

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA - PPGQ

**SÍNTESE DE 2-*N*-AMINO-NAFTOQUINONAS FUNCIONALIZADAS COM ATIVIDADES
BACTERIOSTÁTICA E FUNGISTÁTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Química.

MARIA JOSÉ SARMENTO FILHA

ORIENTADOR:

Prof^o Dr. Celso de Amorim Câmara

Recife, 2011

MARIA JOSÉ SARMENTO FILHA

SÍNTESE DE 2-*N*-AMINO-NAFTOQUINONAS FUNCIONALIZADAS COM ATIVIDADE
BACTERIOSTÁTICA E FUNGISTÁTICA

DISSERTAÇÃO APROVADA EM:

____/____/____

Prof. Dr. Celso de Amorim Câmara (DQ-UFRPE)
(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Figueiredo Porto (DMFA-UFRPE)

Prof^a. Dr^a. Patrícia Lopes Barros de Araújo (DQ-UFRPE)

Prof. Dr. João Rufino de Freitas Filho (DQ-UFRPE)

Dr. Sávio Moita Pinheiro (Suplente PNPd-UFRPE)

DEDICATÓRIA

A meus pais, a Alba, os meus irmãos, sobrinhos e a
Maurício que sempre acreditaram mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me privilegiar com a conclusão de mais uma etapa importante da minha vida.

A meus pais José Furtado e Maria José pela confiança, ensinamentos, incentivo à minha educação e apoio constante.

A Albanita Loreiro pelas orações e apoio constante.

A meus irmãos Socorro, Tânia, Eva, Aldair, Gerlania, Francisco e Gorete que sempre acreditaram em mim.

Aos sobrinhos Antonio José, Ana Karoline, Heitor, Airton, Érico, Maria Laura, Nícolas e Cássio pelo amor.

Ao meu noivo Maurício Filho por está sempre perto me apoiando.

Ao professor Celso de Amorim Câmara que me orientou, ensinou e acompanhou o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Tânia Maria Sarmento Silva, Celso Câmara, Ronaldo Nascimento Bogdan Doboszewski, João Rufino de Freitas, Cláudio Câmara, Clécio, Roberto Antunes de Vasconcelos pelos ensinamentos.

Aos professores Ana Lúcia Figueiredo Porto e José Victor M. L. Filho pelos testes biológicos e uso dos respectivos laboratórios.

Aos amigos do programa Sr Wilson, Mauro Gomes, Franciana, Silvana, Patrícia Lins, Raquel Gomes, Edmilson, Shalom Pôrto, e em especial a Sandra Torres, aos alunos do Departamento de Biologia: Eduardo Santos, Welton Siqueira, Carla Lêdo e Katiúscia que fizeram os testes. E aos demais, que de alguma forma contribuíram na elaboração deste trabalho.

A Camila Porto, Eduardo Santos e Jeine, “anjos” que me ajudaram a finalizar este trabalho.

Ao Laboratório de Síntese de Compostos Bioativo e ao CENAPESQ pelo suporte a mim concedido para a realização deste trabalho.

À FACEPE pela bolsa concedida.

*“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará
ao seu tamanho original”.*

Albert Einstein.

RESUMO

O presente trabalho trata da síntese de novos adutos de Michael da 1,4-naftoquinona com uma série de aminoácidos, com rendimentos bons (53-64%) e moderados (30-40%), em que se destacou a economia de átomos e a utilização de metodologias sintéticas simplificadas na obtenção de produtos com alto valor biológico agregado. Assim, foram obtidos adutos com a glicina, β -alanina, L-prolina, L-alanina, L-fenilalanina, glicinato de etila, β -aminopropanoato de etila, L-2-aminopropanoato de etila e 4-aminobutirato de etila, sendo 4 inéditos (L-fenilalanina, β -aminopropanoato de etila, L-2-aminopropanoato de etila e 4-aminobutirato de etila). Os produtos obtidos foram testados para a atividade bacteriostática frente aos microrganismos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumonia*, e atividade fungistática frente à *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*. Os compostos apresentaram inibição bacteriostática e fungistática na menor concentração testada, que foi de 62,5 μ g/mL. O composto que melhor apresentou atividade fungistática e bacteriostática foi o composto sintetizado com o aminoácido glicina.

ABSTRACT

The present work describes the synthesis of new Michael adducts of 1,4-naphthoquinone with a series of amino acids, with good (53-64%) to moderate (30-40%) yields, which highlighted the atom economy and the use of simplified synthetic methodologies to obtain products with high value biological value added. Thus, adducts were obtained with glycine, β -alanine, *L*-proline, *L*-alanine, *L*-phenylalanine, ethyl glycinate, ethyl β -aminopropionate, ethyl *L*-2-aminopropionate ethyl, ethyl 4-aminobutyrate, 4 and unpublished (*L*-phenylalanine, β -aminopropanoato ethyl, *L*-2-ethyl aminopropanoato and ethyl 4-aminobutyrate). The products were tested for bacteriostatic activity against microorganisms: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumonia*, and fungistatic activity against *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum*. Some compounds inhibited fungistatic and bacteriostatic even at the lower concentration of 62.5 μ g/mL. The compound showed better activity fungistatic and bacteriostatic compound was synthesized with the amino acid glycine.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATR	Reflectância Total Atenuada
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
cm⁻¹	Centímetros recíprocos
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DMSO	Dimetilsulfóxido
IC₅₀	Concentração de inibição de 50%
IV	Infravermelho
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento
m	Multiplete
NADPH	Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzida
NMP	<i>N</i> - metil-2-pirrolidona
q	Quarteto
RMN¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio - 1
RMN¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono -13
s	Singleto
t	Triplete
δ	Deslocamento químico
CIM	Concentração Inibitória Mínima

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	iii
AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Quinonas	1
1.2. Naftoquinonas	5
1.3. Dermatófitos	7
1.4. Bactérias patogênicas	9
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo geral	12
2.2. Objetivos específicos.....	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
3.1. Síntese geral dos aminoácidos (16a-e).....	14
3.2. Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (16a).....	15
3.3. Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (16a).....	18
3.4. Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- β alanina (16b)	19
3.5. Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -prolina (16c).....	20
3.6. Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -alanina (16d)	21
3.7. Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -fenilalanina (16e)	22
3.8. Tentativa de síntese do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-ácido glutâmico (17).....	23
3.9. Síntese do glicinato de etila com o 2-metoxi-1,4-naftoquinona e com o 2-iodo-1,4-naftoquinona e 2-bromo-1,4-naftoquinona.	23
3.10. Síntese geral para a síntese do <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)-amino de etila	24
3.11. Síntese do <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (21a)	26
3.12. Síntese do <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -2-aminopropanoato de etila (22a)	27
3.13. Síntese da <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (23a)	28
3.14. Síntese do <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (24a)	28
3.15. Hidrólise do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-amino de etila (22a-24a)	29
3.16. Hidrólise do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (24a)	30

3.17. Hidrólise do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (23a)	31
3.18. Hidrólise do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -2-aminopropanoato de etila (22a)	31
4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS	32
4.1. Atividade antifúngica	32
4.2. Atividade antibacteriana	37
5. PARTE EXPERIMENTAL	39
5.1. Equipamentos	39
5.2. Procedimento geral para obtenção do <i>N</i> -(1,4-naftoquin-2-il)-amino (16a-d)	40
a) Composto 16a: <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina	40
b) Composto 16b: <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- β -alanina	40
c) Composto 16c: <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -prolina	41
d) Composto 16d: <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -alanina	41
e) Composto 16e: <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -fenilalanina	41
5.3. Síntese da 2- <i>N</i> -ácido glutâmico-1,4-naftoquinona (17)	42
5.4. Procedimento sintético para <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-amino de etila (21a-24a)	42
5.5. Dados espectrais dos compostos 21a-24a	43
5.6. Procedimento geral para a hidrólise dos ésteres.	44
5.7. Dados espectrais dos compostos 25a	44
6. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS SUBSTÂNCIAS	45
6.1. Atividade antifúngica	45
6.2. Espécies fúngicas	45
6.3. Meio de cultura	46
6.4. Antifúngicos	46
6.5. Compostos sintéticos	46
6.6. Preparação do inóculo	47
6.7. Procedimento do teste	47
6.8. v Análise de dados	47
6.9. Atividade antibacteriana	48
6.10. Microorganismos usados no bioensaio	48
6.11. Microdiluição em placas	48
7. CONCLUSÃO	50
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
9. ANEXO - ESPECTRO	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esqueletos básicos dos núcleos das Quinonas.....	3
Figura 2: Formas isoméricas benzo (4a, b), naftoquinona (5), <i>orto</i> -quinonoídica (6a) e <i>para</i> -quinonoídica (6b).....	4
Figura 3: Emodina	4
Figura 4: Estruturas do lapachol (8), lausona (10) e aminoderivados (9)	6
Figura 5: Alguns exemplos de produtos bioativos com a aminonaftoquinona.	7

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Condições empregadas para a reação de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-amino (16a-e)	17
Tabela 2: Condições empregadas para a reação da 1,4-naftoquinona (2) com os respectivos cloretos de ésteres de aminoácidos (21a-24a).....	26
Tabela 3: Condições empregadas para a reação de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-amino derivados (25a,16b e 16d).....	30
Tabela 4 - Determinação da concentração mínima inibitória da anfotericina B, dos compostos (2- <i>N</i> -amino-quinona) frente ao isolado <i>Trichophyton rubrum</i> (URM-4728).	33
Tabela 5- Determinação da concentração mínima inibitória da anfotericina B, dos compostos (2- <i>N</i> -amino-quinona) frente ao isolado <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (URM-3239).	34
Tabela 6- Determinação da concentração mínima inibitória da anfotericina B, dos compostos (2- <i>N</i> -amino-quinona) frente ao isolado <i>Microsporium canis</i> (URM-4678).	35
Tabela 7- Determinação da concentração mínima inibitória da anfotericina B, dos compostos sintéticos (2- <i>N</i> -amino-quinona) frente ao isolado <i>Microsporium gypseum</i> (URM-6034).	36
Tabela 8– Concentrações inibitórias mínimas das drogas testadas frente às bactérias <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	37

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1: Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina 16a (ATR, cm ⁻¹).....	55
Espectro 2: Espectro de RMN ¹ H (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina 16a.....	56
Espectro 3: Expansão de RMN ¹ H (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina 16a	57
Espectro 4: Espectro de RMN ¹³ C (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 75 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina 16a.....	58
Espectro 5: Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina 16b (ATR, cm ⁻¹)	59
Espectro 6: Espectro de RMN ¹ H (δ, (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina 16b	60
Espectro 7: Expansão de RMN ¹ H (δ, (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina 16b	61
Espectro 8: Espectro de RMN ¹³ C (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 75 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina 16b	62
Espectro 9: Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -prolina 16c (ATR, cm ⁻¹)	63
Espectro 10: Espectro de RMN ¹ H (δ, (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -prolina 16c	64
Espectro 11: Expansão de RMN ¹ H (δ, (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -prolina 16c	65
Espectro 12: Espectro de RMN ¹³ C (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 100 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -prolina 16c	66
Espectro 13: Expansão do RMN ¹³ C (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 100 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -prolina 16c	67
Espectro 14: Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -alanina 16d (ATR, cm ⁻¹)	68
Espectro 15: Espectro de RMN ¹ H (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -alanina 16d	69
Espectro 16: Expansão de RMN ¹ H (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -alanina 16d	70
Espectro 17: Espectro de RMN ¹³ C (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 75 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -alanina 16d	71

Espectro 18:Expansão de RMN ¹³ C (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 75 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -alanina 16d	72
Espectro 19: Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -fenilalanina 16e (KBr, cm ⁻¹).....	73
Espectro 20: Espectro de RMN ¹ H (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -fenilalanina 16e	74
Espectro 21:Expansão de RMN ¹ H (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -fenilalanina	75
Espectro 22: Espectro de RMN ¹³ C (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 100 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -fenilalanina 16e	76
Espectro 23: Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila 21a (ATR, cm ⁻¹)	77
Espectro 24: Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila 21a	78
Espectro 25:Expansão de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila 21a	79
Espectro 26: Espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila 21a	80
Espectro 27:Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -2-aminopropanoato de etila 22a (ATR, cm ⁻¹)	81
Espectro 28: Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -2-aminopropanoato de etila 22a	82
Espectro 29: Espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -2-aminopropanoato de etila 22a	83
Espectro 30: Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila 23a (ATR, cm ⁻¹)	84
Espectro 31: Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila 23a	85
Espectro32:Expansão de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila 23a	86
Espectro 33: Espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila 23a	87
Espectro 34: Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila 24a (ATR, cm ⁻¹)	88

Espectro 35: Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila 24a	89
Espectro 36: Expansão de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila 24a	90
Espectro 37: Espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila 24a	91
Espectro 38: Espectro no IV do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico 25a (ATR, cm ⁻¹)	92
Espectro 39: Espectro de RMN ¹ H (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico 25a	93
Espectro 40: Expansão de RMN ¹ H (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico 25a	94
Espectro 41: Espectro de RMN ¹³ (δ, DMSO- <i>d</i> ₆ , 75 MHz) de <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico 25a	95

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Ciclo redox induzido por quinonas (SILVA <i>et al.</i> , 2003)	2
Esquema 2: Reação de Fenton e Haber-Weiss (FENTON, <i>et al.</i> , 1899).....	2
Esquema 3: Derivados 2-amino-1,4-naftoquinonas.....	12
Esquema 4: Derivados de ácidos carboxílicos	13
Esquema 5: Adição de Michael das aminas (16a-e) a 1,4-naftoquinona.....	14
Esquema 6: Mecanismo provável da reação de 1,4 naftoquinona com as aminas (16a-e)	15
Esquema 7: Tentativa de síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (16a).....	16
Esquema 8: Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (16a).....	18
Esquema 9: Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- β alanina (16b)	19
Esquema 10: Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -prolina (16c)	20
Esquema 11: Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -alanina (16d)	21
Esquema 12: Síntese da <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -fenilalanina (16e).....	22
Esquema 13: Tentativa de síntese do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-ácido glutâmico (17).....	23
Esquema 14: Síntese da 1,4-naftoquinona metoxilada, iodada e bromada com o glicinato de etila	24
Esquema 15: Adição de Michael da reação da 1,4-naftoquinona (2) com os respectivos cloretos de ésteres de aminoácidos (21a-24a).....	25
Esquema 16: Síntese do <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (21a)	26
Esquema 17: Síntese do <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -2-aminopropanoato de etila (22a)	27
Esquema 18: Síntese da <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (23a).....	28
Esquema 19: Síntese do <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (24a).....	29
Esquema 20: Reação de Hidrólise do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-amino derivados (21-24a).	29
Esquema 21: Hidrólise do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (25a)	30
Esquema 22: Hidrólise do <i>N</i> -(1,4-naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (23b).....	31
Esquema 23: Hidrólise do <i>N</i> -(naftoquinon-2-il)- <i>L</i> -2-aminopropanoato de etila (16d).....	32

1. INTRODUÇÃO

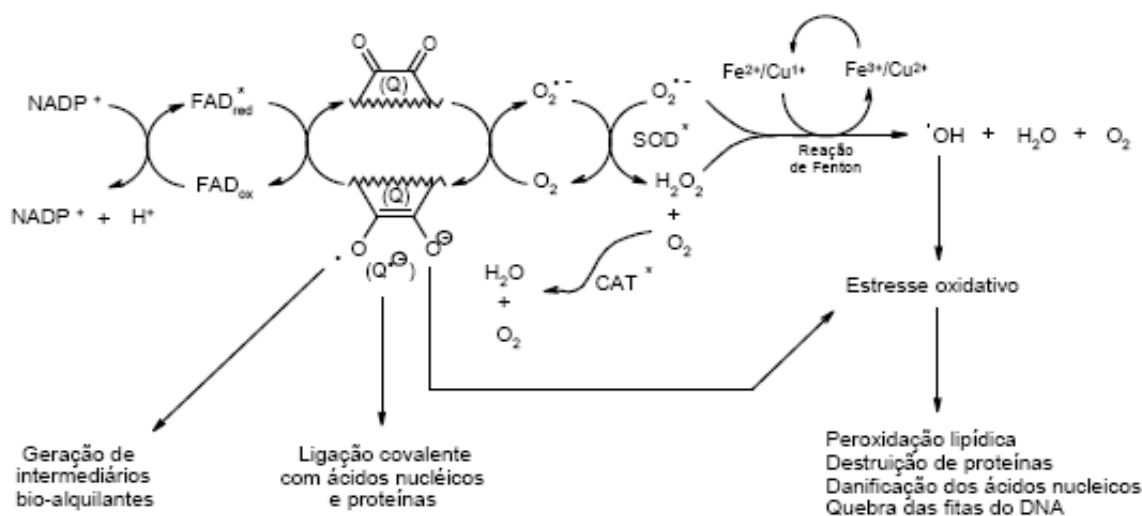
1.1. Quinonas

As quinonas encontram-se distribuídas de maneira bastante ampla na natureza e desempenham inúmeros papéis biológicos em várias funções celulares (THOMPSON, 1971). Diversas substâncias antineoplásicas que são comumente utilizadas no tratamento quimioterápico apresentam o núcleo quinona em sua estrutura (TOMASZ, 1995). A relação principalmente descrita da estrutura e função das quinonas esta relacionada com a capacidade de participar nos ciclos redox, assim, interferindo em diversos mecanismos celulares. (SILVA, FERREIRA & SOUZA, 2003). Quinonas nitrogenadas são objeto de intensa e constante investigação (ESTEVES-SOUZA *et al.*, 2007/2008), devido à suas propriedades farmacológicas em especial àquelas relacionadas à citotoxicidade seletiva (CUNHA *et al.*, 2006).

Quinonas desempenham papéis vitais na bioquímica da vida celular, onde está envolvida na respiração celular, fotossíntese e na defesa celular contra bactérias, fungos e parasitas. Elas se tornaram alvo de intensas pesquisas devido aos seus aspectos farmacológicos, por exemplo, antitumoral, tripanossomicida, anti-inflamatória, antiviral e antifúngica (DOS SANTOS, 2004). Algumas chegaram a uso clínico como droga antineoplásicos, por exemplo, a atovaquona (O'BRIEN,1991).

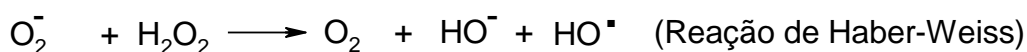
O mecanismo de ação e toxicidade das quinonas são ainda difíceis de entender, embora pelo menos dois mecanismos concorrentes foram identificados. O primeiro mecanismo é referente à capacidade que as quinonas tem de apresentar ciclos redox, induzindo assim o estresse oxidativo através da geração espécies reativas de oxigênio (Esquema 1). Esta reação ocorre sob ação enzimática de um substrato quinonoídico, o qual reduz-se com um elétron para formar o ânion semiquinona ($Q^{\cdot-}$), catalisada pelas enzimas flavinas NADPH redutase ou NADPH ubiquinona (8) oxidoreductase. A cinética desta redução depende de vários fatores, incluindo o potencial de redução da quinona. Uma vez formada a espécie semiquinona $Q^{\cdot-}$, esta reduz o oxigênio molecular ao ânion-radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$)

que, na presença da enzima superóxido dismutase (SOD), é transformado em H₂O₂. Este ânion-radical superóxido (O₂^{•-}), por catálise com metais de transição [reação de Fenton (FENTON e JACKSON, 1899)], ou por reação com H₂O₂ [reação de Harber-Weiss (BABIOR e BRAZ, 1997)], gera HO[•] no interior da célula (Esquema 2). Embora o H₂O₂ não seja um radical livre, é uma substância bastante reativa, podendo promover também a oxidação de algumas biomoléculas. Em resumo, HO[•] e H₂O₂ são as principais espécies responsáveis pelo estresse oxidativo celular promovendo alteração da normalidade da célula e assim induzindo a apoptose como alternativa, caso não se consiga eliminar por completo o estresse oxidativo (AMARANTES-MENDES & GREEN, 1999). O segundo mecanismo de ação diz respeito à capacidade das quinonas de agir como eletrófilos na adição do tipo Michael, levando à modificação covalente de outros componentes fisiológicos vitais, como as proteínas, o DNA e o RNA (O'BRIEN, 1991).



*CAT = Enzima catalase; SOD = Enzima superóxido desmutase; FAD = Enzima flavina

Esquema 1: Ciclo redox induzido por quinonas (SILVA *et al.*, 2003)



Esquema 2: Reação de Fenton e Haber-Weiss (FENTON, *et al.*, 1899)

A classe de produtos naturais conhecida como quinonas apresenta-se como dienonas cíclicas conjugadas que, de acordo com a derivação do sistema aromático, podem ser classificadas como benzoquinonas (**1**), naftoquinonas (**2**) e antraquinonas (**3**). Com base na sua estrutura molecular, as quinonas são divididas em diferentes grupos, utilizando-se como critério o tipo de sistema aromático relacionado com o anel quinonoídico: benzoquinonas – um anel benzênico; naftoquinonas - um anel naftalênico; antraquinonas - um anel antracênico linear ou angular (Figura 1).

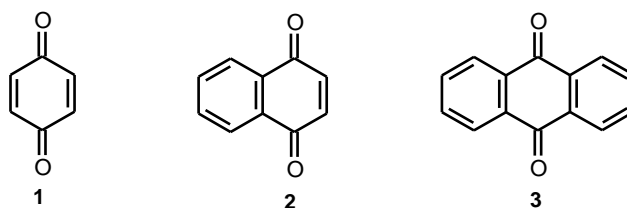


Figura 1: Esqueletos básicos dos núcleos das Quinonas

Nos últimos anos intensificou-se o interesse nestas substâncias, não só devido à sua importância em processos bioquímicos vitais, como também em variados estudos farmacológicos que vem se destacando cada vez mais. Na natureza estão envolvidas em etapas importantes do ciclo de vida, principalmente nos níveis da cadeia respiratória, onde atuam como componentes móveis no transporte de elétrons da respiração e da fotossíntese, como por exemplo as ubiquinonas (**4a**) e as plastoquinonas (**4b**) (MURRAY *et al*, 2003). As naftoquinonas, por exemplo, as vitaminas do tipo K (**5**) (Figura 2), de irrestrita necessidade aos seres vivos (DA SILVA, 2003), possuem ação controladora da coagulação sanguínea.

De modo muito peculiar, em decorrência de diferentes arranjos quinonoídicos (isomeria), com um mesmo tipo de anel pode-se ter, dependendo das disposições relativas das carbonilas, diferentes quinonas. Por exemplo, no arranjo de base naftalênica tem-se a forma isomérica 1,2 ou *orto*-quinonoídica, quando as carbonilas são vizinhas (**6a**) ou a 1,4-*para*-quinonoídica, com as carbonilas tendo entre si dois carbonos isoméricos (**6b**) (Figura 2); outras misturas são conhecidas, principalmente em sistemas policíclicos, nos quais os distanciamentos entre as carbonilas podem ser maiores. Estas formas isoméricas diferem muito quanto à sua atuação biológica.

Um exemplo típico é a *orto*-naftoquinona, β -lapachona (**6a**), do grupo das Tabebuias, que é muito mais ativa contra o *Trypanosoma cruzi* que o seu isômero natural (**6b**), α -lapachona.

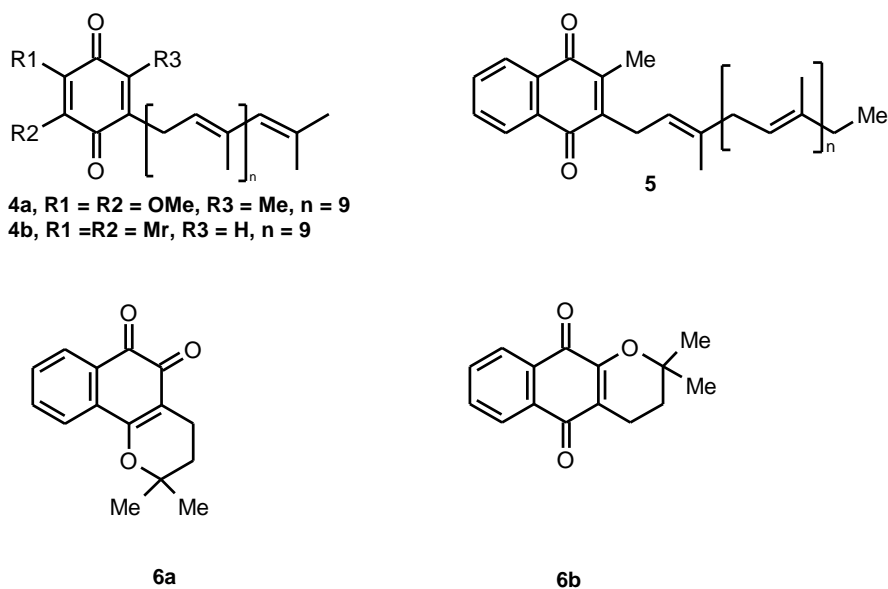


Figura 2: Formas isoméricas benzo (4a, b), naftoquinona (5), *orto*-quinonóidica (6a) e *para*-quinonóidica (6b)

As antraquinonas estão concentradas principalmente em plantas das famílias Rubiaceae, Polygonaceae, Verbanaceae, Rhamnaceae, entre outras. A emodina (**7**) talvez seja a mais comum antraquinona natural, ocorrendo em várias famílias de vegetais superiores, fungos e líquens (Figura 3). A cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana*), planta de onde se pode isolar a emodina(**7**) é muito usada devido às propriedades laxativas deste produto natural, assim como de outras antraquinonas (THOMSON,1971).

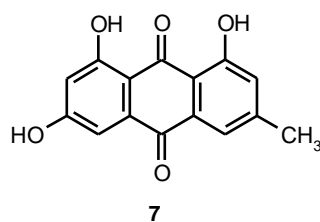


Figura 3: Emodina

1.2. Naftoquinonas

A química das quinonas, já há muito vem sendo descrita em vários livros publicados (ARNON, 1965), estando assim bem documentada sua evolução ao longo do tempo. Este trabalho aborda o estudo químico de naftoquinonas, com maior enfoque na classe de produtos naturais, atividades biológicas e preparação de derivados sintéticos pertencentes ao grupo das naftoquinonas.

Em trabalhos publicados por Fieser, algumas 2-amino-1,4-naftoquinonas foram sintetizadas com o intuito de se descobrir um novo agente antimalárico durante o período da segunda grande guerra (FIESER, et al,1948). Recentemente, derivados 2-amino-1,4-naftoquinonas derivados da lausona (**10**) demonstraram atividade antifúngica e antibacteriana (TANDON *et al.*, 2009). Atualmente, a busca por alternativas no combate a esquistossomose vem se intensificando, e o uso de naftoquinonas para tal tem sido descrito na literatura (SILVA *et al.*, 2005).

Um das naftoquinonas de estrutura mais simples é a lausona (**10**) (Figura 4), um produto natural extraído das folhas da tão conhecida hena (*Lawsonia alba*, *Lythraceae*). A extração se faz de maneira simples, empregando-se uma solução aquosa de carbonato de sódio (THOMSON,1971). O extrato de hena utilizado como cosmético para fins de tintura é conhecido desde a antiguidade, uma vez que as rainhas do antigo Egito tingiam cabelos, pele e unhas com o mesmo, às vezes misturado com extrato de *Acácia catechu*, no intuito de adquirir outras tonalidades de cor (FIESER *et al.*, 1948).

As naftoquinonas, em especial as derivadas do lapachol, apresentam um histórico de utilização como fonte de descoberta de novas moléculas, uma vez que se trata de uma matéria-prima abundante e facilmente encontrada no Brasil (HUSSAIN *et al.*, 2007). Diversos derivados do lapachol (**8**) são conhecidos (Figura 4), em especial destacam-se os derivados relacionados à estrutura da β -lapachona (**6a**) e α -lapachona (**6b**). Em estudos recentes a síntese de uma grande diversidade de 2-amino-1,4-naftoquinonas (**9**) funcionalizadas estruturalmente relacionadas ao lapachol a partir da lausona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) (**10**).

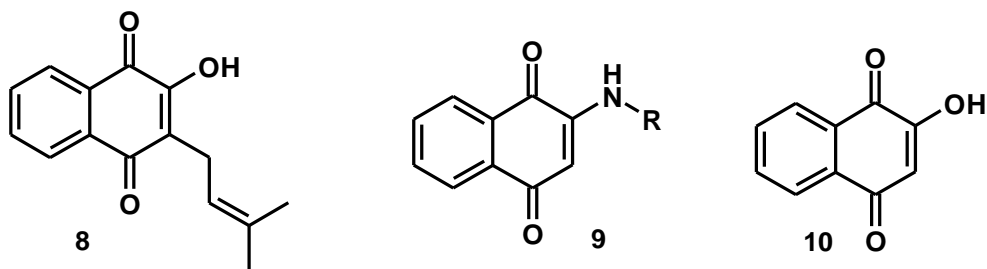


Figura 4: Estruturas do lapachol (8), lausona (10) e aminoderivados (9)

As naftoquinonas também são importantes substâncias naturais que são amplamente distribuídas em diferentes famílias de plantas, fungos e alguns animais, muitas delas desempenham um papel integral nos processos bioquímicos vitais. Por exemplo, as vitaminas K₁ e K₂ são naftoquinonas naturais que são responsáveis pelo mecanismo de coagulação do sangue (DA SILVA *et al.*,2003). Devido a este envolvimento no metabolismo, essa classe de substâncias tem sido estudada extensivamente sobre as suas diversas propriedades biológicas. Muitas naftoquinonas deixaram de ser meras curiosidades e tornaram-se drogas muito úteis para humanidade (SUH *et al.*,2001).

A introdução de grupos vicinais oxidáveis no núcleo quinona, tais como substituintes amino, pode exercer influência sobre suas propriedades redox, induzindo o estresse oxidativo nas células, e alquilação de macromoléculas celulares, incluindo lipídios, proteínas e DNA (DA SILVA *et al.*,2003; FRANCISCO *et al.*,2010). A literatura, até o momento, mostra claramente que aminoquinonas estão presentes em vários compostos bioativos importantes que apresentam atividades antitumoral (11) (SUH *et al.*, 2001), antimalarial (12) (KAPADIA *et al.*, 2001), antitrombocítica (13) (YUK *et al.*,2000), antifúngica (14) (TANDON *et al.*, 2009) e moluscicidas (14) (SILVA *et al.*,2005) (Figura 5).

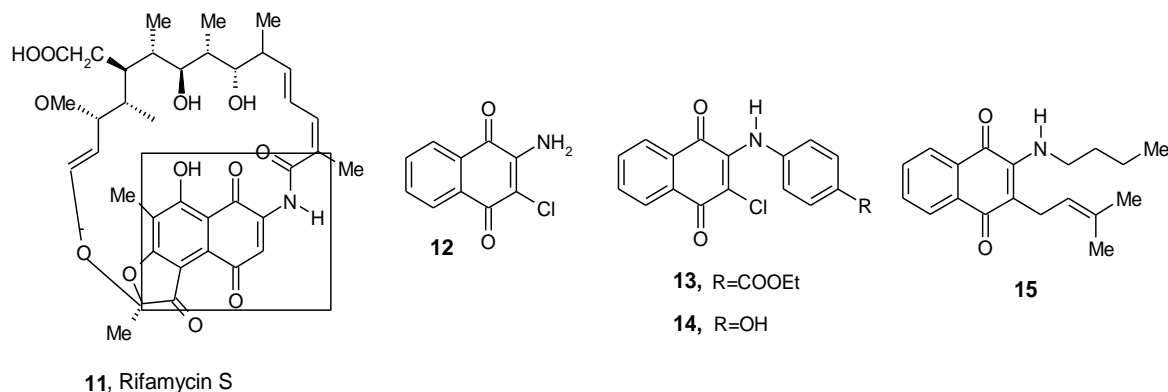


Figura 5: Alguns exemplos de produtos bioativos com a aminonaftoquinona.

Muitas pesquisas sistemáticas objetivam a obtenção de novas moléculas, através da modificação molecular de substâncias naturais e/ou sintéticas com propriedades farmacológicas definidas, representando uma fonte ampla e inesgotável de substâncias potencialmente ativas a serem testadas (DI STASI, 1996).

O progresso da indústria farmacêutica relacionado com a descoberta e a produção de agentes antimicrobianos não vem alcançando o sucesso desejado na contenção da mutagênese de resistência a drogas desenvolvida pelos microrganismos. Enquanto os mecanismos de resistência criados por muitos micróbios vêm-se tornando cada dia mais eficaz, as drogas conhecidas mostram-se cada vez menos eficientes no combate às patologias (PRATES et al., 2000). Entre estas patologias estão as dermatofitoses causadas pelos fungos *Trichophyton rubrum* e *Microsporum canis* e as infecções causadas pelas bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumonia*.

1.3. Dermatofitos

A expressão “dermatofitos” é utilizada para designar um grupo de fungos que colonizam tecidos queratinizados como a pele, unhas e pêlos, parasitando o hospedeiro e produzindo micoses superficiais denominadas de dermatofitoses. (PEREIRA, 2009). Três gêneros de fungos são envolvidos nas micoses cutâneas. O

Trichophyton pode infectar os cabelos, a pele ou as unhas; o *Microsporum* usualmente envolve somente os cabelos ou pele e o *Epidermophyton* afeta somente a pele e unhas (AARÃO, 2005).

Esses fungos são agentes etiológicos de dermatofitoses que são comuns e endêmicas na América Latina (WANK *et al.*, 1991). A instalação da infecção por dermatófito inicia-se pela inoculação de artrosporo depositado sobre a pele, favorecido por lesão cutânea ou escoriação pré-existente (SIDRIM; ROCHA, 2004) e notável habilidade enzimática para degradar a queratina (ABDEL-RAHMAN, 2002; MACÊDO *et al.*, 2005).

As dermatofitoses estão entre as doenças infecciosas mais diagnosticadas no mundo e os dermatófitos estão entre os agentes etiológicos mais comuns de infecção no homem. Essas infecções afetam aproximadamente 40% da população mundial e representam 30% de todas as infecções cutâneas micóticas (EL FARI *et al.*, 1999; GUPTA *et al.*, 1998).

Embora a diversidade encontrada na frequência de espécies de dermatófitos no Brasil seja evidenciada em trabalhos de inúmeros pesquisadores, registros epidemiológicos apontam o predomínio das espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* como um dos principais agentes causadores de dermatofitoses em humanos, nas mais diversas manifestações clínicas (MEZZARI, 1998; COSTA *et al.*, 2002; REZENDE *et al.*, 2008).

No nordeste do Brasil são encontradas as espécies *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *T. rubrum* e *Epidermophyton floccosum*, com destaque para as últimas três espécies. Nesta região 30 a 70% dos casos de dermatofitoses são promovidos por *M. canis* e *T. tonsurans* juntos e 50% pela espécie antropofílica *T. rubrum*. As partes do corpo mais afetadas são os pés, tornozelos, regiões plantar e palmar (SIQUEIRA, 2008).

Estudos sobre a descoberta de novos antifúngicos constituem uma área de grande interesse no que diz respeito aos dermatófitos. Estes estudos incluem a susceptibilidade dos dermatófitos a novas drogas (IZGÜ *et al.*, 2007; TONG *et al.*, 2007) ou a antifúngicos prescritos para a terapia (GUPTA *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2006).

Devido à baixa incidência de infecções graves por fungos e, em parte, ao esforço intensivo na área da terapia antibacteriana que começou nos anos 40, após o início da produção em larga escala da penicilina, o progresso no desenvolvimento de antifúngicos tópicos e sistêmicos foi atrasado (SHEEHAN *et al.*, 1999). Além disso, alguns antifúngicos, como a anfotericina B podem provocar efeitos tóxicos sérios, sobretudo ao nível dos rins (ODDS, 2003). Por isso a busca por novos compostos para avaliar a atividade fungistática.

1.4. Bactérias patogênicas

Diversas razões justificam a necessidade urgente por novos agentes antibióticos: doenças infecciosas são a segunda maior causa de mortalidade do mundo; altas taxas de resistência microbiana, especialmente em ambientes hospitalares; o decréscimo constante observado no número total de novos agentes antimicrobianos aprovados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) (LUZHETSKYY *et al.*, 2007); a necessidade de agentes que atuem por mecanismos de ação diferentes aos fármacos em uso (PAYNE *et al.*, 2007; COATES *et al.*, 2007).

Devido à natureza mais complexa, as bactérias Gram negativas são mais resistentes à ação de antibióticos, que não são capazes de cruzar efetivamente esta barreira lipídica. Para ter acesso à célula bacteriana, os antibióticos devem cruzar a parede celular através de canais proteicos de porina, embebidos na estrutura lipídica, que apresentam o interior com características hidrofílicas. Assim, antibióticos com maior atividade frente a bactérias Gram negativas são aqueles que apresentam grupos ionizáveis em suas estruturas químicas (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

Os bacilos Gram negativos e os cocos Gram positivos representam as mais freqüentes bactérias encontradas em infecções nosocomiais (SILVA, 1999). Entre as bactérias Gram positivas o *Staphylococcus aureus* assume o papel de principal agente etiológico e pode ser encontrada na mucosa nasal, região orofaríngea e nas mãos. A sepse proveniente da infecção por *Staphylococcus aureus* é responsável por elevado índice de morbimortalidade (MYLOTTE *et al.*, 1987).

Os antimicrobianos são substâncias químicas, que provocam morte ou inibição do crescimento de microrganismos, cuja essência é a toxicidade seletiva, ou

seja, não devem afetar o hospedeiro. Podem ser produzidos pelos próprios microrganismos, como bactérias e fungos sendo denominados antibióticos, ou serem sintetizados total ou parcialmente, os quimioterápicos (FARIAS, 2007).

A essência da quimioterapia antimicrobiana é a toxicidade seletiva para matar (bactericidas) ou inibir o microorganismo (bacteriostáticos) sem afetar o hospedeiro. Os antibacterianos estão divididos nas duas categorias, porém deve ser lembrado que algumas drogas, tipicamente bacteriostáticas, podem ser bactericidas para determinadas espécies de bactérias. Por exemplo, o cloranfenicol é um agente bacteriostático por excelência, mas funciona como bactericida para o *Haemophilus influenzae* e o *Streptococcus pneumoniae* (WALTER TAVARES, 2007).

Embora muitos produtos antibacterianos tenham sido descobertos, vários deles não puderam ser utilizados, ou pela molécula não ser tão estável, ou por ter uma porção tóxica, ou ainda por não serem absorvidos por via oral ou parenteral. Sendo assim, várias destas drogas, a partir da engenharia bioquímica, foram melhoradas em laboratório, dando origem aos antimicrobianos sintéticos (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

A sensibilidade da bactéria ao antibiótico constitui fator importante para o sucesso terapêutico da respectiva infecção bacteriana, e, o ideal é que o antibiótico a ser usado para o tratamento de determinada infecção seja selecionado após a identificação e determinação de sua sensibilidade ao fármaco (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

A busca de novos antimicrobianos é de grande importância para criação de novos fármacos, quer seja de amplo espectro de ação, ou contra bactérias específicas, tais como as causadoras de infecções hospitalares. Nos últimos anos, o número de bactérias resistentes aos antibióticos convencionais tem aumentado. Muitas infecções hospitalares tem sido de difícil tratamento devido às bactérias oportunistas, muitas pertencentes à microbiota normal e que, em organismos imuno-deprimidos, tornam-se de difícil e caro tratamento (HANCOCK e SAHL, 2006).

Neste trabalho, sintetizamos novos adutos de Michael da 1,4-naftoquinona com os aminoácidos: glicina, β -alanina, *L*-prolina, *L*-alanina, *L*-fenilalanina, glicinato de etila, β -aminopropanoato de etila, *L*-2-aminopropanoato de etila e 4-aminobutirato de etila. Em seguida foram feitos bioensaios com bactérias patogênicas em humanos e fungos fitopatogênicos, de maneira a testar a ação bacteriostática e

fungistática e estabelecer suas concentrações inibitórias mínimas (CIM) para diferentes microorganismos testados.

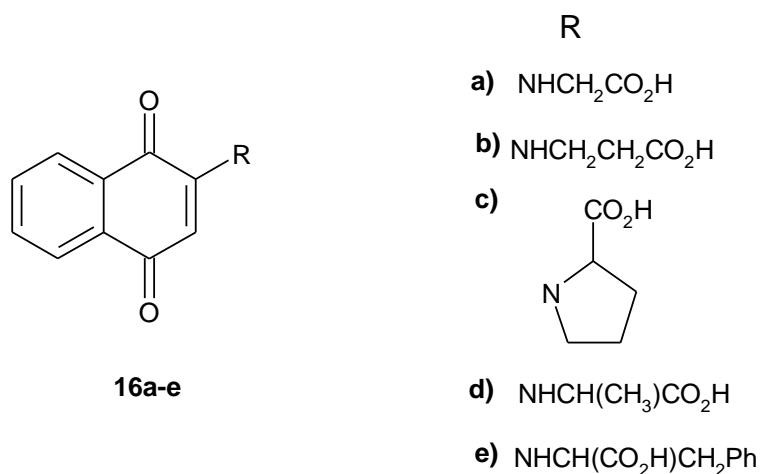
2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Sintetizar novas 2-*N*-amino-naftoquinonas funcionalizadas com atividade bacteriostática e fungistática, utilizando técnicas sintéticas simplificadas para a obtenção de produtos com alto valor agregado.

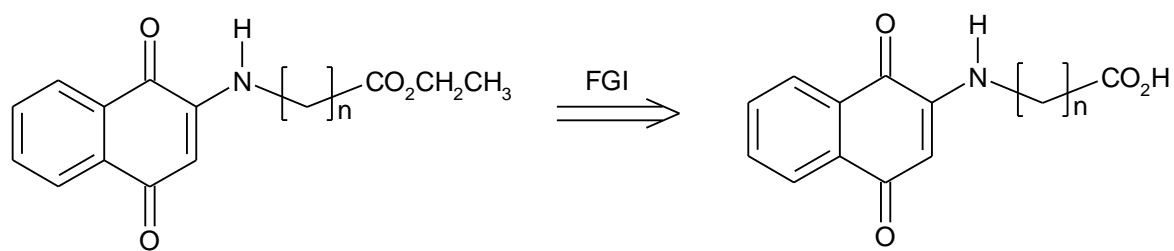
2.2. Objetivos específicos

Obter análogos estruturalmente relacionados (**16a-e**) pela substituição de 1,4-naftoquinona com diversos aminoácidos.



Esquema 3: Derivados 2-amino-1,4-naftoquinonas

Obter derivados da função ésteres etílicos que permitam mapear as contribuições dos grupamentos funcionais para a relação entre a estrutura e a atividade biológica. (Esquema 4)



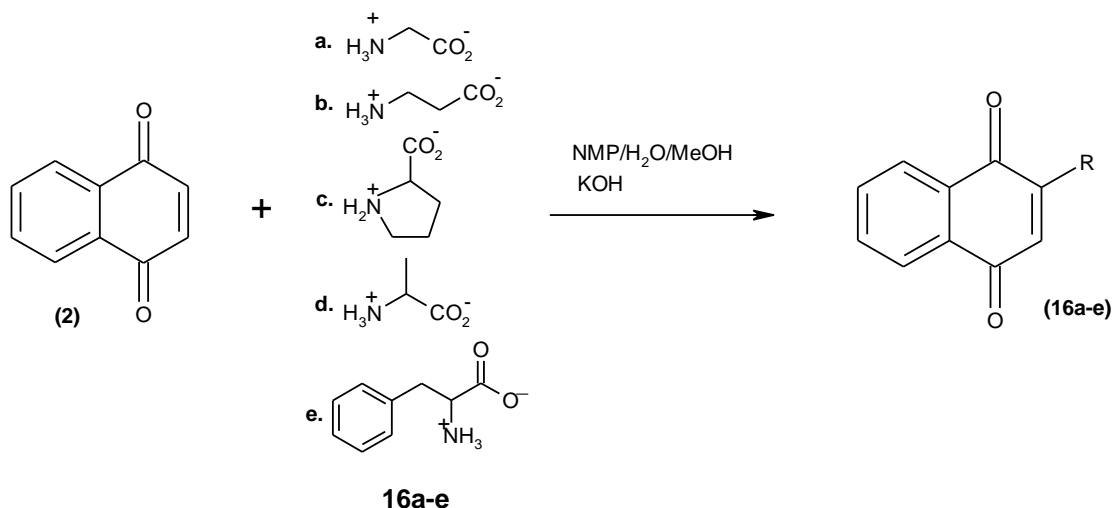
Esquema 4: Derivados de ácidos carboxílicos

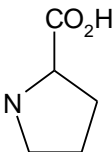
Testar as atividades fungistática e bacteriostática dos análogos sintetizados **16a-e** e **21a-25a**.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Síntese geral dos aminoácidos (16a-e).

Seguindo a estratégia sintética partindo da 1,4-naftoquinona foram sintetizados os compostos 16a-e deste trabalho de acordo com o esquema 5.

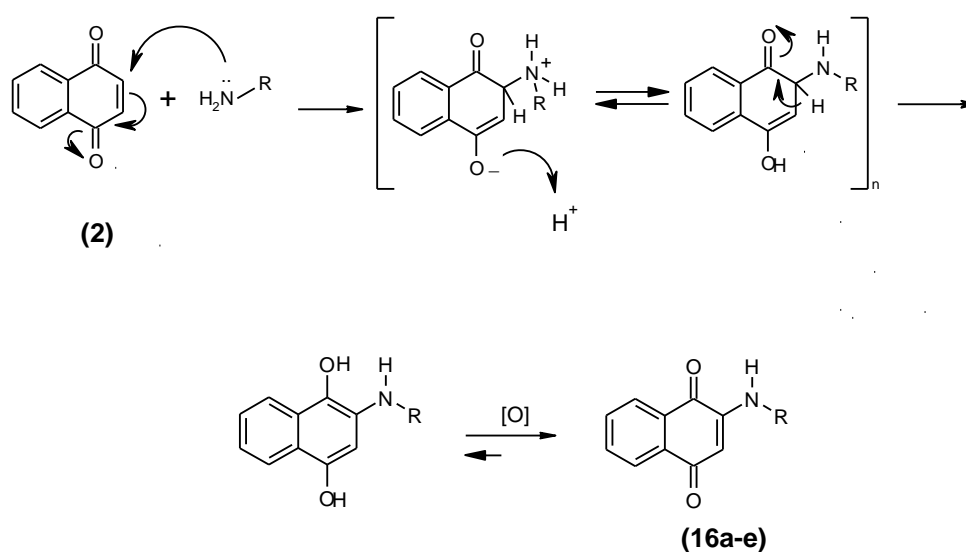


- R
- a) NHCH₂CO₂H
 - b) NHCH₂CH₂CO₂H
 - c) 
 - d) NHCH(CH₃)CO₂H
 - e) NHCH(CO₂H)CH₂Ph

Esquema 5: Adição de Michael das aminas (16a-e) a 1,4-naftoquinona.

Os compostos (16a-e/ 21a-24a) foram obtidos através da reação entre o sistema α , β -insaturado da 1,4-naftoquinona e os aminoácidos glicina, β -alanina, prolina, *L*-alanina, *L*-fenilalanina, glicinato de etila, β -amino propanoato de etila, *L*-2-amino propanoato de etila, 4-aminobutirato de etila. O mecanismo proposto (Esquema 6) para a reação envolve primeiramente o ataque nucleofílico da amina a

posição α , β insaturada da cetona, caracterizando uma adição de Michael do tipo-1,4. A enolização das cetonas conduz ao derivado hidroquinona, que, nas condições de reação é oxidada espontaneamente à forma quinona pelo oxigênio do ar presente no meio reacional. Devido aos aminoácidos se encontrarem na forma zwitteriônica, foi adicionado ao meio reacional uma solução básica para promover a desprotonação do nitrogênio do grupo amino, de modo a aumentar a nucleofilicidade do mesmo, de acordo com a metodologia empregada na literatura (SILVA, et. al.,2005). Após a reação, a solução é neutralizada com HCl 10% até o aparecimento de um precipitado que foi lavado com CH_2Cl_2 . Os produtos **16a-e** foram obtidos na forma de um sólido amorfo avermelhado. De maneira geral as reações se procederam sob agitação, em solventes como 2-*N*-metil-pirrolidona (NMP) e água, apresentando rendimentos bons a moderados (40-60%). (Ver Tabela 1).

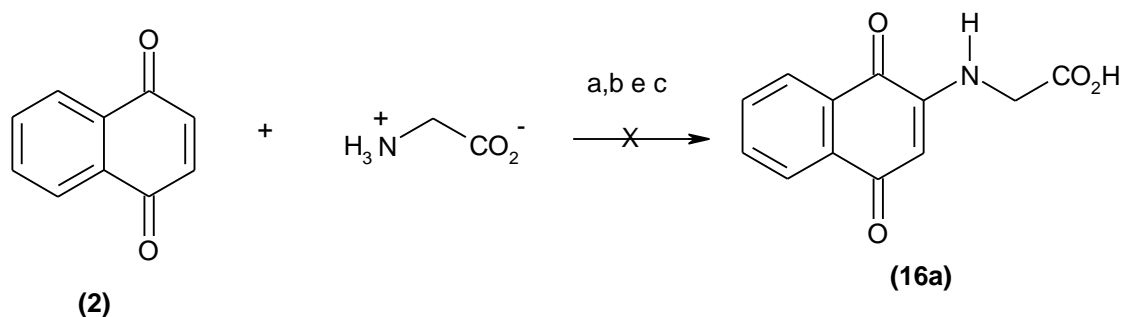


Esquema 6: Mecanismo provável da reação de 1,4-naftoquinona com as aminas (16a-e)

3.2. Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (16a)

Para a reação de adição da 1,4-naftoquinona com a glicina fez-se uso de algumas variações como: MeOH/ H_2O sob agitação e aquecimento por 6h à 60°C; MeOH/ H_2O /KOH sob agitação por 4h à 60°C; EtOH/ H_2O sob agitação por 24h

(Esquema 7), sendo todas elas neutralizadas com uma solução de HCl a 10%. Não foi obtido produto com estes procedimentos.



(a) MeOH/H₂O, 60°C., 6h; (b) MeOH/ H₂O, KOH, 60°C, 4h; (c) EtOH/H₂O, KOH, 60°C, 24h.

Esquema 7: Tentativa de síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (16a)

No intuito de verificar se o aminoácido estava degradando, substituiu-se a glicina por β-alanina nas mesmas proporções utilizadas acima, e também não se obteve sucesso. Optou-se então por explorar as mesmas reações evitando aquecimento, pois é provável que os produtos estivessem se degradando. Estas alterações foram bem sucedidas, e os seus resultados podem ser vistos sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1: Condições empregadas para a reação de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-amino (**16a-e**)

Aminoácido	Quant. (mg)	Tempo (h)	Produto	Rend. (%)	Ponto de fusão (°C)
	0,122	3	 (16a)	55 ¹	168-170 ¹
	0,134	2	 (16b)	61 ²	198-200 ²
	0,173	1	 (16c)	58 ³	164-167 ³
	0,134	3	 (16d)	40 ⁴	148-150 ⁴
	0,248	20	 (16e)	60	128-130

1. BITTNER *et al.*,2002 obtiveram 40% de rendimento e ponto de fusão de 197–199°C.

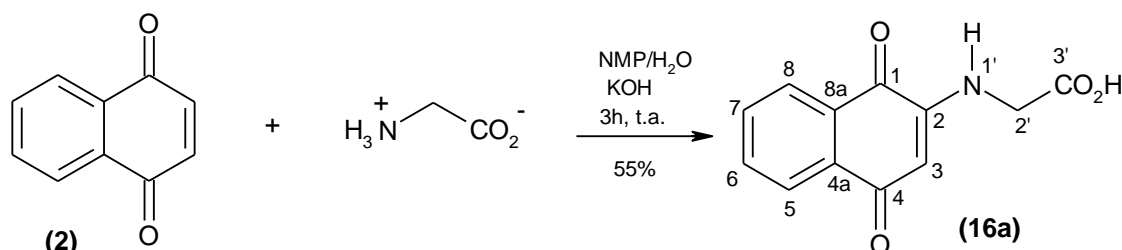
2. BITTNER *et al.*,2002 obtiveram 79% de rendimento e ponto de fusão de 206–207°C.

3. SHRESTHA-DAWADI *et al.*,1996 obtiveram 74% de rendimento e ponto de fusão de 165-168°C.

4. BITTNER *et al.*,2000 obtiveram 65% de rendimento e ponto de fusão de 139-142°C.

3.3. Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (**16a**)

O composto **16a** foi sintetizado seguindo a estratégia sintética partindo da 1,4-naftoquinona com a glicina (Esquema 8).



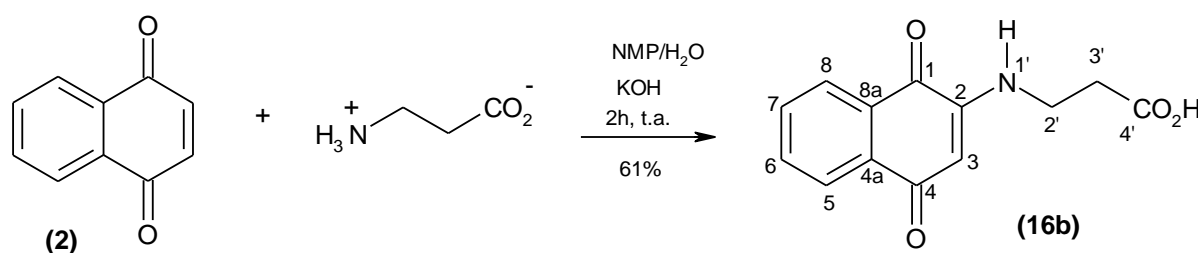
Esquema 8: Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (**16a**)

Seguindo o procedimento **3.2**, produto **16a** foi obtido na forma de sólido amorfo com 55% de rendimento e apresentou ponto de fusão entre 168-170°C. Uma reação de 2-*N*-glicina-1,4-naftoquinona descrita na literatura (BITTNER *et al.*,2002) apresentou rendimento de 40% e um ponto de fusão de 197-199°C. A estrutura do composto **16a** foi determinada com base na interpretação dos dados espectrais de IV, RMN ¹H e ¹³C. O espectro de IV (p. 55) mostrou absorções em 1729 cm⁻¹ característica de deformação axial da ligação C=O de ácidos carboxílicos. Absorção em 1683 cm⁻¹ foi atribuída a uma deformação axial das ligações C=O de cetonas conjugadas. Ainda no espectro no IV foi observada uma absorção intensa em 3341 cm⁻¹ atribuída a vibrações de deformação axial de ligações de N-H e uma absorção em 1301 cm⁻¹ atribuída a uma deformação axial da ligação C-N. Pares de absorções características de deformações axiais de ligações C=C em aromáticos foram observadas em 1607 cm⁻¹, 1558 cm⁻¹ e 1505 cm⁻¹. Na análise do espectro de RMN¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz, p. 56, 57), pode-se observar na região de hidrogênios aromáticos dois duplos dubletos em $\delta=7,98$ e 7,90 ppm (dd, $J=1,5$ e 1,5 Hz) que podem ser atribuídos aos hidrogênios aromáticos ligados aos carbonos em posição *orto* aos grupos carbonila do anel da quinona (H-5 e H-8 respectivamente) e dois duplos tripletos em $\delta=7,82$ ppm (dt, H-6, $J=1,2$ e 7,5 Hz) e 7,74 ppm (dt, H-7, $J=1,5$ e 7,5 Hz) que foram atribuídos aos hidrogênios aromáticos ligados aos carbonos em posição *meta* às carbonilas da quinona (H-6 e H-7 respectivamente). Foi possível

observar também a presença de um singlete em $\delta=5,62$ ppm (1H), atribuído ao hidrogênio C-3. O espectro mostrou em $\delta=3,98$ ppm (d, H-2', $J=6,0$ Hz), um dubleto referente aos hidrogênios do carbono metilênico da glicina. O desdobramento em um dubleto ocorre provavelmente devido ao acoplamento do metileno com o hidrogênio ligado ao nitrogênio, que se apresenta como um tripleto largo em $\delta=7,45$ ppm (t, N-H, $J=6,0$ Hz). O espectro de RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz, p. 58) mostrou sinais característicos em $\delta=181,7$ e 181,3 ppm, que foram atribuídos aos grupos carbonila do anel quinônico (C-4 e C-1 respectivamente), um sinal em $\delta=148,2$ ppm atribuído ao C-2 ligado ao nitrogênio, como também um sinal em $\delta=100,7$ ppm que foi atribuído ao carbono olefínico da posição C-3 do anel quinônico. Foi possível observar a presença de um sinal em $\delta=43,5$ ppm referente ao metileno da glicina, e um sinal em $\delta=170,2$ ppm caracterizado como a carbonila de ácido carboxílico.

3.4. Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β alanina (**16b**)

O composto **16b** foi sintetizado seguindo a estratégia sintética partindo da 1,4-naftoquinona com a β -alanina (Esquema 9).



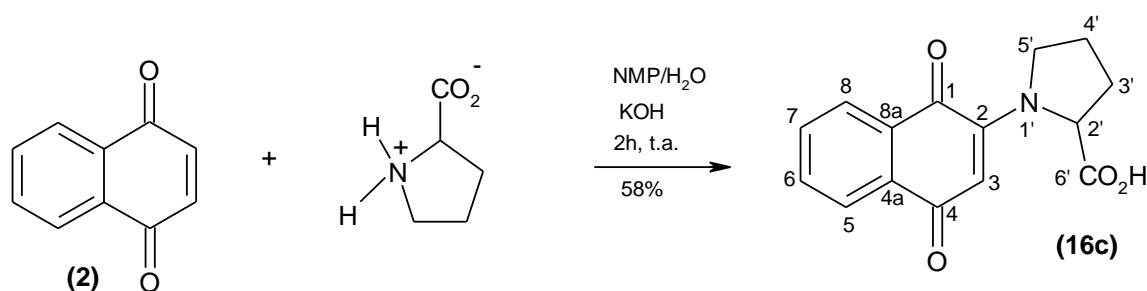
Esquema 9: Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β alanina (**16b**)

Seguindo o procedimento apresentado em 3.2 o produto **16b** foi obtido na forma de sólido amorfo em 61% de rendimento, em um tempo reacional de 2h, e apresentou ponto de fusão entre 198-200° (BITTNER *et al.*,2002). A estrutura do composto **16b** foi determinada com base na interpretação dos dados espectrais de IV, RMN ¹H e ¹³C. O espectro de IV (p. 59) apresentou semelhança com o espectro do composto **16a**. O espectro de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz, p. 60, 61) mostrou

um tripleto largo em $\delta=7,90$ ppm (t, H5/8,2H, $J=7,5$ e $7,2$ Hz) e um duplo tripleto largo em $\delta=7,72$ ppm (dt, H6/7, $J=7,5$ Hz), observou-se também um multipletto do H-2' que sobrepôs com o sinal de DMSO e um tripleto em $\delta=2,59$ ppm (t, H-3', $J=6,9$ Hz). No espectro de RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz, p. 62) foi observado um sinal adicional quando comparado ao espectro do composto **16a** em $\delta=37,9$ ppm correspondente ao metileno C3'.

3.5. Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-prolina (**16c**)

O composto **16c** foi sintetizado seguindo a estratégia sintética partindo da 1,4-naftoquinona com a prolina (Esquema 10).



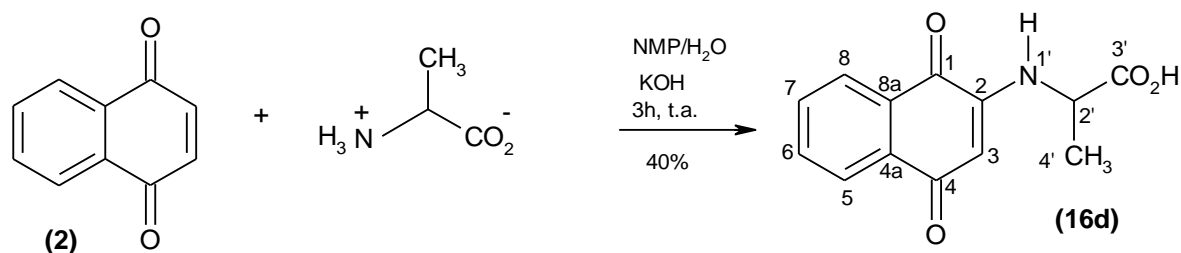
Esquema 10: Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-prolina (**16c**)

Utilizando o procedimento **3.2** produto foi obtido na forma de sólido amorfo com 58% de rendimento e apresentou ponto de fusão entre 164-167 °C. O espectro de IV (p. 63) não apareceu o sinal de C-N acima de 300 cm⁻¹, além das absorções semelhantes as anteriores, apareceu um sinal em 2876cm⁻¹ característico de carbono sp². Já o de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz, p. 64, 65) de **16c** vê-se o hidrogênio de ácido carboxílico em $\delta=12,71$ ppm como um sinal largo, o sistema aromático de naftoquinona aparece como um dubleto largo em $\delta=7,90$ ppm (d, 2H, $J=6,6$ Hz), um duplo dubleto em $\delta=7,80$ ppm (dd, 1H, H-6, $J=7,6/7,2$ Hz) e $\delta=7,71$ ppm (t, 1H, H-7, $J=7,6/7,2$ Hz). O sinal do H-3 apareceu em $\delta=5,74$ ppm como um singlete (1H). Em $\delta=4,98$ (m, 1H) temos o hidrogênio do carbono α (alfa) do aminoácido (C-2), o metileno CH₂N aparece (parcialmente encoberto pelo sinal da

água do DMSO em $\delta=3,45$ ppm) como um multipletto em $\delta=3,34$ ppm. Os metilenos dos carbonos C-3 e C-4 aparecem como multipletos em $\delta=2,27$ ppm (m, 1H), $\delta=2,06$ (1H,m), $\delta=1,95$ ppm (1H,m) e $\delta=1,88$ pp (1H,m). O espectro de RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz, p. 66, 67) mostrou os sinais das carbonilas do núcleo naftoquinona $\delta=182,61$ e $\delta=181,15$ ppm. O sinal da carboxila do ácido aparece em 173,38 ppm. O C2 (ligado ao nitrogênio) observa na região característica de $\delta=148,7$ ppm. Em $\delta=62,44$ ppm vê-se o carbono 2, e os sinais do meio pirrolidona restante aparece em $\delta=50,96$ ppm (C5), $\delta=30,99$ ppm (C3) e $\delta=21,84$ ppm (C4).

3.6. Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina (16d)

O composto **16d** foi sintetizado seguindo a estratégia sintética partindo da 1,4-naftoquinona com a *L*-alanina (Esquema 11).

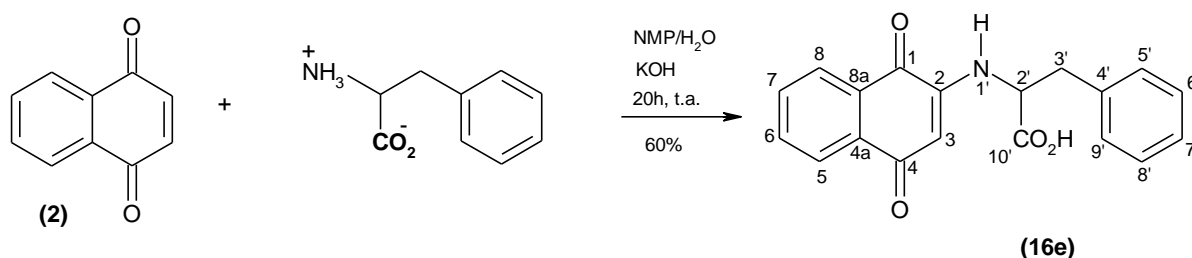


Esquema 11: Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina (16d)

Seguindo o procedimento usado no **3.2**, produto **16d** foi obtido na forma de sólido com 40% de rendimento e apresentou um ponto de fusão entre 148-150 °C. O espectro de IV (p. 68) mostrou absorções semelhantes aos anteriores, já o de RMN¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz, p. 69, 70), além dos sinais de duplo dubleto e duplo tripleto na região aromática característicos do sistema naftoquinona, apresentou também um quinteto em $\delta=4,21$ ppm (quinteto, H-2', $J=7,2$ Hz), foi possível observar um dubleto em $\delta=1,45$ ppm (d, H-4', $J=7,2$ Hz) e um dubleto em $\delta=7,25$ ppm (d, N-H, $J=7,5$ Hz). No espectro RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz, p. 71, 72) observou-se três sinais adicionais quando comparado com o espectro do material de partida da naftoquinona: um sinal em $\delta=173,17$ ppm atribuído à carbonila, um sinal em $\delta=50,14$ ppm do carbono terciário e um sinal em $\delta=16,75$ ppm do carbono metílico.

3.7. Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-fenilalanina (16e)

O composto **16e** foi sintetizado seguindo a estratégia sintética partindo da 1,4-naftoquinona com a *L*-fenilalanina (Esquema 12).



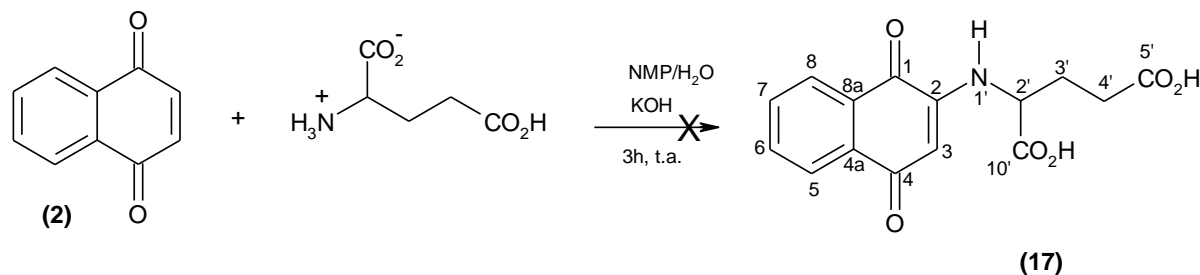
Esquema 12: Síntese da *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-fenilalanina (16e)

Para a síntese do produto **16e** utilizaram-se as mesmas condições empregadas nos compostos anteriores, entretanto não se conseguiu o produto. Partiu-se então para outro procedimento, no qual a reação foi submetida sob agitação de aproximadamente 20 horas e, após observação utilizando CCD, verificou-se o término da reação. Em seguida, procedeu-se a extração do material orgânico com acetato de etila, as fases orgânicas foram secas e evaporadas. O produto foi obtido na forma de sólido com 60% de rendimento e apresentou ponto de fusão entre 128-130°C.

O espectro de IV (p. 73) mostrou absorções semelhantes aos anteriores. No espectro de RMN¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz, p. 74, 75) apareceu um multipletto em $\delta=3,21$ ppm do hidrogênio C3', um outro multipletto em $\delta=7,18$ ppm referente aos hidrogênios aromáticos da fenila e um quarteto em $\delta=4,48$ ppm (q, H-2', $J=7,2$ Hz). O espectro de RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz, p. 76) mostrou dez sinais de carbonos aromáticos; seis do anel naftoquinônico em $\delta=135,0$; 132,7; 132,4; 130,1; 126,6 e 126,0 ppm equivalente aos carbonos C6, C8a, C7, C4a, C5 e C8 respectivamente, e quatro sinais do anel da fenilalanina com absorções em $\delta=136,9$; 129,2; 128,2 e 125,4 ppm equivalente aos carbonos C4',C6'/C8', C9'/C5', e C7' respectivamente

3.8. Tentativa de síntese do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-ácido glutâmico (17)

Para sintetizar o composto **17**, partiu-se da 1,4-naftoquinona com o ácido glutâmico (Esquema 12).



Esquema 13: Tentativa de síntese do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-ácido glutâmico (17)

Para o a síntese do produto **17** além de utilizar as mesmas condições empregadas nos compostos anteriores (**16a-e**), mudando apenas a quantidade da base que foi duplicada, também foi feito extração do material orgânico com diclorometano, evaporou-se a fase orgânica, mas o produto desejado não foi obtido.

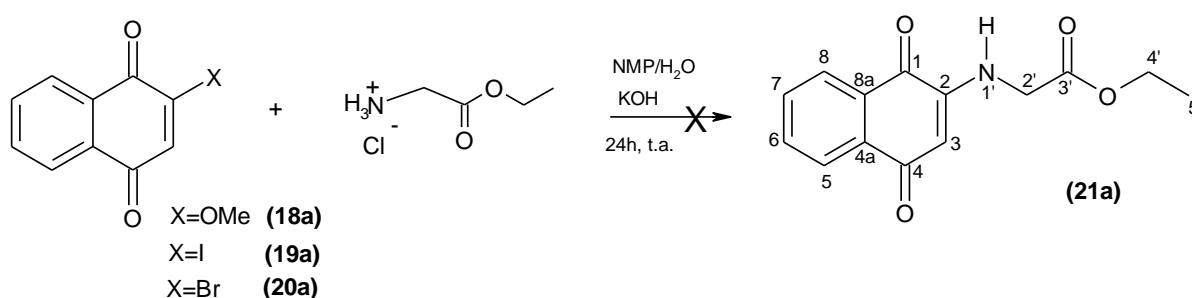
3.9. Síntese do glicinato de etila com o 2-metoxi-1,4-naftoquinona e com o 2-iodo-1,4-naftoquinona e 2-bromo-1,4-naftoquinona.

Foram utilizados diversos procedimentos para obtenção da reação de condensação do glicinato de etila com a molécula 1,4-naftoquinona, tais como:

variação do volume de NMP; da concentração de KOH, da quantidade de H₂O, da mistura metanol/etanol e aquecimento em banho-maria ou em microondas. Mesmo utilizando todas as condições descritas anteriormente não obteve sucesso. Com isso, o protocolo foi alterado diminuindo drasticamente a quantidade de água presente na reação, com o objetivo de evitar a hidrólise do grupo éster etílico. Este procedimento também se revelou infrutífero. A esta altura substitui-se o glicinato de etila pelo β-amino propanoato de etila, a fim de verificar alguma interferência do substrato, e os resultados foram os mesmos.

Na tentativa de obter o produto, utilizou-se uma abordagem sintética diferente, usando a reação de substituição nucleofílica através do uso de 2-metoxi-1,4-naftoquinona (CAMARA *et al.*, 2001), 2-iodo-1,4-naftoquinona (LIU *et. al.*, 2008) e

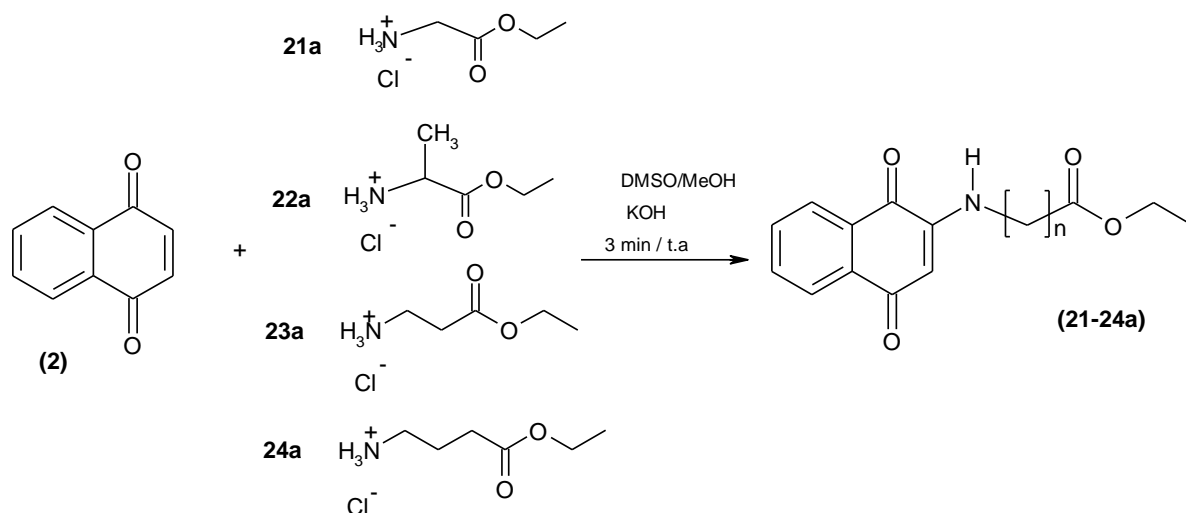
do 2-bromo-1,4-naftoquinona (VALENTE *et al.*, 2007), sem lograr êxito. Esta abordagem sintética difere das anteriores, pois não se trata de uma adição conjugada 1,4 de Michael, como quando utilizamos a 1,4-naftoquinona não substituída. Aqui, a presença de bons grupos abandonadores (X= OMe, Br,I) transforma a 1,4-naftoquinona em derivados de ésteres e haletos de arila vinílicos, provavelmente, o mecanismo de substituição com aminas nucleofílicas se dará pelo mecanismo clássico de adição-eliminação a derivados de ácidos carboxílicos. (CAREY *et al.*, 2007, p. 659).



Esquema 14: Síntese da 1,4-naftoquinona metoxilada, iodada e bromada com o glicinato de etila

3.10. Síntese geral para a síntese do *N*-(naftoquinon-2-il)-amino de etila

Após observar que a reação não se processava nas condições anteriores, resolveu-se então, aumentar ainda mais a polaridade do solvente da reação, substituindo o NMP pelo DMSO (a finalidade do solvente foi a de encontrar um solvente que solubilizasse os reagentes), em condições similares (presença de fase aquosa e aquecimento), obtendo-se os produtos com rendimentos bons a moderados (30-64%), utilizando a 1,4-naftoquinona em DMSO/MeOH na presença de base (Esquema 15), e purificação em coluna de sílica gel usando CH₂Cl₂ como solvente. Assim, o procedimento geral foi encontrado, e os outros ésteres foram obtidos. As condições de reação com respectivos rendimentos estão descritos na Tabela 2.



Esquema 15: Adição de Michael da reação da 1,4-naftoquinona (2) com os respectivos cloretos de ésteres de aminoácidos (21a-24a)

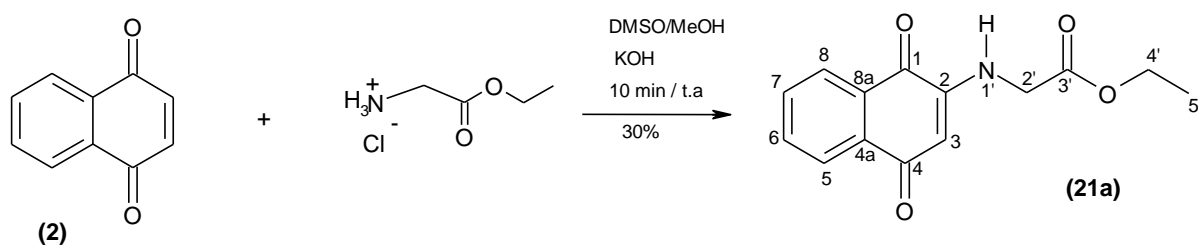
Tabela 2: Condições empregadas para a reação da 1,4-naftoquinona (**2**) com os respectivos cloretos de ésteres de aminoácidos (**21a-24a**)

Éster do aminoácido	Quant. 1 mmol (mg)	Tempo (min)	Produto	Rend. (%)	Ponto de fusão (°C)
	0,140	3		30 ¹	93-95
	0,154	3		53	65-68
	0,154	3		64	120-122
	0,168	3		64	120-122

1. VALENTE et.al.,2007 obteve 9% de rendimento deste produto partindo da naftoquinona bromada.

3.11. Síntese do *N*-(naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (**21a**)

A estratégia da síntese do composto **21a** está ilustrado no Esquema 16.

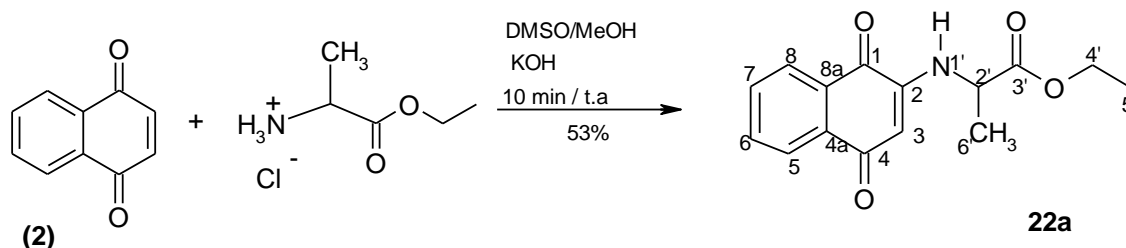


Esquema 16: Síntese do *N*-(naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (**21a**)

O produto **21a** foi obtido, seguindo o procedimento descrito no item **3.10**, na forma de um sólido amorfo com coloração esverdeada e um ponto de fusão entre 93-95°C. O espectro de IV (p.77) além das absorções das carbonilas do anel quinônico, observou-se também uma deformação axial em 1732 cm⁻¹ da carbonila do éster e uma deformação axial em 1222 cm⁻¹ da ligação C(=O)-O do éster. Na análise do espectro de RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, p. 78, 79), mostrou um triplo dubleto em δ=7,69 ppm (t d, 1H, H-6, *J* = 1,4 e 7,5 Hz), um outro triplo dubleto em δ=7,59 ppm (td, 1H, H7, *J* = 1,2 e 7,5 Hz) referente aos hidrogênios do anel quinônico, já na porção glicinato de etila, observou-se a presença de mais quatro sinais: um tripleto do carbono metílico em δ=1,33 ppm (t, H-5', *J*=7,0 Hz), um quarteto do carbono metínico ligado ao oxigênio do éster em δ=4,26 ppm (q, H-4', *J*=7,0 Hz). Observou-se também um dubleto em δ=3,90 ppm (d, H-2', *J*=5,0 Hz) que foi atribuído aos hidrogênios do metileno vizinho ao grupo amino e um singleto largo em 6,37 ppm referente ao N-H. Analisando o espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, p. 80) foi possível confirmar a presença de uma metila em δ=14,1ppm, observou-se um sinal de CH₂ em δ=43,8 ppm característico de unidade etila de éster e um metilêno em δ=62,0 ppm correspondente ao carbono C2'. Observa-se também um sinal em δ=168,2 ppm do carbono da carbonila do éster.

3.12. Síntese do *N*-(naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila (**22a**)

A estratégia da síntese do composto **22a** está ilustrado no Esquema 17.



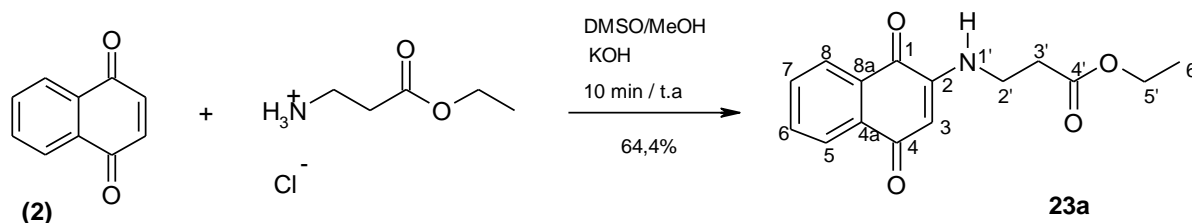
Esquema 17: Síntese do *N*-(naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila (**22a**)

Utilizando o procedimento descrito no item **3.10**, o produto **22a** foi obtido com 53% de rendimento na forma de um sólido amorfo com coloração esverdeada e um

ponto de fusão entre 65-68°C. O espectro de IV (p. 81) foi parecido ao do composto **21a**, enquanto os espectros de RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, p. 82) apresentou um duplete $\delta=1,48$ ppm (d, H-6', $J=6,8$ Hz), um tripleto em $\delta=1,25$ ppm (t, H-5', $J=7,2$ Hz), um quarteto em $\delta=4,22$ ppm (q, H-4', $J=7,2$ Hz) e um tripleto em $\delta=4,04$ ppm (t, H-2', $J=7,2$ Hz). O espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz p. 83) apresentou um sinal adicional quando comparado a ambos os espectros do composto **21a** referente a presença da metila em $\delta=17,47$ ppm ligada ao carbono do éster.

3.13. Síntese da *N*-(naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (**23a**)

A estratégia da síntese do composto **23a** está ilustrado no Esquema 18.

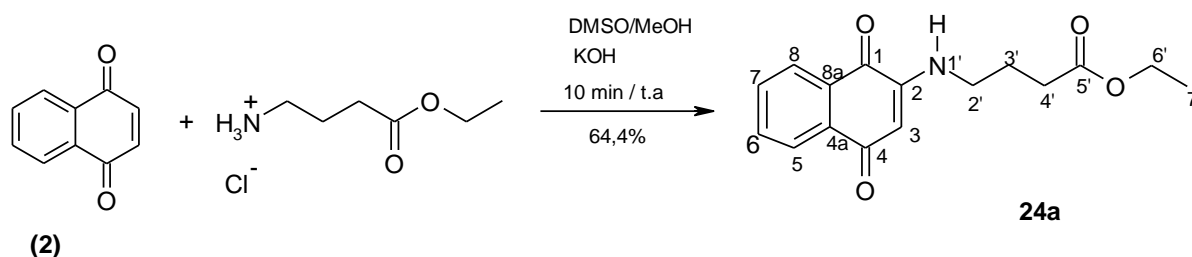


Esquema 18: Síntese da *N*-(naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (**23a**)

Seguindo o procedimento descrito no item **3.10**, o produto foi obtido na forma de sólido com 64% de rendimento e apresentou um ponto de fusão entre 120-122°C. Os dados espectrais de IV (p. 84) foram idênticos aos espectros do composto **21a**, o espectro de RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz p. 85, 86) apresentou um quarteto em $\delta=4,15$ ppm (q, H-2', $J=7,0$ Hz), um quarteto em $\delta=3,50$ ppm (q, H-5', $J=6,2$ Hz), um tripleto em $\delta=2,64$ ppm (t, H-3', $J=6,4$ Hz) e um tripleto em $\delta=1,24$ ppm (t, H-6', $J=7,0$ Hz). Já o espectro RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz p. 87) foi parecido com o espectro do composto **22a**, considerando que o composto **23a** apresenta um grupo metilênico adicional em $\delta=37,91$ ppm quando comparado a ele.

3.14. Síntese do *N*-(naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**)

A estratégia da síntese do composto **24a** está ilustrada no Esquema 19.

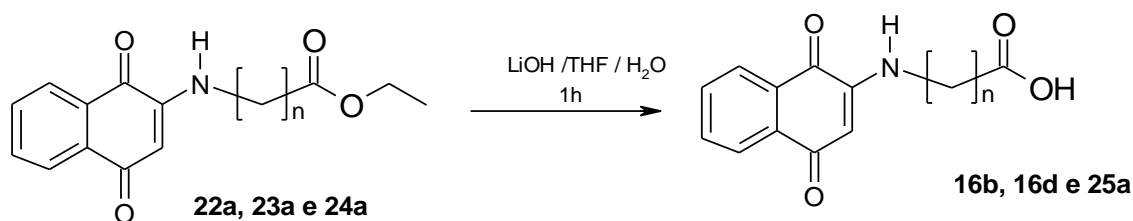


Esquema 19: Síntese do *N*-(naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (24a)

Utilizando o procedimento anterior (**3.10**), a reação apresentou um rendimento satisfatório de 64%, um sólido amorfo de cor laranja e um ponto de fusão entre 120-122°C. A estrutura do composto 4b foi confirmada comparando seus espectros de IV (p. 88), RMN¹H e ¹³C com os espectros do composto **23a**, que possui um carbono metilênico adicional. Sendo que no espectro de RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, p. 89, 90) do composto **24a** apresentou um quarteto em $\delta=4,15$ ppm (q, H-6', $J=7,0$ Hz), um quarteto em $\delta=3,24$ ppm (q, H-2', $J=6,2$ Hz), um tripleto em $\delta=2,41$ ppm (t, H-4', $J=7,0$ Hz), um quinteto em $\delta=1,99$ ppm (quinteto, H-3', $J=7,0$ Hz) referente ao carbono metilênico C3' e um tripleto em $\delta=1,23$ ppm (t, H-7', $J=7,0$ Hz). O espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, p. 91) mostrou um sinal a mais em relação ao composto **26a** em $\delta=23,18$ ppm referente ao carbono C4'.

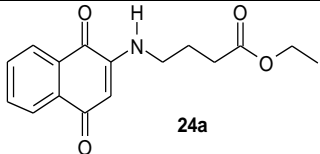
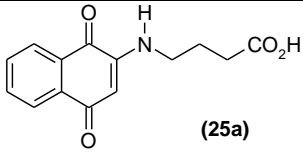
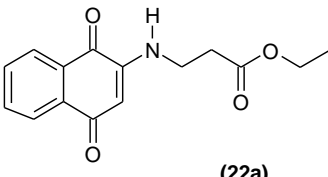
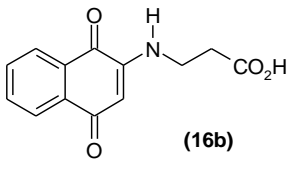
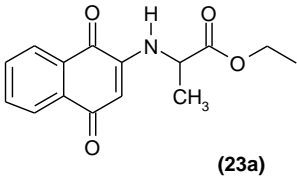
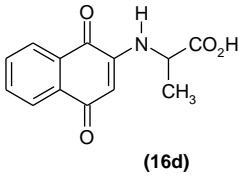
3.15. Hidrólise do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-amino de etila (22a-24a)

A hidrólise dos compostos **22a-24a** foram realizadas seguindo-se a metodologia previamente descrita na literatura (Esquema 20) (KSANDER, *et al.*, 1997). As condições de reação com os respectivos rendimentos estão descritos na Tabela 3.



Esquema 20: Reação de Hidrólise do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-amino derivados (21-24a).

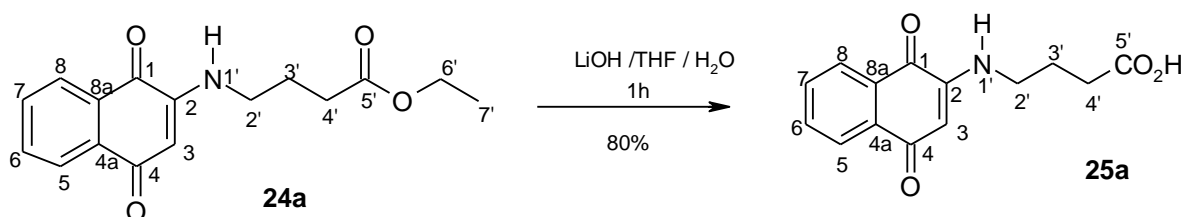
Tabela 3: Condições empregadas para a reação de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-amino derivados (**25a**, **16b** e **16d**)

Ester	Quant. (mg)	Tempo (h)	Produto	Rend.(%)	Ponto de fusão (°C)
	100	1		80 ¹	210-212
	100	1		75	198-200
	100	1		70	148-150

1. BITTNER *et al.*, 2002 obteve 80% de rendimento e um ponto de fusão de 210-211°C.

3.16. Hidrólise do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**)

Obteve-se o composto **25a**, hidrolisando o composto **24a** de acordo com o Esquema 21.



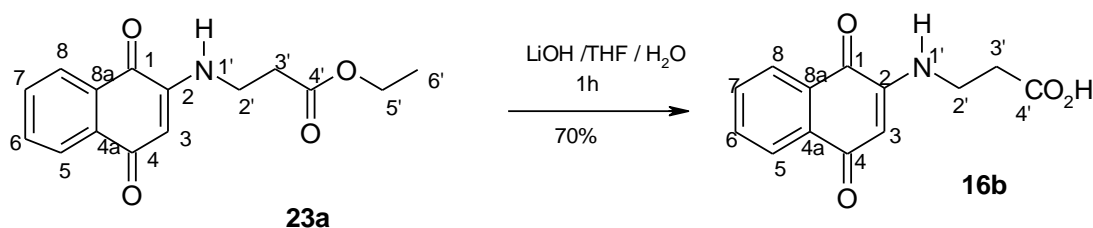
Esquema 21: Hidrólise do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**25a**)

Utilizando o procedimento descrito na literatura (item 3.15), o produto foi obtido na forma de sólido com 80% de rendimento e apresentou um ponto de fusão

entre 210-212°C. O espectro de IV (p. 92) mostrou uma deformação axial em 1671 cm^{-1} referente ao C=O do ácido carboxílico. O espectro de RMN¹H (DMSO, 300 MHz, p. 93, 94) quando comparado ao composto **24a** não apresentou dois sinais do grupo etila do éster e mostrou um sinal largo em $\delta=12,17$ ppm referente ao hidrogênio do ácido carboxílico, confirmando a hidrólise do composto **24a**. O espectro de RMN¹³C (DMSO, 100 MHz, p. 95) mostrou um sinal em $\delta=174,3$ ppm correspondente a carbonila do ácido.

3.17. Hidrólise do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (**23a**)

O composto **23a** foi hidrolisado de acordo com o Esquema 22.

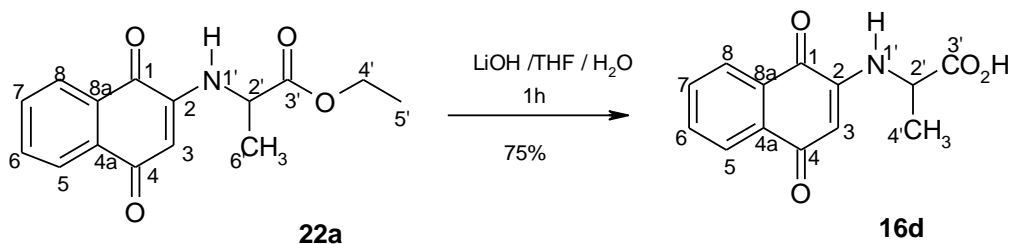


Esquema 22: Hidrólise do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (**23b**)

Utilizando o procedimento descrito na literatura (item **3.15**), o produto foi obtido na forma de sólido com 70% de rendimento e apresentou um ponto de fusão entre 198-200 °C. Os dados espectrais de infravermelho (p. 68), RMN¹H (p. 60, 61) e RMN¹³C (p. 62) do composto **16b** são similares aos obtidos anteriormente (**3.4**).

3.18. Hidrólise do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila (**22a**)

O composto **22a** foi hidrolisado de acordo com o Esquema 23.



Esquema 23: Hidrólise do *N*-(naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila (16d)

Utilizando o procedimento descrito na literatura (item **3.15**), o produto foi obtido na forma de sólido com 75% de rendimento e apresentou ponto de fusão entre 148-150 °C. Os dados espectrais de IV (p. 68), RMN¹H (p. 69, 70) e RMN¹³C (p. 71) do composto **16d** são similares aos obtidos anteriormente (**3.6**).

4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS

4.1. Atividade antifúngica

Os resultados dos testes de atividade fungistática dos compostos sintéticos **16a-e** e **21-24a** contra os dermatófitos (*Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*) estão apresentados nas Tabelas 4, 5, 6 e 7.

Tabela 4 - Determinação da concentração mínima inibitória da anfotericina B, dos compostos (2-*N*-amino-quinona) frente ao isolado *Trichophyton rubrum* (URM-4728).

Espécie de Dermatófitos	Antifúngico	Faixa testada (µg/mL)	*CIM ₅₀ (µg/mL)	*CIM ₇₀ (µg/mL)	*CIM ₈₀ (µg/mL)
<i>Trichophyton rubrum</i>	Anfotericina B	200-1600	800	ND	ND
	16a	62,5-500	250	250	ND
	16b	62,5-500	250	ND	ND
	16c	62,5-500	125	ND	ND
	16e	62,5-500	125	ND	ND
	16d	125-500	250	ND	ND
	21a	62,5-500	125	500	ND
	22a	62,5-500	250	500	ND
	23a	62,5-500	125	250	ND
	24a	62,5-500	250	ND	ND
	25a	62,5-500	125	ND	ND

* Média dos resultados

CIM₅₀, **CIM₇₀** e **CIM₈₀**: concentração mínima capaz de inibir 50%, 70% e 80% das amostras de Dermatófitos respectivamente.

ND: não determinado

Todos os compostos analisados apresentaram maior atividade fungistática para *T. rubrum* do que o padrão Anfotericina B, já que neste experimento, o mesmo apresentou um CIM₅₀ apenas na concentração de 800µg/mL (Tabela 4), enquanto os compostos sintéticos *N*-(1,4-naftoquino-2-il)glicina (**16a**) e *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila (**23a**) apresentaram concentração inibitória CIM₇₀, numa concentração de 250µg/mL. Os compostos *N*-(naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (**21a**) e *N*-(naftoquinon-2-il)-L-2-aminopropanoato de etila (**22a**) apresentaram um CIM₇₀ de 500 µg/mL.

Tabela 5- Determinação da concentração mínima inibitória da anfotericina B, dos compostos (2-*N*-amino-quinona) frente ao isolado *Trichophyton mentagrophytes* (URM-3239).

Espécie de Dermatófitos	Antifúngico	Inibição (µg/mL)	*CIM ₅₀ (µg/mL)	*CIM ₇₀ (µg/mL)	*CIM ₈₀ (µg/mL)
	Anfotericina B	200-1600	400	ND	ND
	16a	125-500	250	250	250
	16b	62,5-500	125	250	ND
	16c	62,5-500	62,5	125	ND
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	16e	62,5-500	125	125	ND
	16d	125-500	250	250	ND
	21a	62,5-500	125	125	500
	22a	62,5-500	250	250	500
	23a	62,5-500	62,5	250	500
	24a	62,5-500	125	250	500
	25a	62,5-500	62,5	125	500

* Média dos resultados

CIM₅₀, **CIM₇₀** e **CIM₈₀**: concentração mínima capaz de inibir 50%, 70% e 80% das amostras de Dermatófitos respectivamente.

ND: não determinado

O dermatófito *Trichophyton mentagrophytes* apresentou-se sensível a todos os compostos testados na CIM₅₀ e CIM₇₀. O dermatófito *Trichophyton mentagrophytes* apresentou-se mais sensível diante do composto *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)glicina (**16a**) na concentração de 250µg/mL e os compostos *N*-(naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (**21a**), *N*-(naftoquinon-2-il)-L-2-aminopropanoato de etila (**22a**), *N*-(naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila (**23a**), *N*-(naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**) e *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**25a**) na concentração de 500 µg/mL (Tabela 5), apresentando um CIM₈₀ quando comparados com o controle positivo, que apresentou CIM₅₀ na concentração de 400µg/mL.

Tabela 6- Determinação da concentração mínima inibitória da anfotericina B, dos compostos (2-*N*-amino-quinona) frente ao isolado *Microsporum canis* (URM-4678).

Espécie de Dermatófitos	Antifúngico	Inibição (µg/mL)	*CIM ₅₀ (µg/mL)	*CIM ₇₀ (µg/mL)	*CIM ₈₀ (µg/mL)
<i>Microsporum canis</i>	Anfotericina B	200-1600	1600	ND	ND
	16a	125-500	250	250	250
	16b	125-500	250	250	ND
	16c	62,5-500	125	ND	ND
	16e	62,5-500	125	ND	ND
	16d	125-500	125	500	ND
	21a	125-500	125	500	ND
	22a	125-500	250	ND	ND
	23a	125-500	250	ND	ND
	24a	250-500	250	ND	ND
25a	250-500	250	ND	ND	

* Média dos resultados

CIM₅₀, **CIM₇₀** e **CIM₈₀**: concentração mínima capaz de inibir 50%, 70% e 80% das amostras de Dermatófitos respectivamente.

ND: não determinado

O dermatófito *Microsporum canis* apresentou-se sensível na maioria dos compostos testados na CIM₅₀, exceto o *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**25a**), já na CIM₇₀ os compostos mais ativos foram os *N*-(1,4-naftoquino-2-il)glicina (**16a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β alanina (**16b**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina (**16d**) e *N*-(naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (**21a**). A melhor atividade inibitória entre os compostos analisados foi a do *N*-(1,4-naftoquino-2-il)glicina (**16a**) que na concentração de 250µg/mL apresentou um CIM₈₀ quando comparado com a Anfotericina B (Tabela 6), que na concentração de 1600 µg/mL mostrou um CIM₅₀ para o dermatófito *Microsporum canis*.

Tabela 7- Determinação da concentração mínima inibitória da anfotericina B, dos compostos sintéticos (2-*N*-amino-quinona) frente ao isolado *Microsporium gypseum* (URM-6034).

Espécie de Dermatófitos	Antifúngico	Inibição (µg/mL)	*CIM ₅₀ (µg/mL)	*CIM ₇₀ (µg/mL)	*CIM ₈₀ (µg/mL)
	Anfotericina B	400-1600	400	ND	ND
	16a	125-500	250	250	ND
	16b	62,5-500	125	250	ND
	16c	62,5-500	62,5	ND	ND
<i>Microsporium gypseum</i>	16e	62,5-500	125	ND	ND
	16d	62,5-500	125	500	ND
	21a	62,5-500	125	ND	ND
	22a	62,5-500	250	ND	ND
	23a	62,5-500	125	500	500
	24a	125-500	250	500	500
	25a	125-500	125	ND	ND

* Média dos resultados

CIM₅₀, **CIM₇₀** e **CIM₈₀**: concentração mínima capaz de inibir 50%, 70% e 80% das amostras de Dermatófitos respectivamente.

ND: não determinado

O dermatófito *M. gypseum* apresentou-se sensível a todos os compostos testados na CIM₅₀. Na CIM₇₀ os compostos mais ativos foram *N*-(1,4-naftoquino-2-il)glicina (**16a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β alanina (**16b**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina (**16d**), *N*-(naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila (**23a**) e *N*-(naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**). Apenas o *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila (**23a**) e *N*-(1,4-naftoquino-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**) (Tabela 7) apresentaram uma concentração CIM₈₀ na concentração de 500µg/mL comparadas com o controle positivo que conseguiu CIM₅₀ do crescimento fúngico na concentração de 400µg/mL.

De acordo com as tabelas 4, 5, 6 e 7 todos os compostos apresentaram atividade fungistática quando comparados ao controle variando apenas as CIM, destacando como o mais eficaz a *N*-(1,4-naftoquino-2-il)glicina (**16a**).

4.2. Atividade antibacteriana

A concentração inibitória mínima (CIM) para os compostos sintéticos estudados variaram de 500µg/ml a 62,5µg/ml (tabela 8). *P. aeruginosa* foi o microrganismo mais resistente às drogas testadas enquanto que *E. coli* foi a mais sensível.

Tabela 8– Concentrações inibitórias mínimas das drogas testadas frente às bactérias *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Bactéria	Concentrações Inibitória Mínima (CIM-100%)												
	Drogas (µg/mL)											CP	CN
	16a	16b	16c	16d	16e	21a	22a	23a	24a	25a			
<i>E. faecalis</i>	125	125	R	250	R	62,5	500	500	62,5	500	-	+	
<i>B. subtilis</i>	500	500	R	250	R	62,5	500	250	125	R	-	+	
<i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	R	R	R	250	R	250	250	-	+	
<i>K. pneumonia</i>	250	250	R	250	R	125	500	R	250	500	-	+	
<i>E. coli</i>	125	62,5	125	62,5	250	250	R	62,5	ND	ND	-	+	
<i>S. aureus</i>	250	125	125	125	125	125	62,5	250	ND	ND	-	+	

(R) Resistente; (+) Crescimento da bactéria; (-) inibição do crescimento da bactéria.

CN - Controle negativo – DMSO, CP- Controle positivo – digluconato de clorexidina.

ND- Não determinado.

Todos os compostos apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias testadas neste estudo. Os compostos *N*-(1,4-naftoquino-2-il)-glicinato de etila (**21a**), *N*-(1,4-naftoquino-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina (**16b**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina (**16d**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (**21a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila (**22a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila (**23a**) e *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**) foram as que apresentaram os

menores CIM (62,5 µg/mL). O composto *N*-(1,4-naftoquino-2-il)-glicinato de etila (**21a**) foi o mais efetivo contra as bactérias testadas.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Equipamentos

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram feitos na Central Analítica do UFPB utilizando o aparelho Varian Mercury- 200 MHz e na Central Analítica da UFPE utilizando o aparelho Varian Mercury- 300 e 400 MHz e solventes deuterados comerciais (Aldrich e CIL). Os valores de deslocamento químico (δ) estão expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrofotômetro FT-IR BOMEM MB-Series 100 e no aparelho Varian 640-IR no CENAPESQ (UFRPE). Os valores para as absorções são referidos em números de ondas, utilizando como unidade o centímetro recíproco (cm^{-1}).

O ponto de fusão foi realizado no aparelho PFM II da Bio San. Os produtos foram purificados por cromatografia de adsorção em coluna, empregando sílica gel 60 (230-400 Mesh ASTM – Merck) como fase estacionária e solventes comerciais fase móvel (Dinâmica, Tédia).

Nas análises de cromatografia em camada delgada analítica (CCD) foram utilizadas cromatoplasas de sílica gel 60 (F_{254} – Merck). A visualização das substâncias em CCD foi feita a olho nu e com auxílio de lâmpada de UV (254 e 365nm).

A rotação específica, $[\alpha]_D$, foi feito em um polarímetro digital A. Krüss Optroni (GmbH P8000).

O equipamento para determinação da densidade ótica foi o leitor de microplaca (LGC, TP-READER).

5.2. Procedimento geral para obtenção do *N*-(1,4-naftoquin-2-il)-amino (16a-d)

Em um Erlenmeyer transferiu-se 14 mmol de 1,4-naftoquinona de foram dissolvidos em 20 mL de NMP, adicionou-se 15 mmol do aminoácido em 10 mL de água à temperatura ambiente. A solução resultante foi submetida à agitação constante e logo em seguida adicionou-se uma solução contendo 5 mL de KOH (0,9 g), de modo a aumentar a nucleofilicidade do grupo amino. Esta mistura foi deixada sob agitação, sendo acompanhada por CCD para confirmar o término da reação. Então, a reação foi filtrada (todas as filtrações foram feitas a vácuo), em seguida adicionou-se água gelada, filtrou-se novamente e adicionado uma solução de HCl (10%), um precipitado é formado e após filtração o mesmo é lavado com CH₂Cl₂, ficando o produto no papel de filtro. As condições e rendimentos das reações **16a-e**, bem como os pontos de fusão dos compostos obtidos se encontram sumarizados na Tabela 1 (p.17).

a) Composto 16a: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina

Obtido em 55% de rendimento, como um pó amorfo de cor vermelho e P.F. 168-170°C.

RMN¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): 12,43 (s, 1H, O-H); 7,98 e 7,90 (dd, 2H, H-5 e H-8, *J*=1,5/1,5 Hz); 7,82 (dt, 1H, H-6, *J*=1,2/7,5 Hz); 7,74 (dt, 1H, H7, *J*= 1,5/7,5 Hz); 7,45 (t, 1H, N-H, *J*= 6,0 Hz); 5,62 (s, 1H, H3); 3,98 (d, 2H, H2', *J*= 6,0 Hz).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz, ppm): 181,7 (C=O); 181,3 (C=O); 170,2 (CO₂H); 148,2; 134,9; 132,9; 132,4; 130,2; 125,9; 125,4; 100,7; 43,5.

IV (ATR, cm⁻¹): 3341, 1729, 1683, 1607, 1558, 1505, 1301.

b) Composto 16b: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina

Obtido em 61% de rendimento, como um pó amorfo de cor laranja e P.F. 198-200°C.

RMN¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): 12,43 (s, 1H, O-H), 7,90 (t, 2H, H5/8, *J*=7,5 e 7,2 Hz); 7,77 e 7,67 (dt, 2H, H6/7, *J*=7,5 Hz); 7,43 (t, 1H, N-H, *J*=5,7 Hz); 5,67 (s, 1H, H3); 3,37 (m, 2H); 2,59 (t, 2H, *J*=6,9 Hz).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz, ppm): 181,4 (C=O); 172,8 (CO₂H); 148,3; 134,8; 133,1; 13,2; 130,3; 125,9; 125,4; 99,7; 37,9; 32,2.

IV (ATR, cm⁻¹): 3446, 3390, 1718, 1670, 1592, 1560, 1512, 1251.

c) Composto 16c: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-prolina

Obtido em 58% de rendimento, como um pó amorfo de cor laranja e P.F. 164-167°C.

RMN¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz, ppm): 12,43 (s, 1H, O-H); 7,90 (d, 2H, *J*=6,6 Hz); 7,71 (t, 1H, H-7, *J*=7,6/7,2 Hz); 7,80 (dd, 1H, H-6, *J*=7,6/7,2 Hz); 5,74 (s, 1H, H3); 4,98 (m, 1H); 3,34, (m, 2H); 2,27 (m, 1H); 2,0 (m, 1H); 1,95 (m, 1H); 1,88 (m, 1H).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz, ppm): 181,4 (C=O); 172,8 (CO₂H); 148,3; 134,8; 133,1; 132,2; 130,3; 125,9; 125,4; 99,7; 37,9; 32,2.

IV (ATR, cm⁻¹): 1724, 1678, 1590, 1541, 1475. 1296.

$[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +84,73$ (C=10g/L), DMSO.

d) Composto 16d: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina

Obtido em 40% de rendimento, como um pó amorfo de cor laranja e P.F. 148-150°C.

RMN¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): 13,14 (s, 1H, O-H); 7,98 e 7,90 (dd, 2H, H5/8, *J*=7,5/7,2 Hz); 7,81 e 7,72 (dt, 2H, H6/7, *J*=7,5/7,2 Hz); 7,27 (d, 1H, N-H, *J*=7,5 Hz); 5,65 (s, 1H, H3); 4,21 (q, 1H, H2', *J*=7,2 Hz); 1,45 (d, 3H, H4', *J*=7,2 Hz).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz, ppm): 181,7 (C=O); 181,3 (C=O); 173,1 (CO₂H); 147,4; 134,9; 132,7; 132,4; 130,2; 126,0; 125,4; 100,9; 50,1; 16,7.

IV (ATR, cm⁻¹): 3356, 1722, 1681, 1604, 1556, 1450, 1302.

$[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +14,40$ (C=10g/L), DMSO.

e) Composto 16e: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-fenilalanina

Obtido em 60% de rendimento, como um pó amorfo de cor vermelho e P.F. 128-130°C.

Para a síntese do composto **16e** seguiu-se o mesmo procedimento usado para os compostos **16a-d**, não obtendo resultado satisfatório, a metodologia foi alterada aumentando-se o tempo reacional para 20h. Após adicionar o HCl (10%)

formou-se um precipitado que foi solubilizado em MeOH, em seguida adicionou-se água gelada e observou-se a formação de um novo precipitado. O filtrado obtido foi extraído com acetato de etila, a fase orgânica foi seca e evaporada, obtendo-se um rendimento de 60%.

RMN¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz, ppm): 7,93 (m, 1H); 7,79 (m, 1H); 7,69 (m, 1H); 7,23 (m, 2H); 7,16 (m, 2H); 7,05 (d, 1H, N-H, *J*=6,3 Hz); 5,72 (s, 1H, H₃); 3,21 (m, H-2' e H₃'); 4,48 (q, 1H, H₂', *J*=7,2 Hz).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz, ppm): 181,7 (C=O); 181,1 (C=O); 171,7 (CO₂H); 147,3; 136,8; 134,9; 132,6; 132,4; 130,0; 129,2; 128,2; 126,6; 125,9; 125,3; 101,1; 55,5; 35,7.

IV (ATR, cm⁻¹): 3338, 3066, 3032, 1722, 1681, 1598, 1556, 1503, 1305.

$[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +85,86$ (C=10g/L), DMSO.

5.3. Síntese da 2-*N*-ácido glutâmico-1,4-naftoquinona (17)

Para a síntese do composto **17a**, utilizou as metodologias usadas nos compostos **16a** e **16e** e não se obteve sucesso.

5.4. Procedimento sintético para *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-amino de etila (21a-24a)

Em um balão de 50mL colocou-se 1,4-naftoquinona (0,316 mg, 2 mmol) e *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-amino de etila (1mmol) dissolvido em 5mL de DMSO, acrescentou uma solução previamente preparada de KOH (0,56mg,1mmol) dissolvido em gotas de água e 2 mL de MeOH. A solução foi colocada a 65°C em aparelho rotaevaporador à pressão reduzida, para retirar o DMSO. Após a retirada do solvente, a reação foi submetida à cromatografia em coluna sílica gel LH-60 utilizando-se diclorometano como eluente, este procedimento forneceu os produtos na forma de um sólido amorfo. As condições e rendimentos das reações **21a-24a**, bem como os pontos de fusão dos compostos obtidos se encontram sumarizados na Tabela 2 (p. 26).

5.5. Dados espectrais dos compostos 21a-24a

a) Composto 21a: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila

Obtido em 30% de rendimento, como um pó amorfo de cor esverdeada e P.F. 93-95°C.

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, ppm): 8,04 (m, 2H, H-5 e H-8,); 7,69 (t d, 1H, H-6, $J=1,4/7,5$ Hz); 7,59 (t d, 1H, H7, $J= 1,2/7,5$ Hz); 6,37 (s, 1H, N-H); 5,62 (q, 2H, H4'); 3,90 (d, 2H, H2', $J= 5,0$ Hz); 4,20 (q, 2H, H4', $J=7,0$ Hz); 1,30.(t, 3H, H5', $J=7,0$ Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, ppm): 183,1 (C=O); 181,1 (C=O); 168,2 (C=O); 147,1; 134,7; 133,2; 132,2; 130,3; 129,2; 126,3; 126,1; 102,0; 62,0; 43,8; 14,1.

IV (ATR, cm⁻¹): 3391, 3050, 2924, 1732, 1673, 1643, 1611, 1222.

b) Composto 22a: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila

Obtido em 53% de rendimento, como um pó amorfo de cor laranja e P.F. 65-68°C.

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, ppm): 8,04 (m, 2H, H-5 e H-8,); 7,69 (t d, 1H, H-6, $J =1,4$ e 7,5 Hz); 7,59 (t d, 1H, H7, $J= 1,2$ e 7,5 Hz); 6,30 (s, 1H, N-H); 4,22 (q, 2H, H4', $J=7,2$ Hz); 4,04 (t, 1H, H2', $J= 7,2$ Hz); 1,48 (d, 2H, H6', $J= 6,8$ Hz); 1,25 (t, 3H, H5', $J=7,2$ Hz) .

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, ppm): 183,1 (C=O); 181,3 (C=O); 171,5 (C=O); 146,5; 134,6; 133,1; 132,1; 130,3; 126,3; 126,0; 101,8; 61,9; 50,4; 42,5; 17,4; 14,0.

IV (ATR, cm⁻¹): 3374. 3355, 3062, 2999, 1730, 1680, 1629, 1607, 1221.

c) Composto 23a: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila

Obtido em 64% de rendimento, como um pó amorfo de cor laranja e P.F. 120-122°C.

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, ppm): 8,02 (m, 2H, H-5 e H-8,); 7,69 (t d, 1H, H-6, $J =1,6$ e 7,4 Hz); 7,57 (t d, 1H, H7, $J= 1,0$ e 7,6 Hz); 6,22 (s, 1H, N-H); 4,15 (q, 2H, H-5', $J=7,0$ Hz); 3,50 (q, 2H, H2', $J= 6,2$ Hz); 2,64 (t, 3H, H-3', $J=6,4$ Hz); 1,24.(t, 3H, H-6', $J=7,0$ Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, ppm): 182,9 (C=O); 181,4 (C=O); 171,1 (C=O); 147,6; 134,7; 133,3; 132,0; 130,4; 126,3; 126,1; 100,7; 61,0; 37,9; 32,6; 14,1.

IV (ATR, cm⁻¹): 3340, 2921, 1728, 1670, 1624, 1598, 1467, 1188.

d) Composto 24a: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila

Obtido em 64% de rendimento, como um pó amorfo de cor laranja e P.F. 120-122°C.

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, ppm): 8,03 (m, 2H, H-5 e H-8); 7,69 (t d, 1H, H-6, *J*=1,6 e 7,4 Hz); 7,57 (t d, 1H, H7, *J*= 1,6 e 7,6 Hz); 6,13 (s, 1H, N-H); 4,15 (q, 2H, H-6', *J*=7,0 Hz); 3,24 (m, 2H, H2'); 2,41 (t, 2H, H-4', *J*=7,2 Hz); 1,99 (quinteto, 2H, H-3', *J*=7,0 Hz); 1,23 (t, 3H, H7', *J*= 7,0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, ppm): 182,8 (C=O); 181,6 (C=O); 172,8 (C=O); 148,0; 134,7; 133,4; 132,0; 130,3; 126,3; 126,1; 100,7; 60,7; 42,0; 31,6; 23,1; 14,1.

IV (ATR, cm⁻¹): 3335, 2717, 2637, 1694, 1671, 1618, 1595, 1465.

5.6. Procedimento geral para a hidrólise dos ésteres.

Em um Erlenmeyer foi colocado uma solução contendo 30mg de LiOH em 2mL de THF e 0,5mL de água. Adicionamos esta solução o éster correspondente (100mg). A mistura foi deixada a temperatura ambiente, sob agitação, sendo acompanhada por CCDA para confirmar o término da reação. Em seguida foi adicionado HCl (10%), um precipitado é formado. A mistura reacional foi filtrada, ficando o produto no papel de filtro. Os rendimentos das reações de hidrólise dos compostos **25a, 16b e 16d**, bem como os pontos de fusão obtidos se encontram descritos na Tabela 3 (p. 30).

5.7. Dados espectrais dos compostos 25a.

a) Composto 25a: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico

Obtido em 80% de rendimento, como um pó amorfo de cor laranja e P.F. 210-212°C.

RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 12,17 (s, 1H, O-H); 7,94 (m, 2H, H-5 e H-8); 7,8 (m, 1H, H-6); 7,67 (m, 1H, H-7); 5,7 (s, 1H); 3,2 (q, 2H, H-2', *J*=7,2 Hz); 1,78 (quinteto, 2H, H-3', *J*=7,2 Hz); 2,30 (t, 2H, H4', *J*=7,2 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 181,5 (C=O); 181,3 (C=O); 174,3 (C=O); 148,6; 134,8; 133,2; 132,1; 130,4; 125,8; 125,3; 99,3; 60,7; 41,2; 30,6; 22,6.

IV (ATR, cm⁻¹): 3335, 2717, 2637, 1694, 1671, 1618, 1595, 1296.

b) Composto 16d: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina

Obtido em 70% de rendimento, como um pó amorfo de cor laranja e P.F. 148-150°C.

O produto foi confirmado através do espectro já descrito (item 3.6).

c) Composto 16b: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina

Obtido em 75% de rendimento, como um pó amorfo de cor laranja e P.F. 198-200°C.

O produto foi confirmado através do espectro já descrito (item 3.4).

6. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS SUBSTÂNCIAS

Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Bioativos - LABTECBIO do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal desta Universidade.

6.1. Atividade antifúngica

O procedimento adotado foi realizado de acordo com a padronização publicada no documento M38-A (2002) pelo “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2002) e adequado para dermatófitos segundo Fernández-Torres *et al.* (2002) e Barros *et al.* (2006).

6.2. Espécies fúngicas

Foram utilizados quatro isolados de dermatófitos, o *Microsporum canis* - URM 4678, *Microsporum gypseum* - URM 6034, *Trichophyton rubrum* - URM 4728 e *Trichophyton mentagrophytes* - URM 3239, todos procedentes da Coleção de

Culturas (URM) do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, estando preservados sob óleo mineral (SHERF, 1943).

6.3. Meio de cultura

O meio de cultura utilizado para o procedimento foi o RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, USA) com *L*-glutamina e sem bicarbonato de sódio, tamponado a pH 7,0 com ácido morfolinepropanesulfônico (MOPS) a 0,165 M (Sigma-Aldrich, USA). O meio foi esterilizado por filtração em membrana com porosidade de 0,22µm (Millipore).

6.4. Antifúngicos

Com a finalidade de comparação da atividade antifúngica com uma droga padrão foi utilizada Anfotericina B (Sigma-Aldrich, Brasil), em várias concentrações (200 e 1600µg/ml) dissolvida em DMSO (Vetec, Brasil).

6.5. Compostos sintéticos

Foram utilizados 10 compostos sintéticos: *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (**16a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina (**16b**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-prolina (**16c**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina (**16d**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-fenilalanina (**16e**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (**21a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila (**22a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-aminopropanoato de etila (**23a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**) e *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico (**25a**) solubilizados em DMSO e água, preparadas nas concentrações de 500 a 62,5µg/mL.

6.6. Preparação do inóculo

As amostras de *Microsporium sp* e *Trichophyton sp* foram semeadas em tubos de ensaio contendo Agar Sabouraud Dextrose e mantidos a temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) até esporulação. Com o auxílio de pipeta Pasteur foi acrescentado 5mL de água destilada esterilizada e mantido em repouso durante 20 minutos para desprendimento de esporos, passado o tempo de repouso todo o sobrenadante foi aspirado e locado em um novo tubo procedendo a agitação em vórtex por 15 segundos. A densidade das suspensões foi ajustada em espectrofotômetro a 595nm, para obter entre 65-70% de transmitância.

Posteriormente, as suspensões foram diluídas (1:50) em RPMI-1640 para obter a concentração de 2 vezes maior do que a necessária

6.7. Procedimento do teste

Todo o procedimento experimental de determinação da atividade fungistática dos compostos sintéticos e do antifúngico padrão foi realizada em placa de microtitulação esterilizada com tampa (96 poços). Cada concentração dos compostos sintéticos utilizada foi depositada em um poço contendo 100 μL do meio de crescimento e 100 μl do inóculo padronizado conforme descrito anteriormente, as placas foram incubadas em estufa a 28°C por sete dias. A densidade óptica em cada poço das microplacas foi determinado a 595nm em leitor de Elisa (LGC).

O cálculo do percentual de inibição do crescimento microbiano pelos compostos testados foi realizado levando em consideração o crescimento total (100%) no poço controle.

6.8. v Análise de dados

Todo experimento foi realizado em triplicata. Foram determinadas as concentrações inibitórias mínima (CIM) do antifúngico e dos compostos sintéticos, as médias aritmética das concentrações inibitória e fungicida mínima (50 e 80%) em relação à espécie, a determinação da concentração capaz de inibir metade e todas as amostras analisadas (CIM₅₀ e CIM₁₀₀, respectivamente).

6.9. Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana dos 10 compostos sintéticos foi avaliada utilizando a metodologia de microdiluição em caldo, com base no documento M7-A6 “National Committee for Clinical Laboratory Standards” (NCCLS, 2003).

6.10. Microorganismos usados no bioensaio

As espécies bacterianas (ATCC) utilizadas no estudo foram *Enterococcus faecalis* 6057, *Bacillus subtilis* 6633, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Klebsiella pneumonia* 29665, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Previamente aos testes, os cultivos bacterianos foram ativados através de subcultivos em caldo triptona soja (TSB) durante 24 h a 37°C. Após a ativação o inóculo foi padronizado, que consistiu na preparação de uma suspensão bacteriana em salina, com turvação similar ao tubo 0,5 da Escala Mac Farland (1×10^8 UFC/mL).

6.11. Microdiluição em placas

Para determinar os valores do CIM foram usadas microplacas de 96 poços. Da solução estoque (1000µg/mL) de cada composto foi feita a diluição seriada (500, 250, 125, 62,5 e 31,25µg/mL) em DMSO. Em seguida, aos poços da placas foram inoculadas com 50 µl do caldo Muller-Hinton, 40µl de cada suspensão bacteriana, ajustadas à escala 1 de MacFarland (1×10^7 UFC/ml) e 10µl de cada composto sintético, incubadas à 37°C por 24 horas e realizada a leitura das microplacas em leitor de microplacas LGC a 600nm.

O digluconato de clorexidina (4%) (RIOHEX - Rioquímica) foi utilizado como controle positivo e o DMSO (500µL/mL) como controle negativo. Todos os testes foram efetuados em triplicata.

A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano, nos poços de microdiluição.

7. CONCLUSÃO

Todos os produtos da reação de adição de Michael foram obtidos a partir da reação entre a 1,4-naftoquinona e os aminoácidos glicina, β -alanina, *L*-alanina, *L*-fenilalanina, *L*-prolina, glicinato de etila, β -aminopropanoato de etila, *L*-aminopropanoato de etila e 4-aminobutirato de etila, com exceção da reação com o ácido glutâmico que resultou em produtos indesejáveis.

Foram obtidos no presente trabalho 10 compostos, sendo 4 inéditos (*N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-fenilalanina (**16e**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila (**22a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (**23a**) e *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**)) com rendimentos bons a moderados (30-64%), caracterizando uma série de aminoácidos conjugados ao núcleo quinona, assim como derivados ésteres de ácido carboxílico destes aminoácidos, que apresentaram resultados promissores nas atividades bacteriostática e fungistática.

Para a atividade bacteriostática, os compostos mais ativos foram *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β -alanina (**16b**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina(**16d**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (**21a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila (**22a**), *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila (**23a**) e *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila (**24a**). Todos os compostos analisados apresentaram maior atividade fungistática do que o padrão Anfotericina B, e o composto mais ativo frente aos dermatófitos foi a *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)glicina (**16a**).

Os dados obtidos demonstram a eficácia dos compostos sintetizados como agentes fungistáticos e bacteriostáticos, mostrando-se eficazes sobre os dermatófitos e bactérias testadas. O composto *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila (**21a**) foi o mais ativo frente a todas as bactérias testadas, exceto a *P. aeruginosa* enquanto que o *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina (**16a**)foi o mais ativo frente a todos os dermatófitos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aarão, T. L. S., Epidemiologia da *tinea pedis* em pacientes atendidos em ambulatório especializado, na cidade de Belém-PA. Dissertação, UFPA-**2005**, 17-18.
- Abdel-Rahman, S. M., *Clinical and Experimental Dermatology*, **2002**, 27, 268-271.
- Amarante-Mendes G.P., Green D.R., *Brazilian Journal of Medical and Biological*, **1999**, 32, 1053-61.
- Anon, D. I., and Crane, F. L., in *Biochemistry of Quinones* (edit. by Morton, R. A.), 433 (Academic Press, London, **1965**).
- Babior, B. M.; *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. **1997**, 30, 141-155.
- Barrros, M.E.S.; Santos, D.A.; Hamdan, J.S., *Mycological Research*, **2006**, 110, 1355-1360.
- Bittner, S.; Gorohovsky, S.; Paz-Tal, O.; Becker, J.Y., *Amino Acids*, **2002**, 71-93.
- Bittner, S.; Gorohovsky, S.; Lozinsky; Shames, A. I., *Amino Acids*, **2000**, 439-449.
- Camara, C. A.; Pinto, A. C.; Rosa, M. A.; Vargas, M. D.; *Tetrahedron*, **2001**, 57, 9569-9574.
- Coates, A. R. M.; Hu, Y.; *British Journal of Pharmacology*, **2007**, 152, 1147-1154.
- Costa, M.; Passos, X. S.; Souza, L. K. H.; Miranda, A. T. B.; Lemos, J.A.; Oliveira Junior, J. G., *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **2002**, 35, 19-22.
- Cunha, A. S.; Lima, E. S. ; Pinto, A. C. ; Esteves-Souza, A. ; Echevarria, A. ; Camara, C. A. ; Vargas, M. D. ; Torres, J. C., *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2006**, 17, 439-442.
- Da Silva, M. N.; Ferreira, V. F.; De Souza, M. C. B. V.; *Quimica Nova*, **2003**, 26, 407-416.
- DI STASI, L.C. Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Ed. UNESP, **1996**. 230.
- Dos Santos, E. V. M.; Carneiro, J. W. M.; Ferreira, V. F. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2004**, 12, 87-93.
- El Fari, M.; Tietz, H. J.; Presber, W.; Sterry, W.; Graser, Y. E L., *British Journal of Dermatology*, **1999**, 141, 240-245.
- Esteves-Souza, A.; Lucio, K.A.; Cunha, A. S.; Pinto, A. C.; Lima, E. S.; Camara, C.A.; Vargas, M. D.; Gattass, C. R., *Oncology Reports*, **2008**, 20, 225-231.

Esteves-Souza, A.; Figueiredo, D. V.; Camara, C.A.; Vargas, M. D.; Pinto, A. C.; Echevarria, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **2007**, 40, 1399-1402.

Farias, T. de S., Utilização de antimicrobianos em pacientes hospitalizados. Dissertação, UEPB-2007, 15-17.

Fenton, H. J. H.; Jackson, H.; *Journal of the Chemical Society*, **1899**, 1-11.

Fieser, L. F.; Berlinger, E.; Bondhus, F. J., *Journal of the American Chemical Society*, **1948**, 70, 3151-3165.

Carey, F. A., Sundberg, R. j., *Advanced Organic Chemistry, Part A: Structure and Mechanisms*, 5ª ed.; Springer Science + Business Media, LLC, **2007**, 659-662.

Francisco, A. I.; Casellato, A.; Neves, A. P.; Carneiro, J. W. M.; Vargas, M. D.; Visentin, L. C.; Magalhães, A.; Câmara, C. A.; Pessoa, C.; Costa-Lotufo, L. V.; Filho, J. D. B. M.; Moraes, M. O.; *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2010**, 21, 169-178.

Guimarães, D. O.; Momesso, L. da S.; Pupo, M. T.; *Química Nova*, **2010**, 33, 667-679.

Gupta, A. K.; Konnikov, N.; Macdonald, P., *British Journal of Dermatology*, **1998**, 4, 665-671.

Gupta, A. K.; Tu, L. Q., *Journal of the American Academy of Dermatology*, **2006**, 54, 1050-1055.

Hancock, R.E.W., Sahl, H.G., *Nature Biotechnology*, **2006**, 24,1551-1557.

Hussain, H.; Krohn, K.; Ahmad, V.U.; Miana, G.A.; Green, I.R. Lapachol: an overview. *Arkivoc*, **2007**, 145-171.

Izgü F, Altinbay D, Türeli A. E., *Mycoses*, **2007**, 50, 31-4.

Kapadia, G. J.; Azuine, M. A.; Balasubramanian, V.; Sridhar, R.; *Pharmacological Research*. **2001**, 43, 363-367.

Ksander, G.M., de Jesus, R., Yuan, A., Ghai, R. D., Trapani, A., McMartin, C., Bohacek, R., *Journal of Medicinal Chemistry*, **1997**, 40, 495-505.

Liu, B., Ji, Shun-Jun, *Synthetic Communications*, **2008**, 38, 1201-1211.

Luzhetskyy, A.; Pelzer, S.; Bechthold, A.; *Current Opinion in Investigational Drugs*, **2007**, 8, 608-613.

Macêdo, D. P. C.; Neves, R.P.; Magalhães, O. M. C.; Souza-Motta, C. M.; Queiroz, L. A., *Brazilian Journal of Microbiology*, **2005**, 36, 6-37.

Mezzari A. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, **1998**, 40, 71-76.

- Murray, K. R.; Granner, D.K., Mayes, P.A.; Rodwell, V. W. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26ª ed. McGraw-Hill. 2003.
- Mylotte J. M., Mcdermott; Spooner J. A., *Reviews of Infectious Diseases*, **1987**; 9, 891-907.
- O'Brien, P. J. *Chemico-biological Interactions*, **1991**, 80, 1-41.
- Odds, F. C.; Brown, A. J. P.; Gow, N. A. R., *Trends in Microbiology*, **2003**, 11, 272-279.
- Payne, D. J.; Gwynn, M. N.; Holmes, D. J.; Pampliano, D. L.; *Nature Reviews Drug Discovery*, **2007**, 6, 29-40.
- PRATES, M. V.; BLOCH JÚNIOR, C. Peptídeos Antimicrobianos - uma alternativa no combate a microrganismos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, **2000**, 17, 30-36.
- OLIVEIRA, F. C. Produção, caracterização, purificação parcial e aplicação de um peptídeo antimicrobiano produzido por *Bacillus licheniformis*, Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Engenharia Agrícola, Porto Alegre/RS. **2004**.
- Pereira, F. P., Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor sobre dermatófitos do gênero *Trichophyto*. Dissertação, UFPB-**2009**, 15.
- Rezende, C.; Borsari, G. P.; Silva, A. C. F.; Cavalcanti, F. R., *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, **2008**, 40, 13-16.
- Santos, D.A.; Barros, M.E.S.; Hamdan, J.S. *Journal of Clinical Microbiology*, **2006**, 44, 98–10.
- Sheehan, D.M., Willingham E.; Gaylor D.; Bergeron J.M.; Crews D., *Environmental Health Perspectives*, **1999**, 107,155-159.
- Sherf, A.F., *Phytopathology*, **1943**, 33, 30-32.
- Shresta-Dawadi, P.B.; Bittner, S; Fridkin, M.; Rahimipour, S., *Synthesis*, **1996**, 1468-1472.
- Sidrim, J.J.C.; Rocha, M. F. G. *Micologia Médica à luz de autores contemporâneos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **2004**, p. 388.
- Silva, C. H. P. de M. *Bacteriologia, um texto ilustrado*. Teresópolis: Eventos, **1999**.
- Silva, M. N.; Ferreira, V.F.; Souza, M.C.B.V., *Química Nova*, **2003**, 26, 407-416.
- Silva, T. M. S.; Camara, C. A.; Barbosa, T. P.; Soares, A. Z.; Da Cunha, L. C.; Pinto, A. C.; Vargas., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2005**, 13, 193-196.
- Siqueira, A. B. S., Perfil enzimático de dermatófitos e avaliação da atividade antifúngica de própolis e lectinas. Dissertação, UFRPE-2008, 21-23 e 33-41.

Suh, M.-E.; Parka, S.-Y.; Lee, C.-O.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2001**, 9, 2979-2986.

Tandon, V. K.; Maurya, H. K.; Mishra, N. N.; Shukla, P. K.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, 44, 3130-3137.

Thomson, R.H., *Naturally Occurring Quinones*, Academic Press, NY, **1971**, 585.

Tomasz, M. Mitomycin C., *Chemistry and Biology* **1995**, 2, 575-579.

Tong Z.; Widmer F.; Sorrell T.C.; Guse Z.; Jolliffe K.A.; Halliday C.; Lee O.C., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2007**, 51, 2219-2221.

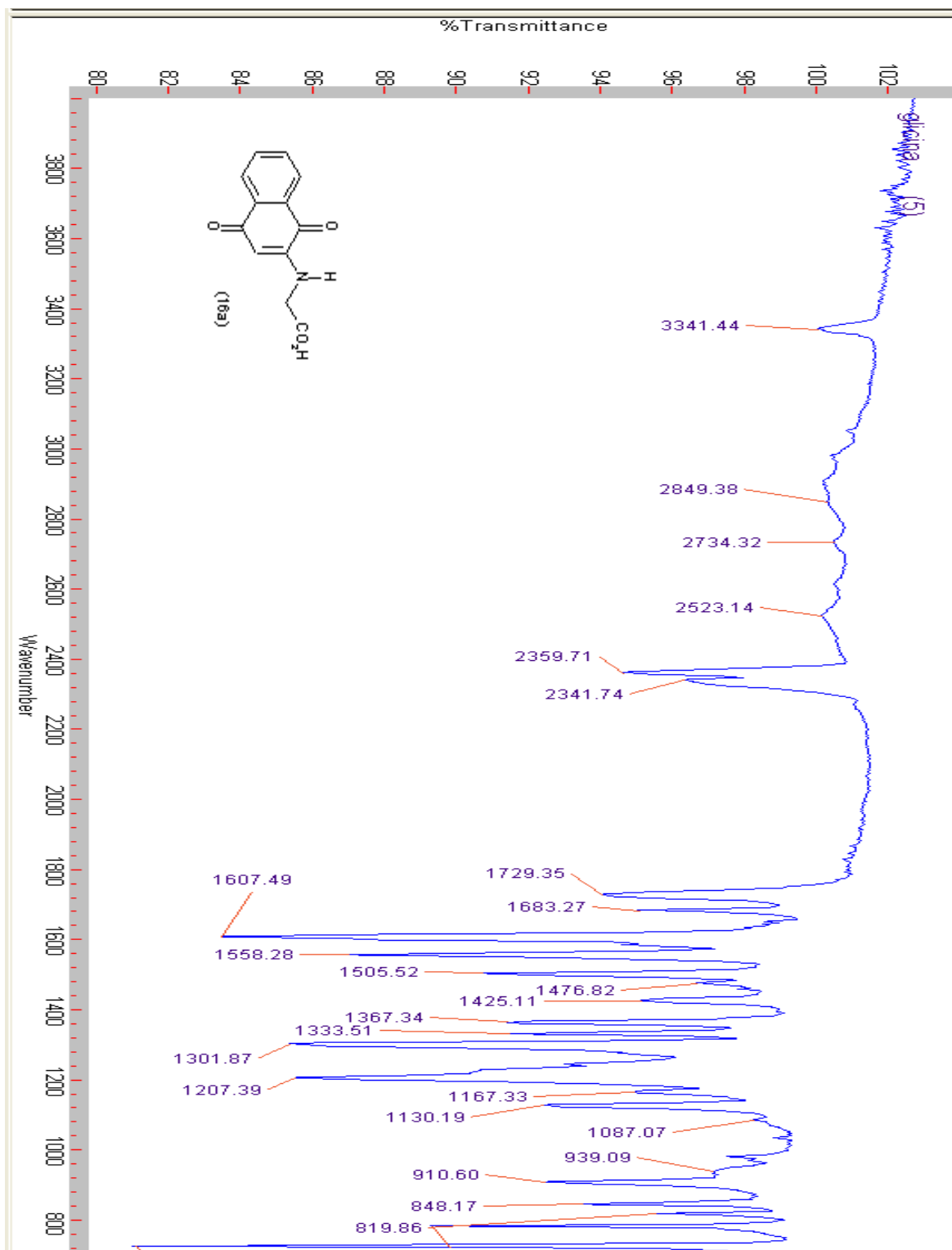
Valente, C., Moreira, R., Guedes, R. C., Iley, J., Jaffar, M. Douglas, K. T., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2007**, 5340–5350.

Walter Tavares, *Antibióticos e Quimioterápicos Para o Clínico*. 1ª . Ed. Rio de Janeiro: Atheneu. 2007.

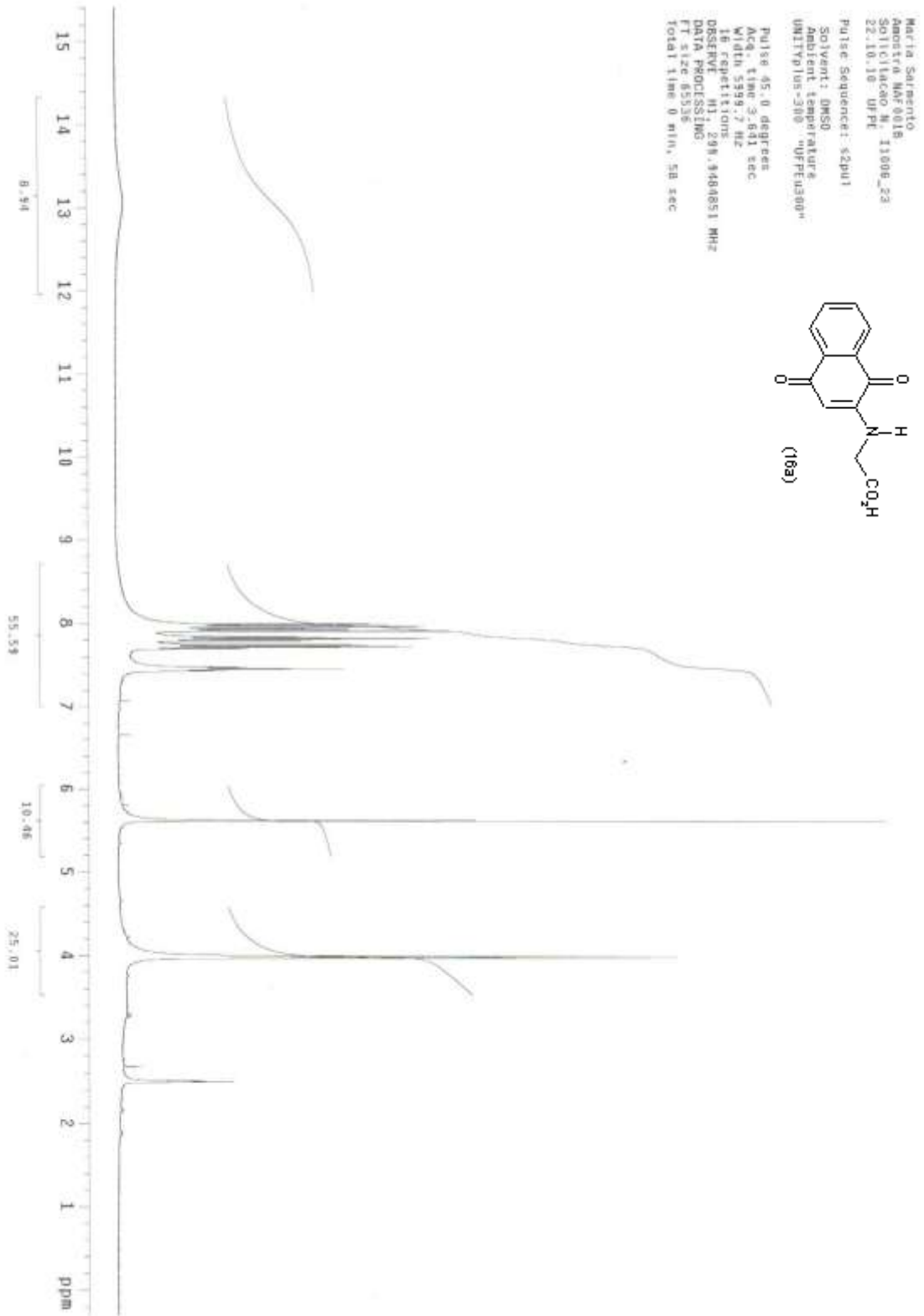
Wank, N. C. F.; Monteiro, P. C. F.; Wanke, B.; Nogueira, C. M.; Perez, M. A., *Anais Brasileiros de Dermatofitos*, **1991**, 66, 171-174.

Yuk, D.-Y.; Ryu, C.-K.; Hong, J.-T.; Chung, K.-H.; Kang, W.-S.; Kim, Y.; Yoo, H.-S.; Lee, M.-K.; Lee, C.-K.; Yun, Y.-P.; *Biochemical Pharmacology* **2000**, 60, 1001-1008.

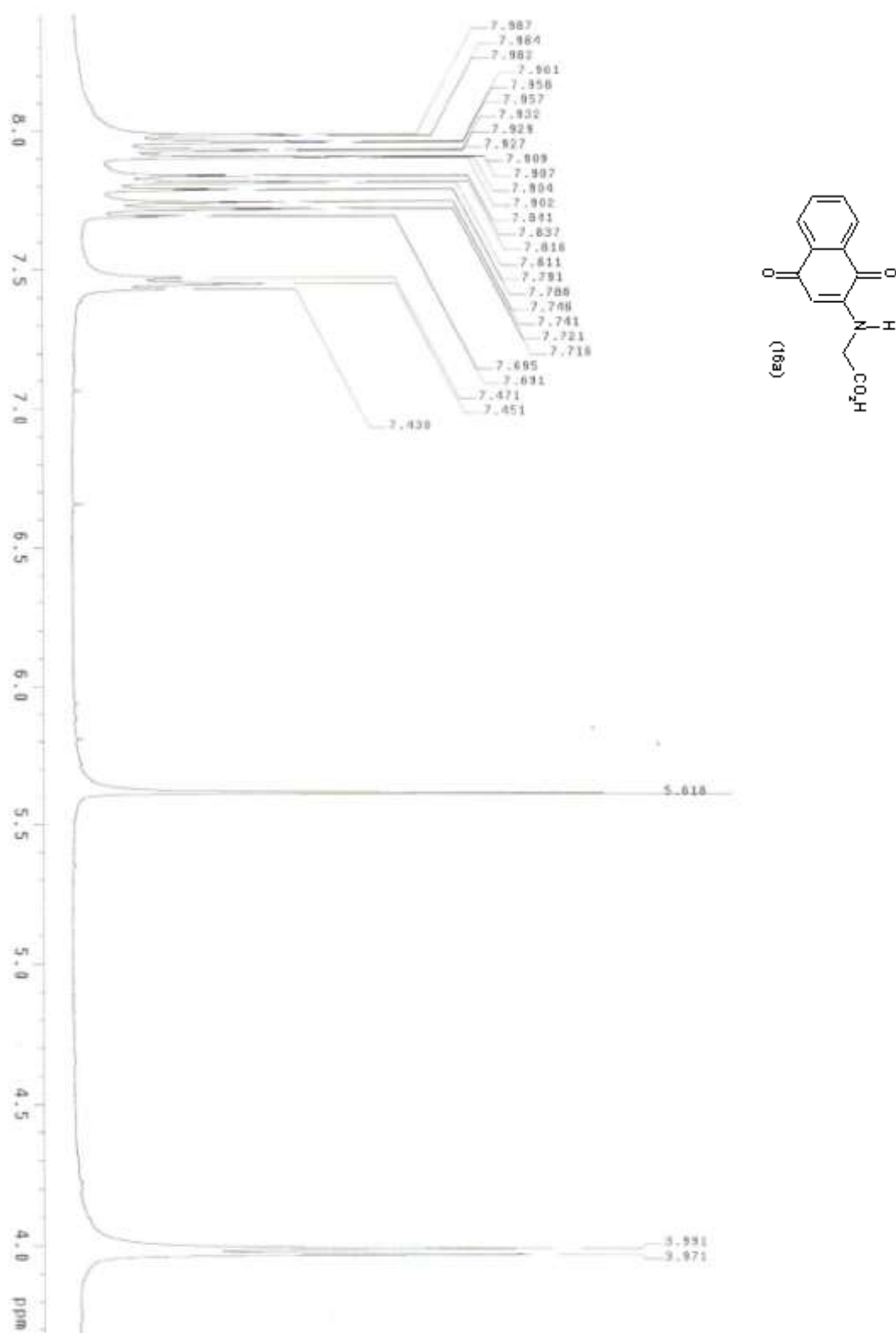
9. ANEXO - ESPECTRO



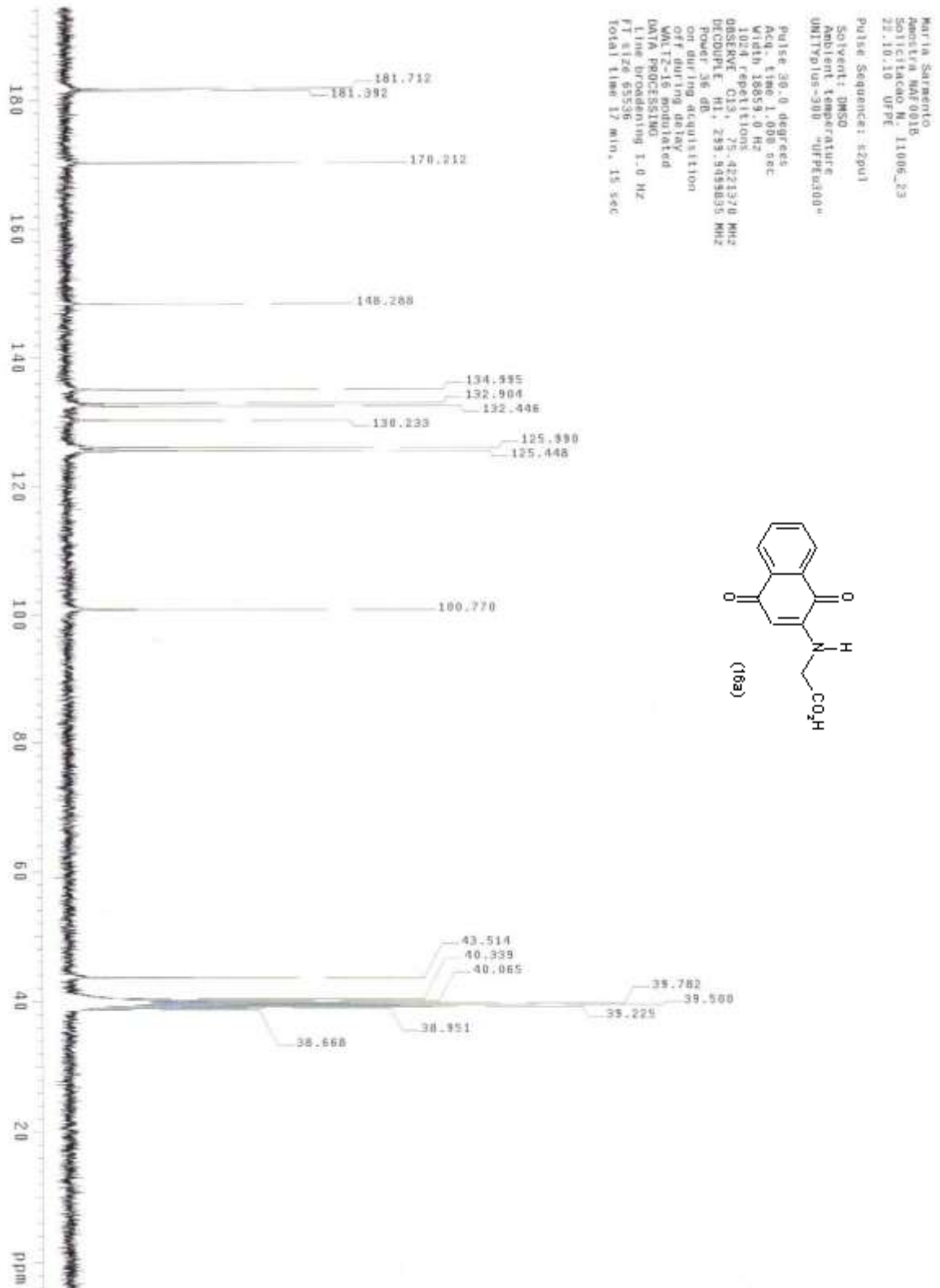
Espectro 1: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina **16a** (ATR, cm⁻¹)



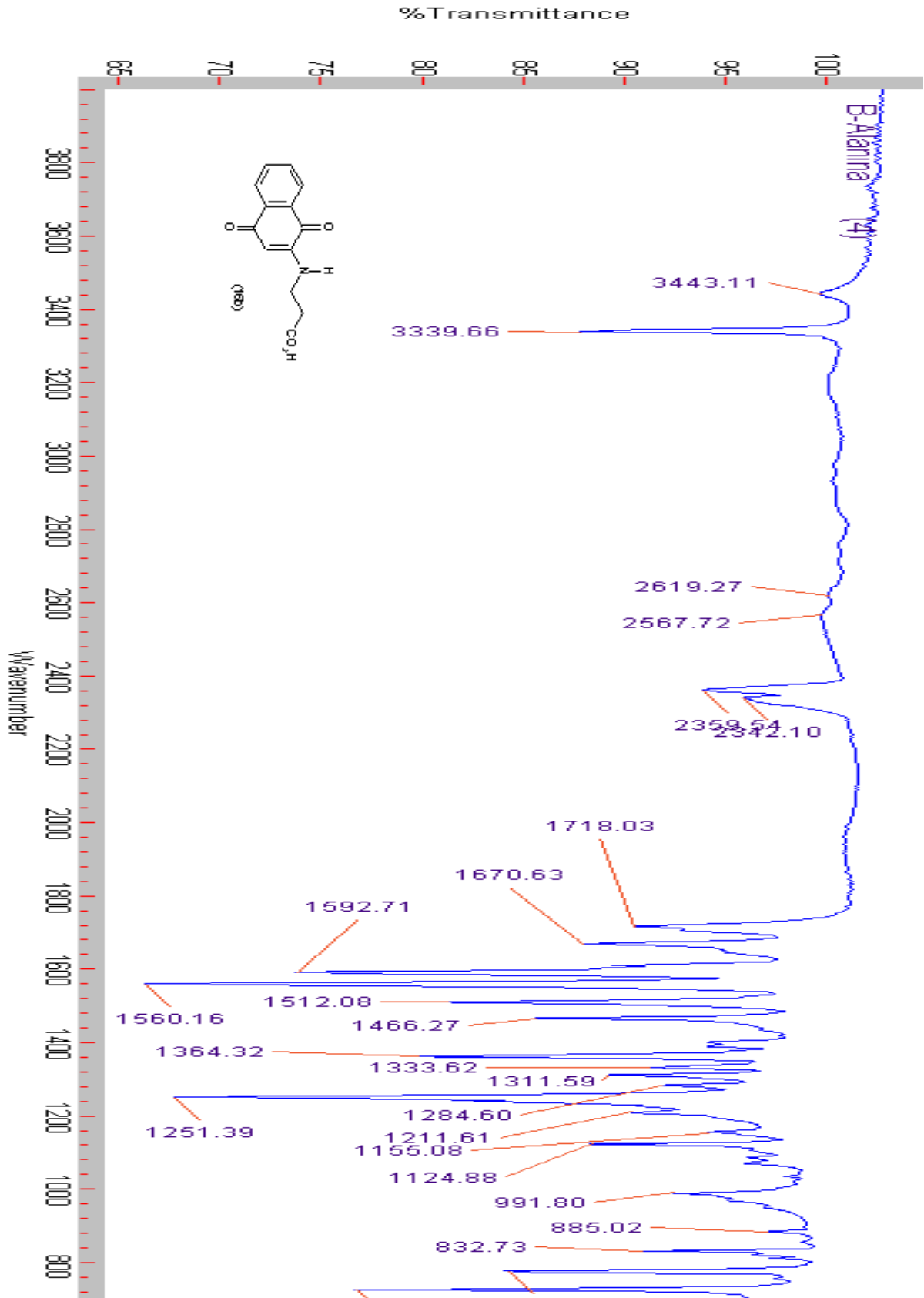
Espectro 2: Espectro de RMN¹H (δ , DMSO-*d*₆, 300 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina **16a**



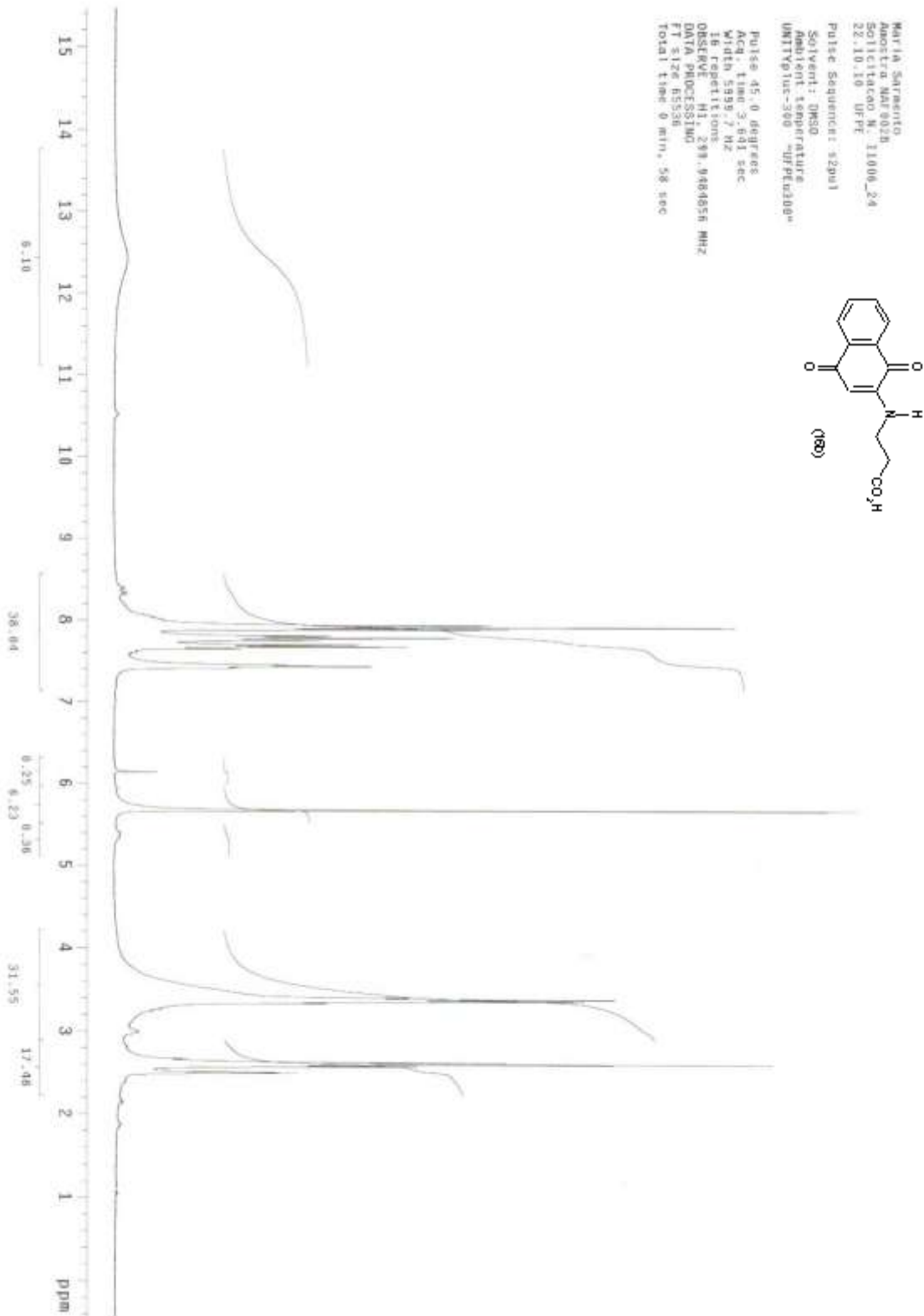
Espectro 3: Expansão de RMN^1H (δ , $\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina **16a**



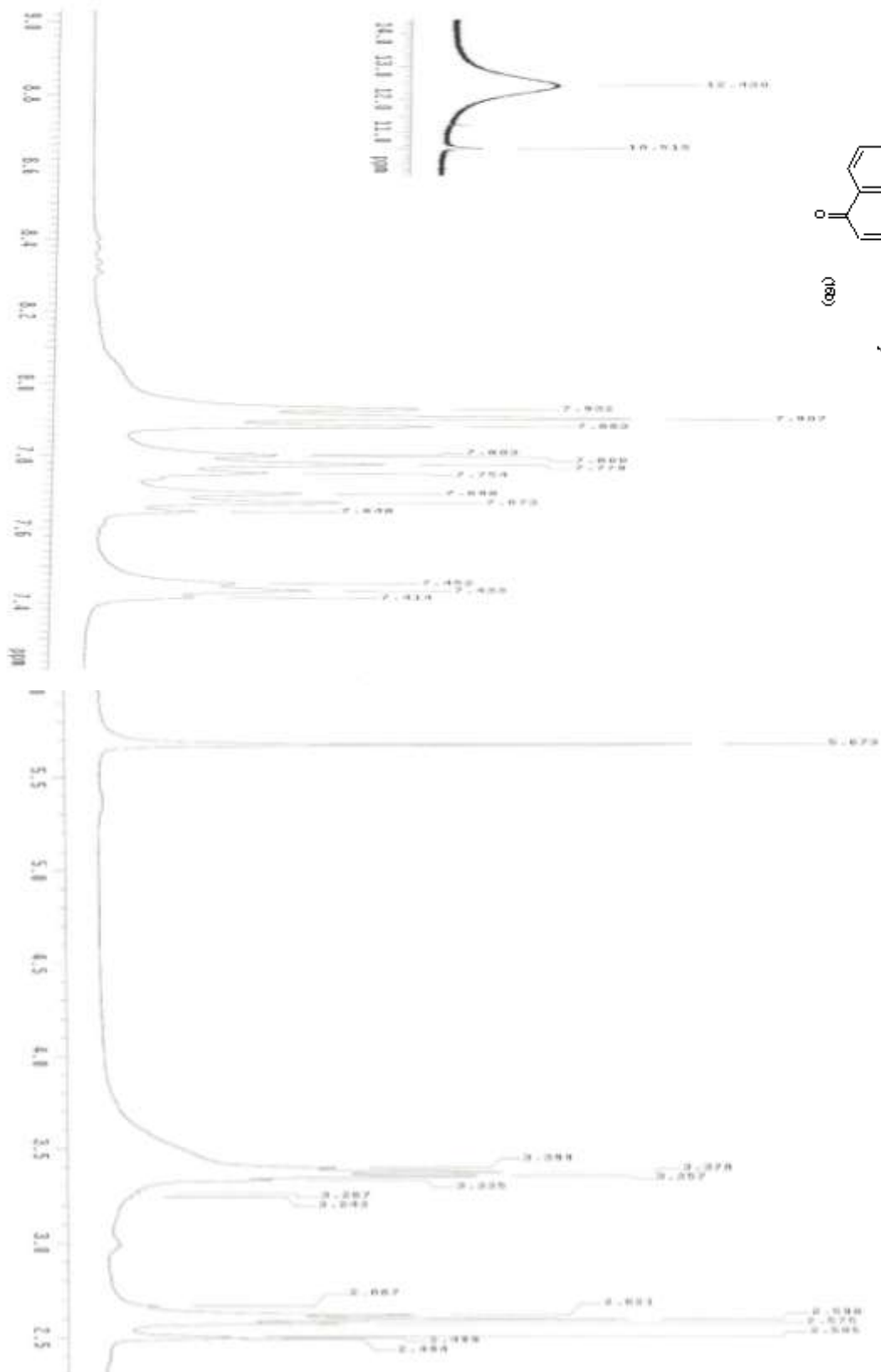
Espectro 4: Espectro de RMN¹³C (δ, DMSO-d₆, 75 MHz) de N-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicina **16a**



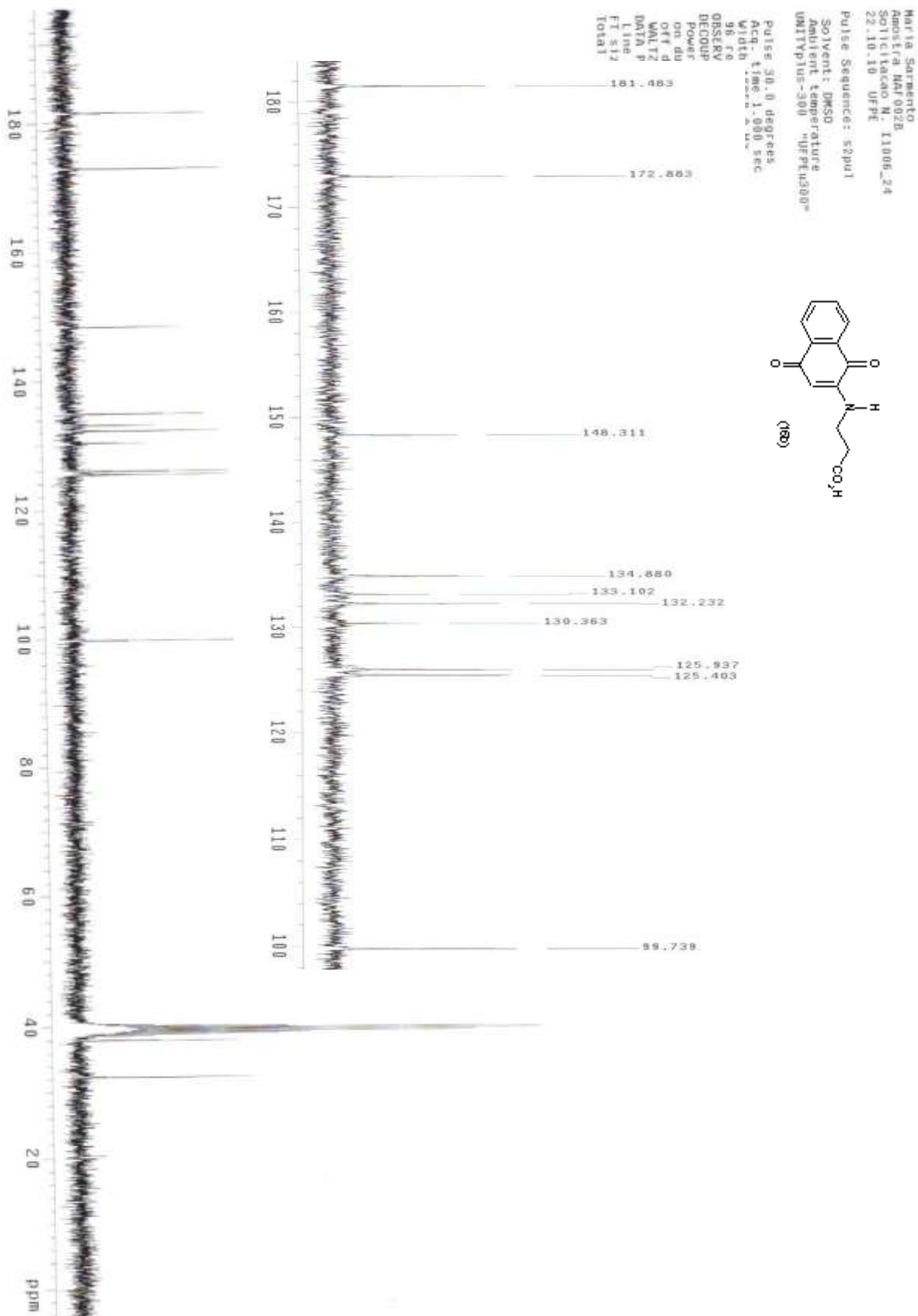
Espectro 5: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina **16b** (ATR, cm⁻¹)



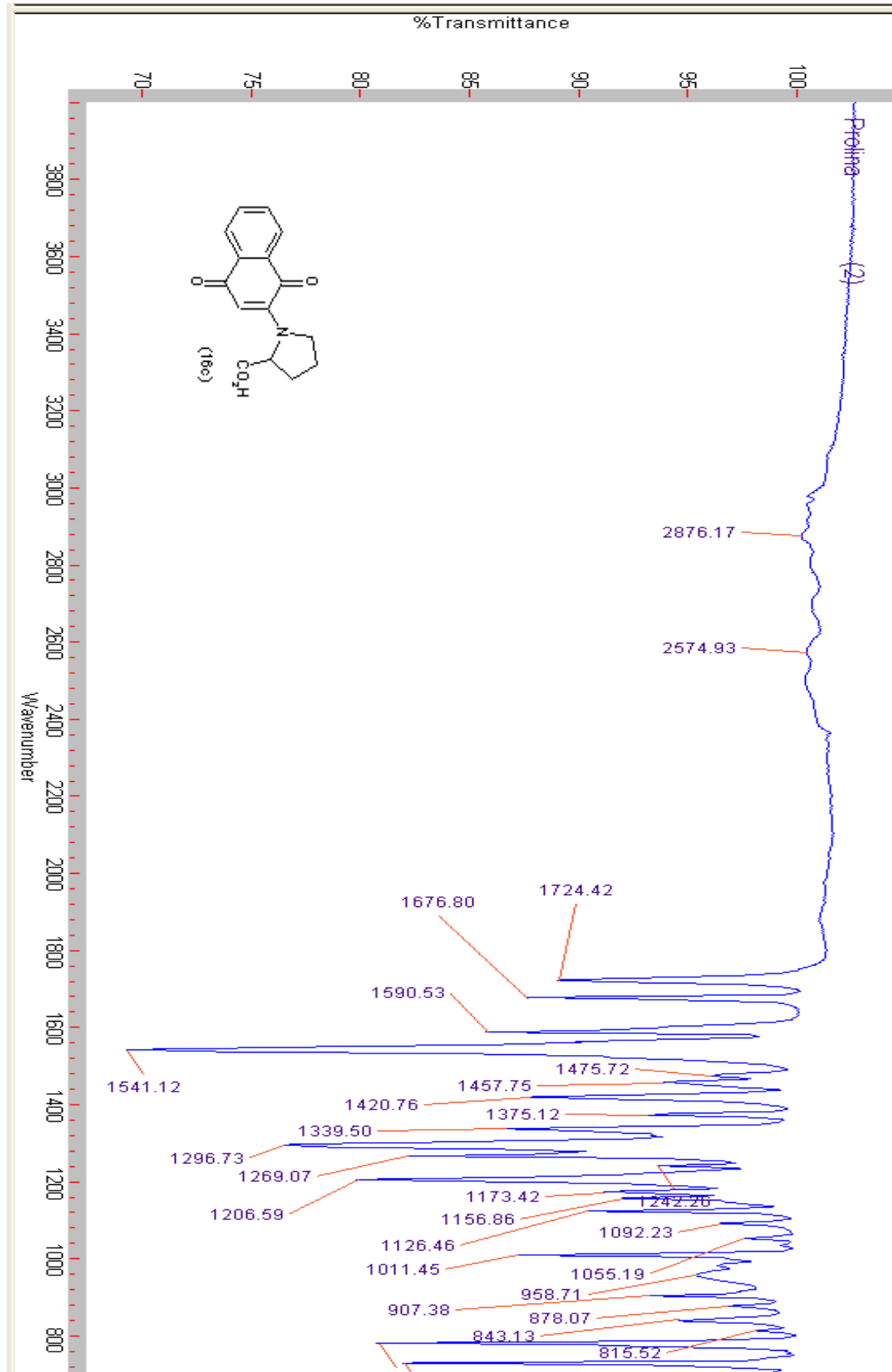
Espectro 6: Espectro de RMN¹H (δ , (DMSO-*d*₆, 300 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β -alanina **16b**



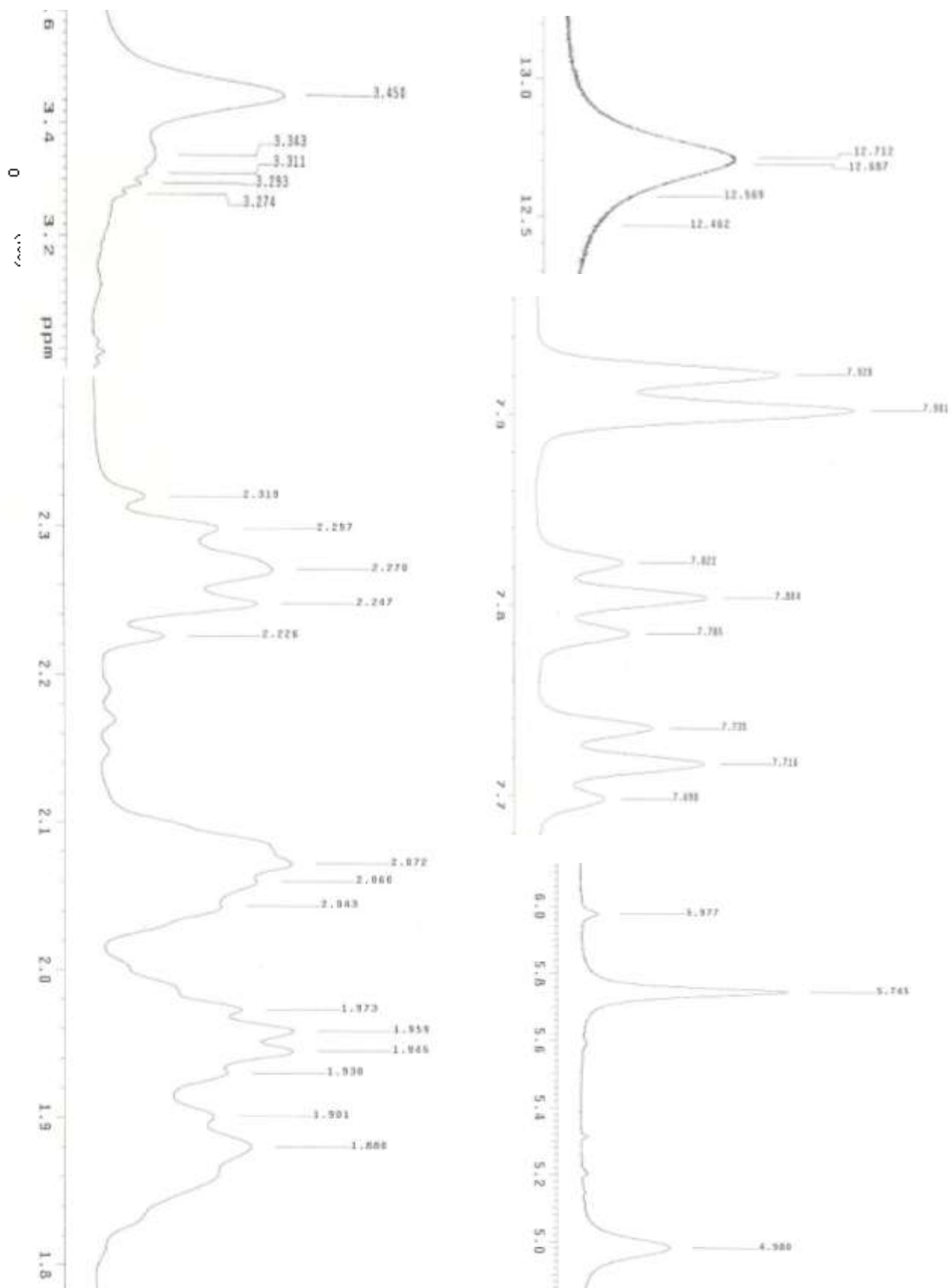
Espectro 7: Expansão de RMN^1H (δ , ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β -alanina **16b**



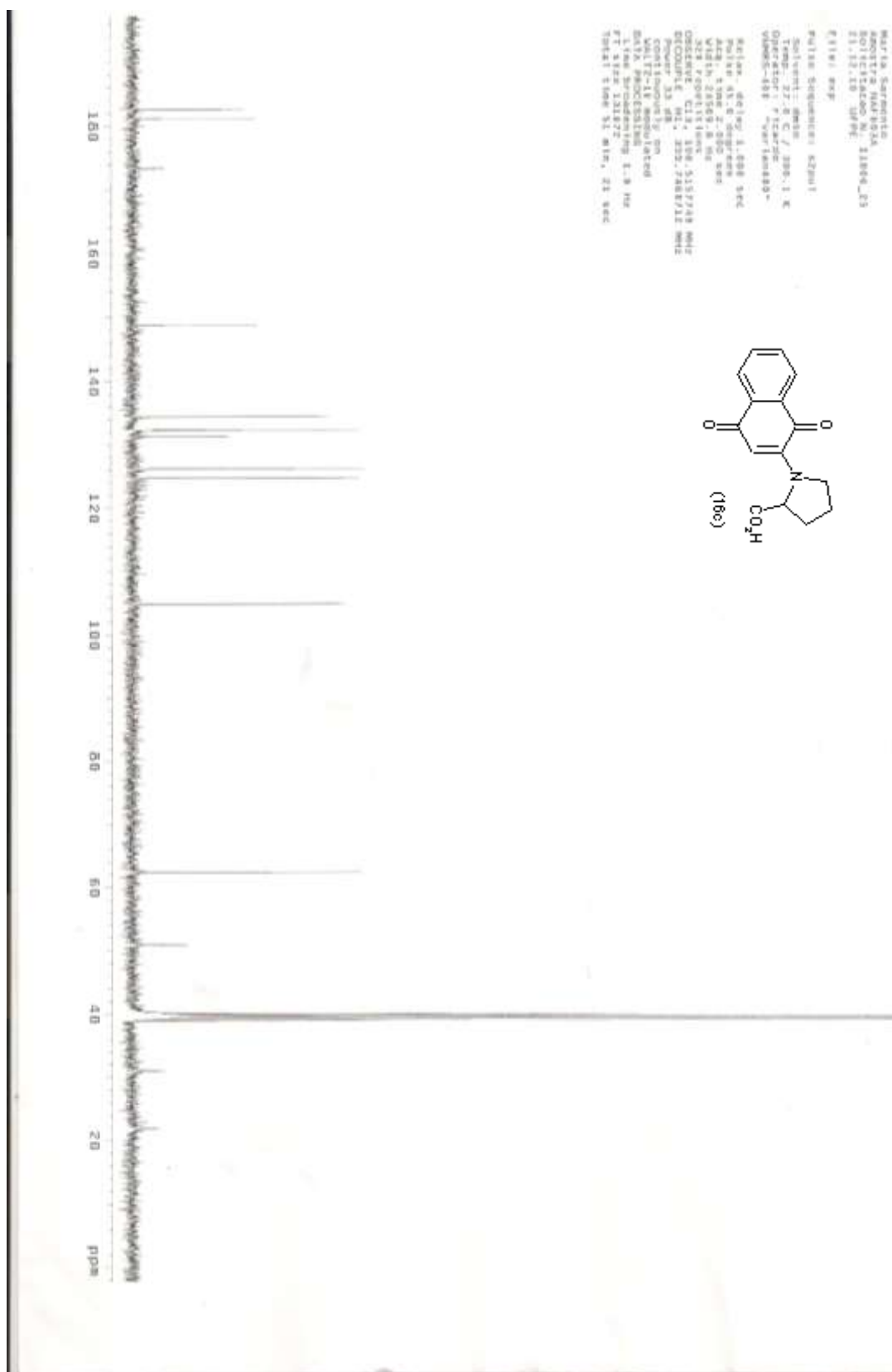
Espectro 8: Espectro de RMN¹³C (δ, DMSO-*d*₆, 75 MHz) de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-alanina **16b**



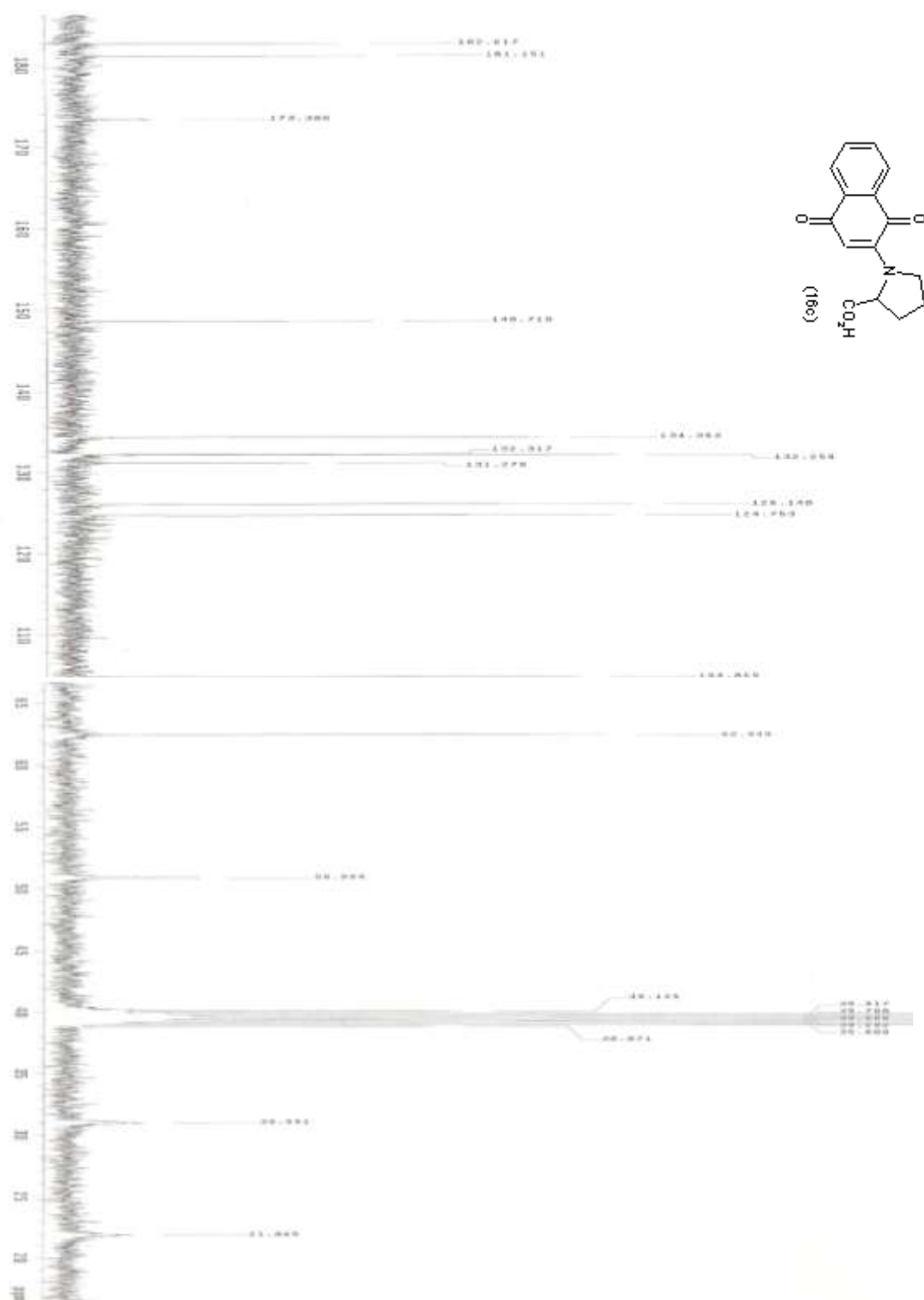
Espectro 9: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-prolina **16c** (ATR, cm⁻¹)



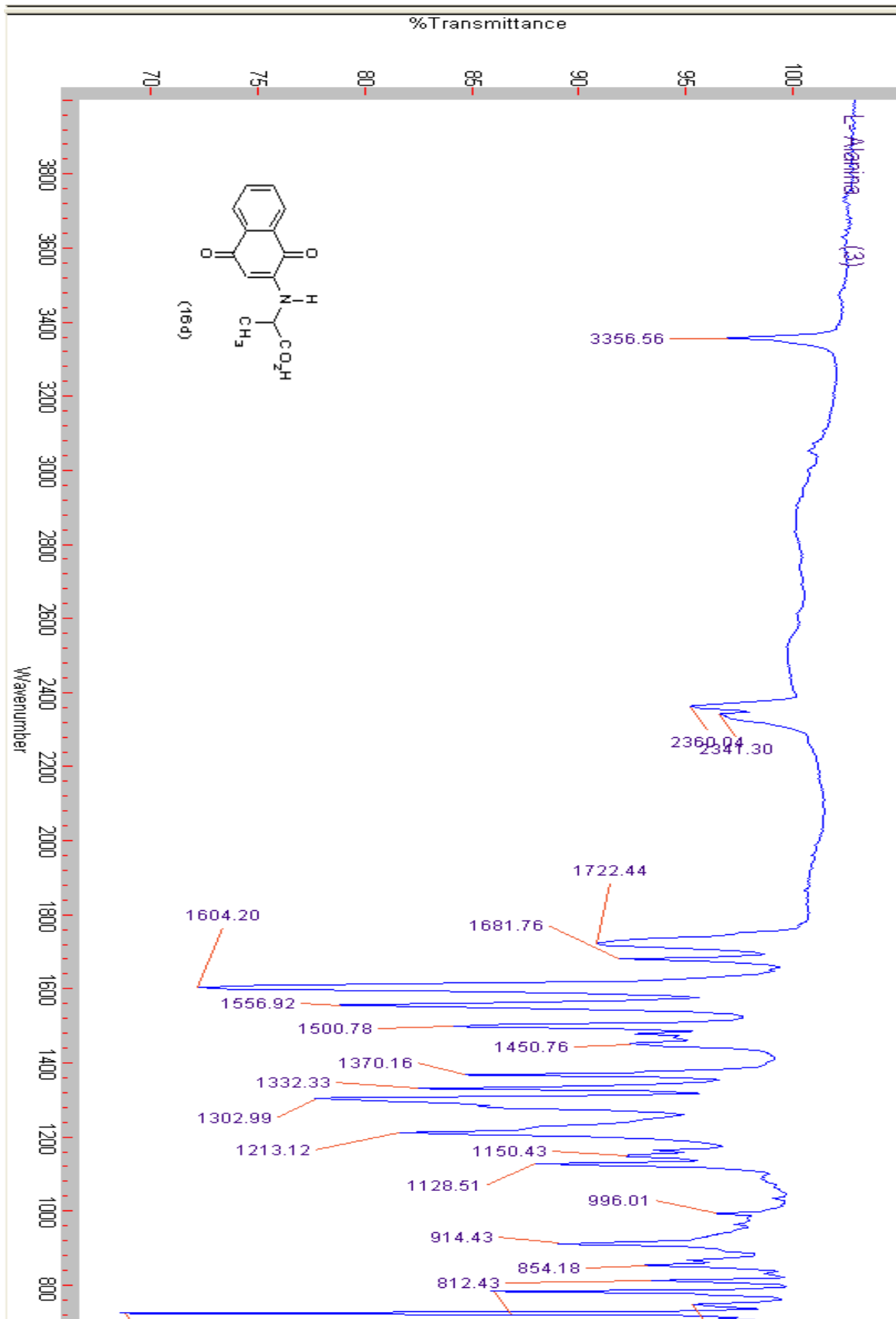
Espectro 11: Expansão de RMN¹H (δ, (DMSO-d₆, 400 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-prolina **16c**



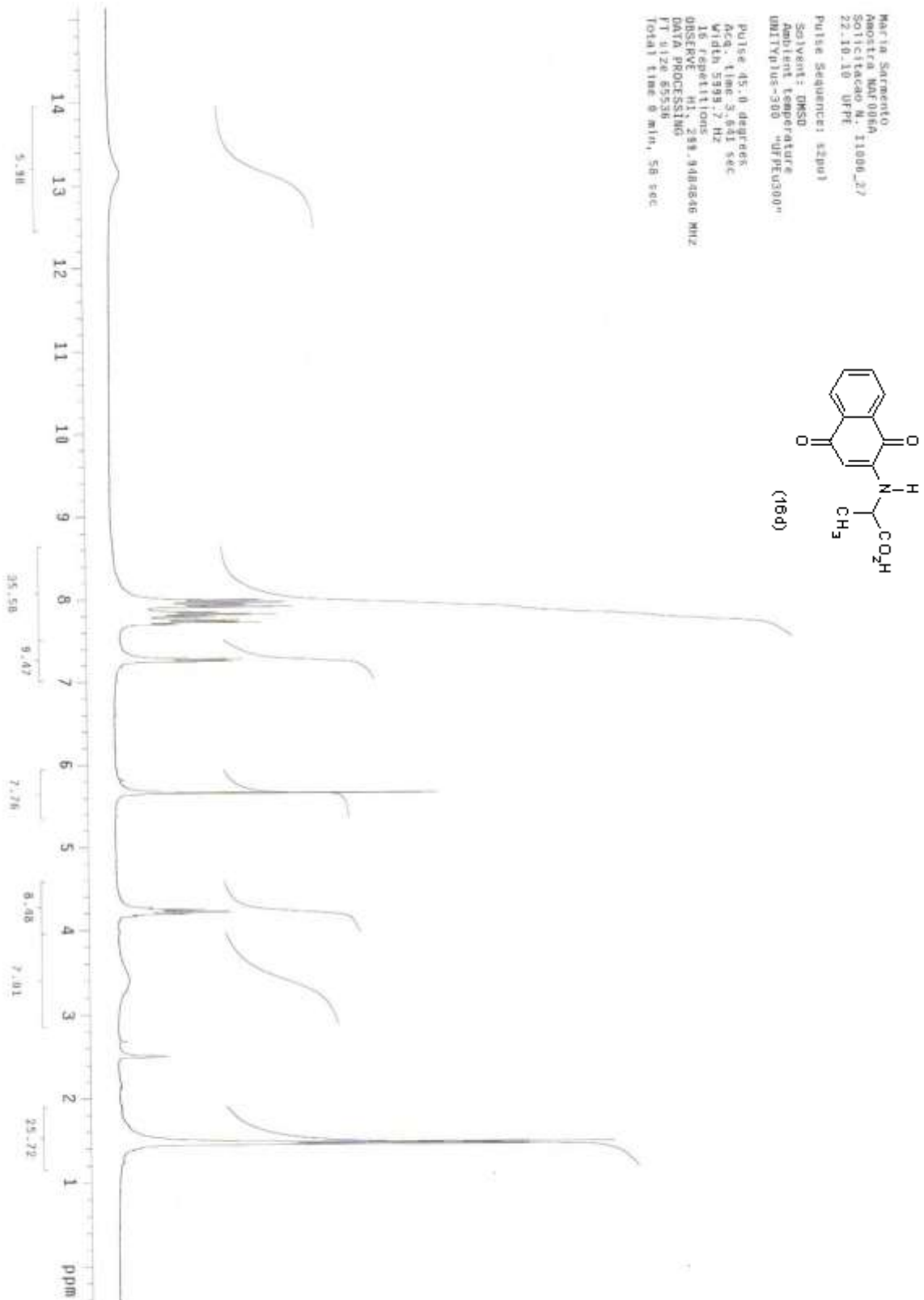
Espectro 12: Espectro de RMN¹³C (δ, DMSO-*d*₆, 100 MHz) de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-prolina **16c**



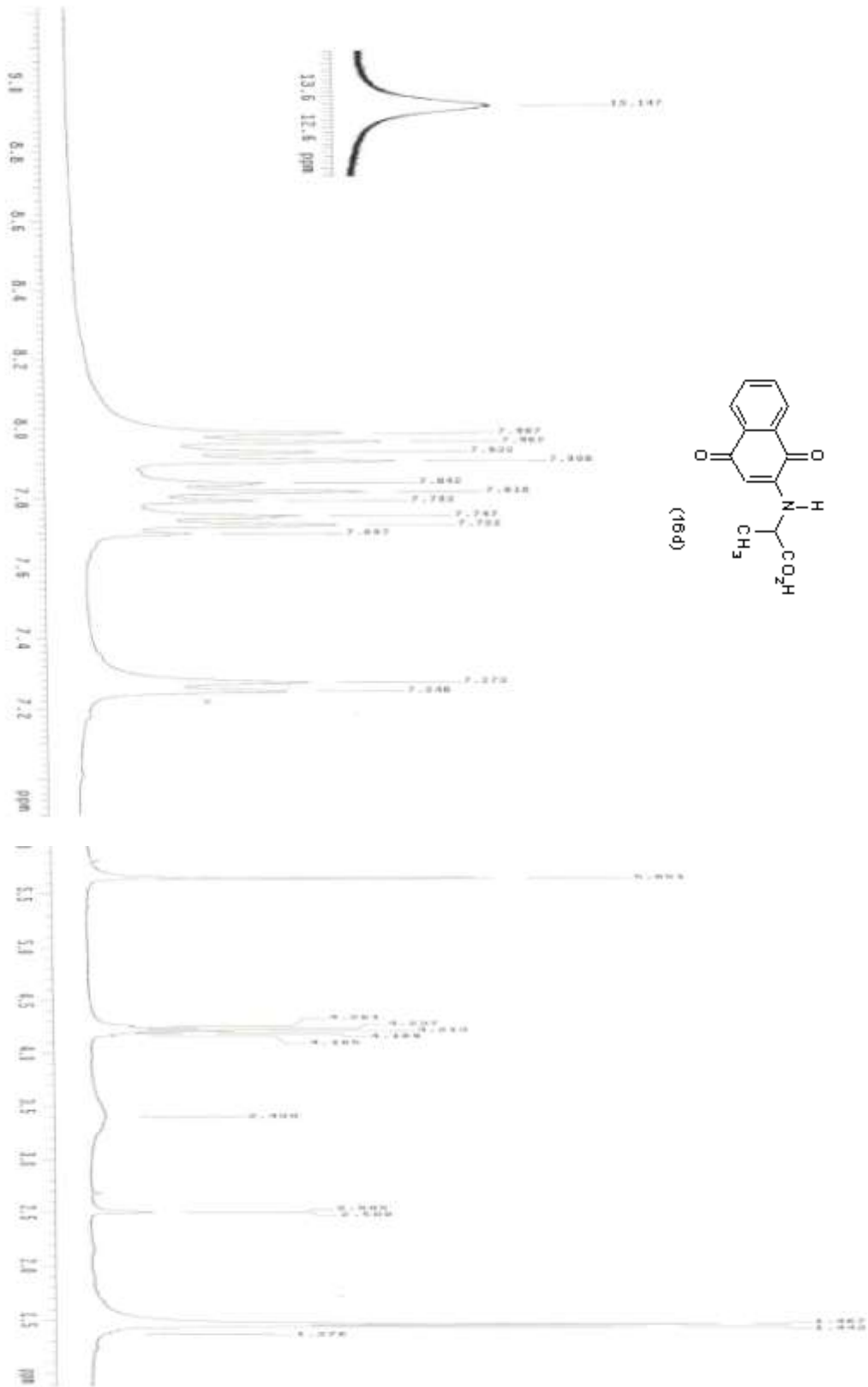
Espectro 13: Expansão do RMN ^{13}C (δ , $\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz) de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-prolina **16c**



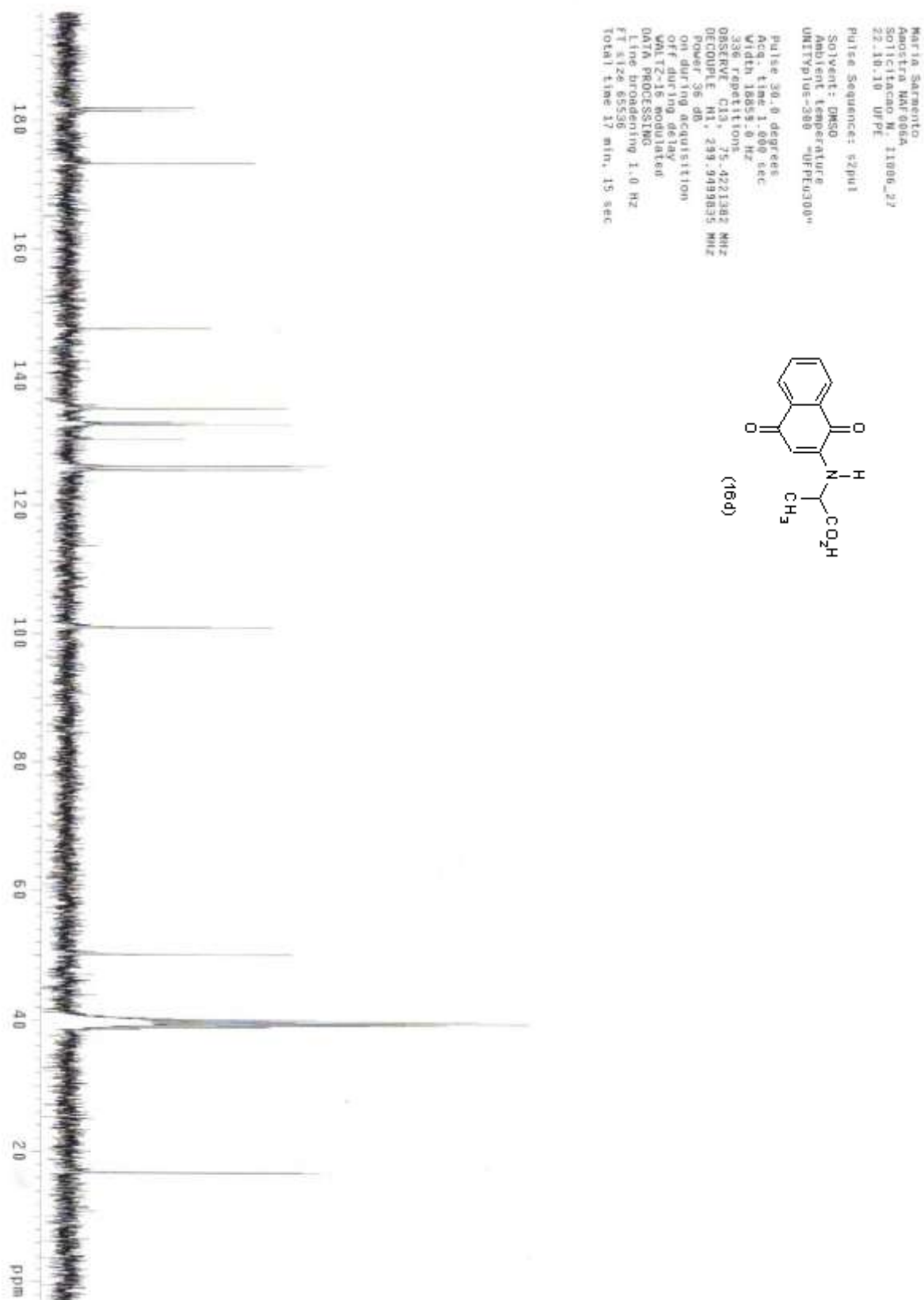
Espectro 14: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina **16d** (ATR, cm^{-1})



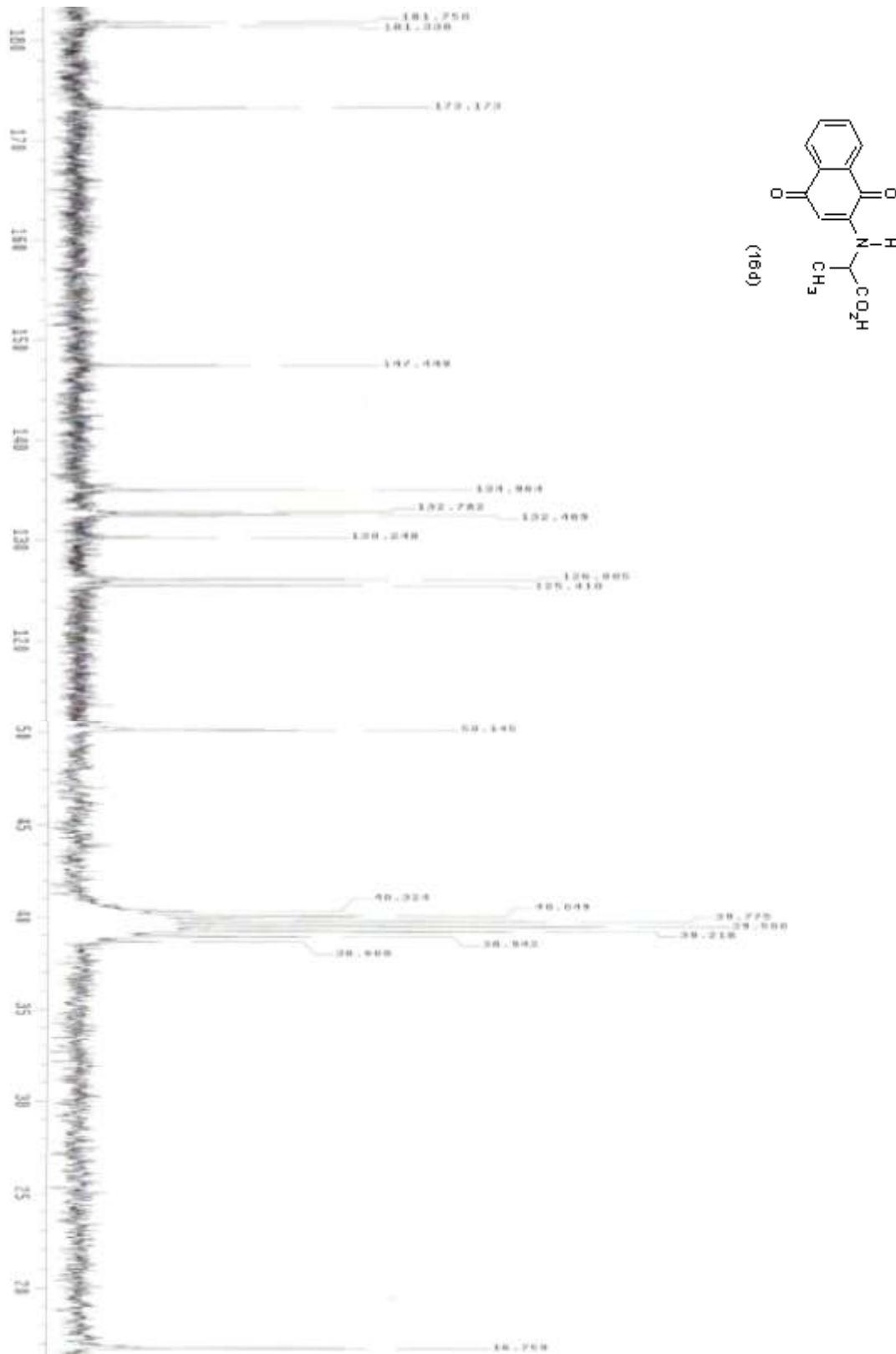
Espectro 15: Espectro de RMN¹H (δ , DMSO-*d*₆, 300 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina **16d**



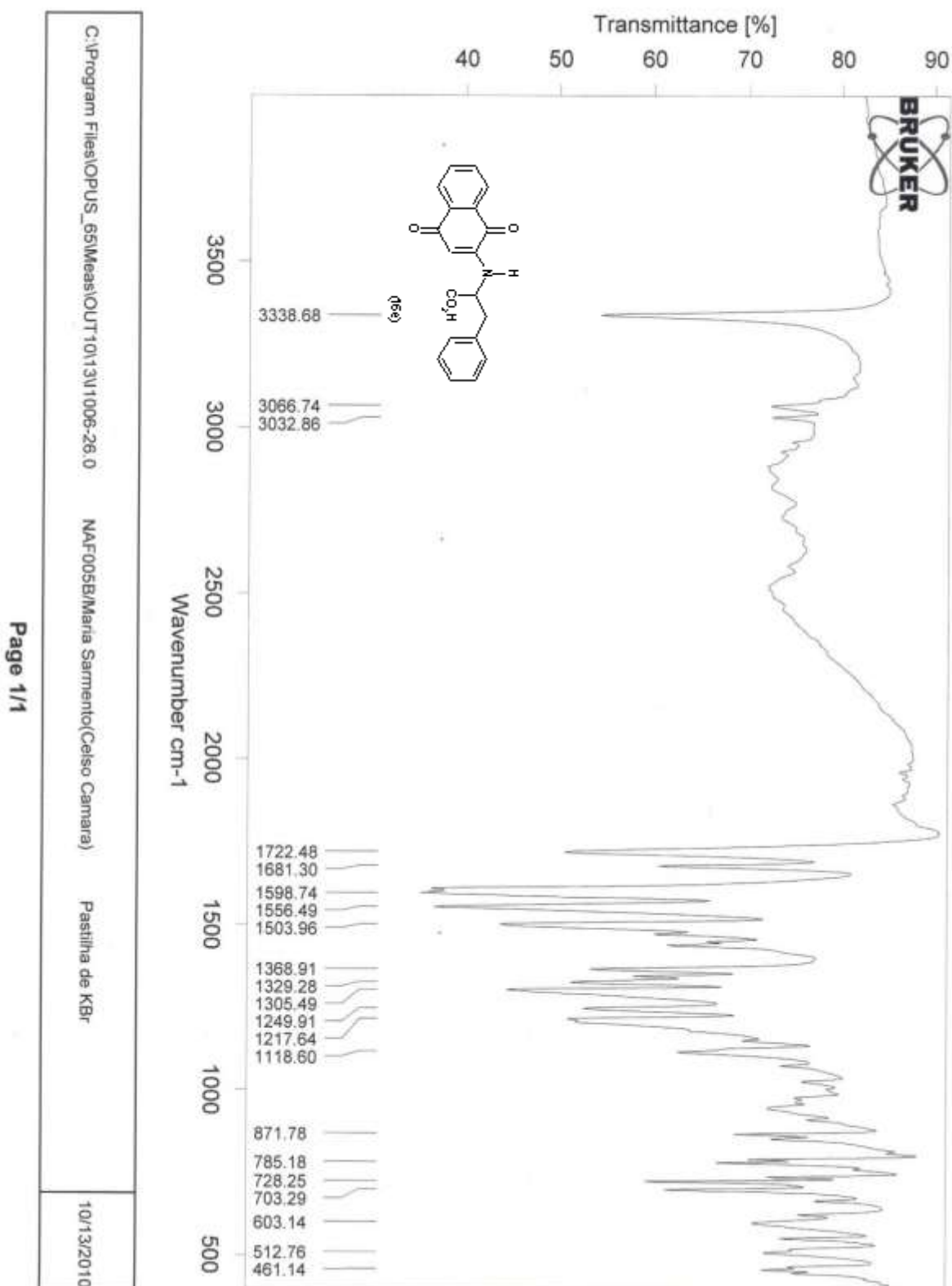
Espectro 16:Expansão de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 300 MHz) do N-(1,4-naftoquinon-2-il)-L-alanina **16d**



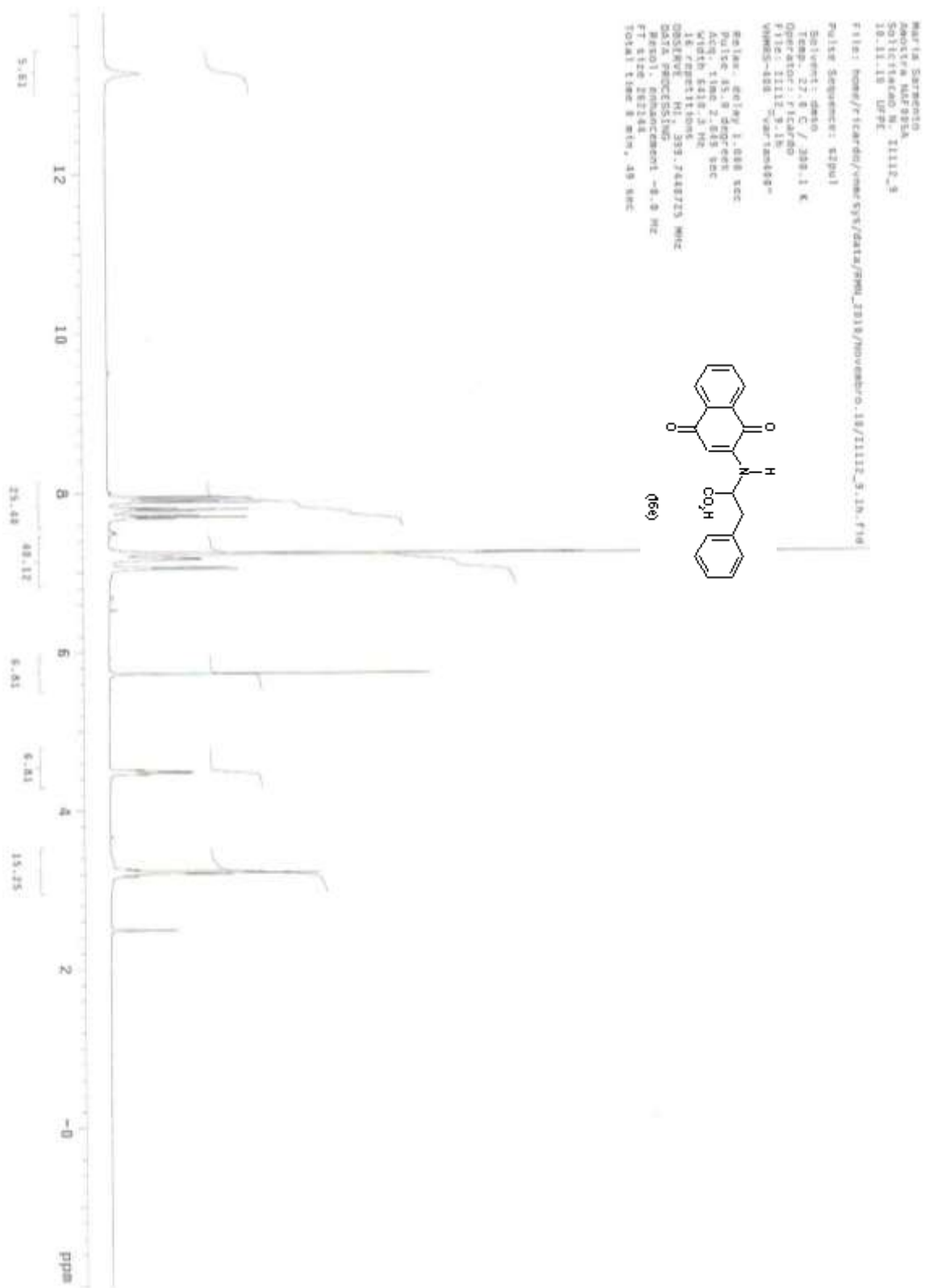
Espectro 17: Espectro de RMN¹³C (δ, DMSO-d₆, 75 MHz) de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina **16d**



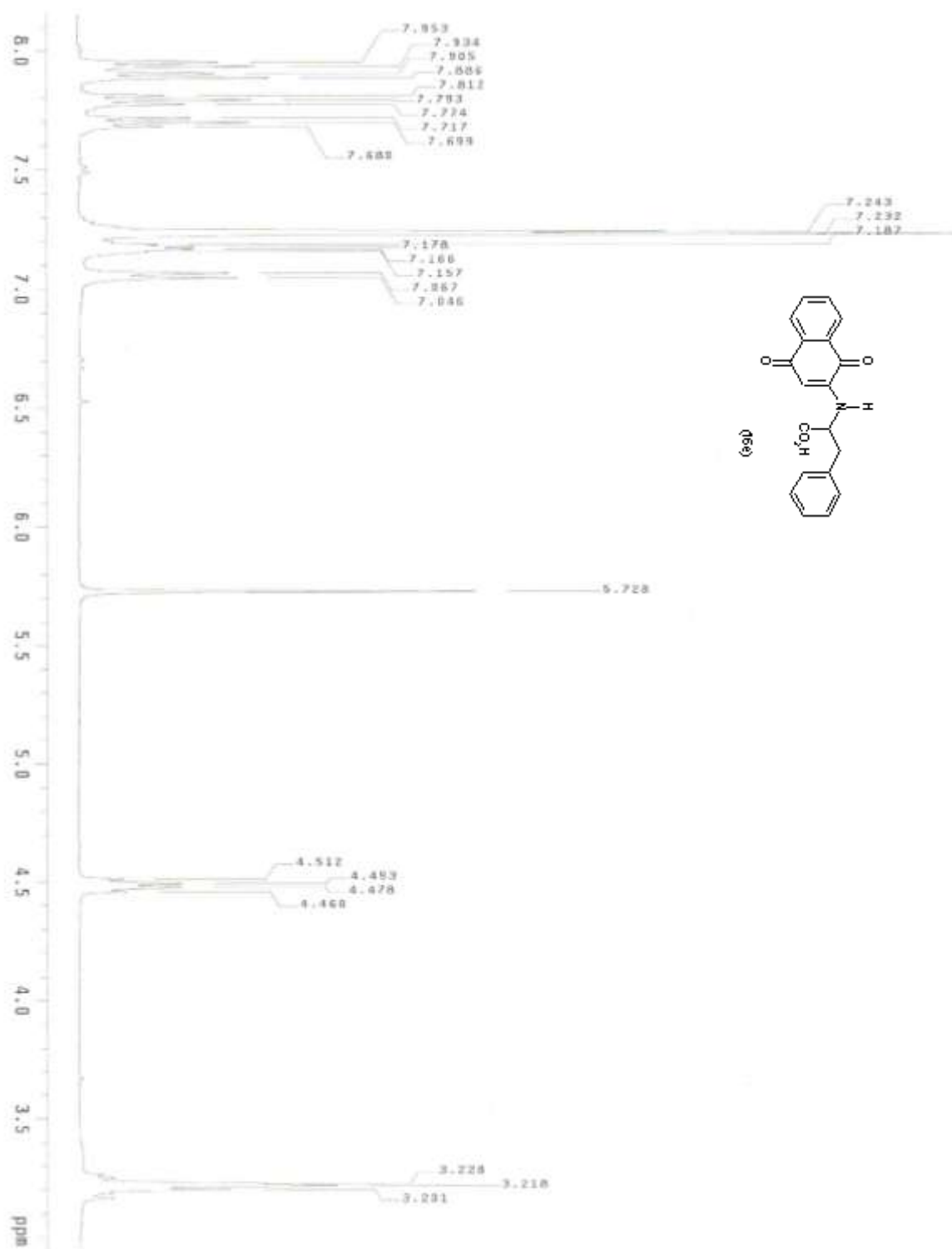
Espectro 18: Expansão de RMN^{13}C (δ , $\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz) de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-alanina **16d**



Espectro 19: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-fenilalanina **16e** (KBr, cm⁻¹)

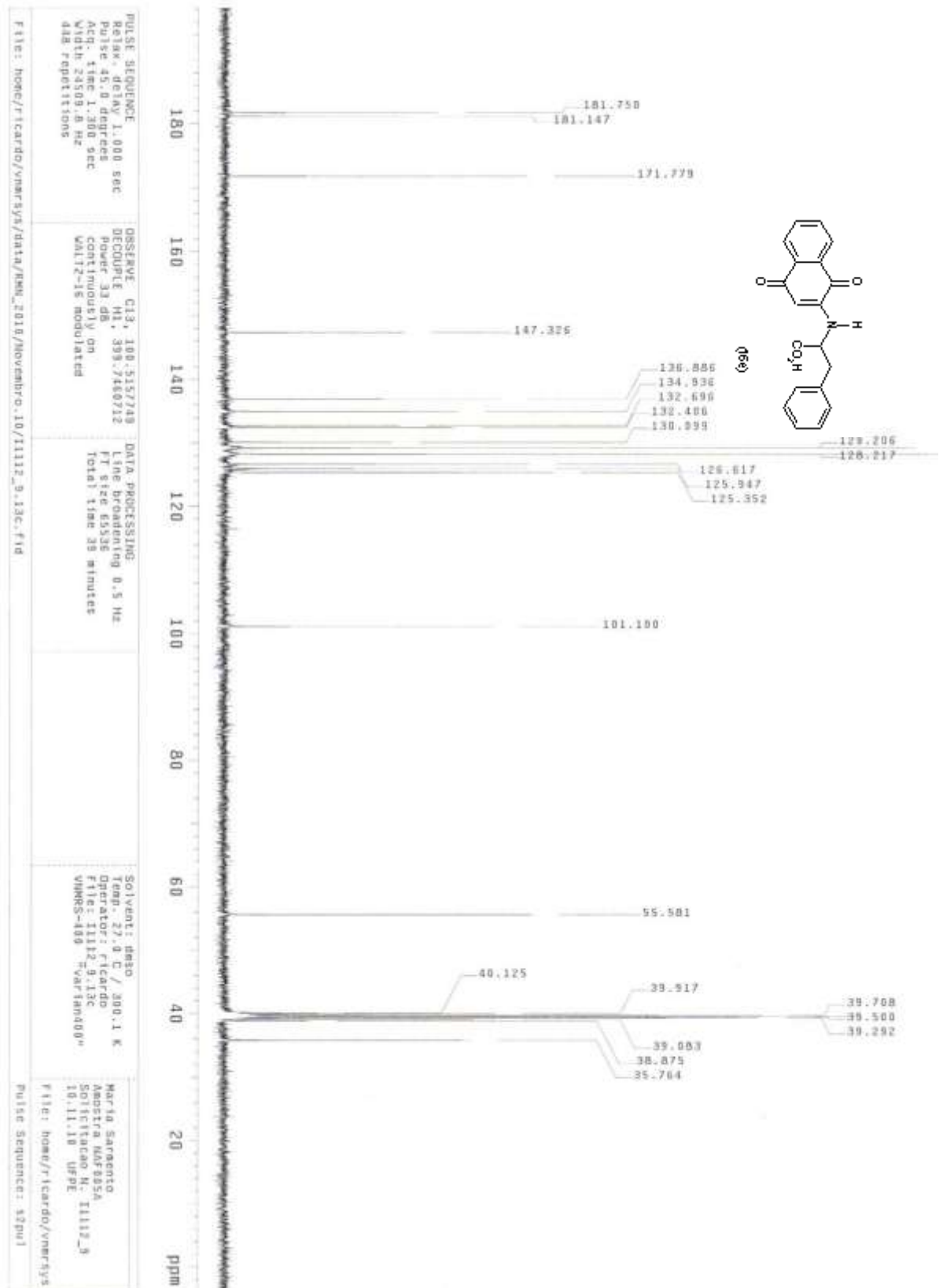


Espectro 20: Espectro de RMN¹H (δ, DMSO-d₆, 400 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-fenilalanina

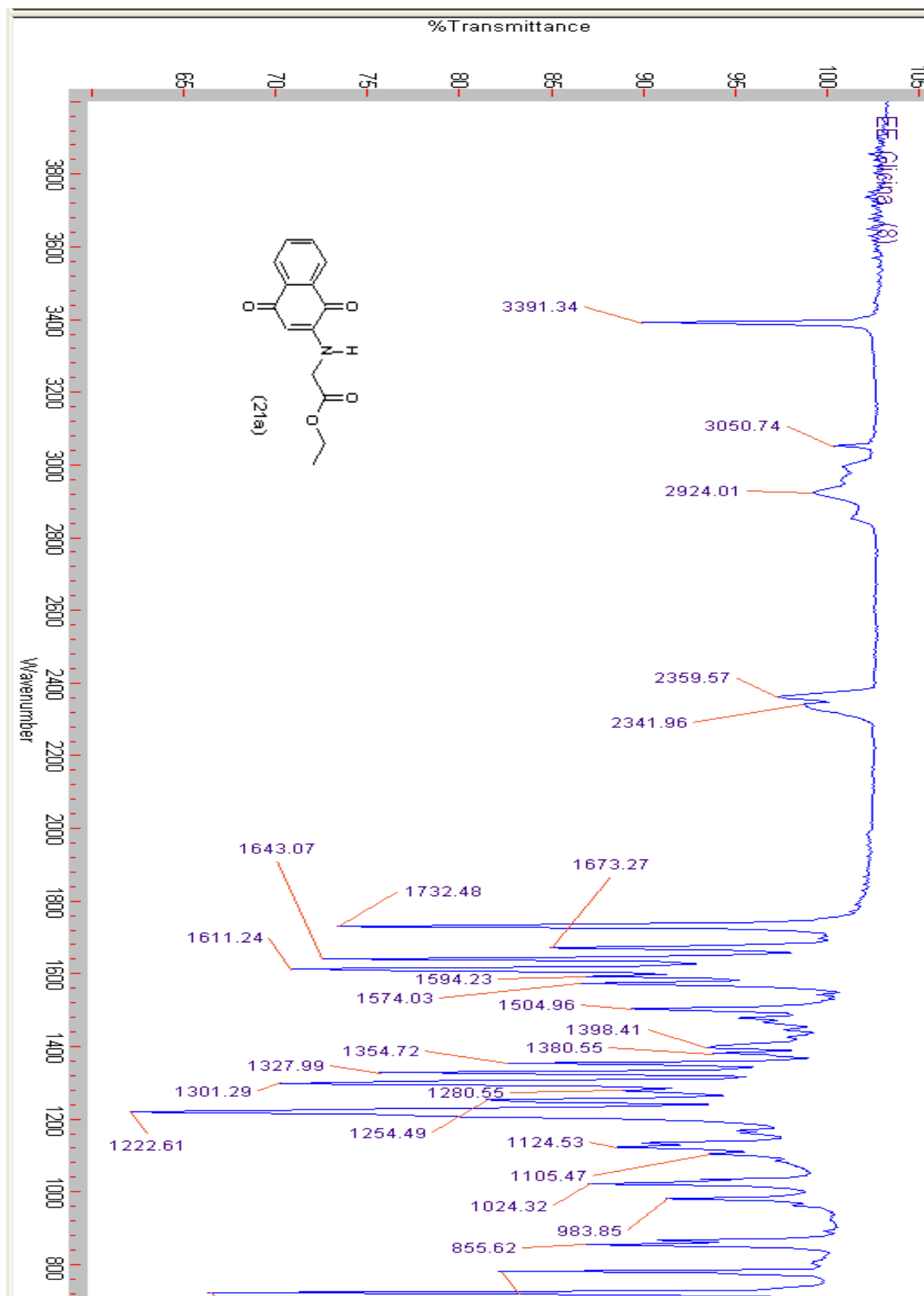


Espectro 21:Expansão de RMN¹H (δ, DMSO-*d*₆, 400 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-fenilalanina

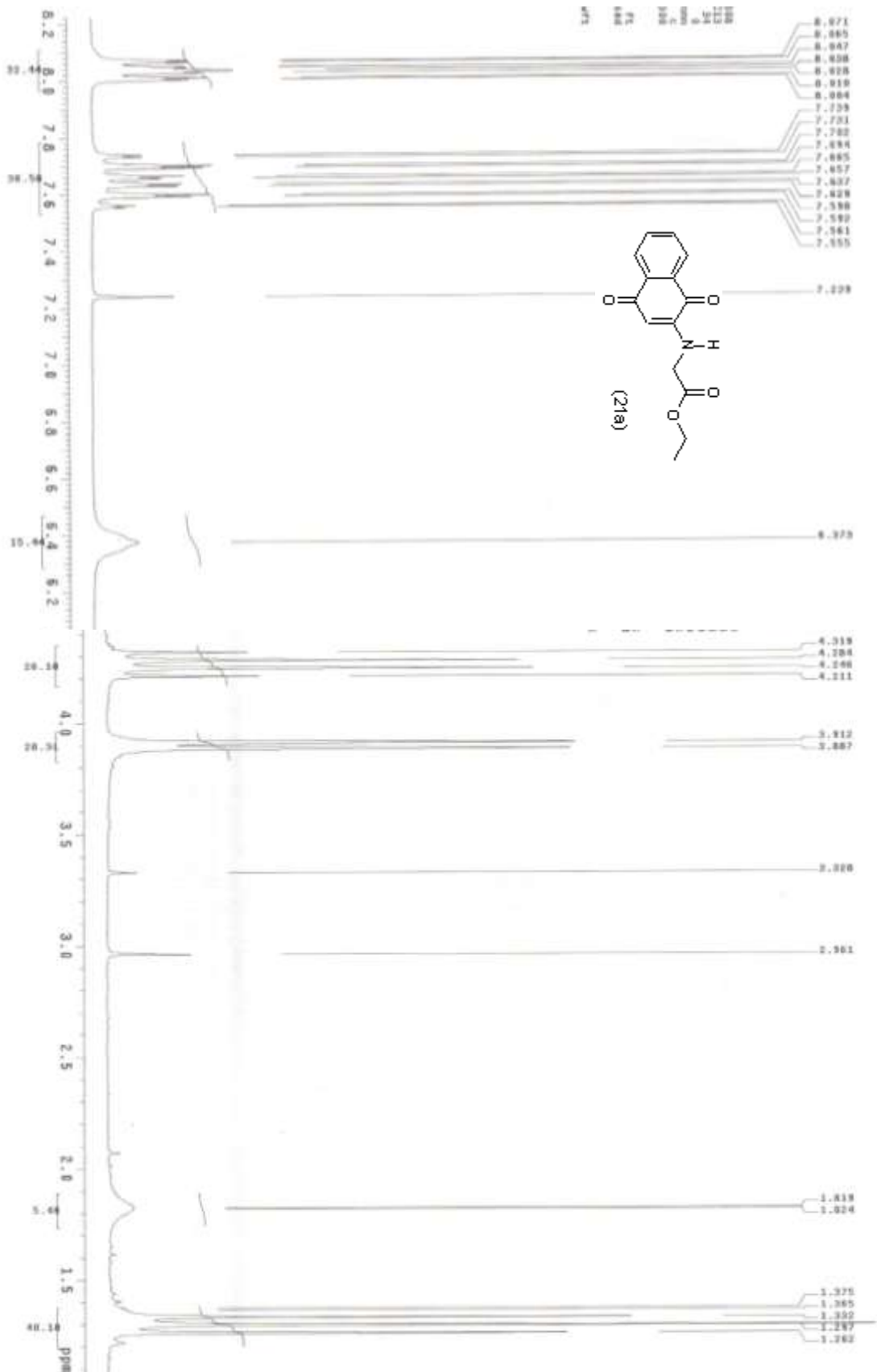
16e



Espectro 22: Espectro de RMN¹³C (δ, DMSO-*d*₆, 100 MHz) de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-fenilalanina

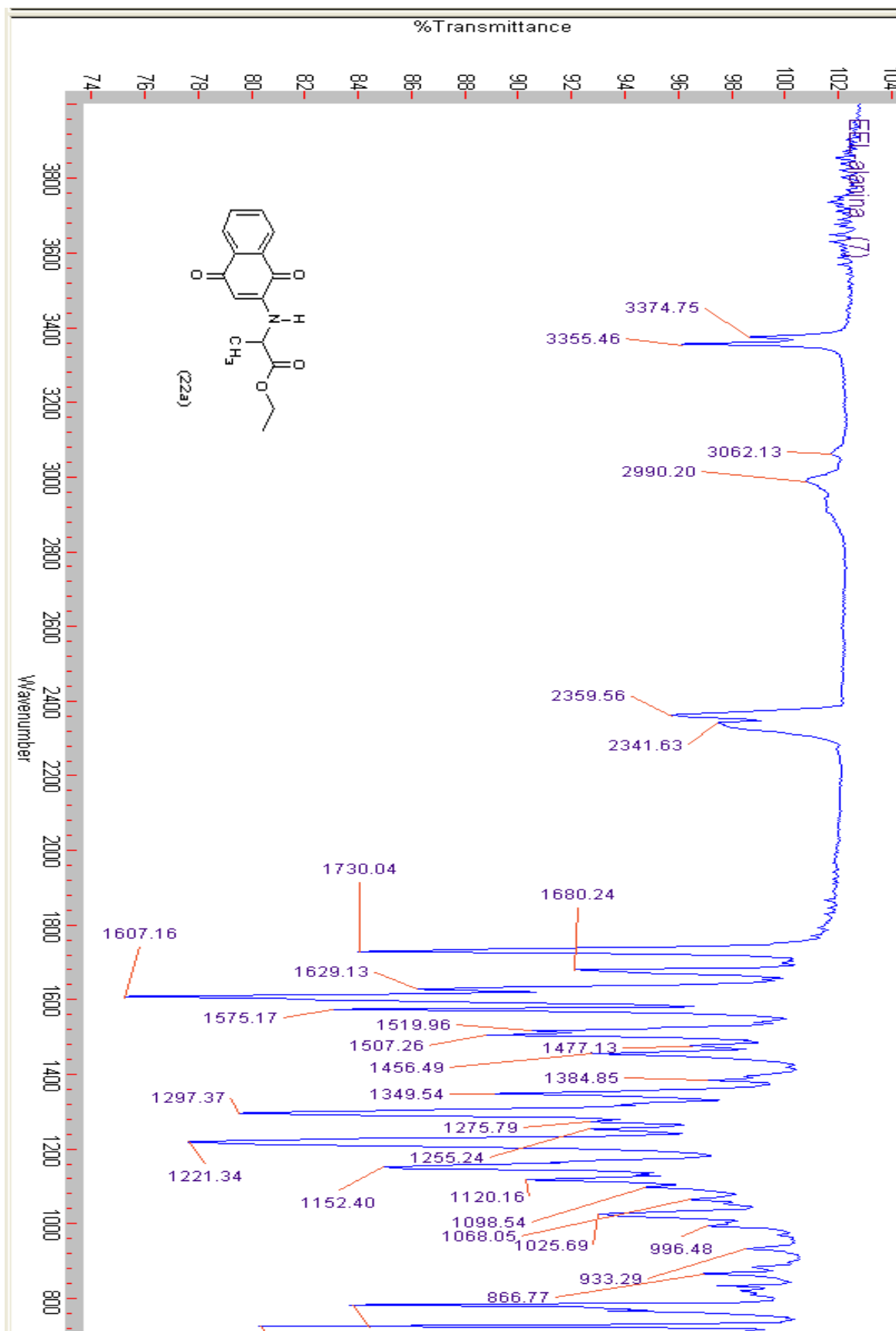


Espectro 23: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila **21a** (ATR, cm⁻¹)

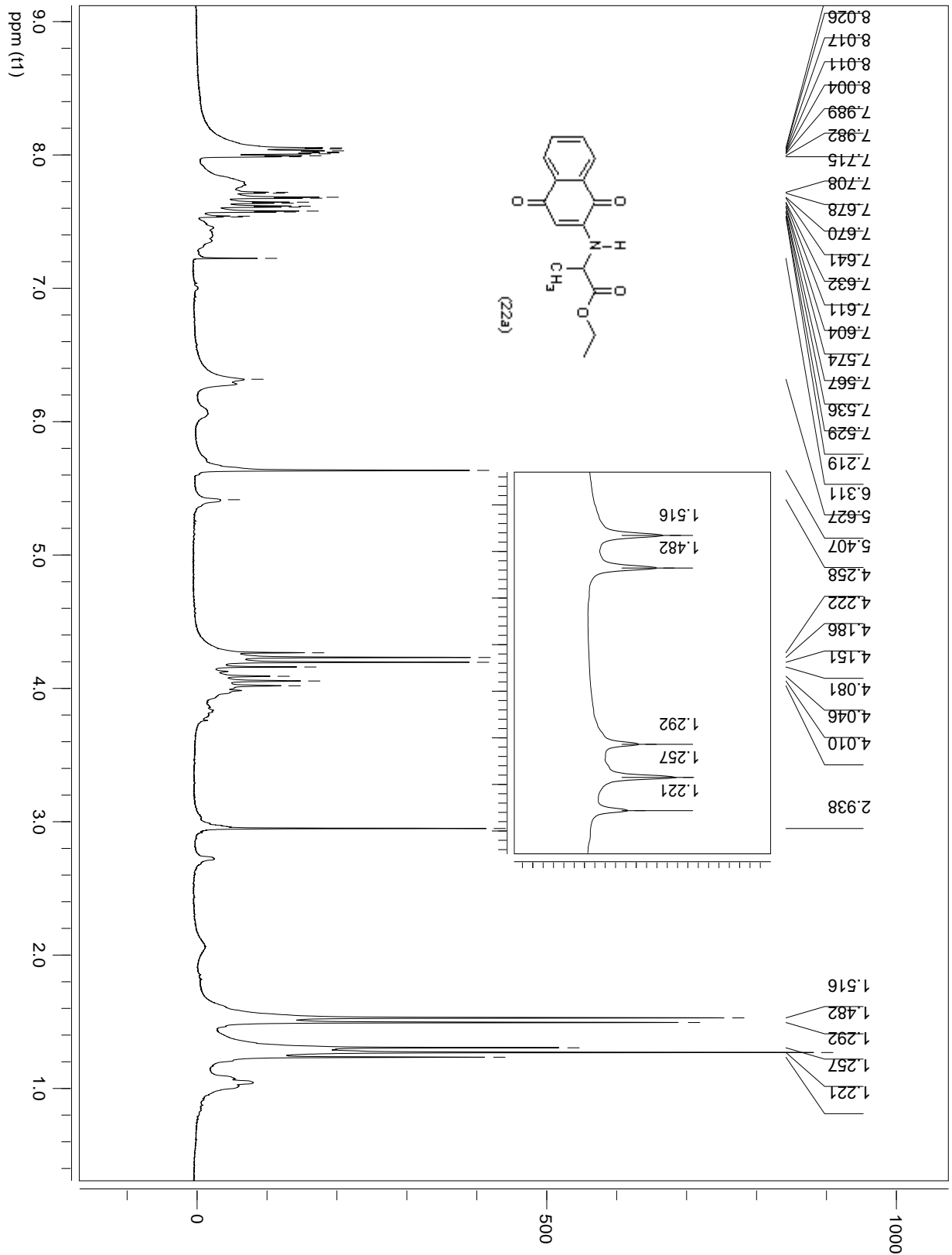


Espectro 25: Expansão de RMN^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-glicinato de etila

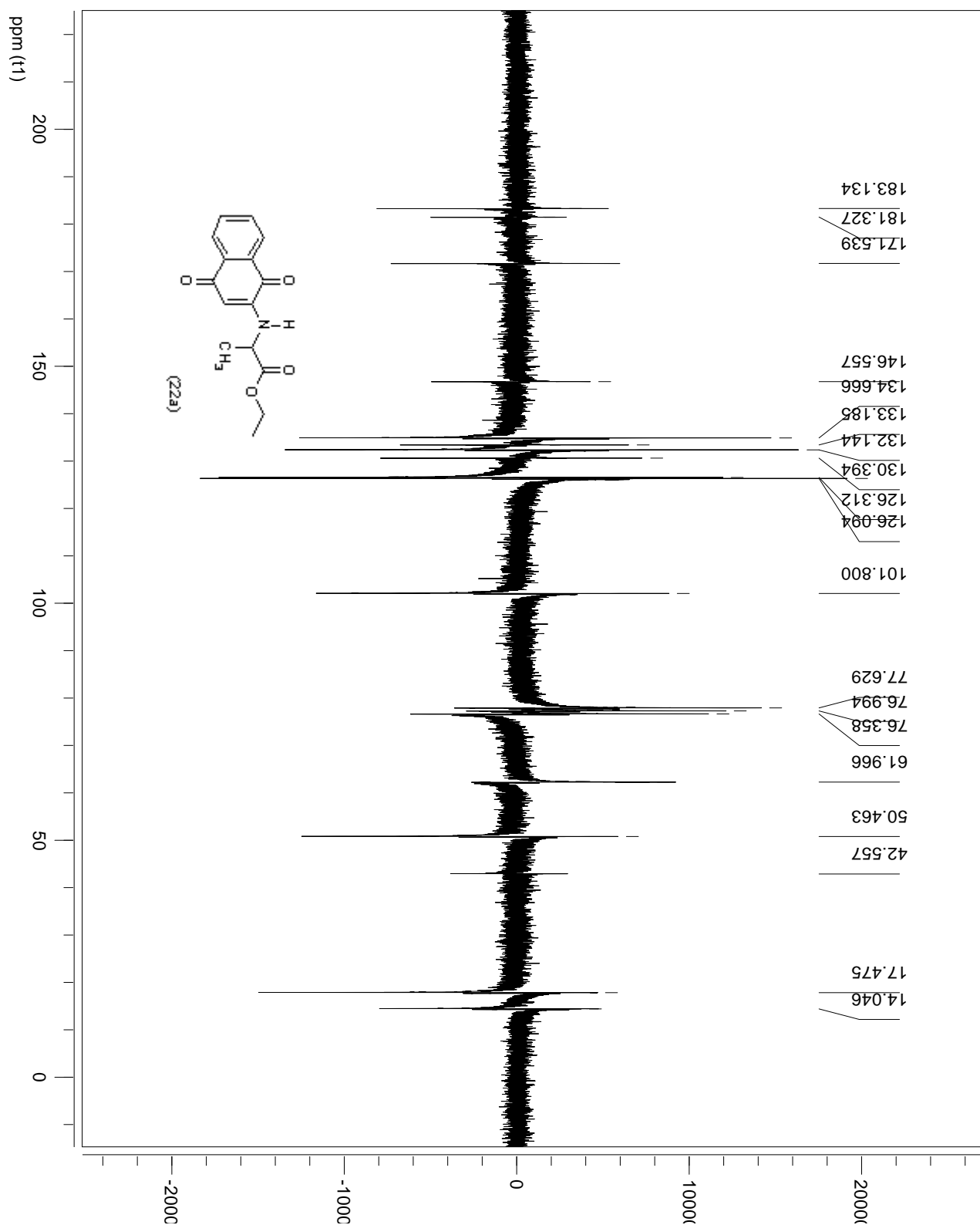
21a



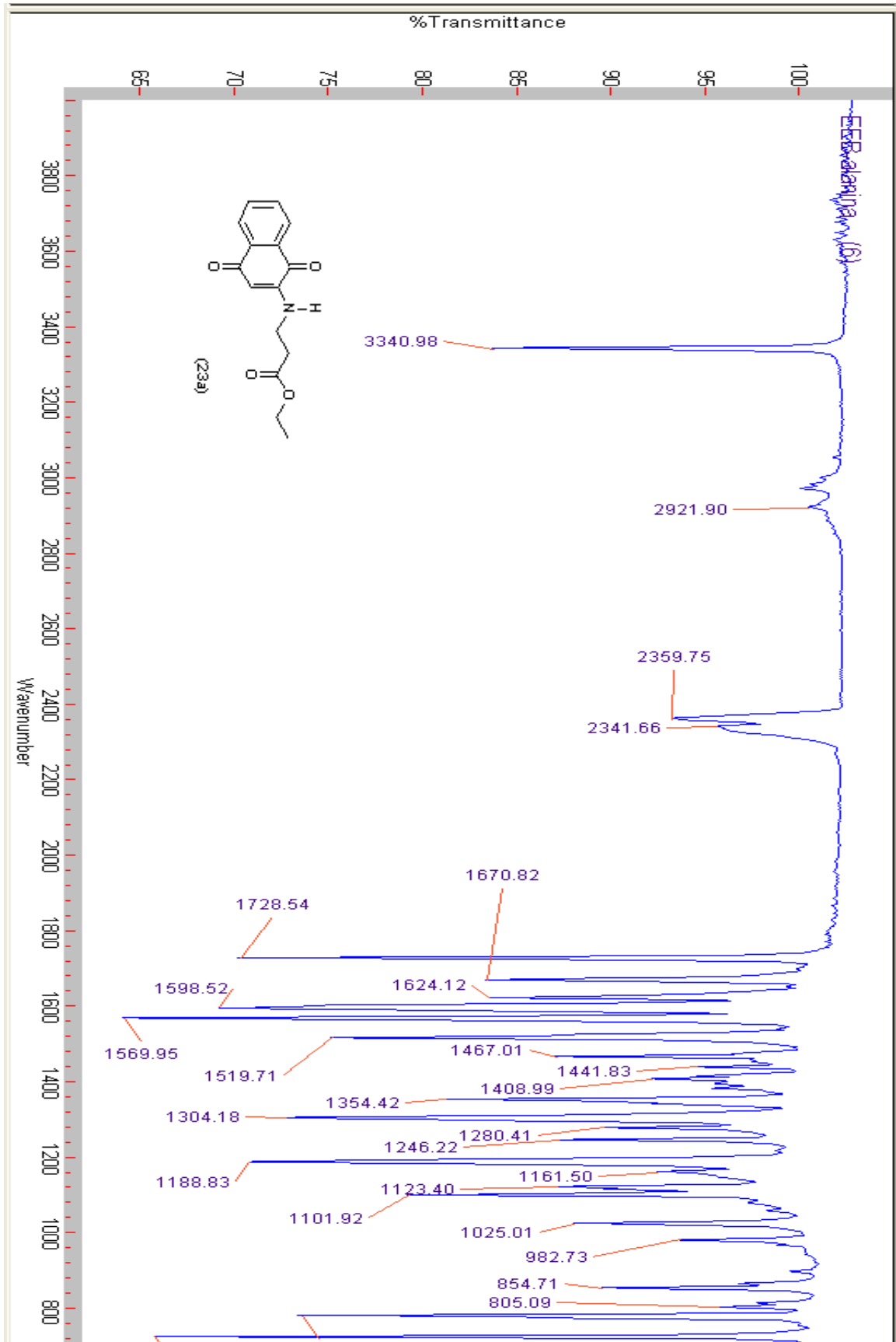
Espectro 27: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila **22a** (ATR, cm⁻¹)



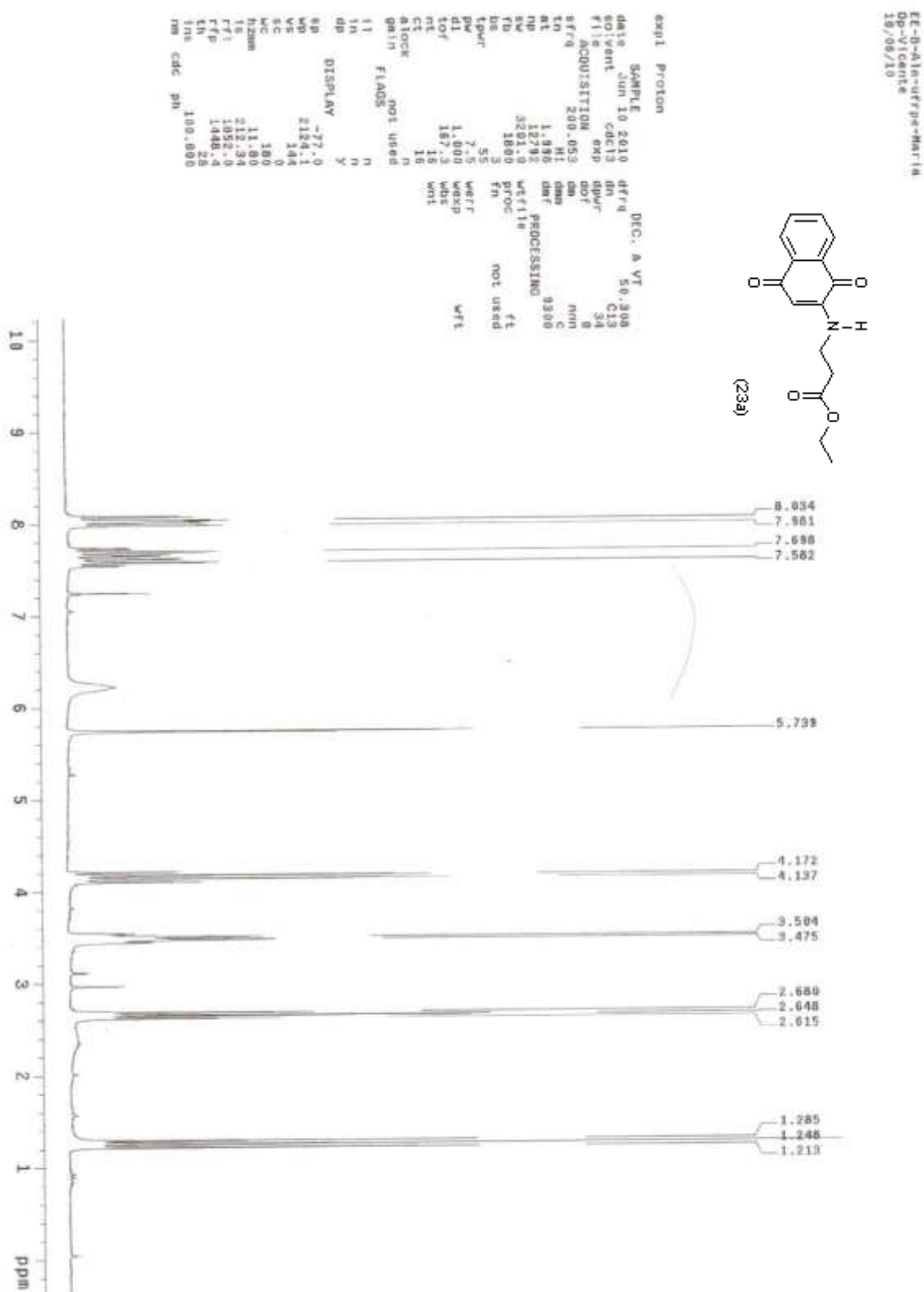
Espectro 28: Espectro de RMN^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila **22a**



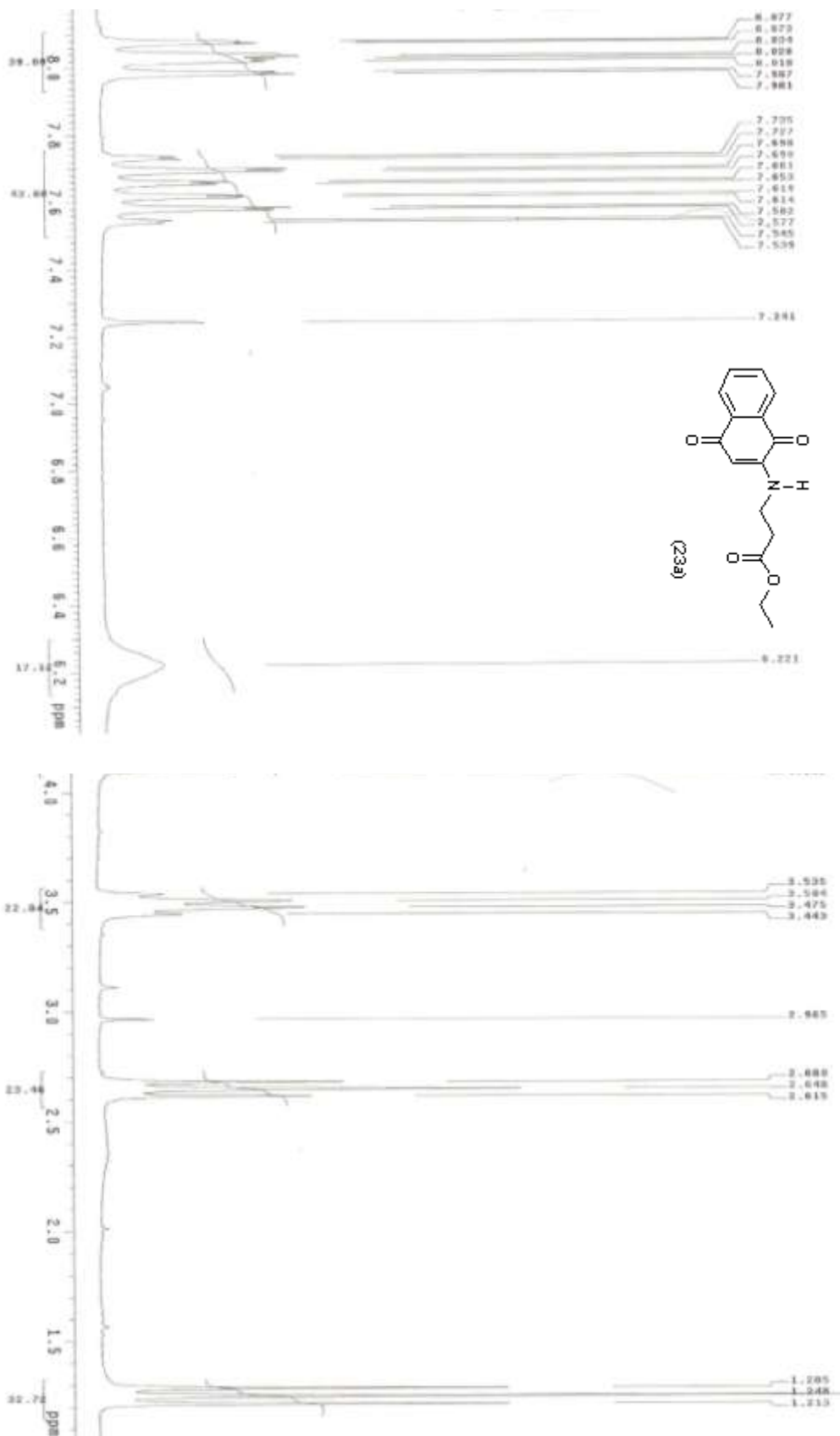
Espectro 29: Espectro de RMN¹³C-APT (δ , CDCl₃, 50 MHz) de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-*L*-2-aminopropanoato de etila **22a**



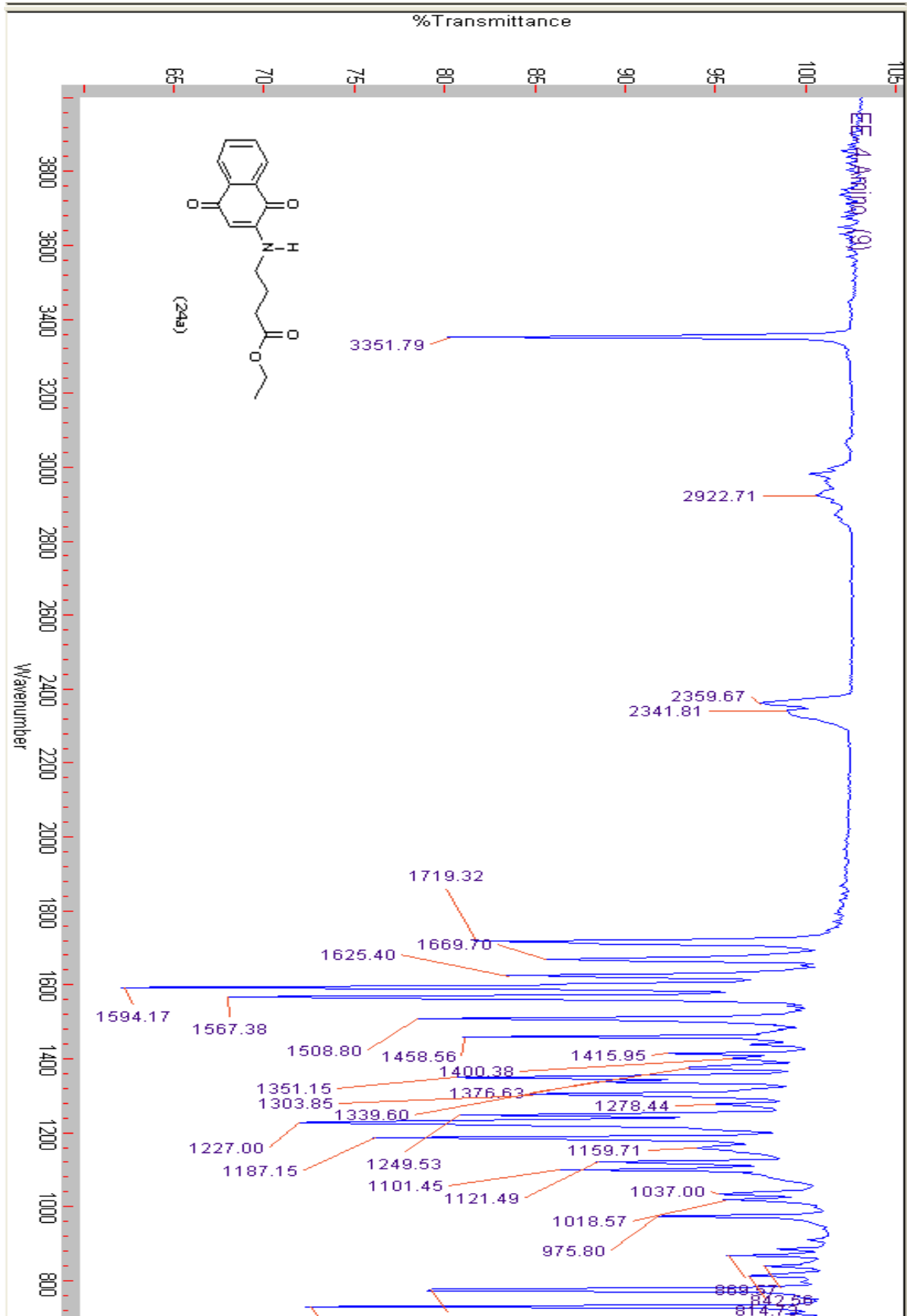
Espectro 30: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila **23a** (ATR, cm⁻¹)



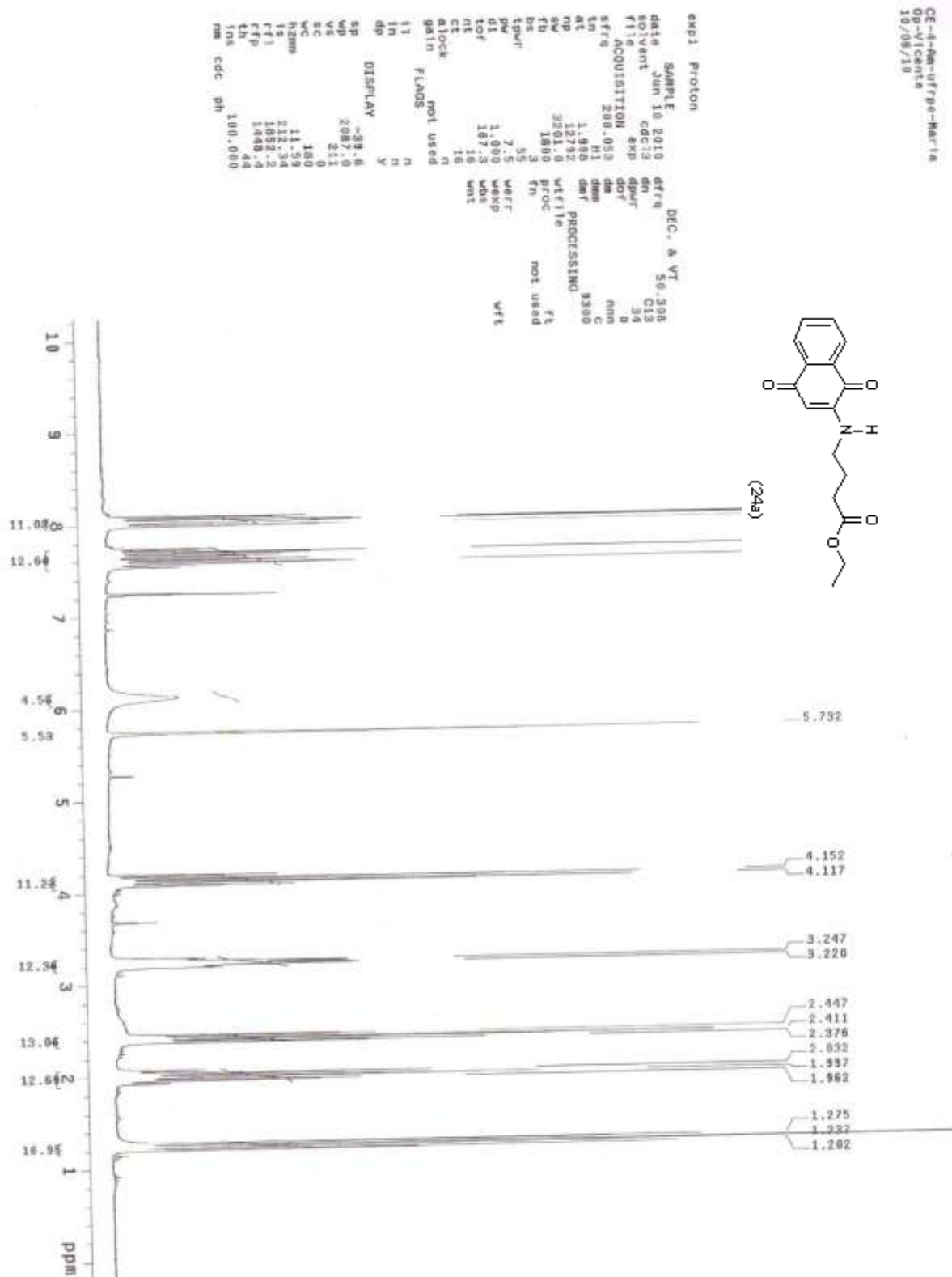
Espectro 31: Espectro de RMN¹H (δ , CDCl₃, 200 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)- β -aminopropanoato de etila **23a**



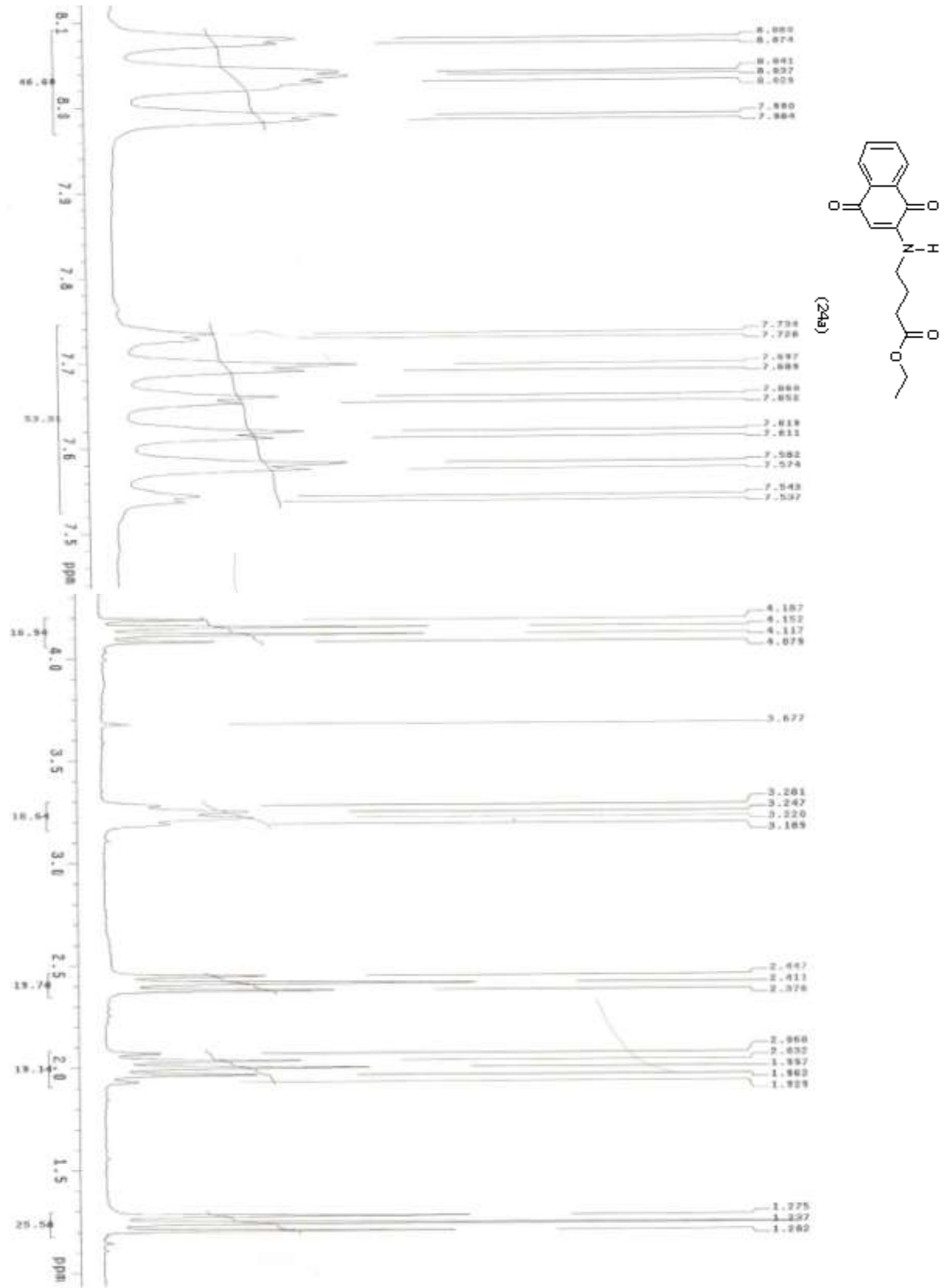
Espectro32: Expansão de RMN¹H (δ, CDCl₃, 200 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-β-aminopropanoato de etila **23a**



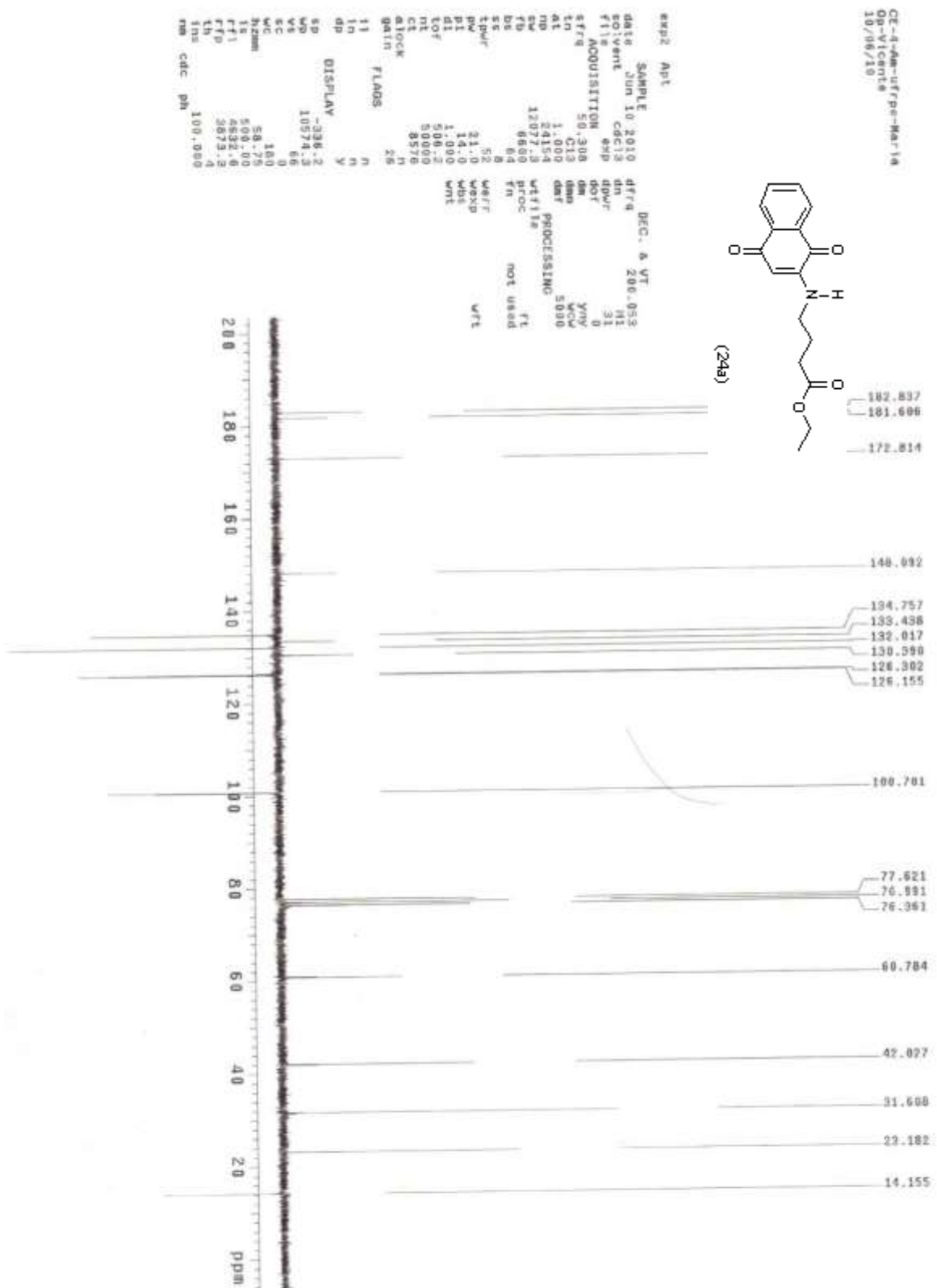
Espectro 34: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila **24a** (ATR, cm⁻¹)



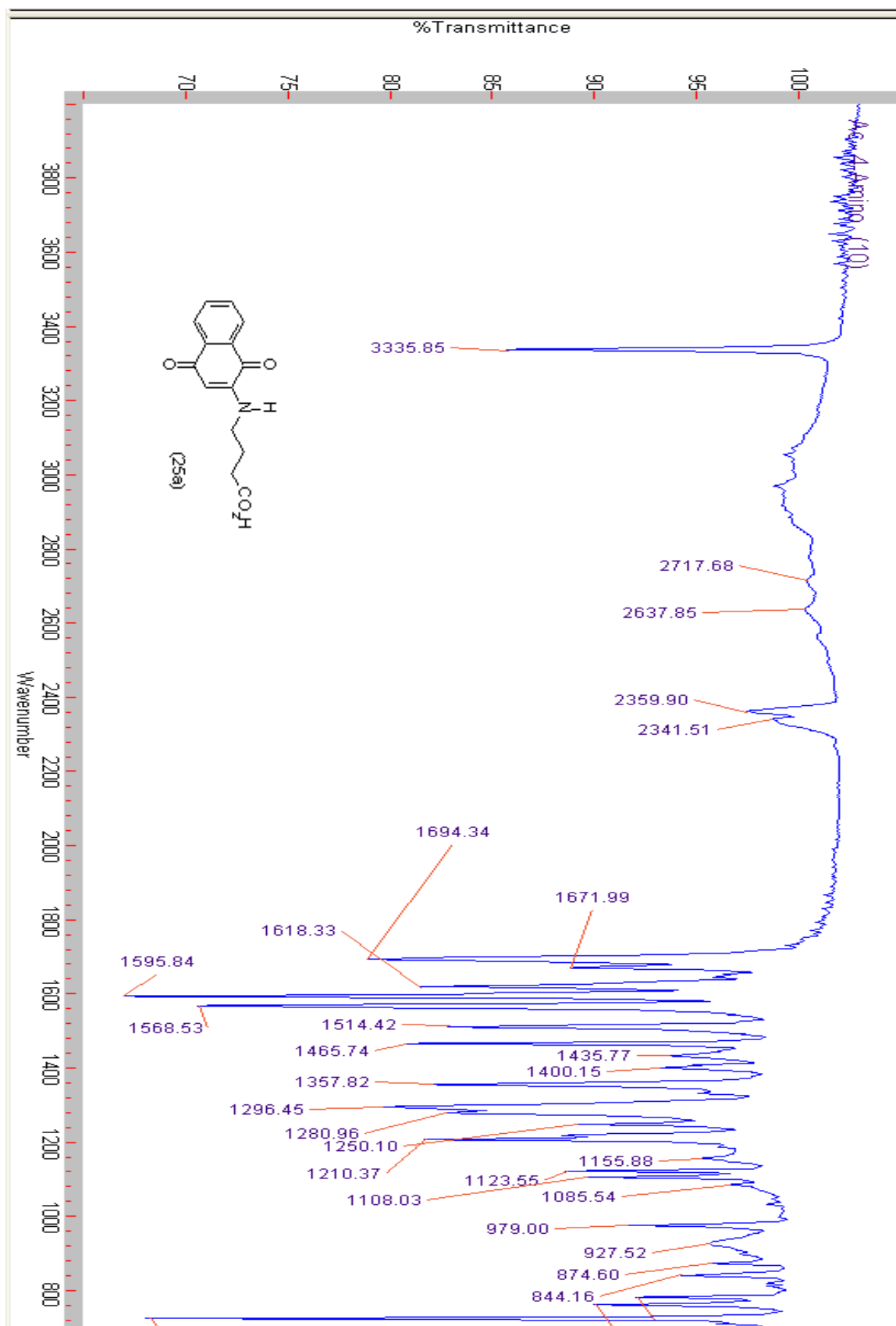
Espectro 35: Espectro de RMN¹H (δ , CDCl₃, 200 MHz) do N-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila **24a**



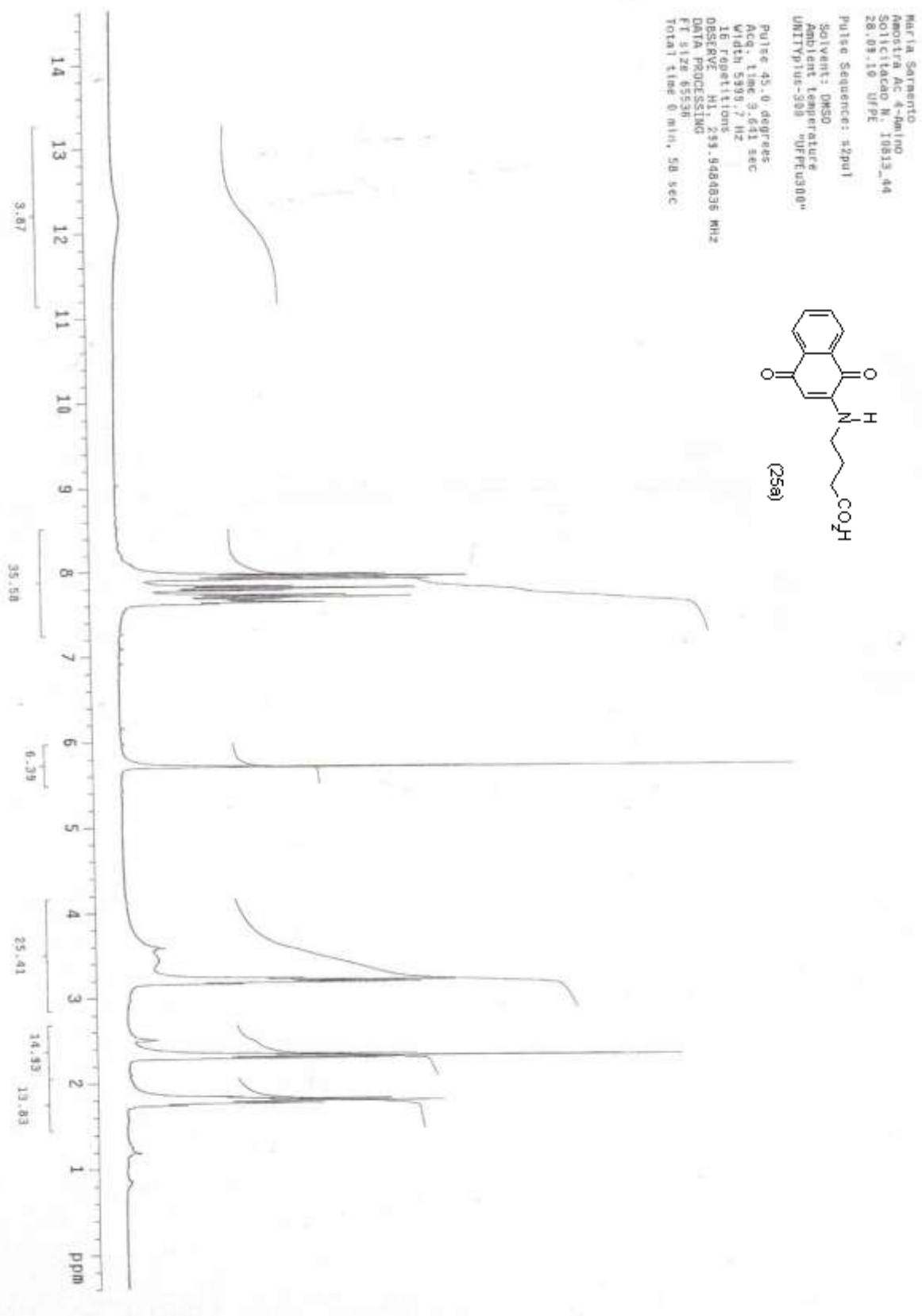
Espectro 36: Expansão de RMN¹H (δ, CDCl₃, 200 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila **24a**



Espectro 37: Espectro de RMN¹³C-APT (δ , CDCl₃, 50 MHz) de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutirato de etila **24a**

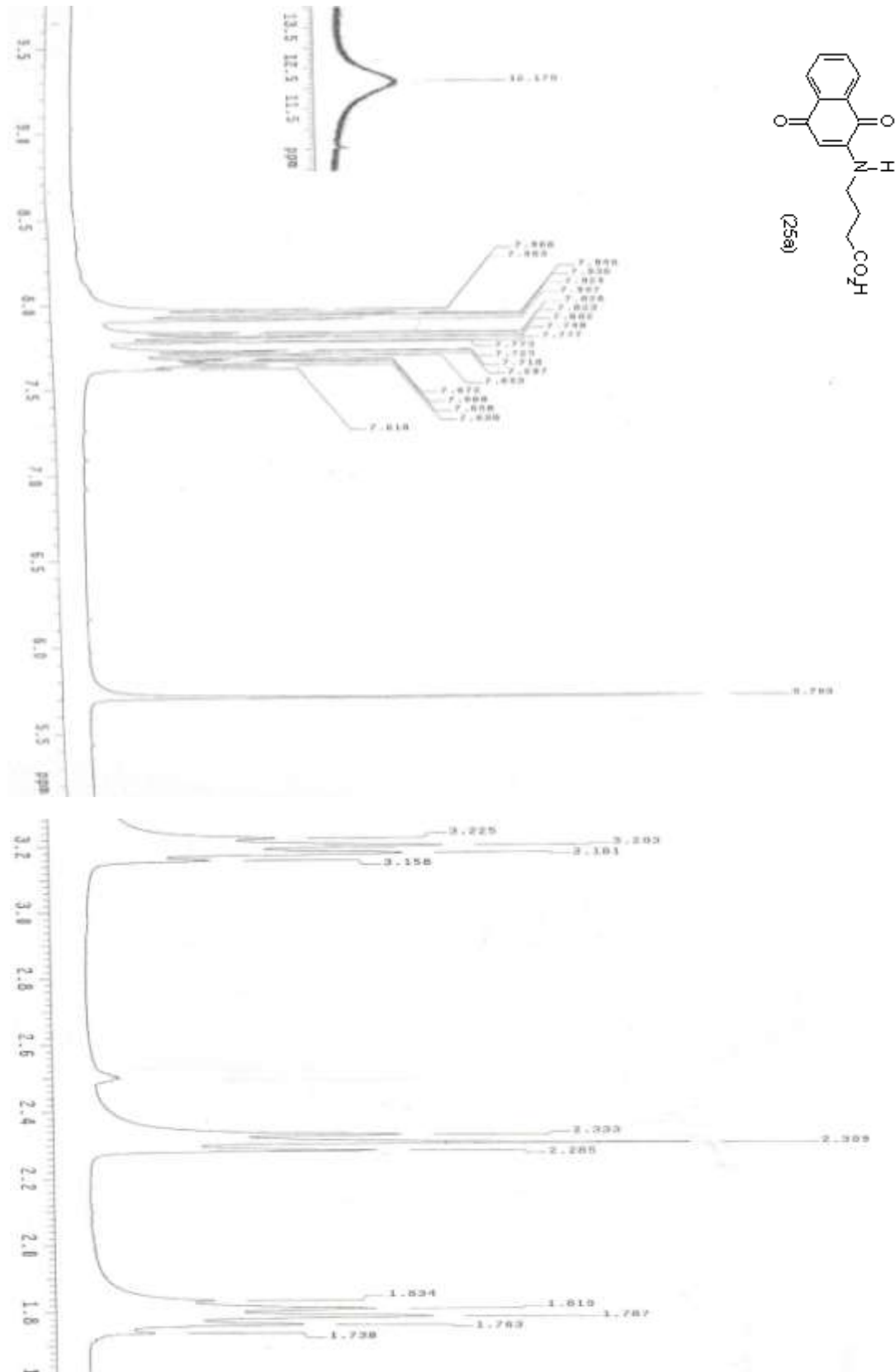


Espectro 38: Espectro no IV do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico **25a** (ATR, cm⁻¹)

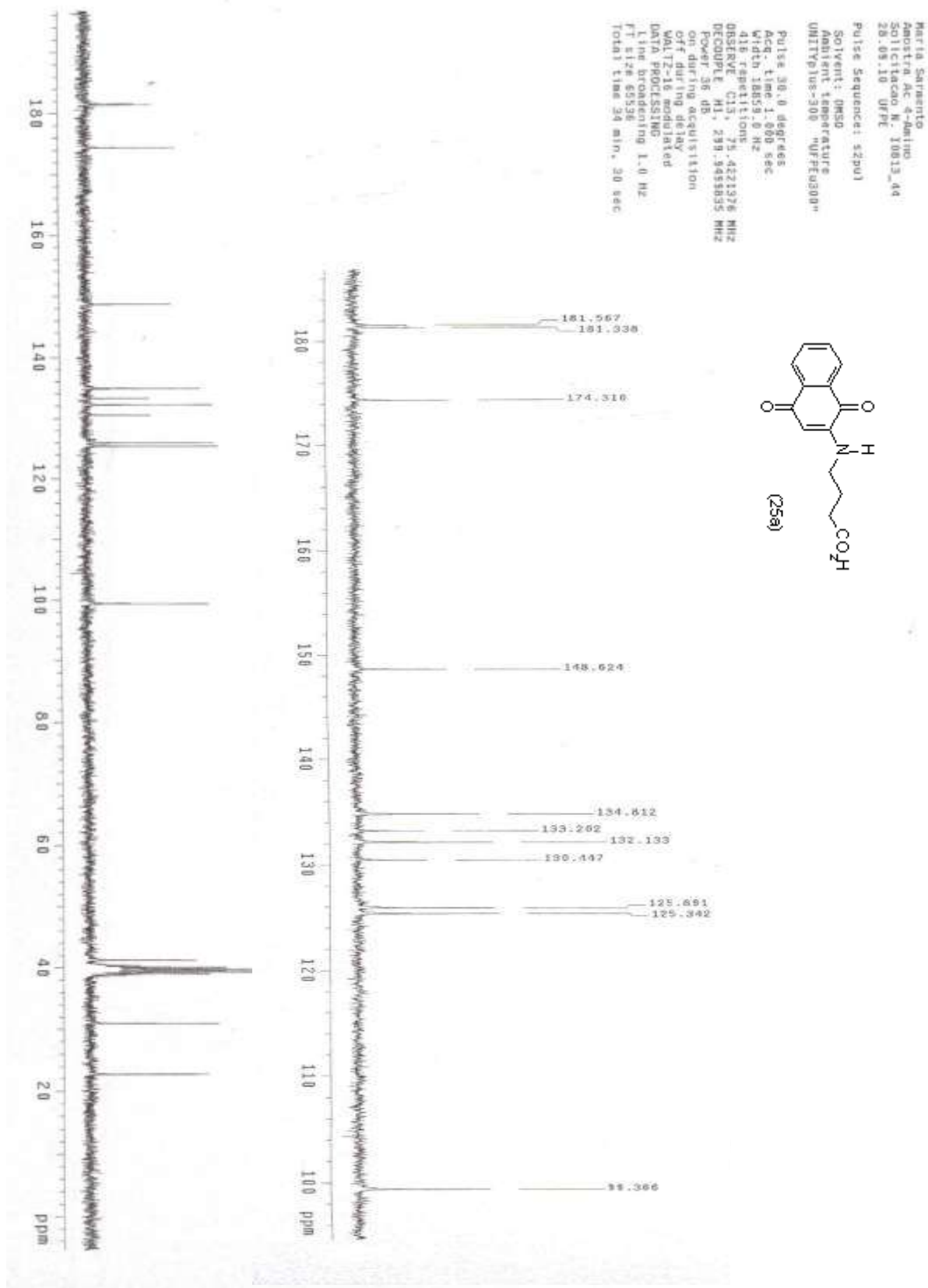


Espectro 39: Espectro de RMN¹H (δ , DMSO-*d*₆, 300 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico

25a



Espectro 40: Expansão de RMN^1H (δ , $\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz) do *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico **25a**



Espectro 41: Espectro de RMN¹³ (δ, DMSO-d₆, 75 MHz) de *N*-(1,4-naftoquinon-2-il)-4-aminobutírico

25a