

NIDIA MAGALLY GALDÁMEZ COREAS

**SÍNTESE E ATIVIDADE INIBIDORA DE UREASE DE NOVOS
 γ - ALQUILIDENOBUTENOLÍDEOS ANÁLOGOS AOS RUBROLÍDEOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS- BRASIL
2014

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de
Viçosa - Campus Viçosa

T

G146s
2014 Galdámez Coreas, Nidia Magally, 1981-
Síntese e atividade inibidora de urease de novos
 γ -alquilidenobutenolídeos análogos aos rubrolídeos / Nidia Magally
Galdámez Coreas. - Viçosa, MG, 2014.
xviii, 91f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.86-91.

1. Compostos orgânicos - Síntese. 2. Gama-
alquilidenobutenolídeos. 3. Urease. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Química. Programa de Pós-graduação em
Agroquímica. II. Título.

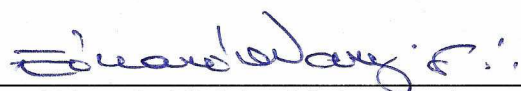
CDD 22. ed. 547.5

NIDIA MAGALLY GALDÁMEZ COREAS

**SÍNTESE E ATIVIDADE INIBIDORA DE UREASE DE NOVOS
 γ - ALQUILIDENOBUTENOLÍDEOS ANÁLOGOS AOS RUBROLÍDEOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

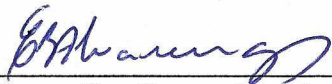
APROVADA: 8 de dezembro de 2014.



Eduardo Vinícius Vieira Varejão



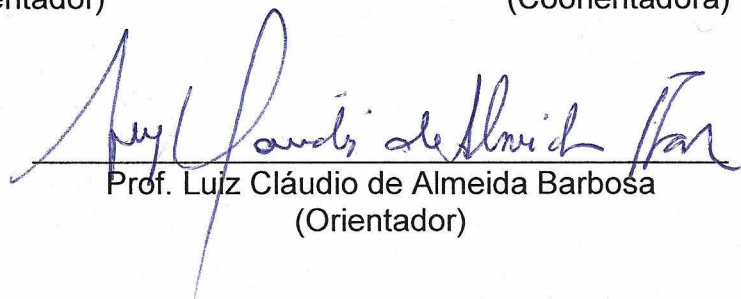
Gaspar Díaz Muñoz



Elson Santiago de Alvarenga
(Coorientador)



Célia Regina Álvares Maltha
(Coorientadora)



Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Orientador)

Dedico a Deus pela presença constante em minha vida, ao apoio da minha família e aos amigos que estão distantes e aos de perto.

Porque Dele e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente. Amém.

Romanos 11: 3

AGRADECIMENTOS

A Deus, por trazer-me à memória a sua presença real e constante em todos os momentos enquanto estive longe de casa, e pela benção de permitir-me estudar fora do meu país.

À Universidade Federal de Viçosa e ao programa de Pós-graduação em Agroquímica, pela oportunidade em realizar o mestrado.

Ao programa de bolsas OEA-GCUB (Organização dos Estados Americanos e Grupo Coimbra de Universidades Brasileiras) pela oportunidade de estudar no Brasil.

Ao professor Dr. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa pela orientação e amizade em todos os momentos.

Aos professores Dra. Celia Regina Álvares e Dr. Elson de Alvarenga pela colaboração.

Ao professor Dr. Robson Teixeira, pela permissão em assistir a suas aulas como ouvinte. Mesmo sem ser sua aluna, esclareceu muitas dúvidas e me ajudou a ter uma visão mais ampla sobre a importância da síntese orgânica.

Aos funcionários Jose Luiz (CG-EM), Márcio (Infravermelho) e Cristiane (RMN), pela obtenção dos espectros.

À professora Luzia Modolo, da UFMG, pela realização dos ensaios inibidores de urease.

A Jodieh Oliveira Santana, pela grande ajuda profissional nos momentos difíceis e pela amizade incondicional nesta caminhada.

Aos colegas de LASA pelo apoio: Diego, Amalyn, Johanna, Ana Cristina, Thais, Eva, Claudinei, Talita, Milena, Fernanda, Gaby e Simone Silva.

A minha mãe, Maritza Coreas, a minha avó, Rosa Coreas e ao meu tio, Juan Coreas, pelas orações, apoio, amor, o exemplo e paciência e demais familiares, que sempre me apoiaram.

Aos queridos amigos do meu país, que por este período de estudo tiveram a minha ausência e mesmo assim me apoiaram, não importando a distância.

Às minhas queridas Paula Seixas e Gláucia Cardoso, pela ajuda e amizade durante todo este tempo. Especialmente à Paula, que foi a primeira que conheci, desde os primeiros dias na sala de aula, e mesmo sem saber nada de português,

fizemos amizade e estudávamos juntas. No final, as duas meninas acabaram em aulas de espanhol por minha causa.

A Adriana Drumond, pela amizade e apoio incondicional.

A Luciana Leite e Rebeca Marcellos, pela amizade, carinho, orações e por todos os bons momentos que tivemos durante minha estadia em Viçosa.

Aos meus queridos amigos estrangeiros que foram como uma família – Anyela, Manuel e Mauricio, pelos bons momentos compartilhados desde meu primeiro dia no Brasil. Aliás, o Manuel, ainda sem ter chegado em terras brasileiras, a gente se conheceu no início desta grande aventura de estudantes estrangeiros num país gigantesco sem saber que era o início de uma boa e linda amizade.

A uma menina que só conheci nos últimos meses mas que foi suficiente para saber o grande coração que tem – Paula Lopes, obrigada por sua amizade, risadas e carinho. Desejo, quando a gente se reencontrar um dia, se Deus permitir, ver você com muitos sonhos e projetos realizados, sempre tomada na mão do pai.

À Fanni Ruiz e a Adans Colman, dois paraguaios que levarei no coração, obrigada pelos os bons momentos compartilhados desde o início desta linda aventura longe de casa.

À Thais Coelho, a pequena amiga brasileira, por sua amizade, pelos bons tempos vividos e por suas maluquices tentando falar espanhol e me imitar. Agradeço também à sua família por sempre me abrir as portas na casa da vovozinha.

À minha amiga Roxana Umaña por sempre me animar e me abrir as portas de sua casa. Sempre que eu podia ir visita-la, depois de doze horas de viagem, a gente podia curtir bons tempos , sobre tudo por ser a única amizade de meu país.

Ao Fernando Coutinho, por me motivar a estudar fora do meu país e por sempre me animar durante todo este tempo.

A todos os amigos que me ajudaram direta ou indiretamente, agradeço imensamente por tudo.

Aos demais professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Agroquímica e a todos que contribuíram para que este trabalho tivesse sucesso.

Obrigada por tudo.

BIOGRAFIA

Nidia Magally Galdámez Coreas, filha de Angela Maritza Coreas e José Antonio Galdámez, nasceu em San Salvador, El Salvador em 17 de Julho de 1981.

Em Junho de 2005, graduou-se no curso de Química e Farmácia pela Universidade de El Salvador (UES).

De dezembro de 2004 até janeiro de 2012, trabalhou na área de controle de qualidade de fármacos, matéria prima, água para uso farmacêutico tanto físico-químico como microbiológico, na indústria farmacêutica de El Salvador.

Em fevereiro de 2012, ingressou no curso de Mestrado em Agroquímica pela Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil, submetendo-se à defesa de dissertação em dezembro 2014.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE ESQUEMAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Histórico da ureia e uréase.....	1
1.2. Aspectos medicinais e a uréase.....	3
1.3. Agricultura.....	4
1.4. Inibidores de Uréase.....	5
1.5. Butenolídeos.....	7
1.5.1. Estudos sintéticos envolvendo Butenolídeos.....	9
1.5.2. Aplicações sintéticas da reação de acoplamento Suzuki- Miyaura.....	12
1.5.3. Objetivos.....	15
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.1. Técnicas experimentais.....	16
2.2. Purificação de solventes.....	16
2.3. Técnicas espectroscópicas.....	17
2.4. Procedimentos sintéticos.....	18
2.4.1. Síntese da lactona 3,4-dibromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona (22).....	18
2.4.2. Síntese da 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)- ona (23).....	19
2.4.3. Síntese da 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil) furan-2(5 <i>H</i>)- ona (24).....	20
2.4.4. Síntese da (Z/E)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3,4- dimetoxibenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (25).....	22
2.4.5. Síntese da 3-bromo-4-(5-bromo-2-hidroxifenil)-5-(3,4- dihidroxibenzi-lideno) furan-2(5 <i>H</i>)-ona (26).....	24
2.4.6. Síntese do composto 3,4- dibromo-5-(benzilideno)furan- 2(5 <i>H</i>)-ona (28).....	25

2.4.7. Tentativa do síntese do 3,4-dibromo-5-(diclorobenzilídono) furan-2(5 <i>H</i>)-ona (29).....	26
2.4.8. Tentativa de síntese do composto 3,4- dicloro-5-(benzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (31).....	27
2.4.9. Tentativa de síntese do composto 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3,4 dimetoxibenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (25).....	28
2.4.10. Ensaio Biológico.....	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
3.1. Síntese da lactona 3,4-dibromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona (22).....	31
3.2. Síntese das 4- <i>aryl</i> -3-bromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona, utilizando o acoplamento C-C de Suzuki-Miyaura.....	37
3.3. Síntese da (<i>Z/E</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3,4 dimetoxibenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (25).....	47
3.4. Síntese da (<i>Z/E</i>)-3- bromo-4-(5-bromo-2-hidroxifenil)-5-(3,4-dihidroxibenzilideno) furan-2(5 <i>H</i>)-ona (26).....	56
3.5. Reações de alquilação.....	58
3.5.1. Estudo para síntese do composto 28.....	58
3.5.2. Tentativa de síntese da 3,4-dibromo-5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (29) e 3,4-dicloro-5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (31).....	62
3.5.3. Reações para obtenção do composto 3,4-dibromo-5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (29).....	65
3.5.4. Tentativa de síntese da 3,4-dicloro-5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (31).....	67
3.5.5. Tentativa de síntese do composto 5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (33).....	77
3.5.6. Tentativa de síntese da 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3,4 dimetoxibenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (25).....	78
3.5.7. Resultados da inibição de Urease para os compostos 25 e 26.....	84
4. CONCLUSÕES.....	85
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- (a) Fotomicrografia de cristais da urease magnificados 728 vezes.....	2
Figura 2- Estruturas de fosforamidatos como inibidores de uréase.....	5
Figura 3- Alguns dos novos fosforamidatos sintetizados.....	6
Figura 4- Estrutura geral dos anéis presentes em butenolídeos.....	7
Figura 5- Alguns exemplos de butenolídeos isolados de fontes naturais e suas atividades biológicas.....	8
Figura 6- Exemplo de Rubrolídeos isolados de Ascídea marinha.....	9
Figura 7- Butenolídeos contendo a função ditiocarbamatos na posição 3	10
Figura 8- Furanonas halogenadas e respectivos rendimentos da etapa de alquilidação.....	11
Figura 9- Compostos sintetizados a partir de ácido mucoclórico 14.....	12
Figura 10- Alguns exemplos de compostos comerciais preparados por meio da reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura.....	13
Figura 11- Espectro no IV (pastilha de KBr) da lactona 22.....	33
Figura 12- Espectro de massas da lactona 22.....	34
Figura 13- Espectro RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da lactona 22.....	36
Figura 14- Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) da lactona 22.....	36
Figura 15- Espectro no infravermelho do composto 24.....	42
Figura 16- Espectro de massas do composto 24.....	43
Figura 17- Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto 24..	45
Figura 18- Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto 24..	46
Figura 19- Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto 25.	49
Figura 20- Espectro de massas do composto 25.....	49
Figura 21- Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto 25..	50
Figura 22- Espectro bidimensional NOESY do composto 25.....	51
Figura 23- Configurações (Z/E) do composto 25.....	52
Figura 24- Sinais empregados no cálculo da proporção dos isómeros Z/E para o composto 25.....	52
Figura 25- Mapa de contorno HSQC para o composto 25.....	53
Figura 26- Mapa de contorno COSY para o composto 25.....	54

Figura 27- Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 25..	55
Figura 28- Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 26.....	57
Figura 29- Espectro de massas do composto 26.....	57
Figura 30- Espectro de massas do produto 28 obtido no experimento *3, utilizando DBU como base.....	60
Figura 31- Cromatograma da mistura reacional utilizando NaHCO_3 como base (experimento *2, Tabela 2).....	61
Figura 32- Cromatograma utilizando DBU como base (experimento *3, Tabela 2).....	61
Figura 33- Cromatograma utilizando THF como solvente (experimento *3, Tabela 2).....	61
Figura 34- Cromatograma utilizando acetonitrila como solvente (experimento *4, Tabela 2).....	62
Figura 35- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 30..	64
Figura 36- Alguns dos compostos obtidos por Shang e colaboradores....	69
Figura 37- Espectro no IV da lactona.....	71
Figura 38- Espectro de massas para o composto 32.....	71
Figura 39- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 32..	73
Figura 40- Espectro de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto 32	74
Figura 41- Mapa de contornos COSY para o composto 32.....	75
Figura 42- Espectro de HSQC do composto 32.....	76
Figura 43- Espectro de massas do composto 36.....	80
Figura 44- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 36..	81
Figura 45- Espectro HSQC do composto 36.....	82
Figura 46- Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 36..	84
Figura 47-Resultados de ensaio in vitro com Urease de <i>Canavalia ensiformes</i>	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resultados das sínteses de 4- <i>aril</i> -3-bromofuran-2(5 <i>H</i>)-onas 23 e 24.....	39
Tabela 2- Resultados de reações de alquilidenação.....	59

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1- Síntese da Uréia.....	1
Esquema 2 - Hidrólises da uréia pela enzima uréase.....	2
Esquema 3 - Síntese de Protoanemonina (9) proposta por Shaw.....	9
Esquema 4- Esquema de síntese de γ -butenolídeos por meio do acoplamento de Stille.....	10
Esquema 5- Sínteses da lactona 3,4-dicloro-2-(5 <i>H</i>)-ona.....	11
Esquema 6- Reação de Suzuki.....	12
Esquema 7- Análise retrossintético para o preparo dos compostos análogos aos rubrolídeos.....	14
Esquema 8 - Obtenção de Andrografolídeos.....	15
Esquema 9 - Preparo da 3,4-dibromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona a partir do ácido Mucobrômico.....	31
Esquema 10 - Forma cíclica e acíclica do ácido mucobrômico 21.....	31
Esquema 11-Sínteses do composto 22.....	32
Esquema 12- Fragmentações do espectro de massas do composto 22...	35
Esquema 13 - Síntese das lactonas 23 e 24.....	37
Esquema 14- Mecanismo geral de síntese das lactonas 23 e 24 pelo acoplamento de Suzuki-Miyaura.....	38
Esquema 15 - Reatividade da lactona dibromada 22 frente a bases forte	41
Esquema 16 - Proposta mecanística de fragmentação para lactona 24...	44
Esquema 17- Preparo do composto 25.....	47
Esquema 18 - Síntese do composto desmetilado 26.....	56
Esquema 19-Tentativa de síntese do composto 29 e síntese do composto 30.....	63
Esquema 20- Síntese de alquilidenobutenolídeos feita à temperatura 25°C.....	66
Esquema 21 - Equilíbrio entre as formas de cadeia aberta e fechada do ácido mucoclórico.....	67
Esquema 22-Tentativa de síntese do composto 31 e síntese do composto 32.....	68

Esquema 23-Proposta mecanística para a formação dos compostos 30 e 32.....	69
Esquema 24- Síntese de Sarma e colaboradores.....	69
Esquema 25-Fragmentações propostas para o composto 32.....	72
Esquema 26-Tentativa de síntese do composto 33.....	77
Esquema 27- Retroadição aldólica.....	78
Esquema 28- Tentativa de síntese do composto 25 e obtenção do composto 36.....	79
Esquema 29– Proposta mecanística para a formação do composto 36...	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
DBU	DMAP 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno4-(N,N-dimetilamino)piridina
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
m/z	Razão massa/carga em espectrometria de massas
MHz	Megahertz
Ppm	Partes por milhão
Rf	Fator de retenção
Tf	Temperatura de fusão
TBDMSOTf	Tert-butildimetilsililtrifluorometanossulfonato
rH	Rearranjo de hidrogênios

Em RMN:

RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
COSY	Correlated spectroscopy
δ	Deslocamento químico
d	Dupleto
da	Dupleto alargado
dd	Dupleto duplo
J	Constante de acoplamento escalar
m	Multipleteo

RESUMO

COREAS, Nidia Magally Galdámez, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Dezembro de 2014. **Síntese e atividade inibidora de urease de novos γ -alquilidenobutenolídeos análogos aos rubrolídeos** Orientador: Luiz Claudio de Almeida Barbosa. Coorientadores: Elson Santiago Alvarenga e Célia Regina Álvares Maltha.

Os γ -alquilidenobutenolídeos são unidades estruturais presentes em muitos compostos naturais e sintéticos responsáveis pelas diversas atividades biológicas, incluindo fitotoxicidade e citotoxicidade. A primeira parte deste trabalho refere-se à síntese de dois novos γ -alquilidenobutenolídeos, os quais foram submetidos à avaliação de suas atividades como inibidores da urease. O material de partida, o ácido mucobrômico (**21**), foi reduzido com boroidreto de sódio, e após acidificação obteve-se a lactona 3,4-dibromofuran-(5*H*)-ona (**22**) em 87% de rendimento. A lactona (**22**) foi submetida a um acoplamento cruzado por meio da reação de Suzuki-Miyaura, utilizando os ácidos 5-bromo-2-metoxifenilborônico e 5-cloro-2-metoxifenilborônico, e produzindo os compostos 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)furan-2(5*H*)-ona (**23**) e 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)furan-2(5*H*)-ona (**24**), em 41,0% e 57,0% de rendimento, respectivamente. O composto (**23**) foi submetido a uma reação de alquilidação com 3,4-dimetoxibenzaldeído, obtendo-se o composto (*Z/E*)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxi-fenil)-5-(3,4-dimetoxibenzilideno)furan-2(5*H*)-ona (**25**), em 75% de rendimento. Finalmente, o composto (**25**) foi submetido a uma reação para remoção dos grupos metila com BBr_3 , obtendo-se o composto (*Z/E*)-3-bromo-4-(5-bromo-2-hidroxifenil)-5-(3,4-dihidroxibenzilideno)furan-2(5*H*)-ona (**26**) em 90% de rendimento. O composto (**26**), na concentração de 500 μM , causou 100% de inibição da urease comparado com o padrão tiouréia; já o composto (**25**), na mesma concentração, foi bem menos ativo, causando apenas, 29% de inibição da urease. Na segunda parte do trabalho, buscou-se sintetizar γ -alquilidenobutenolídeos mediante a reação de condensação entre aldeídos e butenolídeos simples. Iniciamos nosso estudo partindo da 3,4-dibromofuran-(5*H*)-ona (**22**), 3,4-diclorofuran(5*H*)-ona (**15**) e furan-2(5*H*)-ona (**37**), juntamente com o benzaldeído (**38**) e o 2-clorobenzaldeído (**39**). Diversas condições reacionais foram testadas e verificou-se que as melhores condições para a condensação envolvem o uso de metanol como solvente e carbonato de sódio como base. Nesses experimentos, foram obtidos os intermediários 3,4-dibromo-5-[(2-clorofenil)hidroximetil]furan-2(5*H*)-

ona (**30**) e 3,4-dicloro-5-[(2-clorofenil)hidroximetil]furan-2(5*H*)-ona (**32**), ambos em 40,0% respectivamente. Para avaliar a influência do impedimento estérico causado pelo substituinte no carbono 4 da lactona, a reação foi realizada com o butenolídeo bromado (**23**). Nesse caso, obteve-se um composto não esperado identificado como [4-(5-bromo-2-metoxifenil)]-5-metoxifuran-2(5*H*)-ona (**36**), com 74,0% de rendimento. Todos os compostos foram caracterizados pelas técnicas de espectroscopia no infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e de ¹³C, técnicas bidimensionais como COSY e HSQC e por espectrometria de massas (EM).

ABSTRACT

COREAS, Nidia Magally Galdámez, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December of 2014. **Synthesis and inhibition activity of urease in γ -alkylidenebutenolides analog to rubrolídeos**. Adviser: Luiz Claudio de Almeida Barbosa. Co-Advisers: Elson Santiago Alvarenga and Célia Regina Álvares Maltha.

γ -alkylidenebutenolides are structural units present in many natural and synthetic compounds, for which diverse biological activity have been reported, including phytotoxicity and cytotoxicity. The first part of this study refers to the synthesis of two new γ -alkylidenebutenolides which were submitted to an investigation of its activity as urease inhibitors. The starting material mucobromic acid (**21**) was reduced with sodium borohydride and, after acidification, lactone 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-one (**22**) was obtained in 87% yield. Compound (**22**) was then submitted to a Suzuki-Miyaura cross-coupling utilizing 5-bromo-2-methoxyphenylboronic and 5-chloro-2-methoxyphenylboronic acids. From those reactions, compounds 3-bromo-4-(5-bromo-2-methoxyphenyl) furan-2(5*H*)-one (**23**) and 3-bromo-4-(5-chloro-2-methoxyphenyl)furan-2(5*H*)-one (**24**) were obtained in 41.0 % and 57.0% yields, respectively. Compound (**23**) was submitted to alkylidenation reaction with 3,4-dimethoxybenzaldehyde, affording the compound (*Z/E*)-3-bromo-4-(5-bromo-2-methoxyphenyl)-5-(3,4-dimethoxybenzylidene)furan-2(5*H*)-one (**25**) in 75% yield. Finally (**25**) was treated with BBr₃ in order to remove the methyl groups, leading (**26**) in 90% of efficiency. When tested at 500 μ M, compound (**26**) caused 100% of inhibition of urease when compared to the control, while compound (**25**) was less active, causing only 29% of inhibition of urease.

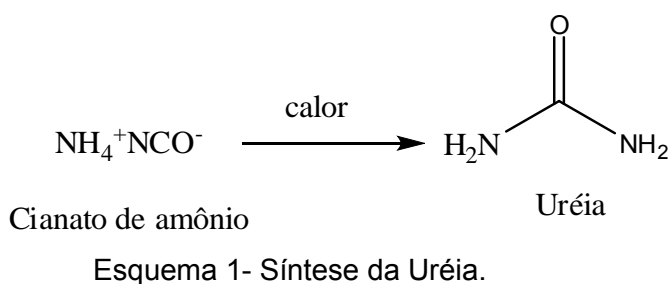
The second part of this study consisted in synthesize γ -alkylidenebutenolides by a reaction of condensation between aldehydes and simple butenolides. We started from 3,4-dibromofuran-5(5*H*)-one (**22**), 3,4-dichlorofuran(5*H*)-one (**15**) and furan-2(5*H*)-one (**37**) and the carbonyl compounds benzaldehyde (**38**) and 2-chlorobenzaldehyde (**39**). Several reaction conditions were tested and it was verified that the best conditions for this condensation involved the use of methanol as a solvent and sodium carbonate as base. In these experiments, 3,4-dibromo-5-((2-chlorophenyl)(hydroxy)methyl)furan-2(5*H*)-one (**30**) and 3,4-dichloro-5-((2-chlorophenyl)(hydroxy)methyl)furan-2(5*H*)-one (**32**) were obtained as intermediate compounds, both in 40.0% yield. In order to evaluate the hysteric hindrance caused

by the substitute attached to carbon 4 of the lactone ring, the reaction was performed with brominated butenolide (**23**). In this case, the unexpected compound 4-(5-bromo-2-methoxyphenyl)-5-methoxyfuran-2(5*H*)-one (**36**) was formed in 74.0% yield. All compounds were characterized by spectroscopic infrared techniques (IR), nuclear magnetic resonance (NMR) of ^1H and ^{13}C , bidimensional techniques as COSY and HSQC and mass spectrometry (MS).

INTRODUÇÃO

1.1 Histórico da uréia e urease

A descoberta da uréia, assim como da urease, gerou grandes contribuições na história da Bioquímica. Em 1828, Friedrich Wohler sintetizou a uréia (composto orgânico) pela primeira vez, através do aquecimento em uma solução aquosa de cianato de amônio (um sal inorgânico). Esse experimento contribuiu para a derrubada da teoria de que os compostos orgânicos só poderiam ser sintetizados por organismos vivos, conhecida como “teoria da força vital” (SOLOMONS & FRYHLE, 2005).



A urease, por sua vez, foi a primeira enzima cristalizada por James B. Summer, em 1926, a partir de sementes de *Canavalia ensiformis*, conhecida como Jack Bean ou, mais popularmente no Brasil, como feijão-de-porco (Figura 1) (SUMMER, 1926). A Jack Bean Urease (JBU) foi também a primeira enzima identificada que contem níquel no seu sítio ativo (DIXON et al, 1975).

A uréia é abundante como produto final do metabolismo, sendo liberada na urina. Em média, um ser humano chega a liberar aproximadamente 10 kg de uréia por ano.

A urease é produzida por bactérias, fungos, leveduras e plantas, e catalisa a degradação da uréia para fornecer a esses organismos o nitrogênio necessário para o crescimento (BALASUBRAMANIAN & PONNURAJ, 2010).

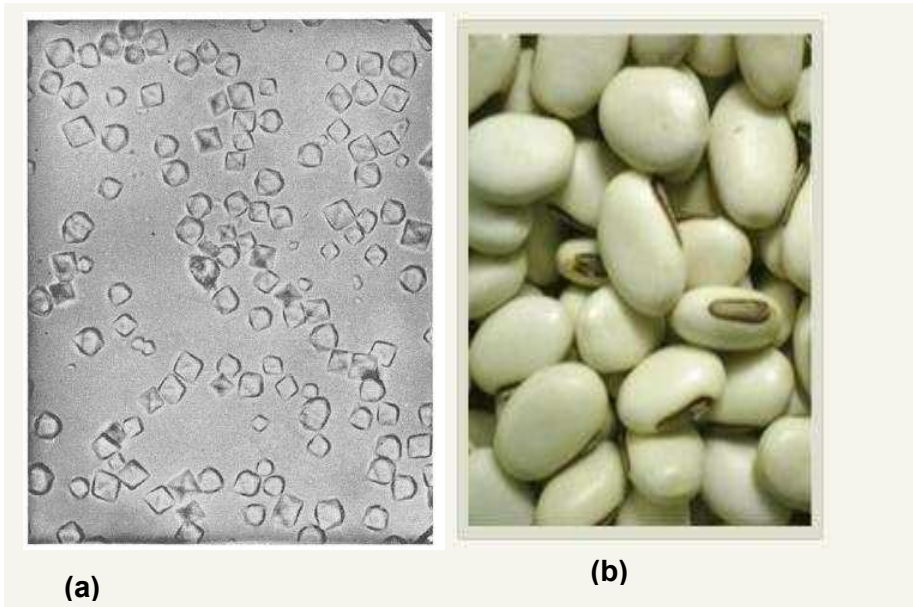
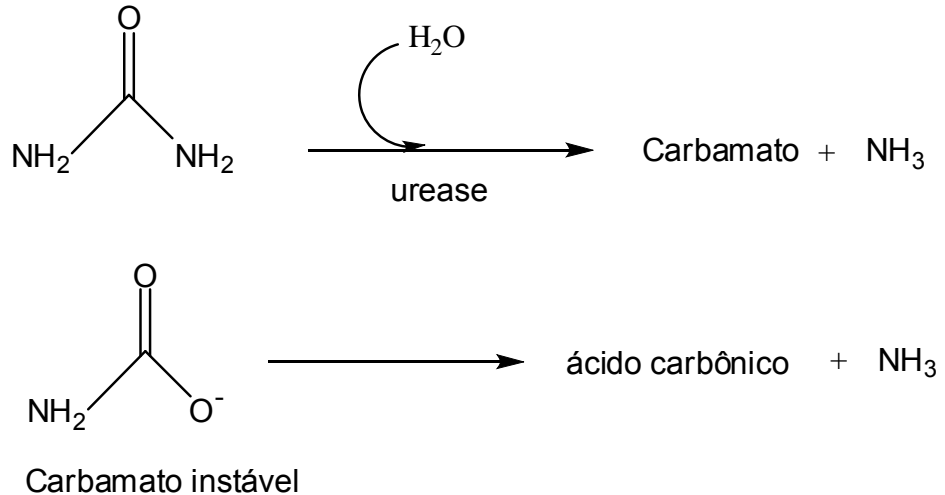


Figura 1- (a) Fotomicrografia de cristais da urease aumentados 728 vezes; (b) Grãos de Jack bean ou Feijão-de-Porco. Fonte: <http://www.ufrgs.br/laprotox/o-que-fazemos/linhas-de-pesquisa/canatoxina>

A enzima urease degrada a uréia em amônia (2NH_3) e dióxido de carbono (CO_2). A amônia produzida é subsequentemente transformada em sal de amônio (NH_4^+) e nitrato NO_3^- por meio de nitrificação bacteriana no solo (Esquema 2).



Esquema 2- Hidrólise da uréia pela enzima urease.

A urease é de grande importância tanto na área da medicina como na agricultura. O patógeno gástrico *Helicobacter pylori* utiliza a urease para neutralização localizada do pH, permitindo que este patógeno se prolifere no

estômago. Na área da agricultura, a uréia é amplamente utilizada como fertilizante. Grande parte da uréia aplicada é hidrolisada por ureases produzidas por bactérias do solo, promovendo a volatilização do nitrogênio na forma de amônia. Estes aspectos serão mais detalhados nas seções 1.2 e 1.3 (FARRUGIA, MACOMBER & HAUSINGER, 2013).

1.2 Aspectos medicinais e a urease

Helicobacter pylori (*H. pylori*) é uma bactéria Gram negativa microaerofílica encontrada no estômago dos seres humanos (PORRAS et al, 2012). A sua habilidade de se desenvolver no meio ácido do estômago depende da geração de grandes quantidades de enzima urease, que neutraliza a acidez gástrica mediante a produção de amônia proveniente da hidrólise da uréia. Desta forma, o *H. pylori* é capaz colonizar a mucosa gástrica, ocasionando infecções que estão associadas à inflamação gastroduodenal, incluindo ulcera péptica, e incrementando os riscos de neoplasia gástrica (FAHEY et al, 2013).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer de estômago é a terceira causa de morte por câncer em ambos os sexos no mundo inteiro (723.000 mortes, 8,8% do total). Quase um milhão de novos casos deste tipo de câncer foram relatados em 2012 (952.000, 6,8% do total), o que o coloca na quinta posição entre as formas mais comuns de câncer maligno no mundo, depois do câncer de pulmão, de mama, do colo retal e de próstata.

No Brasil, o câncer de estômago é a quarta doença mais incidente dentre os tipos de câncer. Encontra-se em quarto lugar nas regiões Norte (11 casos/100 mil), Nordeste (10 casos/100 mil), Centro-Oeste (11 casos/100 mil) e Sul (16 casos/100 mil), e na quinta posição na região Sudeste (15 casos/100 mil) (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014).

O maior fator de risco é a infecção pela bactéria *H. pylori*. Atualmente, 50% da população em todo o mundo se encontra infectada por esta bactéria, sendo o índice de contaminação ainda maior em países em desenvolvimento (LOPES et al, 2014).

1.3 Agricultura

O nitrogênio é um dos nutrientes mais limitantes no solo e um dos mais requeridos para elevar a produção e o índice de colheita (CIVARDI et al, 2011). O uso de adubos nitrogenados é necessário para o enriquecimento do solo. Em função de seu elevado conteúdo de nitrogênio (45%) e de seu baixo custo por unidade de nutriente, a uréia é o principal fertilizante utilizado na agricultura em todo o mundo (OKUMURA & MARIANO, 2012).

O Brasil é, atualmente, um dos principais consumidores de fertilizantes em todo o mundo. Porém, grande parte dos adubos utilizados não é produzida para aplicação em solos tropicais, o que resulta em grandes quantidades de gases lançados na atmosfera, principalmente amônia e óxidos de nitrogênio. Além disso, há que se considerar a contaminação de solos e lençóis freáticos pelo nitrato produzido a partir da degradação da uréia, por ação de ureases (ZAMBUDIO & COLETTI, 2012). A elevada atividade da enzima urease ocasiona problemas tanto econômicos quanto ao meio ambiente. Cerca de 50% da uréia é perdida na forma de gases, ao ser aplicada nos solos. Um desses gases, o óxido nitroso, é um dos grandes responsáveis pelo efeito estufa (ZAMBUDIO & COLETTI, 2012).

O aproveitamento do nitrogênio, quando aplicado em cobertura na forma de uréia, é muito baixo. Isso se deve à forma como o adubo sofre grandes perdas por lixiviação, desnitrificação e principalmente volatilização (CONTIN, 2007). Os fertilizantes nitrogenados sólidos se apresentam em quatro formas: amoniacal (sulfato de amônio), nítrica (nitrato de sódio), nítrico-amoniacal (nitrato de amônio, nitrocálcio) e amídica (uréia), sendo solúveis em água (COELHO et al, 2004).

Como consequência disso, surgiu o interesse em se utilizar inibidores de urease que possam retardar a hidrólise da uréia e a volatilização de N amoniacal, até que a uréia seja incorporada ao solo pela ação da água.

1.4 Inibidores de Urease

Muitas pesquisas já foram desenvolvidas nos últimos anos com a finalidade de regular a atividade da enzima urease, tanto na área terapêutica quanto na agrônômica (BERLICKI et al, 2012). Os compostos do grupo das fosfordiamidas e fosfortriamidas e seus derivados mostraram-se os mais eficientes inibidores dessa enzima. Entre esses grupos de compostos estão o *N*-butil-*N*-butiltiofosfortriamida (NBPT), fenilfosfordiamidato (PPD), *N*-butilfosfortriamida (NBPTO) e *N*-diaminofosforil-4-fluorobenzamida (Fluorofamida) (Figura 2) (DOMINGUEZ et al, 2008).

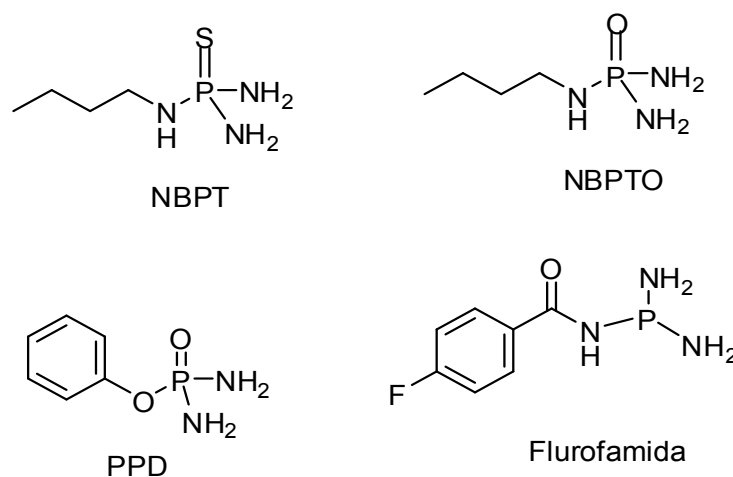


Figura 2- Estruturas de fosforamidatos como inibidores de urease.

Gans et al (2006) estudaram a influência de dois inibidores de urease do grupo das fosfortriamidas na cultura da aveia, verificando que os inibidores reduziram as perdas de N por volatilização de amônia e aumentaram o rendimento da cultura, quando comparados à uréia comum.

Oliveira, Barbosa & Ismail (2014) sintetizaram novos compostos do grupo dos fosforamidatos, os quais apresentaram boa atividade inibitória sobre a urease, principalmente o composto com bromo em posição *para*. Além disso, foram realizados outros estudos, em que se comprovou que os compostos sintetizados possuem propriedades físico-químicas que os qualificam por apresentarem bons perfis farmacocinéticos, apresentando, portanto, requisitos para atuação como drogas em potencial (Figura 3).

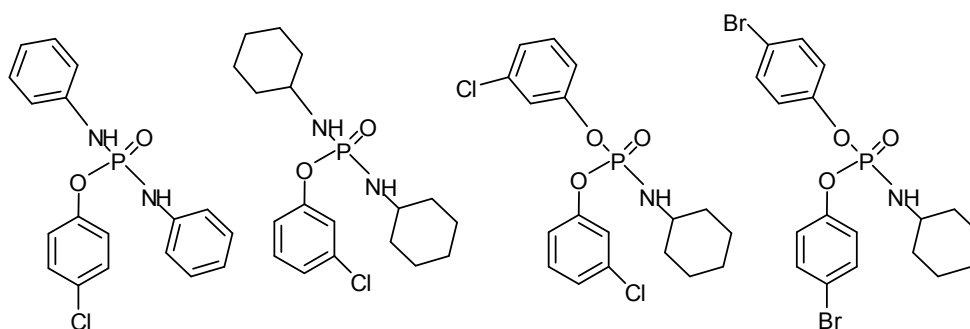


Figura 3- Alguns novos fosforamidatos sintéticos.

Três novos tipos de compostos – tiopiridinas-*N*-óxidos, tiopiridinas e tiopirimidinas – são efetivos inibidores da enzima urease na área da agricultura (RADEL & CRENSHAW, 1990). Um estudo realizado com o ácido bórico e três diferentes ácidos borônicos demonstrou que tais compostos apresentam moderada atividade inibidora da urease. O mecanismo de ação não foi estabelecido, mas sabe-se que envolve o metalocentro (BREITENBACH & HAUSINGER, 1988).

O tratamento de escolha contra a infecção causada por *H. pylori* é baseado na associação dos antibióticos amoxicilina e claritromicina com um inibidor da bomba de prótons, como omeprazol, lansoprazol e pantoprazol. Entretanto, devido principalmente ao surgimento de cepas de *H. pilory* resistentes aos antimicrobianos, o desenvolvimento de novos inibidores de urease vem se tornando uma necessidade (BARDONNET et al, 2008).

Devido à situação apontada, estão sendo feitos muitos esforços na busca por compostos naturais com atividade inibidora de urease, que possam ser usados como fármacos ou como modelos para a síntese de análogos.

Dentro da indústria farmacêutica, os produtos naturais desenvolvem um papel fundamental na descoberta de novos fármacos. Plantas, fungos, insetos, organismos marinhos e bactérias são fontes importantes de substâncias biologicamente ativas, sendo que muitos dos fármacos de uso clínico ou são de origem natural ou foram sintetizados a partir do uso de produtos naturais como modelos. Dentro desse grupo de compostos de interesse estão os butenolídeos (BARREIRO et al, 2009).

1.5 Butenolídeos

Os butenolídeos correspondem a γ -lactonas insaturadas, podendo apresentar anéis furan-2(5H)-ona (**1**) e furan-2(3H)-ona (**2**) (Figura 4). Dentre os butenolídeos, as substâncias que apresentam a estrutura geral (**3**) são conhecidas genericamente como γ -alquilidenobutenolídeos (Figura 4).

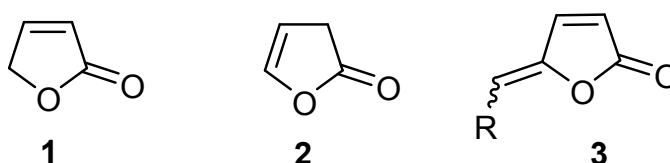
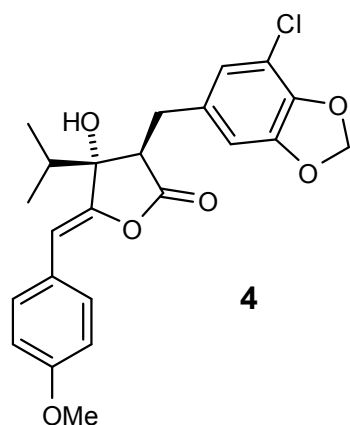


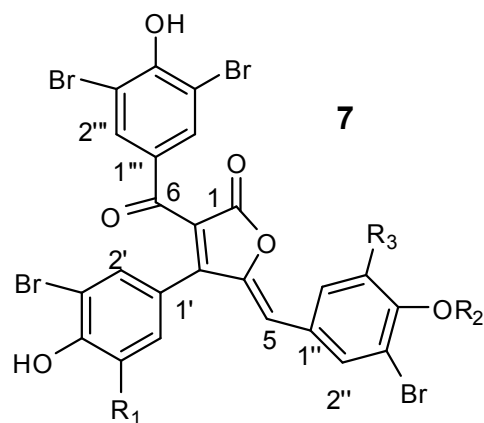
Figura 4- Estrutura geral dos anéis presentes em butenolídeos.

Nas últimas décadas, diversos γ -alquilidenobutenolídeos vêm sendo isolados a partir de fontes naturais, e muitos destes compostos têm apresentado importantes atividades biológicas, como fungicida, bactericida, anti-inflamatória, citotóxica e reguladora de germinação de sementes (BARBOSA et al, 2010a; EL-TOMBARY et al, 2011; FLEMATTI et al, 2004; LIGHT, DAWS, & STADEN, 2009; WEBER, 2002).

Como exemplos de butenolídeos naturais bioativos, podem ser citados: cianobactéria (**4**), encontrada em algas verde-azuladas, que apresenta atividade inibitória do transporte de elétrons durante a fotossíntese; a lactona (**5**), isolada do fungo *Malbranchea filamentosa*, que apresenta atividade vasodilatadora; o composto (**6**) encontrado na alga marinha *Delisea pulchra*, que apresenta atividade inibidora de biofilmes bacterianos; os compostos (**7a**), (**7b**) e (**7c**) isolados de *Pseudodistoma antinboja*, que possuem atividades bactericidas. O rubrolídeo (**8**), com poder anti-inflamatório, foi isolado de extratos de *Ascídia Synoicum* sp. da Nova Zelândia, existindo como uma mistura isomérica *E/Z* (Figura 5) (HOSOE et al, 2005; PEARCE et al, 2007; SMIT, 2004; WEIHONG et al, 2012).



Inibidor do transporte de elétrons

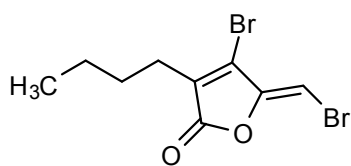


Antibacterial

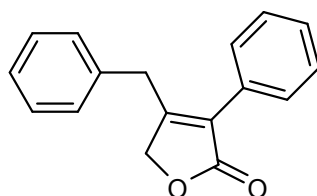
7a: $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H$

7b: $R_1 = Br, R_2 = H, R_3 = H$

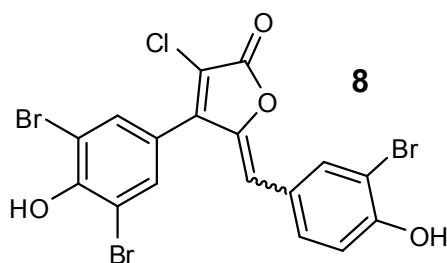
7c: $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = Br$



Antibiofilme



Vasodilatadora



mistura de isómero (*Z/E*)

Antiinflamatório

Figura 5- Alguns exemplos de butenólídeos isolados de fontes naturais e suas atividades biológicas.

Rubrolídeos (**8a–d**) são compostos que pertencem à família dos butenólídeos, metabólitos biologicamente ativos que foram pioneiramente isolados da ascidia marinha *Ritterella rubra* (MIAO & ANDERSON, 1991) (Figura 6).

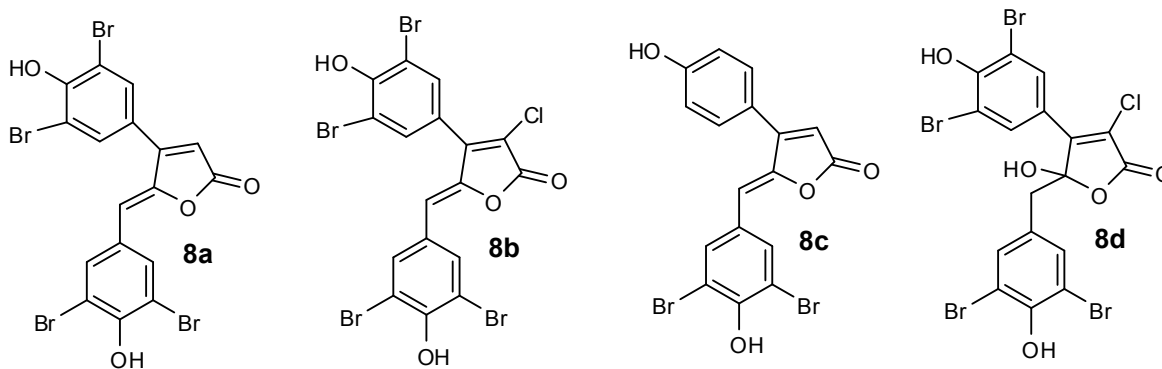


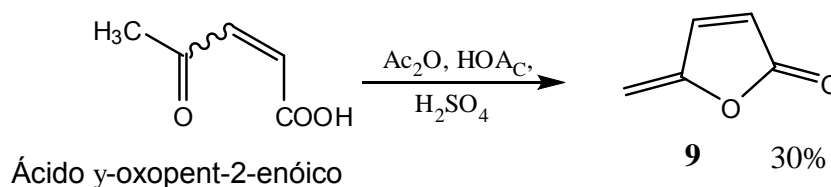
Figura 6- Exemplo de rubrolídeos isolados de Ascídea marinha.

Compostos da classe dos rubrolídeos possuem diversas atividades biológicas como antibacteriana, antitumoral, herbicida, entre outras. Por esta razão, esses compostos vêm sendo considerados promissores modelos para a síntese de análogos, e vários procedimentos para suas respectivas sínteses têm sido desenvolvidos (BARBOSA et al, 2010a).

Apesar de diversas atividades de interesse farmacêutico e agrícola terem sido reportadas para compostos da classe dos rubrolídeos, não há registro de atividade inibidora de urease para tais compostos.

1.5.1 Estudos sintéticos envolvendo butenolídeos

Dentre os trabalhos pioneiros na obtenção deste tipo de butenolídeos, se encontra a síntese feita em 1946 por Shaw, que utilizou o ácido γ -oxopent-2-enóico como material de partida que foi convertido em protoanemonina (**9**), com 30% de rendimento (Esquema 3).



Esquema 3 - Síntese de protoanemonina **9** feita por Shaw.

Wang et al (2011) sintetizaram novos butenolídeos (Figura 7) contendo ditiocarbamatos na posição 3 do anel lactônico (**10a-10d**). Esses autores demonstraram, mediante estudos de relação estrutura-atividade, que a introdução do grupo nessa posição foi essencial na resposta contra cinco linhagens de células de câncer esofágico, cervical, próstata, pulmão e peito, principalmente o composto com o grupo N-benzil.

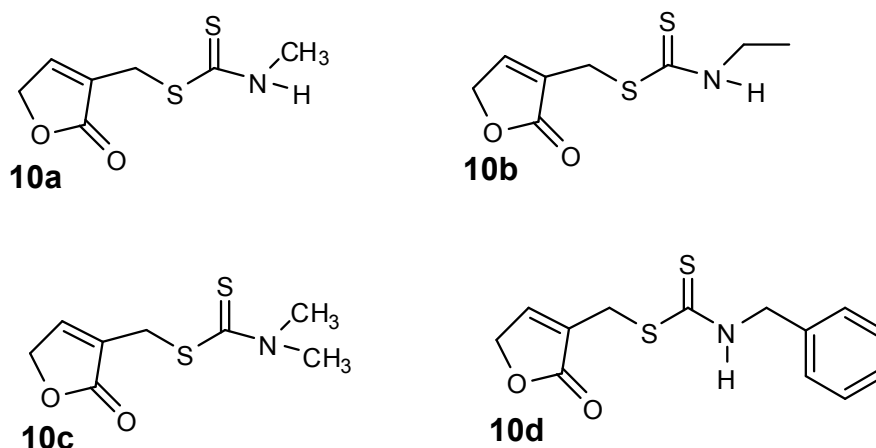
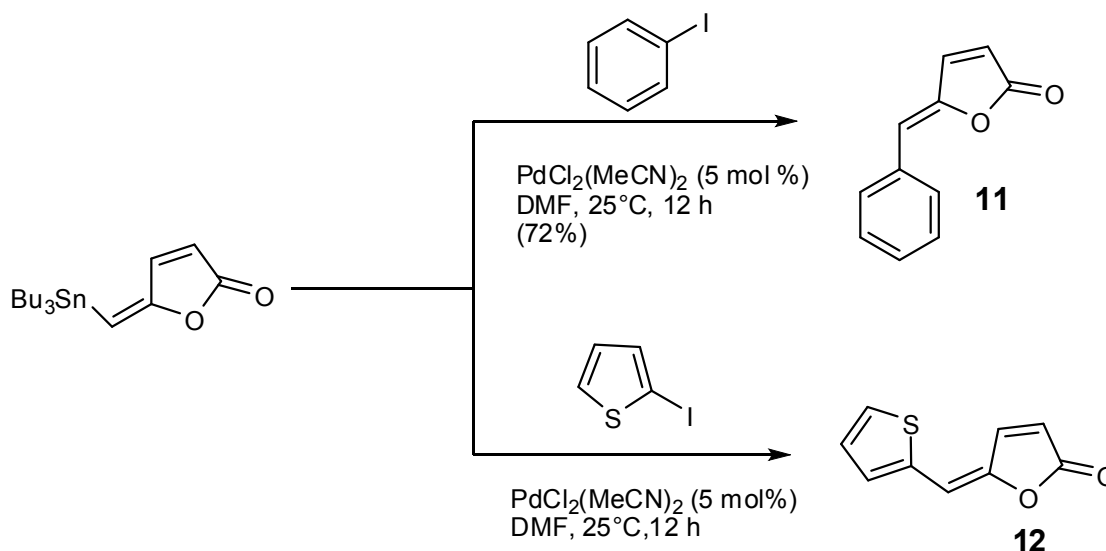


Figura 7- Butenolídeos contendo a função ditiocarbamatos na posição 3.

Num trabalho anterior, feito pelo acoplamento de Stille, foram obtidos os compostos (**11**) e (**12**) mostrados no Esquema 4 (BARBOSA et al, 2010a).



Esquema 4- Esquema de síntese de γ -butenolídeos por meio do acoplamento de Stille.

No Laboratório de Síntese de Agroquímicos do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa (LASA/DEQ/UFV), foram sintetizadas as furanonas halogenadas (**13a**), (**13b**), (**13c**) e (**13d**), seguindo a metodologia de Boukouvalas e

colaboradores (2007). Esses compostos apresentaram atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, semelhante às atividades dos antibacterianos estreptomicina e eritromicina. Entre os compostos sintetizados, o mais ativo foi aquele sem substituintes no anel benzênico (**13a**), obtido com rendimento de apenas 15%. Nota-se que a presença de grupos doadores de elétrons no anel benzilideno, assim como (**13b**), incrementou o rendimento da reação (Figura 8).

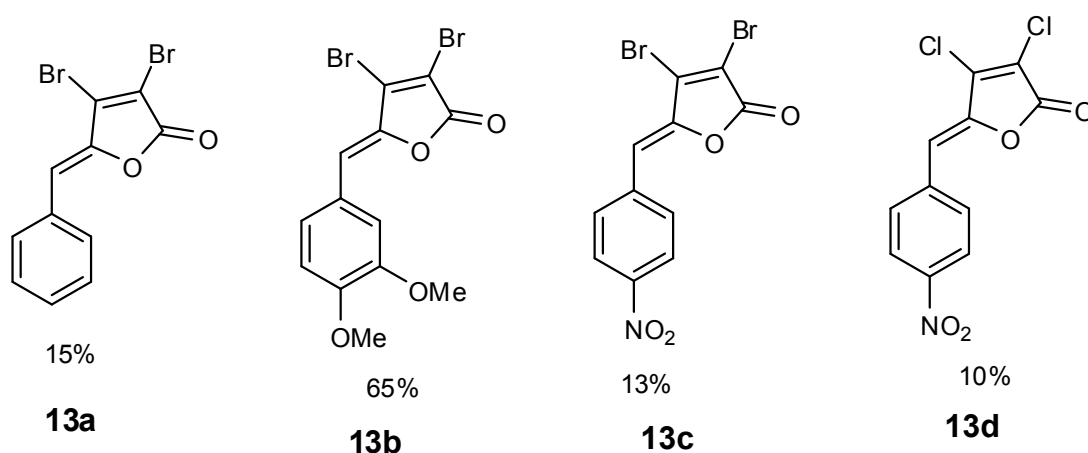
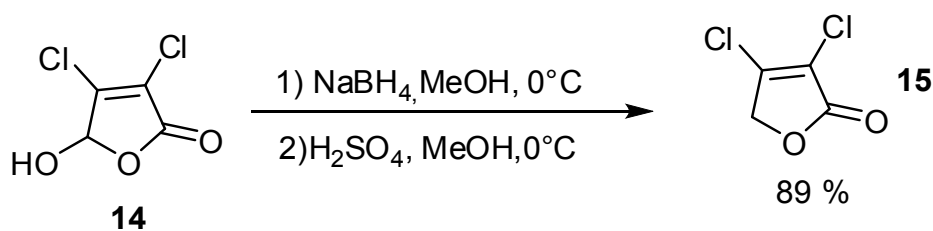


Figura 8- Furanonas halogenadas e respectivos rendimentos da etapa de alquilidenação.

Bellina et al (2003) descreveram uma rota para a síntese da lactona diclorada 3,4-dicloro-2(5*H*)-ona (**15**) partindo do ácido mucoclórico (**14**) (Esquema 5). A lactona diclorada foi então utilizada como material de partida para a síntese de compostos como: 4-aryl-3-cloro-furan-2(5*H*)-ona e, subsequentemente, (*Z*)-4-aryl-5-[1-arylmetileno]-3-cloro-furan-2(5*H*)-ona (Figura 9). Tanto o ácido mucobromico e quanto o mucoclórico são considerados úteis do ponto de vista sintético e são disponíveis comercialmente, sendo o ácido mucoclórico mais barato e, portanto, mais vantajoso como material de partida (ZHANG et al, 2005).



Esquema 5 - Sínteses da lactona 3,4-dicloro-2-(5*H*)-ona.

A lactona diclorada foi então utilizada como material de partida para a síntese de compostos como: 4-aryl-3-cloro-furan-2(5*H*)-ona e subsequentemente (Z)-4-aryl-5-[1-arylmetileno]-3-cloro-furan-2(5*H*)-ona (Figura 9).

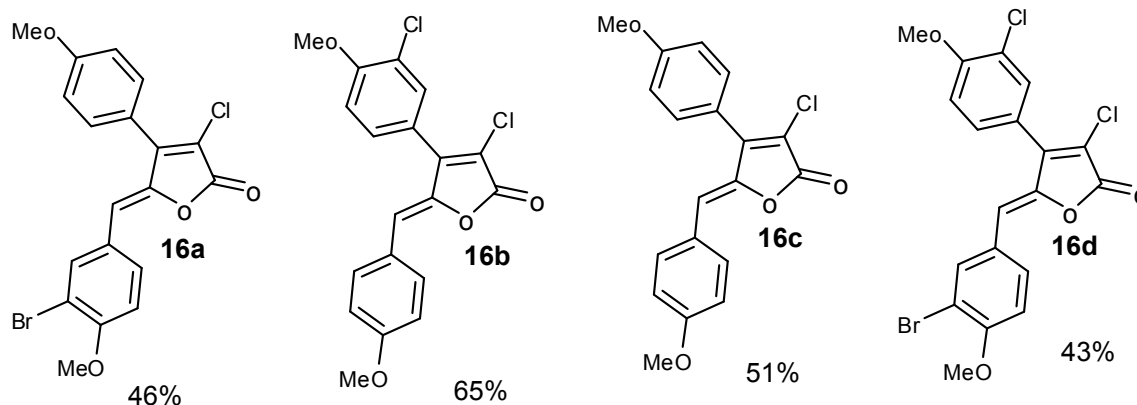
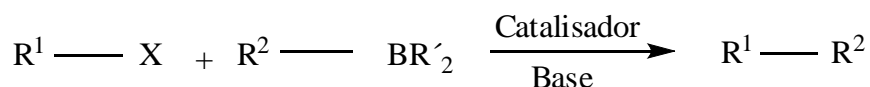


Figura 9- Compostos sintetizados a partir de ácido mucoclórico **14**.

1.5.2 Aplicações sintéticas da reação de acoplamento Suzuki-Miyaura

A reação de acoplamento cruzado C-C, conhecida como reação de Suzuki-Miyaura, foi descoberta no final dos anos 70 e logo se tornou uma poderosa metodologia para formação de ligações carbono-carbono (TANG et al, 2010). O acoplamento de haletos de arila e ácidos borônicos utiliza um catalisador de paládio e uma base (Esquema 6).



Esquema 6 - Reação de Suzuki-Miyaura.

Um dos motivos pelos quais a reação tornou-se importante consiste em sua ampla aplicação em processos industriais, com destaque na indústria farmacêutica, sendo utilizada na síntese de diversos fármacos de forma econômica e em elevados rendimentos (CORREIA, 2011). Outras vantagens importantes desta reação são a sua excelente compatibilidade com grupos funcionais, a fácil preparação dos

derivados de ácidos borônicos e a baixa toxicidade dos subprodutos de boro gerados na reação (IWAI, GLIGORICH & SIGMAN, 2008).

Como exemplo dentre os produtos comercializados que são produzidos por essa metodologia temos o Losartan (**17**), uma droga anti-hipertensiva comercializada pela *Merck*. Outro exemplo, também comercializado pela empresa, é o SB-245570 (**18**), uma molécula usada para o tratamento da depressão (BELLINA et al., 2004). A companhia *BASF* utiliza ácidos borônicos na produção de Boscalid (**19**), um fungicida que foi introduzido no mercado em 2003, cuja a produção ultrapassa 1000 toneladas por ano (GLASNOV & KAPPE, 2010). O ABT-963 (**20**), um inibidor potente e seletivo da enzima COX-2 (droga anti-inflamatória não esteroide) é produzido pelo Laboratório Abbott. Durante sua síntese, foi empregada a reação de acoplamento com 88% de rendimento (LENNOX & JONES, 2014) (Figura 10).

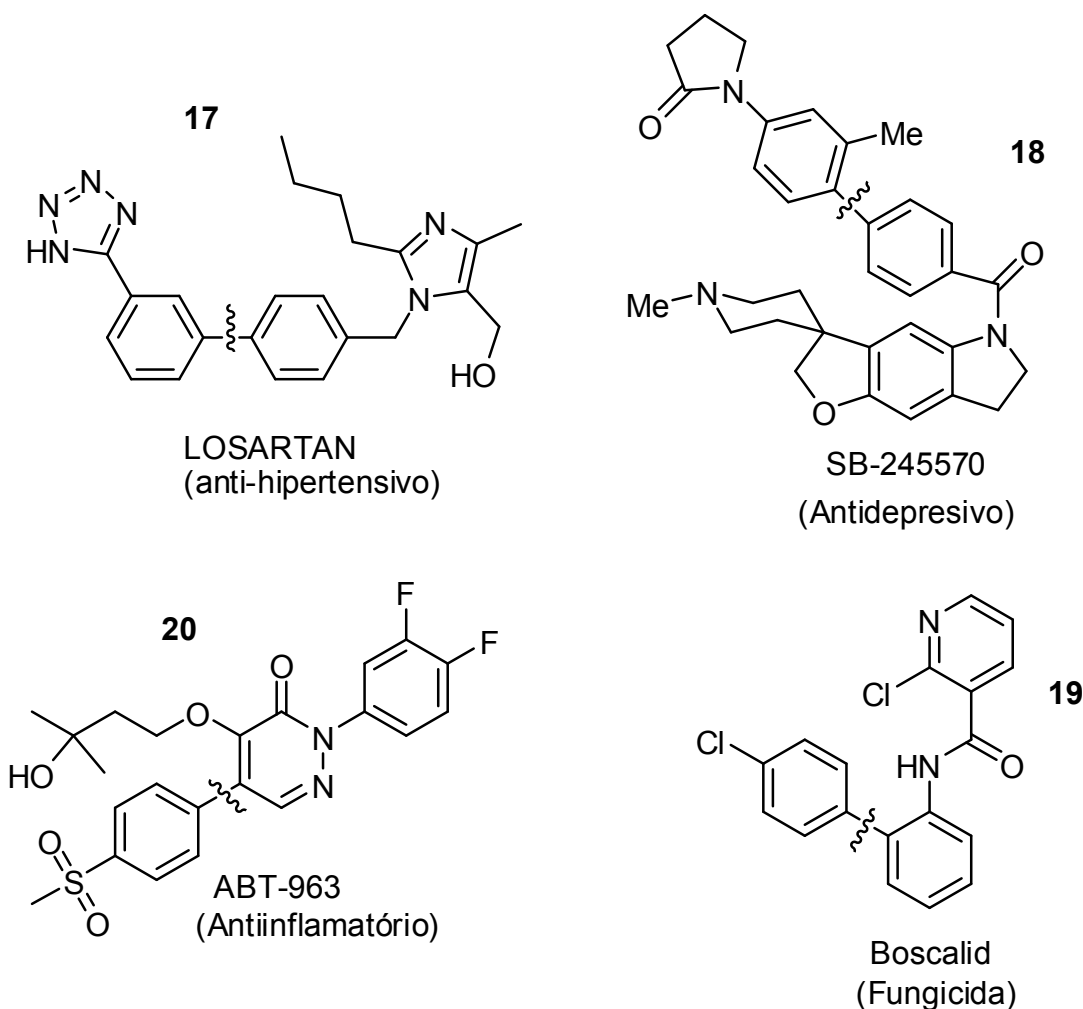
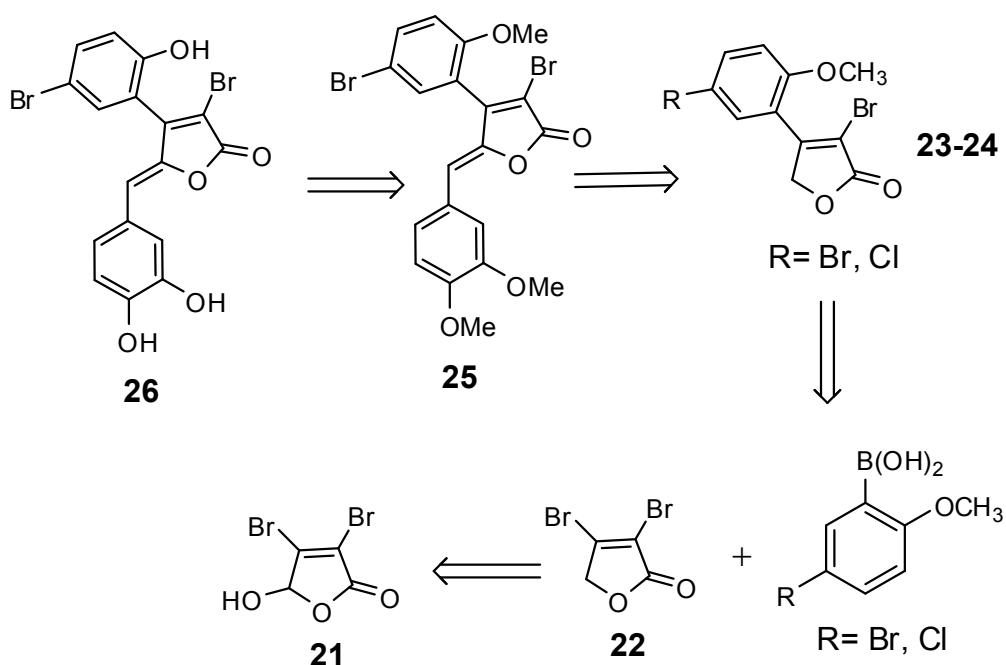


Figura 10 - Alguns exemplos de compostos comerciais preparados por meio da reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura.

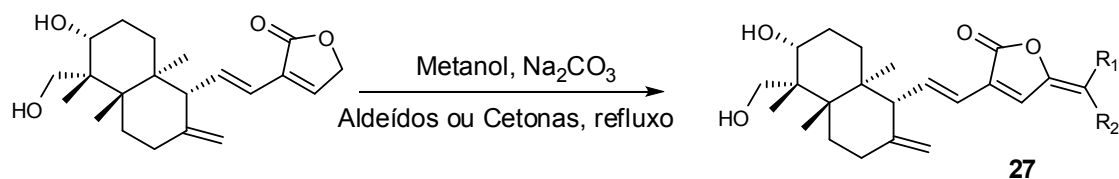
A rota sintética a ser utilizada na primeira parte do presente trabalho é constituída de uma adaptação do trabalho realizado por Bellina et al (2001), no qual foram preparados os compostos análogos aos rubrolídeos.

Para obter a 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**22**), partiu-se do ácido mucobrômico (**21**) para logo fazer a reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura, seguindo a metodologia de Bellina et al (2001) para a introdução do grupo arila na posição 4 do anel lactônico, obtendo-se os compostos (**23**) e (**24**). Esses produtos foram posteriormente submetidos à reação de alquilidenação com aldeídos para a formação do composto (**25**) e também de seu análogo clorado. Posterior desmetilação de (**25**) resultou na formação do composto (**26**) conforme a análise retrossintética (Esquema 7).



Esquema 7- Análise retrossintética para o preparo dos compostos análogos aos rubrolídeos.

A segunda parte do trabalho consistiu na síntese de γ -alquilidenobutenolídeos, utilizando a metodologia de Xu e colaboradores (2007) para a etapa de alquilidenação. Esses autores utilizaram uma metodologia simples para sintetizar estereoseletivamente γ -alquilidenobutenolídeos (**27**) derivados de andrografolídeos e digoxina, mediante uma condensação aldólica utilizando metanol como solvente, Na₂CO₃ como base e uma série de aldeídos e cetonas (Esquema 8).



Esquema 8- Obtenção de Andrografolídeos.

Considerando que essa metodologia envolve o uso de reagentes comuns e de baixo custo, além de ser simples do ponto de vista experimental, esta etapa do trabalho consistiu-se de estudos visando adaptá-la para promover a reação de alquilidenação de butenolídeos derivados dos ácidos mucoclórico e mucobrômico.

1.5.3 Objetivos

No Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) foram feitas inúmeras reações de alquilidenação utilizando a metodologia de Bellina et al (2001) para a obtenção de γ -alquilidenobutenolídeos. Embora esta metodologia tenha se mostrado eficiente, há a desvantagem do alto custo e complexidade dos procedimentos. Por esta razão, o presente trabalho objetivou investigar novos procedimentos sintéticos, mais simples e de mais baixo custo para a obtenção de γ -alquilidenobutenolídeos, tendo como referencia a metodologia descrita por Xu et al (2007).

Outro objetivo central foi sintetizar e avaliar a atividade inibitória da enzima urease de novos compostos análogos aos rubrolídeos, visando o desenvolvimento de novos compostos com potencial uso comercial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Técnicas experimentais

As purificações dos produtos foram feitas por cromatografia em coluna utilizando sílica gel 60 (70-230 *mesh*) como fase estacionária, e diversas misturas de solventes como fase móvel. Os reagentes utilizados para as diversas sínteses foram todos grau P.A. As reações e as separações por cromatografia em coluna foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) sem sílica-gel contendo indicador de fluorescência. As placas foram reveladas por exposição à luz UV e por imersão em solução de permanganato de potássio. As temperaturas de fusão foram determinadas no aparelho digital de ponto de fusão MQAPF- 302 do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), do Departamento de Química da UFV, e não foram corrigidas.

2.2 Purificação de solventes

Os solventes utilizados foram anidros, utilizando a técnica de secagem de acordo com Perrin & Armarego (2003).

Metanol anidro - Em um balão de 500 mL foram adicionados 2,5 g de magnésio, 0,25 g de iodo molecular e 50 mL de metanol. O sistema permaneceu sob refluxo durante uma hora. Depois deste tempo, foram adicionados 250 mL de metanol ao balão e a mistura foi mantida sob refluxo durante 2 horas. O solvente foi destilado e armazenado sobre peneira molecular 4 Å em um frasco sob atmosfera de nitrogênio.

Tetraidrofurano (THF) – Em um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de THF e 12 g de hidreto de cálcio. A mistura foi refluxada durante 20 minutos e em seguida o solvente foi destilado e recolhido em outro balão de 500 mL contendo sódio metálico. O destilado sobre sódio metálico permaneceu sob refluxo durante uma hora, e após este tempo se adicionou benzofenona, deixando-se a mistura sob refluxo até o aparecimento de coloração azul. Em seguida, destilou-se o THF anidro,

que foi armazenado num frasco de vidro sobre peneira molecular de 4 Å, em atmosfera de nitrogênio.

Diclorometano (DCM) - Foram adicionados 300 mL de DCM e 3 g de hidreto de cálcio num balão de 500 mL. Deixou-se em refluxo por 3 horas e após este tempo destilou-se o DCM, que foi armazenado num frasco contendo peneira molecular de 4 Å.

Diisopropiletilamina (DIPEA) – Em um balão de 500 mL, foram adicionadas lentilhas de hidróxido de potássio e logo 300 mL de diisopropiletilamina. Deixou-se refluxando durante duas horas. Após este período, destilou-se a diisopropiletilamina, que foi armazenada sobre lentilhas de hidróxido de potássio.

Acetonitrila- Em um béquer de 500 mL, foram adicionados 300 mL de acetonitrila com 10 g de sílica gel. A seguir, a mistura foi filtrada e a acetonitrila recolhida em um balão de 500 mL no qual, posteriormente, foram adicionadas 3 g de hidreto de cálcio. A mistura permaneceu em refluxo por três horas. Em seguida, destilou-se a acetonitrila anidra, que foi armazenada sobre peneira molecular de 4 Å, em um frasco de vidro âmbar, sob atmosfera de nitrogênio.

2.3 Técnicas espectroscópicas

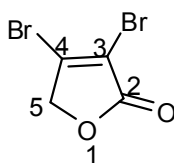
Infravermelho - Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos com as amostras preparadas na forma de pastilhas de KBr contendo 1% (m/m) do composto. Foi utilizado um espectrofotômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000 (Departamento da Química, UFV).

Ressonância Magnética Nuclear - Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) e de carbono (RMN de ^{13}C) foram obtidos em um espectrômetro VARIAN MERCURY 300 MHz do Departamento da Química da UFV. Como solventes deuterados, foram utilizados o clorofórmio (CDCl_3) e a acetona. As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

Espectrometria de massas - Os espectros de massas foram obtidos em um equipamento SHIMADZU GC/MS-QP5050A, do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) do Departamento de Química da UFV.

2.4 Procedimentos sintéticos

2.4.1 Síntese da lactona 3,4-dibromofuran-2 (5H)-ona (**22**)



22

Em um balão bitubulado de fundo redondo, foram adicionados o ácido mucobrômico (21,510 g; 83,42 mmol) e metanol anidro (120 mL), que foram mantidos sob agitação magnética e resfriamento a 0 °C. Posteriormente, foi adicionado boroidreto de sódio (4,735 g; 125,13 mmol) lentamente, mantendo-se a agitação durante 15 minutos. Uma solução de ácido sulfúrico concentrado (4,5 mL) em metanol (42 mL), resfriada a 0 °C, foi adicionada à mistura resultante, que foi mantida sob agitação por 15 minutos. Decorrido este período, foi adicionado éter dietílico (1,125 L), e a solução resultante foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (4 x 150 mL). As fases foram separadas e a fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro e concentrada sob pressão reduzida. Obteve-se um sólido que foi recristalizado com hexano:éter dietílico, obtendo-se a lactona (**22**) em forma de cristais brancos, com rendimento de 87% (16,674 g; 68,93 mmol).

Característica: Cristais brancos

T_f: 87,0- 88,0 °C

CCD: R_f= 0,30 , Hexano:DCM 1:2 (v/v)

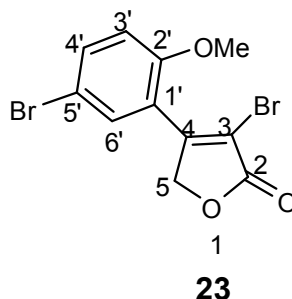
IV (Filme de KBr cm⁻¹): 1758; 1606; 1,430; 1339; 1216; 1023; 992; 869; 749; 718.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 4,87(s, 2H, H-5).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 74,1 (C-5); 114,7 (C-3); 143,4 (C-4); 166,5 (C-2).

EM, *m/z* %: 244 ($[M+4]^+$, 12); 242 ($[M+2]^+$, 24); 240 ($[M]^+$, $C_4H_2Br_2O_2$, 9); 213 (12); 211 (6); 163 (98); 161(100); 133 (15); 131(13); 119 (15); 117 (16); 107 (8) ; 105 (12); 81 (7); 53 (10); 38 (31); 37 (21); 32 (13).

2.4.2 Síntese da 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)furan-2(5*H*)-ona (**23**)



Em um tubo de vidro com tampa rosqueada, com 30 mL de capacidade, adicionou-se o composto (**22**) (0,5 g; 2,06 mmol), juntamente com ácido 5-bromo-2-metoxifenilborônico (0,528 g; 2,28 mmol), bis-(acetonitrila)dicloropaládio II ($PdCl_2(CH_3CN)_2$) (0,025 g; 0,19 mmol), trifenilarsina ($AsPh_3$) (0,12 g; 0,39 mmol) e óxido de prata (Ag_2O) (1,43 g; 6,16 mmol). A mistura foi mantida sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida, logo adicionou-se THF anidro (8 mL) e a mistura foi mantida sob agitação (65 °C) durante 27,5 horas. Após este tempo, a mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente. Foi adicionado acetato de etila (50 mL), e então a mistura foi filtrada a vácuo sobre Celite®. O filtrado obtido foi concentrado para purificação por cromatografia em coluna de sílica e eluição por gradiente utilizando Hexano:DCM 3:1, 2:1, 1:1 e 1:2 (v/v). O composto (**23**) foi obtido com um rendimento de 41% (0,293 g; 0,84 mmol). Também foi isolado o composto 5,5'-dibromo-2,2'-dimetoxibifenila (**23a**) (23,5% de rendimento; 0,200 g; 0,54 mmol), como produto resultante da reação de homoacoplamento.

Dados referentes ao composto **23**:

Característica: sólido branco

T_f: 174,1-175,0 °C

CCD: R_f = 0,30 , Hexano:DCM 1:1,5 (v/v).

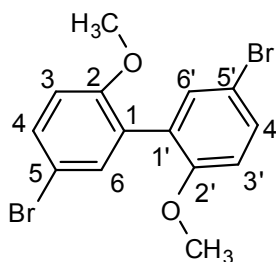
IV (Filme de KBr cm^{-1}): 2996; 2957; 1774; 1618; 1591; 1484; 1471; 1402; 1268; 1247; 1182; 1140; 1064; 1014; 986; 881; 807; 750; 623.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 3,8 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 5,22 (s, 2H, H-5); 6,89 (d, 1H, $J_{3'4'} = 8,9$, H-3'); 7,56 (dd, 1H, $J_{4'3'} = 8,9$; $J_{4'6'} = 2,5$, H-4'); 7,88 (d, 1H, $J_{6'4'} = 2,5$, H-6').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 55,1 (OCH_3); 73,1 (C-5); 109,01 (C-3); 113,1 (C-5'); 112,9 (C-3'); 121,3 (C-1'); 132,2 (C-6'); 134,9 (C-4'); 155,9 (C-2')*; 156,2 (C-4)*; 169,5(C-2). * As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z %: 350 ($[\text{M}+4]^+$, 28); 348 ($[\text{M}+2]^+$, 60); 346 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{Br}_2\text{O}_3$, 29); 269 (57); 267 (58); 132 (100); 131 (46); 102 (22); 101 (16); 87 (24); 89 (15); 75 (24); 74 (24); 63 (19); 62 (15); 50 (16); 32 (42).

Dados referentes ao composto 23a:



23a

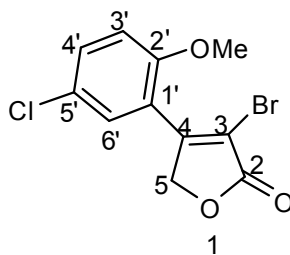
Característica: cristais brancos

T_f: 110,7- 110,9 °C

CCD: R_f = 0,74, Hexano:DCM 1:1,5 (v/v)

EM, m/z (%): 374 ($[\text{M}+4]^+$, 79); 372 ($[\text{M}+2]^+$, 100); 370 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{O}_3$, 71); 278 (66); 276 (71); 263 (44); 261 (50); 235 (23); 233 (24); 212 (23); 139 (26); 138 (16); 126 (39); 63 (24); 62 (14).

2.4.3 Síntese da 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (24)



24

Em um tubo de vidro com tampa rosqueada, com 20 mL de capacidade, foi adicionado o composto 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**22**) (0,1 g; 0,41 mmol), juntamente com ácido 5-cloro-2-metoxifenilborônico (0,088 g; 0,28 mmol), bis-acetonitrilodiodicloropaldio II ($\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2$) (0,004 g; 0,015 mmol), trifenilarsina (0,025 g; 0,08 mmol) e óxido de prata (0,288 g; 1,24 mmol). A mistura foi mantida sob atmosfera de nitrogênio e adicionou-se o solvente THF anidro (1,6 mL). O frasco foi vedado sob atmosfera de nitrogênio e a mistura foi mantida sob agitação magnética e aquecimento a 65 °C durante 28,5 horas. A reação foi monitorada por cromatografia em camada delgada de sílica em intervalos regulares, até a observação do consumo dos reagentes.

Após este tempo, a mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente, diluída com acetato de etila (30 mL) e filtrada utilizando-se Celite®. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, resultando em um material de coloração escura que foi fracionado em coluna de sílica-gel, empregando-se gradiente de eluição com as misturas de solventes hexano:clorofórmio 3:1, 2:1, 1:1, e 1:2 (v/v). Após a purificação, foi obtido o composto (**24**), com rendimento de 57,0% (0,0715 g; 0,23 mmol).

A porcentagem de recuperação do material de partida foi de 5,0% (0,0063 g; 0,026 mmol). Ao mesmo tempo, foi isolado o composto 5,5'-dicloro-2,2'-dimetoxibifenilo (**24a**) (14,3% de rendimento; 0,0117 g; 0,041 mmol), como produto resultante da reação de homoacoplamento.

Dados referentes ao composto 24:

Característica: sólido branco

Tf: 162,1-163,0 °C

CCD: $R_f = 0,20$ em hexano:cloroformio 1: 1,5 (v/v)

IV (Filme de KBr cm^{-1}): 2995; 2957; 2921; 2850; 1775; 1617; 1596; 1487; 1472; 1440; 1409; 1267; 1246; 1180; 1141; 1013; 983; 882; 809; 746; 679; 644.

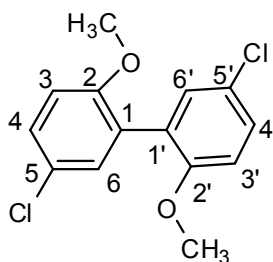
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 3,86 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 5,22 (s, 2H, H-5); 6,93 (d, 1H, $J_{3,4'} = 9,0$, H-3'); 7,42 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 3,0$ H-4'); 7,76 (d, 1H, $J_{6',4'} = 3,0$, H-6').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 56,2 ($-\text{OCH}_3$); 73,5 (C-5); 109,5 (C-3); 112,9 (C-3'); 120,2 (C-1'); 129,7 (C-6'); 132,3 (C-4'); 155,9 (C-2)*; 156,1 (C-4)*; 169,6 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, *m/z* (%) 306 ($[M+4]^+$, 22); 304 ($[M+2]^+$, 93); 302 ($[M]^+$, $C_{11}H_8BrClO_3$, 70); 275 (78); 273 (54); 260 (30); 225 (31); 223 (100); 179 (42); 167 (52); 165 (53); 139 (36); 132 (36); 101 (49); 87 (35).

Dados referentes ao composto 24a:



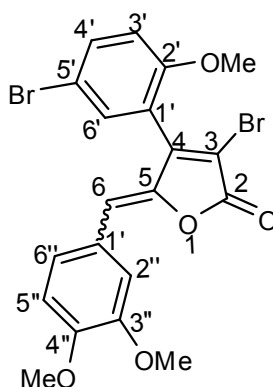
Característica: cristais brancos

T_f: 115,1-115,7 °C

CCD: R_f = 0,80 em hexano:cloroformio 1:1,5 (v/v)

EM, *m/z* %: 286 ($[M+4]^+$, 11); 284 ($[M+2]^+$, 66); 282 ($[M]^+$, $C_{14}H_{12}Cl_2O_2$, 100); 234 (20); 233 (10); 232 (61); 217 (26); 189 (20); 139 (7); 126 (14); 87 (10).

2.4.4 Síntese da (Z/E)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3,4-dimetoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (25)



Em um balão bitubulado de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, foram adicionados 3-bromo-4-(2-metoxifenil) furan-2(5H)-ona (**23**) (0,200

g; 0,57 mmol) e 3,4-dimetoxibenzaldeído, dissolvidos em 1 mL de DCM. A reação foi resfriada a 0 °C. Imediatamente foram adicionados TBDMSOTf (0,198 g; 0,75 mmol) e DIPEA (0,150 g; 1,16 mmol).

A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos e mais 30 minutos à temperatura ambiente. Decorrido este período, adicionou-se o DBU (0,156 g; 1,16 mmol), mantendo-se a mistura sob refluxo por uma hora. Transferiu-se a mistura para um funil de separação, empregando-se DCM (70 mL). A fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa de HCl 3 mol L⁻¹ (2 x 25 mL), seguida de uma solução saturada de NaCl (2 x 25 mL). Em seguida, foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado em coluna de sílica-gel utilizando hexano:acetato de etila (5:3 v/v) como eluente. Foi obtido o composto de interesse (**25**), com um rendimento de 75% (0,211 g; 0,42 mmol), como uma mistura de isômeros *E/Z*.

Característica: sólido fino amarelo

T_f: 177,8 - 178,1 °C

CCD: R_f = 0,33 em hexano: acetato de etila 5:3 (v/v)

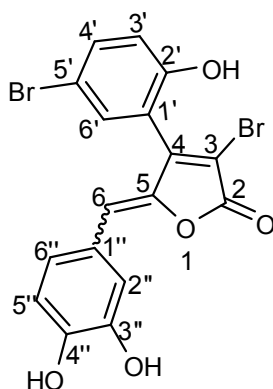
IV (Filme de KBr cm⁻¹): 3005; 2942; 1764; 1646; 1596; 1577; 1512; 1515; 1483; 1459; 1444; 1420; 1274; 1256; 1243; 1167; 1161; 1025; 986; 970; 622; 602.

EM, m/z %: 498 ([M+4]⁺, 51); 496 ([M+2]⁺, 100); 494 ([M]⁺, C₂₀H₁₆Br₂O₅, 52); 281 (12); 207 (29); 178 (24); 163 (48); 135 (31); 92 (20); 77 (28).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 3,38 (s, 3H, CH₃-2'); 3,92 (2s, 6H, CH₃-4'' e CH₃-3''); 5,86 (s, 1H, H-6); 6,85 (d, J_{5''/6''} = 8,5, 1H, H-5''); 6,95 (d, J_{3'/4'} = 8,9 H, H-3'); 7,29 (dd, J_{6''/2''} = 2,1, J_{6''/5''} = 8,5; 1H, H-6''); 7,38 - 7,36 (m, 2H, H-6' e H-2''); 7,62 (dd, 1H, J_{4'/6'} = 2,4; J_{4'/3'} = 8,9, H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 55,7 (CH₃-2'/3''/4''); 109,8 (C-3); 111,03 (C-5''); 112,5 (C-5'); 112,8 (C-2''); 113,3 (C-3'); 114,0 (C-6); 119,8 (C-1'); 125,1 (C-6''); 125,6 (C-1''); 132,6 (C-6'); 134,4 (C-4'); 145,9 (C-5); 149,0 (C-4''); 150,3 (C-3''); 150,7 (C-2'); 155,8 (C-4); 165,0 (C-2).

2.4.5 Síntese da 3-bromo-4-(5-bromo-2-hidroxifenil)-5-(3,4-dihidroxibenzi- lideno)furan-2(5H)-ona (26)



26

Em um balão bitubulado de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, adicionou-se o composto (**25**) e DCM anidro (5,0 mL). A solução foi resfriada a -78 °C e então foi adicionado BBr₃ (2 mol L⁻¹; 6 equiv.). A mistura ficou em repouso até alcançar a temperatura ambiente, e permaneceu sob agitação por 22 horas. Adicionou-se água destilada (10 mL) e extraiu-se com acetato de etila (4 x 15 mL). Lavou-se o extrato orgânico com solução saturada de NaCl (15 mL), e após secagem com MgSO₄ anidro, concentrou-se sob pressão reduzida. O sólido gerado foi submetido à purificação por cromatografia em coluna utilizando-se como eluente uma mistura de hexano:acetato de etila 2:3 (v/v) como fase móvel. O produto foi recristalizado com DCM/hexano, obtendo-se o composto (**26**) como um resíduo amorfo amarelo escuro, com 90% de rendimento (0,08 g; 0,17 mmol).

Característica: resíduo amorfo amarelo escuro

CCD: R_f = 0,33 em hexano: acetato de etila 2:3 (v/v)

IV (Filme de KBr): 3326; 2922; 2851; 1731; 1646; 1605; 1599; 1558; 1523; 1283; 895; 881; 716; 697; 586 cm⁻¹.

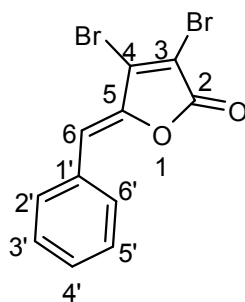
EM, m/z (%): 456 ([M+4]⁺, 22); 454 ([M+2]⁺, 50); 452 ([M]⁺, C₁₇H₁₀Br₂O₅, 25); 376 (48); 374 (87); 150 (34); 123 (87); 122 (33); 121 (29); 82 (100); 81 (32); 63 (29); 44 (68).

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO): δ 5,90 (s, 1H, H-6); 6,74 (d, 1H, J_{5''/6''} = 8,3, H-5''); 7,01- 6,94 (m, 2H, H-3', H-6''); 7,43 (d, 1H, J_{6'/4'} = 2,4, H-6'); 7,38 (d, 1H, J_{2''/6''} = 2,1, H-

2''); 7,53 (dd, 1H, $J_{4'/3}= 8,7$; $J_{4'/6'}= 2,4$, H-4'); 9,38 (s, 1H, OH); 9,69 (s, 1H, OH); 10,37 (s, 1H, OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO): δ 108,4 (C-3); 110,4 (C-5'); 114,8 (C-6); 116,3 (C-5''); 117,4 (C-1'); 118,5 (C-2''); 118,9 (C-3'); 124,3 (C-6''); 124,9 (C-1''); 132,6 (C-6'); 134,5 (C-4'); 144,9 (C-3''); 146,0 (C-5); 148,4 (C-4''); 152,0 (C-4); 154,5 (C-2'); 165,42 (C-2).

2.4.6 Síntese do composto 3,4- dibromo-5-(benzilideno)furan-2(5H)-ona (28)



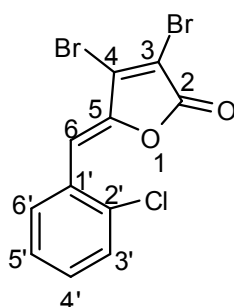
28

Em um balão bitubulado de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, foi adicionado o composto 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**22**) (0,1 g; 0,41 mmol). Imediatamente adicionou-se benzaldeído (0,125 g; 1,1779 mmol) junto com metanol anidro (2 mL), e deixou-se em refluxo a 65 °C durante 44 horas.

Passado esse tempo, observou-se uma pequena mancha na CCD que possivelmente poderia ser o produto de interesse. Devido a isso, foi utilizada a técnica de espectrometria de massas para comprovar se o produto formado era o composto de interesse, analisando o produto bruto da reação.

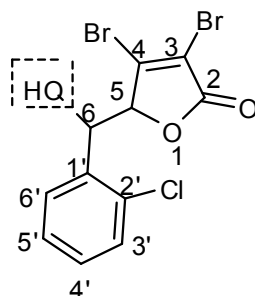
EM, m/z (%): 332 ($[\text{M}+4]^+$, 46); 330 ($[\text{M}+2]^+$, 96); 328 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{O}_5$, 49); 195(54); 193(56); 118(64); 90(100); 63(34).

2.4.7 Tentativa de síntese do 3,4-dibromo-5-(diclorobenzilídeno) furan-2(5H)-ona (29)



29

Em um tubo de vidro de 10 mL com tampa rosqueada, foi adicionado 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**22**) (0,1 g; 0,4134mmol), junto com carbonato de sódio (0,013 g; 0,1226 mmol), previamente dissolvido em 2 mL de metanol anidro, como solvente da reação e 2-clorobenzaldeído (0,116 g; 0,8268 mmol). O frasco foi vedado e a mistura reacional mantida sob agitação magnética a 65 °C durante 11 horas. Após este tempo, a mistura reacional foi extraída com clorofórmio (4 x 10 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro e concentrada sob pressão reduzida, resultando em um resíduo. Esse resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando como fase móvel hexano:acetato de etila (3:1 v/v). Esse procedimento resultou no isolamento do composto (**30**), com 40% de rendimento (0,0637 g; 1,74 mmol). O produto foi então recristalizado com hexano:diclorometano, proporcionando um material na forma de cristais brancos.



30

Dados referentes ao composto 30:

Característica: Cristais brancos

T_f: 159-160 °C

CCD: R_f = 0,32 Hexano:acetato de etila 3:1 (v/v)

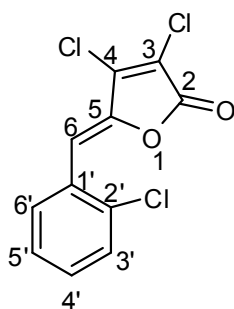
IV (Filme de KBr cm^{-1}): 3467, 3061, 3030, 2923, 2853, 1765, 1610, 1209, 1007, 701, 631.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 2,37 (da, 1H, $J_{\text{OH}} = 5,31$, OH); 5,21 (d, 1H, $J_{5/6} = 1,71$, H-5); 5,66 (da, 1H, $J = 3,57$, H-6); 7,41- 7,28 (m, 3H, H-3', H-5', H-4'); 7,66-7,63 (m, 1H, H-6').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 67,8 (C-5); 85,3 (C-6); 115,9 (C-3); 127,3 (C-5'); 128,5 (C-6'); 129,2 (C-3'); 129,8 (C-4'); 131,4 (C-1'); 135,5 (C-2'); 145,1 (C-4); 166,2 (C-2).

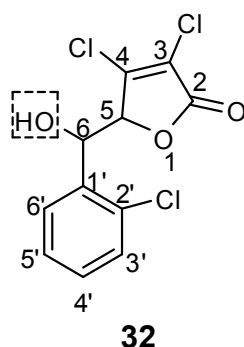
EM, m/z %: 143 (32), 141 (100), 115 (5,78), 113 (18,47), 78 (7,03), 77 (87,0), 51,0 (19,92).

2.4.8 Tentativa de síntese do composto 3,4-dicloro-5-(benzilideno)furan-2(5H)-ona (31)



31

Em um tubo de tampa rosqueada de 10 mL, foi adicionado o composto 3,4-diclorofuran-2(5H)-ona (**15**) (0,1 g; 0,6537 mmol) junto com carbonato de sódio (0,013g; 0,1226mmol), previamente dissolvido em 3 mL de metanol anidro como solvente da reação, e 2-clorobenzaldeído (0,116 g; 0,8252 mmol), agitando a 65 °C durante 7,5 horas num banho de óleo. Após este tempo, a mistura reacional foi concentrada sob pressão reduzida e depois extraída com clorofórmio (4 x 10 mL) e água (10 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro e concentrada sob pressão reduzida. Após separação por cromatografia em coluna, utilizando como fase móvel hexano:acetato de etila 4:1 (v/v), e recristalização em hexano:diclorometano, o intermediário 3,4-dicloro-5-((2-clorofenil)(hidroxi)metil)furan-2(5H)-ona (**32**) foi obtido na forma de cristais brancos, em 40% de rendimento (0,0772 g; 2,6482mmol).



Característica: Cristais brancos

T_f: 128,5-129,5 °C

CCD: R_f = 0,3 hexano: acetato de etila 4:1 (v/v)

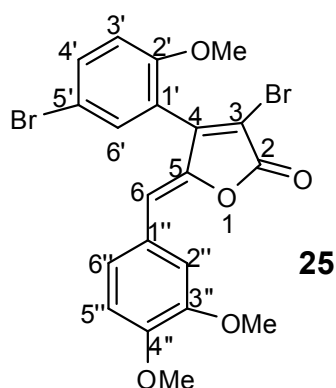
IV (Filme em KBr cm⁻¹): 3468, 3081, 1749, 1624, 1235, 1043, 924, 769, 745, 454.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 2,47 (d, 1H, J_{OH/6} = 5,83, OH); 5,20 (d, 1H, J_{5/6} = 1,71, H-5); 5,62 (dd, 1H, J_{6/5} = 1,71; J_{6/OH} = 5,83, H-6); 7,41-7,28 (m, 3H, H-3', H-5', H-4'); 7,66-7,63 (m, 1H, H-6').

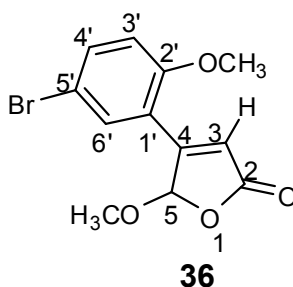
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 67,4 (C-6); 82,7 (C-5); 127,84 (C-5'); 128,5 (C-6'); 129,3 (C-3'); 129,9 (C-4'); 131,3 (C-1'); 135,4 (C-6'); 149,6 (C-4); 165,4 (C-2).

EM, m/z %: 143 (30), 142 (9), 141(93), 139 (15), 111 (8), 113 (22), 115 (7), 77 (100), 75 (14).

2.4.9 Tentativa de síntese do composto 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3,4 dimetoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (25).



Em um balão bitubulado de 25 mL, foram adicionados 3-bromo-4-(2-metoxifenil)furan-2(5*H*)-ona (**23**) (0,05 g; 0,144 mmol), carbonato de sódio (0,013 g; 0,1226 mmol) previamente dissolvido em 3 mL de metanol anidro e 3,4-dimetoxibenzaldeído (0,044 g; 0,289 mmol). A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética a 65 °C durante 20 horas. Após este tempo, a mistura reacional foi concentrada sob pressão reduzida e extraída com clorofórmio (4 x 10 mL). Em seguida, a fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, levando ao composto 4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-metoxifuran-2(5*H*)-ona (**36**), com rendimento de 74% (0,032 g; 1,0698 mmol). O produto foi então recristalizado com diclorometano:hexano, obtendo-se cristais de cor amarelo palha.



Característica: Cristais amarelos palha.

Tf: 101,0 - 103,5 °C

CCD: R_f = 0,3 hexano: acetato de etila 5:3 (v/v)

IV (Filme de KBr cm⁻¹): 3093; 3114; 3075; 3005; 2965; 2949; 2908; 2843; 2831; 1754; 1612; 1469; 1492; 1198; 858; 831; 670.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 3,55 (s, 3H, OCH₃); 3,92 (s, 3H, OCH₃); 6,23(d, J_{5/3} = 0,9, 1H, H-5); 6,72 (d, J_{3/5} = 0,9, 1H, H-3); 6,89 (d, 1H, J_{3'/4'} = 8,9, H-3'); 7,53 (dd, 1H, J_{4'/3'} = 8,9; J_{4'/6'} = 2,5, H-4'); 7,60 (d, 1H, J_{6'/4'} = 2,5, H-6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 55,8 (CH₃-5/2'); 103,5 (C-5); 113,1 (C-3'/5')*, 120,1 (C-3/1')*; 132,0 (C-6'); 135,1 (C-4'); 155,7 (C-2'); 158,0 (C-4); 171,0 (C-2).

* as atribuições podem ser invertidas.

EM, m/z %: 299,7 ([M+2]⁺, 40,38); 297,80 ([M]⁺, C₁₂H₁₁BrO₄, 38,74); 212 (99,14); 211 (39,35); 210 (100); 169 (12,12); 167 (11,89); 132,0 (20,92); 131 (28,99); 89 (12,13); 88 (15,45); 77 (9,63).

2.4.10 Ensaio Biológicos

Ensaio de Inibidores de Urease para os compostos (25) e (26).

Os testes biológicos foram feitos na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), onde soluções estoque dos compostos foram preparadas em 500 μL de DMSO/etanol 2:3 (v/v), solução tampão ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 200 mM, pH 7,4 970 μL), soluções inibitórias (10 μL), de modo que a concentração final deles foi de 100 mM, e uma solução de urease (3,0 mg/mL, Sigma U-1500-100 KU, 20 μL). Os compostos foram misturados em tubos e incubados durante 45 minutos a 25 °C (a solução controle não contém inibidor). Depois disso, 0,5 mL de solução de uréia (40 mmol L^{-1}) foi adicionada, para depois ser incubada novamente durante 20 minutos, a 25 °C. A concentração de amônia foi determinada mediante o ensaio de fenol hipoclorito (636 nm) e a porcentagem de inibição [INH (%)] foi calculada pela seguinte equação: $\text{INH (\%)} = 100 - ((A_{\text{INH}}/A_{\text{B}}) \times 100)$

Onde:

A_{INH} e A_{B} são concentração de amônia (ppm) nos tubos com e sem inibidor respectivamente.

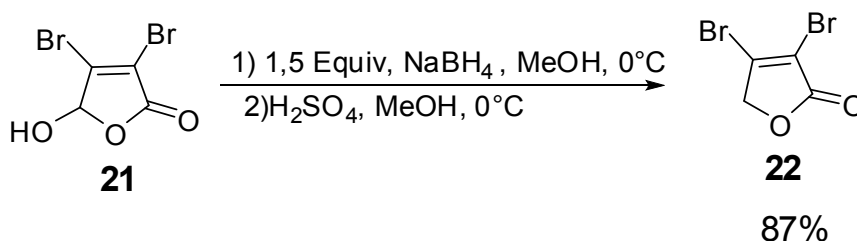
Os potenciais inibitórios de os γ -alquilidenobutenolideos (25) e (26) foram comparáveis com o inibidor padrão (tiouréia) na mesma concentração (500 μM).

Todos os experimentos foram feitos por triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Síntese da lactona 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (22)

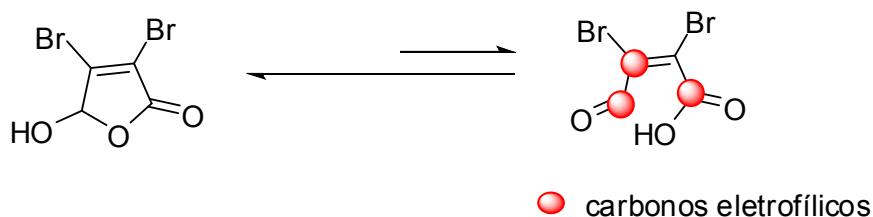
A primeira etapa deste trabalho consistiu na preparação do material de partida, a lactona 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**22**), que é uma forma reduzida do ácido mucobrômico (**21**) (Esquema 9). Foi utilizada a metodologia de Bellina et al (2001), empregando-se o ácido mucobrômico, disponível comercialmente.



Esquema 9 - Preparação da 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona a partir do ácido mucobrômico.

Segundo Cunha & Oliveira (2011), o ácido mucobrômico (**21**) é um oxo-ácido que existe em equilíbrio entre as formas cíclica e acíclica. Os dados do espectro no infravermelho indicam que a primeira forma é predominante tanto no estado sólido quanto em solução. No entanto, o padrão de reatividade é mais evidenciado na sua forma acíclica (Esquema 10).

As duas carbonilas do ácido mucobrômico na forma acíclica são bons centros eletrofílicos, visto que se encontram conjugadas a grupos retiradores de elétrons.

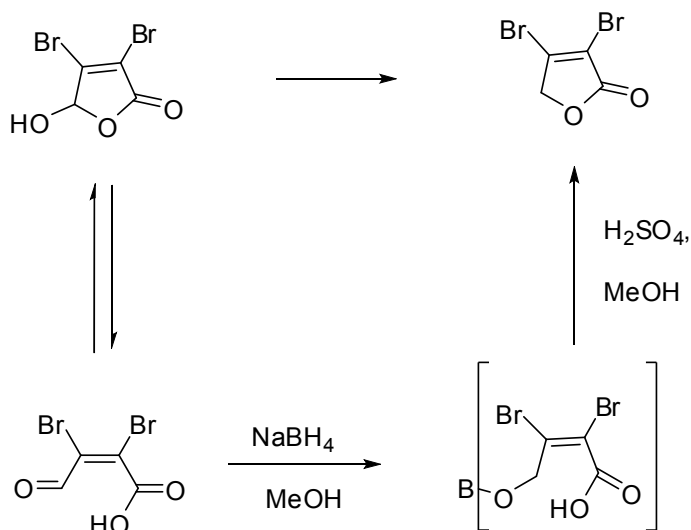


Esquema 10 - Forma cíclica e acíclica do ácido mucobrômico 21.

Os aldeídos e cetonas podem ser reduzidos a álcoois primários e secundários, respectivamente. Neste caso, o grupo formil (-CHO), observado na forma aberta, é reduzido pelo boroidreto de sódio (NaBH₄) por meio da transferência do íon hidreto (H⁻) da carbonila, formando-se um alcóxido intermediário que captura

um próton do solvente formando um álcool *in situ* (BARBOSA et al, 2010b; CLAYDEN et al, 2001).

Após a acidificação do meio com H₂SO₄, acontece a ciclização intramolecular, envolvendo o ácido carboxílico da molécula, resultando no fechamento do anel com a formação da lactona (**22**) (Esquema 11) (CUNHA & OLIVEIRA, 2011).



Esquema 11 - Sínteses da lactona **22**.

A caracterização da lactona (**22**) iniciou-se pela análise do respectivo espectro no IV. Foram observadas as bandas em 1758 e 1023 cm⁻¹, referentes aos estiramentos das ligações C=O e C-O, respectivamente, e em 749 e 718 cm⁻¹, correspondentes aos estiramentos das ligações C-Br (Figura 11).

No espectro de massas, a presença do pico em $m/z = 240$ ([M]⁺), corresponde ao íon molecular, cuja fórmula é C₄H₂Br₂O₂. Os picos em m/z 242 ([M+ 2]⁺) e em m/z 244 ([M+ 4]⁺) confirmaram a presença de dois átomos de bromo presentes na molécula, devido às abundâncias relativas dos isótopos de ⁷⁹Br e ⁸¹Br. Observa-se o sinal do pico $m/z = 161$, o qual corresponde à perda do radical ⁷⁹Br do íon molecular (Figura 12). No esquema 12, apresentam-se algumas das principais fragmentações do composto, que justificam parte do espectro de massas do composto (**22**).

O espectro de RMN de ¹H do composto (**22**) (Figura 13) apresenta um único simpleto em $\delta = 4,87$ (H-5), correspondente aos hidrogênios metilênicos. No espectro de RMN de ¹³C do composto (**22**) (Figura 14), observa-se um sinal

correspondente ao grupo carbonila em $\delta = 166,5$ (C-2), e os sinais em $\delta = 114,7$ e $\delta = 143,4$, correspondentes aos carbonos olefínicos C-3 e C-4 ligados aos átomos de bromo. Nesse caso, o deslocamento no C-4 foi mais desblindado em comparação com o deslocamento do C-3, porque aquele pode suportar uma carga positiva maior do que este devido à ressonância existente com o grupo carbonila da lactona presente na molécula. Já o sinal do C-5 pode ser observado em $\delta = 74,1$, mais blindado do que os outros carbonos.

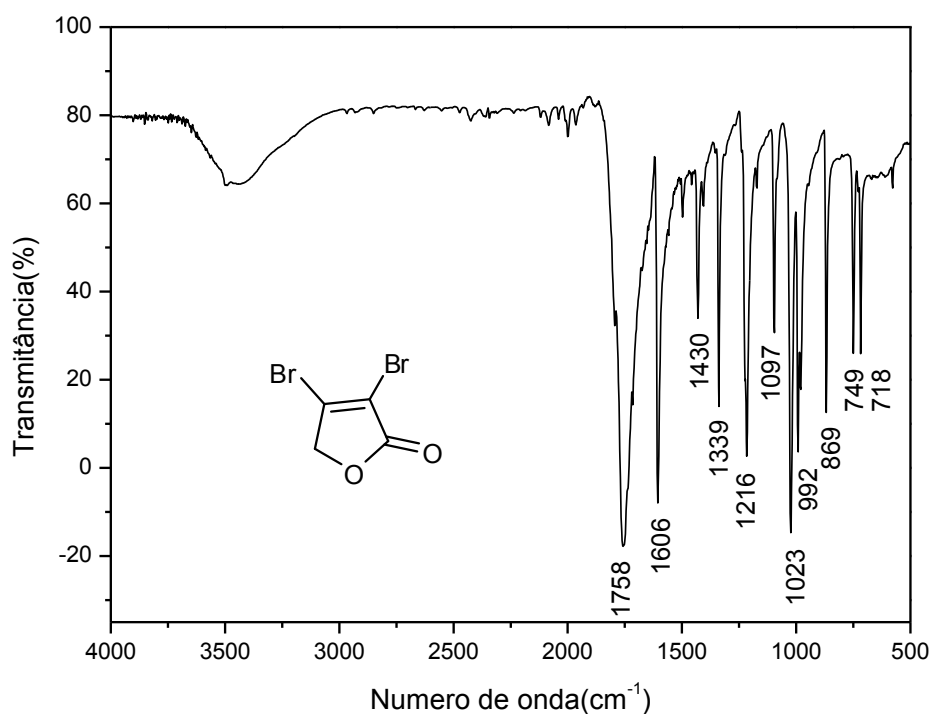


Figura 11 - Espectro no IV (pastilha de KBr) da lactona **22**.

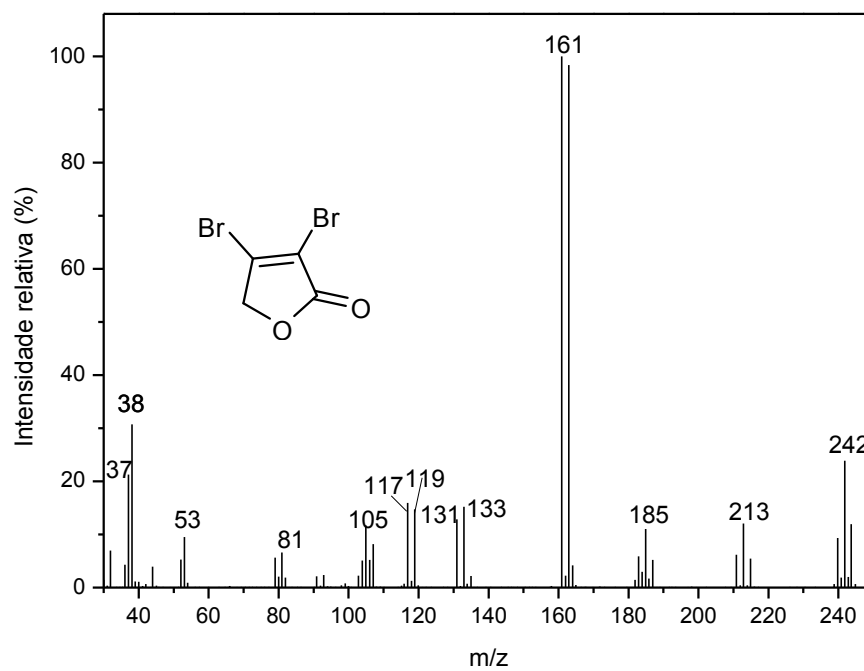
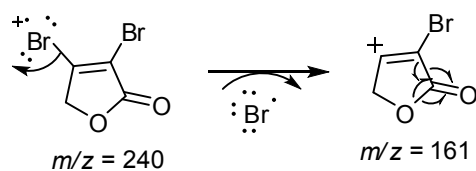
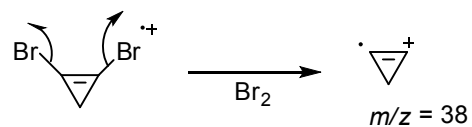
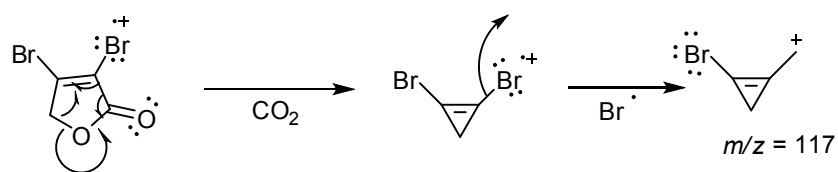
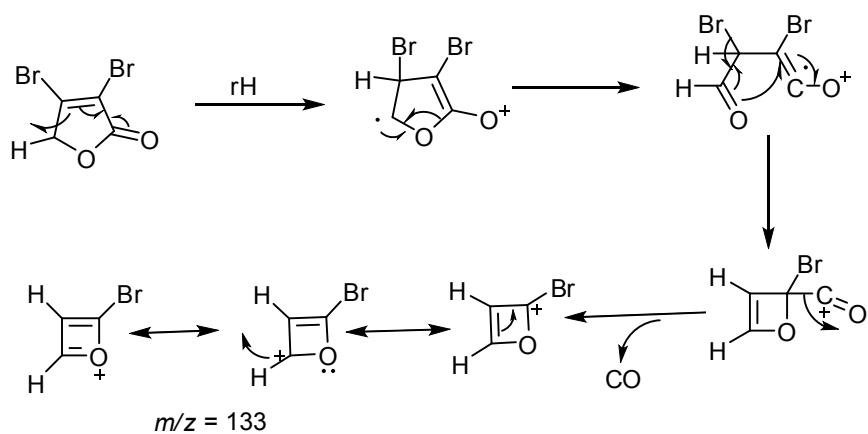
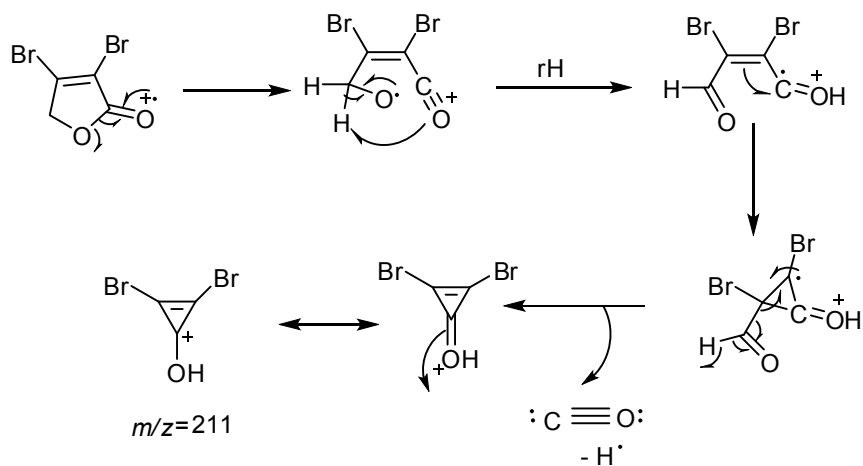


Figura 12 - Espectro de massas da lactona **22**.



Esquema 12 - Fragmentações no espectro de massas da lactona **22**.

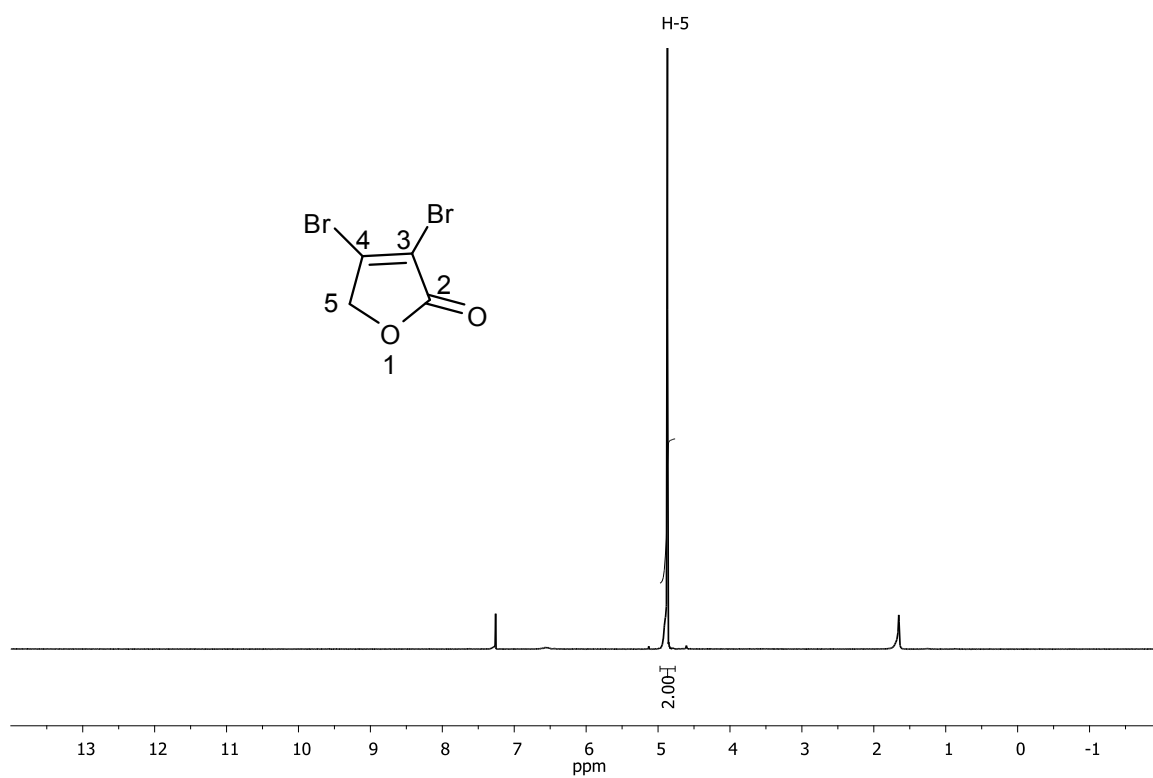


Figura 13- Espectro RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona **22**.

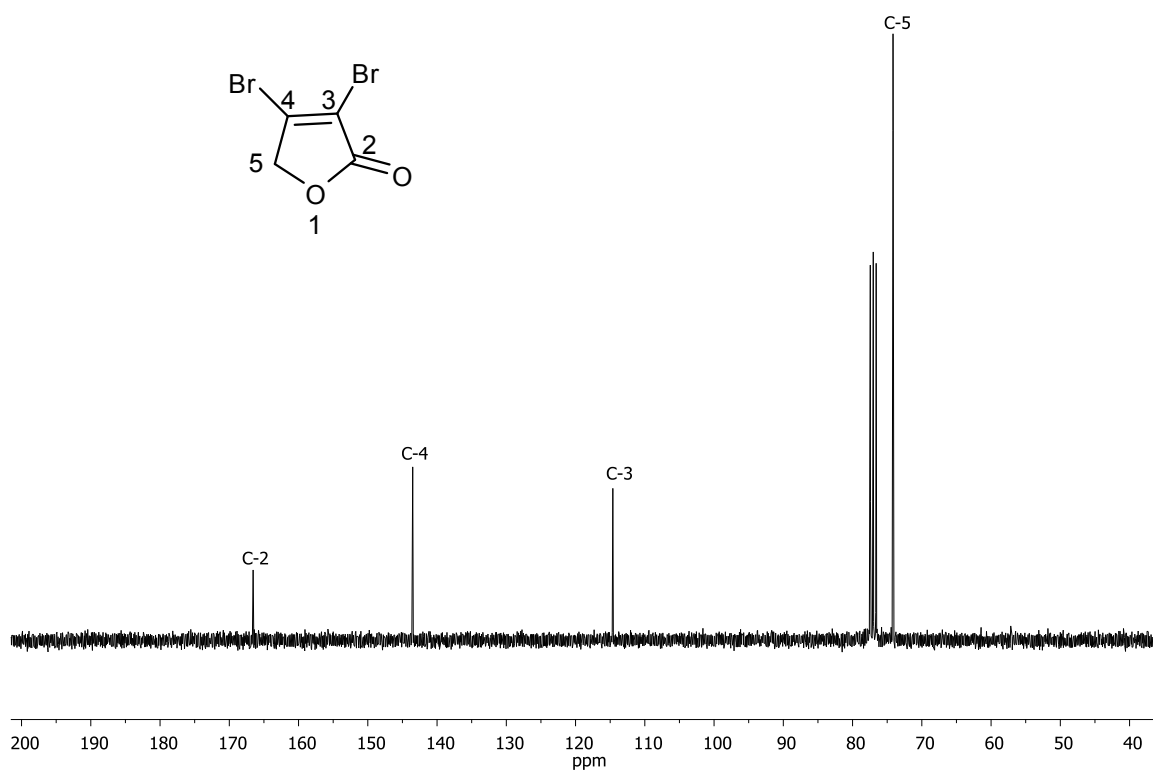
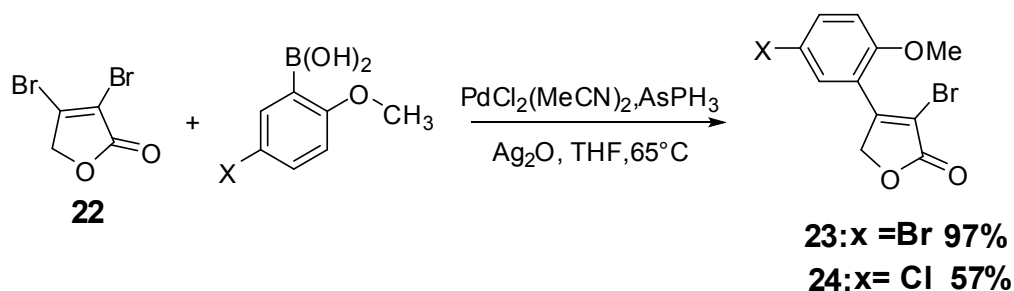


Figura 14- Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona **22**.

3.2 Síntese das 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-ona, utilizando a reação de acoplamento C-C de Suzuki-Miyaura

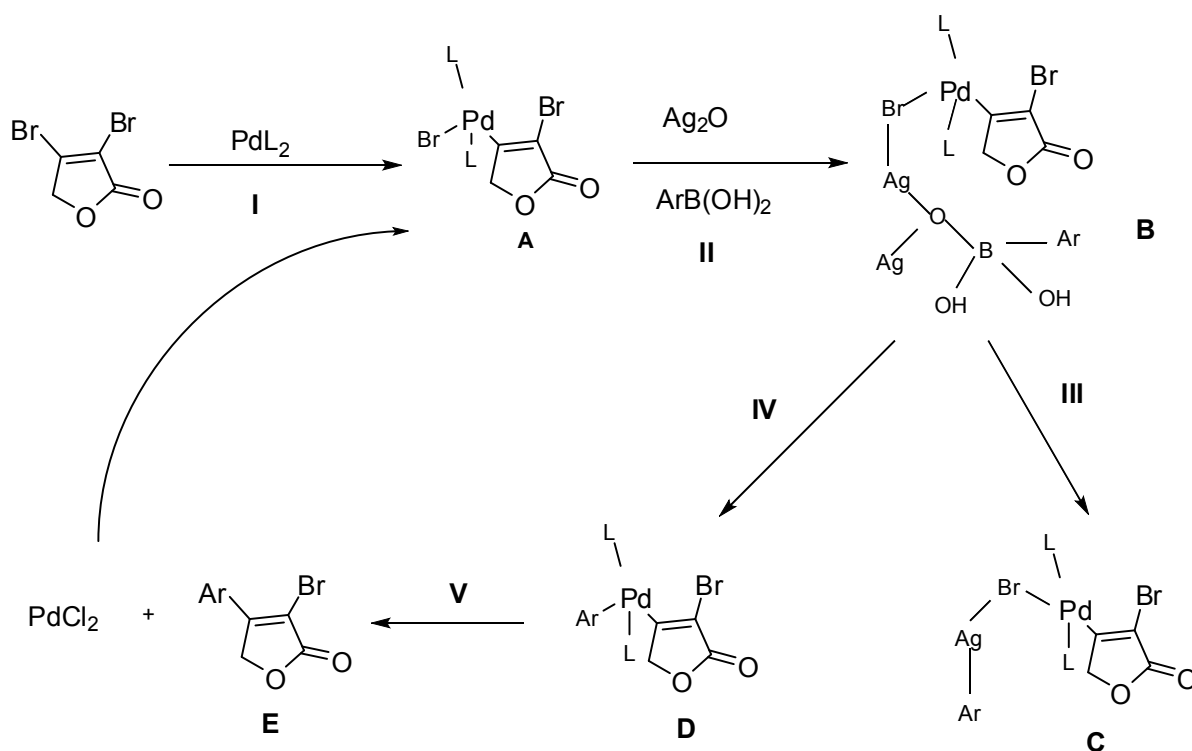
Para a obtenção das lactonas (**23**) e (**24**) utilizou-se o acoplamento cruzado C-C de Suzuki-Miyaura. Partiu-se da lactona dibromada (**22**), utilizando-se ácidos arilborônicos, segundo a metodologia descrita por Bellina et al (2001) (Esquema 13).



Esquema 13 - Síntese das lactonas **23** e **24**.

O mecanismo para esta reação, proposto por Bellina et al (2001) é apresentado no Esquema 14. São três etapas sucessivas que envolvem o ciclo catalítico da reação de acoplamento cruzado de Suzuki & Miyaura (MIYAURA & SUZUKI, 1995):

- a) adição oxidativa do haleto de arila à espécie de Pd (0)
- b) Transmetalção envolvendo a transferência do grupo arila do ácido arilborônico para o centro metálico, formando o intermediário aril-paládio-aril.
- c) Eliminação redutiva com formação do produto de acoplamento.



Esquema 14 – Ciclo catalítico de síntese das lactonas **23** e **24** pelo acoplamento de Suzuki-Miyaura.

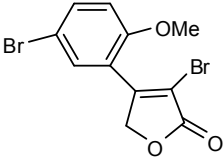
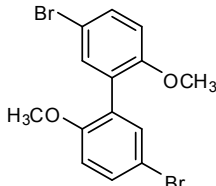
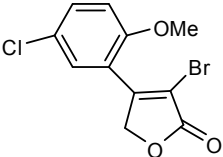
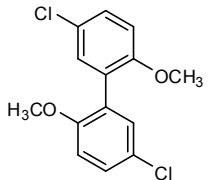
A adição oxidativa é a primeira etapa do ciclo catalítico, e consiste em um mecanismo sincronizado do complexo de Pd(0) com uma ligação $C_{sp^2}-Br$ (C-4) da lactona, onde L corresponde a $AsPh_3$. Nessa etapa, ocorre a inserção do Pd à ligação $C_{sp^2}-Br$, e a formação sucessiva das ligações Pd-C e Pd-Br (**A**).

Segundo Miyaura & Suzuki (1995), esta etapa é determinante na velocidade da reação, e é influenciada pela natureza dos halogênios. Assim, a ordem relativa da velocidade da reação é: $I > Br \gg Cl$. Esta ordem está em concordância com os valores das energias da ligação C-X (energia de dissociação Ph-X: Cl = 96 kcal mol⁻¹, Br = 81 kcal mol⁻¹, I = 65 kcal mol⁻¹).

Subsequentemente, a interação de **A** (brometo de organopaládio II) com os ácidos borônicos e o óxido de prata origina o intermediário **B**; a transmetalização de **B**, ocorrendo na etapa III, promove a formação de **C**. A transmetalização do boro para o paládio é o que gera o intermediário **D**. Existe ainda uma outra proposta que envolve a transmetalização do boro para a prata formando o complexo **C**. A eliminação reductiva de **D** dá origem ao composto desejado **E**.

Foram obtidos os compostos (**23**) e (**24**), assim como as biarilas (**23a**) e (**24a**) do homoacoplamento entre os ácidos arilborônicos empregados (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados das sínteses de 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-onas **23** e **24**.

Composto	Rendimento (%)	Biarila	Rendimento (%)
 <p>23</p>	41*	 <p>23a</p>	23,5
 <p>24</p>	57*	 <p>24a</p>	14,3

* Reação realizada em um tubo selado e sob atmosfera de nitrogênio.

Por meio de técnicas eletroquímicas, Adamo e colaboradores (2006) estudaram este mecanismo de homoacoplamento e observaram que o Pd(0) reage com oxigênio para formar o complexo peroxo de paládio(II), o qual consome duas moléculas de ácido borônico para formar o produto de homoacoplamento. Isso acontece quando o oxigênio não é retirado completamente mediante degaseificação do solvente, ou quando ingressa o oxigênio através das juntas da vidraria empregada.

A unidade estrutural biarila é comumente encontrada em grande variedade de produtos naturais, fármacos e agroquímicos sintéticos (TEIXEIRA, BARBOSA & VELOSO, 2007).

A diferença de eletronegatividade entre o átomo de bromo e cloro no anel do ácido borônico pode explicar essa diferença nos rendimentos obtidos, uma vez que, a ordem de reatividade dos haletos de arila depende da natureza do halogênio e varia na seguinte ordem: F > Cl > Br > I.

Os ácidos arilborônicos adotam um caráter menos nucleofílico quando apresentam grupos retiradores de elétrons como substituintes, o que faz com que o

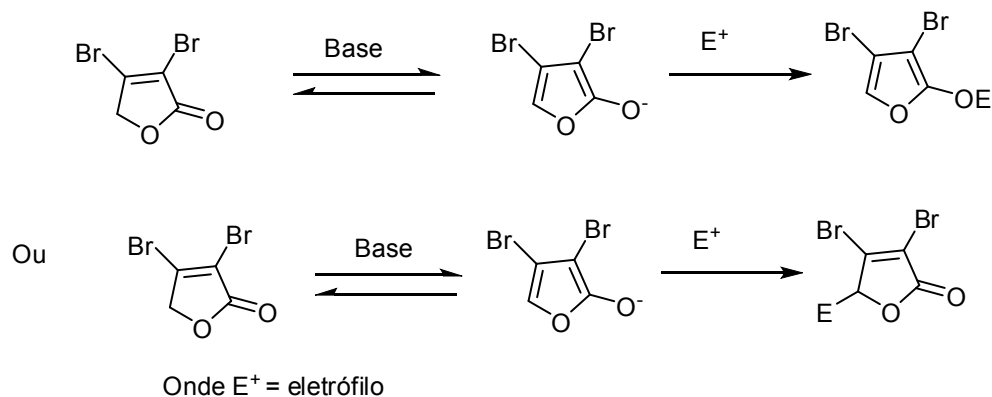
processo de transmetalização aconteça mais lentamente. Nesse caso é maior a probabilidade de ocorrência do produto de homoacoplamento, como observado pela formação dos produtos **(23a)** e **(24a)**. Verificou-se um maior rendimento para a biarila **(24a)**, que contém cloro no ácido arilborônico (BRUICE, 2007).

Os ácidos arilborônicos são estáveis ao ar e também são bastante inertes frente a vários grupos funcionais, sendo assim uma grande vantagem o emprego dessa metodologia (MIYAURA, YANAGI & SUZUKI, 1981). A lactona 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona **(22)** é instável sob condições básicas, o que justifica o emprego de uma base fraca como Ag_2O para essa reação (BELLINA et al, 2004). Como a presença de uma base é imprescindível para o sucesso da reação, isso justifica o uso da lactona **(22)** ao invés do seu precursor, o ácido mucoborônico, já que este é instável em meio básico, sofrendo decomposição (CUNHA e OLIVEIRA, 2011).

A base mais comumente utilizada neste tipo de reação é Na_2CO_3 , mas frequentemente é ineficiente com substratos com demanda estérica; em tais casos são utilizados $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ou K_3PO_4 . Outras bases também comumente utilizadas no acoplamento de Suzuki-Miyaura são Cs_2CO_3 , K_2CO_3 , TIOH, KF e NaOH (KOTHA et al, 2002).

A adição de reagentes ativantes tais como prata ou sais de cobre aumentam a velocidade da transmetalização com o paládio. A prata ajuda na troca de halogênio-hidróxido no paládio, efetuando uma pre-transmetalização mais eficiente com boro (LENNOX & JONES, 2014).

O uso de Ag_2O é necessário nesse caso por ser este óxido uma base fraca, uma vez que, na presença de base forte, a lactona **(22)** pode reagir via ataque eletrofílico ao oxigênio da carbonila ou ao carbono na posição 5 da lactona, resultando na sua decomposição e/ou transformação em outros produtos indesejados (Esquema 15) (CUNHA & OLIVEIRA, 2011).



Esquema 15 - Reatividade da lactona dibromada **22** frente a bases fortes.

Esse tipo de reação de acoplamento é seletiva de posição, uma vez que a etapa de adição oxidativa ocorre no carbono quatro (posição *beta*) da lactona 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**22**), que corresponde ao carbono com maior deficiência de densidade eletrônica na molécula (BELLINA & ROSSI, 2007).

A análise dos espectros obtidos para as lactonas (**23**) e (**24**) permitiu confirmar a estrutura das mesmas. Os espectros obtidos para os compostos (**23**) e (**24**) apresentaram grande semelhança entre si, e as únicas variações observadas se referem aos substituintes no grupo aromático, tais como Cl e Br. Portanto, a discussão feita a seguir é baseada só nos dados do composto (**24**).

Inicialmente, no espectro de infravermelho (Figura 15), podemos observar uma banda referente ao estiramento da ligação do grupo carbonila (C=O) da lactona α,β -insaturada em 1774 cm^{-1} .

No espectro de massas (Figura 16), os picos referentes ao íon molecular estão de acordo com o esperado. Em função da presença de um átomo de cloro e bromo na molécula, observaram-se os picos em $m/z = 302$ ($[M^+]$), 304 ($[M+2]^+$), e $m/z = 306$ ($[M+4]^+$). O pico em $m/z = 223$ é atribuído ao fragmento formado pela perda de um átomo de bromo do íon molecular. A formação dos fragmentos em $m/z = 223, 195, 165, 258, 179$ e 273 é explicada conforme ilustrado no Esquema 16.

Em relação ao espectro de RMN de ^1H do composto (**24**) (Figura 17), podem-se observar dois simpletos referentes aos hidrogênios do grupo metoxila, presente em $\delta = 3,86$, e um sinal intenso em $\delta = 5,23$, que corresponde aos dois hidrogênios metilênicos do anel lactônico.

No espectro de RMN de ^{13}C da lactona (**24**) (Figura 18), o sinal observado em $\delta = 56,2$ foi atribuído ao carbono da metoxila ($-\text{OCH}_3$). Além disso, o sinal do carbono 4 aparece mais desblindado devido à presença do grupo fenila substituído.

Os resultados obtidos são concordantes com os reportados anteriormente na literatura, de acordo com Pereira et al (2014), para os compostos (**23**) e (**24**).

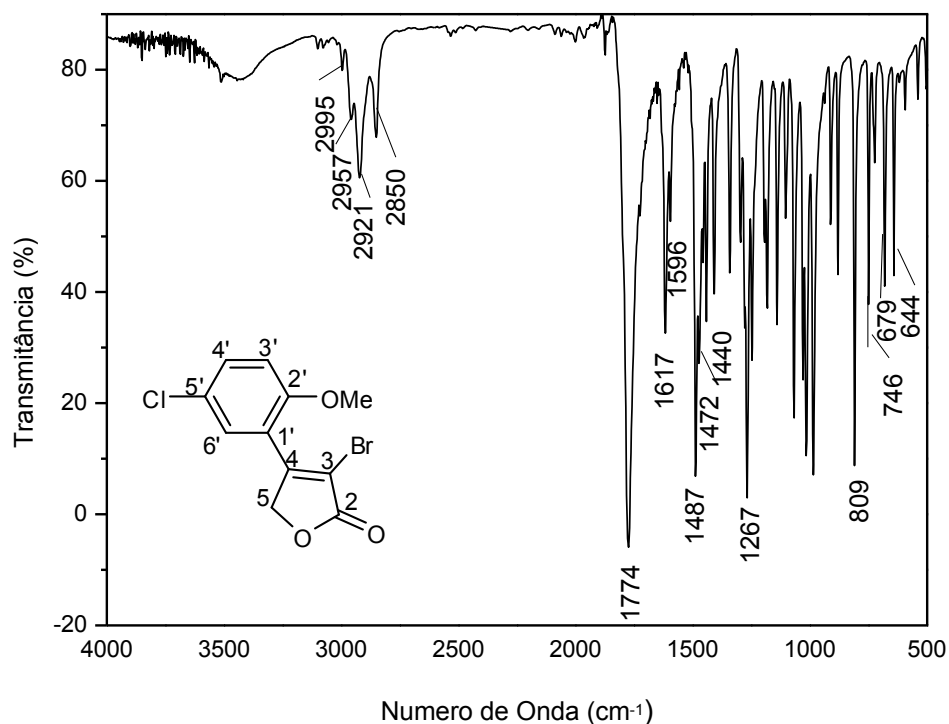


Figura 15 - Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto **24**.

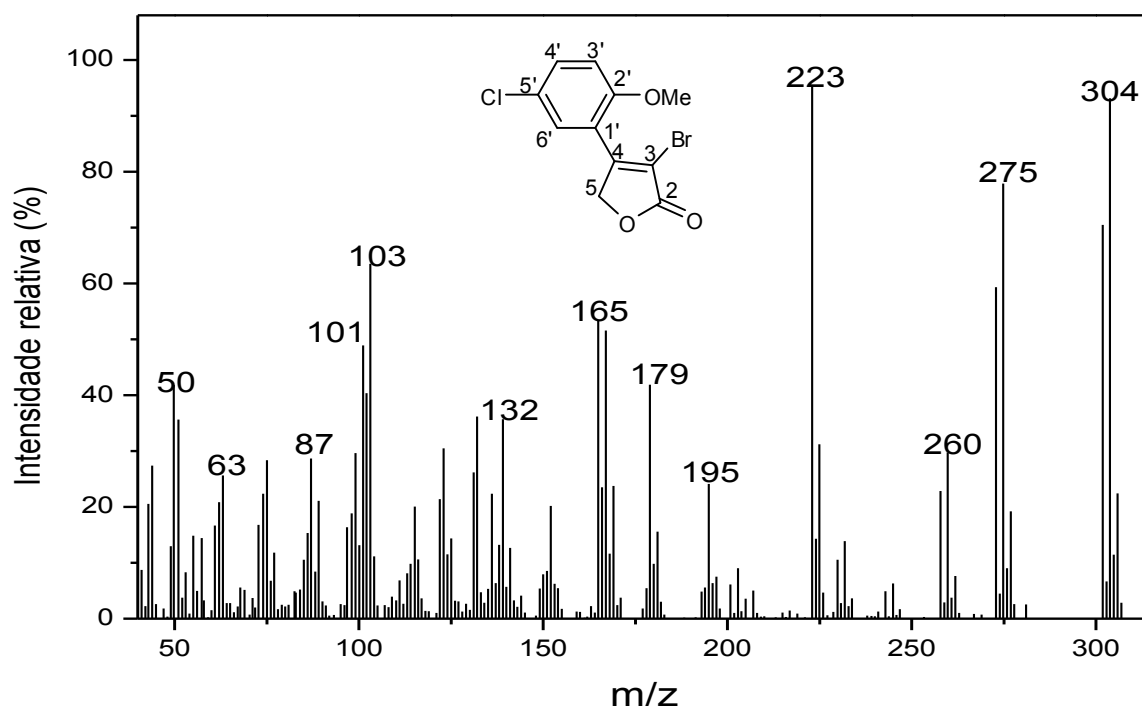
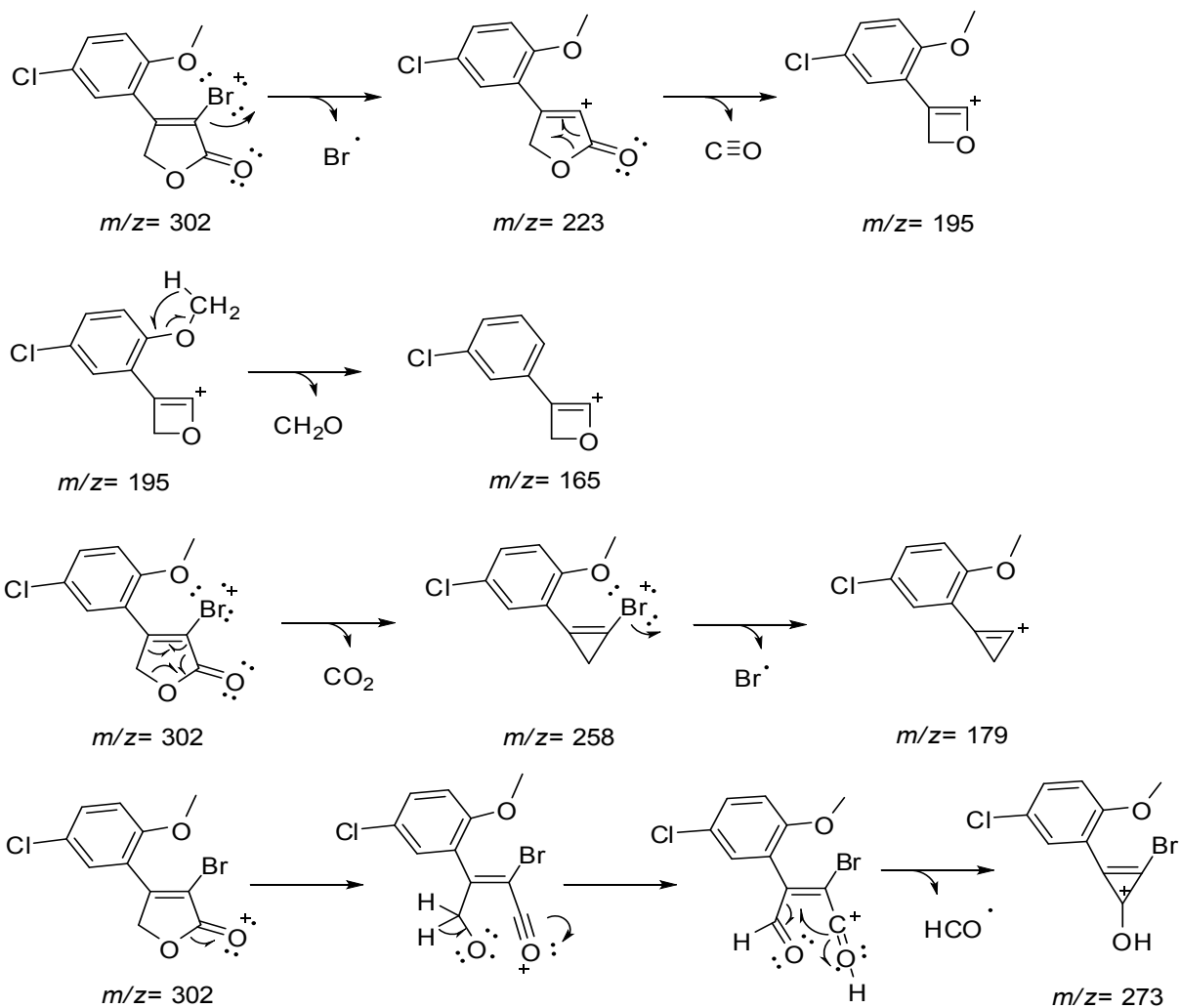


Figura 16 - Espectro de massas do composto **24**.



Esquema 16 - Proposta mecanística de fragmentação para a lactona **24** com formação dos principais fragmentos observados no espectro de massas.

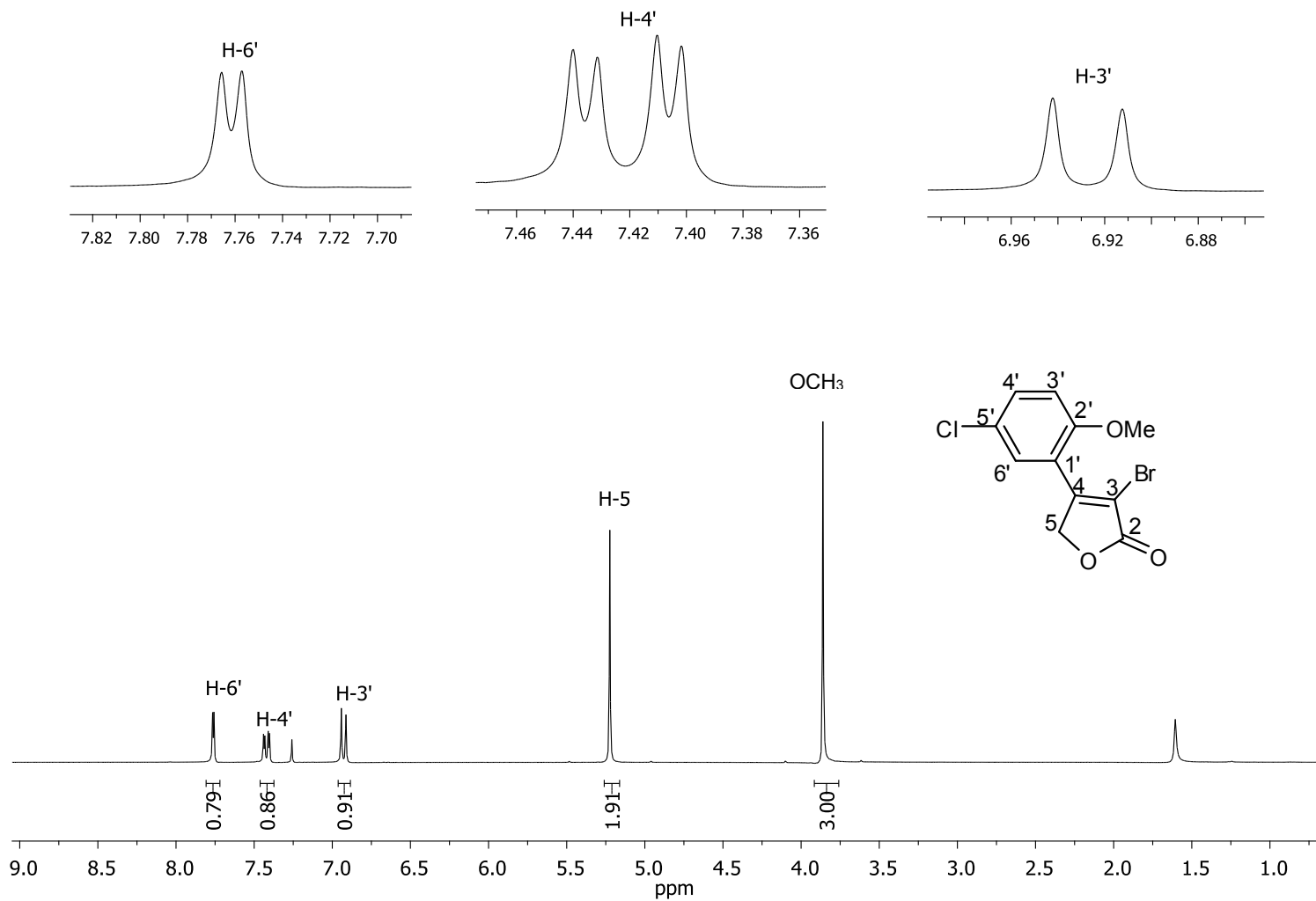


Figura 17 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **24**.

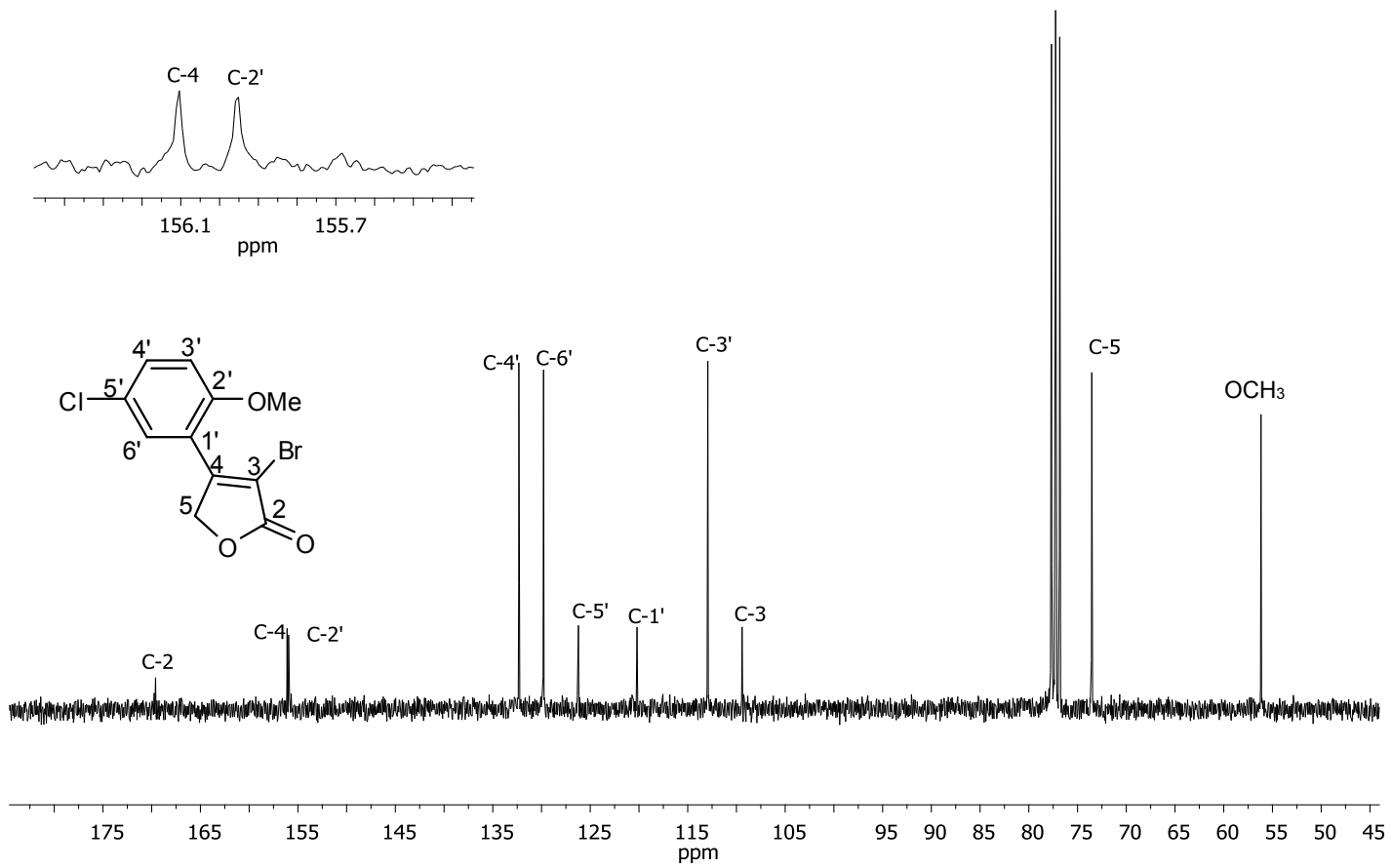
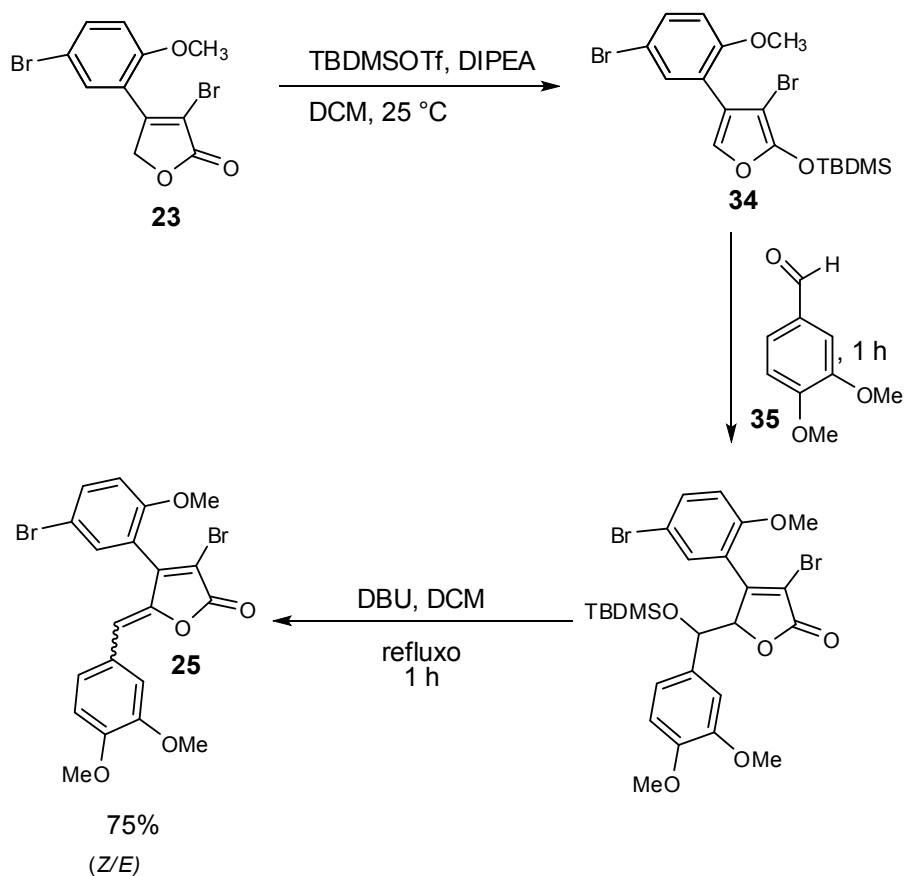


Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **24**.

3.3 Síntese da (Z/E)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3,4 dimetoxiben- zilideno)furan-2(5H)-ona (25)

Na etapa final do trabalho de síntese dos análogos aos rubrolídeos, a lactona 3-bromo-4-(2-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (**23**) foi submetida à reação de alquilidenação com 3,4-dimetoxibenzaldeído.

Segundo Negishi & Kotora (1997), as reações de alquilidenação representam uma boa estratégia em síntese orgânica para a formação de ligações carbono-carbono. Inicialmente, a lactona (**23**) foi submetida à reação com TBDMSOTf, que atua como ácido de Lewis; DIPEA como base; e DCM como solvente. A reação foi conduzida à temperatura ambiente durante 1 hora, levando à formação *in situ* do intermediário sililfurano (**34**), que não foi isolado. Posteriormente, esse intermediário reagiu com o 3,4-dimetoxibenzaldeído (**35**), presente no meio reacional. Em seguida, adicionou-se DBU, e a solução foi mantida sob refluxo, resultando em uma reação de eliminação do grupo *tert*-butildimetilsililoxi, com conseqüente formação da ligação dupla exocíclica em uma mistura de izômeros *E/Z* composto (**25**) (Esquema 17).



Esquema 17- Preparo do composto **25**.

No espectro de infravermelho, podemos observar a banda referente ao estiramento da carbonila (C=O) em 1764 cm^{-1} e as bandas de estiramento C-O dos grupos metoxila entre $1274\text{-}1025\text{ cm}^{-1}$ (Figura 19). No espectro de massas, os picos em $m/z = 494, 496$ e 498 (M^+ , $M+2$ e $M+4$) confirmam a obtenção do composto de interesse que apresenta dois átomos de bromo (Figura 20).

No espectro de RMN de ^1H , podemos observar a presença de três simpletos em $\delta = 3,92$ e $3,93$, correspondentes aos 06 átomos de hidrogênios dos grupos metoxila $\text{CH}_3\text{-}4''$ e $\text{CH}_3\text{-}3''$, respectivamente. Também se verifica um simpleto em $\delta = 3,38$ dos 03 hidrogênios do grupo metoxila $\text{CH}_3\text{-}2'$ (Figura 21). Nas análises do espectro bidimensional NOESY, podemos comprovar que o composto se encontra como uma mistura de isômeros *Z/E*. Os picos cruzados surgiram das interações espaciais dos hidrogênios H-6 com o H-6' (isômero *Z*) e com H-2'' (isômero *E*) (Figura 22).

Para o isômero *Z*, o hidrogênio H-6 apresentou correlação com o hidrogênio H-6'' em 7,36 ppm. Já para o isômero *E* o hidrogênio H-6 apresentou correlação com o H-2'' em 7,29 ppm (Figura 23). Mediante cálculos teóricos, pode-se observar que o isômero *Z* se encontra em maior proporção (93%), enquanto o isômero *E* se encontra em apenas 8% (Figura 24).

As correlações entre todos os átomos de carbono ligados a hidrogênios puderam ser visualizadas no espectro HSQC (Figura 25). Com auxílio da técnica bidimensional COSY, pode-se observar que o sinal de H-5'' se encontra acoplado com o H-6'' ($J = 8,5\text{ Hz}$), assim como o H-4'' com o H-3'' ($J = 8,9\text{ Hz}$). Esses valores de constante de acoplamento correspondem aos valores $J_{\text{orto}} = 7\text{-}10\text{ Hz}$ da literatura (PAVIA et al, 2010) (Figura 26).

No espectro de RMN de ^{13}C , o sinal que corresponde à carbonila foi observado em $\delta = 165,02$ e os sinais referentes aos carbonos $\text{CH}_3\text{-}2'/3''/4''$ aparecem em $\delta = 55,75$ (Figura 27).

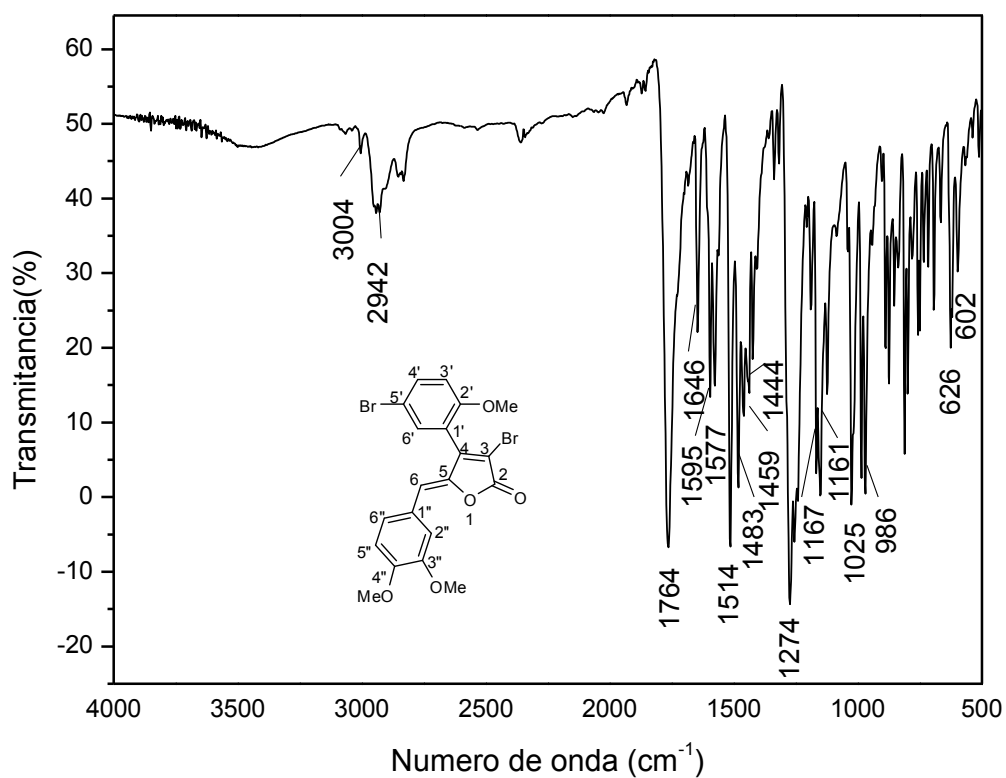


Figura 19 - Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto **25**.

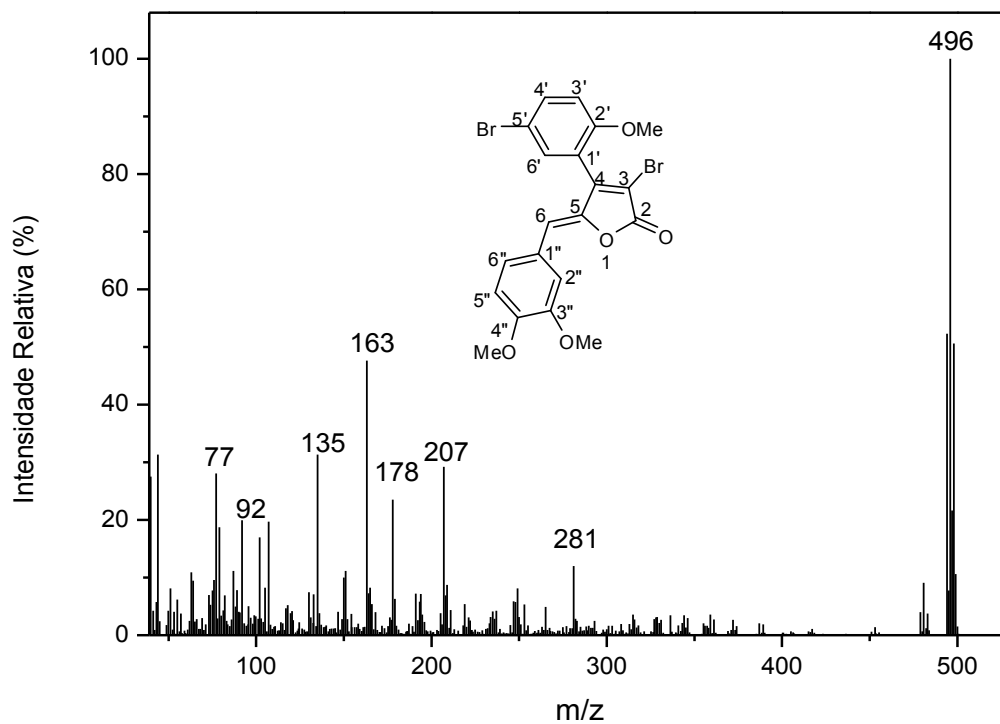


Figura 20 - Espectro de massas do composto **25**.

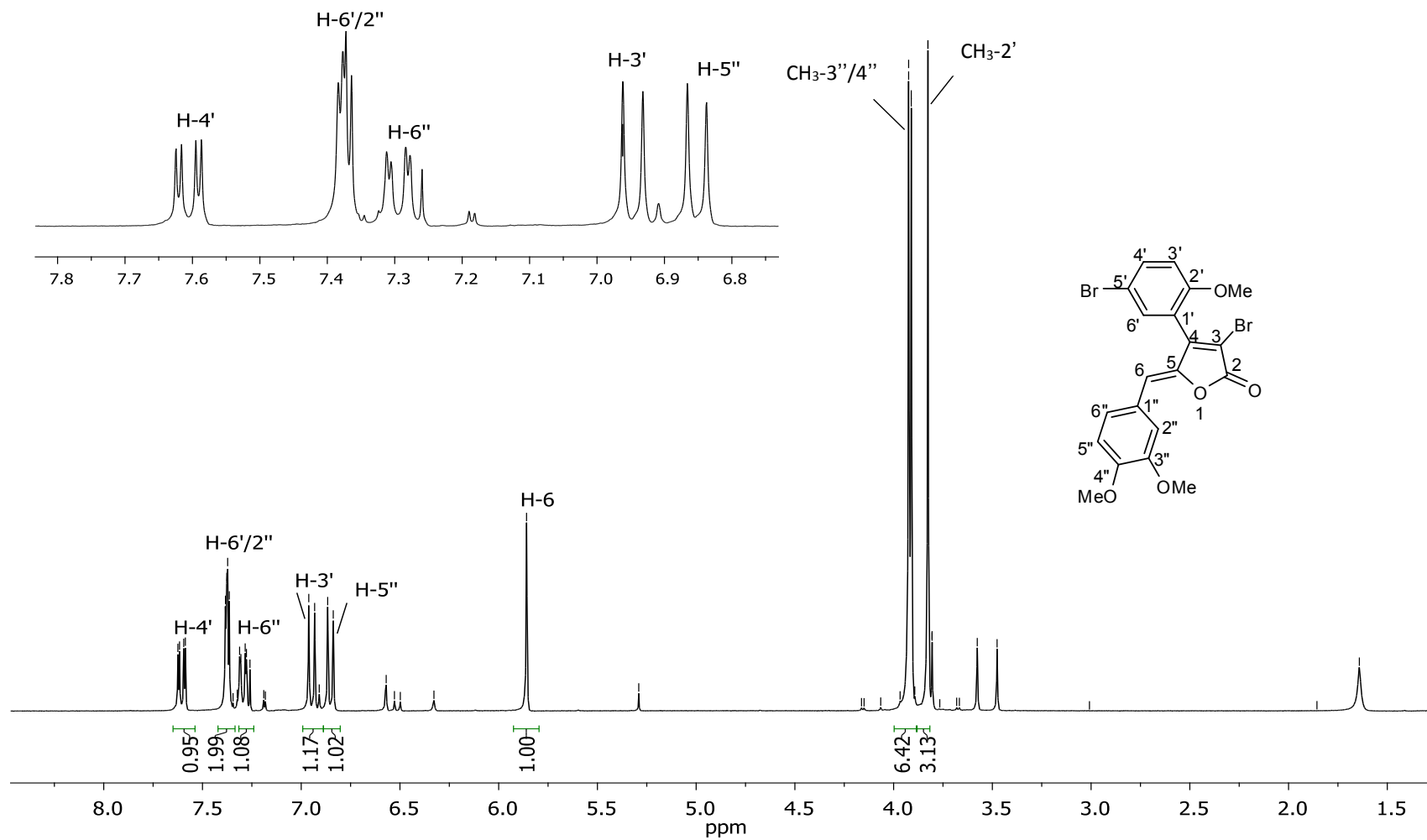


Figura 21- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **25**.

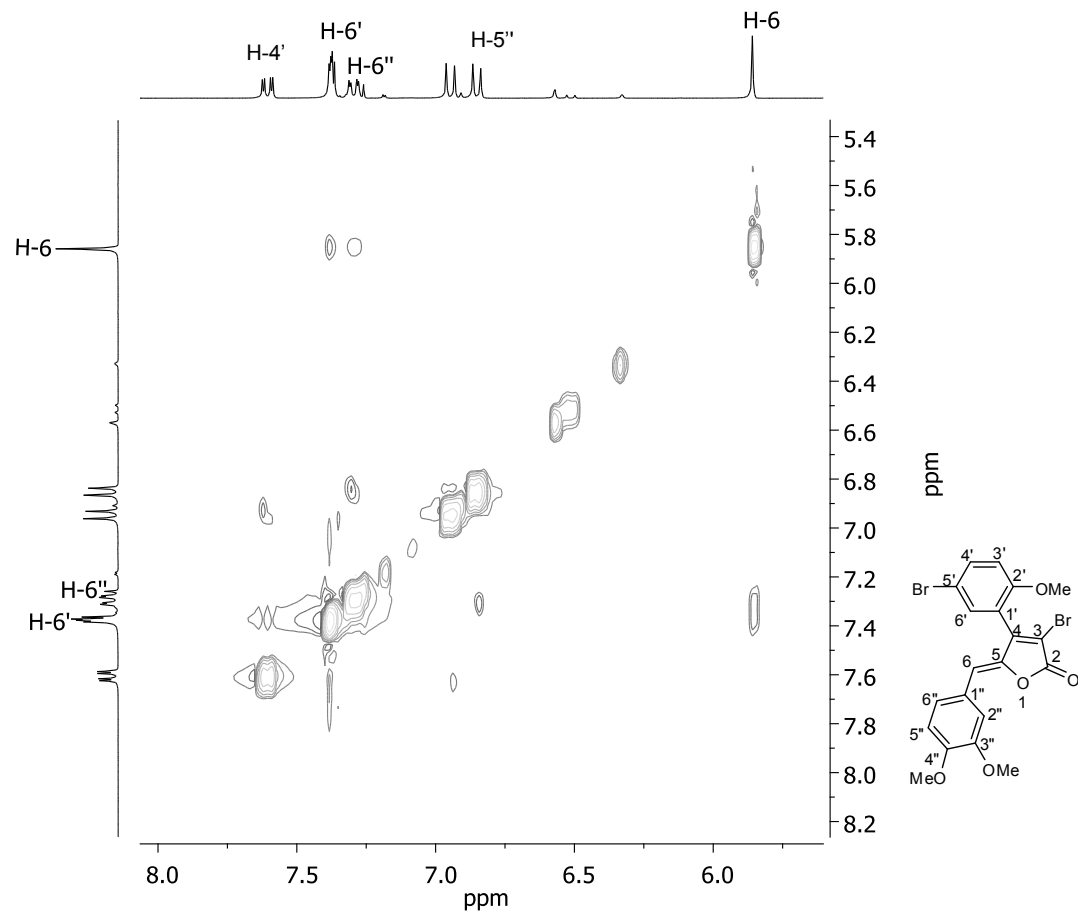


Figura 22- Espectro bidimensional NOESY do composto **25**.

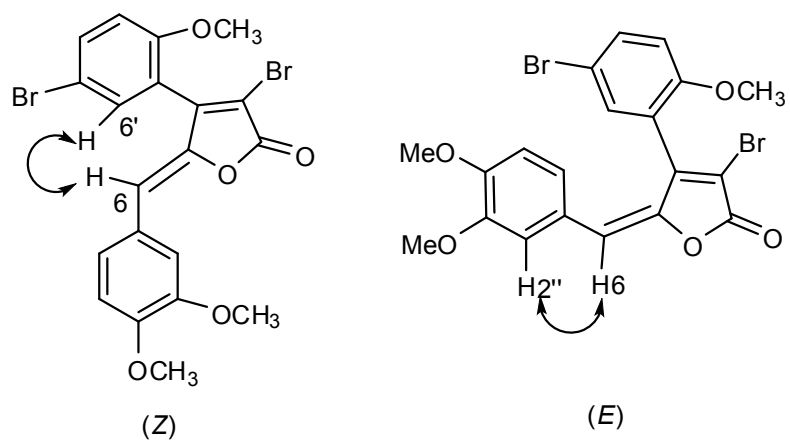


Figura 23 – Isômeros (Z/E) do composto **25**.

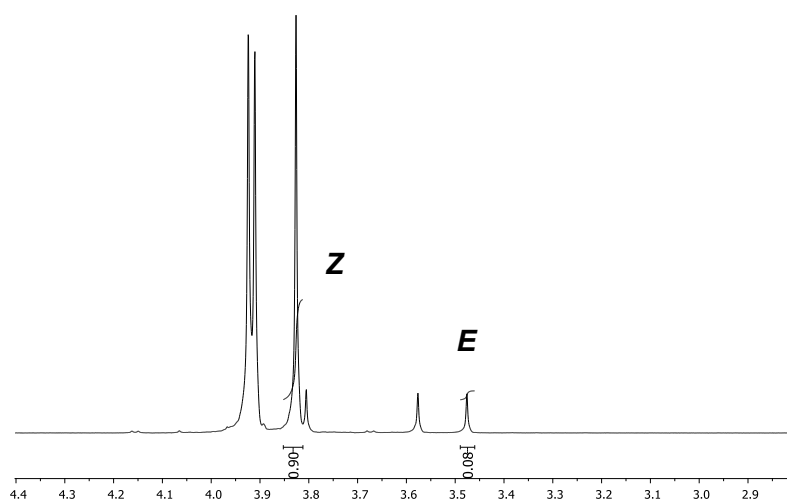


Figura 24 - Sinais empregados no cálculo da proporção dos isômeros Z/E para o composto **25**.

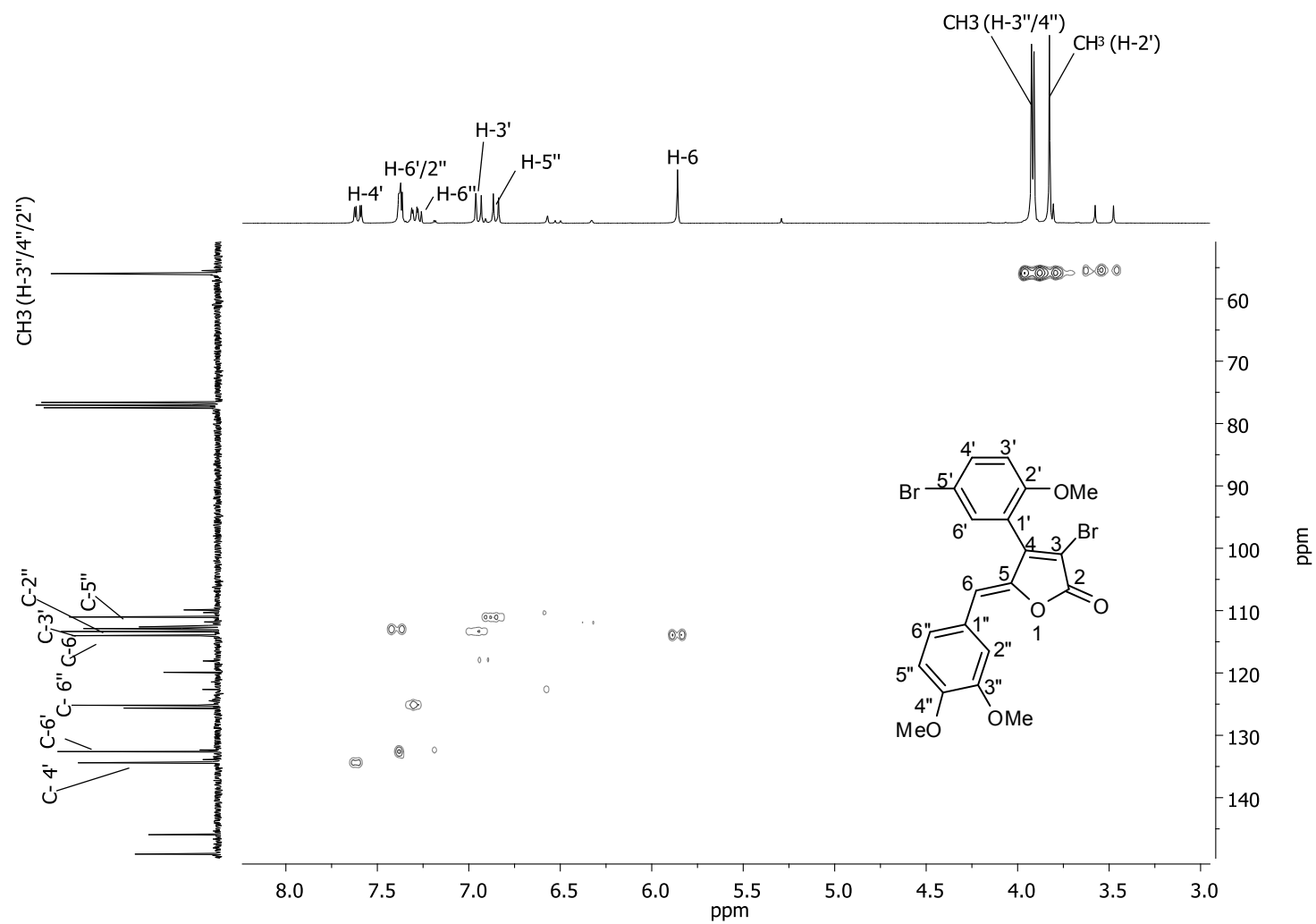


Figura 25 - Mapa de contorno HSQC para o composto **25**.

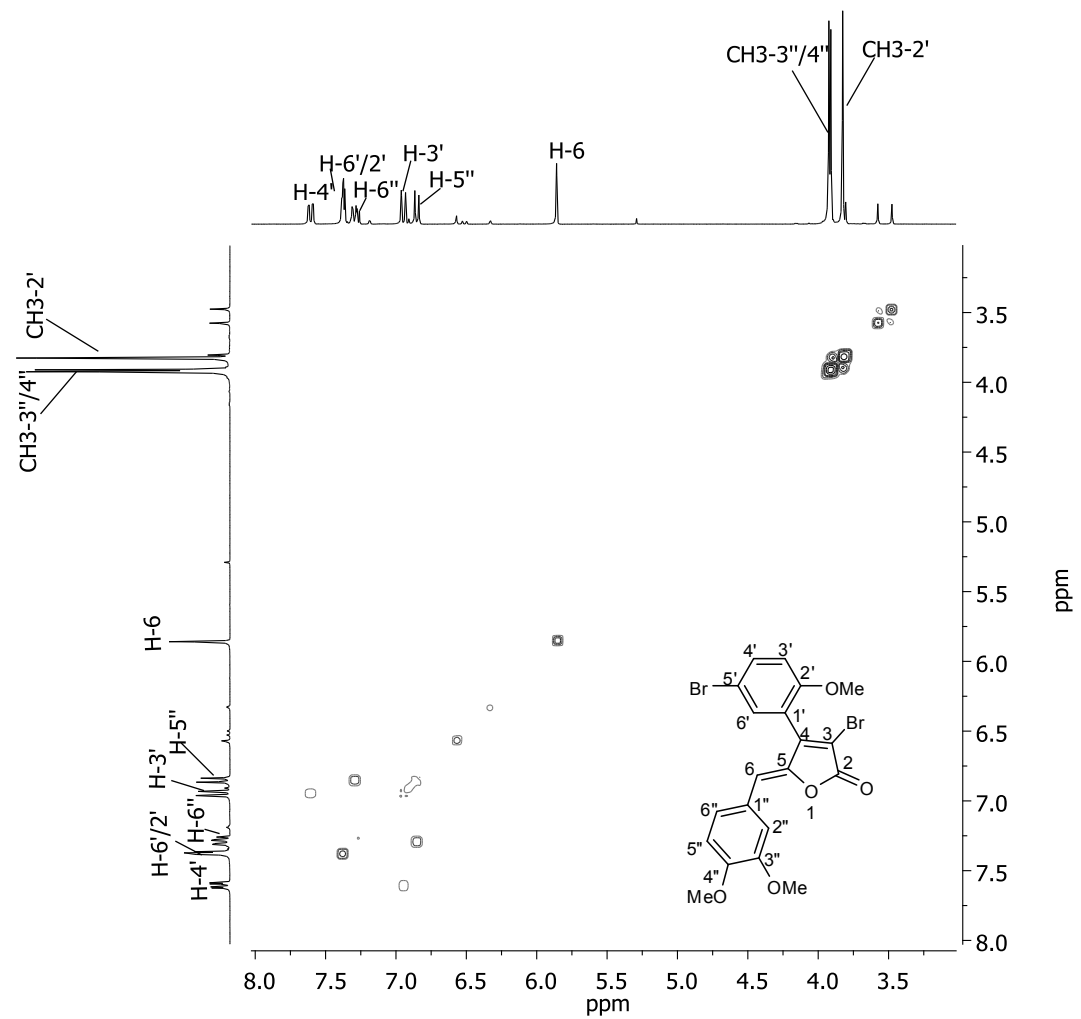


Figura 26 - Mapa de contorno COSY para o composto **25**.

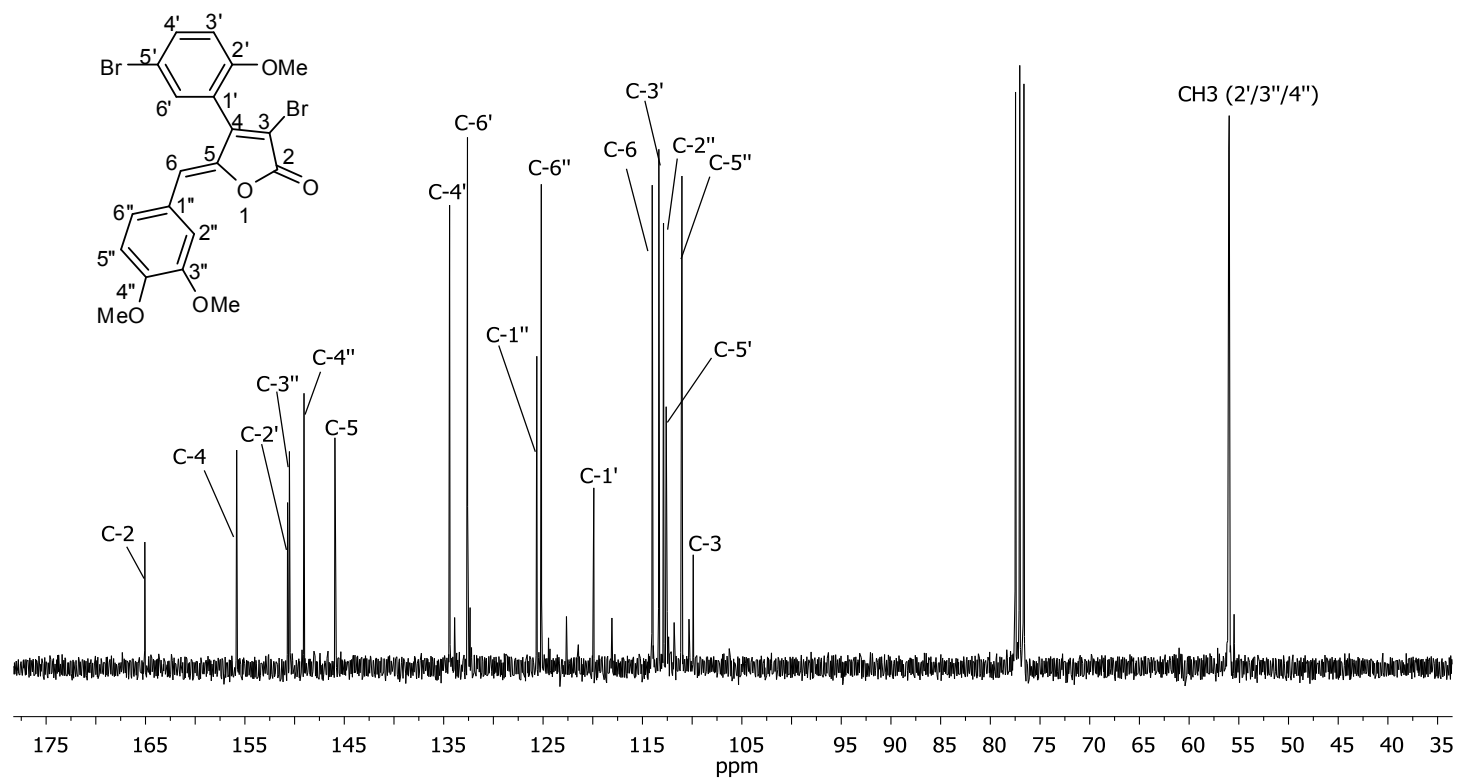
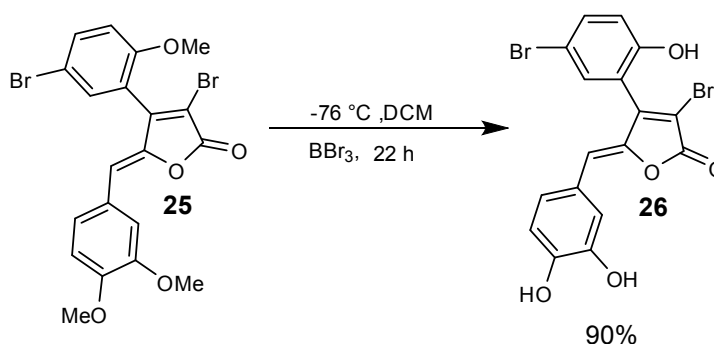


Figura 27 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **25**.

3.4 Síntese do (Z/E) 3-bromo-4-(5-bromo-2-hidroxifenil)-5-(3,4-dihidroxibenzi-lideno) furan-2(5H)-ona (26)

O composto (**26**) foi sintetizado a partir da lactona (**25**) formada na etapa anterior. Essa transformação teve como objetivo obter um composto mais polar, com a presença de três grupos hidroxilas, para a avaliação da influência da polaridade e da natureza do grupo substituinte no anel sobre as atividades biológicas. A unidade estrutural composta pelo grupo fenol é comum em uma grande quantidade de produtos naturais e em diversas substâncias de importância biológica (ZUO et al, 2008).

O composto (Z/E)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3,4-dimetoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (**25**) foi dissolvido com DCM, e à solução resultante foi adicionado BBr_3 a $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Dessa reação obteve-se o composto demetilado (**26**) em rendimento de 90%. Nesse caso, o produto resultante também foi obtido na forma de uma mistura de isômeros *Z* e *E*, com predominância do isômero *Z* (94% de *Z* e 6% de *E*) (Esquema 18).



Esquema 18 - Síntese do composto desmetilado **26**.

O composto (**26**) foi caracterizado por espectroscopia no IV, RMN e espectrometria de massas. Pela semelhança na estrutura com o composto (**25**), foram discutidos somente os espectros de IV e massas para observar as mudanças observadas na nova molécula (**26**). No espectro de IV, a banda larga em 3326 cm^{-1} indica a presença do estiramento O-H das hidroxilas fenólicas O-H2', O-H3'' e O-H4'' (Figura 28). O espectro de massas do rubrolídeo (**26**) (Figura 29) apresentou picos em $m/z = 452, 454$ e 456 , referentes à fórmula do composto ($\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{O}_5$), o que

corresponde ao pico do íon molecular (incluindo os picos M+2 e M+4 devido aos isótopos dos átomos de bromo presentes no composto).

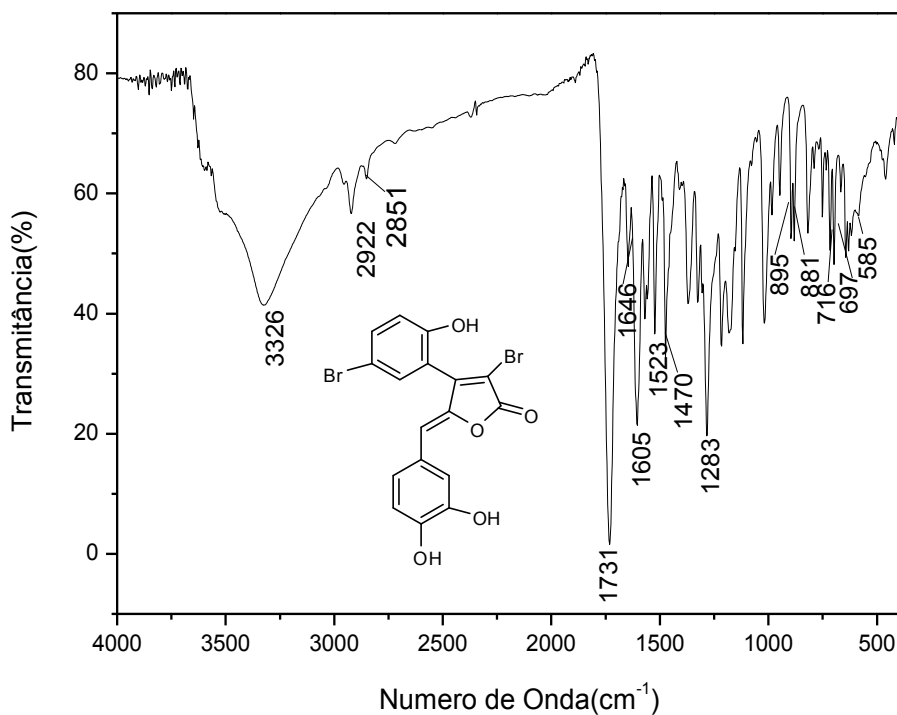


Figura 28 - Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **26**.

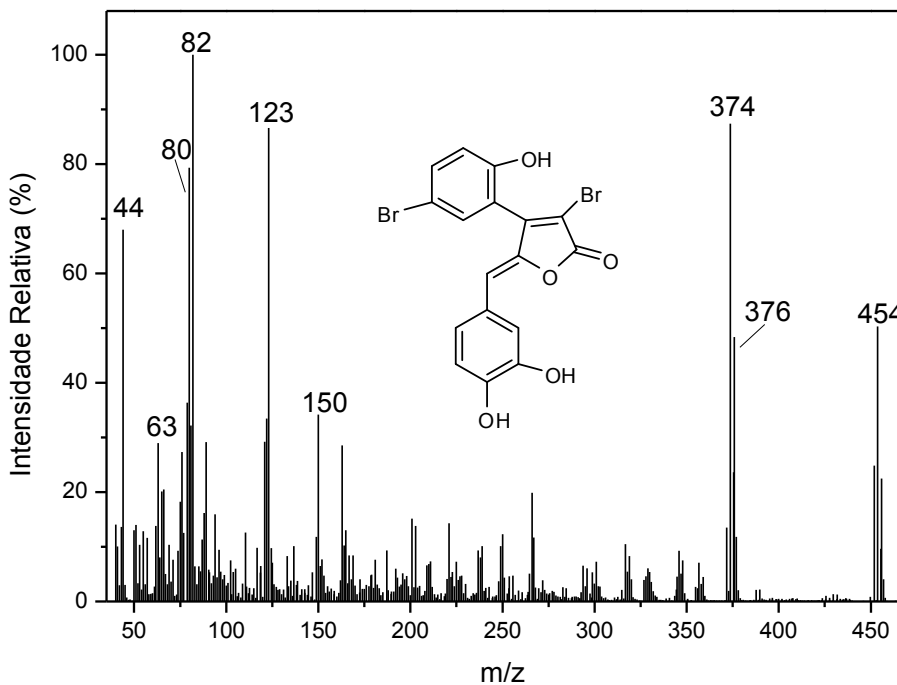


Figura 29 - Espectro de massas do composto **26**.

3.5 Reações de alquilidenação

A segunda etapa do desenvolvimento deste trabalho consistiu em sínteses de reações de alquilidenação utilizando a metodologia descrita por Xu e colaboradores (2007). O objetivo dessa etapa foi encontrar um meio mais eficiente e de menor custo em relação ao método anterior, que utiliza o TBDMSOTf, de custo elevado.

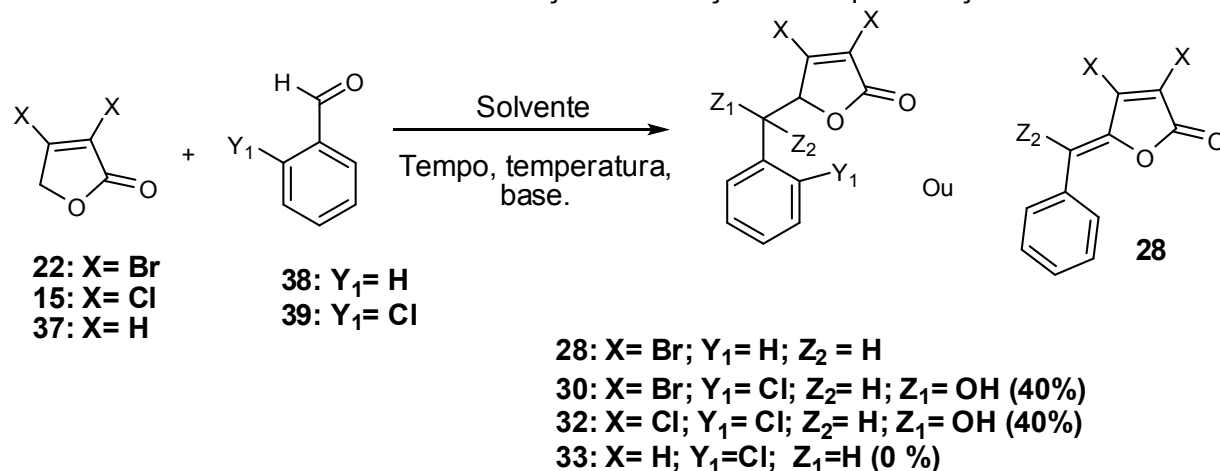
Xu et al (2007) testaram vários solventes e bases para estudar os seus diferentes efeitos na reação de condensação aldólica, envolvendo diversos butenolídeos. Inicialmente, as reações foram feitas à temperatura ambiente, usando acetona como solvente e benzaldeído. Os solventes que os autores testaram foram CHCl_3 , CH_3CN , THF e metanol, e as bases foram piridina, 1,2-diaminocetona, DMAP, NaHCO_3 , K_2CO_3 e Na_2CO_3 . Assim, a melhor condição reportada pelos autores foi utilizando Na_2CO_3 em metanol, sob refluxo.

3.5.1 Estudo para síntese do composto 28

Em função dos resultados reportados por Xu et al (2007), foi feito um teste inicial (Experimento 1) partindo da lactona 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**22**) e do benzaldeído (**38**) (Tabela 2). Depois de concluída a reação, a mistura reacional foi submetida a separação em coluna de sílica gel, obtendo-se apenas um resíduo em baixo rendimento, o que impossibilitou a realização de todas as análises espectroscópicas. O espectro de massas do composto obtido não estava de acordo com a estrutura desejada (BARBOSA et al, 2010).

Em função do baixo rendimento e da incerteza sobre a identidade do produto obtido, foram feitas diferentes reações com a finalidade de se obter o produto desejado em rendimentos satisfatórios. Nesse sentido, os seguintes parâmetros foram avaliados: natureza da base; tempo reacional; solvente da reação; número de equivalentes de base; e temperatura da reação.

Tabela 2 –Tentativas de otimização das reações de alquilidenação.



Experimento	Lactona/ 1 equivalente	Base/ equivalente	Aldeído/2 equivalentes	Solvente	Temperatura/ °C	Tempo (Horas)	(g/%)	Produto
1	22	Na ₂ CO ₃ /0,3	38	Metanol	65	46	0	-
*2	22	NaHCO ₃ /0,3	38	Metanol	80	44	*	-
*3	22	DBU/0,3	38	Metanol	80	44	*	28
*4	22	Na ₂ CO ₃ /0,3	38	THF	100	42	*	-
*5	22	Na ₂ CO ₃ /0,3	38	Acetonitril a	110	44	*	-
6	22	Na ₂ CO ₃ /0,6	38	Metanol	85	66	0	-
7	22	DBU/0,6	38	Metanol	87	63	0	-
8	22	Na ₂ CO ₃ /0,3	39	Metanol	65	11	0,0637/40	30
9	22	Na ₂ CO ₃ /0,3	39	Metanol	65	6	0,0124/23	30
10	22	Na ₂ CO ₃ /0,3	39	Metanol	70	56	0,0084/11,6	30
11	22	Na ₂ CO ₃ /0,3	39	Metanol	25	6	0,017/26	30
12	15	Na ₂ CO ₃ /0,3	39	Metanol	65	7,5	0,0772/40	32
13	37	Na ₂ CO ₃ /0,3	39	Metanol	65	5	0	33

*Com o tempo a mancha correspondente ao produto desejado 28 na placa CCD diminuiu.

As reações 2-5 foram realizadas em tubos selados, variando-se as condições reacionais para observar a formação do composto de interesse (**28**). Para avaliar o efeito da base empregada, foram utilizados Na₂CO₃, NaHCO₃ e DBU. Os solventes utilizados foram metanol, THF e acetonitrila.

As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada e, em todos os casos, verificou-se que as manchas correspondentes ao produto (**28**) (Tabela 2, experimentos *2 a *5) foram muito pequenas. Em função disso, as reações passaram a ser monitoradas por cromatografia em fase gasosa, acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

Entretanto, comparando-se os espectros de massas destas reações, pode-se observar que o composto de interesse (**28**) foi obtido apenas no experimento 3, no qual foi utilizado DBU como base. O espectro de massas referente ao produto bruto obtido no experimento 3 apresenta o pico em 328 ([M]⁺) que a fórmula molecular do composto (C₁₁H₆Br₂O₂), de interesse (**28**), e os picos em *m/z* = 330 ([M+2]⁺) e em *m/z* = 332 ([M+4]⁺), que confirmam a presença de isótopos dos átomos de bromo na molécula.

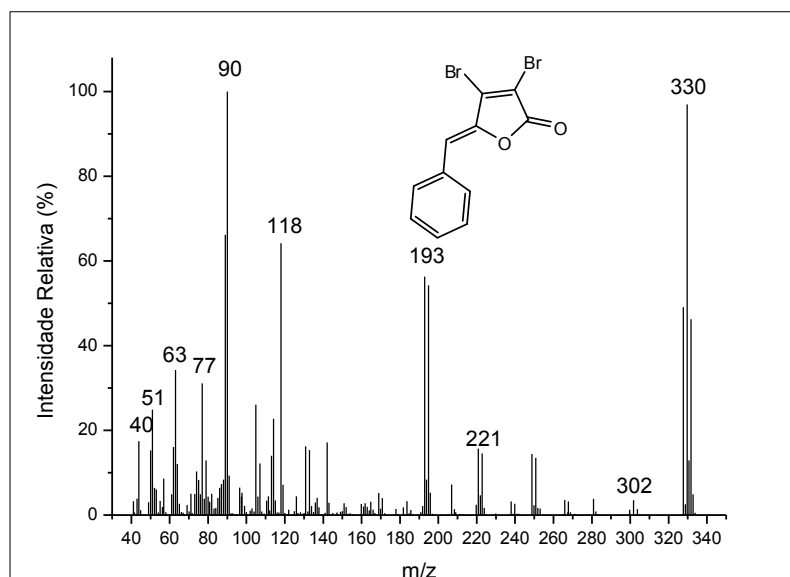


Figura 30 - Espectro de massas do produto **28** obtido no experimento 3, utilizando DBU como base.

A síntese da furanona (**28**) foi relatada por Barbosa et al (2010c), obtendo-se este produto em 15% de rendimento.

Ao comparar os cromatogramas dos experimentos 2 e 3 (Figura 31 e 32), observa-se que estes apresentaram picos no mesmo tempo de retenção; entretanto, ao comparar os espectros de massas, verifica-se que estes apresentavam padrões de fragmentações diferentes, mostrando que houve formação de compostos distintos. No entanto, quando foram usados os solventes THF e acetonitrila (Tabela 2, experimentos 4 e 5), não foi observado nenhum pico nesse mesmo tempo de retenção (Figuras 33 e 34).

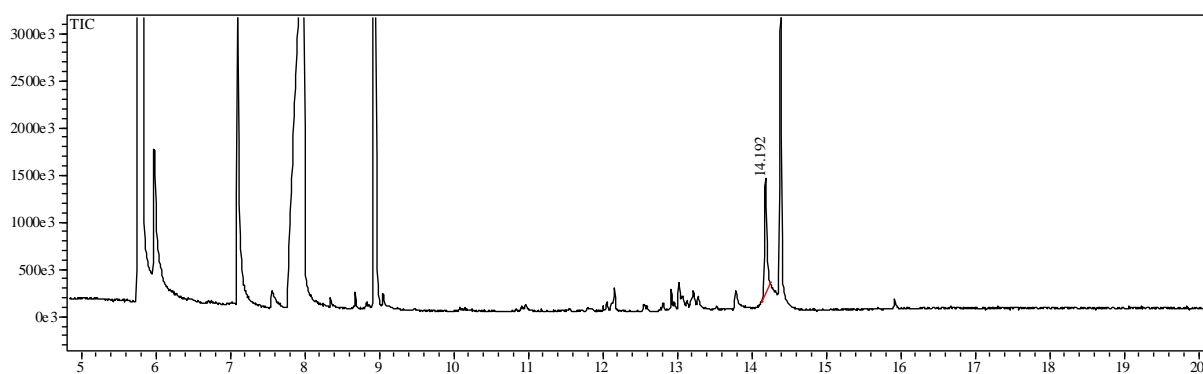


Figura 31- Cromatograma da mistura reacional utilizando NaHCO_3 como base (experimento 2, Tabela 2).

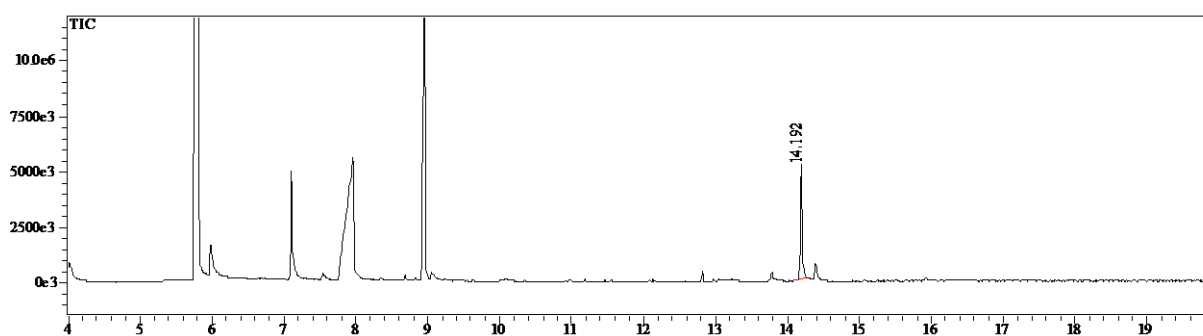


Figura 32 - Cromatograma utilizando DBU como base (experimento 3, Tabela 2).

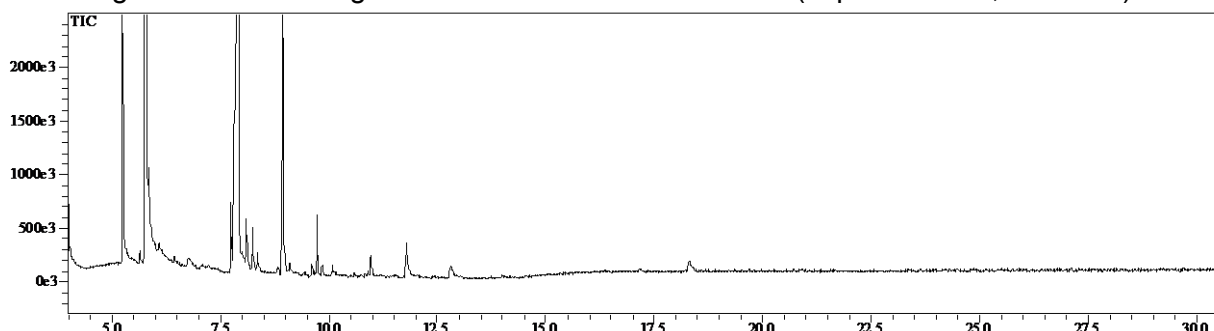


Figura 33 - Cromatograma utilizando THF como solvente (experimento 3, Tabela 2).

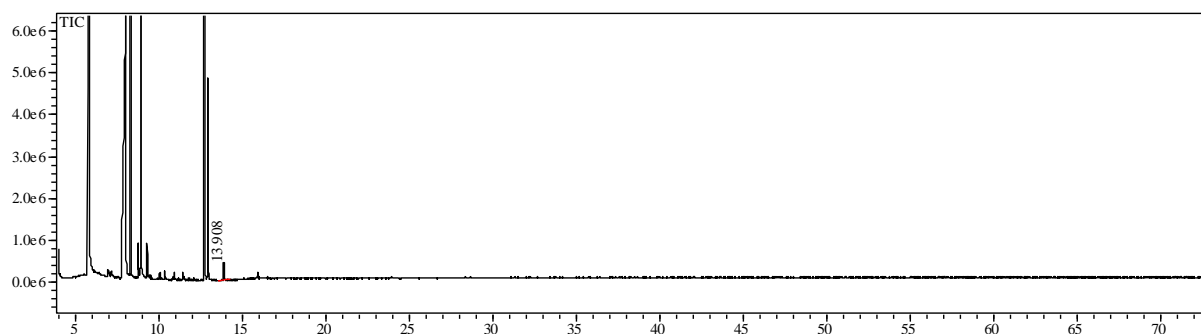


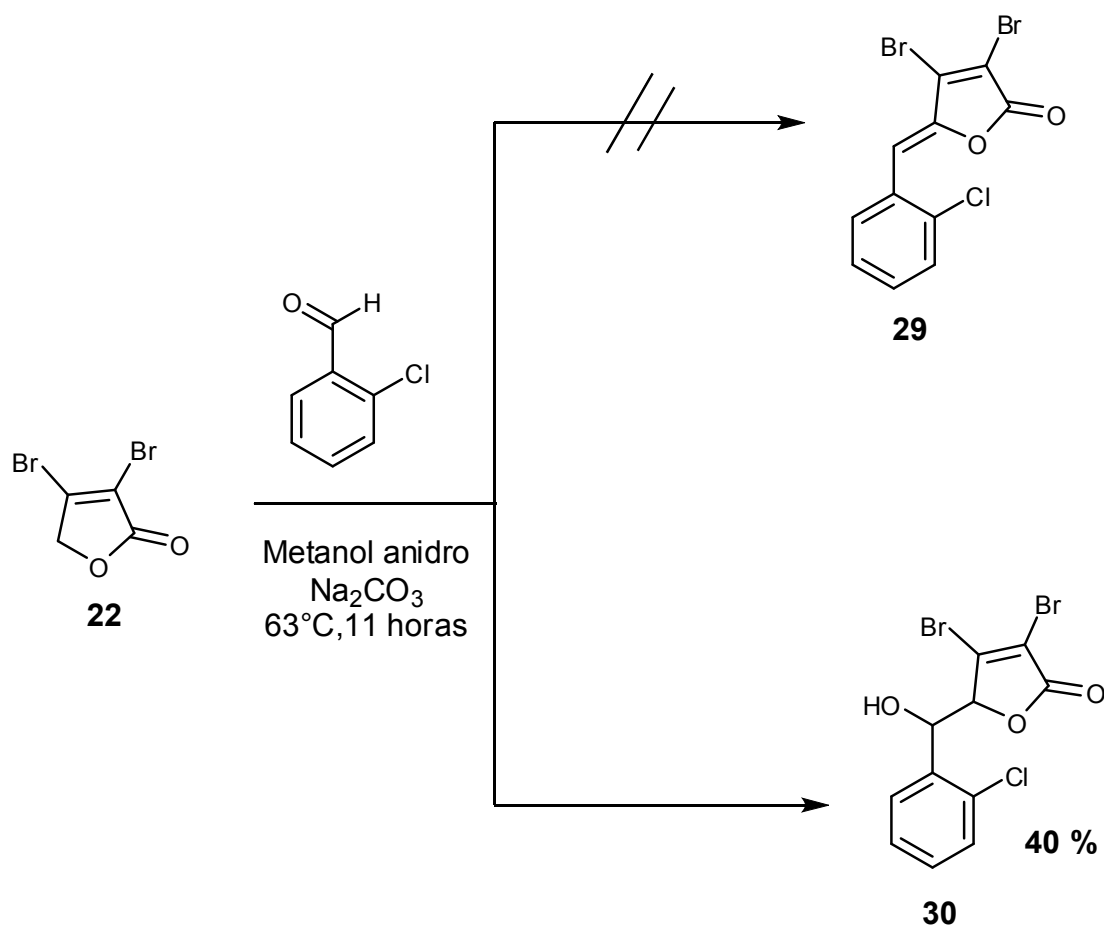
Figura 34 - Cromatograma utilizando acetonitrila como solvente (experimento 4, Tabela 2).

As reações foram reproduzidas (Tabela 2, experimentos 6 e 7) variando a quantidade de base e aumentando o tempo da reação. O produto formado foi analisado em CG-EM, previamente purificado em cromatografia de coluna, utilizando como solvente hexano:acetato de etila 3:1 (v/v), mas o produto desejado (**28**) não foi obtido.

3.5.2 Tentativa de síntese da 3,4-dibromo-5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5H)-ona (**29**) e 3,4-dicloro-5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5H)-ona (**31**)

Como não houve rendimento satisfatório na reação de condensação aldólica utilizando benzaldeído, optou-se em utilizar outro aldeído: o 2-clorobenzaldeído (Experimentos 8-12, Tabela 2). Para esta síntese, foi utilizada a lactona dibromada ou a lactona diclorada, na presença do 2-clorobenzaldeído, a fim de se obter os compostos (**29**) e (**31**), respectivamente.

Entretanto, pode-se observar que experimento 8, por exemplo, em que a reação é realizada nas condições mostradas no esquema 19, resultou na formação do produto indesejado intermediário (**30**) com 40% de rendimento. O composto desejado (**29**) não foi obtido.



Esquema 19 - Tentativa de síntese do composto **29** e síntese do composto **30**.

Os produtos (**30**) e (**32**) (Esquema 19 e Esquema 22) na página 68 apresentaram grande semelhança entre si, e as únicas variações observadas referem-se aos substituintes como Cl e Br no anel lactônico. A comparação entre os espectros de ^1H do composto (**30**) (Figura 35) e do composto (**32**) permite observar uma clara diferença no sinal de H-6 $\delta = 5,66$, que aparece como um duplete alargado com um $J = 3,57$ Hz, sendo que o sinal do OH aparece também como um duplete alargado com $J = 5,31$ Hz. Nenhum dos sinais foi resolvido para o composto (**30**).

Por causa da semelhança entre esses espectros do composto (**30**) e (**32**), a discussão a seguir será feita apenas para o composto (**32**).

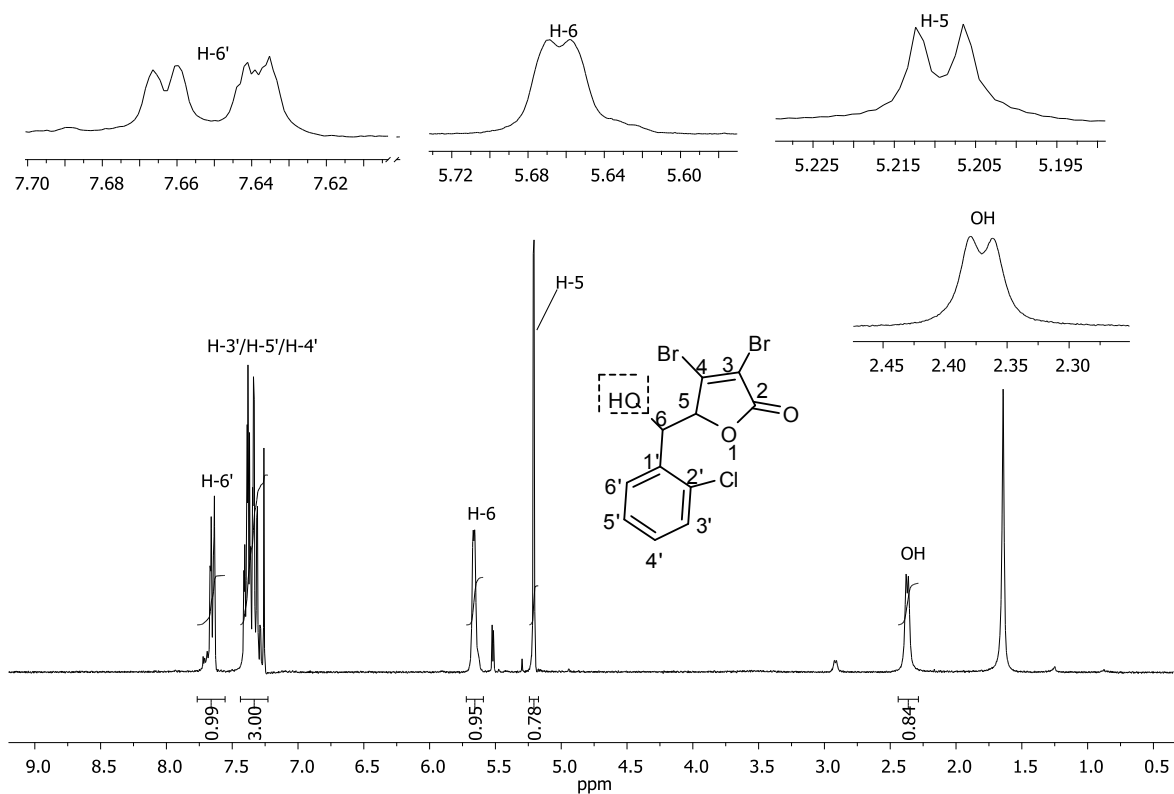


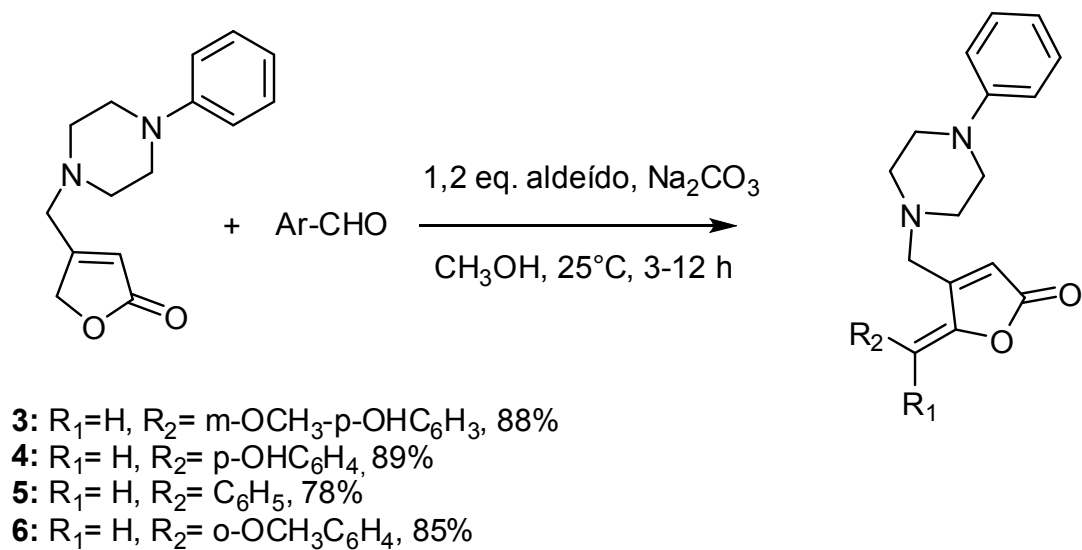
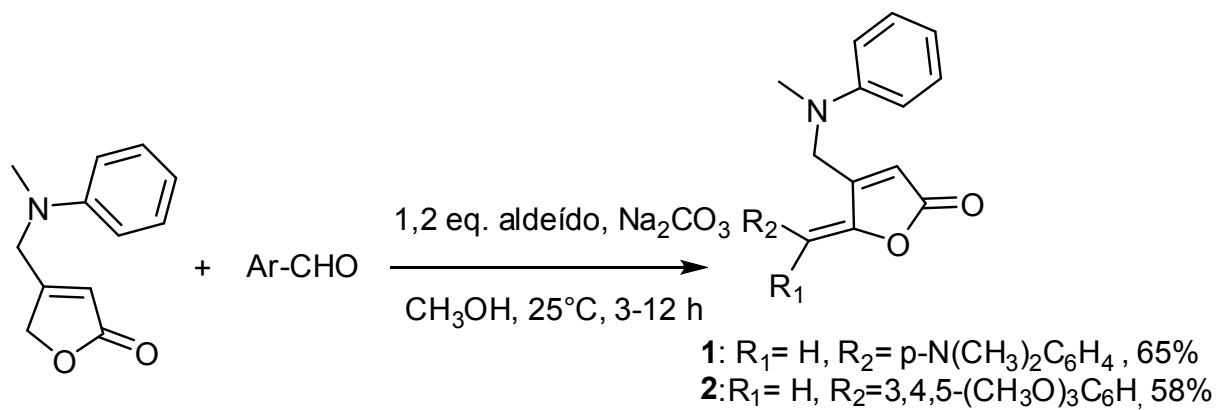
Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **30**.

3.5.3 Reações para obtenção do composto 3,4-dibromo-5-(2-clorobenzilideno) furan-2(5H)-ona (29)

Como houve apenas a formação do intermediário (30) da reação para obtenção do composto (29), foram feitas outras tentativas (Experimentos 9-11) (Tabela 2) a fim de se obter o composto de interesse (29).

Após os resíduos serem purificados por cromatografia de coluna, e comparando os valores de R_f das reações, observou-se que a substância (30) havia sido formada, mas com rendimentos inferiores aos esperados. Podemos observar que, no experimento 10 (Tabela 2), o maior tempo de reação e a temperatura mais elevada ocasionaram uma diminuição no rendimento, tendo o anel lactônico sofrido degradação conforme a temperatura de reação foi aumentada. Assim, não se obteve êxito na síntese do composto (29).

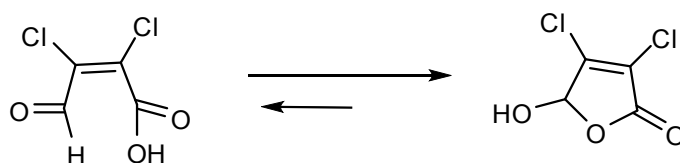
Com base no estudo desenvolvido por Liu et al (2013), a reação também foi realizada à temperatura ambiente (experimento 11, Tabela 2), para verificar se haveria aumento no rendimento da reação nesta temperatura, o que não ocorreu. Os referidos autores sintetizaram uma série de compostos utilizando a mesma metodologia de alquilidenação, mas em condições reacionais, tendo obtido bons rendimentos quando as reações foram realizadas em temperatura ambiente, mesmo quando uma lactona com um substituinte volumoso na posição 4 foi utilizada como material de partida, o que descartou a possibilidade de um impedimento estérico (Esquema 20).



Esquema 20 - Síntese de alquilidenobutenólídeos feita a 25 °C (LIU et al, 2013).

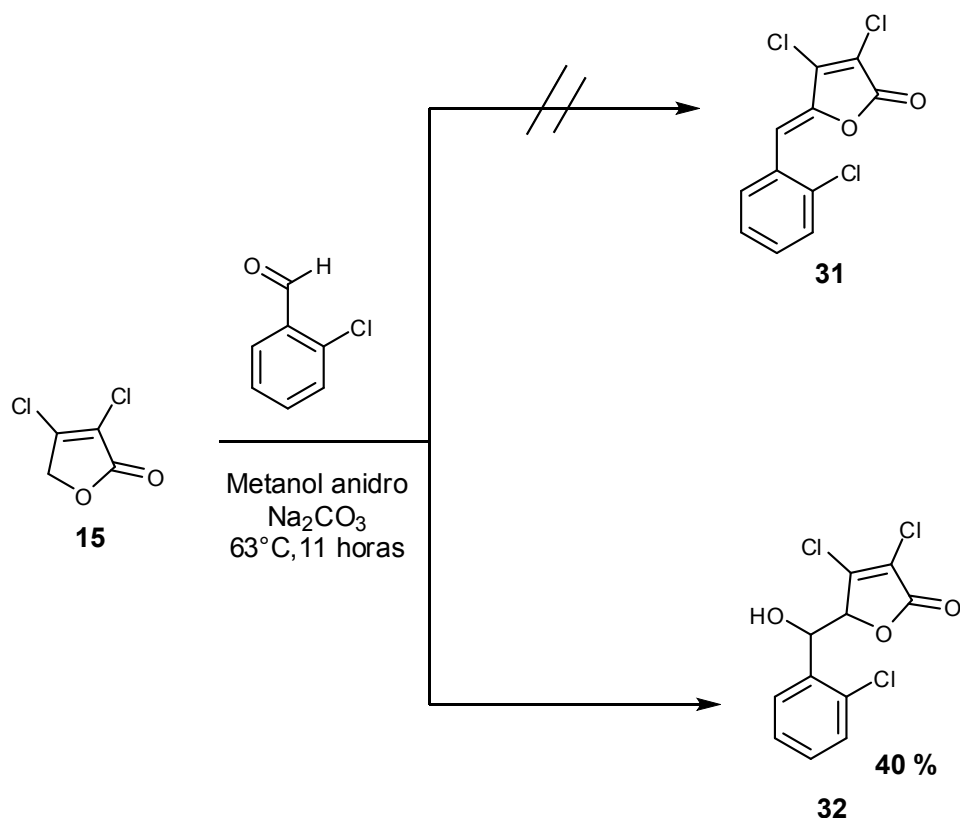
3.5.4 Tentativa de síntese da 3,4-dicloro-5-(2-clorobenzilideno) furan-2(5H)-ona (31)

Com a finalidade de comparar as reatividades dos substituintes no anel lactônico na posição α,β em relação à carbonila, utilizou-se da 3,4-dicloro-furan(5H)-ona (**15**), sintetizada previamente no LASA por um procedimento similar ao empregado para a síntese da lactona dibromada 3,4-dibromo-2(5H)-furanona (**22**). O material de partida foi o ácido mucoclórico, composto comercialmente disponível e que é mais barato que o ácido mucobromico (**21**) utilizado anteriormente como material de partida (BELLINA et al, 2003). O ácido mucoclórico, assim como a furanona bromada (**22**), encontra-se em equilíbrio ceto-enólico, o que explica a facilidade para sofrer redução quando tratado com boroidreto de sódio (NaBH_4) (Esquema 21).



Esquema 21- Equilíbrio entre as formas de cadeia aberta e fechada do ácido mucoclórico.

Quando as condições reacionais utilizadas no experimento 12 (Tabela 2) foram empregadas, o composto intermediário (**32**) (Esquema 22) (experimento 12, tabela 2), apresentando grupo hidroxila na posição 6, foi obtido. Sua estrutura foi confirmada por meio de análise dos espectros de infravermelho, massas e RMN.

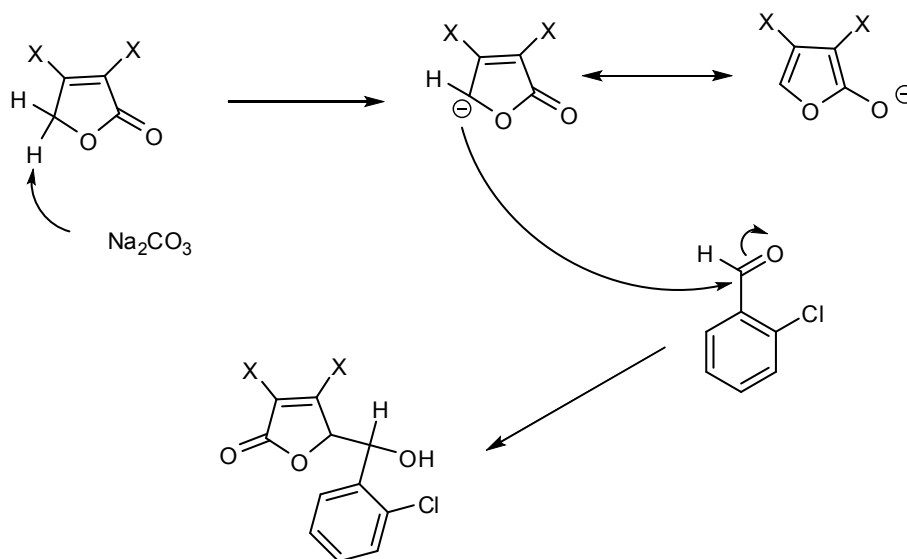


Esquema 22 -Tentativa de síntese do composto **31** e síntese do composto **32**.

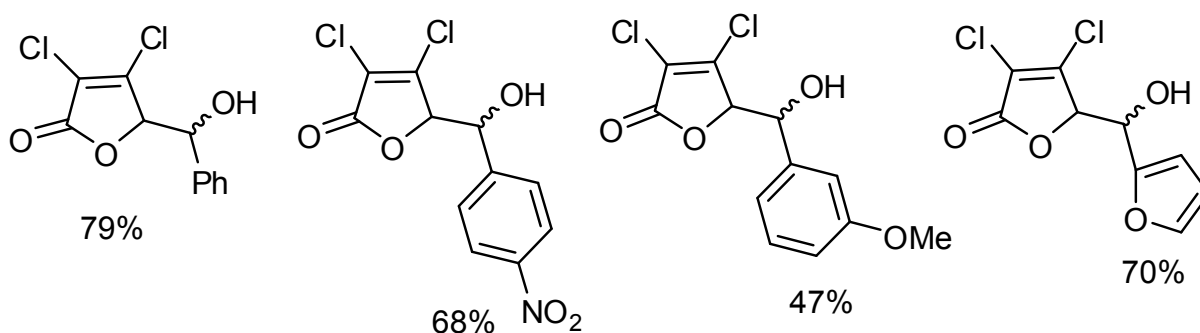
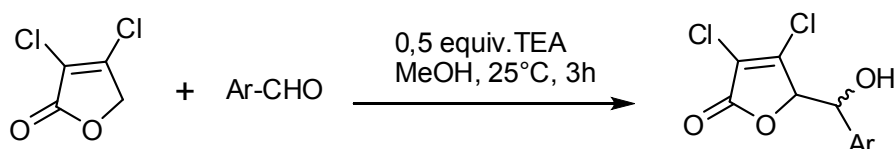
O composto (**32**), proveniente da lactona diclorada, foi obtido em menor tempo de reação (7,5 h) em comparação ao composto (**30**), proveniente da lactona dibromada (11,5 h). O cloro tem maior disponibilidade de doar densidade eletrônica ao anel em comparação com o bromo, tornando-o mais nucleofílico, o que poderia explicar esse maior rendimento em menor tempo, com a lactona com substituinte em posição α , β com cloro.

Comparando as velocidades de reação dos intermediários formados (**30**) utilizando a lactona dibromada (**22**) e o composto (**32**), partindo da lactona diclorada (**15**), podemos notar que o intermediário (**32**) formou-se em menor tempo, o que poderia ser explicado pelo efeito de maior eletronegatividade do átomo de cloro frente ao bromo, podendo assim estabilizar melhor a carga negativa do oxifurano (ânion), facilitando a remoção do próton do produto de partida.

Uma proposta mecanística para formação dos intermediários (**30**) e (**32**) está representada no esquema 23. Segundo esta proposição, haveria a formação de um carbânion mediante a remoção de um próton utilizando uma base, neste caso o Na_2CO_3 . Posteriormente, ocorreria uma reação de adição do carbânio à carbonila do aldeído, reação conhecida como adição aldólica (PARASHAR, 2009).



Sarma, Zhang & Curran (2007) sintetizaram 5-(1-hidroxi)- γ -butirolactonas, partindo do α,β -dicloro- γ -butirolactonas como material de partida, por meio de uma reação direta de adição aldólica com vários aldeídos aromáticos, utilizando trietilamina (TEA) como base (Esquema 24). Alguns desses compostos sintetizados encontram-se na Figura 36, e seus rendimentos variaram entre 47% e 79%.



No espectro de IV do composto (**32**) (Figura 37), verifica-se uma banda de absorção intensa em 3468 cm⁻¹, correspondente ao estiramento da ligação OH. O

grupo OH não se encontrava associado, ou seja, não participava de uma ligação de hidrogênio porque estava impedido. Além disso, comprovamos a presença do grupo carbonila (C=O) em uma forte banda em 1749 cm^{-1} . A presença de uma banda em 1624 cm^{-1} nos indica que existe um grupo aromático, pois essa banda correspondente ao estiramento da ligação C=C (Figura 39).

No espectro de massas da lactona (**32**) (Figura 40), podemos verificar a presença do pico em $m/z = 141$, correspondente ao composto com fórmula molecular $\text{C}_7\text{H}_6\text{ClO}$, lembrando-se que por haver um grupo hidroxila, não aparece o pico do íon molecular pela pouca estabilidade deste. No esquema 27, podemos verificar a proposta mecanística para formação deste fragmento.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 41) podemos confirmar a presença de OH. Pode-se observar um sinal δ 2,47, com $J_{\text{OH}/6} = 5,83$, estando em conformidade com o que a literatura relata na faixa de (δ) 0,5 – 5,0 para H ligados num átomo eletronegativo como oxigênio (PAVIA et al, 2010).

Para o H-6, podemos ver que está acoplado com OH $J=5,83$ e com H-5 $J=1,71$. Já os sinais em δ 7,41- 7,28 (multiplete) foram atribuídos aos H-3', H-5' e H-4', correspondendo aos Hidrogênios de aromáticos. Para maior confirmação das atribuições, foram feitos os espectros de COSY e HSQC.

No espectro COSY (Figura 42), podemos ver que o H-6' se encontra acoplado com H-5' do anel aromático, assim como o H-6 com o H-5.

A configuração do composto (*sin/anti*) foi designada mediante análise do espectro de RMN de ^1H , comparando com o trabalho feito por Sarma, Zhang & Curran (2007) que analisaram, com uma estrutura parecida, que um valor de J grande (>4 Hz) é para a conformação *sin*. No nosso caso, H-6 com H-5 tem $J= 1,71$ z, sendo pequeno, o que nos indica que o composto (**32**) é *anti*.

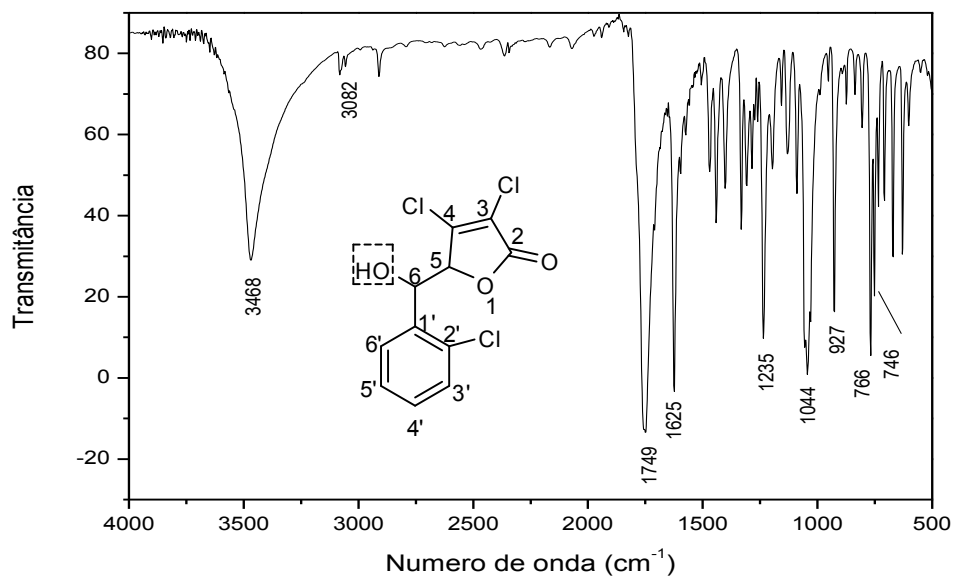


Figura 37- Espectro no IV (pastilha de KBr) da lactona **32**.

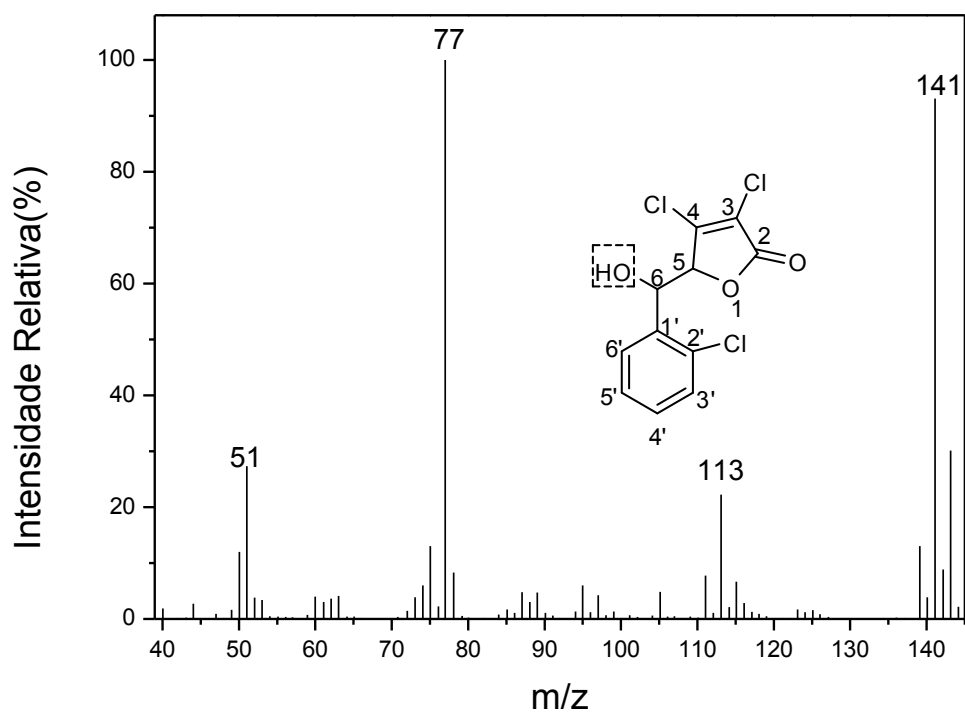
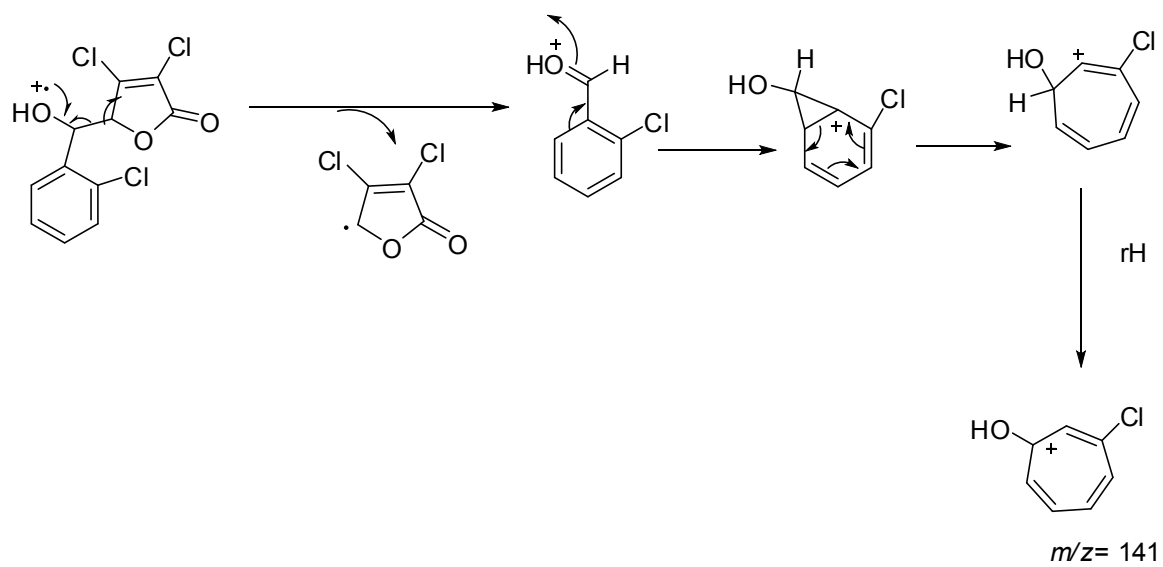


Figura 38 - Espectro de massas para o composto **32**.



Esquema 25 - Fragmentações propostas para o composto **32**.

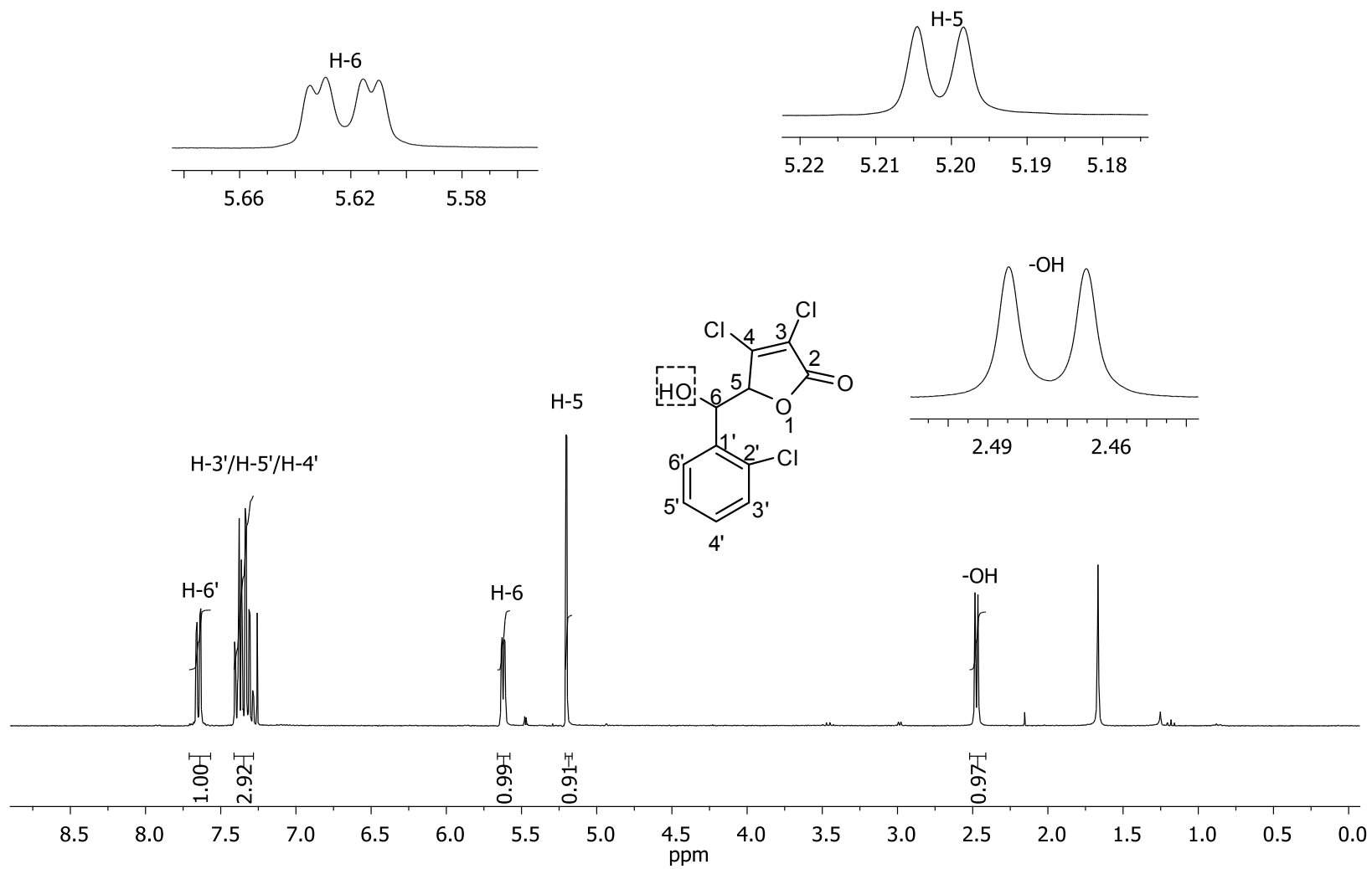


Figura 39 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **32**.

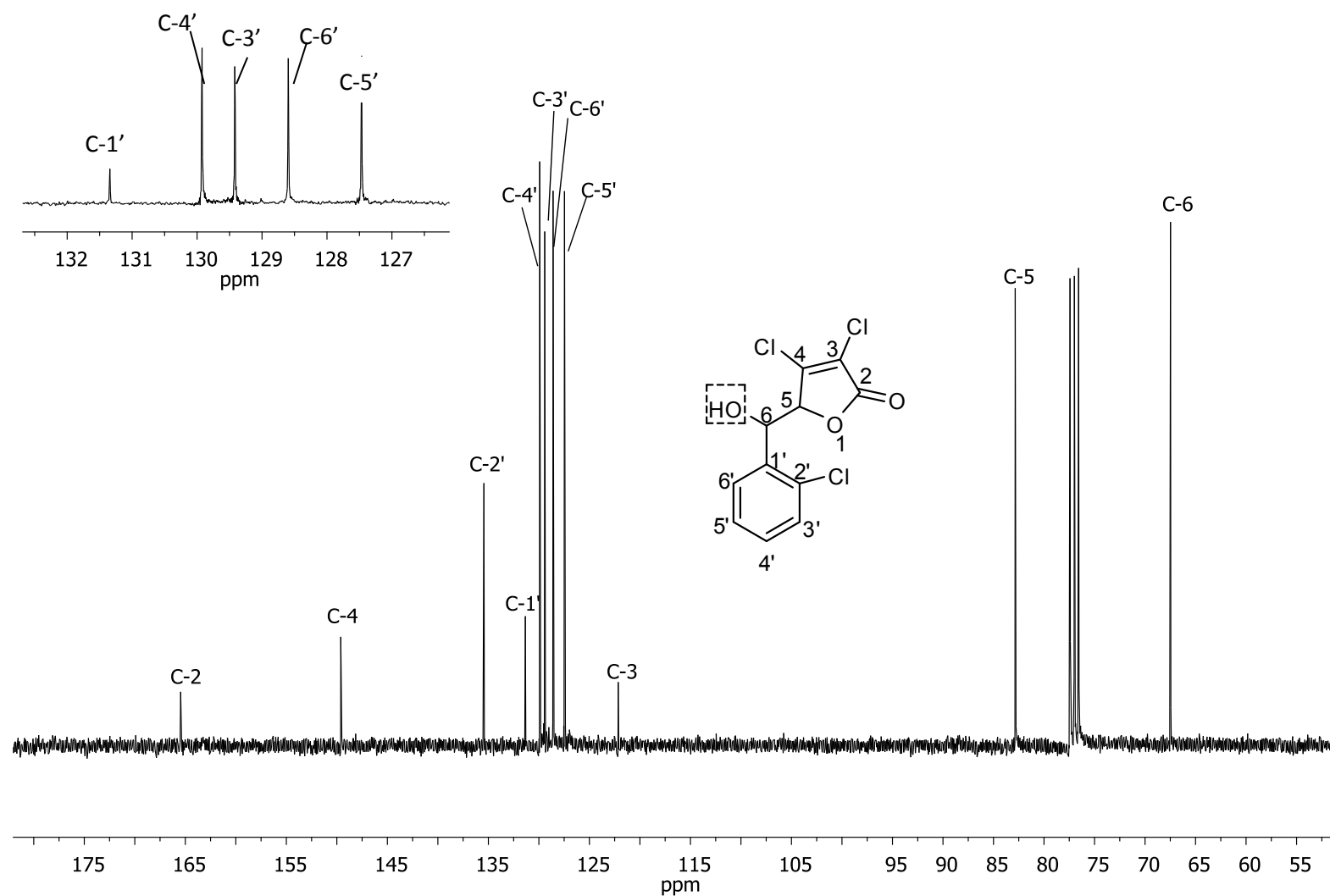


Figura 40 - Espectro de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto **32**.

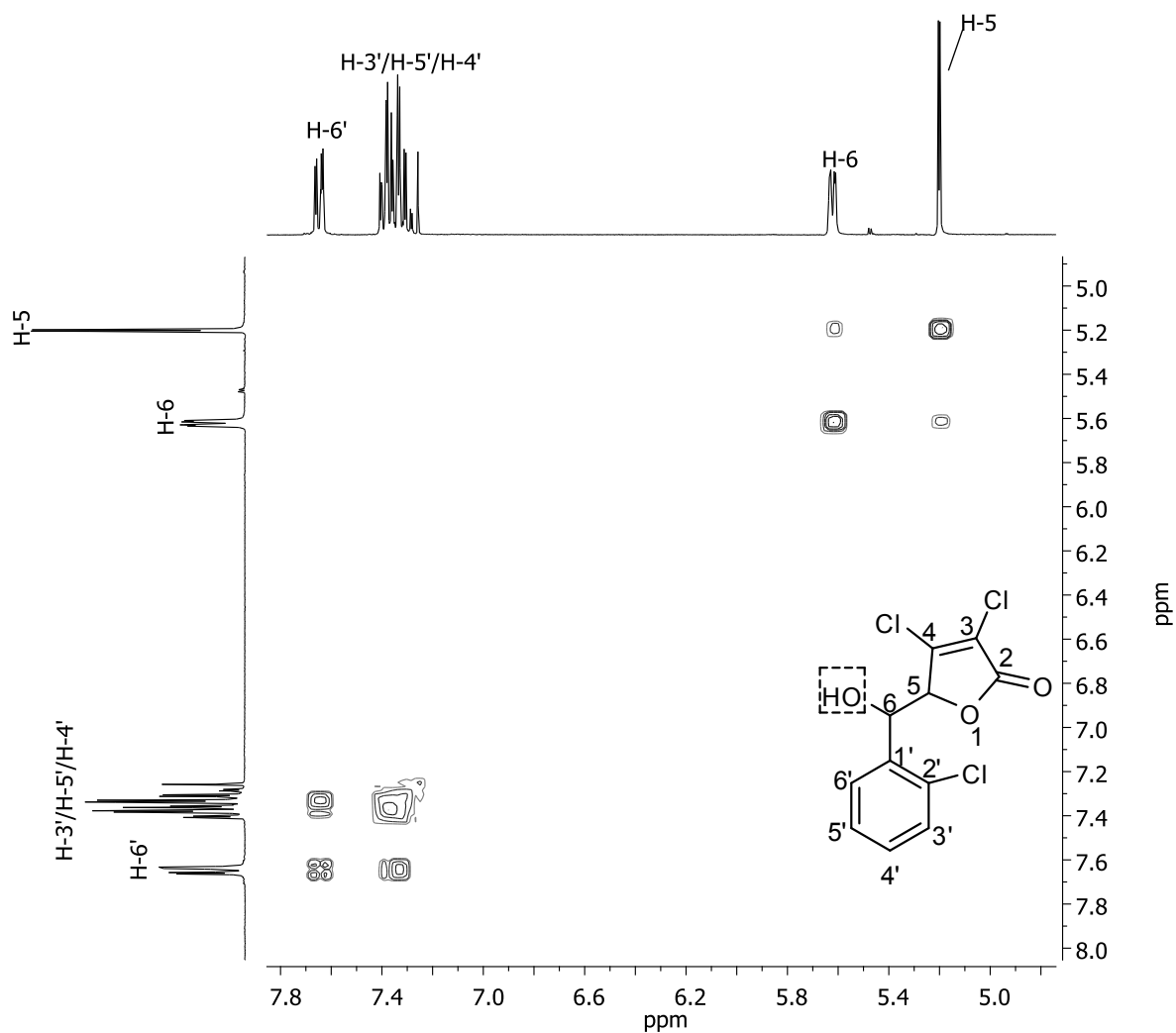


Figura 41- Mapa de contorno COSY para o composto **32**.

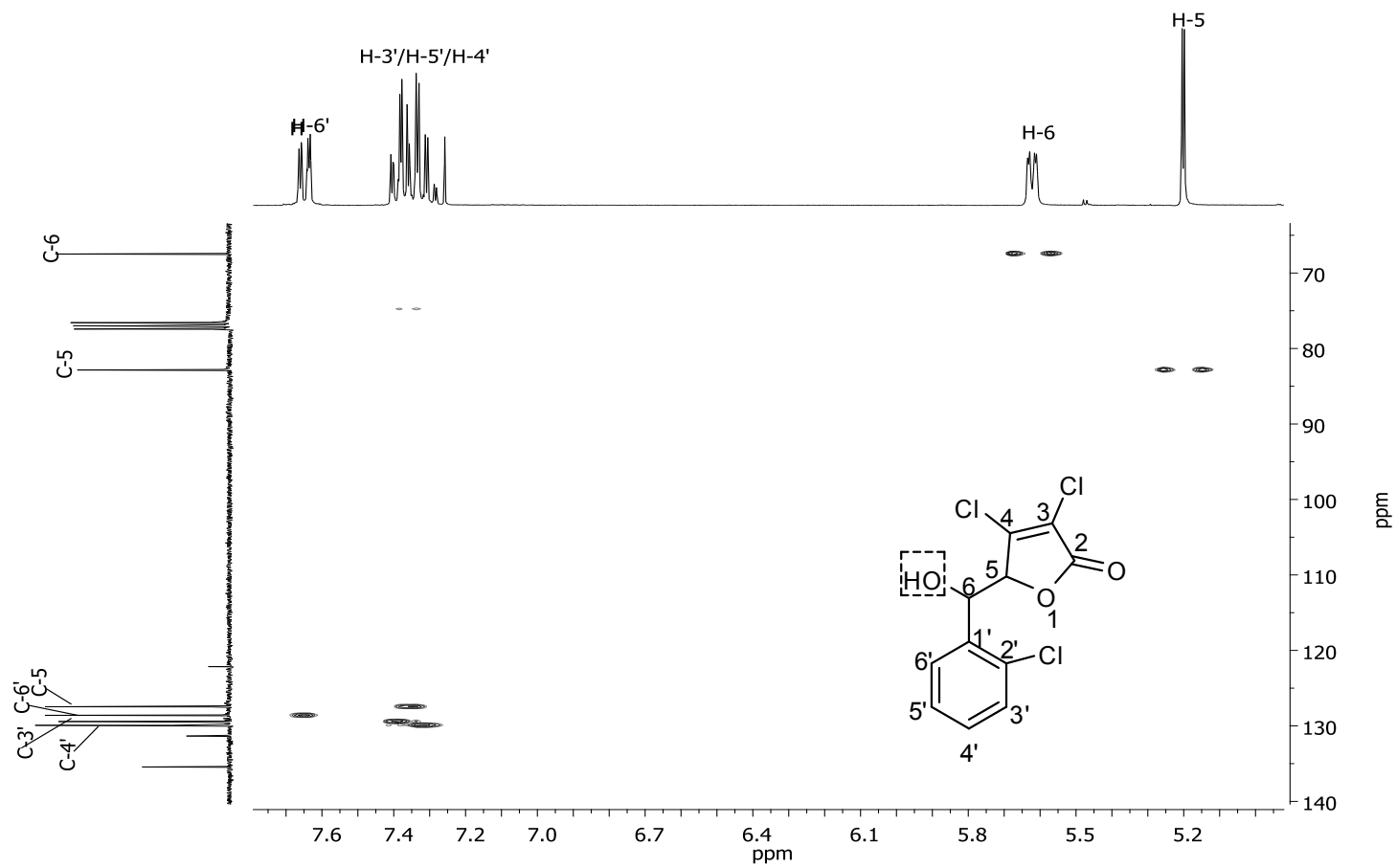
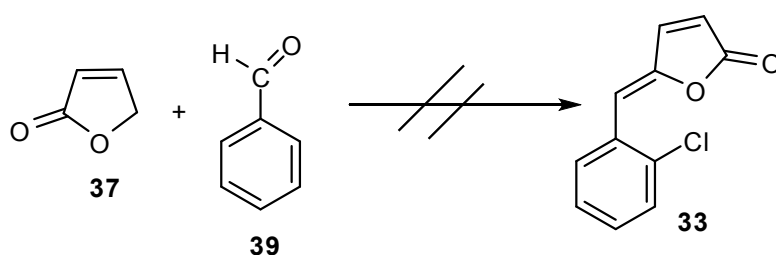


Figura 42 - Espectro de HSQC do composto **32**.

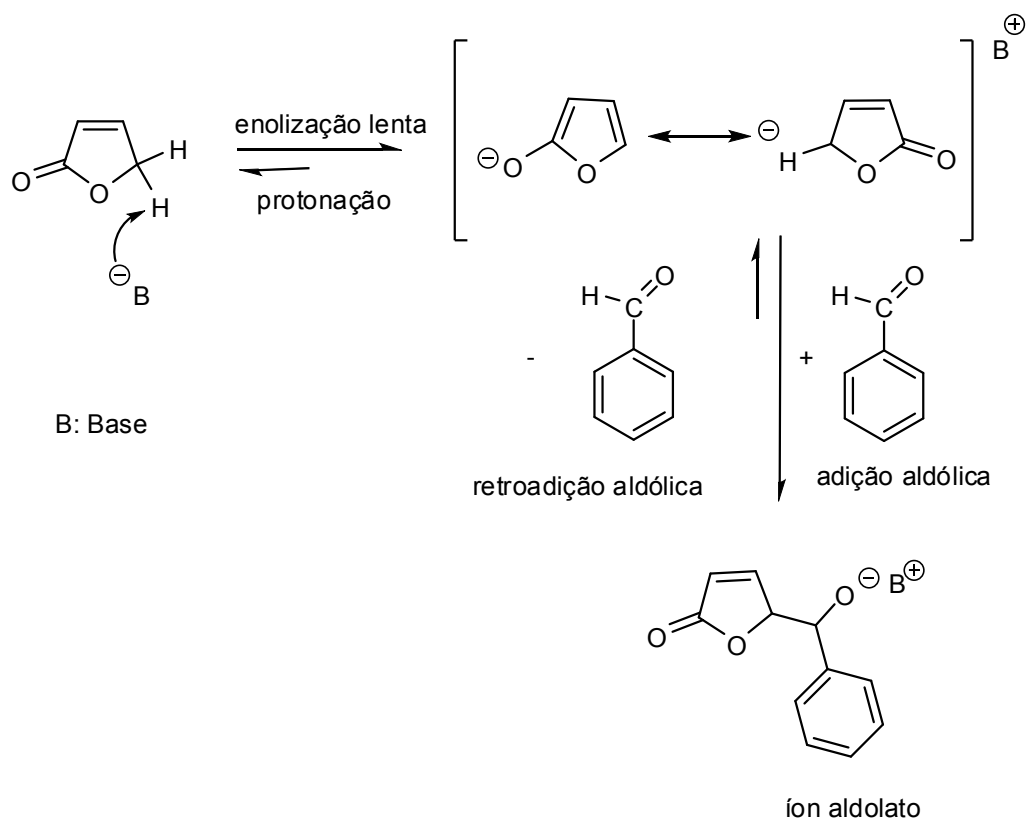
3.5.5 Tentativa de síntese do composto 5-(2-clorobenzilideno) furan-2(5H)-ona (33).

O desejo de comparação do efeito da reatividade dos substituintes do anel lactônico nas posições α e β incentivou a utilização do material de partida furan-2(5H)-ona (37), usando as mesmas condições em que foram obtidos os compostos (30) e (32). No entanto, nenhum produto foi obtido (Experimento 13, tabela 2), uma vez que o composto aparentemente degradava-se na sílica, impossibilitando o seu isolamento (Esquema 26).



Esquema 26 - Tentativa de síntese do composto 33.

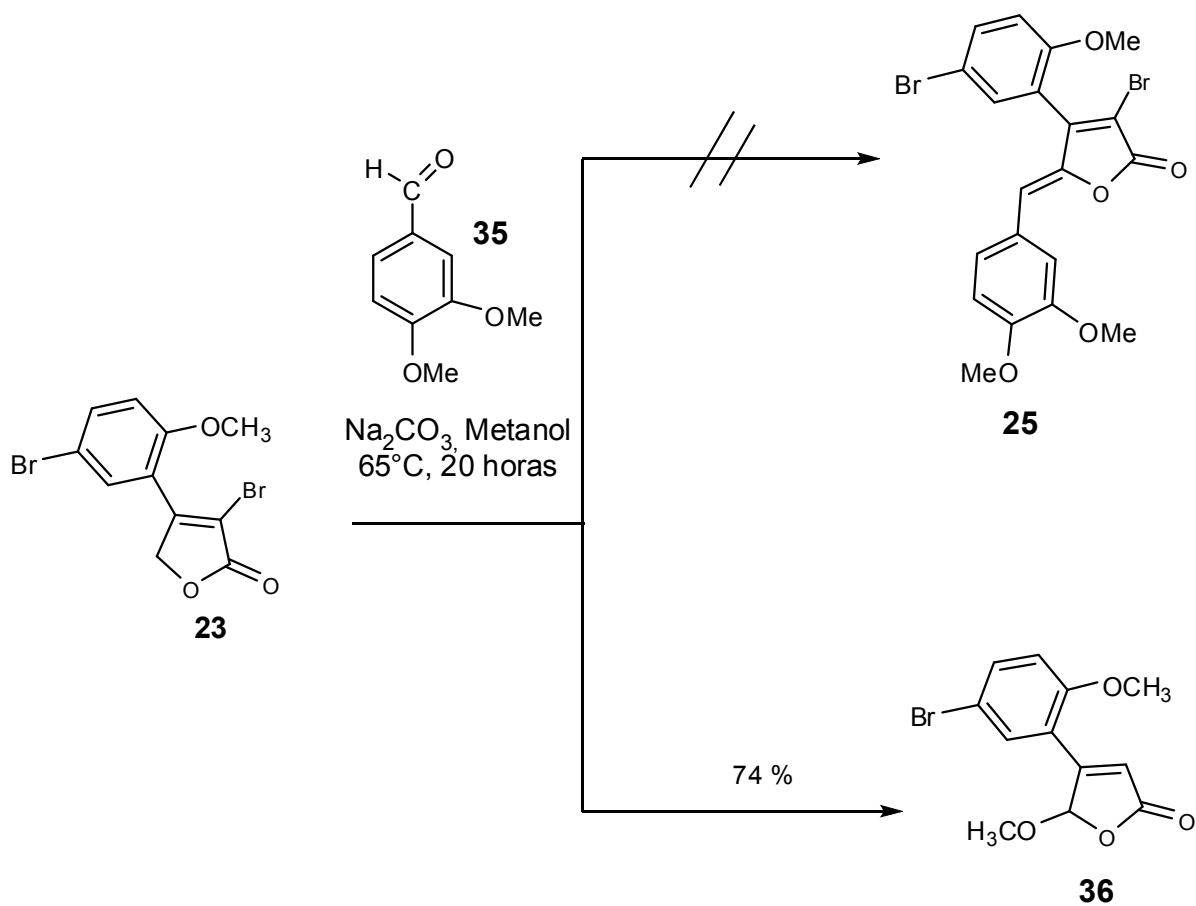
Possivelmente, a não formação do composto 5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5H)-ona (33) pode ter ocorrido devido a uma reação de retroadição aldólica, que favorece um equilíbrio entre o produto e o material de partida, retrocedendo ao composto de partida, a furan-2(5H)-ona (37) (Esquema 27) (COSTA et al, 2003).



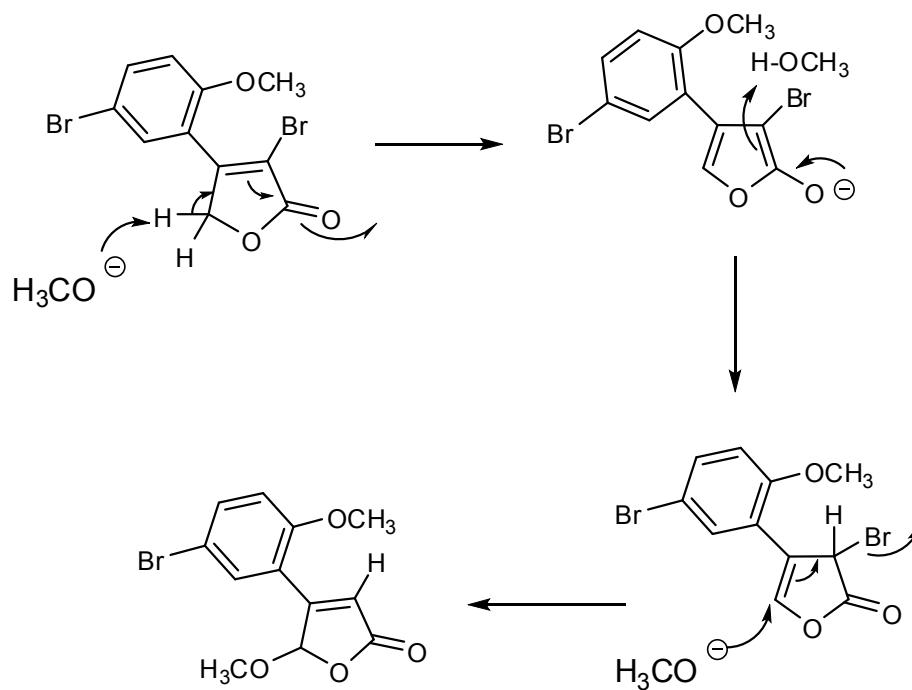
Esquema 27- Reação de adição aldólica e retroadição

3.5.6 Tentativa de síntese da 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3,4-di metoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (25)

Para observar a influência de outro substituinte na posição 4 da lactona, partiu-se do composto (**23**), que foi obtido no acoplamento de C-C de Suzuki-Miyaura. O composto resultante da reação foi analisado por IV, CG-EM, RMN (incluindo experimentos de HSQC), de modo que se observou a formação do composto 4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-metoxifuran-2(5H)-ona (**36**), com 74,0% de rendimento (Esquema 28). Uma proposta mecanística para a formação do composto (**36**), é apresentada no Esquema 29.



Esquema 28 - Tentativa de síntese do composto **25** e obtenção do composto **36**.



Esquema 29 - Proposta mecanística para a formação do composto **36**.

No espectro de massas, podemos observar a presença do pico em $m/z = 300$ $[M+2]^+$ e 298 ($[M]^+$), que confirma a presença de um átomo de bromo na molécula (Figura 45).

No espectro de RMN de ^1H (Figura 46), observamos o acoplamento de H-4' com o H-6' e H-3', assim como o acoplamento alílico de H-5 com H-3.

No espectro de ^{13}C (Figura 47), podemos verificar a presença de sinais de todos os carbonos presentes na molécula.

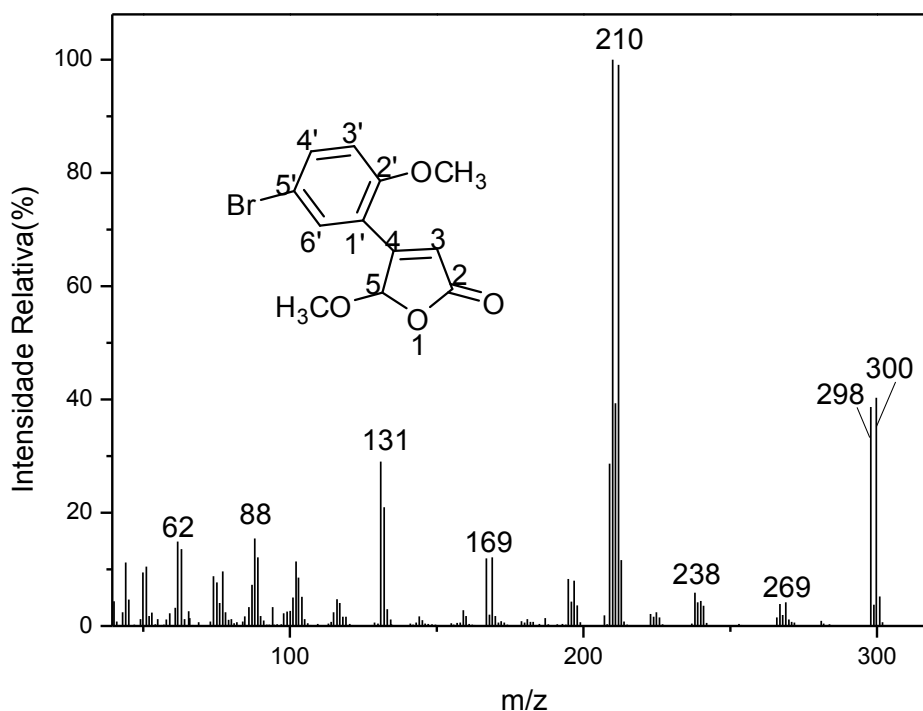


Figura 43 - Espectro de massas do composto **36**.

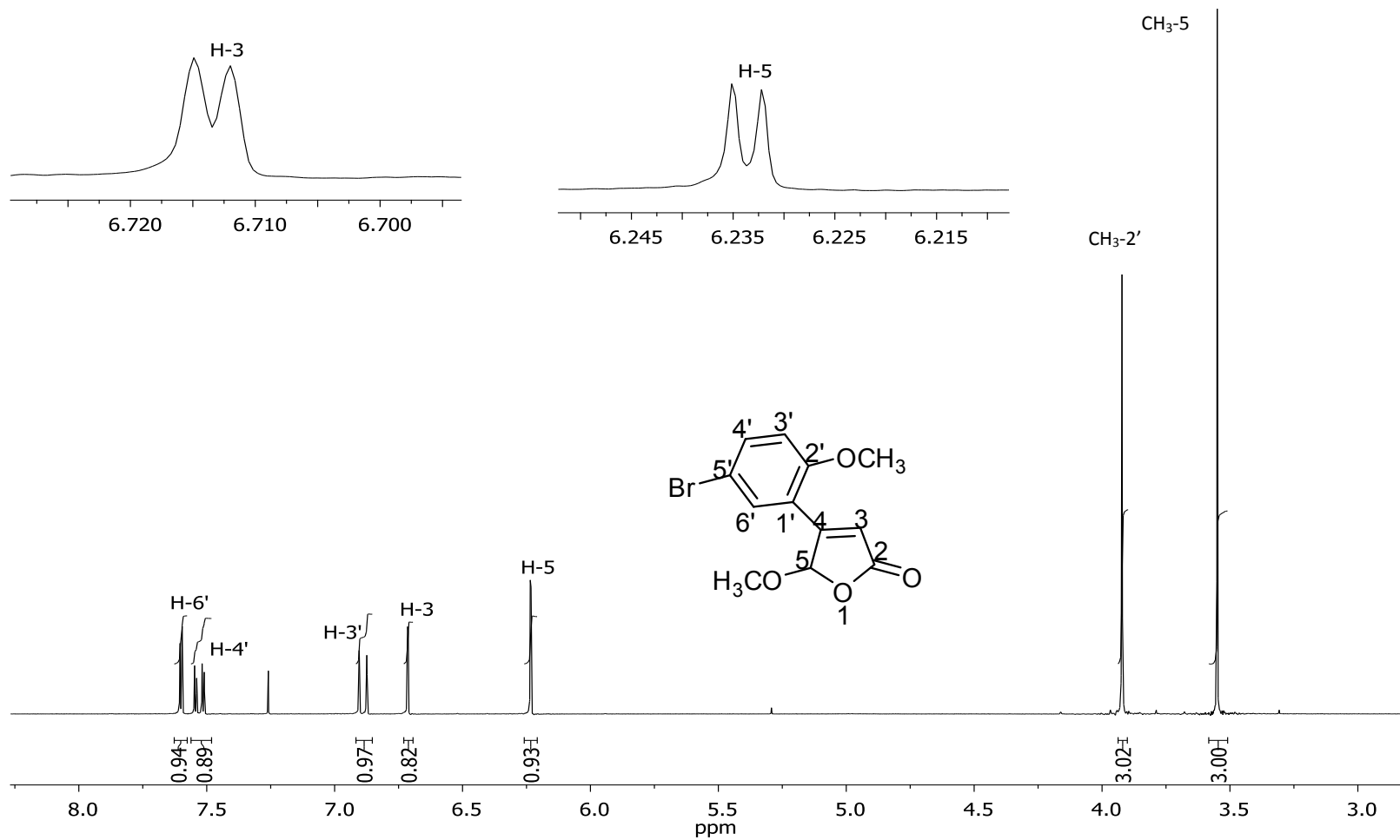


Figura 44 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **36**.

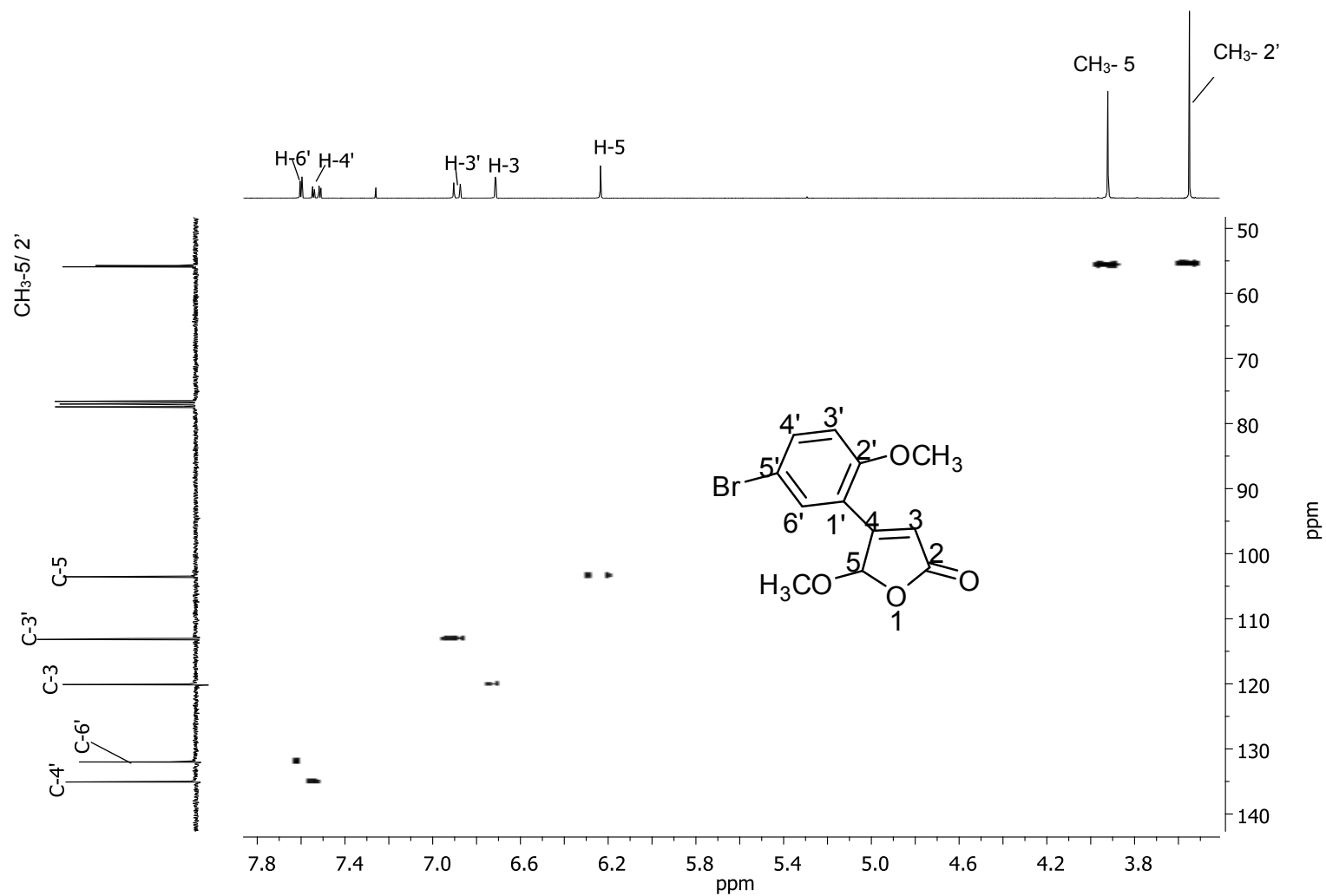


Figura 45 - Espectro HSQC do composto **36**.

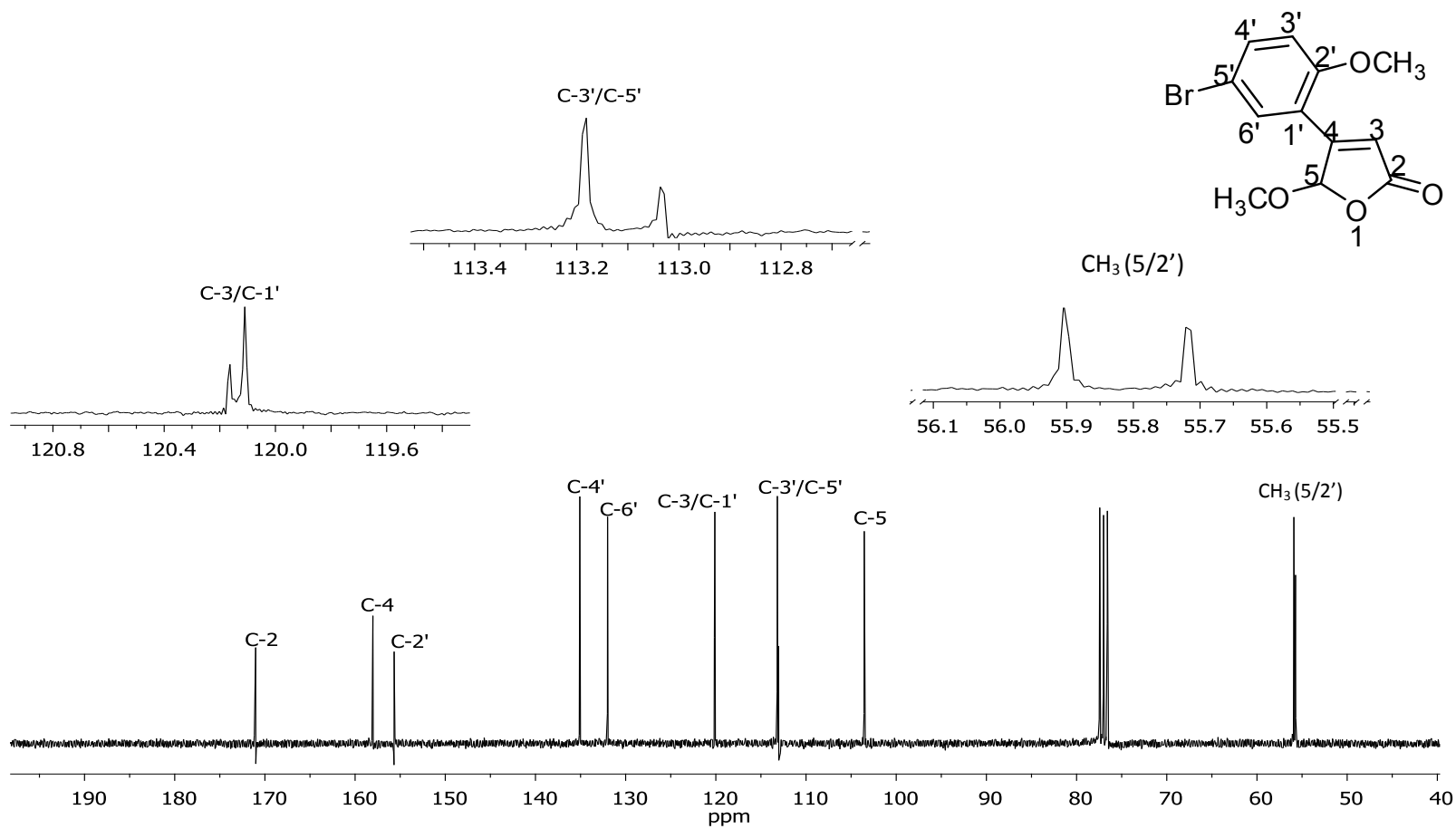


Figura 46 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **36**.

3.5.7 Resultados da inibição de Urease para os compostos 25 e 26.

Os dois compostos sintetizados (**25**) e (**26**) como mistura de *E/Z* foram testados quanto à atividade inibitória da urease em uma concentração final de 500 μM , em meio à reação contendo uréia na concentração de 10 μM . A atividade da urease foi determinada pela medida da produção de amônia, utilizando o método de indofenol (WEATHERBURN, 1967). Os dados obtidos nesses ensaios são mostrados na Figura 49.

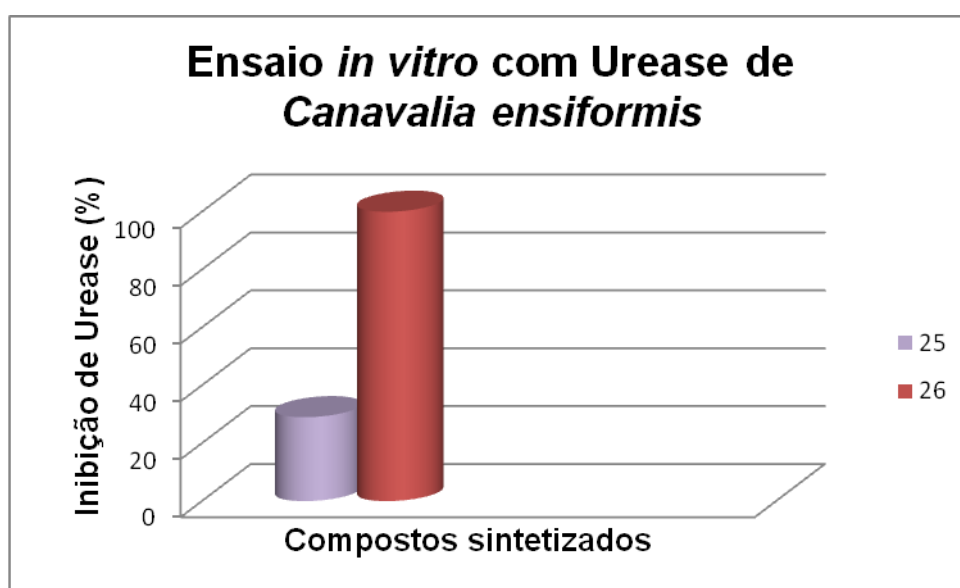


Figura 47 - Resultados de ensaio *in vitro* com Urease de *Canavalia ensiformes*.

O composto (**26**) foi considerado promissor por inibir a urease em 100%, comparado com o composto (**25**), que apresentou uma baixa inibição, de apenas 29%. Possivelmente, a presença de grupos hidroxila fenólicos (OH) na molécula (**26**) foi o que permitiu uma alta inibição da enzima, ao incrementar seu caráter polar em comparação com o composto (**25**).

Posteriormente, a substância (**26**) foi submetida ao teste de determinação da concentração mínima necessária para inibir a atividade da urease em 50%, tendo sido encontrado o valor de IC_{50} 116,1 mM.

4 CONCLUSÕES

A reação de alquilidenação demonstrou ser útil nas condições de trabalho para a obtenção de produtos de adição aldólica (**30**) e (**32**) (40% de rendimento), porém recomenda-se explorar ainda mais esta reação a fim de melhorar seus rendimentos e obter os compostos desejados com a dupla exocíclica na posição 5.

Os compostos (**25**) e (**26**) foram avaliados como inibidores de urease nas concentrações de 500 μM . Sendo o composto (**26**) o mais ativo, causando inibição de 100% e com IC_{50} de 116,1 μM , presume-se que essa alta atividade esteja associada à presença dos grupos OH, conferindo maior polaridade à molécula.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMO, C.; AMATORE, C.; CIOFINI, I.; JUTAND, A.; LAKMINI, H. Mechanism of the Palladium-Catalyzed Homocoupling of Arylboronic Acids: Key involvement of a Palladium Peroxo Complex. **Journal American Chemical Society**, v. 21, p 6829-6836, 2006.

BALASUBRAMANIAN, A.; PONNURAJ, K. Crystal structure of the first plant urease from jack bean: 83 years of journey from its first crystal to molecular structure. **Journal Molecular Biology**, v. 400, p.274-283, 2010.

BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; DEMUNER, A. J.; PINHEIRO, P. F.; VAREJÃO, J.O.S.; MONTANARI, R. M. Síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de furanonas halogenadas e de compostos análogos aos nostoclídeos. **Química Nova**, v. 33, p. 2020-2026, 2010c.

BARBOSA, L. C. A.; TEIXEIRA, R. R.; PINHEIRO, P. F.; MALTHA, C. R. A.; DEMUNER, A. J. Estratégias para a síntese de γ -alquilidenobutenolídeos. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1163-1174, 2010a.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2007.

BARBOSA, L. C. A. **Introdução à Química Orgânica**. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010b.

BARDONNET, P. L.; FAIVRE, V.; BOULLANGER, P.; PIFFARETTI, J. C.; FALSON, F. Pre-formulation of liposomes against *Helicobacter pylori*: Characterization and interaction with the bacteria. **European Journal of Pharma And Biopharma**, v 69, p.908-922, 2008.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. DA.S. fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BELLINA, F.; ANSELMINI, C.; VIEL, S.; MANNINA, L.; ROSSI, R. Selective synthesis of (Z)-4-aryl-5-[1-(aryl)methylidene]-3-bromo-2(5H)-furanones. **Tetrahedron**, v. 57, n. 50, p. 9997-10007, 2001.

BELLINA, F.; CARPITA, A.; ROSSI, R. Palladium catalysts for the Suzuki cross-coupling reaction: an overview of recent advances. **Synthesis**, v. 15, p. 2419-2440, 2004.

BELLINA, F.; ROSSI, R. An efficient and inexpensive multigram synthesis of 3,4-dibromo- and 3,4-dichlorofuran-2(5H)-one. **Synthesis**, n. 12, p.1887-1889, 2007.

BELLINA, F.; ANSELMINI, C.; MARTINA, F.; ROSSI, R. Mucochloric Acid: A useful synthon for the selective synthesis of 4- aryl-3-chloro-2(5H)- furanonas, (Z)- 4 – aryl-5-[1-(aryl)methylidene] -3-chloro-2(5H)- furanones and 3,4- diaryl- 2(5H)- furanones. **European Journal Chemical**, p. 2290- 2302, 2003.

BERLICKI, L. BOCHNO, M.; GRABOWIECKA, A.; BIALAS, A.; KOSIKOWSKA, P.; KAFARSKI, P. N-substituted aminomethanephosphonic and aminomethane-p-methylphosphinic acids as inhibitors of ureases. v. 42, p. 1937-1945, 2012.

BORTOLI, M.; KUNZ, A.; SOARES, H. M.; FILHO, P. B.; DA COSTA, R. H. R. Emissão de óxido nitroso nos processos de remoção biológica de nitrogênio de efluentes. **Engenharia Sanitaria Ambiental**, v. 17, n. 1, p. 1-6, 2012.

BOUKOUVALAS, J.; BELTRAN, P. P.; LACHANCE, N.; COTE, S.; MALTAIS, F.; POULIOT, M. A. A new, highly stereoselective synthesis of β -unsubstituted (Z)- γ -alkylidene-butenolides using bromine as a removable stereocontrol element. **Synlett**, 219, 2007.

BREITENBACH, J. M.; HAUSINGER R. P. Partial purification and inhibition by boric acid and boronic acids. **Biochemical**, v. 250, p. 917-920, 1988.

BRUCE, Y. P. **Organic chemistry**. 4 ed. Pearson Prentice Hall, p. 46, 2007.

CARVALHO, A. M; SOUZA, L. L. P; ALVES, B. J. R; MIRANDA, N. L. **Aplicações de diferentes fertilizantes nitrogenados**: emissões de óxido nitroso em latos solo sob feijão e milho. 2008.

CIVARDI, E. A; NETO, A. N. S; RAGAGNIN, V. A; GODOY, E. R; BROD, E. Uréia de liberação lenta aplicada superficialmente e uréia comum incorporada ao solo no rendimento do milho. **Pesquisa Agropecuaria, Tropical**, v. 41, n. 1, p. 52-59, 2011.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, P., VASCONCELLOS, M. **Substâncias carbonílicas e derivados**. Bookman, p. 157, 2003.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic Chemistry**. New York: Oxford University Press, p. 140-141, 2001.

CORREIA, C. R. D. O premio nobel de química de 2010, acoplamentos cruzados e o BMOS-14. **Revista Processos Químicos**. 2011.

CONTIN, T.L.M. Uréia tratada com o inibidor da urease nbpt na adubação de cana-de-açúcar colhida sem despalha a fogo. 2007. Dissertação (Mestrado em agricultura tropical e subtropical)-Instituto Agronômico de Campinas, Campinas SP. 2007.

COELHO, F.E.; ANTÔNIO, M.A.; CRUZ, L.J.; DA SILVA, L.F.S. Fontes e frequências de aplicação de nitrogênio via água de irrigação no mamoeiro. **Embrapa Mandioca e fruticultura tropical**. N 111, 2004.

CUNHA, S.; OLIVEIRA, C. C. Aplicações sintéticas do ácido mucobromico e da 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona. **Química Nova**, v. 34, n. 8, p. 1425-1438, 2011.

DIXON, N. E.; GAZZOLA, C.; BLAKELEY, R. L.; ZERNER, B. Jack bean urease (EC 3.5.1.5). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel. **Journal American Chemistry**, v. 97, p. 4131-4133, 1975.

DOMINGUEZ, M. J.; SANMARTÍN, C.; FONT, M.; PALOP, J. A.; SAN FRANCISCO, S.; URRUTIA, O.; HOUDUSSE, F.; MINA, J. M. G. Design, synthesis and biological evaluation of phosphoramidate derivatives as urease inhibitors. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 3721-3731, 2008.

EL-TOMBARY, A. A.; ABDEL-GHANY, Y. S.; BELAL, A. S. F.; EL-DINE, S. A. S.; SOLIMAN, F. S. G. Synthesis of some substituted furan-2(5H)-ones and derived

quinoxalinones as potential anti-microbial and anti-cancer agents. **Medicinal Chemistry Research**, v. 20, n. 7, p. 865-876, 2011.

FAHEY, J.W.; STEPHENSON, K.K.; WADE, K.L.; TALALAY, P. Urease from *Helicobacter pylori* is inactivated by sulforaphane and other isothiocyanates. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 435, p. 1-7, 2013.

FARRUGIA, M.A.; MACOMBER, L.; HAUSINGER, R.P. Biosynthesis of the Urease Metallocenter. **Journal Biological Chemistry**, v. 288, n. 19, p. 13178-13185, 2013.

FLEMATTI, G. R.; GHISALBERTI, E. L.; DIXON, K. W.; TRENGOVE, R. D. A compound from smoke that promotes seed germination. **Science**, v. 305, n. 5686, p. 977, 2004.

GANS, W.; HERBST, F.; MERBACH, W. Nitrogen balance in the system plant – soil after urea fertilization combined with urease inhibitors. *Plant soil environment*, v. 52, p.36-38, 2006.

GIOACCHINI, P.; NASTRI, A.; MARZADORI, C.; GIOVANNINI, C.; ANTISARI, L. V.; GESSA, C. Influence of urease and nitrification inhibitors on N losses from soils fertilized with urea. **Biology and Fertility of Soils**, v. 36, p. 129-135, 2002.

GLASNOV, T. N.; KAPPE, C. O. Toward a Continuous-flow synthesis of boscalid. **Adv. Synthetic Catalyzt**, v. 352, p. 3089-3097, 2010.

HOSOE, T.; LIZUKA, T.; KOMAI, S.; WAKANA, D.; ITABASHI, T.; NOZAWA, K.; FUKUSHIMA, K.; KAWAI, K. 4-Benzyl-3-phenyl-5H-furan-2-one, a vasodilator isolated from *Malbranchea filamentosa* IFM 41300. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2776-2779, 2005.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA. **Acesso a informação:** câncer. Disponível: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2013/inca_ministerio_saude_apresentam_estimativas_cancer_2014>. Acesso em: 3/3/2014.

IWAI, Y.; GLIGORICH, K. M.; SIGMAN, M. Aerobic alcohol oxidation coupled to palladium-catalyzed alkene hydroarylation with boronic esters. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 47(17), p. 3219–3222, 2008.

KOTHA, S.; LAHIRI, K.; KASHINATH, D. Recent applications of the Suzuki–Miyaura cross-coupling reaction in organic synthesis. **Tetrahedron**, v. 58, p.9633-9695, 2002.

KOTORA, M.; NEGISHI, E. Efficient and diastereoselective synthesis of (+)-goniobutenolide a via palladium- catalyzed ene-yne cross coupling- lactonization cascade. **Tetrahedron Letters**, v.37, p. 9041-9042, 1996.

LIGHT, M. E.; DAWS, M. I.; STADEN, J. V. Smoke-derived butenolide: towards understanding its biological effects. **South African Journal of Botany**, v. 75, n. 1, p. 1-7, 2009.

LIU, G-Z.; GUAN, Y-B.; WU, Y.; LIU, H-M. Synthesis and Biological Evaluation of Novel γ -alkylidene Butenolides. **Journal of Chemistry**, article 926723, 2013.

LENNOX, A.J.J; JONES-L, G.C. Selection of boron reagentes for Suzuki-miyaura coupling. **Chemical Society Reviews**, v. 43, p. 412, 2014.

LOPES, D.; NUNES, C.; MARTINS, M. C. L.; SARMENTO, B.; REIS, S. Eradication of Helicobacter pylori: past, presente and future. **Journal of control release**, v. 189, p. 169-186, 2014.

MIAO, S.; ANDERSON, R. J. Rubrolides of the Colonial Tunicate rubra. **Journal Organic Chemistry**, v. 56, p. 6275-6280, 1991.

MIYAURA, N; YANAGI, T; SUZUKI, A. The Palladium-Catalyzed cross-coupling reaction of phenylboronic acid with haloarenes in the Presence of Bases. **Synthetic Communications**, v. 11(7), p. 513-519, 1981.

MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. **Chemical Reviews**, v. 95, p. 2457-2483, 1995.

OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. C. Aspectos agronômicos da uréia tratada como inibidor de urease. **Ambiencia Guarapuava**, v. 8 ,n. 2, p. 403-414, 2012.

OLIVEIRA, F. M.; BARBOSA, L. C.; ISMAIL, F.M. The diverse pharmacology and medicinal chemistry of phosphoramidates- a review. **Royal Society of Chemistry**, v. 4,p. 18998, 2014.

PARASHAR, R. K. **Reaction mechanisms in organic synthesis**. Willey, p. 65, 2009.

PAVIA, D. L; LAMPMAN, G. M; KRIZ, G. S; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 4 ed. norte-americana. Washington: CENGAGE, p. 421, 2010.

PEARCE, A. N.; CHIA, E. W.; BERRIDGE, M. V.; MAAS, E. W.; PAGE, M. J.; WEBB, V. L.; HARPER, J. L.; COPP, B. R. *E/Z*-Rubrolide O, an anti-inflammatory halogenated furanone from the New Zealand ascidian *Synoicum* n. sp. **Journal Natural Products**, v. 70, n. 1, p. 111-113, 2007.

PEREIRA, U. A.; BARBOSA, L. C.; MALTHA, C. R.; DEMUNER, A. J.; MASOOD, M. A.; PIMENTA, A. L. Inhibition of enterococcus faecalis biofilm formation by highly active lactones and lactams analogues of rubrolides. **European Journal Medicinal Chemistry**, v. 82, p. 127-138, 2014.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**. 5. ed. Bodmin: Butterworth-Heinemann Ltd, p. 609, 2003.

PORRAS, C.; NODORA, J.; SEXTON, R.; FERRECCIO, C.; JIMENEZ, S.; DOMINGUEZ, R. L.; COOK, P.; ANDERSON, G.; MORGAN, D. R.; BAKER, L. H.; GREENBERG, E. R.; HERRERO, R. Epidemiology of Helicobacter pylori infection in six Latin American countries (SWOG Trial S0701). **Cancer Causes Control**, v. 24, p. 209-215, 2013.

RADEL, R. J; CRENSHAW, MICHAEL.D. Thyipyridine-n-oxides,thiopyridines and thiopyrimides as ureases inhibitors. **United States Patent**. n. 4, p. 932-991, 1990.

RAIO, Y. S. Recent Advances in the Chemistry of Unsaturate Lactones. **Chemical Reviews**, v. 76, p. 625, 1975.

SARMA, K.D.; ZHANG, J.; CURRAN, T.T. Novel Synthons from mucochloric acid: The first use of α , β - dichloro- γ -butenolides and γ -butyrolactams for Direct Vinylogous aldol addition. **Journal Organic Chemistry**, v.72, n. 9, p.3311- 3318, 2007.

SILVA, C, R; SOUZA, Z, M. **Eficiência do uso de nutrientes em solos ácidos: manejo de nutrientes e uso pelas plantas.** Disponível em: <<http://www.agr.feis.unesp.br/acido.htm>>. Acesso em: 29 abr. 2014.

SMIT, J, A. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. **Journal of Applied Phycology**, 16njl, pp. 245–262, 2004.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica 1.** 8 ed. LTC Editora, p. 3, 2005.

SPADOTTO, C. A. Uso de Herbicidas no Brasil. comitê de meio Ambiente. **Sociedade Brasileira de Ciência das Plantas Daninhas.** 2002. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/herbicidas>> Acesso em: 12 out. 2002.

SUMMER, J. B. The isolation and crystallization of the enzyme urease. **Journal Biological Chemistry**, v. 69, p. 435-44, 1926.

TANG, W; CAPACCI, A. G; WEI, X; LI, W; WHITE, A; PATEL, N. D; SAVOIE, J; GAO, J. J; RODRIGUEZ, S; QU, B.; HADDAD, N.; LU, B. Z.; KRISHNAMURTHY, D.; YEE, N. K.; SENANAYAKE, C. H. A general and special catalyst for Suzuki-miyaura coupling processes. **Angew Chemical**, v. 49, p. 1-6, 2010.

TEIXEIRA, R. R.; BARBOSA, L. C. A.; VELOSO, D. P. Reações de acoplamento cruzado de organosilanos catalisadas por paládio: aspectos históricos, sintéticos e mecanísticos. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1704-1720, 2007.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. Laboratório de Proteínas Tóxicas da UFRGS. **Canatoxina.** Disponível em : <<http://www.ufrgs.br/laprotox/o-que-fazemos/linhas-de-pesquisa/canatoxina>>. Acesso em: 25 jan. 2014.

WANG, X-J.; XU, H-W.; GUO, L-L.; ZHENG, J-X.; XU, B.; GUO, X.; ZHENG, C-X.; LIU, H-M. Synthesis and in vitro antitumor activity of new butenolide-containing dithiocarbamates. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letter**, v.21, p.3074-3077, 2011.

WEBER, V.; COUDERT, P.; RUBAT, C.; DUROUX, E.; VALLÉE-GOYET, D.; GARDETTE, D.; BRIA, M.; ALBUISSON, E.; LEAL, F.; GRAMAIN, J.; COUQUELET, J.; MADESCLAIRE, M. Novel 4,5-diaryl-3-hydroxy-2(5H)-furanones as anti-oxidants and anti-inflammatory agents. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 6, p. 1647-1658, 2002.

WEATHERBURN, M. W. Phenol-Hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytic Chemistry**, v. 39, n. 8, p. 971, 1967.

WEIHONG, W.; HIYOUNG, K.; SANG-J; BOON, J.-R.; HEONGJOONG, K. Antibacterial butenolides fom the Korean Tunicate Pseudodistoma antinboja. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 2049-2054, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (OMS). **Section of cancer information.** Disponível em: <http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx?cancer=stomach>. Acesso em: 03 mar. 2014.

XU, H-W.; WANG, J-F.; LIU, G-Z.; HONG, G-F.; LIU, H-M. Facile synthesis of γ -alkylidenebutenolides. **Organic Biomolecular Chemistry**, v. 5, n. 8, p. 1247-1250, 2007.

XU, H-W.; LIU, G-Z.; DAI, G-F.; WU, C-L.; Modification of 15-alkylidene andrographolide derivatives as α -glucosidase inhibitor. **Drug Discovery**, v. 1, p. 73-77, 2007.

ZAMBUDIO, S.; COLETTI, T. Embrapa e líder mundial na produção de fertilizantes assinam convenio. **Gestão no Campo**, 2012. Disponível em: <<http://www.gestaonocampo.com.br/biblioteca/embrapa-e-lider-mundial-na-producao-de-fertilizantes-assinam-convenio>>. Acesso em: 28 abr. 2014.

ZHANG, J.; SARMA, K, D.; CURRAM, T.T.; BELMONT, D. T.; DAVIDSON, J. G. Efficient Synthesis of Novel γ -Substituted γ -Butenolides by Lewis Acid Catalyzed Addition of Metal Enolates of Active Methylene Compounds to Mucohalic Acids. **Journal of Organic Chemistry**, v.70, p.5890-5895, 2005.

ZUO, I.; YAO, S.; WANG, W.; DUAN, W. An efficient method for demethylation of aryl methyl ethers. **Tetrahedron Letters**, v. 49, p. 4054-4056, 2008.