



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

WELLINGTON DA SILVA

**SÍNTESE DE DERIVADOS INDÓLICOS COM POTENCIAL
ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA**

Londrina
2020

WELLINGTON DA SILVA

**SÍNTESE DE DERIVADOS INDÓLICOS COM POTENCIAL
ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química – Área de concentração em Química Orgânica, da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcelle de Lima
Ferreira Bispo
Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Orsato

Londrina
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

D229s da Silva, Wellington.

Síntese de derivados indólicos com potencial atividade antimicobacteriana / Wellington da Silva. - Londrina, 2020.
89 f.

Orientador: Marcelle de Lima Ferreira Bispo.

Coorientador: Alexandre Orsato.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2020.
Inclui bibliografia.

1. Indois - Tese. 2. Tuberculose - Tese. 3. Estudo de relação estrutura-atividade - Tese. I. Bispo, Marcelle de Lima Ferreira. II. Orsato, Alexandre. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU 54

WELLINGTON DA SILVA

**SÍNTESE DE DERIVADOS INDÓLICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE
ANTIMICOBACTERIANA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química – Área de concentração em Química Orgânica, da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcelle de Lima
Ferreira Bispo
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Anna Paola Butera
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Camilo Henrique da Silva Lima
Universidade Federal do Rio de Janeiro -
UFRJ

Londrina, 17 de fevereiro de 2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus (Pai, Filho e Espírito Santo), por todas as bênçãos, oportunidades, por me ajudar em todos os momentos de minha vida, principalmente em semanas de provas, e pela concessão de amigos obtidos tanto pela graduação quanto por intermédio da UEL.

À minha mãe Ilza e ao meu irmão Juliano, por todo incentivo e apoio durante essa caminhada.

À minha avó Maria, a minha irmã Isabela e todos os familiares por me incentivarem a cada dia.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Marcelle de Lima Ferreira Bispo, por confiar em meu trabalho, por toda a atenção, apoio, disponibilidade e prontidão para me ajudar, que com toda a certeza contribuíram para a conclusão de mais essa etapa de minha vida. Agradeço-a também, por todo o conhecimento que me foi transmitido.

À meu coorientador Alexandre Orsato, por todo apoio durante a execução desse trabalho, bem como, por todo ensinamento me foi transmitido.

À pesquisadora Dr^a. Maria Cristina Lourenço do Instituto de Pesquisas Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ/RJ) pela realização dos ensaios biológicos.

À minha segunda família, Sueli F., José Machado F., Fábio F., Thiago F., Alysso F., José Vitor F., Myrian Nadalin, Eliete, Natália M. F. e Priscila C., por todo o apoio durante o desenvolvimento desse trabalho.

Às professoras Carla C. P. e Anna P. B., por terem aceito meu convite para o exame de qualificação, bem como por todo o conhecimento que foi transmitido durante as aulas de Determinação e Química Orgânica Avançada.

Aos amigos de graduação, em especial: Allan, Felipe Grabosque, Amanda, Gustavo C., Diego V., Douglas.

Aos amigos de laboratório, Fabrício, Michel, Daniel, Marcieli, Mariana, Cleiton, Kaio, Keoma, Gabriel, Fabiana, Isabelly, José, Gabrielle, Vinicius, Thyara por compartilharem seus conhecimentos e por fazerem parte dessa minha trajetória.

Agradeço mais uma vez à Mariana L., por todo o apoio durante o

desenvolvimento desse projeto de pesquisa.

À Universidade Estadual de Londrina, pela oportunidade de poder frequentar a graduação nessa tão renomada instituição de ensino superior.

À todos os professores da Universidade Estadual de Londrina que participaram dessa etapa de minha vida, tanto pelo ensino que foi transmitido, quanto pela convivência e aprendizado nesses dois anos de mestrado.

À todos aqueles que, de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos!

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

*“Porque Deus amou o mundo de tal maneira que deu o seu Filho Unigênito, para que todo o que nele crer não pereça, mas tenha a vida eterna”. **João 3, 16***

SILVA, Wellington. **Síntese de derivados indólicos com potencial atividade antimicrobacteriana**. 2020. 89 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

RESUMO

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa grave causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a TB continua sendo uma das principais causas de morte em todo o mundo, levando cerca de 1,7 milhão de pessoas à óbito em 2016. Portanto, é de extrema urgência o desenvolvimento de novos fármacos capazes de combater eficientemente essa doença. Sendo assim, baseando-se na estrutura do indol e do 2-arilindol, que são estruturas privilegiadas (subunidades estruturais que são capazes de interagir com diferentes bioreceptores), foi realizado um planejamento estrutural a fim de se obter diferentes séries de derivados indólicos diferentemente substituídos, para então se estabelecer os pontos críticos para a atividade biológica dessa classe de substâncias frente ao *M. tuberculosis* por meio de um estudo de relação estrutura-atividade, bem como se identificar uma substância-líder promissora para prosseguimento dos estudos biológicos mais avançados. Para a síntese dos indoís foi proposta uma rota sintética com duas etapas, onde na primeira as substâncias desejadas foram obtidas por meio da metodologia de Fischer, onde fenilidrazinas reagem com diferentes metilcetonas em ácido polifosfórico a 120 °C. Na segunda etapa, o nitrogênio indólico (N1) foi funcionalizado com o intuito de se realizar modificações estruturais nessa posição e/ou verificar a importância do nitrogênio para a atividade biológica. Essas modificações foram realizadas através de reações de benzilação com brometo de benzila, carbamoilação com o dicarbonato de di-terc-butila (BOC₂O) ou reações de benzoilação com cloreto de benzoíla, fornecendo os indoís correspondentes no caso das duas últimas. Assim, foram sintetizados sete derivados indólicos contendo substituintes alifáticos (Me e *i*-Bu) e aromáticos em C2, contendo ou não (H) grupos doadores (OMe) ou retiradores (Br, COOH, COOMe) de elétrons na posição 4 do anel benzênico. Além desses, outros dois indoís contendo substituintes em N1 foram sintetizados, sendo um deles benzoilado e outro carbamoilado. Por fim, um derivado contendo um átomo de cloro em C5 do núcleo indólico também foi obtido com êxito. Tais substâncias foram obtidas em rendimentos globais que variaram de 0,14% a 51%, sendo que todos os indoís foram caracterizados por RMN de ¹H, ¹³C e alguns também por ponto de fusão e espectrometria de massas. Dentre as substâncias sintetizadas, o derivado carbamoilado é inédito na literatura. A grande maioria das substâncias foi avaliada frente ao *M. tuberculosis* e os resultados mostraram o derivado que contém em C2 = *i*-Bu e em N1 = H, bem como aquele que apresenta em C2 = Ph, em C5 = Cl e em N1 = H foram ativos, apresentando valores de concentração inibitória mínima de 100 e 25 µg mL⁻¹, respectivamente. Esses podem ser considerados bons pontos de partida para a realização de novas modificações estruturais em busca de substâncias ainda mais promissoras contra a tuberculose.

Palavras-chave: Indoís. Tuberculose. Estudo de relação estrutura-atividade.

SILVA, Wellington. **Synthesis of indole derivatives with potential antimicrobial activity**. 2019. 89 s. Dissertation (Master in Chemistry) – State University of Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is a serious infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. According to the World Health Organization (WHO), TB remains one of the leading causes of death worldwide, leading to about 1.7 million people die in 2016. Therefore, the development of new drugs capable of effectively combating this disease is extremely urgent. Thus, based on the structure of indole and 2-arylindole, which are privileged structures (structural subunits that are capable of interacting with different bioreceptors), structural design was carried out in order to obtain different series of differently substituted indole derivatives, so as to establish the critical points for the biological activity of this class of substances against *M. tuberculosis* through a study of structure-activity relationship, as well as to identify a promising lead compound for the continuation of more advanced biological studies. For the synthesis of the indoles, a synthetic route with two stages was proposed, where in the first the desired substances were obtained through Fischer methodology, where phenylhydrazines react with different methyl ketones in polyphosphoric acid at 120 °C. In the second step, the indolic nitrogen (N1) was functionalized in order to make structural changes in this position and/or verify the importance of nitrogen for biological activity. These modifications were carried out through benzylation reactions with benzyl bromide, carbamoylation with di-tert-butyl dicarbonate (BOC₂O) or benzoyl reactions with benzoyl chloride, providing the corresponding indoles in the case of the last two. Thus, seven indole derivatives containing aliphatic (Me and *i*-Bu) and aromatic substituents at C2 position were synthesized, containing or not (H) electron donor groups (OMe) or electron withdrawing groups (Br, COOH, COOMe) at 4 position of the benzene ring. In addition to these, two other indoles containing N1 substituents were synthesized (benzoyl and carbamoyl groups). Finally, a derivative containing a chlorine atom at C5 of the indole was also successfully obtained. Such substances were obtained in global yields that varied from 0.14% to 51%, and all indoles have been characterized by ¹H, ¹³C NMR and some also by melting point and mass spectrometry. Among the synthesized substances, the carbamoyl derivative is unreported in the literature. The vast majority of substances have been evaluated against *M. tuberculosis* and the results showed that the derivative it contains at C2 = *i*-Bu and N1 = H, as well as the one it contains at C2 = Ph, at C5 = Cl and at N1 = H were active, with minimum inhibitory concentration values of 100 and 25 µg mL⁻¹, respectively. These findings could be considered a good starting point for carrying out new structural changes in the search of even more promising substances against tuberculosis.

Key-words: Indoles. Tuberculosis. Structure-activity relationship study.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Fármacos de primeira escolha utilizados no tratamento da TB.....	16
Figura 2	– Fármacos de segunda escolha utilizados no tratamento da TB.....	17
Figura 3	– Estruturas do núcleo indólico, benzeno e pirrol.....	18
Figura 4	– Estrutura do índigo, substância estudada por Bayer, que deu origem ao indol.....	18
Figura 5	– Estruturas do indol, 3-formilindol e 2-formilindol e seus valores de pK _a	20
Figura 6	– Estruturas do indol, 2-metilindol e seus valores de pK _{aH}	21
Figura 7	– Estruturas de indóis de ocorrência natural e sintética.	26
Figura 8	– Estrutura de fármacos comercializados contendo o núcleo indólico e suas aplicações terapêuticas, bem como estruturas de derivados indólicos com diferentes propriedades biológicas relacionadas na literatura.....	27
Figura 9	– Planejamento estrutural dos derivados indólicos com potencial atividade antituberculose.....	37
Figura 10	– Análise retrossintética para a obtenção dos derivados indólicos.	39
Figura 11	– Expansão do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da substância 3a	46
Figura 12	– Expansão do espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) da substância 3a	47
Figura 13	– Expansão do espectro do DEPT-90 da substância 3a	48
Figura 14	– Expansão do espectro de HSQC da substância 3a e suas devidas correlações.	50
Figura 15	– Expansão do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da mistura entre as substâncias 4c e 4c'	54
Figura 16	– Expansão do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da substância 5a	58
Figura 17	– Ilustração da metodologia usada para os ensaios <i>in vitro</i> de atividade antimicrobacteriana que utiliza o indicador Alamar Blue.....	59

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	– Tautomerização do núcleo indólico.....	19
Esquema 2	– Métodos gerais para a síntese do núcleo indólico.	22
Esquema 3	– Metodologias de nitração de indóis.....	24
Esquema 4	– Metodologia para sulfonação do indol.....	24
Esquema 5	– Metodologia para a acetilação do indol.....	25
Esquema 6	– Rota sintética para a síntese das indol-2-carboxamidas realizada por Franz et al. (2017).....	28
Esquema 7	– Rota sintética utilizada para a obtenção dos derivados indólicos realizada por Angelova e colaboradores.....	29
Esquema 8	– Rota sintética utilizada para a obtenção dos derivados indol-2-carboxamidas.	31
Esquema 9	– Rota sintética utilizada para a obtenção dos derivados indol-2-carboxamidas.	33
Esquema 10	– Rota sintética para a obtenção dos indoís 3a-g	40
Esquema 11	– Proposta mecanística para a indolização de Fischer na formação de 3f e de 3-isopropil-2-metil-1H-indol	41
Esquema 12	– Mecanismo de hidrólise da 4-acetilbenzoni-trila.....	44
Esquema 13	– Preparação do indol 4c	53
Esquema 14	– Proposta mecanística para a formação do indol 4c e 4c'	54
Esquema 15	– Preparação do indoís 4a-b	55
Esquema 16	– Preparação do indol 5a	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentração mínima inibitória (CIM) e citotoxicidade (TD ₅₀) das indol-2-carboxiamidas que apresentaram as atividades mais relevantes, sintetizadas por Franz et al. (2017) frente a cepa padrão do <i>M. tuberculosis</i> (H37Rv).....	29
Tabela 2 – Concentração mínima inibitória (CIM), citotoxicidade <i>in vitro</i> (CC ₅₀) e índice de seletividade (IS) dos compostos sintetizados por Angelova et al. (2019) frente a cepa padrão do <i>M. tuberculosis</i> (H37Rv).....	30
Tabela 3 – CIM da substância VII frente a diferentes cepas de <i>M. tuberculosis</i>	32
Tabela 4 – Concentração mínima inibitória (CIM) dos compostos VIII e IX frente cepa padrão do <i>M. tuberculosis</i> (H37Rv).....	34
Tabela 5 – Características físicas, rendimento, ponto de fusão experimental e teórico dos derivados indólicos 3a-g	43
Tabela 6 – Deslocamentos químicos do RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃), em ppm, relativos ao TMS em 0,00 ppm, da substância 3a	46
Tabela 7 – Deslocamentos químicos do RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) e DEPT-90, em ppm, relativos ao TMS em 0,00 ppm, da substância 3a	51
Tabela 8 – Deslocamentos químicos de ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) em ppm, relativos ao TMS, em 0,00 ppm, da substância 3a	52
Tabela 9 – Características físicas, rendimento, ponto de fusão experimental e teórico dos derivados indólicos 4a-b	56
Tabela 10 – Atividades <i>in vitro</i> dos derivados indólicos (3a-g , 4a e 5a) frente a cepa padrão (H37Rv) de <i>M. tuberculosis</i> (ATCC 27294), susceptível tanto à Rifampicina como à Isoniazida.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	American Type Culture Collection
bK	Bacilo de Koch
Bn	Benzil
Boc	Tert-butoxycarbonyl
BOC ₂ O	Dicarbonato de di-terc-butila
Bz	Benzoil
BzCl	Cloreto de benzoíla
CBM	Concentração bactericida mínima
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG-EM	Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas
CIM	Concentração inibitória mínima
clogP	Logaritmo do coeficiente de partição óleo-água calculado
clogS	Logaritmo da solubilidade em água calculado
d	Dupleto
DCC	<i>N,N</i> -Diciclohexilcarbodiimida
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo-dupleto
ddt	Duplo duplo-tripleto
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
EDAC.HCl	Cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida
ERG	Substituintes doadores de elétrons
EWG	Substituintes retiradores de elétrons
GPCRs	<i>G-protein coupled receptors</i>

H37Rv	Cepa padrão do <i>M. tuberculosis</i>
HB+	Ácidos de Bronsted
HATU	2-(7-aza-1 <i>H</i> -benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurono hexafluorofosfato
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HOBt	Hidroxibenzotriazol
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
<i>i</i> -Bu	Isobutil
<i>i</i> -Bu	Isobutil
<i>J</i>	Constante de acoplamento
³ <i>J</i>	Constante de acoplamento via 3 ligações
⁴ <i>J</i>	Constante de acoplamento via 4 ligações
clogP	Logaritmo do coeficiente de partição óleo-água calculado
clogS	Logaritmo da solubilidade em água calculado
LPMBA	Laboratório de Pesquisa em Moléculas Bioativas
LSD	<i>Lysergãurediethylamid</i>
m	Multiplete
MABA	<i>Microplate Alamar Blue Assay</i>
MDR-TB	<i>Multidrug-resistant TB</i>
Me	Metil
n.d.	Não determinado
non	Noneto
OMS	Organização Mundial de Saúde
P.f.	Ponto de fusão
p/V	Peso/volume
p <i>K</i> _{aH}	p <i>K</i> _a do ácido conjugado
ppm	Parte por milhão

<i>p</i> TsOH	ácido <i>para</i> -toluenossulfônico
q	Quarteto
R.f.	Fator de retenção
REA	Relação estrutura-atividade
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RR-TB	<i>Rifampicin-resistant-TB</i>
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
SOCl ₂	Cloreto de tionila
t	Tripleto
TB	Tuberculose
td	Triplo duplete
TMS	Tetrametilsilano
UFC	Unidades formadoras de colônias
UV	Ultravioleta
v/v	Volume a volume
XDR-TB	<i>Extensively drug-resistant TB</i>
δ	Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	TUBERCULOSE	14
1.1.1	Aspectos Gerais, Tratamento e Resistência Bacilar	14
1.2	INDOL: CARACTERÍSTICAS GERAIS, REATIVIDADE E SÍNTESE	18
1.2.1	Características Gerais.....	19
1.2.2	Métodos Clássicos Para a Síntese do Núcleo Indólico	21
1.2.3	Reatividade em Substituições Eletrofílicas Aromáticas.....	24
1.2.3.1	Nitração.....	24
1.2.3.2	Sulfonação	24
1.2.3.3	Acilação.....	25
1.3	A VERSATILIDADE BIOLÓGICA DO NÚCLEO INDÓLICO.....	25
1.4	INDOIS COM POTENCIAL ATIVIDADE CONTRA A TB	28
1.5	PLANEJAMENTO ESTRUTURAL.....	35
2	OBJETIVOS	38
2.1	OBJETIVOS GERAIS.....	38
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1	ANÁLISE RETROSSINTÉTICA.....	39
3.2	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS INDOIS DA SÉRIE A1 E B1	39
3.3	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE INDOIS DA SÉRIE A3 , B2 E B3	52
3.3.1	Benzilação Do Nitrogênio Indólico.....	52
3.3.2	Síntese do Derivado Carbamoilado 4a e Benzoilado 4b	54
3.4	SÍNTESE DO DERIVADO 5a PERTENCENTE A SÉRIE B2	56
3.5	ENSAIOS <i>IN VITRO</i> PARA ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA DOS INDOIS DA SÉRIE A1 E B1 E PARA OS INDOIS 4a E 5a	58
4	CONCLUSÃO	61
5	METODOLOGIA	62
5.1	PROCEDIMENTOS GERAIS.....	62

5.2	MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO	62
5.3	PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS INDOIS DA SÉRIE A1 (3e-f), B1 (3a-d) E B2 (5a)	63
5.4	PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DO INDOL 3g (SÉRIE A1)	66
5.5	PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DO INDOL 4a (SÉRIE B3)	67
5.6	PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DO INDOL 4b	68
5.7	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICOBATERIANA.....	69
	REFERÊNCIAS	71
	APÊNDICES	77
	APENDICE A – Caracterização Espectroscópica dos indois 3a-g, 4a-b e 5a	77

1 INTRODUÇÃO

1.1 TUBERCULOSE

1.1.1 Aspectos Gerais, Tratamento e Resistência Bacilar

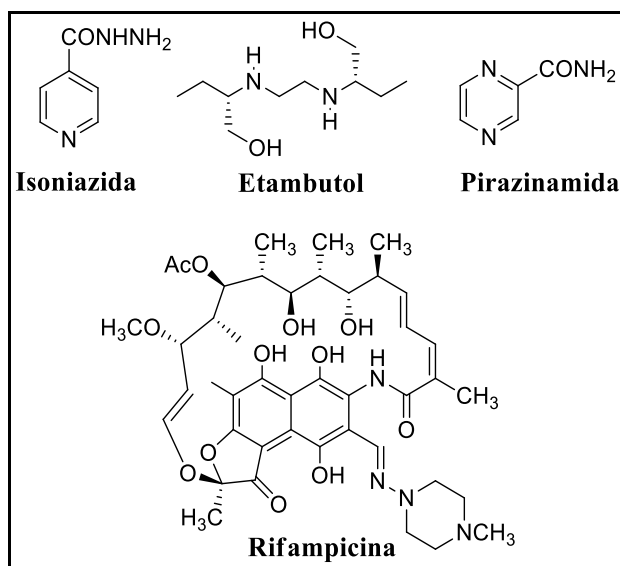
A tuberculose (TB) é uma doença causada pelo micro-organismo denominado *Mycobacterium tuberculosis*, isolado primeiramente pelo alemão Robert Koch, que por esse motivo, também é conhecido como bacilo de Koch (bK). A forma clínica mais incidente é a pulmonar, pois o *M. tuberculosis* é uma bactéria aeróbia, por isso, possui uma alta afinidade pelo oxigênio, necessitando do mesmo para se desenvolver (FERREIRA et al., 2007a). No entanto, formas extra-pulmonares da TB também podem ocorrer, como a tuberculose renal, óssea, meningite tuberculosa, dentre outras (MENDES; FENSTERSEIFER, 2004; KAISER et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Os sintomas da forma pulmonar da doença geralmente são a tosse crônica, febre, suor noturno, dor no tórax, perda de apetite (anorexia) e falta de disposição (adinamia) (DE SOUZA; VASCONCELOS, 2005; KAISER et al., 2007).

A preocupação global com relação a essa enfermidade se dá pelo fato de que a TB está entre as dez principais causas de morte em todo o mundo dentre indivíduos de todas as idades e em ambos os sexos, sendo a única doença infecciosa a ocupar tal condição (WHO, 2018). Atualmente, a TB é uma das principais causas de mortalidade a nível mundial. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2016, cerca de 10,4 milhões de pessoas ficaram doentes e 1,7 milhões morreram em razão dessa doença (sendo 0,4 milhão de pacientes portadores do vírus HIV - do inglês *Human Immunodeficiency Virus*). Neste mesmo ano, estima-se que cerca de 1,0 milhão de crianças ficaram doentes e 250 mil crianças morreram de tuberculose, fazendo com que a TB entrasse no ranking das 10 principais causadoras de mortes infantis no mundo (WHO, 2017a).

No Brasil, o quadro da TB também é alarmante, pois segundo o Ministério da Saúde (2014), existem cerca de 50 milhões de pessoas infectadas no território nacional, sendo os estados do Rio de Janeiro e do Amazonas aqueles que apresentam maior incidência desta doença. Dados do ano de 2016 da OMS informam que o Brasil está entre os 20 países com o maior número de casos de TB

(WHO, 2017b). Em todo o território nacional, somente no ano de 2015, foram notificados 83617 casos de pessoas infectadas com TB, sendo que aproximadamente 7106 são de indivíduos com menos de 19 anos de idade (CANO et al., 2017). Cerca de 4658 pessoas morrem diariamente em razão da TB e, aproximadamente, 1 milhão de crianças ficam doentes com essa doença a cada ano em todo o mundo (TB ALLIANCE, 2017).

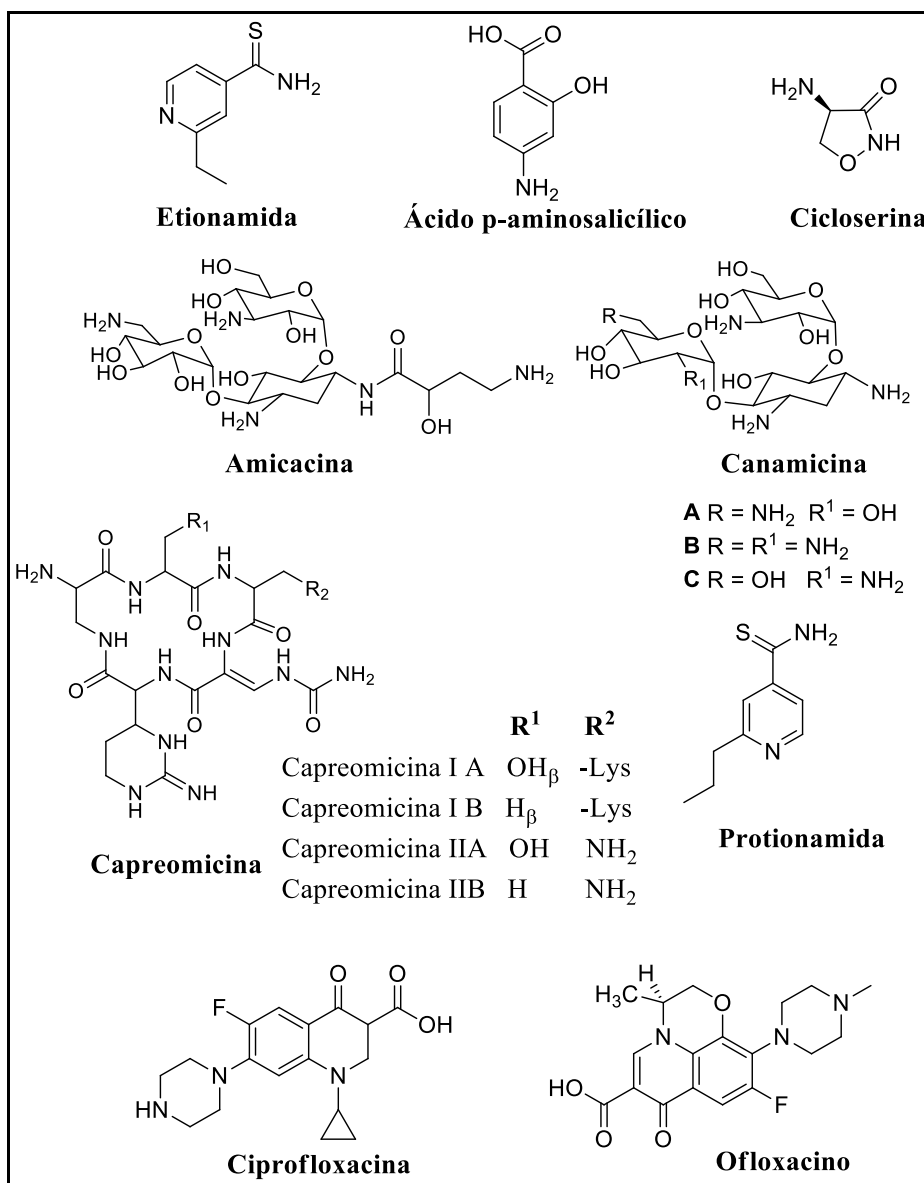
A principal estratégia para controlar a disseminação da TB é a quimioterapia, cujo período mínimo de tratamento é de seis meses. De acordo com a efetividade e segurança, os fármacos disponíveis para utilização na quimioterapia, são divididos em duas grandes classes: os agentes de primeira escolha e os agentes de segunda escolha (NOGUEIRA et al., 2012). Os fármacos considerados agentes de primeira escolha são a isoniazida, a rifampicina, a pirazinamida e o etambutol (KAISER et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2012) (**Figura 1**). São assim classificados, pois possuem um alto nível de eficácia e um grau tolerável de toxicidade (NOGUEIRA et al., 2012). O tratamento que é feito, consiste na combinação dos quatro fármacos citados anteriormente. Esses fármacos apresentam também um baixo custo, que gira entorno de 10 a 20 dólares para um período de seis meses de tratamento (KAISER et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2012). No entanto, um grande problema nesse tratamento é a baixa adesão, devido à longa duração do mesmo, da falta de informação e acompanhamento dos pacientes e aos diversos efeitos adversos existentes, tais como, náuseas, vômitos, asma, alterações visuais, cegueira, dentre outros. Como consequência do abandono do tratamento, pode-se ter o desenvolvimento de bactérias resistentes a esses fármacos, tornando assim o tratamento ineficaz (CAMPOS, 2007; ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS), 2014).

Figura 1 – Fármacos de primeira escolha utilizados no tratamento da TB.

Fonte: adaptado de Kaiser et al. (2007) e Nogueira et al. (2012).

Em diversas regiões do mundo, já existem cepas de *M. tuberculosis* multirresistente (do inglês *Multidrug-resistant TB*, MDR-TB), que apresentam resistência a isoniazida e a rifampicina. Segundo a OMS, em 2016 foram notificados 490 mil casos de pacientes com MDR-TB, além de 110 mil casos de tuberculose que eram susceptíveis à isoniazida, mas eram resistentes à rifampicina (do inglês *Rifampicin-resistant-TB*, RR-TB), considerado o fármaco de primeira-linha mais efetivo contra a tuberculose (WHO, 2017b). Neste caso, uma segunda linha de medicamentos é utilizada (amicacina, capreomicina, ciprofloxacino, cicloserina, etionamida, canamicina, ofloxacino, ácido *p*-aminosalicílico e protionamida) (**Figura 2**). No entanto, esses fármacos são mais caros, mais tóxicos e menos eficazes que os medicamentos que compõem o esquema terapêutico padrão (TABARSI; MARDANI, 2012), além do fato de que esse tratamento apresenta uma maior duração (cerca de 18 a 24 meses) comparado ao tratamento utilizando os agentes de primeira escolha (KAISER et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2012).

Figura 2 – Fármacos de segunda escolha utilizados no tratamento da TB.



Fonte: adaptado de Kaiser et al. (2007) e Nogueira et al. (2012).

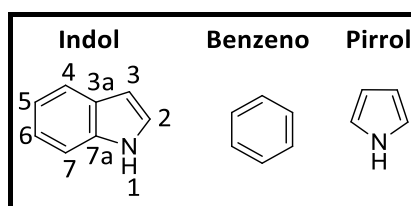
A utilização dos fármacos de segunda escolha pode inclusive não ser capaz de curar a TB, pois já existem cepas de *M. tuberculosis* extremamente resistentes (do inglês *extensively drug-resistant TB*, XDR-TB) em diferentes regiões do mundo, que são resistentes a qualquer uma das fluoroquinolonas (ofloxacino ou ciprofloxacina) e a pelo menos um dos fármacos injetáveis (capreomicina, canamicina ou amicacina) (ARBEX et al., 2015). Já foram notificados casos de XDR-TB em mais de 120 países ao redor do mundo (TB ALLIANCE, 2017). No entanto, apesar da necessidade em se encontrar novas alternativas para o tratamento da TB

ser urgente, esta doença infectocontagiosa não recebe a devida atenção por parte dos pesquisadores, tanto dos industriais como dos acadêmicos (FERREIRA et al., 2007b). Por parte da indústria, o pouco interesse no desenvolvimento de novos fármacos antituberculose é justificado pela falsa impressão de que essa doença atinge apenas países em desenvolvimento, sendo o investimento em pesquisa pouco lucrativo (BRANCO; PINTO; BOECHAT, 2012).

1.2 INDOL: CARACTERÍSTICAS GERAIS, REATIVIDADE E SÍNTESE

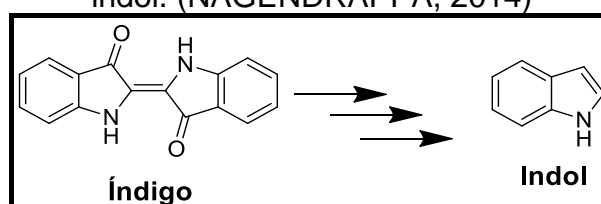
O núcleo indólico (**Figura 3**) é um dos heterociclos bioativos mais estudados atualmente, sendo constituído por um sistema bicíclico heteroaromático, no qual o benzeno está fundido a um pirrol, onde ambos compartilham uma ligação dupla.

Figura 3 – Estruturas do núcleo indólico, benzeno e pirrol



A origem do nome indol surgiu devido à junção das palavras índigo e oleum (ácido mineral concentrado), pois a síntese do primeiro indol foi realizada por Adolf von Baeyer em 1869 através da reação entre essas duas substâncias (**Figura 4**). Inicialmente, o objetivo de Baeyer era determinar a estrutura do corante índigo por meio de síntese cuidadosamente planejada, ou seja, por meio da conversão do corante em outros produtos. No entanto, durante o trabalho de determinação estrutural, Baeyer isolou uma molécula que foi então conhecida como indol (NAGENDRAPPA, 2014).

Figura 4 – Estrutura do índigo, substância estudada por Bayer, que deu origem ao indol. (NAGENDRAPPA, 2014)

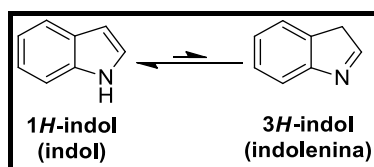


1.2.1 Características Gerais

A maior parte dos indóis são estáveis no ar, exceto os que possuem um substituinte alquila no C2 como, por exemplo, o 2-metilindol que se oxida muito facilmente, até mesmo se for protegido em um frasco âmbar (JOULE; MILLS, 2010).

Ao se observar a estrutura do 1*H*-indol, pode-se imaginar que o mesmo está sujeito à uma reação de tautomerização. No entanto, apenas 1 parte por milhão (ppm) do indol está na forma do seu tautômero 3*H*-indol (indolenina) (**Esquema 1**). Esse último até pode ser obtido em solução, porém, se tautomeriza muito rapidamente, por volta de 100 segundos à temperatura ambiente, no 1*H*-indol (JOULE; MILLS, 2010).

Esquema 1 – Tautomerização do núcleo indólico.

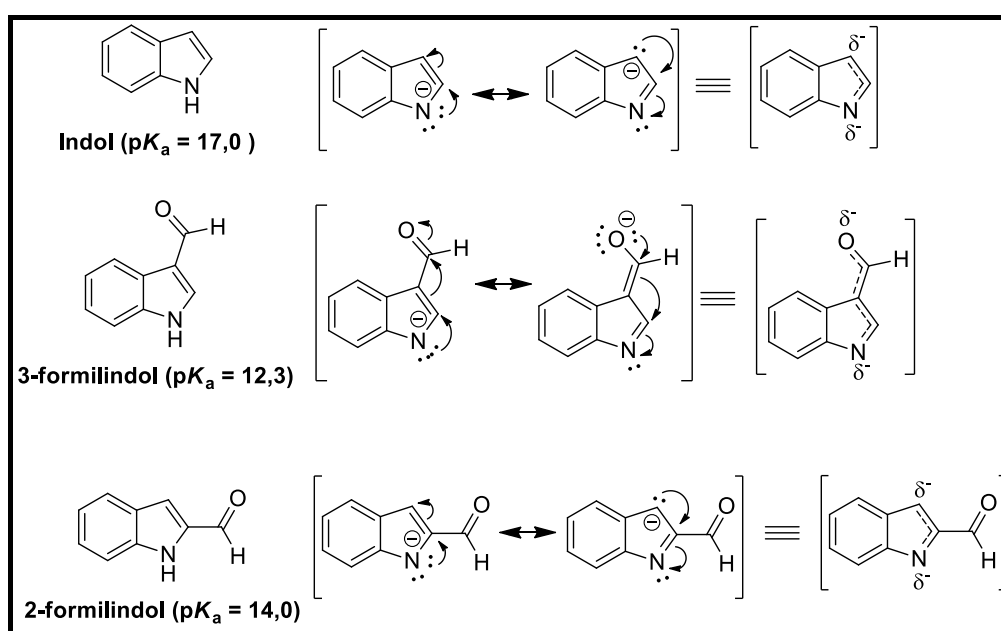


O indol possui pK_a igual a 17,0 (YAGIL, 1967), sendo assim, na presença de bases fortes como, por exemplo hidreto de sódio (NaH) ou um reagente de Grignard alquílico (RMgX), os indóis contendo o nitrogênio não substituído adotam a forma de seu ânion indolil correspondente (JOULE; MILLS, 2010).

A presença de substituintes retiradores de elétrons (EWG, do inglês *electron withdrawing group*), principalmente no C3, faz com que haja um aumento considerável na acidez do hidrogênio ligado ao nitrogênio (JOULE; MILLS, 2010). Como exemplo, pode-se citar o 3-formilindol que possui um pK_a de 12,3 (YAGIL, 1967; SCOTT et al., 1976), enquanto que o indol que contém o substituinte formila no C2, ou seja, o 2-formilindol, apresenta um pK_a de 14,0 (SCOTT et al., 1976) (**Figura 5**). Isso pode ser explicado por meio da análise da estrutura das respectivas bases conjugadas. No caso do 3-formilindol, devido ao efeito de ressonância, os elétrons do ânion estão muito mais deslocalizados quando comparado ao indol sem substituintes, o que torna a base conjugada do primeiro mais estável, portanto seu ácido conjugado é mais forte. Já a explicação para a maior acidez do 2-formilindol quando comparado com o indol, é também devido à deslocalização da nuvem eletrônica, no entanto, por efeito indutivo retirador de elétrons exercido pelo grupo

formila, tornando essa base conjugada mais deslocalizada e, conseqüentemente, mais estável do que se não houvesse o EWG nessa posição. Portanto, o 2-formilindol é um ácido mais forte do que o indol. Como a ressonância promove uma deslocalização mais efetiva da nuvem eletrônica do que o efeito indutivo, o 3-formilindol apresenta um pK_a menor do que o 2-formilindol, uma vez que a base conjugada do primeiro é mais estável do que a do segundo, o que implica em uma maior acidez do ácido conjugado do 3-formilindol (**Figura 5**).

Figura 5 – Estruturas do indol, 3-formilindol e 2-formilindol e seus valores de pK_a .

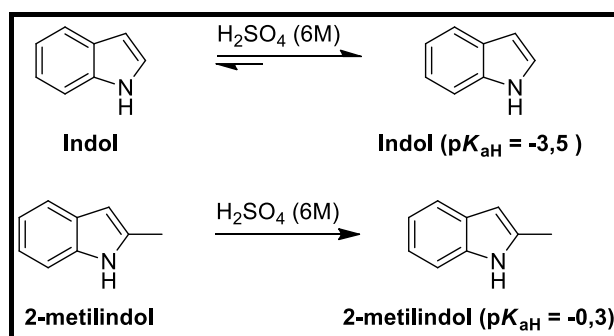


Ao se utilizar o ânion indolil como um nucleófilo, deve-se levar em consideração que ele atua como nucleófilo ambidentado. Quando se realiza uma reação com esse ânion frente a um eletrófilo, este pode se ligar ao N ou ao C3, sendo que a proporção da substituição em *N*- e no C3 depende de diferentes fatores, como a polaridade do solvente, do metal associado e do tipo de eletrófilo que foi utilizado. Quanto mais reativo for o eletrófilo, maior é a sua probabilidade de reagir no nitrogênio quando comparado a eletrófilos menos reativos (JOULE; MILLS, 2010).

Indois apresentam valores de pK_a do ácido conjugado (pK_{aH}) muito baixos e, portanto, são considerados como bases fracas, sendo que substituintes doadores de elétrons em C2 aumentam o caráter básico do núcleo indólico. Por exemplo, o indol apresenta um valor de pK_{aH} de -3,5 (**Figura 6**), enquanto que o 2-metilindol

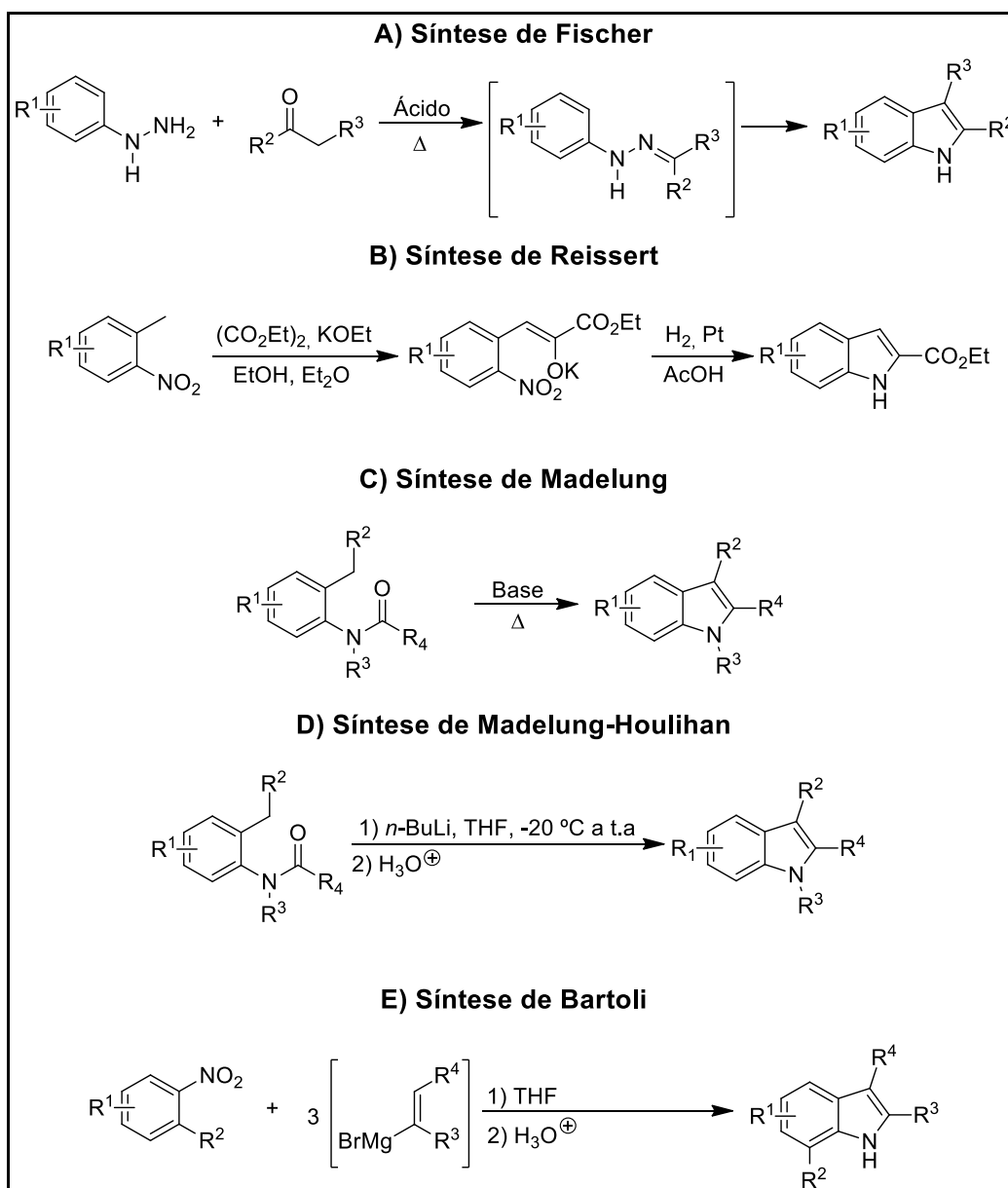
apresenta um valor de -0,3, portanto, em um meio contendo ácido sulfúrico 6 mol L⁻¹, para cada 3 moléculas do indol presentes no meio, uma estará desprotonada, enquanto que, no caso do 2-metilindol quase 100% das moléculas estarão na sua forma protonada. A protonação pode ocorrer no Nitrogênio ou no C3, enquanto que no C2 pelo fato de levar a uma perda da aromaticidade total no anel benzeno, praticamente não ocorre protonação, o que foi comprovado por análises de ressonância magnética nuclear (RMN) (JOULE; MILLS, 2010).

Figura 6 – Estruturas do indol, 2-metilindol e seus valores de pK_{aH}.



1.2.2 Métodos Clássicos Para a Síntese do Núcleo Indólico

Em decorrência das distintas aplicações biológicas de substâncias contendo o núcleo indólico (conforme demonstrado na sessão 1.3), tem sido grande o interesse na obtenção de indóis funcionalizados, fazendo com que surgissem diversas metodologias sintéticas ao longo dos anos para a síntese desse núcleo. Portanto, nessa sessão serão apresentados cinco métodos clássicos para a obtenção desse núcleo heterocíclico, que estão representados no **Esquema 2**.

Esquema 2 – Métodos gerais para a síntese do núcleo indólico.

Um dos primeiros métodos a ser utilizado na síntese do núcleo indólico foi descoberto em 1883 e é denominado “Síntese de indóis de Fischer”, onde o núcleo em questão é formado através do rearranjo de uma aril-hidrazona em meio ácido, seguido de eliminação de amônia. Nessa metodologia, inicialmente a aril-hidrazona é sintetizada por meio da reação de um aldeído ou cetona com uma aril-hidrazina sob catálise ácida e sob aquecimento, sendo que o isolamento da aril-hidrazona não é um pré-requisito para seu rearranjo (**Esquema 2, Método A**). A utilização de ácido toluenossulfônico, resinas de troca catiônica, tricloreto de fósforo ou argilas ácidas

são recomendadas para uma ciclização eficiente, pois permitem a realização da reação em temperatura ambiente ou até abaixo da mesma. Grupos que estejam ligados ao anel benzênico também influenciam na velocidade de ciclização, haja visto que a presença de substituintes doadores de elétrons torna a reação mais rápida, enquanto substituintes retiradores de elétrons diminuem a velocidade da reação. No entanto, escolhendo corretamente o ácido e as condições da reação, até mesmo aril-hidrazonas que possuem grupos nitro são passíveis de serem indolizadas, como, por exemplo, utilizando-se uma mistura de ácido acético com trifluoreto de boro ou ácido fosfórico com tolueno (JOULE; MILLS, 2010).

Uma outra metodologia utilizada na síntese do núcleo indólico é conhecida como “Síntese de Reissert”, que foi desenvolvida em 1896 e se baseia na utilização do metil-2-nitrobenzeno como material de partida, onde se utiliza a acidez do grupo metil que está *orto* ao grupo nitro no anel benzênico para promover a condensação com oxalato de etila. Então, reduz-se o grupo nitro, produzindo-se um grupo amina, seguido de uma ciclização (**Esquema 2, Método B**) (JOULE; MILLS, 2010).

Em 1912, a “Síntese de Madelung” (**Esquema 2, Método C**) foi descrita. Nessa metodologia, reage-se *orto*-metilacetanilidas com uma base forte, geralmente amideto de sódio ou *t*-butóxido de potássio, a temperaturas elevadas (250 – 350 °C). No entanto, já é possível realizar essa reação em condições muito mais favoráveis, devido ao desenvolvimento de alquil-lítios como bases (JOULE; MILLS, 2010), que fez com que a reação passasse a se chamar de Madelung-Houlihan (**Esquema 2, Método D**) (GRIBBLE, 2000).

Também é possível obter indoís por meio da reação de nitrobenzenos *orto*-substituídos com brometo de vinilmagnésio. Essa metodologia é conhecida como “Síntese de Bartoli” (**Esquema 2, Método E**). Nessa reação, se o grupo em *orto* ao nitro for um grupo volumoso a reação se processa muito mais facilmente, pois acredita-se que o impedimento estérico causado pela presença desse grupo possa impedir a planaridade entre o anel benzeno e o grupo nitro, fazendo com que haja um favorecimento da primeira etapa da reação, onde o grupo vinila ataca o oxigênio do grupo nitro e, em seguida, é eliminado o enolato de magnésio, produzindo um grupo nitroso (JOULE; MILLS, 2010).

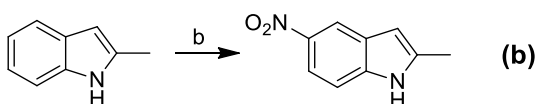
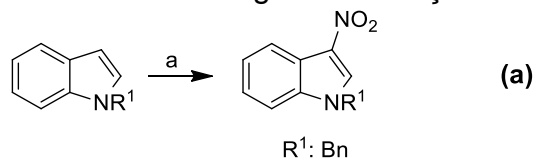
1.2.3 Reatividade em Substituições Eletrofílicas Aromáticas

Indóis podem sofrer diferentes reações de substituições eletrofílicas aromáticas, sendo que nesse trabalho serão apresentadas as reações de nitração, sulfonação e acilação.

1.2.3.1 Nitração

É possível obter derivados indólicos nitrados em C3, caso o indol de partida seja um *N*-alquilindol. Essa nitração pode ser realizada por meio do uso de uma mistura de HNO₃ concentrado e anidrido acético sob baixas temperaturas (**Esquema 3a**). O uso do procedimento clássico de nitração não é aconselhado, haja visto que é obtido um produto com muita impureza e intratável, que pode ser ocasionado pela polimerização sob catálise ácida. No caso do 2-metilindol (**Esquema 3b**), ainda é possível obter o derivado com o nitro em C5, utilizando-se mistura de ácidos nítrico e sulfúrico concentrados (JOULE; MILLS, 2010).

Esquema 3 – Metodologias de nitração de indóis.



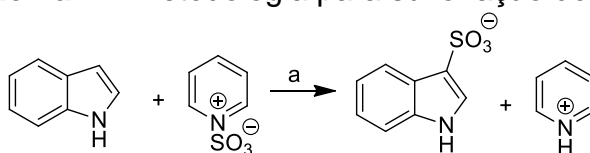
Reagentes e condições: a) HNO₃, Ac₂O, -70 °C, 50 %; b) HNO₃, H₂SO₄, 0 °C, 84 %.

Fonte: adaptado de Joule e Mills (2010).

1.2.3.2 Sulfonação

Ao se sulfonar o indol com complexo de trióxido de enxofre-piridina, usando piridina como solvente à quente, a sulfonação ocorre no C3, conforme evidenciado no **Esquema 4** (JOULE; MILLS, 2010).

Esquema 4 – Metodologia para sulfonação do indol.



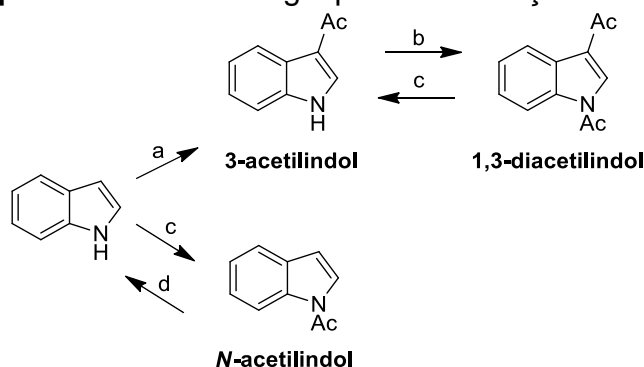
Reagentes e condições: a) piridina, aquecimento, 70 %.

Fonte: adaptado de Joule e Mills (2010).

1.2.3.3 Acilação

Na reação de acetilação do indol com anidrido acético podem ser obtidos três produtos: o 1,3-diacetilindol, *N*-acetilindol e 3-acetilindol, onde o primeiro é obtido como produto majoritário da reação (**Esquema 5**). Para se conseguir que haja uma considerável taxa de reação do indol com o anidrido, é necessário que a reação seja realizada em temperaturas acima de 140 °C. Para se obter o 3-acetilindol da mistura de produtos, basta realizar a hidrólise alcalina do produto que é formado na reação de acetilação. No entanto, pode-se obter apenas o *N*-acetilindol por meio da acetilação em um meio contendo 4-dimetilaminopiridina ou acetato de sódio, sendo que essa acetilação ocorre certamente através do ânion indolil (JOULE; MILLS, 2010).

Esquema 5 – Metodologia para a acetilação do indol.



Reagentes e condições: (a) Ac_2O , AcOH , aquecimento, 60 %; (b) Ac_2O , aquecimento; (c) Ac_2O , AcONa , aquecimento, 62 %; (d) $\text{NaOH}_{(\text{aq.})}$, t.a.

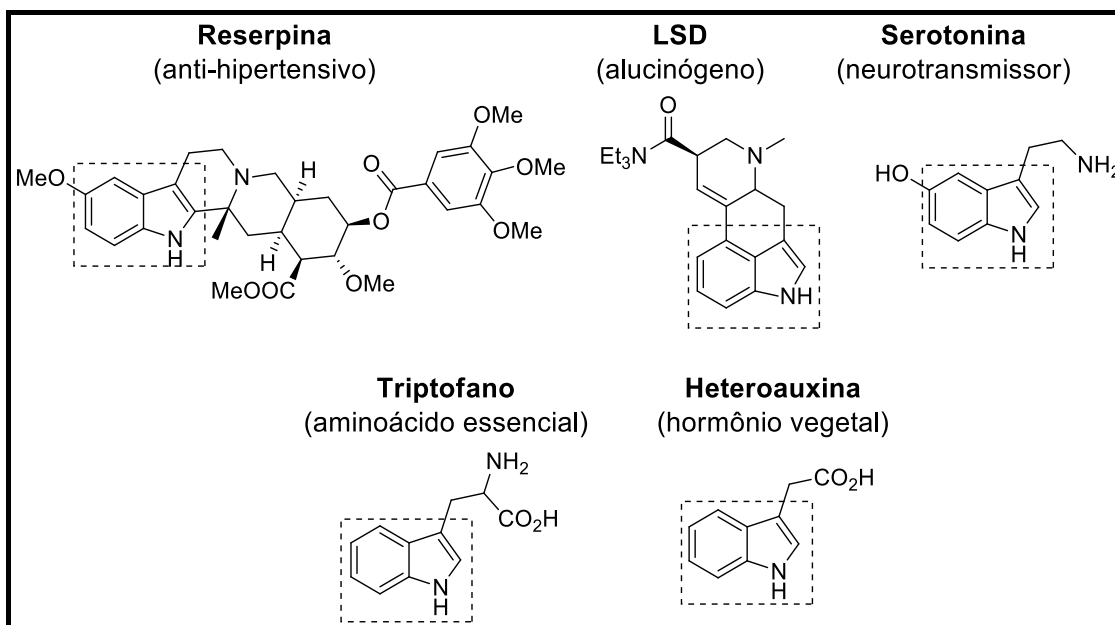
Fonte: adaptado de Joule e Mills (2010).

1.3 A VERSATILIDADE BIOLÓGICA DO NÚCLEO INDÓLICO

A unidade estrutural indólica está presente em muitas moléculas tanto de origem natural quanto de origem sintética. Na **Figura 7** são apresentadas algumas moléculas de origem natural e sintética que contêm o núcleo indólico. O primeiro exemplo é a Reserpina, que se trata de um alcaloide presente em raízes de *Rauwolfia serpentina* e *Rauwolfia vomitoria*, que foi aprovado pelo FDA (do inglês *Food and Drug Administration*) para o tratamento de hipertensão e para o tratamento de psicose resistente (RAJKUMAR et al., 2018). A seguir, tem-se o LSD (do alemão *Lysergäurediethylamid*), que é um potente alucinógeno obtido a partir do ácido lisérgico (substância extraída do fungo *Claviceps purpurea*) (HERAVI et al., 2017).

Também é apresentada a Serotonina, que é um neurotransmissor que possui uma importante função na condução de impulsos nervosos para o cérebro. O grupamento indólico está presente também na estrutura do Triptofano, um aminoácido essencial, que é degradado por plantas à heteroauxina (ácido indol-3-acético), um hormônio relacionado ao crescimento vegetal (KAUSHIK et al., 2013).

Figura 7 – Estruturas de indóis de ocorrência natural e sintética.

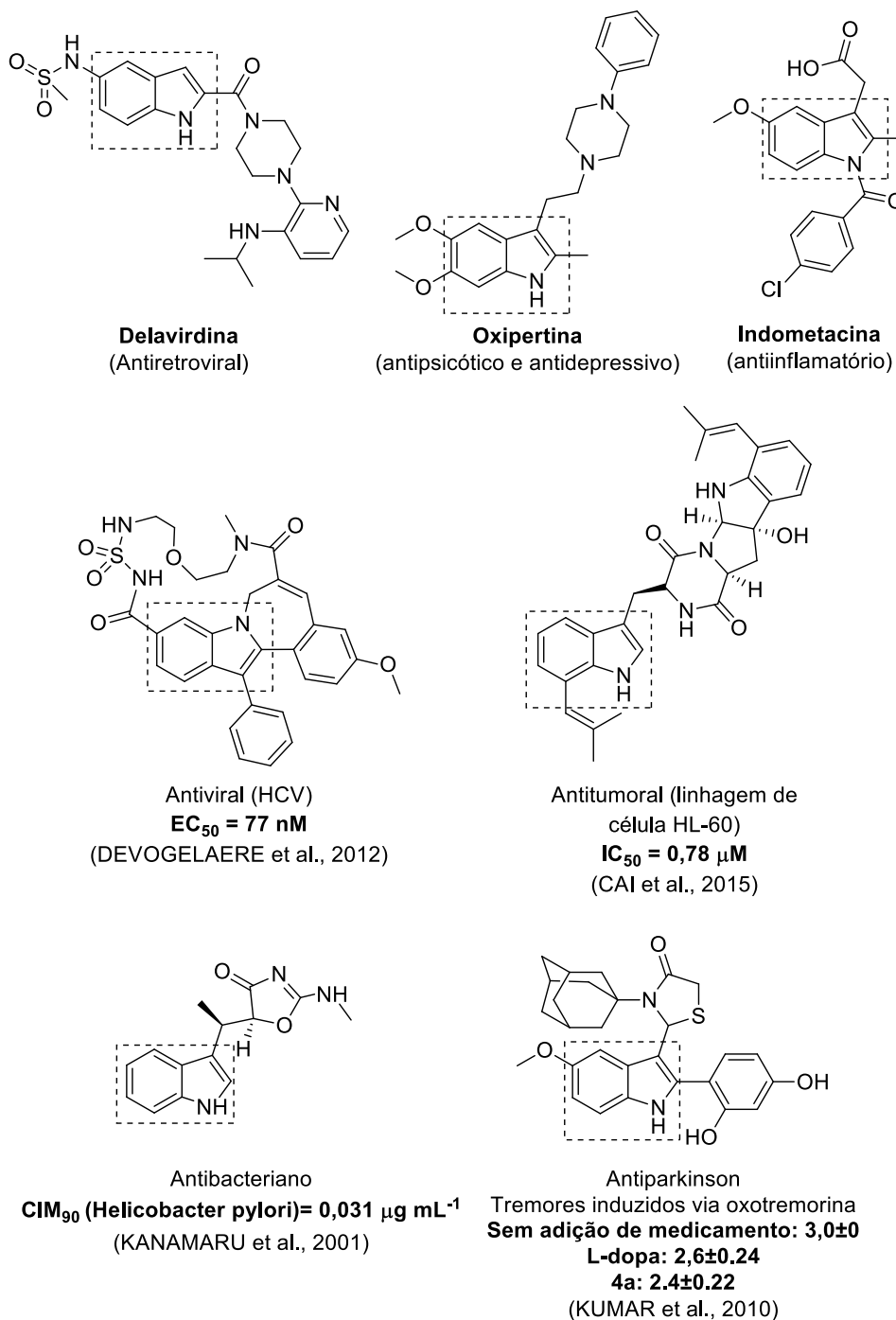


Fonte

: adaptado de Kaushik et al. (2013); Heravi et al. (2017).

Além disso, o núcleo indólico também está presente em uma grande quantidade de fármacos já comercializados, como a delavirdina que se trata de um fármaco antirretroviral, a oxipertina que é usado como antipsicótico e antidepressivo, bem como na estrutura da indometacina que é usado como anti-inflamatório, indicando que essa classe de compostos possui um grande potencial terapêutico (**Figura 8**). Nessa mesma figura, também são apresentados derivados indólicos sintetizados por diferentes grupos de pesquisa, que apresentam diferentes propriedades biológicas, destacando a importância dos indóis no campo da descoberta de novos fármacos antivirais, antitumorais, antidepressivos, antibacterianos e antiparkinson.

Figura 8 – Estrutura de fármacos comercializados contendo o núcleo indólico e suas aplicações terapêuticas, bem como estruturas de derivados indólicos com diferentes propriedades biológicas relatadas na literatura.

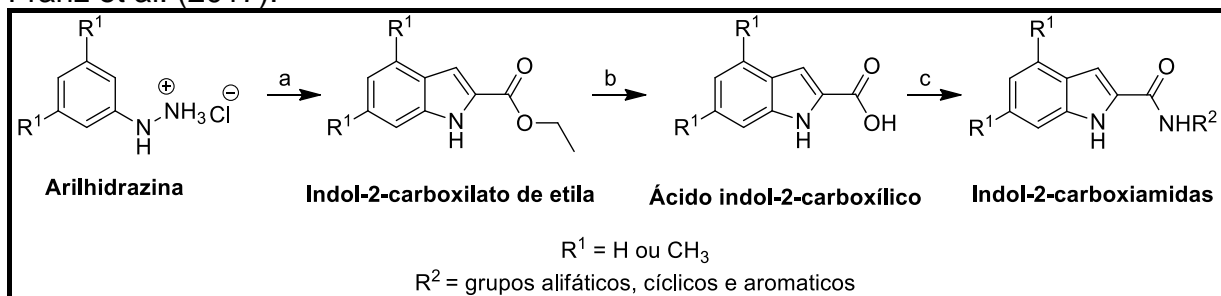


Fonte: adaptado de Kaushik et al. (2013); Kanamaru et al. (2001); Diers et al. (2008); Kumar et al. (2010); Devogelaere et al. (2012); Cai et al., (2015).

1.4 INDOIS COM POTENCIAL ATIVIDADE CONTRA A TB

Conforme será mostrado a seguir, o núcleo indólico tem sido explorado na busca de substâncias-líderes no combate a TB. Um exemplo relevante é o trabalho de Franz et al. (2017), que realizaram a síntese de diferentes indol-2-carboxamidas e avaliaram suas atividades frente a diferentes espécies de *Mycobacterium* spp, bem como analisaram suas citotoxicidades frente a linhagem de células humanas THP-1 (**Esquema 6**). Para a síntese dos derivados indólicos, inicialmente, diferentes arilhidrazinas sofreram reação com piruvato de etila em um meio contendo ácido *p*-toluenossulfônico, produzindo os correspondentes derivados do tipo indol-2-carboxilato de etila. Então, esses foram submetidos a uma reação de hidrólise em meio básico, obtendo-se os ácidos indol-2-carboxílico apropriados. Como etapa final, uma reação de acoplamento foi realizada com os ácidos obtidos e diferentes aminas na presença de *N,N*-Diciclohexilcarbodiimida (DCC), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) e diclorometano, obtendo-se as indol-2-carboxiamidas em rendimentos que variaram de 29 a 80%.

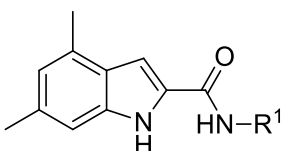
Esquema 6 – Rota sintética para a síntese das indol-2-carboxiamidas realizada por Franz et al. (2017).

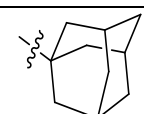
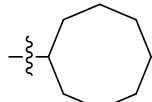
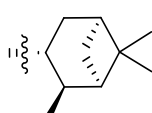


Reagentes e condições: (a) piruvato de etila, *p*TsOH, EtOH, refluxo, 6 h; (b) NaOH, EtOH, refluxo, 3 h; (c) amina correspondente, DCC, DMAP, CH₂Cl₂, t.a., overnight, 29 a 80 %.

As indol-2-carboxamidas foram então submetidas a testes de atividade frente as espécies de micobactéria, tais como *M. tuberculosis*, *M. smegmatis*, *M. chelonae*, *M. bolletii*, *M. massiliense* e *M. abscessos*. Os resultados mostraram que frente ao *M. tuberculosis*, dos 30 compostos testados, os mais ativos frente a essa espécie de micobactéria foram os compostos **I**, **II** e **III**, visto que apresentaram uma CIM de 0,0195 µg mL⁻¹ (**Tabela 1**). Além disso, foram realizados testes de citotoxicidade com as substâncias **II** e **III** que mostram que as mesmas não são citotóxicas, até mesmo em uma concentração de 50 µM.

Tabela 1 – Concentração mínima inibitória (CIM) e citotoxicidade (TD₅₀) das indol-2-carboxiamidas que apresentaram as atividades mais relevantes, sintetizadas por Franz et al. (2017) frente a cepa padrão do *M. tuberculosis* (H37Rv).

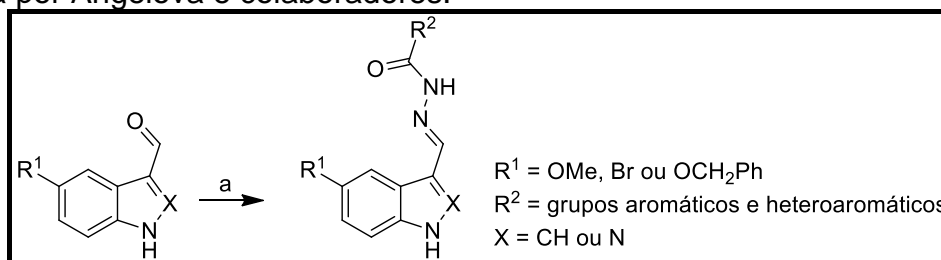


Nº	R ¹	CIM (µg mL ⁻¹)	TD ₅₀
I		0,0195	n.d.
II		0,0195	> 14,9
III		0,0195	> 16,2

n.d.: não determinado; TD₅₀: concentração que ocasiona a morte de 50% das células utilizadas no teste.

Com a finalidade de identificar compostos que sejam ativos frente ao *M. tuberculosis*, Angelova et al. (2019) sintetizaram uma gama de derivados indólicos e dois derivados indazólicos, que foram avaliados quanto à sua atividade frente ao patógeno em questão. A síntese dos compostos desejados foi realizada por meio da reação dos aldeídos correspondentes com diferentes hidrazidas em um meio contendo etanol absoluto sob refluxo por 2 a 3 horas, obtendo-se os produtos em rendimentos de 62 a 92% (**Esquema 7**).

Esquema 7 – Rota sintética utilizada para a obtenção dos derivados indólicos realizada por Angelova e colaboradores.



Reagentes e condições: (a) diferentes hidrazidas, etanol absoluto, refluxo, 2 h, 62-92%.

A avaliação dos compostos frente a cepa padrão do *M. tuberculosis* H37Rv revelou valores de CIM entre 0,3969 e 2,9139 μM . Dentre os onze derivados indólicos, o mais ativo foi o composto **IV** que apresentou uma atividade maior (CIM = 0,3969 μM) que a isoniazida, fármaco mais ativo utilizado no tratamento da TB, que apresenta um CIM de 0,9115 μM . Além disso, os testes de citotoxicidade e de seletividade dessa substância mostrou que sua toxicidade é muito pequena frente a células renais embrionárias de seres humanos e que possui alto índice de seletividade (**Tabela 2**). É de grande relevância informar que o composto **IV** foi administrado oralmente em camundongos fêmeas na dose mais alta de 2000 mg kg⁻¹, e os resultados mostraram que não houve morte dos animais e muito menos efeitos adversos, evidenciando que esse composto não apresenta toxicidade. Também foi realizado o estudo de docagem molecular a fim de se determinar se os compostos conseguem inibir a atividade da Enoil-ACP redutase. Esses cálculos mostraram que o núcleo 1,2,3-tiadiazol presente na substância **IV** é de grande importância para a interação com esse alvo molecular.

Tabela 2 – Concentração mínima inibitória (CIM), citotoxicidade *in vitro* (CC₅₀) e índice de seletividade (IS) dos compostos sintetizados por Angelova et al. (2019) frente a cepa padrão do *M. tuberculosis* (H37Rv).

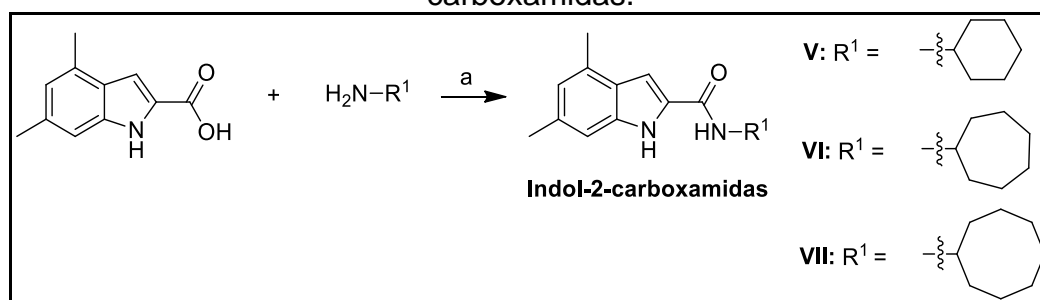
Nº	X	R ¹	R ²	CIM (μM)	CC ₅₀ (μM)	IS
IV	CH	OMe		0,3969	n.d.	>1978,83
INH	-	-	-	0,9115	-	-

n.d.: não determinado; INH = Isoniazida.

Lun et al. (2013) por meio da triagem fenotípica de alto rendimento identificaram um indol-2-carboxamida (**V**) que possuía atividade frente ao *M. tuberculosis*. Utilizando-se desse arcabouço estrutural, foram desenvolvidas outras duas moléculas (**VI** e **VII**), as quais foram sintetizadas e avaliadas *in vitro* frente às

diferentes cepas de *M. tuberculosis* (H37Rv e isolados clínicos oriundos de pacientes com tuberculose pulmonar de KwaZulu-Natal - África do Sul, dentre as quais, uma que é susceptível a medicamentos (V4207), duas de MDR-TB e duas de XDR-TB). Nessa síntese, foi utilizada uma metodologia de acoplamento de amidas, por meio da reação do ácido 4,6-dimetil-1*H*-indol-2-carboxílico em um meio contendo hidroxibenzotriazol anidro (HOBt), cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDAC.HCl), apropriadas aminas substituídas e trietilamina, mantendo a reação sob atmosfera de argônio, em CH₂Cl₂ anidro como solvente (**Esquema 8**). Os indóis desejados foram obtidos com rendimentos entre 72 a 92 %, de acordo com uma outra publicação dos mesmos autores (ONAJOLE et al., 2013).

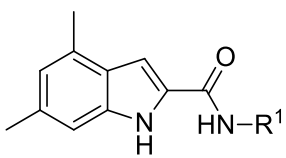
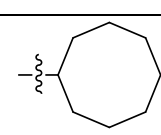
Esquema 8 – Rota sintética utilizada para a obtenção dos derivados indol-2-carboxamidas.



Reagentes e condições: a) HOBt anidro, EDAC.HCl, Et₃N, CH₂Cl₂, atmosfera inerte, 72 a 92 %.

Os compostos foram então testados frente a cepa padrão do *M. tuberculosis* (H37Rv), e o mais ativo dentre eles foi a substância **VII**, a qual apresentou um valor de CIM de 0,0039 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os pesquisadores ainda relatam que os compostos testados apresentaram um valor CIM $\leq 1 \mu\text{g mL}^{-1}$ para as demais cepas testadas, indicando que esses compostos podem ser candidatos no combate às cepas de MDR e XDR-TB. Vale ressaltar que no artigo em questão os autores informam essa faixa de CIM frente à essas cepas resistentes, no entanto, os dados precisos foram publicados em outro artigo dos mesmos autores (ONAJOLE et al., 2013), onde os valores desta vez foram dispostos em μM e não mais em $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo assim, os valores foram recalculados de modo a manter somente essa última unidade de CIM na **Tabela 3**.

Tabela 3 – CIM da substância **VII** frente a diferentes cepas de *M. tuberculosis*.

Nº	Substituintes 	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)					
		Padrão [A]	DS [B]	XDR [C]	XDR [D]	MDR [E]	MDR [F]
VII		0,0039	0,0078	0,0078	0,0020	n.d.	n.d.
INH		0,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

INH = Isoniazida, [A] = H37Rv, [B] = V4207, [C] = TF274, [D] = R506, [E] = KZN494, [F] = V2475, DS = cepa de *M. tuberculosis* susceptível à fármacos; n.d.: não determinado.

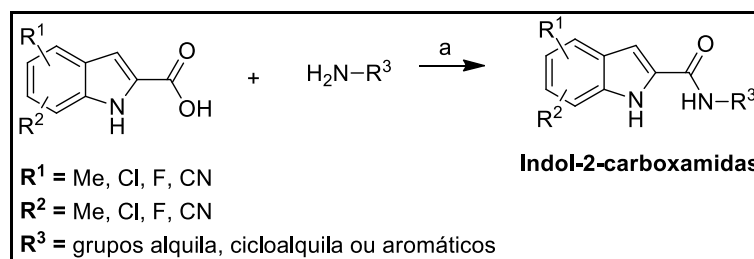
Ao se observar os dados dispostos na Tabela 3, é possível perceber que o composto **VII** apresentou uma atividade 10 vezes maior que a isoniazida frente à cepa padrão do *M. tuberculosis*. Esse composto também foi submetido a testes de concentração bactericida mínima (CBM) frente à cepa padrão, e os resultados mostraram que o valor de CMB foi de $0,0078 \mu\text{g mL}^{-1}$. O composto **VII** também foi submetido a teste de cinética de morte frente à cepa padrão, utilizando-se concentrações dos compostos em 4x e 16x em relação aos valores das CIMs. O estudo mostrou que esse composto possui uma alta capacidade bactericida frente ao *M. tuberculosis*, haja visto que na concentração de 4x do valor da CIM o mesmo conseguiu matar, ao menos, $4 \log_{10}$ de unidades formadoras de colônias (UFC) em um período de 5 dias. Enquanto que, em 16x do valor da CIM, esse composto demorou 3 dias para matar a mesma quantidade de UFC.

Ao verificar que o efeito micobactericida do composto **VII** era dependente da concentração *in vitro* e que esse apresentava a menor CIM, esse foi o escolhido para ser administrado em doses de 33, 100 e 300 mg kg^{-1} em camundongos, que foram infectados pela cepa padrão do *M. tuberculosis*. Os resultados mostraram que após 28 dias de tratamento, o número de UFC no pulmão de camundongos que foram tratados com qualquer uma das doses da substância **VII** foi consideravelmente menor do que em camundongos que não foram submetidos ao tratamento. Através de estudos farmacocinéticos utilizando-se esse mesmo composto, foi determinado que na dosagem de 100 mg kg^{-1} se consegue uma concentração máxima no valor

de 0,49 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 2,47 $\mu\text{g g}^{-1}$ no plasma e nos pulmões, respectivamente, que é muito acima do valor da CIM *in vitro* (0,0039 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Esses resultados mostram que o composto **VII** é um potencial candidato no combate à tuberculose, uma vez que ele possui boa biodisponibilidade oral em ratos e também possui atividade *in vivo* frente ao *M. tuberculosis*.

Ainda tratando de derivados indólicos com potencial atividade contra a tuberculose, Kondreddi et al. (2013) realizaram uma triagem fenotípica frente ao *M. tuberculosis* de substâncias presentes na biblioteca de compostos da Novartis. Os autores elencaram os seguintes fatores como critérios de escolha da substância-líder: atividade, citotoxicidade, potencial bactericida, estabilidade química e facilidade de obtenção. Com isso, o indol-2-carboxamida (**VIII**) foi escolhido para sofrer modificações estruturais (**Tabela 4**), visando aumentar a atividade inibitória e otimizar perfis farmacocinéticos deste composto. Para isso, foi realizada a síntese e a avaliação frente ao *M. tuberculosis* de diferentes indol-2-carboxamidas (**Esquema 9**). Essa classe de compostos foi sintetizada por meio da reação de ácidos indol-2-carboxílicos substituídos com diferentes aminas em um meio contendo 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurono hexafluorofosfato (HATU), *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) e *N,N*-dimetilformamida (DMF). No total foram sintetizados 37 derivados indólicos em rendimentos que variaram de 10 % a 98 %.

Esquema 9 – Rota sintética utilizada para a obtenção dos derivados indol-2-carboxamidas.

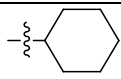



Reagentes e condições: a) HATU, DIPEA, DMF, t.a., 24h, 10 a 98 %.

Todos os 37 derivados indólicos foram avaliados frente a cepa padrão do *M. tuberculosis* (H37Rv), dentre os quais 22 apresentaram CIM abaixo de 1,0 μM . Por meio do estudo de relação estrutura-atividade (REA), os pesquisadores conseguiram obter informações importantes sobre a influência dos substituintes na atividade biológica, na estabilidade metabólica e na solubilidade aquosa. Dentre todos, o

composto **IX** (Tabela 4) pode ser considerado o mais promissor de toda a série, uma vez que apresentou valor de CIM de 0,015 μM .

Tabela 4 – Concentração mínima inibitória (CIM) dos compostos **VIII** e **IX** frente cepa padrão do *M. tuberculosis* (H37Rv).

Nº	Substituintes			CIM (μM)
	R ¹	R ²	R ³	
VIII	CH ₃	CH ₃		0,820
IX	Cl	Cl		0,015

Tendo em vista o seu potencial demonstrado *in vitro*, o composto **IX** foi avaliado *in vivo* em camundongos com infecção aguda por *M. tuberculosis*. Esse ensaio evidenciou que o perfil farmacocinético *in vivo* desse composto é adequado, visto que apresentou uma pequena depuração sistêmica total e um volume de distribuição de moderado a alto, apresentando um tempo de meia vida de 5,25h, resultando em uma boa disponibilidade oral (53%). Já o estudo de eficácia *in vivo* mostrou que o composto apresentou uma excelente eficácia frente ao agente causador da doença, onde ocasionou uma redução de 2,6 a 4,8 log de UFC nas concentrações de 25 e 75 mg kg⁻¹, respectivamente, quando comparado ao controle no qual não foi tratado com o composto. Ao se comparar a redução ocasionada por esse composto na concentração de 75 mg kg⁻¹ com o etambutol (medicamento de primeira escolha utilizado no tratamento da TB) a 100 mg kg⁻¹, uma eficácia consideravelmente maior foi atingida quando foi utilizado o composto em questão. Outro ponto que foi ressaltado sobre esse composto é que o mesmo mostrou possuir um perfil de segurança *in vitro* e *in vivo* adequado, que foi publicado em um outro artigo dos mesmos autores (RAO et al., 2013). Sendo assim, os dados de ambos os estudos mostram que o composto **IX** é um grande candidato para testes pré-clínicos e, conseqüentemente, para o tratamento da tuberculose.

1.5 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

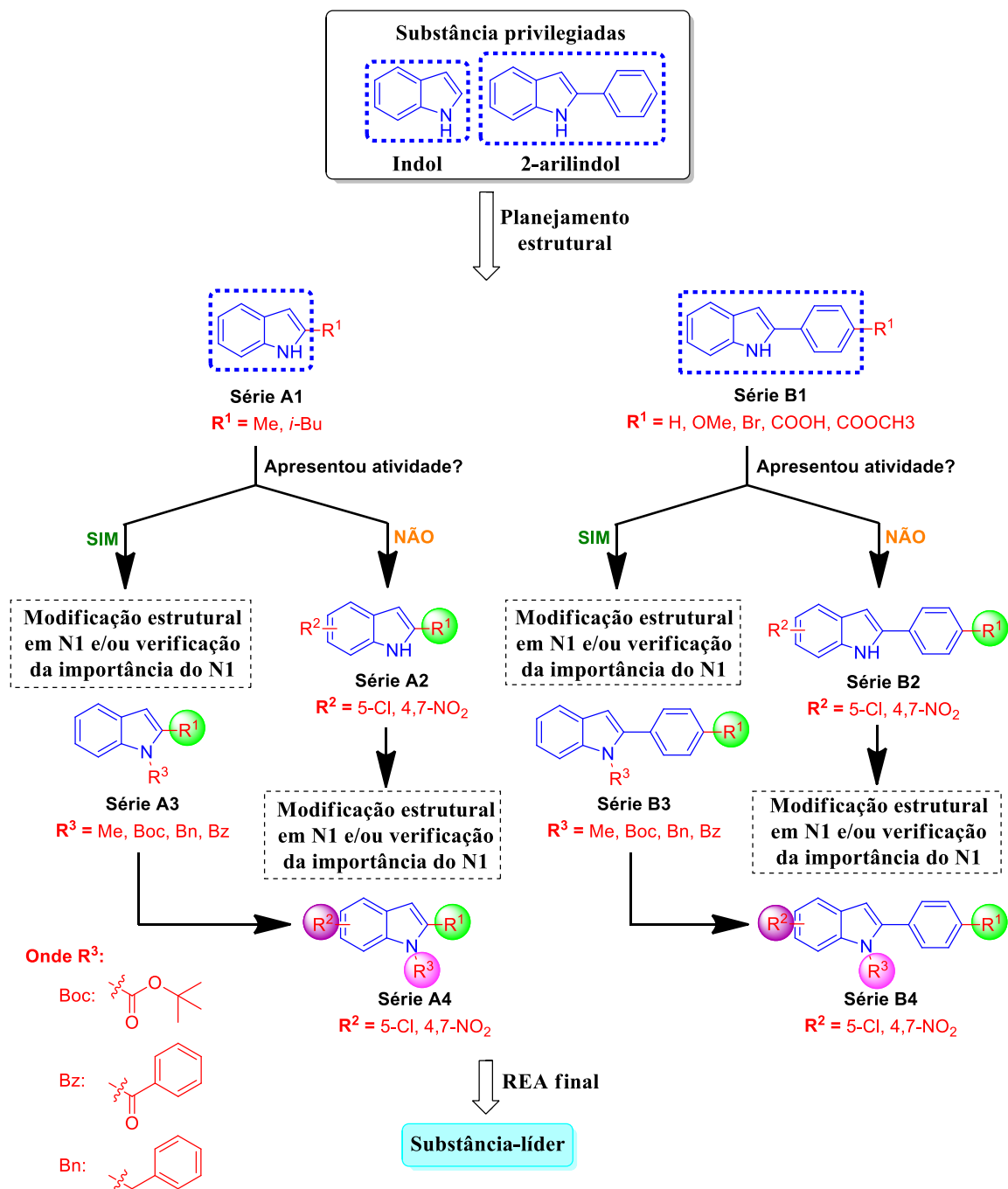
No desenvolvimento de novos fármacos, é de grande valia identificar subunidades estruturais presentes em fármacos ou em compostos-líderes que sejam capazes de interagir com diferentes bioreceptores. Essas subunidades são conhecidas como estruturas privilegiadas (DUARTE; BARREIRO; FRAGA, 2007) e são muito importantes na hora se desenvolver um planejamento estrutural, servindo como um bom ponto de partida até mesmo em casos onde não se conhece o modo de interação da estrutura privilegiada com o alvo molecular (DESIMONE et al., 2004).

Dois exemplos de estrutura privilegiada são o indol (DE SA ALVES; BARREIRO; MANSSOUR FRAGA, 2009) e o 2-arilindol (DESIMONE et al., 2004), visto que ambos são encontrados em uma diversidade de compostos bioativos, como por exemplo, o primeiro está presente em moléculas inibidoras de cicloxigenase, inibidoras de fosfodiesterase, ligantes de receptores 5-HT_{1A} e dentre outras. Enquanto o segundo é encontrado em uma grande variedade de moléculas que interagem com diferentes alvos, tais como receptores acoplados à proteína G (GPCRs, do inglês *G-protein coupled receptors*), como por exemplo, a classe de receptores de quimiocina, neurocinina, serotonina e dentre outros (DESIMONE et al., 2004).

Sendo assim, com a finalidade de se explorar o potencial do núcleo indólico na descoberta de novas substâncias-líderes para o desenvolvimento de novos agentes anti-TB, propõem-se a síntese de duas séries de derivados indólicos, preservando-se as estruturas privilegiadas indol (**Série A**) e 2-aril-indol (**Série B**), onde na primeira serão introduzidos diferentes substituintes alifáticos em C2, enquanto que na Série B, diferentes substituintes doadores (ERG) ou retiradores (EWG) de elétrons estarão presentes na posição 4 do anel benzênico do núcleo 2-aril-indol (**Figura 9**). Então, depois de devidamente purificados e caracterizados espectroscopicamente, todos os derivados serão avaliados *in vitro* frente ao *M. tuberculosis*. A partir desses resultados, pretende-se iniciar um estudo preliminar de relação estrutura-atividade (REA) antimicobacteriana, a fim de se identificar os substituintes que contribuem positivamente para a atividade biológica. Em seguida, serão realizadas outras modificações estruturais, tais como: i) introdução de substituintes no anel benzênico do núcleo indólico (5-Cl e 4,7-NO₂) e ii) introdução

de grupos ligados ao nitrogênio indólico (Boc, Bz e Bn) com o objetivo de se verificar a influência dessas modificações estruturais em N1 e/ou verificar a importância da ligação N-H (grupamento aceptor e doador de ligação de hidrogênio) para a atividade antimicrobiana. Com base no planejamento estrutural (**Figura 9**), poderia se pensar em realizar a modificação estrutural em N1 mesmo se nenhum dos derivados da Série A1 apresentasse atividade, porém, decidiu-se realizar essa modificação em N1 somente se um dos derivados apresentasse atividade, pois dessa maneira, já se tornava possível verificar se o N-H é importante para a atividade ou não, tornando o planejamento mais racional. A partir dessas modificações estruturais poderá ser possível estabelecer os pontos críticos para a atividade biológica dessa classe de substâncias frente ao *M. tuberculosis*, bem como se identificar uma substância-líder promissora para prosseguimento dos estudos mais avançados.

Figura 9 – Planejamento estrutural dos derivados indólicos com potencial atividade antituberculose.



Legenda: Em azul – Manutenção da estrutura do indol ou 2-arylindol (substâncias privilegiadas). Em vermelho – Introdução de grupos com diferentes características estereo-eletrônicas (alifáticos, aromáticos, retiradores de elétrons e doadores de elétrons) em diferentes posições. Em verde, roxo e rosa – fixação do substituinte por meio do REA preliminar da série A1 ou B1, A3 ou B3 e A2 ou B2, respectivamente. A quimioteca de indóis sintetizada será analisada por meio de um estudo de REA final, a fim de se avaliar a influência dos substituintes para a atividade biológica dessa classe de substâncias e, por fim, possibilitar a identificação de ao menos uma substância-líder.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

- ✓ Sintetizar diferentes derivados indólicos e avaliá-los *in vitro* frente ao *Mycobacterium tuberculosis*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

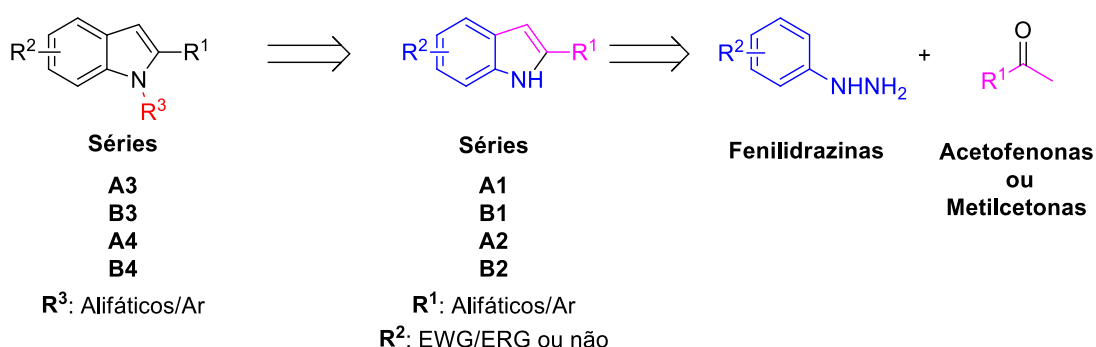
- ✓ Síntese, purificação e caracterização estrutural de diferentes derivados indólicos;
- ✓ Avaliação *in vitro* dos derivados indólicos sintetizados frente ao *M. tuberculosis*;
- ✓ Realização de um estudo preliminar de relação estrutura-atividade antimicobacteriana, afim de se estabelecer os pontos críticos para a atividade biológica dessa classe de substâncias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISE RETROSSINTÉTICA

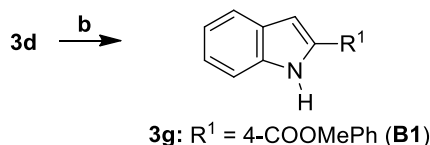
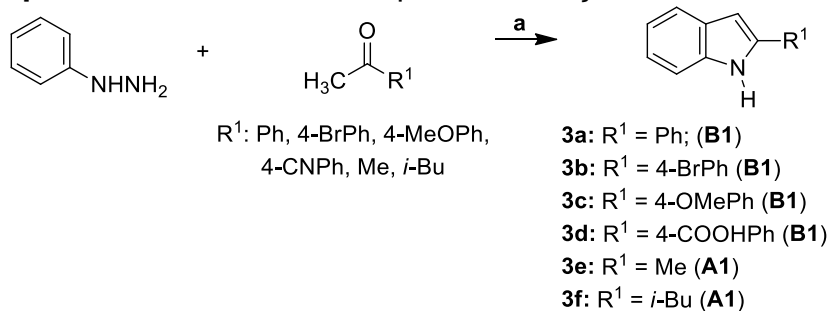
Para a síntese dos derivados indólicos propostos foi realizada uma análise retrossintética (**Figura 10**), onde os derivados das **Séries A3/B3 e A4/B4** podem ser obtidos através de reações de carbamoilação, benzoilação ou benzilação no N1 do indol, dos indóis da **Séries A1/B1 ou A2/B2**. Esses, por sua vez, podem ser obtidos por meio de reações de indolização de diferentes fenilidrazinas com as metilcetonas ou acetofenonas correspondentes.

Figura 10 – Análise retrossintética para a obtenção dos derivados indólicos.



3.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS INDOIS DA SÉRIE **A1** E **B1**

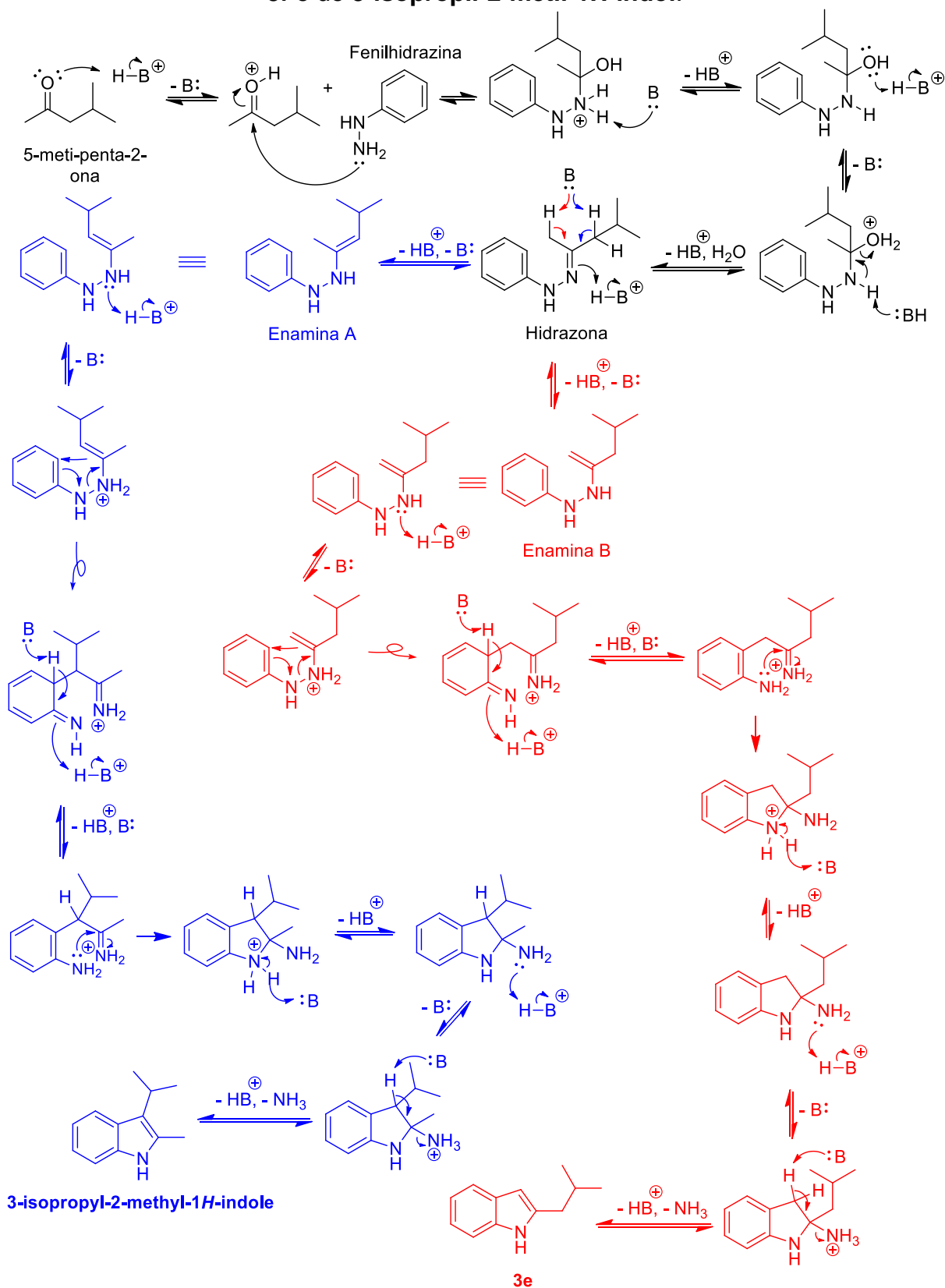
Iniciou-se a síntese dos indóis **A1** e **B1** através da reação de diferentes fenilidrazinas com as acetofenonas ou metilcetonas correspondentes, por meio de uma metodologia de ciclização em meio ácido denominada indolização de Fisher (LIU; MCWHORTER, 2003). Sendo assim, optou-se por realizar a indolização de Fisher em um meio contendo ácido polifosfórico ($H_4P_2O_7$) a 120 °C (LIU; MCWHORTER, 2003), obtendo-se os indóis **3a-f** em rendimentos que variaram de 7 a 51%. Posteriormente, realizou-se uma reação de esterificação do indol **3d** ($R^1 = COOH$, Série **B1**) por meio de sua reação com cloreto de tionila ($SOCl_2$) e metanol (COSTA, 2012), obtendo-se o indol **3g** (**Esquema 10**).

Esquema 10 – Rota sintética para a obtenção dos indóis **3a-g**.

Condições reacionais: (a) ácido polifosfórico, 120 °C, 1-4h, 7-51%; (b) SOCl_2 , MeOH, 0 °C a t.a, 116h e mais sob refluxo por 12h30.

Como exemplo, será apresentado a proposta mecanística para a obtenção da substância **3f**. A reação de indolização de Fisher tem início com a ativação da carbonila, por meio de sua protonação, utilizando-se ácidos de Bronsted (HB^+) como o ácido polifosfórico (**Esquema 11**). Então, o par de elétrons de um dos nitrogênios da fenilidrazina ataca o carbono parcialmente positivo da carbonila, formando ligação N-C. Em seguida, ocorre a eliminação de uma molécula de água e a formação de uma ligação dupla na ligação N-C, gerando *in situ* uma hidrazona como um intermediário. Posteriormente, a hidrazona sofre isomerização em meio ácido, transformando-se na enamina correspondente. Vale ressaltar, que no caso dessa cetona utilizada como exemplo, por ela ser não-simétrica, pode haver a formação de duas enaminas, a **A** (em vermelho) e a **B** (em azul). Cada enamina correspondente sofre então um rearranjo sigmatrópico [3,3], seguido da rearomatização do sistema através da abstração de um hidrogênio do anel. Posteriormente, ocorre o ataque nucleofílico do grupo amino ao carbono imínico, promovendo o fechamento do anel de 5 membros fundido ao anel benzênico. Por fim, ocorre eliminação de amônia e o sistema é rearomatizado pela desprotonação, gerando o indol desejado.

Esquema 11 – Proposta mecânica para a indolização de Fischer na formação de **3f** e de **3-isopropil-2-metil-1H-indol**.



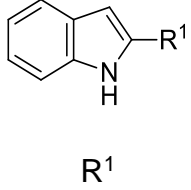
Fonte: adaptado de Joule e Mills (2010).

Todos os compostos foram purificados por cromatografia em coluna, por lavagem ou por recristalização, sendo obtidos como sólidos brancos ou amarelados, que tiveram seus pontos de fusão medidos e comparados com os valores relatados na literatura, quando disponíveis (**Tabela 5**).

Os baixos rendimentos do **3b** e **3f**, estão relacionados ao fato de que os brutos reacionais correspondentes continham impurezas com valores de fator de retenção (R.f.) muito próximos, dificultando sua purificação. Mesmo não sendo possível a identificação espectroscópica das impurezas presentes, possivelmente no caso de **3f**, o rendimento foi prejudicado pelo fato de que a cetona usada como material de partida (5-metil-pentan-2-ona) permite a formação de duas diferentes enaminas (A e B) a partir da hidrazona (**Esquema 11**). Ao sofrerem o rearranjo sigmatrópico [3,3], as enaminas A e B dão origem ao indol desejado **3f** e ao **3-isopropil-2-metil-1H-indol**, respectivamente. Como as polaridades dessas substâncias são bem parecidas, a separação cromatográfica foi difícil, o que reflete o baixo rendimento alcançado.

Com relação ao baixo rendimento do indol **3d** (R= Ph-4-COOH), a explicação é que esperava-se obter como produto da reação de indolização entre a fenilidrazina e 4-cianoacetofenona, o indol contendo o R¹ = PhCN para, em seguida, hidrolisá-lo para se obter **3d**. No entanto, não foi possível o isolamento da nitrila, obtendo-se diretamente o indol **3d**. Sendo assim, o baixo rendimento desse derivado pode ser explicado em decorrência de que o mesmo foi obtido por meio da hidrólise em meio ácido da nitrila presente na acetofenona utilizada como material de partida, gerando o derivado carboxilado correspondente (**Esquema 12**). O acompanhamento do término da reação por CCD foi realizado com base no suposto consumo da 4-acetilbenzocianitrila (reagente limitante). Então, acreditou-se que a reação havia se completado quando o reagente limitante havia desaparecido, no entanto, o consumo da matéria-prima foi fruto da hidrólise ocorrida, facilitada pela acidez do meio e por, possivelmente, haver a presença de traços de água no meio reacional. Portanto, o isolamento do produto foi realizado antes do término da reação, o que explica o baixo rendimento, haja visto que ainda havia ácido 4-acetilbenzóico disponível no meio reacional para sofrer a reação de indolização.

Tabela 5 – Características físicas, rendimento, ponto de fusão experimental e teórico dos derivados indólicos **3a-g**.

Nº		Característica	Rend. (%)	P.F. (°C)	P.F. lit. (°C)
		Física			
3a	Ph	Sólido bege	34	187,1-188,2	186,0–188,6 ^a
3b	4-BrPh	Sólido amarelo escuro	12	n.d.	212-213 ^b
3c	4-OMePh	Sólido bege	37	233,5-233,8	232-233 ^c
3d	4-COOHPh	Sólido branco	7	n.d.	212-214 ^d
3e	Me	Sólido alaranjado	51	57-58	57–59 ^e
3f	<i>i</i> -Bu	Sólido amarelo	7	n.d.	42-43 ^f
3g	4-COOMePh	Sólido amarelo pálido	36	202,3-203,1	201-202 ^g

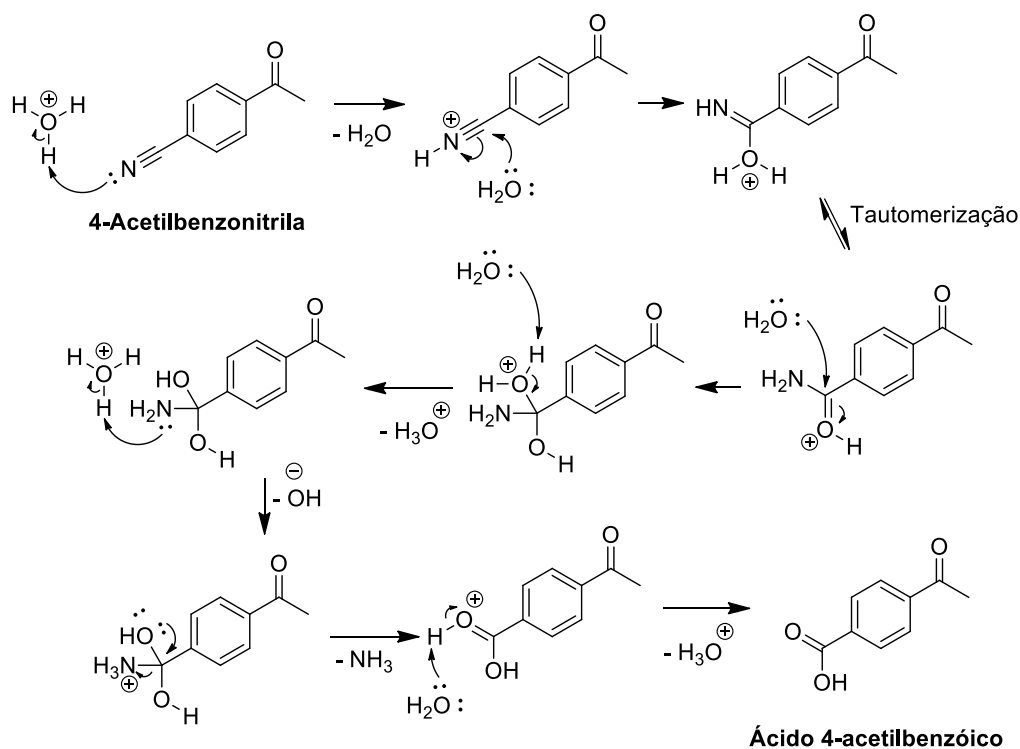
n.d.: Não determinado.

^a Ackermann; Barfüsser; Potukuchi (2009); ^b Joucla; Batail; Djakovitch (2010); ^c Jin et al. (2011); ^d Ponpandian; Muthusubramanian (2012); ^e Ambrogio et al. (2009); ^f Dalian Zhao et al. (1991); ^g Cacchi; Fabrizi; Parisi (2003).

Ademais, os indóis **3a-g** tiveram suas estruturas confirmadas por RMN de ¹H e ¹³C (**Figuras 1A-19A – Apêndice A**), sendo que os compostos **3a-c** e **3e** também foram caracterizados por espectrometria de massas. De maneira geral, os espectros de RMN de ¹H dos indóis **3a-g** apresentaram sinais característicos do anel indólico, como por exemplo um simpleto largo com deslocamento químico entre 7,83 e 8,35 ppm, que é referente ao sinal do hidrogênio ligado ao N1, bem como um sinal entre 6,21 ppm e 6,84 ppm, que corresponde ao sinal do H3, além de sinais de hidrogênios aromáticos entre 7,0 e 8,0 ppm. Na caracterização dos indóis **3a-c** e **3e** por espectrometria de massas (**Figuras 4A, 7A, 10A e 15A – Apêndice A**), todos os espectros apresentaram os picos do íon molecular com razão m/z condizentes com

a massa molecular dos compostos, com valores variando de 131 a 272 g/mol, de acordo com os substituintes presentes no anel indólico.

Esquema 12 – Mecanismo de hidrólise da 4-acetilbenzotriila.



Como exemplo, será ilustrado a atribuição dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C para o composto **3a**, ressaltando que apesar do mesmo já ser relatado na literatura, os artigos não caracterizam de forma inequívoca a qual átomo de hidrogênio ou de carbono aromático, corresponde cada sinal nos respectivos espectros. Sendo assim, tentou-se realizar a atribuição inequívoca de todos hidrogênios e carbonos dessa molécula-modelo.

No espectro de RMN de ^1H (**Figura 11**), identificou-se o sinal do hidrogênio ligado ao nitrogênio (NH) e do hidrogênio H3 do anel indólico, na forma de simples tomos largos em 8,35 e 6,84 ppm, respectivamente, ambos com uma integral equivalente a 1H. Para a atribuição desses dois sinais foram considerados a multiplicidade, o deslocamento químico e o valor da integral do sinal, pois no caso do NH , já era esperado que o sinal aparecesse nessa região, devido ao fato de ser um H ligado a um átomo eletronegativo como o N indólico, e que fosse um simpleto largo com uma integral equivalente a 1H, devido ao efeito quadrupolo do N, o que faz com que o

sinal seja um simpleto alargado. Já com relação ao H3, já era esperado observá-lo nessa região, com essa integral por se tratar de um hidrogênio metínico aromático e indólico, e com essa multiplicidade, devido ao fato de poder estar acoplando com o H4 por meio de um acoplamento 4J . Ambos os sinais estão de acordo com a literatura (ABRAHAM; REID, 2002; TYRRELL; WHITEMAN; WILLIAMS, 2009).

Além disso, o espectro apresentou ainda sete sinais com uma integral total equivalente a nove hidrogênios com deslocamento químico característico de hidrogênios aromáticos, sendo eles um duplete em 7,68 ppm, com integral equivalente a 2H e com uma constante de acoplamento de 7,3 Hz, que corresponde aos hidrogênios equivalentes H11 e H15, que acoplam com H12 e H14, cujo sinal apareceu em um deslocamento químico de 7,45 ppm com uma integral equivalente a 2H e na forma de um tripleto. Em 7,33 ppm, apareceu um tripleto ($J = 7,3$ Hz) com integral igual a 1H, que corresponde ao H13, haja visto que acopla com o H12 e H14 e por estar mais longe do átomo de nitrogênio, já era de se esperar que o sinal desse hidrogênio estaria em um deslocamento menor do que os hidrogênios com os quais se acopla, em razão de ser menos desblindado. Em 7,21 e 7,13 ppm apareceram dois triplos duplete ($J = 7,9$ e 1,1 Hz e $J = 7,9$ e 1,0 Hz, respectivamente), em que ambos possuem uma integral equivalente a um hidrogênio, que correspondem a H6 e H5, respectivamente.

A determinação de qual hidrogênio corresponde a cada sinal foi realizada com base na desblindagem eletrônica do nitrogênio, onde o sinal com maior deslocamento químico será aquele que está mais próximo ao nitrogênio, conseqüentemente, o H6 que está a quatro ligações de distância do átomo de nitrogênio. Os sinais do H5 e do H6 aparecem com essa multiplicidade, haja visto que cada um desses núcleos se acopla com dois hidrogênios a uma distância de três ligações com um 3J de 7,9 Hz (H4 e H6 no caso de H5; e H5 e H7, no caso do H6) e com um hidrogênio a uma distância de quatro ligações (H7 no caso de H5 com um 4J de 1,0 Hz, e H4 no caso de H6, com um 4J de 1,1 Hz). Por fim, em 7,64 e 7,41 ppm apareceram dois dupletos ($J = 7,9$ Hz), cada um contendo uma integral igual a 1H que correspondem a H7 e H4, respectivamente, onde o primeiro por estar muito mais próximo do átomo eletronegativo, está mais desblindado que o segundo, além disso, as constantes de acoplamento corroboram com o acoplamento destes com H5 e H6. Com todos esses dados, finaliza-se o assinalamento de todos os sinais

presentes no espectro de RMN de ^1H do composto **3a**, que estão resumidos na Tabela 6.

Figura 11 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **3a**.

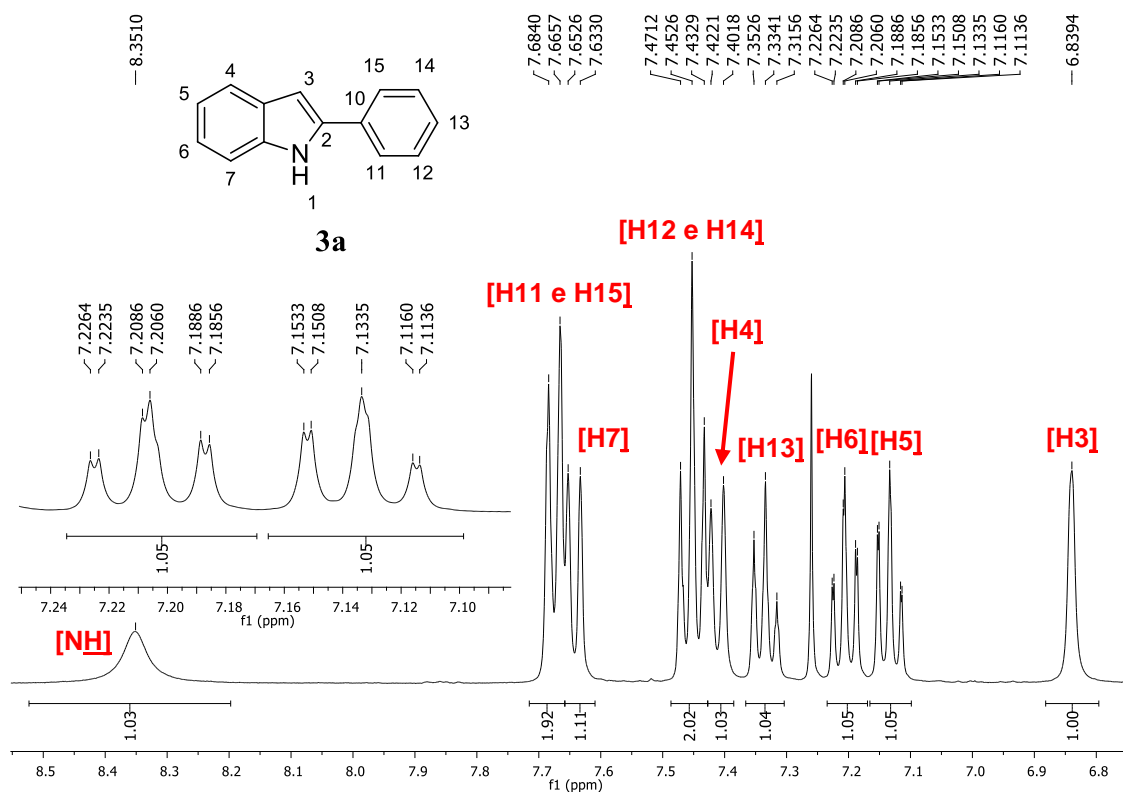
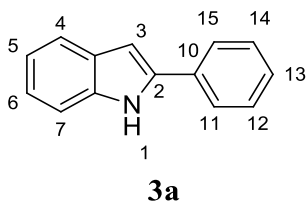


Tabela 6 – Deslocamentos químicos do RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3), em ppm, relativos ao TMS em 0,00 ppm, da substância **3a**.

Nº do H	δH (nH, m, J em Hz)
NH	8,35 (1H, sl)
H11 e H15	7,68 (2H, d, $J = 7,3$ Hz)
H7	7,64 (1H, d, $J = 7,9$ Hz)
H12 e H14	7,45 (2H, t, $J = 7,3$ Hz)
H4	7,41 (1H, d, $J = 7,9$ Hz)
H13	7,33 (1H, t, $J = 7,3$ Hz)
H6	7,21 (1H, td, $J = 7,9$ e 1,1 Hz)
H5	7,13 (1H, td, $J = 7,9$ e 1,0 Hz)
H3	6,84 (1H, sl)



A obtenção da substância **3a** também foi confirmada por RMN de ^{13}C (**Figura 12**) e DEPT-90 (**Figura 13**). Por meio da análise do espectro de RMN de ^{13}C , observou-se a presença de um conjunto de doze sinais, correspondentes aos quatorze carbonos aromáticos entre 110 a 139 ppm, haja visto que na molécula existem carbonos equivalentes (C11 e C15, e C12 e C14). Assim, juntamente com a análise do espectro de DEPT-90 foi possível determinar que os oito sinais entre 99,9 a 129,0 correspondem a dez carbonos metínicos (C3-C7 e C11-C15) e os quatro sinais entre 129,2 a 137,9 a carbonos C_0 , ou seja, carbonos que não estão ligados a hidrogênios (C2, C3a, C7a e C10).

Figura 12 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **3a**.

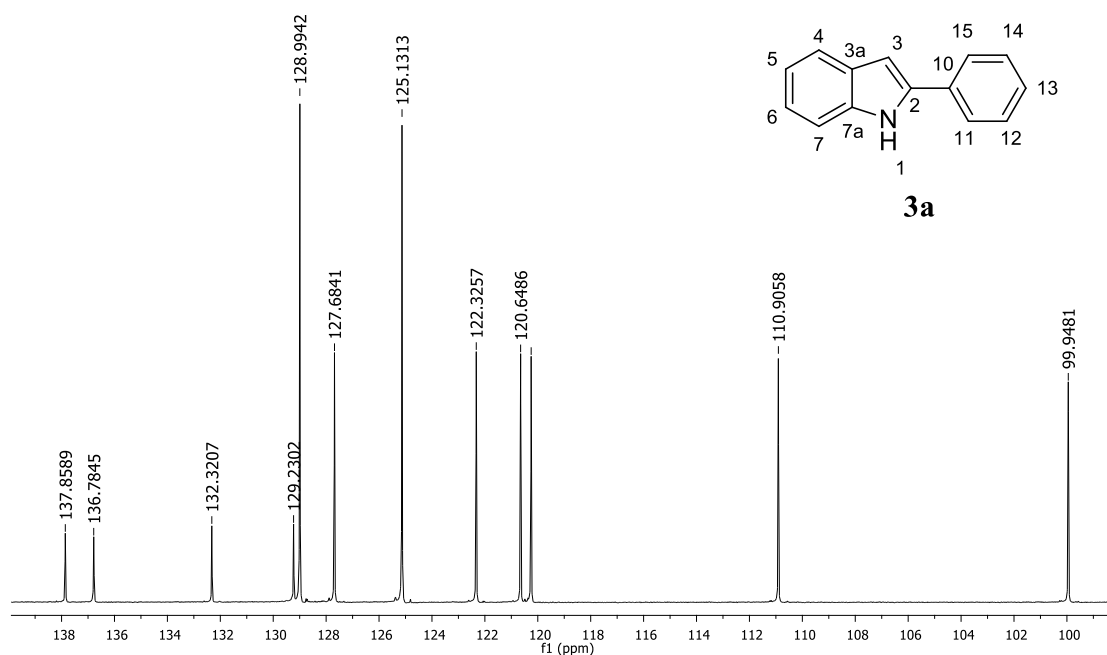
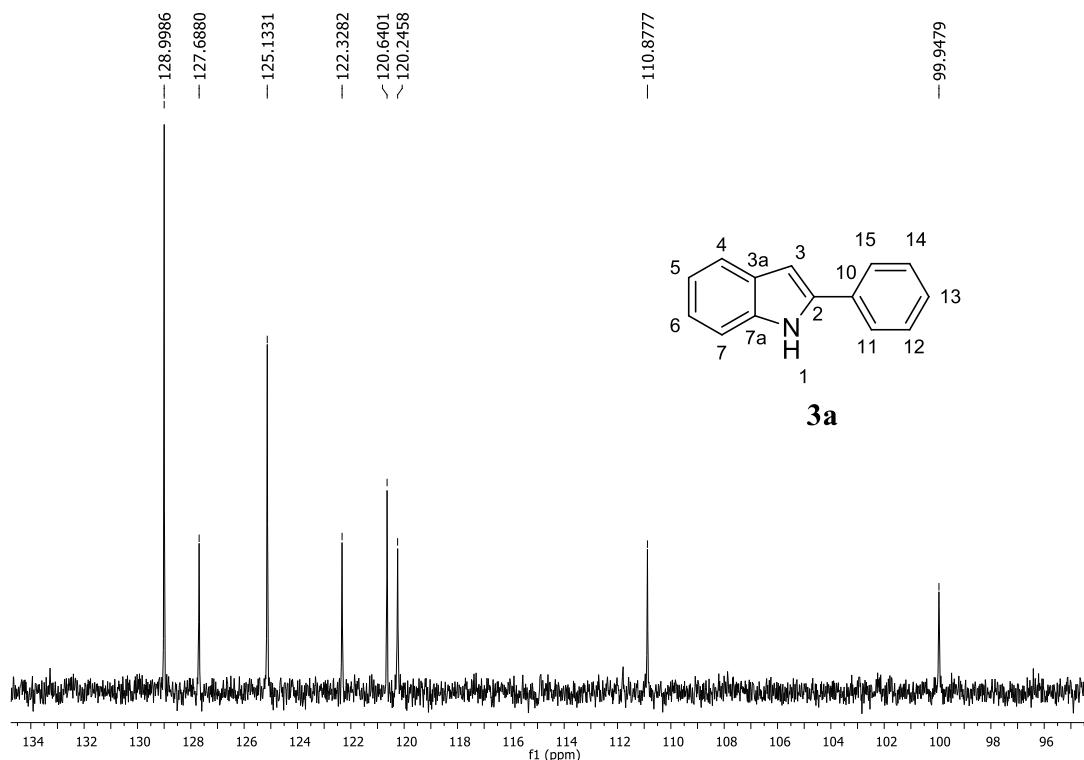


Figura 13 – Expansão do espectro do DEPT-90 da substância **3a**.

Considerando o efeito de desblindagem eletrônica, foi possível determinar que os carbonos referentes aos sinais mais desblindados em δ 136,8 e 137,9 correspondem a C2 e C7a, enquanto que os sinais em δ 132,3 e 129,2 correspondem a C3a e 10. A partir desse sinal, era esperado que o sinal em 129,0 ppm correspondesse a C7, haja visto que o mesmo também está a três ligações de distância do átomo eletronegativo, no entanto, comparando às intensidades dos sinais é possível perceber que esse sinal e o em 125,1 ppm estão com intensidade duas vezes maior que as dos demais carbonos metínicos, indicando que cada um desses dois sinais mais intensos correspondem a sinais de carbonos equivalentes e, que por essa razão, aparem no mesmo deslocamento químico, sendo assim, os dois sinais correspondem aos carbonos C11 e C15 e C12 e C14, respectivamente. Com relação aos demais sinais é possível apenas informar que os números de sinais correspondem ao número de carbonos não atribuídos na molécula, porém, não é possível atribuir com extrema certeza a que carbono cada sinal corresponde, com exceção do sinal em 99,9 ppm, que é característico do C3 do anel indólico, conforme relatado na literatura (MORALES-RÍOS; ESPÍÑEIRA; JOSEPH-NATHAN, 1987;

PANASENKO et al., 1994). Portanto, é possível perceber com base apenas nessas análises que a grande maioria dos sinais não podem ser atribuídos com acurácia.

Sendo assim, para uma atribuição mais exata dois sinais de carbonos metínicos foi realizado um experimento de HSQC (do inglês, *Heteronuclear Single Quantum Correlation*). Com isso, a partir da análise do espectro obtido do experimento de HSQC ^{13}C - ^1H foi possível determinar que carbono está ligado a qual hidrogênio, e com isso, determinar com exatidão a que carbono metínico cada sinal do espectro de RMN de ^{13}C corresponde. No entanto, conforme pode ser observado no espectro do HSQC (**Figura 14**), os sinais do H7, H11 e H15 apareceram em um mesmo deslocamento, portanto, a atribuição do carbono foi realizada com base na intensidade deste, onde o mais intenso corresponde aos carbonos que estão ligados aos H11 e H15 e o menos intenso, ao carbono que está ligado ao H7. Vale ainda ressaltar que no espectro de RMN de ^1H (**Figura 11**) é possível observar que houve a separação dos dois dupletos, um com integral equivalente a dois hidrogênios e o outro com integral equivalente a um hidrogênio, onde o primeiro é correspondente ao H11 e H15 e o segundo ao H7, mas tal padrão não foi obtido quando o experimento de HSQC for realizado. Outro ponto a ressaltar, é que para a atribuição inequívoca dos dois pares de sinais com deslocamento químico entre 129,2 a 137,9 ppm que correspondem aos carbonos não ligados à hidrogênios, seria necessário realizar um experimento de HMBC (do inglês, *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*), pois permitirá a determinação de qual sinal corresponde a cada carbono, por meio das correlações entre carbonos e prótons que estão separados por duas, três, e ocasionalmente em sistemas conjugados, quatro ligações, de distância. Deste modo, os deslocamentos químicos dos sinais do RMN de ^{13}C , bem como, suas atribuições são dispostas na **Tabela 7**.

Figura 14 – Expansão do espectro de HSQC da substância **3a** e suas devidas correlações.

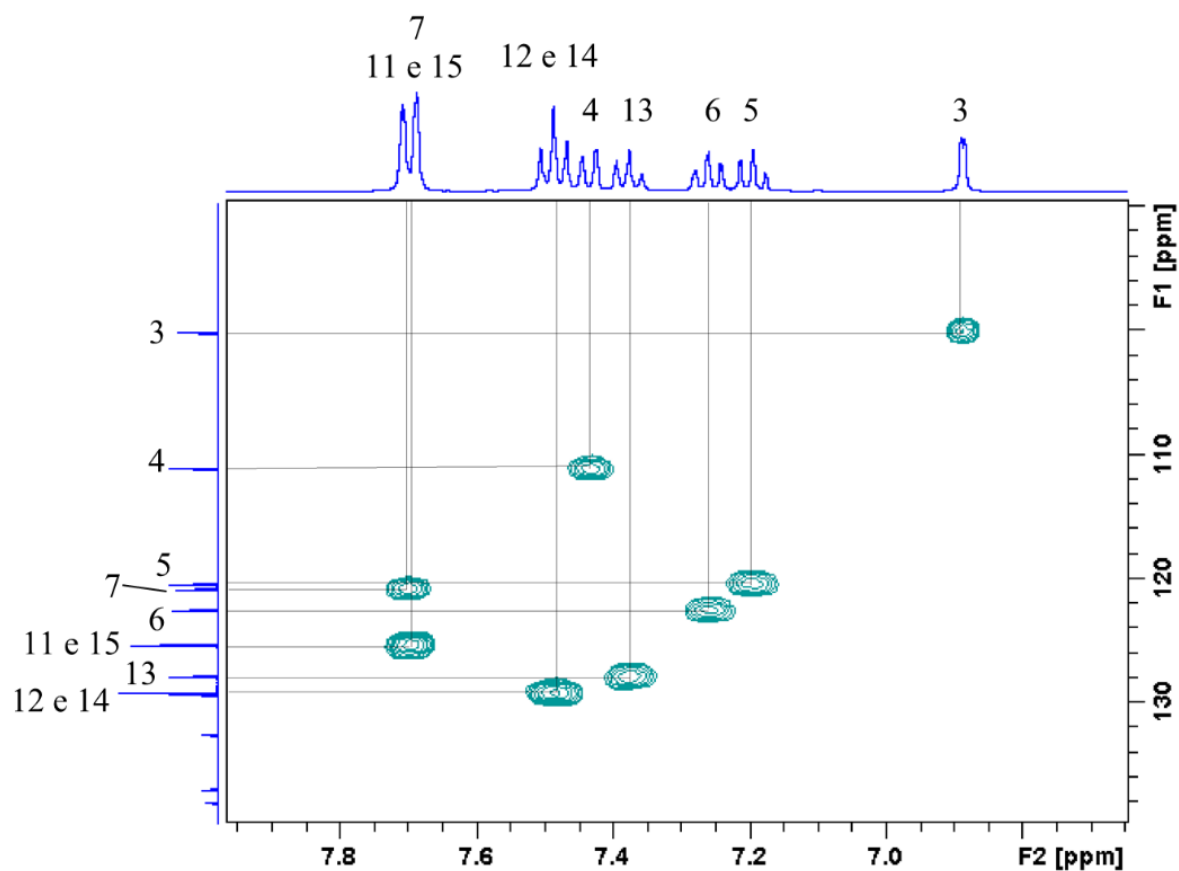
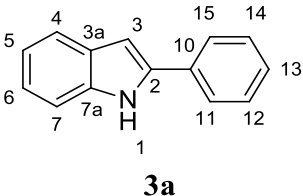


Tabela 7 – Deslocamentos químicos do RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) e DEPT-90, em ppm, relativos ao TMS em 0,00 ppm, da substância **3a**.

	Nº do C	δC	Dept-90
	2 ou 7a	137,9	C_0
	2 ou 7a	136,8	C_0
	10 ou 3a	132,3	C_0
	10 ou 3a	129,2	C_0
<p>3a</p>	12 e 14	129,0	CH
	13	127,7	CH
	11 e 15	125,1	CH
	6	122,3	CH
	7	120,6	CH
	5	120,3	CH
	4	110,9	CH
	3	99,9	CH

Sendo assim, todos esses dados confirmam a obtenção da substância **3a**, que foram resumidos em uma só tabela (**Tabela 8**).

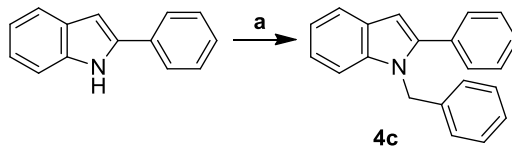
Tabela 8 – Deslocamentos químicos de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em ppm, relativos ao TMS, em 0,00 ppm, da substância **3a**.

	Nº C/H	δC	δH (nH, m, J em Hz)	
	2 ou 7a	137,9	-	
	2 ou 7a	136,8	-	
	10 ou 3a	132,3	-	
	10 ou 3a	129,2	-	
 <p>3a</p>	12 e 14	129,0	7,45 (2H, t, $J = 7,3$ Hz)	
		13	127,7	7,33 (1H, t, $J = 7,3$ Hz)
		11 e 15	125,1	7,68 (2H, d, $J = 7,3$ Hz)
		6	122,3	7,21 (1H, td, $J = 7,9$ e $1,1$ Hz)
		7	120,6	7,64 (1H, d, $J = 7,9$ Hz)
		5	120,3	7,13 (1H, td, $J = 7,9$ e $1,0$ Hz)
		4	110,9	7,41 (1H, d, $J = 7,9$ Hz)
		3	99,9	6,84 (1H, sl)

3.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE INDOIS DA SÉRIE **A3**, **B2** E **B3**

3.3.1 Benzilação do Nitrogênio Indólico

O objetivo da funcionalização do nitrogênio é realizar modificações estruturais em N1 e também verificar a influência do NH para a atividade biológica. Sendo assim, uma das alternativas foi a reação de benzilação, onde o nitrogênio indólico reagiu com brometo de benzila em meio básico e utilizando-se DMSO como solvente, visando a formação do derivado benzilado **4c** (**Esquema 13**). (OBYNOCHNYI et al., 1993)

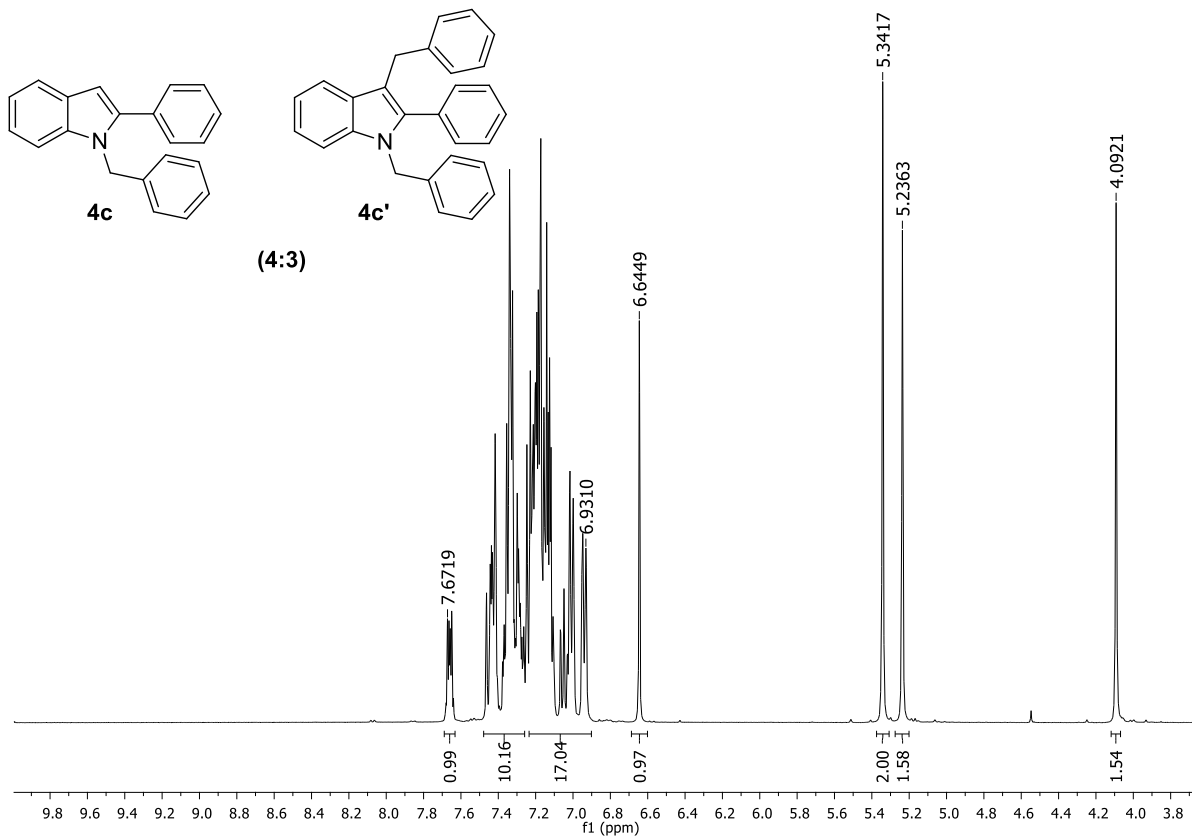
Esquema 13 – Preparação do indol 4c.

Condições reacionais: (a) BnBr, NaOH, DMSO, 0°C a t.a., 7h.

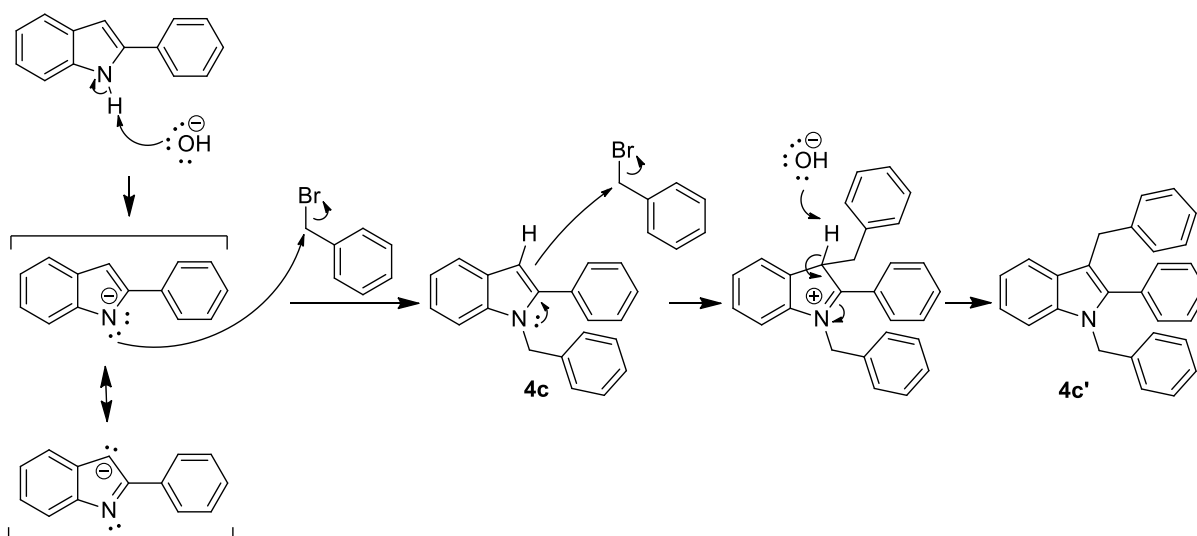
O produto foi obtido impuro, então, foi realizada uma tentativa de purificação por cromatografia em coluna. Após esse procedimento, evidenciou-se apenas uma mancha na CCD no fator de retenção (R.f.= 0,4 na condição de hexano/AcOet 9:1) esperado para o possível produto. Então, ao se obter o espectro de RMN de ^1H dessa substância (**Figura 15**), foi verificado que juntamente com o indol **4c**, obteve-se também um coproduto, intitulado **4c'** (**Esquema 14**), na proporção de 4:3 de **4c/4c'**, cujo mecanismo proposto de formação é apresentado no **Esquema 14**. Os sinais que confirmam a obtenção da substância **4c** são os dois simpletos em 6,6 e 5,3 ppm, que são referentes ao hidrogênio ligado ao C3 e ao hidrogênio metilênico, respectivamente, bem como a presença de hidrogênios aromáticos, com integração total de 14 hidrogênios. Enquanto que os sinais que confirmam a presença do coproduto (**4c'**) na mistura, são os dois simpletos em 5,2 e 4,1 ppm que correspondem aos hidrogênios metilênicos, bem como a presença de hidrogênios aromáticos, com integração total de 14 hidrogênios (**Figura 15**). Foi possível determinar a proporção entre as moléculas, pois ao atribuir o simpleto em 5,3 ppm (que corresponde ao CH_2 do grupo benzil da substância **4c**) como tendo uma integral equivalente a 2 hidrogênios, os simpletos em 5,2 e 4,1 ppm apresentam uma integral equivalente a 1,5 hidrogênio cada um deles. Sendo assim, como os três sinais correspondem a sinais de CH_2 de duas moléculas diferentes, pode-se dizer que as moléculas **4c** e **4c'** estão na proporção de 4:3 (**4c/4c'**). Isso também é confirmado, ao se realizar os cálculos do número de hidrogênios a mais que eram para aparecer na região do aromático, além dos da substância **4c**, quando considerado a proporção entre as moléculas. Ao se observar a estrutura de **4c'**, observa-se que há 19 hidrogênios aromáticos, porém, como essa substância está na proporção 3:4 (**4c'/4c**) ao se realizar o cálculo $19\text{H} \cdot 3/4$ é esperado observar uma integral equivalente a 14 hidrogênios referente a essa substância **4c'**, o que é

observado no espectro, tendo em vista que na região dos hidrogênios aromáticos a integral foi equivalente à 28 hidrogênios, sendo 14 deles referente à substância **4c**.

Figura 15 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da mistura entre as substâncias **4c** e **4c'**.



Esquema 14 – Proposta mecanística para a formação do indol **4c** e **4c'**.

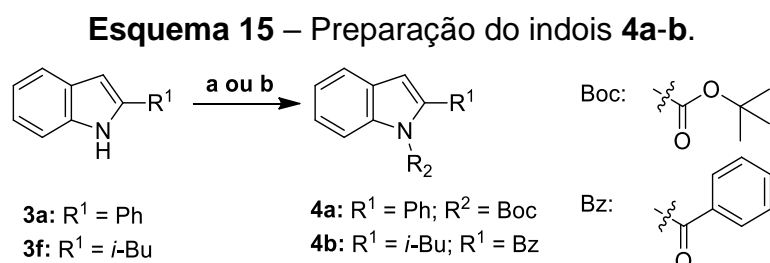


Como **4c'** e têm Rf's muito próximos, sua purificação por cromatografia em coluna mostrou-se inviável. Nesse sentido, foram realizadas diversas tentativas de separação das duas substâncias por CCD, no entanto, nenhuma das condições se mostrou favorável para a separação das substâncias.

Com isso, foi decidido mudar as condições reacionais para que houvesse favorecimento da *N*-aquilação frente a *C*-aquilação. Portanto, pensou-se em modificar a base utilizada durante a reação, a fim de diminuir ou eliminar a desprotonação de C3. No entanto, tendo em vista que funcionalizações do nitrogênio foram realizadas com êxito e com purificações mais simples quando utilizado o (Boc)₂O ou o BzCl (Sessão 3.4.2, p. 56), decidiu-se não realizar outras tentativas de funcionalização com o grupamento benzila.

3.3.2 Síntese do Derivado Carbamoilado **4a** e Benzoilado **4b**

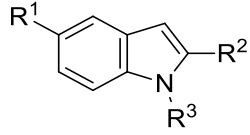
Ainda utilizando o derivado **3a** como substrato-modelo, realizou-se uma reação de carbamoilação com o dicarbonato de di-*tert*-butila em um meio contendo DMAP, como base, e acetonitrila seca, como solvente, produzindo-se o indol carbamoilado (**4a**, Esquema 12). Além disso, com base nos resultados biológicos obtidos para a série A1 (Sessão 3.5, p. 59), que evidenciaram que apenas o indol **3f** apresentou atividade (CIM = 100 µg mL⁻¹), optou-se por realizar uma modificação estrutural do N1 e/ou verificar a importância desse nitrogênio para a atividade biológica desse indol, por meio de uma reação de benzoilação com cloreto de benzoila em um meio contendo NaOH e hidrogenossulfato de tetrabutilamônio em diclorometano seco (**4b**, Esquema 15).



Condições reacionais: (a) (Boc)₂O, DMAP, acetonitrila seca, 112h, 45%; (b) BzCl, NaOH, hidrogenossulfato de tetrabutilamônio, diclorometano seco, 185h a t.a. e 5h sob refluxo, 2%.

Os brutos reacionais foram purificados por cromatografia em coluna, obtendo-se os indóis desejados em rendimentos de 45 e 2%, respectivamente. A substância **4a** apresentou ponto de fusão condizente com aquele reportado na literatura (**Tabela 9**), e é válido ressaltar que o indol **4b** é inédito na literatura.

Tabela 9 – Características físicas, rendimento, ponto de fusão experimental e teórico dos derivados indólicos **4a-b**.

Nº				Característica	Rend.	P.F. (°C)	P.F. lit. (°C)
	R ¹	R ²	R ³	Física	(%)		
4a	H	Ph	Boc	Sólido transparente	45	75,1-75,8	75,8–76,9 ^a
4b	H	<i>i</i> -Bu	Bz	Óleo amarelo	2	-	-

^a Ackermann; Barfüsser; Potukuchi (2009).

As estruturas dessas substâncias foram confirmadas por de RMN de ¹H e ¹³C (**Figuras 20A-23A – Apêndice A**). No caso do espectro de RMN de ¹H, as substâncias apresentaram todos os sinais característicos do anel indólico, com exceção do sinal do NH, que desapareceu conforme já era esperado em ambos os espectros, e também pela presença de um simpleto com deslocamento químico em 1,30 ppm, com uma integral equivalente a 9 hidrogênios referente as metilas do grupo *t*-butil no caso de **4a**, ou de mais 5 hidrogênios aromáticos por volta de 7 ppm, no caso de **4b**, que correspondem ao grupo benzoíla, constatando que as reações de carbamoilação e de benzoilação foram realizadas.

Neste momento, poderia se pensar o motivo pelo qual não foi observado a carbamoilação ou a benzoilação em C3 nas substâncias **4a-b** como ocorreu na reação de benzilação (**4c**). Uma possível explicação para isso, é que no caso da reação de carbamoilação e benzoilação o sítio eletrofílico é mais duro, em razão de o carbono estar ligado a um elemento altamente eletronegativo, e portanto, preferirá interagir com o sítio mais duro, ou seja, o nitrogênio. Enquanto que, no caso da reação de benzilação, o carbono ligado ao bromo terá uma carga parcial positiva um pouco menor que o carbono da carbonila, pelo fato da menor eletronegatividade do bromo quando comparado ao oxigênio. Sendo assim, esse sítio eletrofílico será

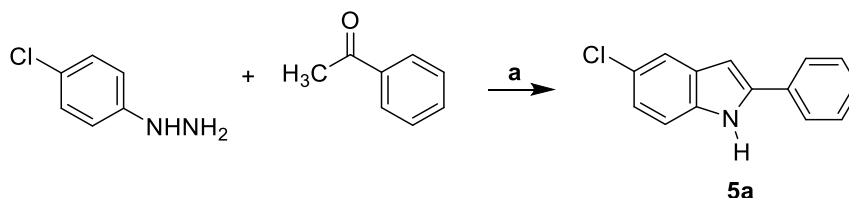
menos duro que o carbono da carbonila, portanto, poderá reagir também com sítio menos duro, ou seja, o carbânion, como aconteceu em **4c**.

Vale ressaltar que a reação de carbamoilação do **3a** já foi relatada na literatura (KUWANO; KASHIWABARA, 2006), onde os pesquisadores utilizando-se os mesmos reagentes, também obtiveram a inserção do grupamento BOC no átomo de nitrogênio. Enquanto que uma reação semelhante à de obtenção de **4b**, mas utilizando o indol como material de partida, também já foi relatada (KERR et al., 2017), sendo observada apenas a formação do indol benzoilado no nitrogênio, conforme também foi constatado nesse trabalho.

3.4 SÍNTESE DO DERIVADO **5a** PERTENCENTE A SÉRIE **B2**

Com relação à série **B1**, como nenhum dos indoís testados apresentou atividade frente ao *M. tuberculosis* (Sessão 3.5, p. 59), iniciou-se as modificações na porção benzênica do anel indólico, utilizando-se a mesma metodologia empregada na síntese dos indoís **3a-f**, porém, utilizando-se a 4-clorofenilhidrazina e a acetofenona como materiais de partida (**Esquema 16**).

Esquema 16 – Preparação do indol **5a**.



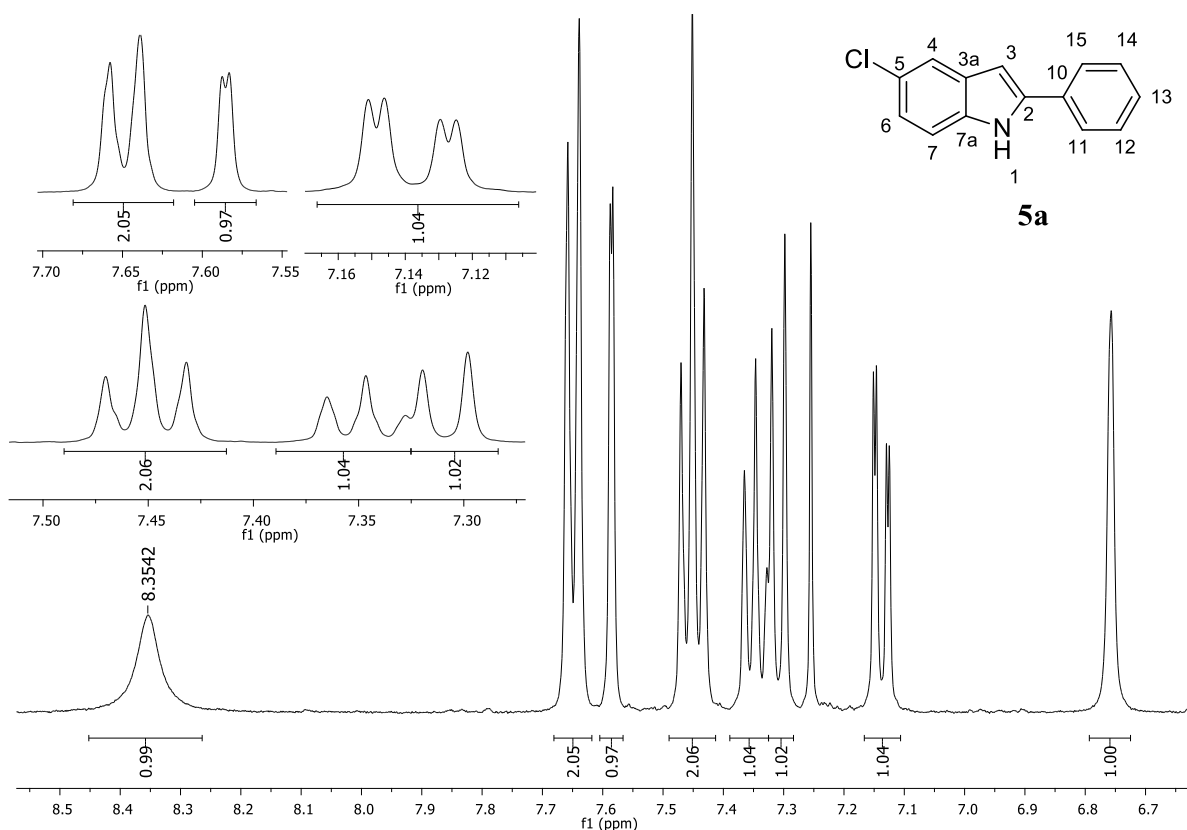
Condições reacionais: (a) ácido polifosfórico, 120 °C, 4h, 12%.

Assim, isolou-se o derivado **5a** do meio reacional como produto impuro, sendo posteriormente purificado por cromatografia em coluna com gradiente de polaridade, seguido de lavagem com uma solução de hexano/ CHCl_3 (5:1,25), obtendo-se a substância desejada como um sólido branco em 12% de rendimento. Tal substância apresentou um ponto de fusão de 203,3-204,1 °C, que está condizente com o reportado pela literatura (202,9 – 203,7 °C) (DAVIES et al., 2005)

Com relação a caracterização espectroscópica, a confirmação da obtenção de **5a** foi realizada de maneira análoga aos derivados da Série B1. Onde foram observados a presença dos sinais do hidrogênio ligado ao nitrogênio e do H3 em 8,35 e 6,76 ppm (**Figura 16**), respectivamente, ambos na forma de um simpleto largo, bem como a presença de seis sinais de hidrogênio aromático, com integral

total equivalente a oito hidrogênios, confirmando a obtenção da substância em questão. Os dados de RMN de ^1H estão de acordo com os da literatura (YU et al., 2012).

Figura 16 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **5a**.

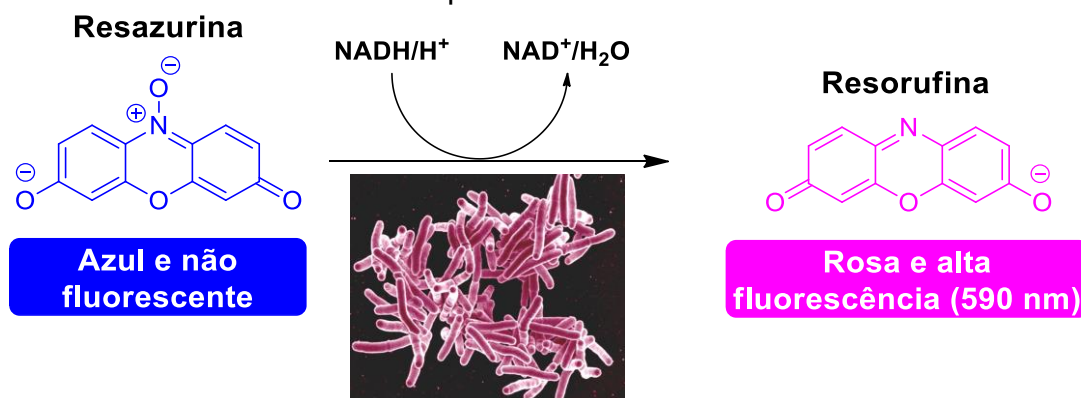


3.5 ENSAIOS *IN VITRO* PARA ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA DOS INDOIS DA SÉRIE **A1** E **B1** E PARA OS INDOIS **4a** E **5a**

A avaliação dos derivados indólicos foi realizada por meio do método MABA (do inglês, *Microplate Alamar Blue Assay*) (FRANZBLAU et al., 1998), que se trata de um método que estima o crescimento celular através do uso de um corante vital, conhecido como Alamar Blue[®], que é um indicador redox. Essa substância possui como ingrediente ativo um a resazurina que possui coloração azul e não possui fluorescência, porém, essa pode ser reduzida através de célula viável a resorufina, que possui coloração rosa e alta fluorescência (**Figura 17**). Sendo assim, a conversão da forma oxidada para a reduzida do indicador, permite realizar medições

quantitativas por meio de leituras colorimétricas e/ou fluorométricas ou apenas qualitativa onde é possível verificar visivelmente a mudança de cor. Portanto, é possível saber se há ou não a presença de células viáveis por meio dessa mudança de cor, haja visto que se no teste for observado que houve a mudança de azul para rosa, indica que houve a redução do indicador e, portanto, houve o crescimento celular, enquanto que, se não houver mudança de cor, indica que houve a inibição do crescimento celular, tendo em vista que não houve a redução da resazurina pelas células viáveis (RAMBERSAD, 2012).

Figura 17 – Ilustração da metodologia usada para os ensaios *in vitro* de atividade antimicrobacteriana que utiliza o indicador Alamar Blue.

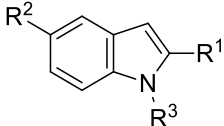


Fonte: adaptado de G-Biosciences (2019).

Então, espera-se o tempo de incubação necessário, e verifica-se qual foi a menor concentração da substância testada que teve a capacidade de evitar a mudança de cor da solução e, conseqüentemente, impedir o crescimento celular. Essa concentração é conhecida como CIM (concentração inibitória mínima) e é dada em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Dentre as substâncias sintetizadas, apenas o indol **4b** ainda não foi submetido ao ensaio de atividade antimicrobacteriana. Os resultados da atividade para os compostos testados (**3a-g**, **4a** e **5a**) são mostrados na **Tabela 10**.

Tabela 10 – Atividades *in vitro* dos derivados indólicos (**3a-g**, **4a** e **5a**) frente a cepa padrão (H37Rv) de *M. tuberculosis* (ATCC 27294), susceptível tanto à Rifampicina como à Isoniazida.

Nº				CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	clogP ^a	clogS
	R ¹	R ²	R ³			
3a	Ph	H	H	> 100	3,83	- 1,37
3b	4-BrPh	H	H	> 100	4,64	- 2,25
3c	4-OMePh	H	H	> 100	3,89	-1,39
3d	4-COOH	H	H	> 100	3,74	- 1,16
3e	Me	H	H	> 100	2,38	- 2,86
3f	<i>i</i> -Bu	H	H	100	3,70	- 3,61
3g	4-COOMePh	H	H	n.d. ^c	4,00	- 4,03
4a	Ph	H	Boc	n.d. ^c	4,93	- 5,01
5a	Ph	Cl	H	25	4,49	- 4,61

^acLogP foi calculado em www.molinspiration.com; ^b cLogS foi calculado em <http://www.swissadme.ch/index.php>; ^cA substância precipitou quando adicionada ao meio de cultura 7H9; n.d.: não determinado.

As substâncias que apresentaram uma CIM > 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ são consideradas inativas. Como pode ser observado pelos resultados, os indóis **3f** e **5a** apresentaram uma singela atividade frente à cepa testada, sendo que a atividade do segundo é quatro vezes maior do que a atividade do primeiro. Sendo assim, esses derivados podem ser utilizados como base para novas modificações estruturais a fim de se aumentar a atividade de derivados indólicos e também para se determinar os pontos críticos para a atividade biológica.

Com esses resultados, pode-se perceber também que quando há a substituição apenas em R¹, grupos aromáticos parecem não contribuir positivamente para a atividade biológica, mesmo contendo substituintes retiradores ou doadores de elétrons em *para* em relação ao núcleo indólico. Porém, grupos alifáticos parecem

ser capazes de modular a atividade, uma vez que o derivado contendo o *i*-Bu em R¹ apresentou uma atividade de 100 µg mL⁻¹. Também é possível concluir em parte que grupos alifáticos volumosos parecem influenciar mais positivamente na atividade do que os menos volumosos, pois o derivado contendo um grupo metila (**3e**) que é relativamente menor do que o grupo *i*-Bu contido no **3f**, não apresentou atividade, enquanto que esse último que é mais volumoso e lipofílico do que o primeiro, apresentou atividade. Para se concluir com exatidão que grupos alifáticos volumosos influenciam mais na atividade do que os menos volumosos, seria necessário realizar a síntese e a avaliação de novos derivados contendo substituintes em R¹ alifáticos mais volumosos.

Além disso, a introdução do átomo de cloro em R² parece influenciar positivamente a atividade antimicobacteriana, pois quando comparado a **3a** (onde R² = H), a atividade melhorou consideravelmente, uma vez que **3a** foi inativo frente ao *M. tuberculosis* (CIM > 100 µg mL⁻¹). Para corroborar essa hipótese, outros derivados contendo R¹ = Cl poderão ser sintetizados e avaliados, inclusive um análogo de **3h** (onde R² = *i*-Bu e R¹ = Cl).

Com relação ao resultado do indol **3g** e **4a**, estes não podem ser devidamente avaliados frente à cepa do *M. tuberculosis*, haja visto que precipitaram no meio de cultura durante a execução dos ensaios antimicobacterianos, em decorrência do meio utilizado nos testes ser predominantemente aquoso. Como é possível observar através dos cálculos do coeficiente de partição (expressos como clogP) e pelo valor da solubilidade em água (expresso como o logaritmo da solubilidade - logS), **4a** é mais lipofílico e conseqüentemente menos solúvel em água (também comprovado pelo valor do logS) do que **3a**. Portanto, não é possível informar com extrema certeza que esse composto é inativo frente à micobactéria, pois em decorrência da precipitação, não há como garantir que toda a massa do composto que é utilizado no teste esteja solúvel no meio para impedir o crescimento micobacteriano.

Com relação à modificação estrutural em N1, ainda não há como informar se a inserção de grupos nessa posição aumentaria a atividade, pois como não se tem um resultado confiável da atividade de **4a**, em decorrência de sua precipitação no meio de avaliação, não se pode comparar os resultados dessa substância com o da **3a** (onde R² = H), que não apresentou atividade.

4 CONCLUSÃO

Nesse trabalho foram sintetizados dez derivados indólicos (**3a-g**, **4a-b** e **5a**), sendo um deles inédito na literatura (**4b**) em rendimentos globais que variaram de 0,14 a 51%. Todos foram devidamente caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C e alguns também por ponto de fusão e espectrometria de massas.

A grande maioria dos indóis (**3a-g**, **4a** e **5a**) foi submetida aos ensaios de atividade antimicobacteriana e os resultados dos testes mostraram que **3e** e **5a** apresentaram uma atividade de $100\ \mu\text{g mL}^{-1}$ e $25\ \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Portanto, as estruturas dessas duas substâncias podem ser utilizadas como protótipo para novas modificações estruturais, a fim de se melhorar seu potencial antimicobacteriano. Dentre as substâncias testadas, os derivados **3g** e **4a** precipitaram enquanto se realizava os ensaios antimicobacterianos, portanto, não foi possível determinar qual a atividade antimicobacteriana dessas substâncias com acurácia.

Por meio de um REA preliminar com base nos resultados da atividade antimicobacteriana, pode-se dizer que um átomo de cloro na posição 4 da porção benzênica do indol, bem como, grupo alifático volumoso em C2 influenciam na atividade frente ao *M. tuberculosis*.

Como perspectivas, podem ser sintetizados novos derivados com cloro em C5, variando os grupamentos em C2 e N1. Além disso, pretende-se avaliar a citotoxicidade em células de mamíferos dos compostos mais ativos.

5 METODOLOGIA

5.1 PROCEDIMENTOS GERAIS

Os solventes de grau análise foram utilizados sem nenhum tratamento prévio. Os solventes e reagentes, para fins sintéticos, foram tratados, destilados e secos, conforme necessidades requeridas nas metodologias adotadas e de acordo com os processos descritos por Armarego e Chai (2003). O processo de monitoramento das reações foi realizado através da cromatografia em camada delgada (CCD), em cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60 F-254 com espessura de 0,25 mm com indicador para UV (254nm), marca Merck. Os eluentes foram preparados volume a volume (v/v) e a revelação das substâncias em CCD foi realizada em lâmpada de UV (254-366nm) ou em vanilina sulfúrica ou em solução etanólica de ácido fosfomolibdico a 10% (p/V). Para a purificação de substâncias por cromatografia em coluna aberta foi utilizada sílica gel 60 (0,063-0,200mm, Merck) ou sílica gel (35-75 μ m, Sigma-Aldrich).

5.2 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

Os pontos de fusão (P.f.) das substâncias foram determinados em um aparelho Microquímica MQAPF 302 e foram corrigidos após realização da curva de calibração do aparelho ($y = 0,9808x + 3,2937$ e $R^2 = 0,9977$)

Os espectros de massas foram obtidos no cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM) Shimadzu modelo GCMS-QP5000, 99604 do Laboratório de Pesquisa em Moléculas Bioativas (LPMBA).

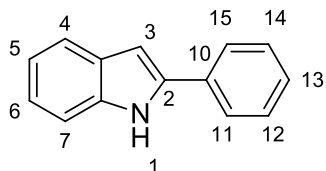
Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram obtidos em um espectrômetro Bruker modelo Avance III, operando a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C , equipado com sondas multinucleares de 5 mm. Este espectro foi registrado utilizando CDCl_3 como solvente e tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. O software utilizado para o processamento dos espectros foi o MestReNova versão 6.0.2-5475. Enquanto que para o processamento do espectro de HSQC (do inglês *Heteronuclear Single-Quantum Correlation*), foi utilizado o software TopSpin

3.6.1. Para calibração do espectro de RMN de ^1H foram adotados os valores de 0,00 ppm para TMS e 7,26 ppm para CDCl_3 . As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica, e suas multiplicidades foram descritas da seguinte forma: simpleto (s), duplete (d), tripleto (t), quarteto (q), noneto (non), simpleto largo (sl), duplo duplete (dd), duplo duplo-duplete (ddd), triplo duplete (td), duplo duplo-triplete, e multiplete (m). As constantes de acoplamento (J) foram relatadas em Hz.

5.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS INDÓIS DA SÉRIE **A1 (3e-f)**, **B1 (3a-d)** E **B2 (5a)**

Em um balão de fundo redondo de 125 mL, adicionou-se o ácido polifosfórico (32 eq), aquecendo-o a 120 °C, até se obter uma boa agitação. Então, foram adicionadas a fenilidrazina adequada (1.5 eq.) e a acetofenona correspondente (1,35 g; 1,0 eq), nessa ordem. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética constante a 120 °C por 4h (exceto na síntese do **3d**, que foi agitado por 1h50). Em seguida, adicionou-se água destilada gelada (80 mL, com exceção da **3e** e **3f**, onde adicionou-se água até a completa solubilização da pasta que é formada) à mistura e foi realizada uma extração com acetato de etila (3 x 50 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de magnésio anidro e o excesso de solvente foi evaporado à pressão reduzida, fornecendo produtos como sólidos impuros. Esses foram devidamente purificados por cromatografia em coluna, por lavagem ou por recristalização, obtendo-se os indóis **3a-f** e **5a** em rendimentos que variaram de 7 a 51%.

2-fenil-1H-indol (3a): Sólido bege; 34% (0,5442g); **Pf**: 187,1-188,2 °C (purificado por recristalização com MeOH); **Lit**: 186,0–188,6



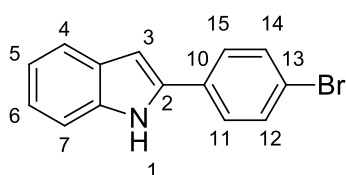
3a

(ACKERMANN; BARFÜSSER; POTUKUCHI, 2009). **EM (m/z)**: 193 (100%). **RMN de ^1H [CDCl_3 , 400 MHz]** δ : 8,35 (1H, sl, NH), 7,68 (2H, d, $J = 7,3$ Hz, H11 e H15), 7,64 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, H7), 7,45 (2H, t, $J = 7,3$ Hz, H12 e H14), 7,41

(1H, d, $J = 7,9$ Hz, H4), 7,33 (1H, t, $J = 7,3$ Hz, H13), 7,21 (1H, td, $J = 7,9$ e 1,1 Hz, H6), 7,13 (1H, td, $J = 7,9$ e 1,0 Hz, H5), 6,84 (1H, sl H3); **Lit.:** **RMN de ^1H [CDCl_3 , 400 MHz]** δ : 8,30 (1 H, sl, indolil NH), 7,61– 7,70 (3 H, m, ArH), 7,39–7,48 (3 H, m, ArH), 7,30–7,35 (1 H, m, ArH), 7,17–7,23 (1 H, m, ArH), 7,10–7,15 (1 H, m, ArH),

6,82–6,85 (1 H, m, ArH) (TYRRELL; WHITEMAN; WILLIAMS, 2009). **RMN de ^{13}C [CDCl₃, 100 MHz]** δ : 137,9, 136,8, 132,3, 129,2, 129,0, 127,7, 125,1, 122,3, 120,6, 120,3, 110,9, 99,9; **Lit.: RMN de ^{13}C [CDCl₃, 100 MHz]** δ : 138,0, 136,9, 132,5, 129,4, 129,1, 127,8, 125,3, 122,5, 120,8, 120,5, 111,0, 100,1 (TYRRELL; WHITEMAN; WILLIAMS, 2009).

2-(4-bromofenil)-1H-indol (3b): Sólido amarelo escuro; 12% (0,0483g); Purificado

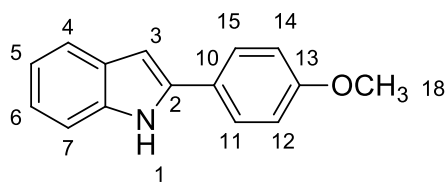


3b

por cromatografia em coluna com gradiente de polaridade: hexano/AcOEt; **Lit:** 212-213 °C. (JOUCLA; BATAIL; DJAKOVITCH, 2010) **EM (m/z):** 271 (100 %), 273 (99%). **RMN de ^1H [CDCl₃, 400 MHz]** δ : 8,33 (1H, sl, NH), 7,63 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, H7), 7,57 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H12 e

H14), 7,53 (2H, d, $J = 8,6$ Hz, H11 e H15), 7,40 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H4), 7,21 (1H, t, $J = 7,2$ Hz, H6), 7,13 (1H, t, $J = 7,3$ Hz, H5), 6,82 (1H, s, H3); **Lit.: RMN de ^1H [CDCl₃, 300 MHz]** δ : 8,29 (1H, s, N-H), 7,57 (5H, m), 7,40 (1H, d, $J = 8,0$), 7,15 (2H, m), 6,82 (1H, s). (RUBIO-MARQUÉS et al., 2015) **RMN de ^{13}C [CDCl₃, 100 MHz]** δ : 137,1, 136,8, 132,3, 131,5, 129,3, 126,7, 122,9, 121,7, 120,9, 120,6, 111,1, 100,7; **Lit.: RMN de ^{13}C [CDCl₃, 300 MHz]** δ : 136,9 (C), 136,7 (C), 132,2 (CH), 131,3 (C), 129,1 (C), 129,1 (CH), 128,2 (CH), 126,6 (CH), 122,7 (CH), 121,5 (C), 120,8 (CH), 120,5 (C), 111,0 (CH), 100,5 (CH) (RUBIO-MARQUÉS et al., 2015).

2-(4-metoxifenil)-1H-indol (3c): Sólido bege;



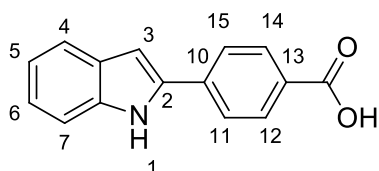
3c

37% (0,3333g); **Pf:** 233,5-233,8 °C (corrigido) (purificado por recristalização com MeOH); **Lit:** 232-233 °C. (JIN et al., 2011) **EM (m/z):** 223 (100 %). **RMN de ^1H [CDCl₃, 400 MHz]** δ : 8,21 (1H, sl, NH), 7,53 (3H, m, H7, H11 e H15), 7,31

(1H, d, $J = 7,9$ Hz, H4), 7,10 (1H, t, $J = 7,4$ Hz, H6), 7,04 (1H, t, $J = 7,4$ Hz, H5), 6,91 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H12 e H14), 6,64 (1H, sl, H3), 3,79 (3H, s); **Lit.: RMN de ^1H [CDCl₃, 400 MHz]** δ : 8,25 (1H, br, NH), 7,59 (3H, d, $J = 5,9$ Hz, ArH), 7,38 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, ArH), 7,16 (1H, t, ArH), 7,11 (1H, t, ArH), 6,98 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, ArH), 6,71 (1H, s, ArH), 3,86 (3H, s, OCH₃). (JIN et al., 2011) **RMN de ^{13}C [CDCl₃, 100 MHz]** δ : 159,5, 138,1, 136,8, 129,6, 126,6, 125,4, 122,1, 120,5, 120,3, 114,6, 110,9, 99,0,

55,5; **Lit.:** RMN de ^{13}C [CDCl_3 , 400 MHz] δ : 159,4, 137,9, 136,7, 129,4, 126,5, 125,2, 121,9, 120,4, 120,2, 114,5, 110,7, 98,8, 55,4 (JIN et al., 2011).

Ácido 4-(1*H*-indol-2-il)benzoico (3d): 7% (0,0567 g); Purificado por lavagem com

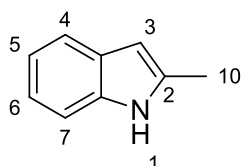


3d

EtOH; **RMN de ^1H [MeOD, 400 MHz] δ :** 7,94 (2H, d, $J = 8,55$ Hz), 7,88 (2H, d, $J = 8,55$ Hz), 7,55 (1H, d, $J = 7,9$ Hz), 7,40 (1H, d, $J = 8,2$ Hz), 7,12 (1H, td, $J = 7,56$ e 0,91 Hz), 7,01 (1H, td, $J = 7,46$ e 0,60 Hz), 6,93 (1H, sl);

Lit.: RMN de ^1H [DMSO, 400 MHz] δ : 12,95 (1H, s), 11,69 (1H, s), 7,97-8,02 (4H, m), 7,57 (1H, d, $J = 7,8$ Hz), 7,42 (1H, d, $J = 7,9$ Hz), 7,12-7,16 (1H, m), 7,00-7,06 (2H, m) (PONPANDIAN; MUTHUSUBRAMANIAN, 2012); **RMN de ^{13}C [MeOD, 100 MHz] δ :** 172,0, 139,3, 138,0, 137,7, 133,2, 130,5, 129,4, 125,9, 123,4, 121,6, 120,8, 112,3, 101,4; **Lit.:** RMN de ^{13}C [DMSO, 100 MHz] δ : 167,8, 137,9, 136,9, 136,7, 130,7, 129,4, 128,9, 125,4, 123,1, 121,1, 120,4, 112,1, 101,2 (PONPANDIAN; MUTHUSUBRAMANIAN, 2012).

2-metil-1*H*-indol (3e): Sólido alaranjado; 51% (0,3457); **Pf:** 57-58 °C (purificado por

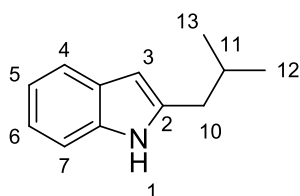


3e

cromatográfica em coluna isocrática: hexano/AcOEt (95/5); **Lit:** 57–59 °C (AMBROGIO et al., 2009) **EM (m/z):** 131 (100 %).

RMN de ^1H [CDCl_3 , 400 MHz] δ : 7,83 (1H, sl, NH), 7,51 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H7), 7,27 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H4), 7,10 (1H, ddd, $J = 7,6$ e 1,4 Hz, H6), 7,06 (1H, ddd, $J = 7,6$ e 1,3 Hz, H5), 6,21 (1H, t aparente, $J = 0,7$ Hz, H3), 2,44 (3H, d aparente, $J = 0,7$ Hz, H10); **Lit.:** RMN de ^1H [CDCl_3 , 400 MHz] 7,76 (1H, sl), 7,59 (1H, d, $J = 7,5$ Hz), 7,30 (1H, d, $J = 7,6$ Hz), 7,25–7,10 (2H, m), 6,29 (1H, s), 2,46 (3H, s) (AMBROGIO et al., 2009); **δ :** RMN de ^{13}C [CDCl_3 , 100 MHz] δ : 136,1, 135,2, 129,1, 121,0, 119,7, 110,3, 100,4, 13,8; **Lit.:** RMN de ^{13}C [CDCl_3 , 100 MHz] δ : 136,1, 135,1, 129,1, 120,9, 119,6, 110,3, 100,4, 13,7 (AMBROGIO et al., 2009).

2-isobutil-1*H*-indol (3f): Sólido amarelo; 7% (0,0559g); Purificado por

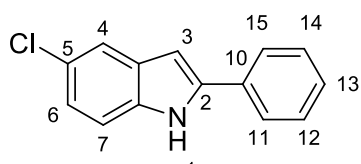


3f

cromatográfica em coluna isocrática: hexano/AcOEt (98/2); **EM (m/z):** 173 (43 %). **RMN de ^1H [CDCl_3 , 400 MHz] δ :** 7,83 (1H, sl, NH), 7,53 (1H, d, $J = 7,4$ Hz, H7), 7,29 (1H, d, $J = 7,4$

Hz, H4), 7,11 (1H, td, $J = 7,4$ e $1,1$ Hz, H6), 7,06 (1H, td, $J = 7,4$, $1,0$ Hz, H5), 6,23 (1H, d, $J = 0,9$ Hz, H3), 2,62 (2H, d, $J = 6,8$ Hz, H10), 1,98 (1H, non, $J = 6,8$ Hz, H11), 0,98 (6H, d, $J = 6,8$ Hz, H12 e H13); **RMN de ^{13}C [CDCl_3 , 100 MHz]** δ : 138,9, 135,8, 128,9, 120,9, 119,7, 119,5, 110,3, 100,5, 37,7, 29,0, 22,5; **Lit.: RMN de ^{13}C [CDCl_3 , 62,9 MHz]** δ : 139,0, 136,0, 129,1, 121,0, 119,9, 119,7, 110,4, 100,6, 37,9, 29,1, 22,7 (JIAO; BACH, 2011).

5-cloro-2-fenil-1H-indol (5a): Sólido branco; 12% (0,0786 g); **Pf:** 203,3-204,1 °C



5a

[purificado por cromatografia em coluna com gradiente de polaridade: hexano/AcOEt, seguido de lavagem com uma solução de hexano/ CHCl_3 (5:1,25)]; **Lit:** 202,9 – 203,7 °C (DAVIES et al., 2005); **RMN de ^1H [CDCl_3 , 400 MHz]** δ :

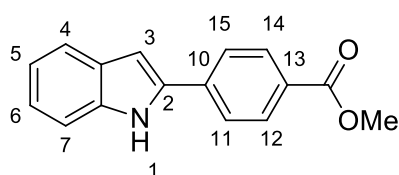
8,35 (1H, sl, NH), 7,65 (2H, d, $J = 7,5$ Hz, H11 e H15), 7,59 (1H, d, $J = 1,7$ Hz, H4), 7,45 (2H, t, $J = 7,5$ Hz, H12 e H14), 7,35 (1H, t, $J = 7,5$ Hz, H13), 7,31 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, H7), 7,14 (1H, dd, $J = 8,6$ e $1,7$ Hz, H6), 6,76 (1H, sl, H3); **Lit.: RMN de ^1H [CDCl_3 , 400 MHz]** δ : 8,33 (s, 1H), 7,60 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,56 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 7,42 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,32 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,25 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,11 (dd, $J = 2,0$ e $8,4$ Hz, 1H), 6,72 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H) (YU et al., 2012); **RMN de ^{13}C [CDCl_3 , 100 MHz]** δ : 139,4, 135,3, 132,0, 130,5, 129,3, 128,3, 126,0, 125,4, 122,7, 120,1, 112,0, 99,7 ; **Lit.: RMN de ^{13}C [CDCl_3 , 100 MHz]** δ : 139,3, 135,1, 131,8, 130,3, 129,1, 128,1, 125,8, 125,2, 122,5, 119,9, 111,8, 99,5 (YU et al., 2012);

5.4 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DO INDOL **3g** (SÉRIE **A1**)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, contendo metanol (10 mL) foi gotejado lentamente o cloreto de tionila (7,5 eq.), mantendo-se a solução em banho de gelo e sob agitação magnética constante durante toda a adição. Em seguida, o indol **3d** (0,1316 g, 1,0 eq.) foi adicionado em uma única porção à mistura reacional. Então, o banho de gelo foi retirado e a mistura reacional foi mantida sob agitação magnética constante à temperatura ambiente por 116h e mais 12h30 sob refluxo. Após esse período, foi confirmado o término da reação por CCD (neutralização com solução saturada de NaHCO_3 , mini-extração com acetato de etila, utilizando-se com eluente uma mistura de AcOet/Hexano (8:2) e como reveladores a luz UV, seguida

de solução de vanilina sulfúrica). Então, o solvente foi evaporado à pressão reduzida, obtendo-se como produto um sólido impuro, que foi purificado por cromatografia em coluna isocrática (hexano/AcOet 8:2), seguido de uma segunda cromatografia em coluna gradiente (hexano/AcOet), fornecendo um sólido amarelo pálido em 36 % de rendimento.

Benzoato de 4-(1*H*-indol-2-il) metila (3g): Sólido amarelo; 36 % (0,0502 g); **Pf**



3g

202,3-203,1 °C; **Lit:** 201-202 °C (CACCHI; FABRIZI; PARISI, 2003); **RMN de ¹H [CDCl₃, 400 MHz] δ:** 8,44 (s, 1H), 8,11 (2H, dt, *J* = 8,6 e 1,8 Hz), 7,73 (2H, dt, *J* = 8,6 e 1,8 Hz), 7,65 (1H, d, *J* = 7,8 Hz), 7,42 (1H, dd, *J* = 8,1 e 0,8 Hz), 7,24 (1H, ddd, *J* = 8,2, 7,2 e 1,2 Hz),

7,14 (1H, ddd, *J* = 8,0, 7,2 e 1,0 Hz), 6,96 (1H, dd, *J* = 2,1 e 0,8 Hz), 3,95 (3H, s);

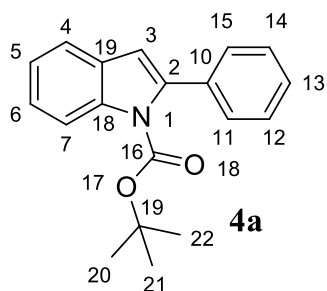
Lit.: RMN de ¹H [CDCl₃, 360 MHz] δ: 3,96 (3H, s), 6,97 (1H, s), 7,14 (1H, t, *J* = 7,6 Hz), 7,23 (1H, t, *J* = 7,5 Hz), 7,42 (1H, d, *J* = 8,0 Hz), 7,67 (1H, d, *J* = 7,9 Hz), 7,76 (2H, d, *J* = 8,3 Hz), 8,11 (2H, d, *J* = 8,3 Hz), 8,67 ppm (1H, sl) (WETZEL et al., 2010); **RMN de ¹³C [CDCl₃, 100 MHz] δ:** 166,9, 137,4, 136,7, 136,6, 130,5, 129,2, 129,1, 124,8, 123,3, 121,2, 120,7, 111,2, 102,0, 52,3; **Lit.: RMN de ¹³C [CDCl₃, 91 MHz] δ:** 166,7 (Cq), 146,1 (Cq), 137,5 (Cq), 136,7 (Cq), 133,0 (Cq), 130,1 (2xCH), 128,9 (Cq), 124,7 (2xCH), 123,3 (CH), 122,5 (CH), 120,8 (CH), 111,2 (CH), 101,3 (CH), 52,0 (CH₃) (WETZEL et al., 2010).

5.5 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DO INDOL **4a** (SÉRIE **B3**)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, uma solução de dicarbonato de di-terc-butila ((Boc)₂O, 1,1 eq.) em acetonitrila seca (1 mL) foi adicionada à uma solução de **3a** (0,1000 g, 0,5175 mmol, 1,0 eq.) e 4-(*N,N*-dimetilamino)piridina (DMAP, 1,5 eq.) em acetonitrila seca (3 mL). Então, a mistura reacional foi mantida sob agitação magnética constante por 112h, não se constatando o término da reação por CCD [eluente: hexano/AcOEt (8:2), reveladores UV/vanilina sulfúrica]. Ainda assim, optou-se por tentar isolar o produto, para tal o solvente foi evaporado à pressão reduzida e, posteriormente, adicionou-se água gelada (20 mL) e o produto foi extraído com acetato de etila (3 x 20 mL). A combinação das fases orgânicas foi seca com MgSO₄ anidro e o solvente evaporado

à pressão reduzida, obtendo-se um produto impuro, que foi purificado por cromatografia em coluna com a condição isocrática de hexano/AcOEt (50:1), obtendo-se um sólido transparente amarelado em 45 % de rendimento.

tert-butil 2-fenil-1H-indol-1-carboxilato (4a): Sólido transparente amarelado; 45%



(0,1378 g); **Pf:** 75,1-75,8°C; **Lit:** 75,8–76,9 (ACKERMANN; BARFÜSSER; POTUKUCHI, 2009); **RMN de ¹H [CDCl₃, 400 MHz]** δ: 8,22 (1H, d, *J* = 7,9 Hz, H7), 7,55 (1H, d, *J* = 7,9 Hz, H4), 7,45 – 7,35 (5H, m), 7,33 (1H, t, *J* = 7,9 Hz, H6), 7,25 (1H, t, *J* = 7,9 Hz, H5), 6,55 (1H, sl, H3), 1,30 (9H, s, H20-H22); **Lit.: RMN de ¹H [CDCl₃, 400 MHz]** δ: 8,21

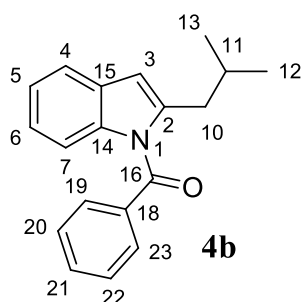
(1H, d, *J* = 8,3 Hz), 7,55 (1H, d, *J* = 7,7 Hz), 7,30–7,44 (6H, m), 7,25 (1H, t, *J* = 7,4 Hz), 6,55 (1H, s), 1,30 (9H, s) (KUWANO; KASHIWABARA, 2006); **RMN de ¹³C [CDCl₃, 100 MHz]** δ: 150,3, 140,6, 137,6, 135,1, 129,4, 128,9, 127,9, 127,7, 124,4, 123,0, 120,6, 115,3, 110,0, 83,5, 27,7; **Lit.: RMN de ¹³C [CDCl₃, 100 MHz]** δ: 150,2, 140,5, 137,4, 135,0, 129,2, 128,7, 127,8, 127,5, 124,3, 122,9, 120,4, 115,2, 109,9, 83,4, 27,5 (KUWANO; KASHIWABARA, 2006).

5.6 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DO INDOL **4b**

À um balão de fundo redondo de 25 mL, contendo **3f** (0,05 g, 1.0 eq.), NaOH na forma de pó (2,5 eq.) e hidrogenossulfato de tetrabutilamônio (0.021 eq.) sob atmosfera de nitrogênio, foi adicionado diclorometano (CH₂Cl₂) seco (3 mL). Após a solubilização parcial dos sólidos, uma solução de cloreto de benzoíla (BzCl, 1.5 eq.) em CH₂Cl₂ seco (2 mL) foi adicionada gota a gota à mistura reacional. Então, manteve-se a mistura sob agitação à temperatura ambiente, acompanhando-se o término da reação por CCD. Após não constatar o término da reação com 46 horas de agitação, foi adicionado, gota a gota, mais 0,023 mL de BzCl em CH₂Cl₂ seco (1 mL) ao balão reacional. Então, com 74h30 de reação, adicionou-se uma solução de NaOH (2.9 eq.) e hidrogenossulfato de tetrabutilamônio (0.02 eq.) em CH₂Cl₂ (2 mL), mantendo-se a reação sob refluxo por 5 horas e outras 68h a temperatura ambiente. Posteriormente, adicionou-se ainda uma solução de BzCl (1,5 eq.) em CH₂Cl₂ seco (2 mL) e a mistura permaneceu sob agitação magnética constante por mais 43h.

Ainda assim, não se evidenciou o total consumo da matéria-prima. Então, optou-se por isolar o produto, removendo-se o solvente à pressão reduzida. Posteriormente, purificou-se o produto por cromatografia em coluna isocrática, utilizando-se como fase móvel uma mistura de acetato de etila/hexano (1:50), obtendo-se o indol **4b** como um óleo amarelo em 2% de rendimento.

(2-isobutil-1H-indol-1-il)(fenil)metanona (4b): Óleo viscoso com cor caramelo; 2%



(0,0016 g); **RMN de ^1H [CDCl_3 , 400 MHz]** δ : 7,72 (2H, dd, $J = 7,7$ e $1,3$ Hz), 7,64 (1H, ddt, $J = 7,5$ e $1,1$ Hz), 7,49 (3H, m), 7,13 (1H, ddd, $J = 7,5$ e $0,8$ Hz), 6,98 (1H, ddd, $J = 8,4$ e $1,2$ Hz), 6,85 (1H, d, $J = 8,4$ Hz), 6,46 (1H, sl), 2,73 (2H, d, $J = 7,1$ Hz), 1,87 (1H, non, $J = 6,7$ Hz), 0,88 (6H, d, $J = 6,6$ Hz); **RMN de ^{13}C [CDCl_3 , 100 MHz]** δ : 170,2, 141,9, 137,5, 135,6, 133,2, 130,1, 129,5, 128,9, 122,7, 122,5, 120,1, 114,2, 108,8,

38,0, 28,5, 22,6.

5.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA (REIS ET AL., 2014)

Os testes de atividade antimicobacteriana foram realizados sob responsabilidade da pesquisadora Maria Cristina da Silva Lourenço no Departamento de Bacteriologia do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/FIOCRUZ – Rio de Janeiro).

A cepa de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 (American Type Culture Collection, Rockville, Md.) foi subcultivada no ágar Middlebrook 7H10 (Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, Md.). A suspensão foi preparada em 0,02% (v/v) de Tween 80 e 0,2% de albumina de soro bovino (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) e ajustada à uma turbidez correspondente a 1,0 da escala de McFarland. Posteriormente, a mistura foi diluída 1:25 em caldo 7H9GC (base de caldo Middlebrook 7H9) e casitona (Difco, Detroit, Michigan). As soluções dos compostos foram diluídas em meio 7H9GC até duas vezes o máximo da concentração final desejada no teste, antes da adição às microplacas. Subsequentemente, foram adicionados 200 μL de água deionizada e esterilizada em todo o perímetro exterior das placas de micropoços esterilizados (Nuncion™; Nunc A/S, Roskilde, Denmark), a fim de minimizar a evaporação do meio durante o

período de incubação dos testes. As microplacas contendo 96 poços foram organizadas pelas linhas B a G, com colunas numeradas de 2 a 11, para receber 100 µL de meio 7H9GC. Em seguida, 100 µL de solução dos compostos teste foram adicionados nos poços das linhas B a G, na coluna 2, utilizando uma pipeta de multicanal, sendo o conteúdo de cada poço homogeneizado posteriormente. As diluições idênticas de 1:2 em série foram realizadas através das colunas restantes (exceto a coluna 11). Os intervalos de concentração final de composto foram de 100 a 3,2 µg/mL.

A inoculação do *M. tuberculosis* foi realizada através da adição de 100 µL de inóculo aos poços nas filas B a G nas colunas 2 a 11 utilizando uma pipeta de repetição, originando um volume final de 200 µL por poço. As placas (realizadas em triplicata) foram na sequência seladas com Parafilm® e incubadas a 37 °C durante 5 dias. O reagente de Alamar Blue e 10% de Tween 80 foram adicionados à coluna 11 (controle de viabilidade celular) e as placas reincubadas a 37 °C por 24h. Se o poço da coluna 11 adquiriu a coloração rosa, a mistura do reagente foi adicionada a todos os poços restantes das microplacas, sendo novamente vedadas com Parafilm® e incubadas durante mais 24 h a 37° C. Após este período, as cores de todos os poços registradas. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração de substância-teste que impediu uma mudança de cor de azul para rosa.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, R. J.; REID, M. ¹H chemical shifts in NMR. Part 18.1 Ring currents and π -electron effects in hetero-aromatics. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, n. 6, p. 1081–1091, 22 maio 2002. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=b201789j>>.
- ACKERMANN, L.; BARFÜSSER, S.; POTUKUCHI, H. K. Copper-Catalyzed N - Arylation/Hydroamin(d)ation Domino Synthesis of Indoles and its Application to the Preparation of a Chek1/KDR Kinase Inhibitor Pharmacophore. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 351, n. 7–8, p. 1064–1072, maio 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/adsc.200900004>>.
- AMBROGIO, I. et al. 3-(o-Trifluoroacetamidoaryl)-1-propargylic esters: common intermediates for the palladium-catalyzed synthesis of 2-aminomethyl-, 2-vinyl-, and 2-alkylindoles. **Tetrahedron**, v. 65, p. 8916–8929, 2009.
- ANGELOVA, V. T. et al. New indole and indazole derivatives as potential antimycobacterial agents. **Medicinal Chemistry Research**, v. 28, n. 4, p. 485–497, 8 abr. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00044-019-02293-w>>.
- ARBEX, M. A. et al. O desafio do tratamento da tuberculose extensivamente resistente em um hospital de referência no estado de São Paulo: um relato de três casos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 41, n. 6, p. 554–559, dez. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132015000600554&lng=en&tling=en>.
- ARMAREGO, W. L. E. .; CHAI, C. L. L. **Purification of Laboratory Chemicals**. 3. ed. Australia: Pergamon Press, 1998.
- BRANCO, F. S. C.; PINTO, A. C.; BOECHAT, N. A Química Medicinal de Novas Moléculas em Fase Clínica para o Tratamento da Tuberculose. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 3, p. 287–328, 2012. Disponível em: <<http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1984-6835.20120023>>.
- CACCHI, S.; FABRIZI, G.; PARISI, L. M. 2-Aryl and 2-Heteroaryl Indoles from 1-Alkynes and o -Iodotrifluoroacetanilide through a Domino Copper-Catalyzed Coupling–Cyclization Process †. **Organic Letters**, v. 5, n. 21, p. 3843–3846, out. 2003. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ol035378r>>.
- CAI, S. et al. Okaramines S–U, three new indole diketopiperazine alkaloids from *Aspergillus taichungensis* ZHN-7-07. **Tetrahedron**, v. 71, n. 22, p. 3715–3719, jun. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2014.09.019>>.
- CAMPOS, H. S. Tratamento da tuberculose. **Pulmão RJ**, v. 16, n. 1, p. 21–31, 2007.
- CANO et al. Tuberculose em pacientes pediátricos: como tem sido feito o diagnóstico? **Rev. Paul Pediatr.**, v. 35, n. 2, p. 165–170, 2017.

COSTA, C. F. et al. Synthesis and antitubercular activity of novel amino acid derivatives. **Chem. Biol. Drug. Des.**, v. 79, p. 216–222, 2012.

DALIAN ZHAO et al. Regioselective Fischer indole route to 3-unsubstituted indoles. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 56, p. 3001–3006, 1991.

DAVIES, I. W. et al. A highly active catalyst for the reductive cyclization of ortho-nitrostyrenes under mild conditions. **Tetrahedron**, v. 61, n. 26, p. 6425–6437, jun. 2005. Disponível em:
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004040200500606X>>.

DE SA ALVES, F.; BARREIRO, E.; MANSSOUR FRAGA, C. From Nature to Drug Discovery: The Indole Scaffold as a ‘Privileged Structure’ **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 7, p. 782–793, 1 jun. 2009. Disponível em:
<<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-5575&volume=9&issue=7&spage=782>>.

DE SOUZA, M. V. N.; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: Passado, presente e futuro. **Quimica Nova**, v. 28, n. 4, p. 678–682, 2005.

DESIMONE, R. et al. Privileged Structures: Applications in Drug Discovery. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 7, n. 5, p. 473–493, 1 ago. 2004. Disponível em:
<<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1386-2073&volume=7&issue=5&spage=473>>.

DEVOGELAERE, B. et al. TMC647055, a Potent Nonnucleoside Hepatitis C Virus NS5B Polymerase Inhibitor with Cross-Genotypic Coverage. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 9, p. 4676–4684, set. 2012. Disponível em:
<<http://aac.asm.org/lookup/doi/10.1128/AAC.00245-12>>.

DIERS, J. A. et al. Identification of antidepressant drug leads through the evaluation of marine natural products with neuropsychiatric pharmacophores. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 89, n. 1, p. 46–53, mar. 2008. Disponível em:
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091305707003334>>.

DUARTE, C.; BARREIRO, E.; FRAGA, C. Privileged Structures: A Useful Concept for the Rational Design of New Lead Drug Candidates. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 11, p. 1108–1119, 1 nov. 2007. Disponível em:
<<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-5575&volume=7&issue=11&spage=1108>>.

FERREIRA, M. D. L. et al. Tuberculose infantil : tratamento e problemas relacionados. **Rev. Bras. Farm**, v. 88, n. 1, p. 38–44, 2007a.

FERREIRA, M. D. L. et al. Síntese e atividade anti-micobacteriana de derivados do ácido isonicotínico. 2007b.

FRANZ, N. D. et al. Design, synthesis and evaluation of indole-2-carboxamides with pan anti-mycobacterial activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 14, p. 3746–3755, jul. 2017. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089617304996>>.

FRANZBLAU, S. G. et al. Rapid, low-technology MIC determination with clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates by using the microplate Alamar Blue assay. **Journal of clinical microbiology**, v. 36, n. 2, p. 362–6, fev. 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9466742>>.

G-BIOSCIENCES. **Alamar Blue Cell Viability Assay**. Disponível em: <<https://www.gbiosciences.com/Bioassays/Alamar-Blue-Cell-Viability-Assay>>.

GRIBBLE, G. W. Recent developments in indole ring synthesis—methodology and applications. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, v. 1, n. 7, p. 1045–1075, 2000. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=a909834h>>.

HERAVI, M. M. et al. Fischer indole synthesis applied to the total synthesis of natural products. **RSC Advances**, v. 7, n. 83, p. 52852–52887, 2017.

JIAO, L.; BACH, T. Palladium-catalyzed direct 2-alkylation of indoles by norbornene-mediated regioselective cascade C-H activation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, p. 12990–12993, 2011.

JIN, Z. et al. Well-defined NHC-Pd complex-mediated intermolecular direct annulations for synthesis of functionalized indoles (NHC = N-hetero-cyclic carbene). **Applied Organometallic Chemistry**, v. 25, n. 7, p. 502–507, 2011.

JOUCLA, L.; BATAIL, N.; DJAKOVITCH, L. “On water” direct and site-selective Pd-catalysed C-H arylation of (NH)-indoles. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v. 352, n. 17, p. 2929–2936, 2010.

JOULE, J. A.; MILLS, K. **Heterocyclic chemistry**. [s.l: s.n.]v. 5

KAISER, C. R. et al. Oxazolidinonas: uma nova classe de compostos no combate à tuberculose. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 2, p. 83–88, 2007.

KANAMARU, T. et al. In Vitro and In Vivo Antibacterial Activities of TAK-083, an Agent for Treatment of *Helicobacter pylori* Infection. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 9, p. 2455–2459, 1 set. 2001. Disponível em: <<http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.45.9.2455-2459.2001>>.

KAUSHIK, N. K. et al. Biomedical importance of indoles. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 6620–6662, 2013.

KERR, W. J. et al. Site-Selective Deuteration of N -Heterocycles via Iridium-Catalyzed Hydrogen Isotope Exchange. **ACS Catalysis**, v. 7, n. 10, p. 7182–7186, 6 out. 2017. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscatal.7b02682>>.

KONDREDDI, R. R. et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Indole-2-carboxamides: A Promising Class of Antituberculosis Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 21, p. 8849–8859, 14 nov. 2013. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm4012774>>.

KUMAR, S. et al. Synthesis and antiparkinsonian activity of some new adamantyl

thiazolidinonyl/azeti-dinonyl indole derivatives. **Indian Journal of Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 1398–1405, 2010.

KUWANO, R.; KASHIWABARA, M. Ruthenium-Catalyzed Asymmetric Hydrogenation of N -Boc-Indoles. **Organic Letters**, v. 8, n. 12, p. 2653–2655, jun. 2006. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ol061039x>>.

LIU, Y.; MCWHORTER, W. W. Synthesis of 8-Desbromohinckdentine A 1. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 14, p. 4240–4252, abr. 2003. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja021380m>>.

LUN, S. et al. Indoleamides are active against drug-resistant Mycobacterium tuberculosis. **Nature Communications**, v. 4, n. 1, p. 2907, 19 dez. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms3907>>.

MENDES, A. M.; FENSTERSEIFER, L. M. Tuberculose porque os pacientes abandonam o tratamento? **Boletim de Pneumologia Sanitária, Rio de Janeiro**, v. 1, n. 12, p. 27–38, 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Tuberculose: descrição da doença**. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/741-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/tuberculose/11481-descricao-da-doenca>>. Acesso em: 31 maio. 2016.

MORALES-RÍOS, M. S.; ESPÍÑEIRA, J.; JOSEPH-NATHAN, P. ¹³C NMR spectroscopy of indole derivatives. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 25, n. 5, p. 377–395, maio 1987. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/mrc.1260250502>>.

NAGENDRAPPA, G. A Pioneer of Synthetic Organic Chemistry. **Ressonance**, n. June, p. 489–522, 2014. Disponível em: <<https://www.ias.ac.in/article/fulltext/reso/019/06/0489-0522>>.

NOGUEIRA, A. F. et al. Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos Tuberculosis: a general approach of the main aspects. **Rev. Bras. Farm**, v. 93, n. 1, p. 3–9, 2012.

OBYNOCHNYI, A. A. et al. N-allylation and N-benylation of 2-phenylindole and its condensation with carbonyl compounds. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 29, n. 5, p. 553–555, maio 1993. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF00534467>>.

ONAJOLE, O. K. et al. Preliminary Structure–Activity Relationships and Biological Evaluation of Novel Antitubercular Indolecarboxamide Derivatives Against Drug-Susceptible and Drug-Resistant Mycobacterium tuberculosis Strains. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 10, p. 4093–4103, 23 maio 2013. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm4003878>>.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). **Tuberculosis**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/>>. Acesso em: 31 maio. 2016.

PANASENKO, A. A. et al. ¹³C NMR spectra of some indole derivatives. **Russian**

Chemical Bulletin, v. 43, n. 1, p. 60–63, jan. 1994. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF00699136>>.

PONPANDIAN, T.; MUTHUSUBRAMANIAN, S. Copper catalysed domino decarboxylative cross coupling-cyclisation reactions: synthesis of 2-arylindoles. **Tetrahedron Letters**, v. 53, n. 32, p. 4248–4252, ago. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.06.023>>.

RAJKUMAR, R. et al. A Combinatorial Antihypertensive Drug (Reserpine and Hydrazine) Does Not Cause Severe Depression. **Gerontology & Geriatrics Studies**, v. 3, n. 5, p. 1–6, 2018. Disponível em: <<https://crimsonpublishers.com/ggs/fulltext/GGS.000574.php>>.

RAMPERSAD, S. N. Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays. **Sensors**, v. 12, n. 9, p. 12347–12360, 10 set. 2012. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1424-8220/12/9/12347>>.

RAO, S. P. S. et al. Indolcarboxamide Is a Preclinical Candidate for Treating Multidrug-Resistant Tuberculosis. **Science Translational Medicine**, v. 5, n. 214, p. 214ra168-214ra168, 4 dez. 2013. Disponível em: <<http://stm.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/scitranslmed.3007355>>.

RUBIO-MARQUÉS, P. et al. Well-Defined Noble Metal Single Sites in Zeolites as an Alternative to Catalysis by Insoluble Metal Salts. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 36, p. 11832–11837, 2015.

SCOTT, W. J. et al. Nucleophilic additions to aldehydes and ketones. 2. Reactions to heterocyclic aldehydes with hydroxide ions. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 1952–1957, maio 1976. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo00873a013>>.

TABARSI, P.; MARDANI, M. Extensively Drug-Resistant Tuberculosis: A Review Article. **Archives of Clinical Infectious Diseases**, v. 7, n. 3, p. 81–4, 2 jul. 2012. Disponível em: <<http://archcid.com/en/articles/56931.html>>.

TB ALLIANCE. **The Pandemic**. Disponível em: <<https://www.tballiance.org/why-new-tb-drugs/global-pandemic>>. Acesso em: 14 nov. 2017.

TYRRELL, E.; WHITEMAN, L.; WILLIAMS, N. Sonogashira cross-coupling reactions and construction of the indole ring system using a robust, silica-supported palladium catalyzt. **Synthesis**, n. 5, p. 829–835, 2009.

WETZEL, A. et al. Radical Arylation of Phenols, Phenyl Ethers, and Furans. **Chemistry - A European Journal**, v. 16, n. 8, p. 2547–2556, 22 fev. 2010. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/chem.200902927>>.

WHO. **Tuberculosis**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>>. Acesso em: 1 nov. 2017a.

WHO. **Global tuberculosis report 2017**. Geneva: World Health Organization, 2017b.

WHO. **Top 10 causes of death**. Disponível em:

<http://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/causes_death/top_10/en/>.

Acesso em: 23 jun. 2018.

YAGIL, G. The proton dissociation constant of pyrrole, indole and related compounds. **Tetrahedron**, v. 23, n. 6, p. 2855–2861, jan. 1967. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0040402067851512>>.

YU, X. et al. Synthesis of 2-arylindole derivatives and evaluation as nitric oxide synthase and NFκB inhibitors. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 10, n. 44, p. 8835, 2012. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c2ob26456k>>.

APÊNDICES

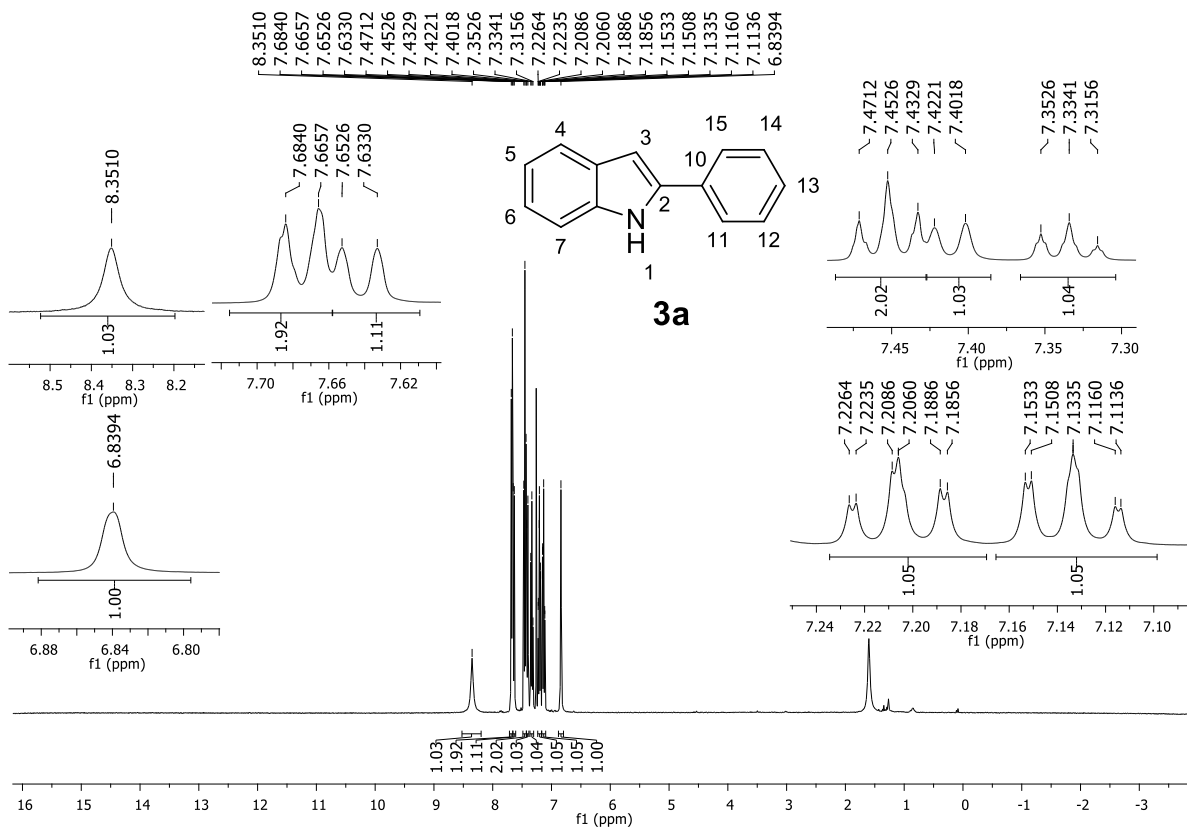
APÊNDICE A – Caracterização Espectroscópica dos indóis **3a-g**, **4a-b** e **5a**.Figura 1A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **3a**.

Figura 2A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **3a**.

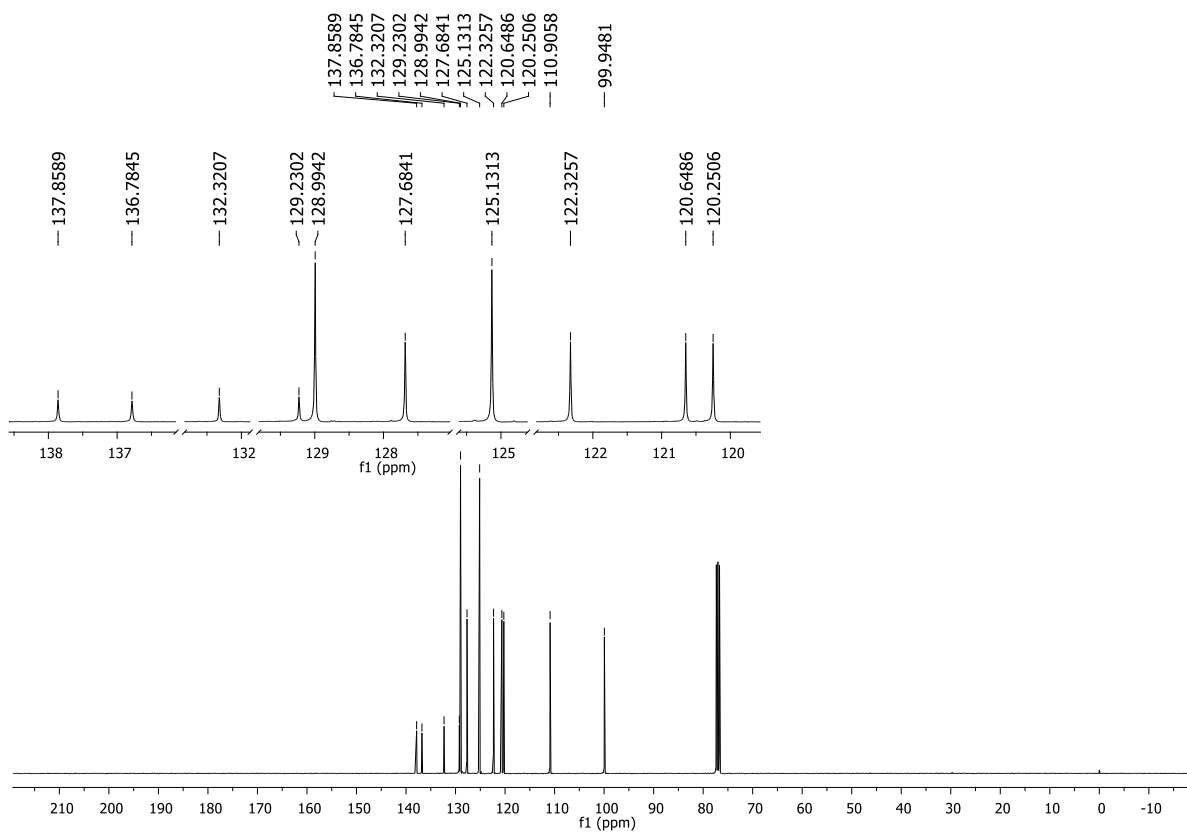


Figura 3A – Espectro de DEPT-90 (100 MHz, CDCl_3) da substância **3a**.

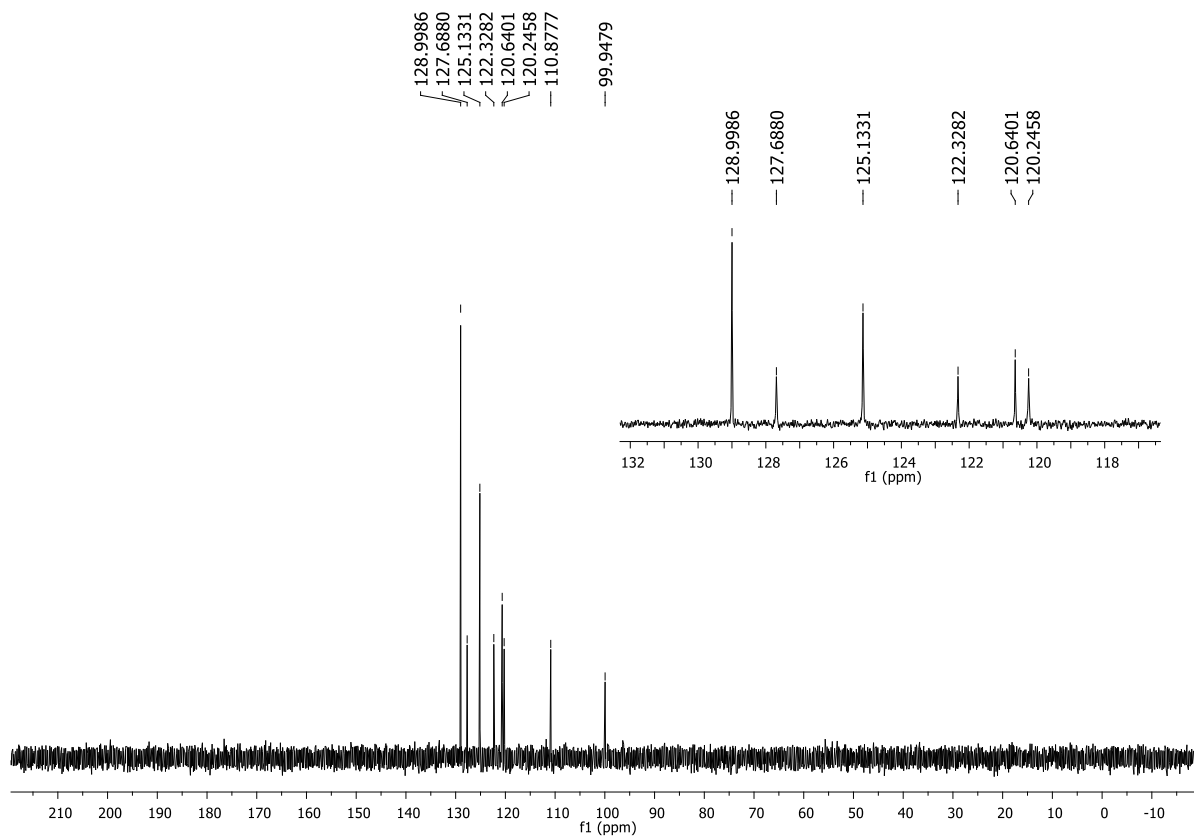


Figura 4A – Espectro de massas da substância **3a** por espectrômetro de massas acoplado a cromatografia gasosa (CG-EM).

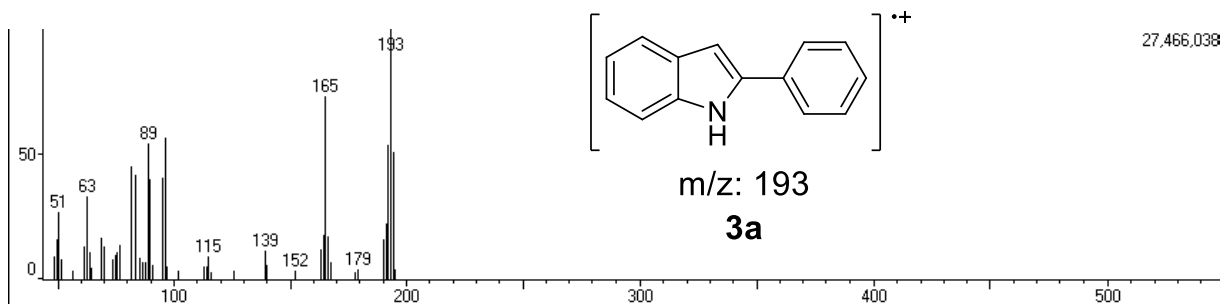


Figura 5A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **3b**.

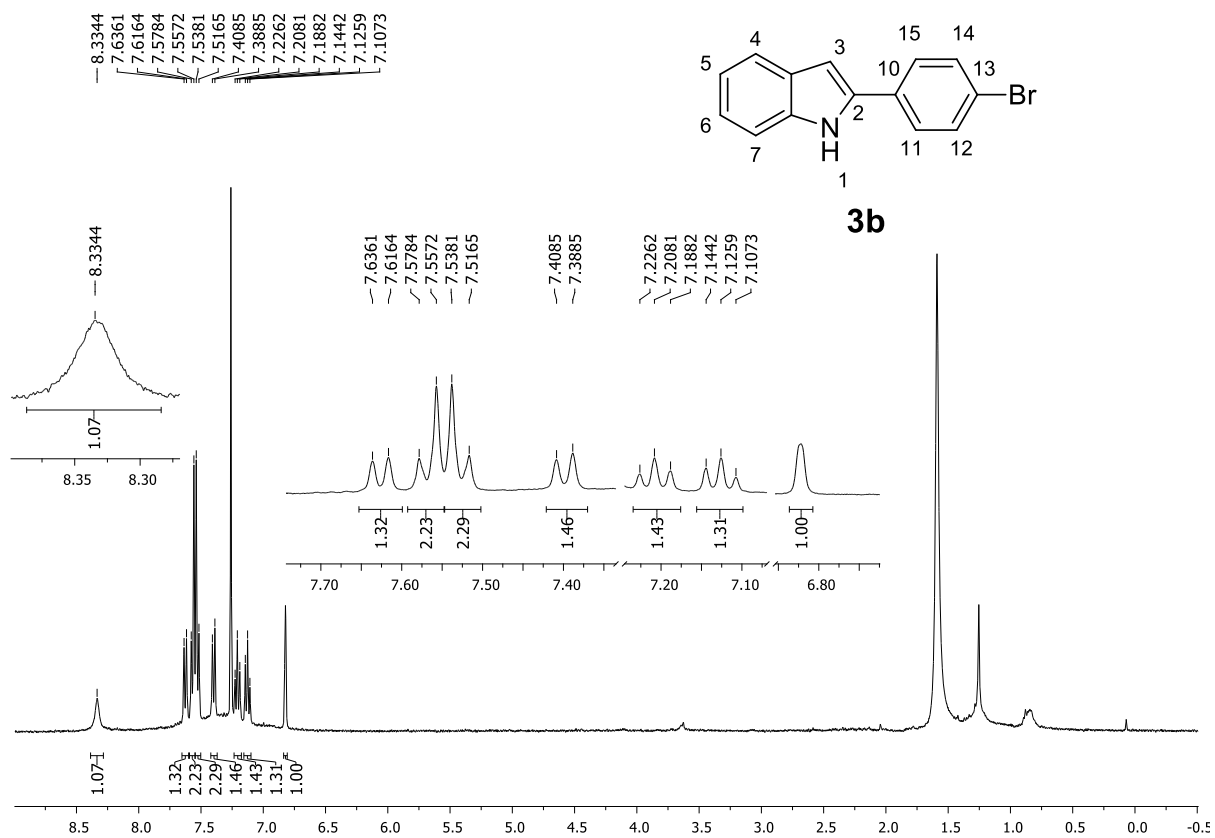


Figura 6A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **3b**.

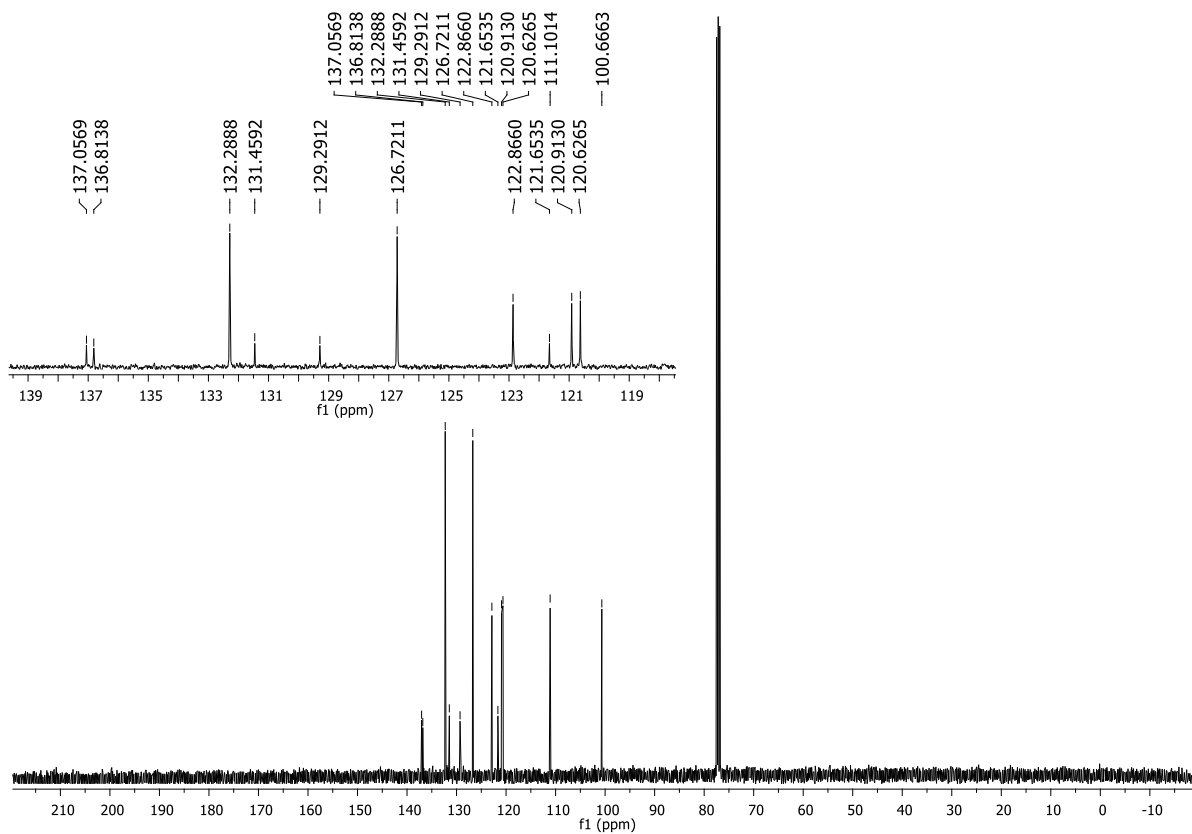


Figura 7A – Espectro de massas da substância **3b** por espectrômetro de massas acoplado a cromatografia gasosa (CG-EM).

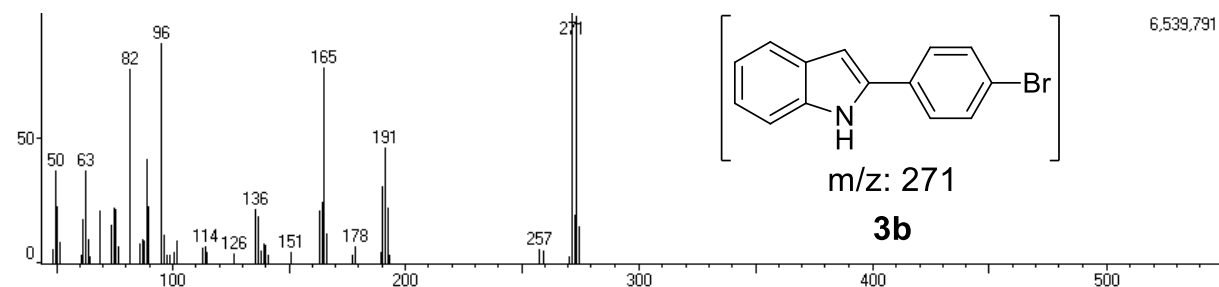


Figura 8A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **3c**.

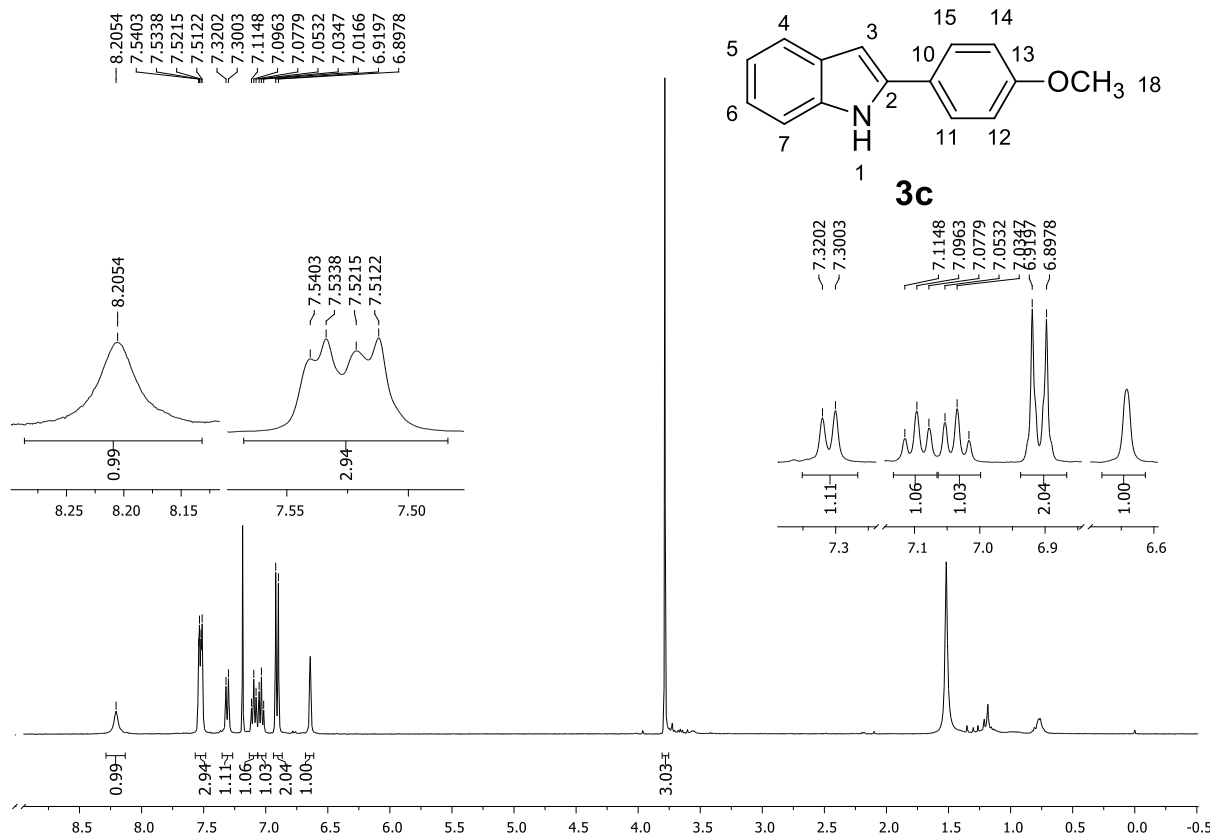


Figura 9A – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) da substância 3c.

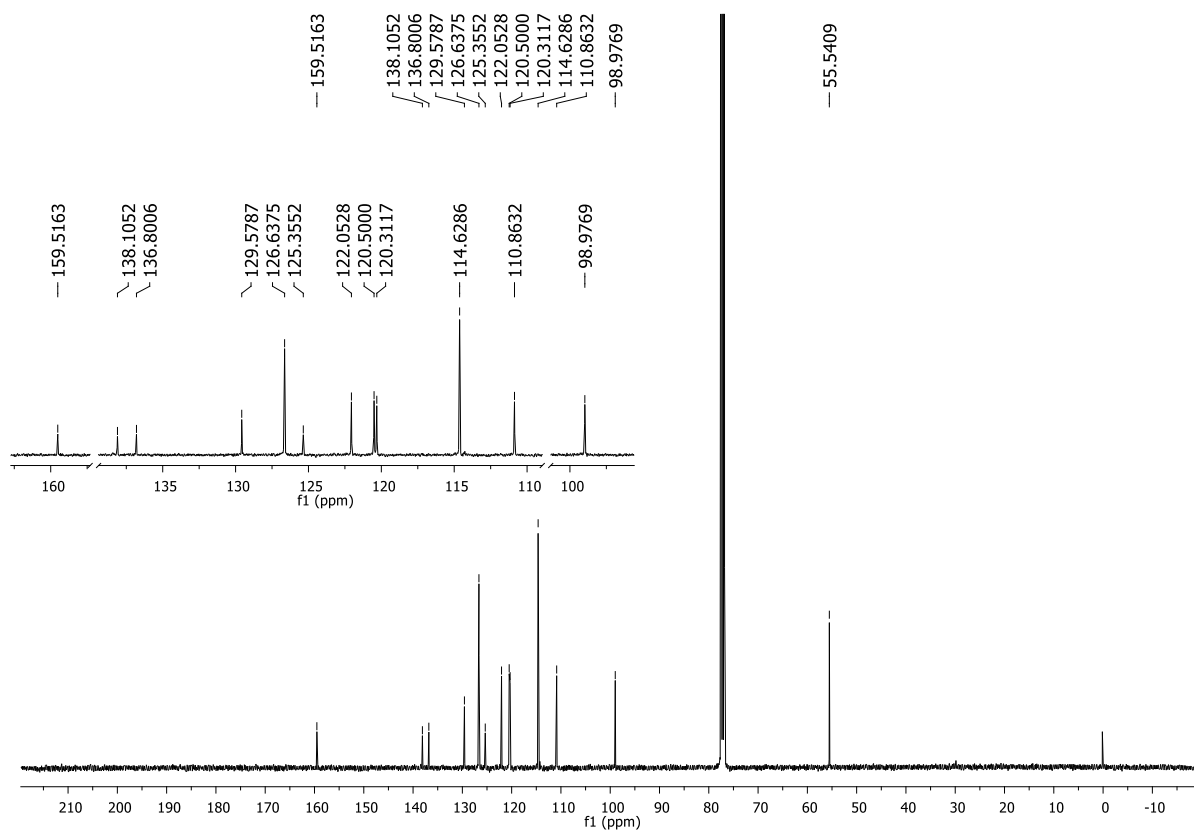


Figura 10A – Espectro de massas da substância 3c por espectrômetro de massas

acoplado a cromatografia gasosa (CG-EM).

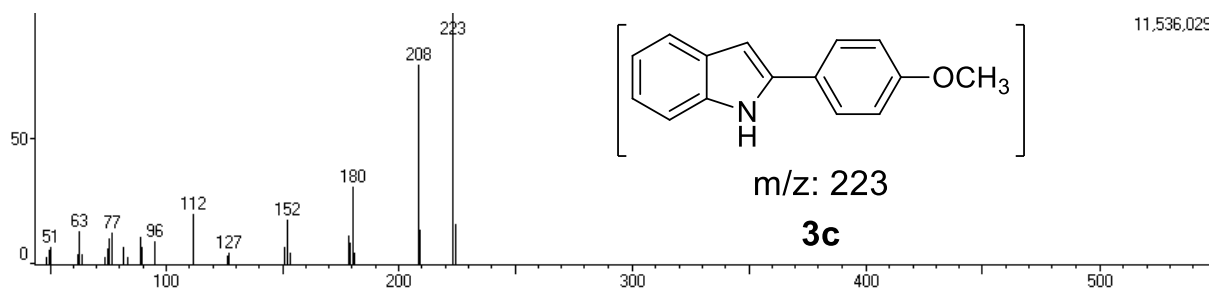


Figura 11A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) da substância **3d**.

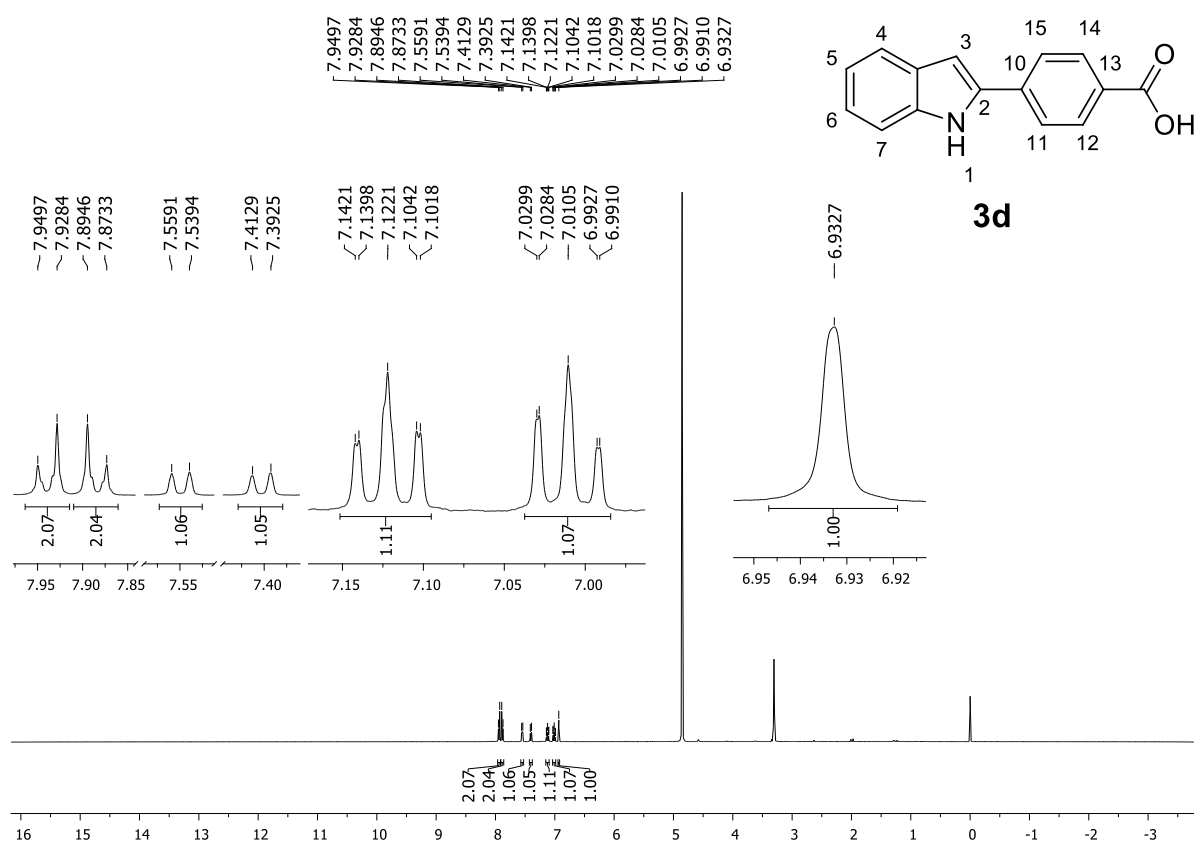


Figura 12A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) da substância **3d**.

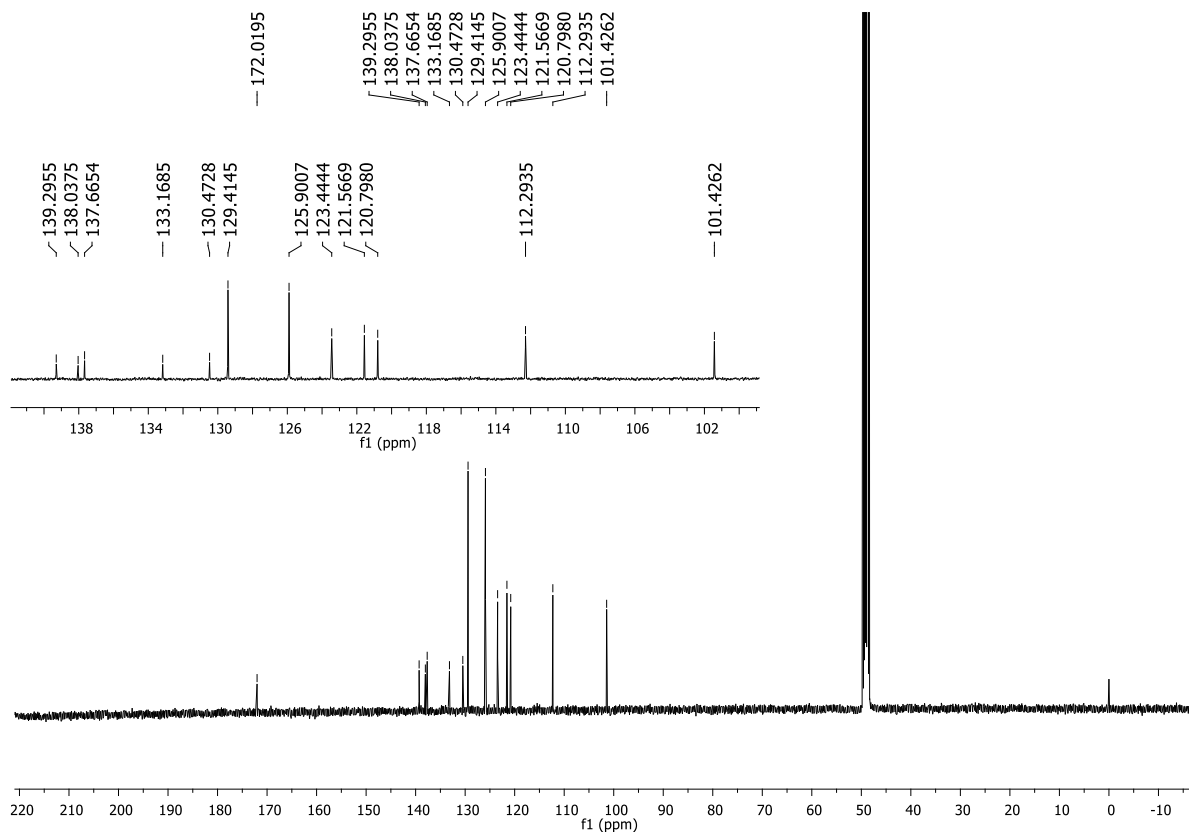


Figura 13A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância 3e.

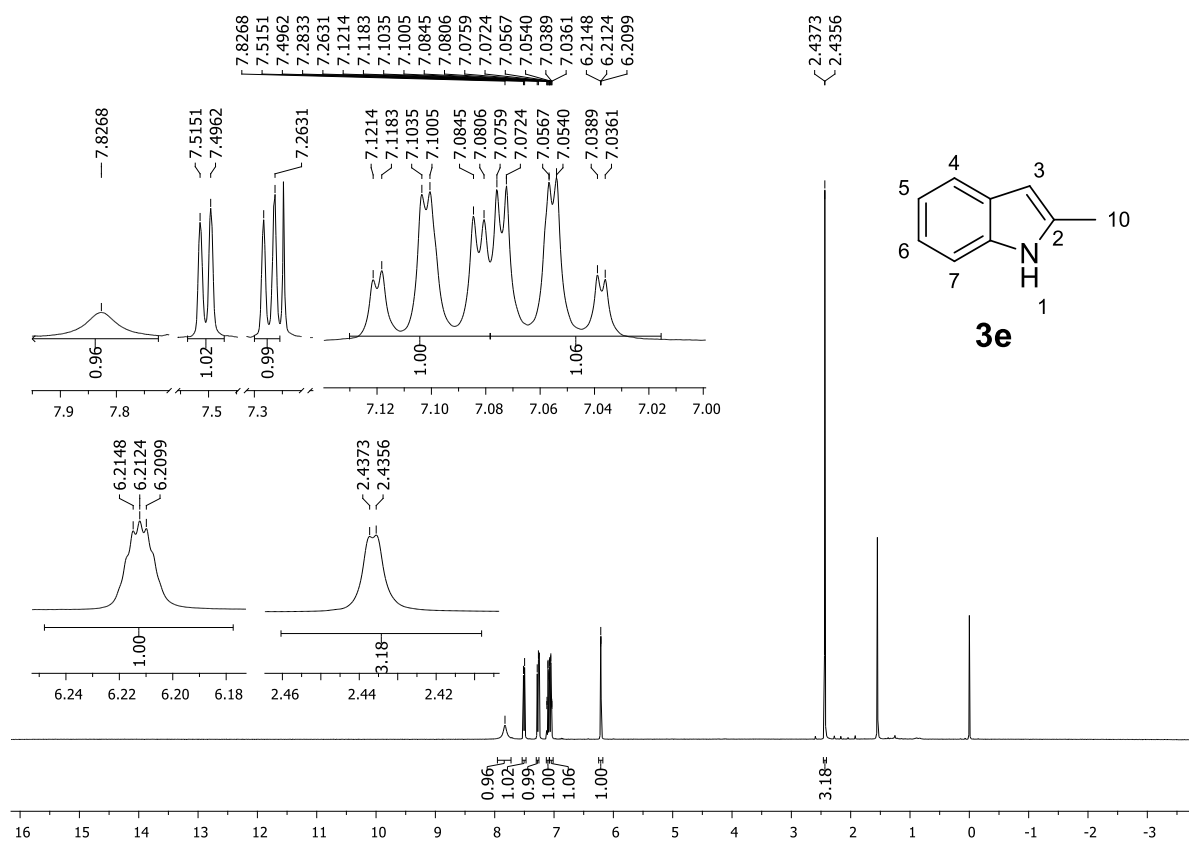


Figura 14A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância 3e.

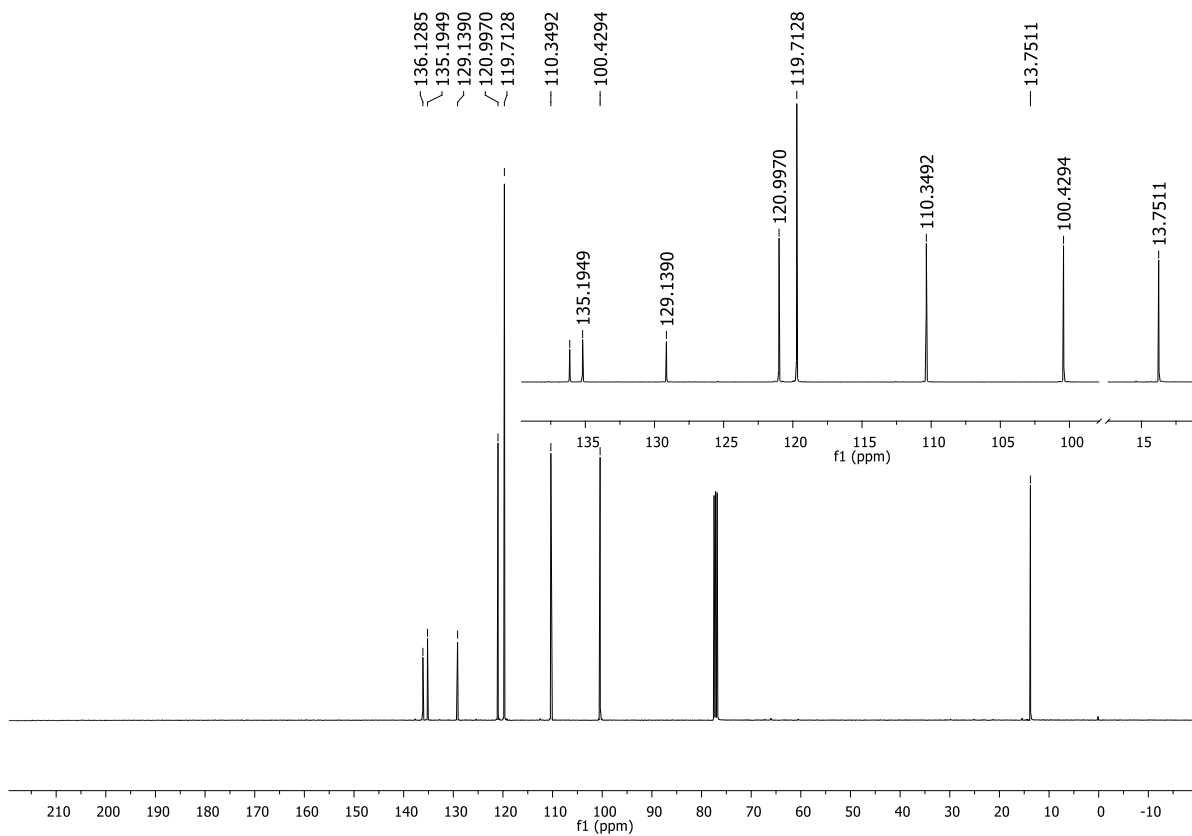


Figura 15A – Espectro de massas da substância **3e** por espectrômetro de massas acoplado a cromatografia gasosa (CG-EM).

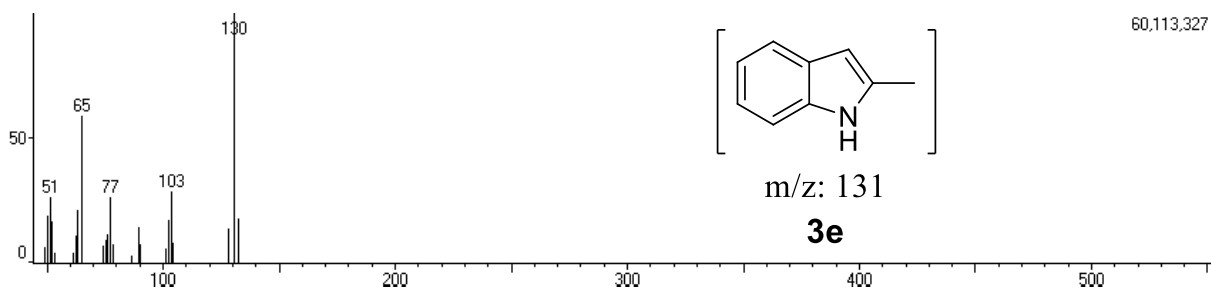


Figura 16A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **3f**.

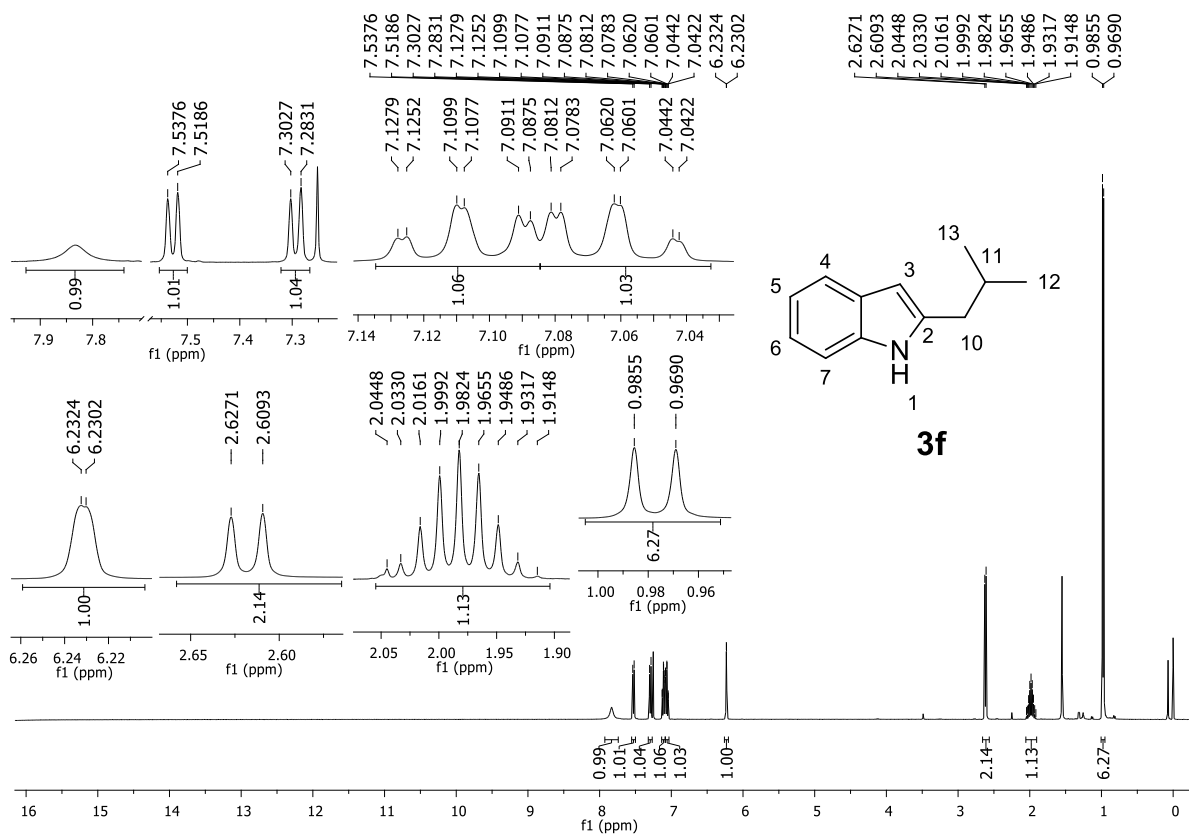


Figura 17A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **3f**.

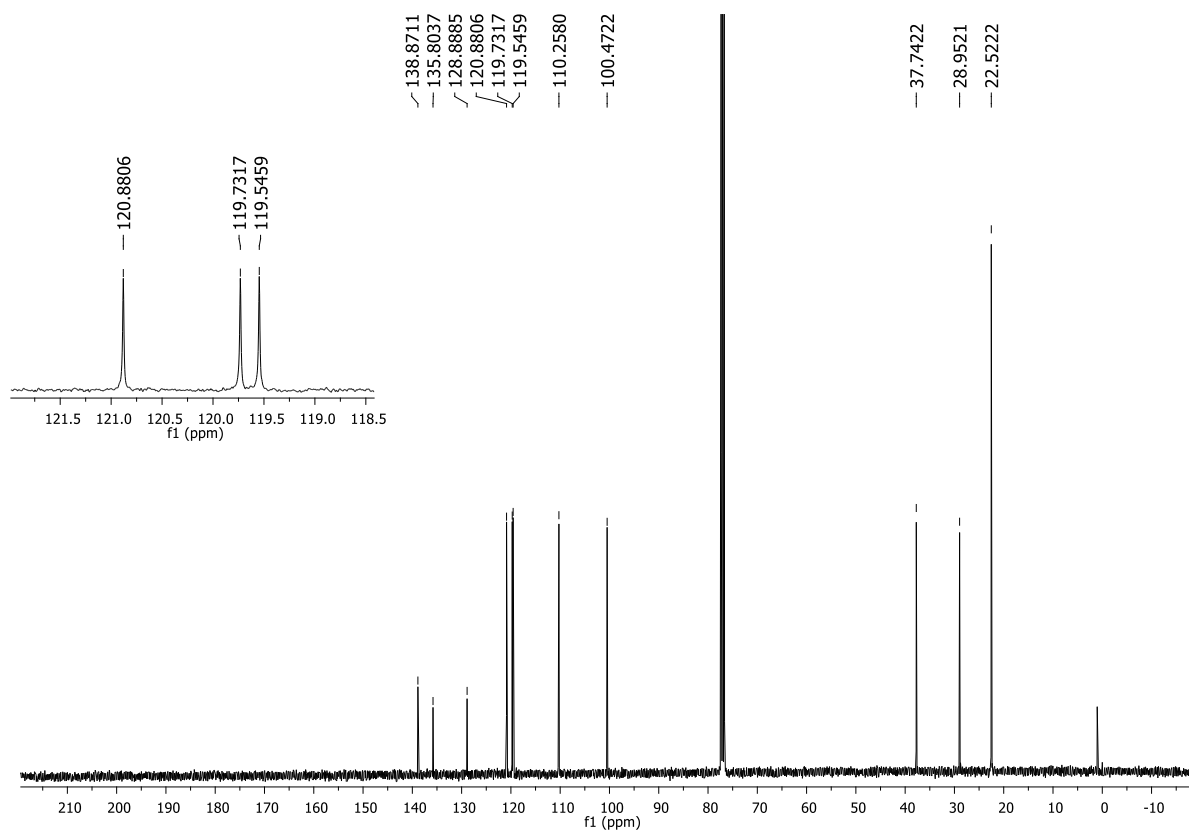


Figura 18A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **3g**.

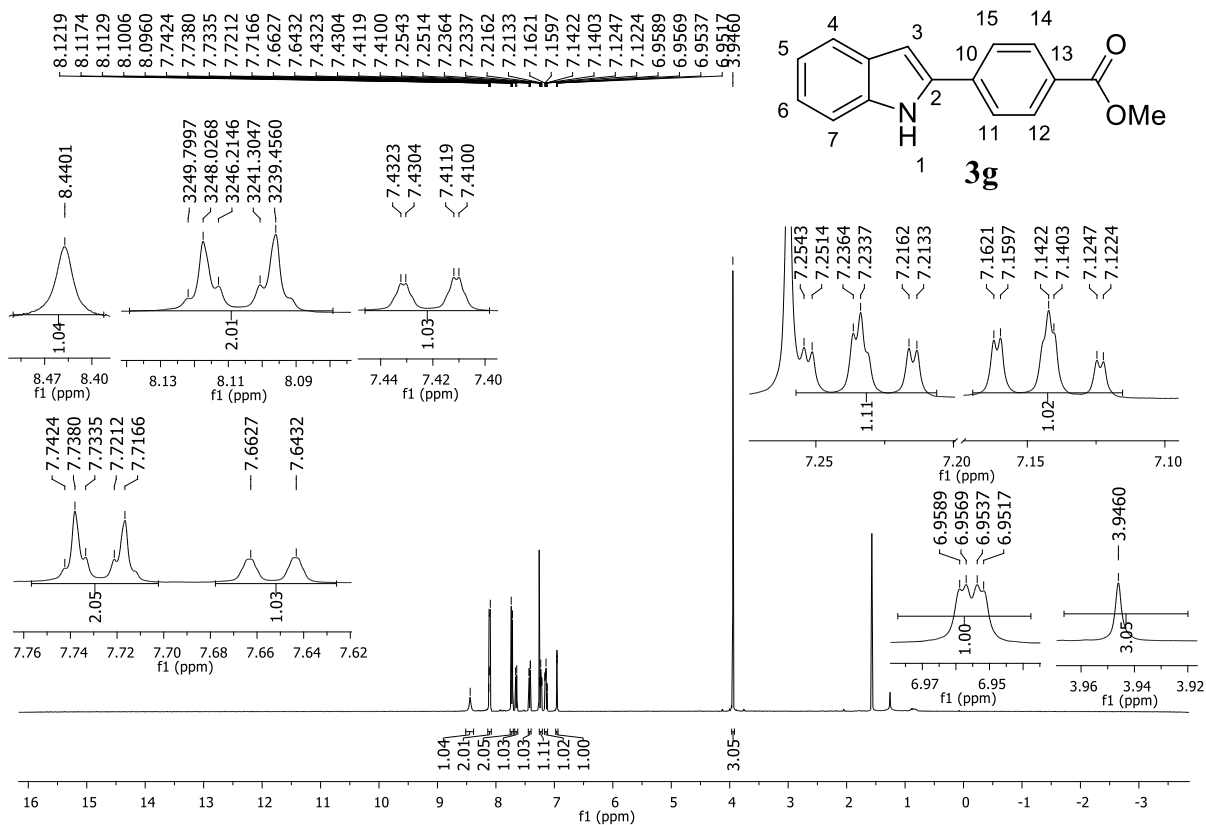


Figura 19A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **3g**.

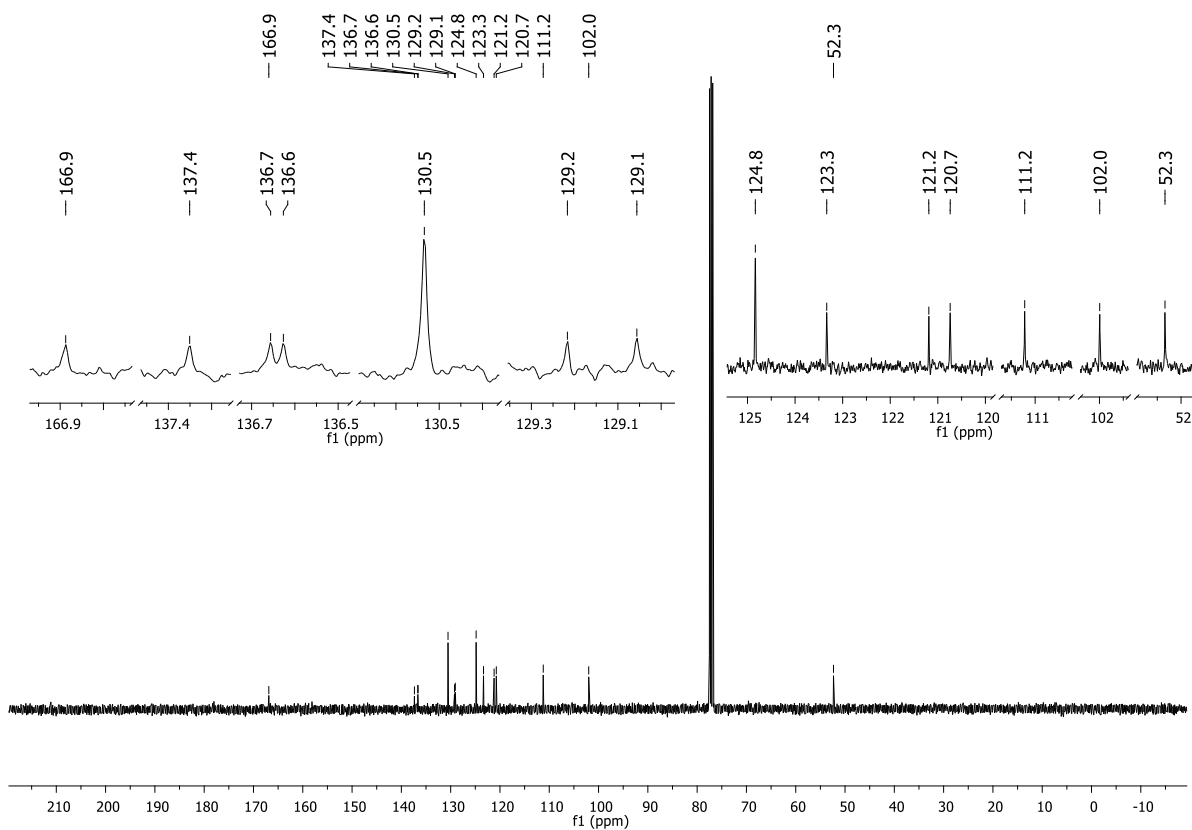


Figura 20A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **4a**.

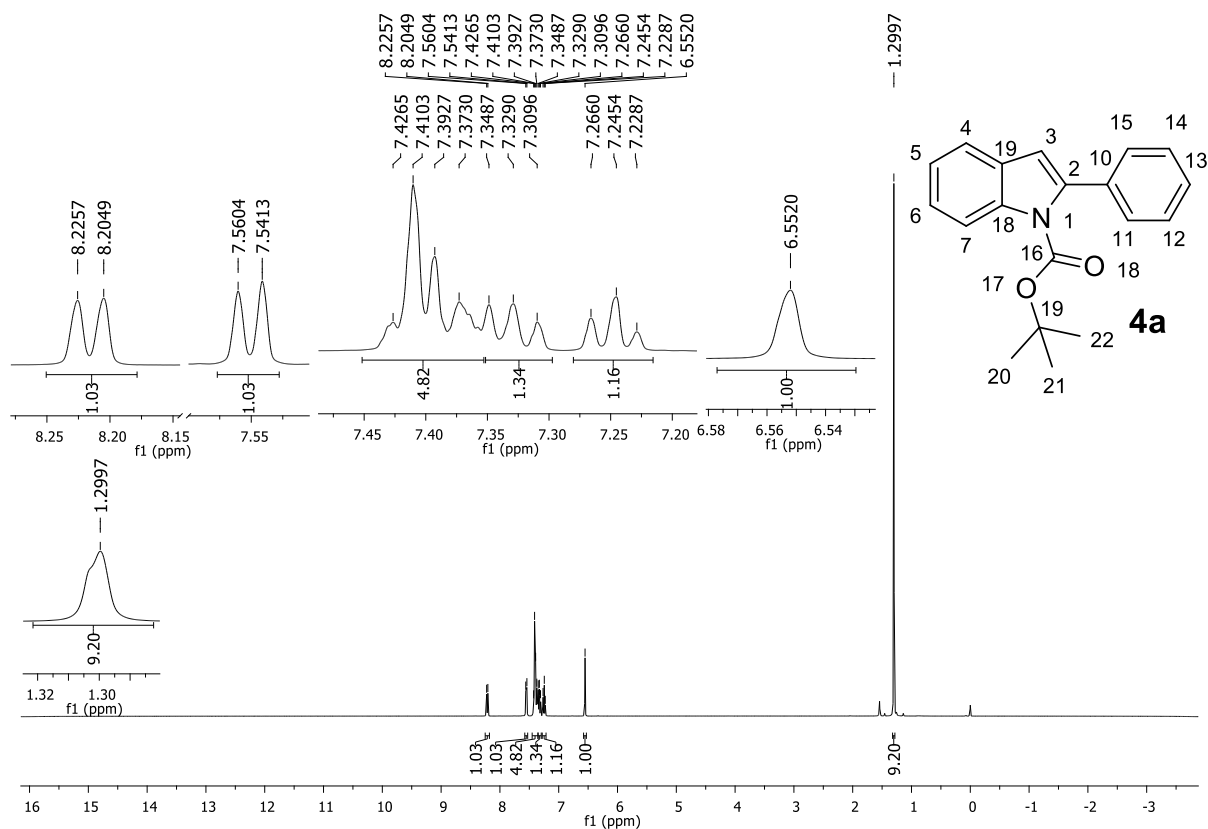


Figura 21A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **4a**.

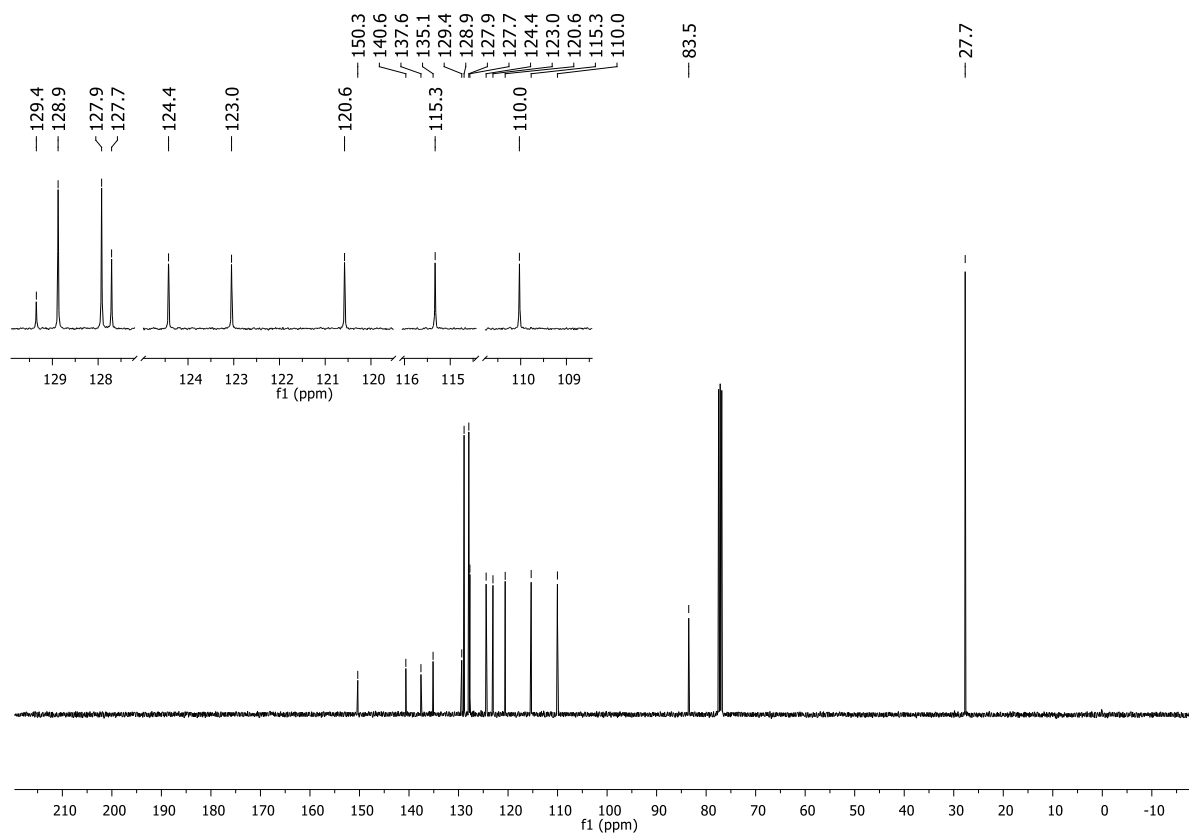


Figura 22A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **4b**.

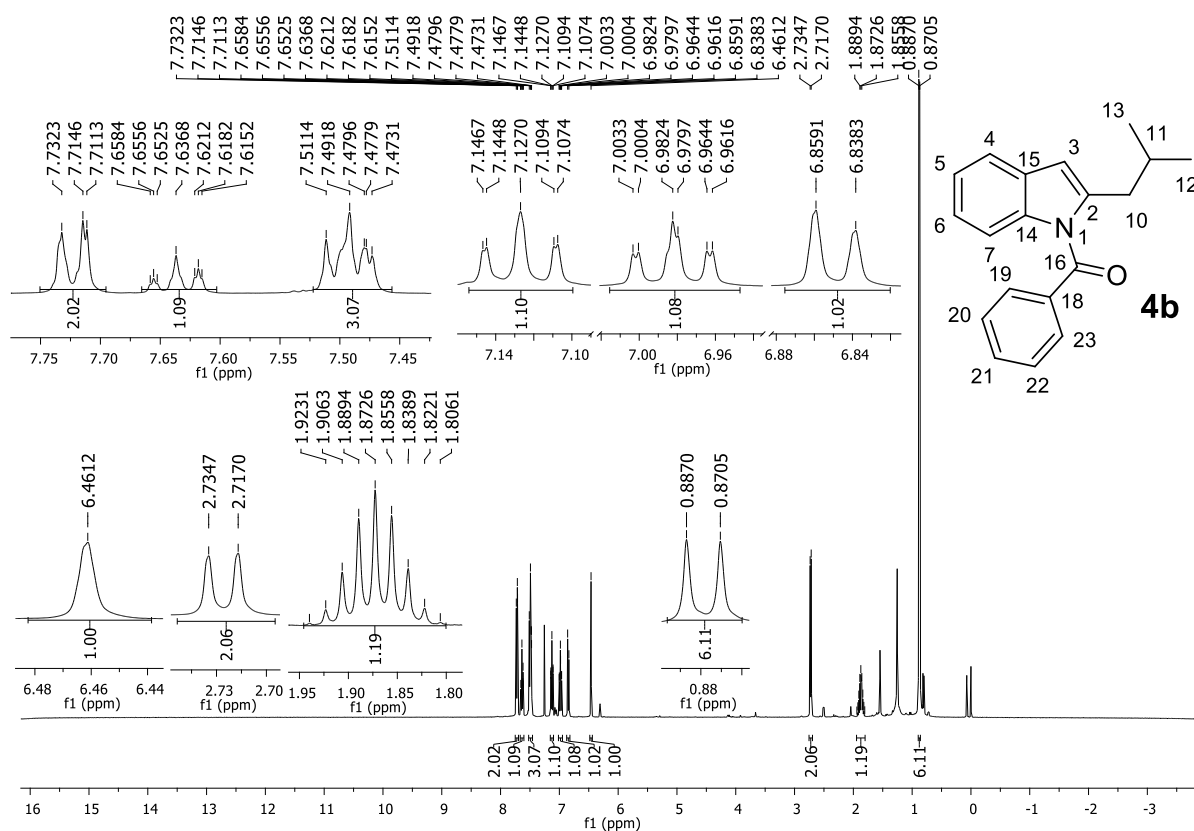


Figura 23A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **4b**.

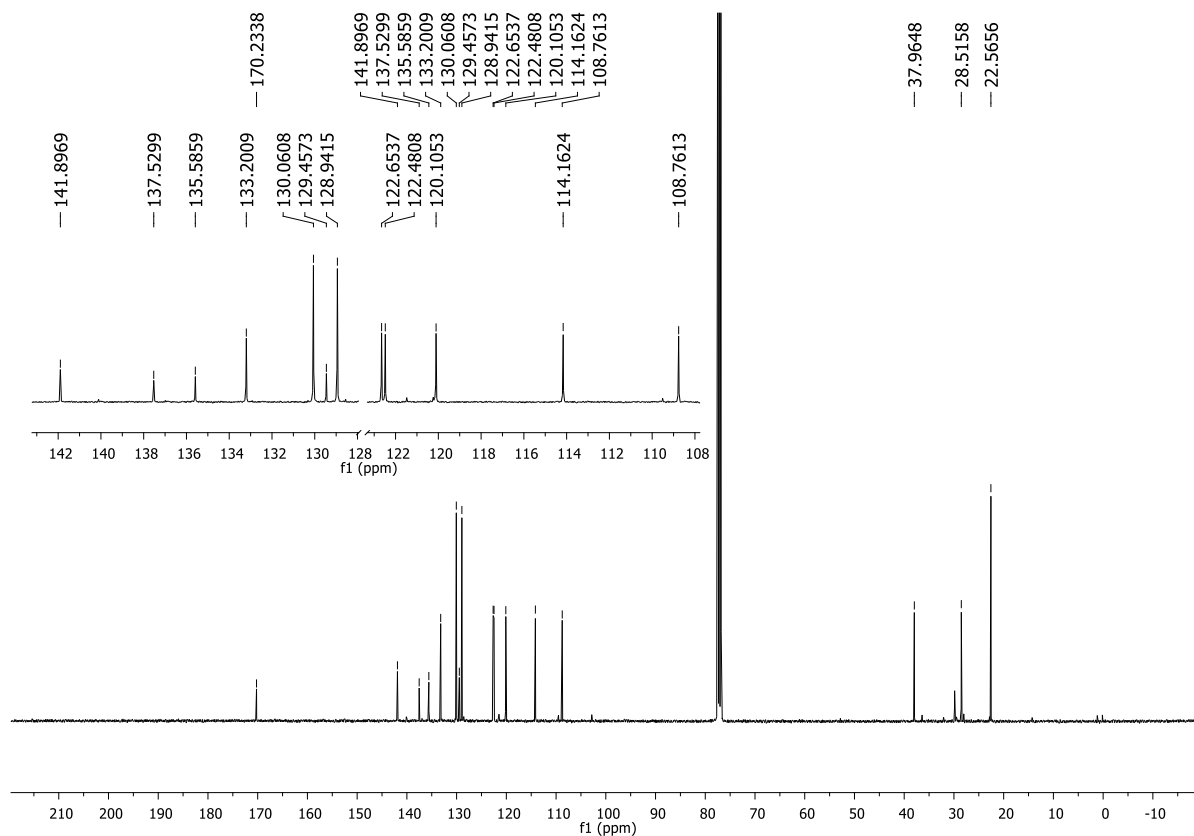


Figura 24A – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **5a**.

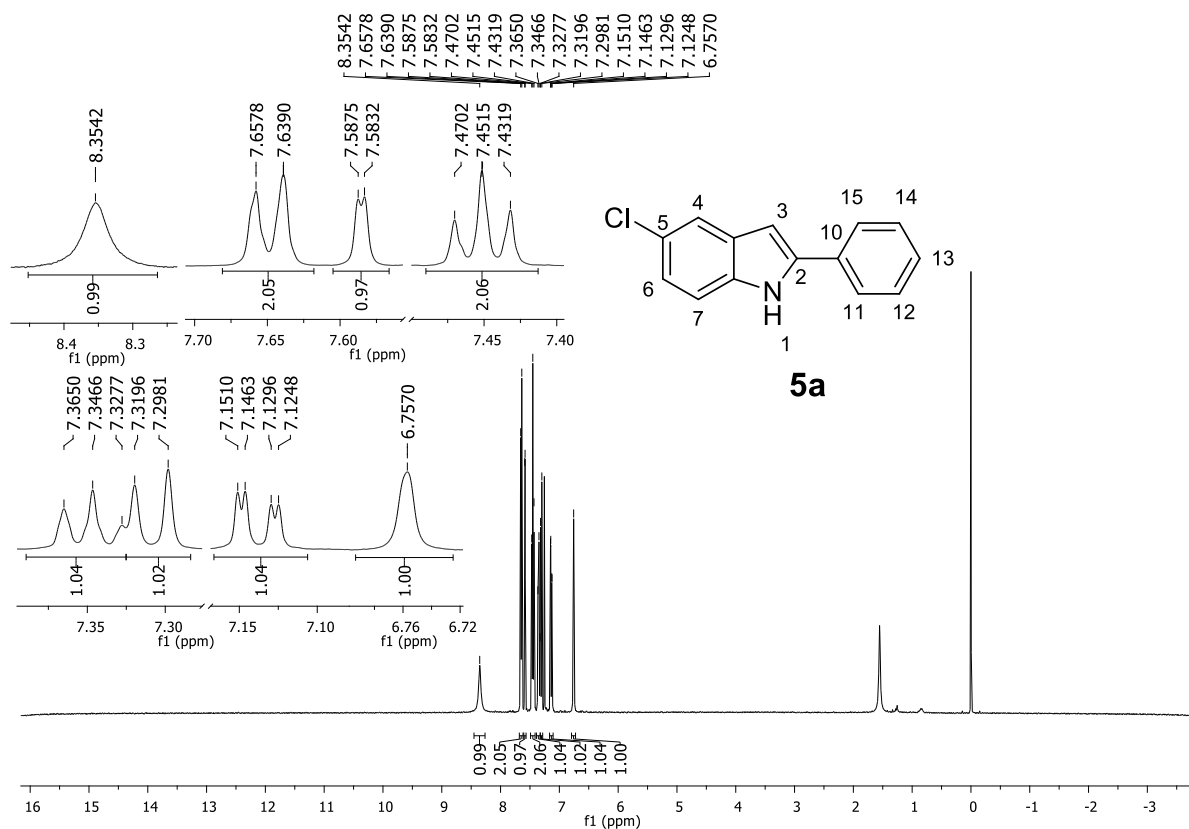


Figura 25A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **5a**.

