Figura 2).



$$GI_{50} (\text{MCF-7}) = (42,8 \pm 8,2) \times 10^{-9} \text{ mol.dm}^{-3};$$

$$GI_{50} (\text{NCI-H460}) = (94,0 \pm 8,7) \times 10^{-9} \text{ mol.dm}^{-3};$$

$$GI_{50} (\text{SF-268}) = (93,0 \pm 7,0) \times 10^{-9} \text{ mol.dm}^{-3}.$$

Figura 2 – Fórmula de estrutura e valores de GI_{50} obtidos para a doxorubicina.

Os resultados obtidos mostram que os compostos **BP 1**, **BP 4**, **BP 8**, **PXO 1** e **PCE 2**, possuem uma significativa capacidade inibidora do crescimento das linhas celulares tumorais humanas testadas. Curiosamente, o composto **BP 4** mostrou ser muito mais potente nas linhas celulares MCF-7 e NCI-H460, do que na SF-268, o que pode representar uma maior sensibilidade dessas linhas para estes compostos. Por outro lado o composto **PXO 1** só conseguiu inibir o crescimento das células MCF-7, não tendo sido capaz de inibir o crescimento de NCI-H460 e SF-268, nem mesmo quando testado a uma concentração de $150 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$.

Saliente-se ainda que as estruturas dos compostos com maior actividade são todas angulares, com excepção do composto **BP 8** que, ainda assim, devido ao grupo *para*-nitrofenilo tem uma estrutura parcialmente angular.

Comparando os valores obtidos com os do composto padrão (doxorrubicina), pode-se verificar que a diferença é de 3 ordens de grandeza (10^3). Contudo, estes estudos podem evidenciar uma relação entre a estrutura e a actividade antitumoral o que torna os compostos desta família química interessantes para que seja efectuada mais investigação nesta área.

3. Conclusões

Foi avaliada a actividade antiproliferativa dos compostos sintetizados em linhas celulares tumorais humanas, tendo-se demonstrado que alguns desses compostos possuem uma actividade antiproliferativa significativa. Verificou-se ainda que os compostos angulares são os que evidenciaram melhores resultados.

4. Parte experimental

Foram preparadas “soluções mãe” dos compostos a analisar em DMSO (*Sigma Chemical Co*) as quais foram guardadas a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. Imediatamente antes de cada ensaio, as soluções foram descongeladas e diluídas em meio de cultura, na concentração desejada. A concentração final de DMSO nas soluções finais não interferiu com o crescimento celular.

O efeito dos compostos, no crescimento *in vitro* das células tumorais, foi avaliado de acordo com o procedimento adoptado pelo NCI que utiliza o corante proteico sulforrodamina B (*Sigma Chemical Co*) (Monks, 1991).

Foram usadas três linhas celulares tumorais (MCF-7, NCI-H460 e SF-268) as quais foram mantidas no meio RPMI-1640 (*Gibco BRL*) contendo 5% de FBS (*Gibco BRL*) inactivado pelo calor, 2×10^{-3} mol/dm³ de glutamina (*Sigma Chemical Co*) e 50×10^{-6} g/ml de gentamicina (*Sigma Chemical Co*). As culturas foram guardadas, a 37 °C, em ar humidificado e contendo 5 % de CO₂. A densidade celular de cada cultura foi previamente estabelecida (Monks, 1991) tendo sido, respectivamente, $1,5 \times 10^5$ células/ml, para as linhas celulares MCF-7 e SF-268 e $7,5 \times 10^4$ células/ml para as linhas de NCI-H460. As culturas foram expostas durante 48 h a diferentes concentrações dos compostos, tendo sido 150×10^{-6} mol.dm⁻³ a concentração máxima testada para cada composto. A doxorrubicina (*Sigma Chemical Co*) foi usada como composto padrão tendo sido testada da mesma forma. Para cada composto e para cada linha celular foi obtida uma curva “dose-resposta” (inibição de crescimento celular *versus* dose do composto a testar), tendo sido a partir dessa curva extrapolado o valor de GI₅₀.

5. Referências

Boyd, M. R. – The NCI *in vitro* anticancer drug discovery screen. Concept, implementation and operation, 1985-1995. In *Anticancer drug development guide: preclinical screening, clinical trials, and approval*; Ed. Teicher, B.; Humana Press Inc., Totowa, NJ, 1997, 23-40.

Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Gray-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Boyd, M. – Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.*, 83:11 (1991) 757-766.

Pinto, M. M. M.; Sousa, E. P. - Natural and synthetic xanthonolignoids: chemistry and biological activities. *Curr. Med. Chem.*, 10 (2003) 1- 12.

Saraiva, L.; Fresco, P.; Pinto, E.; Sousa, E.; Pinto, M.; Gonçalves, J. – Inhibition of α , β I, δ , η and ζ protein kinase C isoforms by xanthonolignoids. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.*, 18:4 (2003) 357-370.

Sousa, E. P.; Silva, A. M. S.; Pinto, M.M. M.; Pedro, M. M.; Cerqueira, F. A. M.; Nascimento, M. S. J. – Isomeric kielcorins and dihydroxyxanthenes: synthesis, structure elucidation and inhibitory

activities of growth of human cancer cell lines and on the proliferation of human lymphocytes *in vitro*. *Helv. Chim. Acta*, 85 (2002) 2862-2876.

Sousa, E. P. - *Derivados de xanten-9-ona: Síntese, Determinação Estruural e Avaliação de Actividades Biológicas*. Tese de Doutoramento, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 2003.

Conclusões Gerais e Perspectivas

O objectivo deste trabalho foi a síntese e a determinação de propriedades fotofísicas, fotoquímicas e biológicas de análogos dos psoralenos, de forma a contribuir para o esclarecimento do mecanismo de acção e para a melhoria da eficiência terapêutica desta família de compostos.

Foram sintetizados vários benzopsoralenos, oxopiranoxantonas e oxopirano-carbazoles substituídos, na sua maioria, com um grupo éster. As estratégias de síntese mais utilizadas iniciaram-se pela preparação de dibenzofuranóis e hidroxixantonas. Estes compostos e os dibenzofuran-2-ol e carbazol-2-ol obtidos comercialmente, foram, de seguida, formilados por diferentes métodos (Reimer-Tiemann, *via* litiação, Vilsmeier, Duff) e, finalmente, procedeu-se ao fecho do anel de piranona através de condensações do tipo de Knoevenagel. Verificou-se que a etapa da formilação fez diminuir o rendimento global das preparações.

Outra estratégia de síntese envolveu o rearranjo de Fries do etanoato de dibenzofuran-2-ilo do qual se fez um estudo sistemático por HPLC. Os resultados obtidos estavam de acordo com as conclusões de um estudo computacional, realizado por outros investigadores. O fecho do anel dos produtos deste rearranjo, através de condensação do tipo de Knoevenagel, deu origem a psoralenos polissubstituídos.

Os estudos das propriedades fotofísicas e fotoquímicas demonstraram que vários dos compostos sintetizados têm uma eficiência de formação de oxigénio singuleto elevada, sobretudo aqueles que apresentam estruturas angulares (com excepção dos derivados de carbazole). A presença do grupo éster, na posição 3 do 2*H*-cromeno (= 2*H*-[1]benzopirano) é, provavelmente, a causa principal desse resultado.

A actividade antiproliferativa, *in vitro* e na ausência de luz, do crescimento de linhas celulares tumorais humanas, MCF-7 (cancro da mama), NCI-H460 (cancro do pulmão) e SF-268 (cancro do sistema nervoso central) de diversos compostos sintetizados foi moderada, sendo os melhores resultados obtidos para compostos com estruturas angulares.

No futuro pretende-se estudar a capacidade de intercalação no ADN e a actividade antiproliferativa, na presença de UVA, de modo a verificar uma relação possível entre a formação de oxigénio singuleto e a acção destes compostos nas células.

Sugere-se também para trabalho futuro, a preparação de compostos com outros heteroátomos, por exemplo o enxofre (que proporciona, em geral, maiores coeficientes de absorção e assim maior eficácia), adoptando uma estratégia de síntese que permita obter rendimentos mais elevados.