

FRANCISCO FREDERICO PELINSON ARANTES

**SÍNTESE, CITOTOXICIDADE E ESTUDO DA RELAÇÃO ESTRUTURA-
ATIVIDADE DE NOVAS LACTONAS SESQUITERPÊNICAS
DERIVADAS DA α -SANTONINA**

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

VIÇOSA

MINAS GERAIS – BRASIL

2010

FRANCISCO FREDERICO PELINSON ARANTES

**SÍNTESE, CITOTOXICIDADE E ESTUDO DA RELAÇÃO
ESTRUTURA-ATIVIDADE DE NOVAS LACTONAS
SESQUITERPÊNICAS DERIVADAS DA α -SANTONINA**

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

APROVADA: 17 de dezembro de 2010.

Prof^a. Márcia Paranho Veloso

Prof. Teodorico de Castro Ramalho

Prof^a. Célia Regina Álvares Maltha
(Co-orientadora)

Prof. Antônio Jacinto Demuner
(Co-orientador)

Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a oportunidade de chegar aonde cheguei e por ter sempre guiado meus passos.

A minha família, pelo apoio, carinho e dedicação em todos os momentos.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Química, pela oportunidade concedida.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa pela orientação, amizade e pelos conselhos que me permitiram amadurecer profissionalmente.

À CAPES pela bolsa de estudo concedida.

Aos professores Antônio Jacinto Demuner, Célia Regina Álvares e Elson Santiago de Alvarenga pela co-orientação e atenção.

Ao técnico do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), José Luiz, pela assistência sempre que solicitada.

Aos colegas e amigos do LASA, Adalberto, Cléber, Eduardo, Fabrício, Izabel, Jodieh, Katalin, Luciana, Montanari Raphael, Rubens e Ulisses pela agradável convivência e ajuda no que foi necessário durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas de república Alberto, Vinícius e Samuel pela amizade e convívio.

Aos amigos de Silveirânia pelo companheirismo.

À Josélia, minha noiva, pela compreensão e por estar sempre ao meu lado nas horas mais difíceis.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Francisco Frederico Pelinson Arantes, filho de Francisco Waldonier Arantes e Maria Imaculada Pelinson Arantes, nasceu em Silveirânia, Minas Gerais, em 04 de abril de 1981.

Em 2000, ingressou no Curso de Licenciatura e Bacharelado em Química na Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se em julho de 2004.

Durante este período, foi bolsista por um ano do programa de Bolsas da FAPEMIG, onde desenvolveu pesquisas na área de Síntese Orgânica.

Em fevereiro de 2005, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química Orgânica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, MG, tornando-se mestre em fevereiro de 2007.

Em março de 2007, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química Orgânica, em nível de doutorado, na Universidade Federal de Viçosa, MG, submetendo-se à defesa da tese em dezembro de 2010.

CONTEÚDO

Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	vii
Resumo.....	viii
Abstract.....	x
Capítulo 1: Síntese e Citotoxicidade de Lactonas Sesquiterpênicas Derivadas da α -Santonina	1
1. Introdução	1
2. Material e Métodos.....	4
2.1. Técnicas experimentais	4
2.1.1. Cromatografia em camada delgada.....	4
2.1.2. Separações cromatográficas em coluna	4
2.1.3. Temperatura de fusão.....	4
2.1.4. Técnicas espectroscópicas.....	5
2.1.4.1. Infravermelho.....	5
2.1.4.2. Ressonância magnética nuclear	5
2.1.4.3. Espectrometria de massas	5
2.2. Purificação dos solventes	5
2.2.1. Purificação do tetrahidrofurano.....	5
2.2.2. Purificação do ácido acético.....	6
2.2.3. Purificação da acetonitrila.....	6
2.2.4. Purificação da diisopropilamina.....	6
2.3. Titulação do <i>n</i> -butilítio	7
2.4. Procedimentos sintéticos.....	7
2.4.1. Síntese fotoquímica da lumissantonina [8].....	7
2.4.2. Síntese do 3-oxo-7 α H,6 β H,11-(fenilselenil)-eudesma-1,4-dien-6,12-olídeo [9].....	9

2.4.3. Síntese do 3-oxo-7 α H,6 β H-eudesma-1,4,11-trien-6,12-olídeo [10].	10
2.4.4. Métodos de síntese da 11,13-desidrolumissantonina [12].	12
2.4.5. Síntese do 10 α -acetoxi-3-oxo-1,7 α H,6,11 β H-guaia-4-en-6,12-olídeo (Lactona O-acetilisofotossantônica) [14].	17
2.4.6. Síntese do 10 α -acetoxi-3-oxo-1,7 α H,6,11 β H,2-fenilselenil-guaia-4-en-6,12-olídeo [15].	19
2.4.7. Síntese do dímero [16].	21
2.4.8. Síntese de derivados do 3-oxo-7 α H,6 β H-eudesma-1,4,11-trien-6,12-olídeo [10].	23
2.4.9. Síntese da mistura de isômeros 2-oxo-3 α ,10 α -peroxi-7 α H,6 β H-eudesma-1,4,11-dien-6,12-olídeo [24] e 2-oxo-3 β ,10 β -peroxi-7 α H,6 β H-eudesma-1,4,11-dien-6,12-olídeo [25].	32
2.4.10. Síntese fotoquímica do 10 α -hidroxi-3-oxo-1,7 α H,6,11 β H-guaia-4-en-6,12-olídeo [26] e ácido isofotossantônico [27].	34
2.4.11. Síntese do ácido-9-hidroperóxi-isofotossantônico [28].	36
2.5. Ensaio contra células tumorais.	38
2.6. Ensaio contra células normais (PBMC).	39
3. Resultados e Discussão	
3.1. Síntese de compostos contendo o grupo α -metileno- γ -butirolactona.	42
3.2. Fotoadição de acetaldeído ao grupo α -metileno- γ -butirolactona.	82
3.3. Reação de fotooxigenação.	96
3.4. Ensaio de citotoxicidade.	107
4. Conclusões.	111

Capítulo 2: Estudo da relação estrutura-atividade (SAR) de lactonas
sesquiterpênicas derivadas da α -santonina.

1. Introdução.....	112
2. Material e Métodos.....	114
3. Resultados e Discussão.....	118
4. Conclusões.....	122
Referências Bibliográficas.....	123
Anexo 1.....	129

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CCD	Cromatografia em camada delgada
COSY	Correlated Spectroscopy
CG/EM	Cromatografia gasosa/Espectrometria de massas
Dq	Duplo quarteto
DIPA	Diisopropilamina
HETCOR	Heteronuclear Correlation
Hg-AP	Lâmpada de mercúrio de alta pressão
Hg-BP	Lâmpada de mercúrio de baixa pressão
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
Dt	Duplo tripleto
m/z	Relação massa/carga dos fragmentos do EM
H7e	Hidrogênio 7 na posição equatorial
H7a	Hidrogênio 7 na posição axial
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento escalar
M	Multiplete
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
RB	Reator de Borossilicato
R_f	Fator de retenção
RQ	Reator de Quartzo
T_f	Temperatura de fusão
δ	Deslocamento químico

RESUMO

ARANTES, Francisco Frederico Pelinson, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2010. **Síntese, citotoxicidade e estudo da relação estrutura-atividade de novas lactonas sesquiterpênicas derivadas da α -santonina.** Orientador: Luiz Claudio de Almeida Barbosa. Coorientadores: Célia Regina Álvares Maltha e Antônio Jacinto Demuner.

Levando em consideração o amplo espectro de atividades biológicas apresentado pelas lactonas sesquiterpênicas, os poucos estudos sobre a correlação estrutura-atividade biológica, bem como a limitada disponibilidade desses compostos na natureza, esse trabalho tem como objetivo a síntese, a avaliação da citotoxicidade e o estudo da relação estrutura-atividade de novas lactonas sesquiterpênicas derivadas da α -santonina. As investigações realizadas resultaram na obtenção de 21 compostos, com rendimentos variando de 4,5 a 100%. Esses compostos foram preparados por meio de diferentes tipos de reações (reações fotoquímicas, como por exemplo, fotooxigenação e fotoadição e reações de oxidação). As reações fotoquímicas foram realizadas sob diversas condições, variando-se o solvente, a fonte de radiação e o tipo de reator. A citotoxicidade dos compostos foi avaliada contra as linhagens celulares tumorais HL-60 (leucemia), SF-295 (sistema nervoso central), HCT-8 (cólon), MDA-MB-435 (melanoma), UACC-257 (melanoma), A549 (pulmão), OVACAR-8 (ovário), A704 (rins), e PC3 (próstata). Os seis compostos, que possuem o grupo α -metileno- γ -butirolactona em sua estrutura, exibiram citotoxicidade relativamente elevada contra as linhagens tumorais testadas, com valores de IC_{50} na faixa de 0,36 a 16,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Adição de um grupo endoperóxido ao composto 11,13-desidromazdassantonina, dando uma mistura de isômeros, aumentou significativamente a potência contra as linhagens tumorais testadas, com valores de IC_{50} de 1,45 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (HL-60), 2,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (SF-295), 4,35 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (HCT-8) and 3,26 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (MDA-MB-435). Esses resultados indicam que o grupo endoperóxido e o grupo α -metileno- γ -butirolactona têm importantes papéis no mecanismo pelo qual as lactonas sesquiterpênicas exercem sua atividade citotóxica. Visando aprofundar nosso conhecimento sobre a relação estrutura-atividade de lactonas

sesquiterpênicas, foi realizado um estudo quântico e quimiométrico de lactonas sesquiterpênicas com citotoxicidade contra células tumorais. O método semi-empírico PM6 foi empregado para calcular um conjunto de descritores moleculares de 20 lactonas sesquiterpênicas com citotoxicidade contra células tumorais (HL-60). A Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) foram utilizadas para se obter possíveis relações entre os descritores calculados e a citotoxicidade das lactonas. Quatro descritores foram identificados como responsáveis pela separação entre compostos ativos e inativos: E_{HOMO} (energia do orbital molecular de mais alta energia); Q11 (carga atômica sobre o carbono C11); Q12 (carga atômica sobre o carbono C12) e Q13 (carga atômica sobre o carbono C13). Esses resultados reforçaram a importância do grupo α -metileno- γ -butirolactona para a citotoxicidade de lactonas sesquiterpênicas.

ABSTRACT

ARANTES, Francisco Frederico Pelinson, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2010. **Synthesis, cytotoxicity and structure-activity relationship study of new sesquiterpene lactones derived from α -Santonin.** Adviser: Luiz Claudio de Almeida Barbosa. Co-advisers: Célia Regina Álvares Maltha and Antônio Jacinto Demuner.

Considering the wide spectrum of biological activities presented by sesquiterpene lactones, the few studies about the correlation structure-biological activity, as well as the limited availability of these compounds in nature, this work aims the synthesis, cytotoxicity and the study of structure-activity relationship of new sesquiterpene lactones derived from α -Santonin. The investigations resulted in the development of 21 compounds, with yields ranging from 4.5 to 100%. These compounds were prepared using different types of reactions (photochemical reactions, such as photooxygenation and photoaddition and oxidation reactions). The photochemical reactions were performed under various conditions, varying the solvent, the radiation source and type of reactor. The cytotoxicity of the compounds was tested against tumor cell lines: HL-60 (leukemia), SF-295 (central nervous system), HCT-8 (colon), MDA-MB-435 (melanoma), UACC-257 (melanoma), A549 (lung), OVACAR-8 (ovarian), A704 (renal), and PC3 (prostate) human cancer cell lines. The 6 compounds, which show the α -methylene- γ -butyrolactone group in their structure, exhibited relatively high cytotoxicity against tumor cell lines tested, with IC_{50} values in the range from 0.36 to 16.40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Addition of an endoperoxide group to the compound 11,13-dehydromazdasantonin, giving a mixture of isomers, significantly increased the potency against tumor cell lines tested with IC_{50} values of 1.45 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (HL- 60), 2.54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (SF-295), 4.35 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (HCT-8) and 3.26 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (MDA-MB-435). These results indicate that the endoperoxide group and the group α -methylene- γ -butyrolactone have important roles in the mechanism by which the sesquiterpene lactones exert their cytotoxic activity. In order to deepen our understanding of structure-activity relationship of sesquiterpene lactones, was performed a quantum and chemometric study of sesquiterpene lactones with cytotoxic activity against

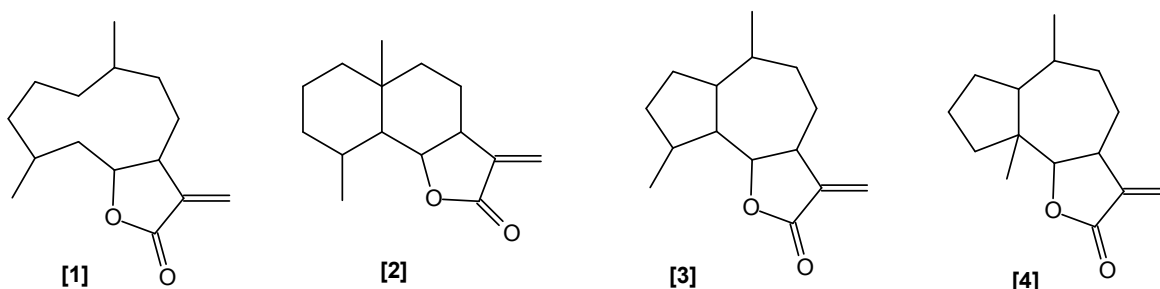
tumor cells. The semi-empirical PM6 method was used to calculate a set of molecular descriptors of 20 sesquiterpene lactones with cytotoxic activity against tumor cells (HL-60). The Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA) were used to obtain possible relationships between the calculated descriptors and cytotoxicity of lactones. Four descriptors were identified as responsible for the separation between active and inactive compounds: E_{HOMO} (highest occupied molecular orbital energy); Q11 (Net atomic charge on C11); Q12 (Net atomic charge on C12) and Q13 (Net atomic charge on C13). These results emphasized the importance of the group α -methylene- γ -butyrolactone to the cytotoxicity of sesquiterpene lactones.

CAPÍTULO 1: Síntese e Citotoxicidade de Lactonas Sesquiterpênicas Derivadas da α -Santonina

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer é um importante problema de saúde que afeta a vida de mais de sete milhões de pessoas no mundo anualmente (ALMEIDA *et al.*, 2005). Como consequência, a busca por novas drogas antitumorais é de fundamental importância nos dias atuais. Dentro desse contexto, os produtos naturais continuam a ser uma rica fonte de novas substâncias biologicamente promissoras (KOEHN *et al.*, 2005). Lactonas sesquiterpênicas são compostos de grande ocorrência na natureza e representam um importante grupo de metabólitos secundários da família *Asteraceae*, conhecidos por suas várias atividades biológicas, tais como, antiinflamatória, fitotóxica, antimicrobiana e citotóxica contra diferentes linhagens tumorais (KUPCHAN *et al.*, 1971; MACÍAS, *et al.*, 1999; MACÍAS, *et al.*, 2006a; BARBOSA, *et al.*, 2004; BARBOSA, *et al.*, 2008).

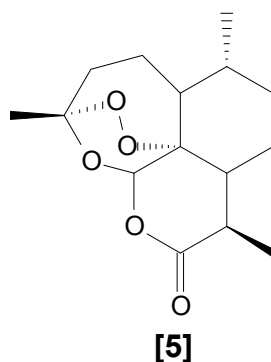
Os principais grupos de lactonas sesquiterpênicas são: germacranolídeos [1], eudesmanolídeos [2], guaianolídeos [3] e pseudoguaianolídeos [4], cujos esqueletos carbônicos estão apresentados abaixo.



Os compostos pertencentes aos guaianolídeos [3] representam um dos mais amplos grupos de lactonas sesquiterpênicas com cerca de quinhentos compostos naturais conhecidos. Devido ao amplo espectro de suas atividades

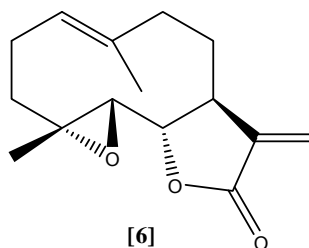
biológicas e sua baixa disponibilidade em fontes naturais, rotas sintéticas para o preparo de guaianólídeos têm sido muito investigadas nos últimos anos (BARGUES *et al.*, 2002).

As atividades biológicas de lactonas sesquiterpênicas estão associadas principalmente à presença do grupo α -metileno- γ -butirolactona, um grupo fortemente eletrofílico, capaz de reagir com nucleófilos, como por exemplo, grupos sulfidril da cisteína, em uma adição de Michael (KUPCHAN *et al.*, 1971; ROZALSKY *et al.*, 2007; MACÍAS *et al.*, 1992). Outro importante fator estrutural relacionado à bioatividade de lactonas sesquiterpênicas é a presença de um grupo endoperóxido, tal como aquele observado na estrutura da artemisinina **[5]**, bem conhecida por sua atividade fitotóxica e antimalárica (DUKE *et al.*, 1987).

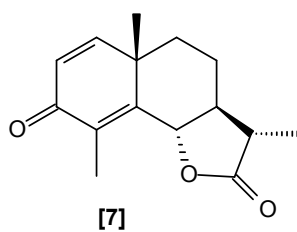


Diferentes dados experimentais indicam que a atividade antitumoral de lactonas sesquiterpênicas está fortemente relacionada ao efeito inibitório sobre várias enzimas contendo o grupo tiol, envolvidas na síntese e processamento de proteínas, RNA e DNA (WOYNAROWSK *et al.*, 1981; HEHNER *et al.*, 1998). Em adição, lactonas sesquiterpênicas exercem seus efeitos citotóxicos induzindo apoptose em muitos tipos de linhagens celulares (DIRSCH *et al.*, 2001).

Recentemente foi descoberto que a lactona sesquiterpênica, partenólídeo **[6]**, que possui o grupo α -metileno- γ -butirolactona em sua estrutura, pode matar seletivamente células leucêmicas, sem afetar células normais. Isso indica que lactonas sesquiterpênicas podem representar uma classe promissora de agentes antileucêmicos (GUZMAN *et al.*, 2005).



A α -santonina [7], uma lactona sesquiterpênica que possui um esqueleto do tipo eudesmanolídeo, é encontrada abundantemente em plantas do gênero *Artemisia* (BANERJEE *et al.*, 1993). Foi primeiramente isolada por Kahler em 1830, a partir da *Artemisia santonica*, um membro de uma família de plantas conhecida por séculos por sua eficiência no tratamento das debilitações causadas por nematóides (BIRLADEANU, 2003).



Levando em consideração o amplo espectro de atividades biológicas apresentado pelas lactonas sesquiterpênicas, os fatores estruturais responsáveis por suas bioatividades, bem como a limitada disponibilidade desses compostos na natureza, esse trabalho tem como principal objetivo a síntese de novas lactonas sesquiterpênicas contendo o grupo α -metileno- γ -butirolactona e/ou grupo endoperóxido, a partir da α -santonina [7], disponível comercialmente, e a posterior avaliação da citotoxicidade contra células cancerígenas e normais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Técnicas experimentais

2.1.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)

Para a cromatografia em camada delgada (CCD) foram preparadas placas de sílica (sílica-gel 60G – F254 com indicador de fluorescência) com 0,25mm de espessura, por meio de uma mistura na proporção de 1:2 de sílica/água. Em algumas situações foram utilizadas placas POLYGRAM-UV₂₅₄ 0,25mm MACHEREY – NAGEL (MN). Após a eluição, as placas foram observadas sob lâmpada ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$) e reveladas com solução de permanganato de potássio (3 g de KMnO_4 , 20 g de K_2CO_3 e 5 mL de KOH 5% em 300 mL de água) ou solução de ácido fosfomolibdico (12 g de $2\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 2\text{MoO}_3 \cdot 48\text{H}_2\text{O}$ em 250 ml de etanol) (CASEY *et al*, 1990).

2.1.2. Separações cromatográficas em coluna

As separações foram realizadas utilizando-se sílica gel 60 (70-230 mesh) e sílica gel 60 (230-400 mesh), como fase estacionária.

2.1.3. Temperatura de fusão

As temperaturas de fusão (não corrigidas) foram determinadas em aparelho MQAPF-301.

2.1.4. Técnicas espectroscópicas

2.1.4.1. Infravermelho

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro PERKIM ELMER SPECTRUM 1000 (Departamento de Química – UFV). As amostras foram analisadas em forma de filme vítreo, depositado entre placas de cloreto de sódio, sendo utilizado diclorometano para dissolução das amostras.

2.1.4.2. Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em aparelho BRUKER AVANCE DRX 400 MHz, do Departamento de Química da UFMG, e em VARIAN MERCURY 300 MHz, do Departamento de Química da UFV. Utilizou-se clorofórmio deuterado como solvente e tetrametilsilano como padrão interno de referência ($\delta = 0$). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

2.1.4.3. Espectrometria de massas

Os espectros de massas foram obtidos em um equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A, do Departamento de Química da UFV.

2.2. Purificação dos solventes

2.2.1. Purificação do tetraidrofurano (THF)

A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de THF e, 12,0 g de hidreto de cálcio. Deixou-se o sistema sob refluxo durante 16 horas. Em seguida, destilou-se o THF, transferindo-o para outro balão de 500 mL, contendo sódio metálico. Deixou-se a mistura sob refluxo, durante 30 minutos. Em seguida adicionou-se benzofenona ao balão contendo o THF, deixando o

sistema sob refluxo até que a mistura reagente adquirisse a coloração azul. Após a mudança na coloração, destilou-se o THF anidro, que foi armazenado sob peneira molecular 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado sob atmosfera de nitrogênio (PERRIM e ARMAREGO, 1994).

2.2.2. Purificação do ácido acético

A um balão de fundo redondo de 1,0 L foram adicionados 600 mL de ácido acético glacial e 18 mL de anidrido acético. A solução foi mantida sob refluxo durante 2 horas. Após este período, o ácido acético foi destilado e armazenado em um frasco de vidro âmbar, que foi devidamente vedado (PERRIM e ARMAREGO, 1994).

2.2.3. Purificação da acetonitrila

A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de acetonitrila e 12 g de hidreto de cálcio. A solução foi mantida sob refluxo durante 24 horas. Em seguida, a acetonitrila foi destilada e armazenada em um frasco de vidro âmbar devidamente vedado, contendo peneira molecular 4 Å (PERRIM e ARMAREGO, 1994).

2.2.4. Purificação da diisopropilamina (DIPA)

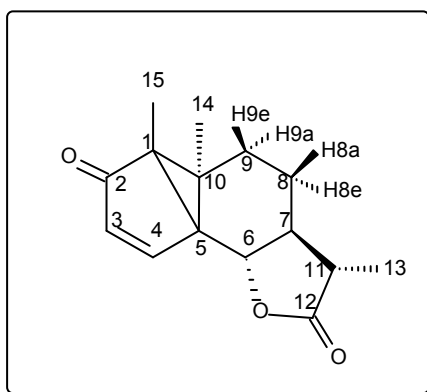
A um balão de 500 mL, adicionaram-se 300 mL de diisopropilamina (DIPA) e algumas lentilhas de hidróxido de sódio (NaOH). O sistema foi mantido sob refluxo por 2 horas. Após esse período, a DIPA foi destilada e armazenada em frasco de vidro âmbar devidamente vedado, contendo lentilhas de NaOH.

2.3. Titulação do *n*-butillítio (*n*-BuLi)

A um balão de duas bocas (25 mL), foram adicionados 0,5 mmol de 1,3-difenilcetona *p*-tosilhidrazona e 5 mL de THF anidro. A mistura foi agitada, sob atmosfera de nitrogênio, até a dissolução total da 1,3-difenilcetona *p*-tosilhidrazona. A mistura foi resfriada a 0°C e o *n*-BuLi foi adicionado gota a gota usando uma seringa de 1,0 mL. A titulação foi interrompida quando a cor laranja persistiu indicando o ponto final. Tal procedimento foi realizado em triplicata (LIPTON *et al.*, 1960).

2.4. Procedimentos sintéticos

2.4.1. Síntese fotoquímica da lumissantonina [8]



[8]

A um tubo de quartzo adicionou-se a α -santonina [7] (500 mg; 2,00 mmol) e acetonitrila (120 mL). Borbulhou-se a solução com um fluxo contínuo de nitrogênio durante 30 minutos. Em seguida a solução foi irradiada por 2 horas, utilizando-se quatro lâmpadas de vapor de mercúrio de baixa pressão (4 x 15W). Após o término da reação, a acetonitrila foi removida em evaporador rotatório sob baixa pressão (40°C), obtendo-se um sólido amarelo. Esse sólido foi submetido à recristalização em mistura de solventes acetona e hexano (1:5 v/v), fornecendo cristais amarelos claros do composto [8] (416 mg; 1,69 mmol), com rendimento de 83%.

Dados referentes ao composto **[8]**:

T_f: 145,8 – 147,3°C.

CCD: R_f = 0,48 (hexano/acetato de etila 2:3 v/v).

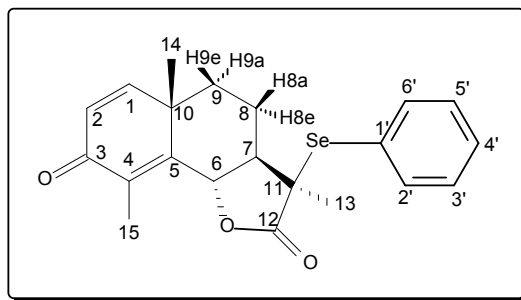
IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2933, 2876, 1783, 1699, 1570, 1456, 1252, 1027, 998, 836.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (J/Hz): 1,11 (s, 3H; H14); 1,12-1,21 (m, 1H; H8a); 1,22 (s, 3H; H15); 1,25 (d, 1H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,57-1,69 (m, 1H; H7); 1,79-1,98 (m, 3H; H8e, H9e, H9a); 2,30 (dq, 1H, $J_{11,7} = 12,3$, $J_{11,13} = 6,9$; H11); 3,81 (d, 1H, $J_{6,7} = 10,8$; H6); 6,01 (d, 1H, $J_{3,4} = 5,7$; H3); 7,59 (d, 1H, $J_{4,3} = 5,7$; H4).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 7,7 (C15); 12,8 (C13); 17,5 (C14); 22,8 (C8); 29,9 (C9); 40,7 (C5); 41,5 (C11); 43,0 (C1); 49,0 (C7); 50,4 (C10); 77,9 (C6); 131,7 (C3); 158,0 (C4); 178,9 (C12); 206,9 (C2).

EM, m/z (%): 246 (M⁺, C₁₅H₁₈O₃, 35); 173 (49); 145 (24); 135 (60); 107 (38); 91 (81); 77 (52); 55 (100).

2.4.2. Síntese do 3-oxo-7 α H,6 β H,11-(fenilselenil)-eudesma-1,4-dien-6,12-olídeo [9]



[9]

A um balão de duas bocas (300 mL) adicionou-se THF anidro (10 mL) e diisopropilamina (DIPA) anidra (1,90 mL; 13,50 mmol). A mistura foi resfriada a -78°C e mantida sob atmosfera de nitrogênio e sob agitação magnética. Em seguida, adicionou-se *n*-BuLi (14,2 mL; 13,60 mmol) previamente titulado, mantendo-se a mistura resultante sob agitação magnética por 30 minutos. Após esse período, adicionou-se lentamente α -santonina [7] (3,00 g; 12,20 mmol) dissolvida em THF anidro (35 mL). Deixou-se a mistura sob agitação por mais 30 minutos. Decorrido esse tempo, adicionou-se cloreto de fenilselenila (PhSeCl, 2,57 g; 13,50 mmol) solubilizado em THF anidro (25 mL). A reação foi mantida à temperatura de -78°C durante 20 minutos e, em seguida, permitiu-se que a temperatura da mistura atingisse a temperatura ambiente. Foram então adicionados à mistura reagente 30 mL de água destilada e 30 mL de diclorometano (DCM). Após a separação das fases, a fase aquosa foi submetida à extração com diclorometano (2 x 40 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com 30 mL de solução saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material resultante foi fracionado em coluna de sílica gel eluída com hexano/acetato de etila 3:2 v/v, obtendo-se o composto [9], que foi recristalizado em hexano/acetato de etila 5:1 v/v, obtendo-se cristais brancos, em rendimento de 39% (1,90 g; 4,72 mmol).

Dados referentes ao composto [9]:

T_f: 196,9 - 197,4°C.

CCD: R_f = 0,46 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v)

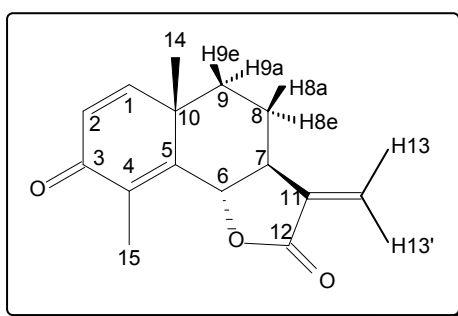
IV (Diclorometano, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3072, 2943, 2915, 2870, 1769, 1665, 1636, 1615, 1475, 1453, 1443, 1273, 1199, 1033, 742, 693.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (J/Hz): 1,33 (s, 3H; H14); 1,53-1,60 (m, 1H; H9e); 1,61 (s, 3H; H13); 1,92 – 2,00 (m, 4H; H7, H8e, H8a, H9a); 2,1 (s, 3H; H15); 5,22 (d, 1H, J_{6,7} = 9,6; H6); 6,25 (d, 1H, J_{2,1} = 9,9; H2); 6,68 (d, 1H, J_{1,2} = 9,9; H1); 7,35 (t, 2H, J_{3',2'} = J_{3',4'} = 7,3; H3' e H5'); 7,45 (t, 1H, J_{4',3'} = 7,3; H4'); 7,65 (d, 2H, J_{2',3'} = 7,3; H2' e H6').

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 11,0 (C15); 20,6 (C8); 22,3 (C13); 25,1 (C14); 37,6 (C9); 41,3 (C10); 48,9 (C7); 57,6 (C11); 79,3 (C6); 123,9 (C1'); 126,0 (C2); 129,2 (C4, C2', C6'); 130,0 (C4'); 138,2 (C3', C5'); 150,9 (C5); 154,6 (C1); 174,7 (C12); 186,2 (C3).

EM, m/z (%): 402 (M⁺, C₂₁H₂₂O₃Se, 1); 244 (100); 229 (48); 216 (65); 201 (52); 188 (22); 157 (15); 105 (20); 91 (50); 77 (63); 55 (39).

2.4.3. Síntese do 3-oxo-7 α H,6 β H-eudesma-1,4,11-trien-6,12-olídeo [10]



[10]

A um balão de 100 mL adicionou-se o composto **[9]** (1,70 g; 4,24 mmol), 25 mL de THF e 0,65 mL de ácido acético. A solução foi resfriada a 0°C e em seguida adicionou-se peróxido de hidrogênio 30% (3 mL). A reação foi mantida a 0°C durante 2 horas. Foi então adicionada à mistura reagente solução de bicarbonato de sódio. Em seguida, a fase aquosa foi submetida à extração com éter dietílico (3 x 40 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (50 mL), seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida em evaporador rotatório. O material sólido resultante foi cromatografado em coluna de sílica gel (eluente hexano/acetato de etila 2:1 v/v), obtendo-se o composto **[10]**, como um sólido amarelo claro (750 mg; 3,10 mmol, 72%).

Dados referentes ao composto **[10]**:

T_f: 148,7 - 149,6°C.

CCD: R_f = 0,32 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3044, 2937, 2870, 1777, 1663, 1635, 1615, 1458, 1254, 1041, 985, 963, 907, 834.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (J/Hz): 1,32 (s, 3H; H14), 1,56–1,63 (m, 2H; H8e, H9a), 1,79 (dddd, 1H, $J_{8a,8e} \cong J_{8a,9a} \cong J_{8a,7} \cong 11,6$, $J_{8a,9e} = 3,5$; H8a), 1,94 (dc, 1H, $J_{9e,8a} = 3,5$, $J_{9e,9a} = 13,4$; H9e), 2,17 (s, 3H; H15), 2,71 (t, 1H, $J_{7,6} \cong J_{7,8a} = 11,6$; H7), 4,77 (d, 1H, $J_{6,7} = 11,6$; H6), 5,56 (d, 1H, $J_{13,13'} = 2,9$; H13), 6,24 (d, 1H, $J_{13',13} = 2,9$; H13'), 6,27 (d, 1H, $J_{2,1} = 9,9$; H2), 6,70 (d, 1H, $J_{1,2} = 9,9$; H1).

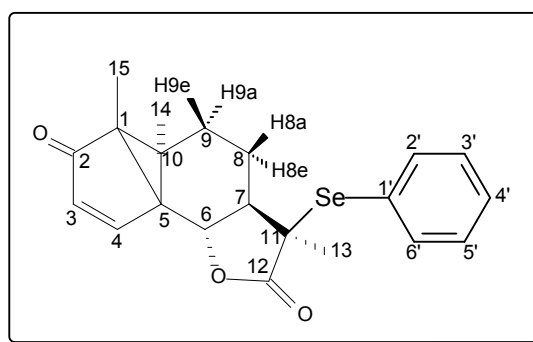
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 10,8 (C15); 21,7 (C8); 25,2 (C14); 37,7 (C9); 41,3 (C10); 50,3 (C7); 81,4 (C6); 119,6 (C13); 126,0 (C2); 129,1 (C4); 137,6 (C11); 150,6 (C5); 154,6 (C1); 169,0 (C12); 186,2 (C3).

EM, m/z (%): 244 (M^+ ; $C_{15}H_{16}O_3$, 45), 216 (14); 201 (27); 173 (30); 145 (36); 105 (29); 91 (95); 77 (76); 65 (87); 53 (100).

2.4.4. Métodos de síntese da 11,13–desidrolumissantonina [12]

2.4.4.1. Síntese a partir da lumissantonina [8]

2.4.4.1.1. Síntese da 11-fenilselenil-lumissantonina [11]



[11]

A um balão bitubulado (300 mL) adicionou-se THF anidro (8,00 mL) e diisopropilamina (DIPA) anidra (1,60 mL; 11,00 mmol). A mistura foi resfriada a -78°C e mantida sob atmosfera de nitrogênio e sob agitação magnética. Em seguida, adicionou-se n-BuLi (8,80 mL; 12,32 mmol) previamente titulado, mantendo-se a mistura resultante sob agitação magnética por 30 minutos. Após esse período, adicionou-se lentamente a lumissantonina [8] (2,50 g; 10,00 mmol) dissolvida em THF anidro (30 mL). Deixou-se a mistura sob agitação por mais 30 minutos. Decorrido esse tempo, adicionou-se cloreto de fenilselenila (PhSeCl, 2,15 g; 11,00 mmol) solubilizado em THF anidro (20 mL). A reação foi mantida à temperatura de -78°C durante 20 minutos e, em seguida, permitiu-se que a temperatura da mistura se igualasse à temperatura ambiente. Foram então adicionados à mistura reagente 30 mL de água destilada e 30 mL de diclorometano (DCM). Após a separação das fases, a fase aquosa foi submetida à extração com diclorometano (2 x 40 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com 30 mL de solução saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de

magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material resultante foi fracionado em coluna de sílica gel eluída com hexano/acetato de etila 3:2 v/v, obtendo-se o composto **[11]**, que foi recristalizado em hexano/acetato de etila 1:5 v/v, obtendo-se cristais brancos, em rendimento de 49% (1,94 g; 4,82 mmol).

Dados referentes ao composto **[11]**:

T_f: 198,9 – 199,7°C.

CCD: R_f = 0,48 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

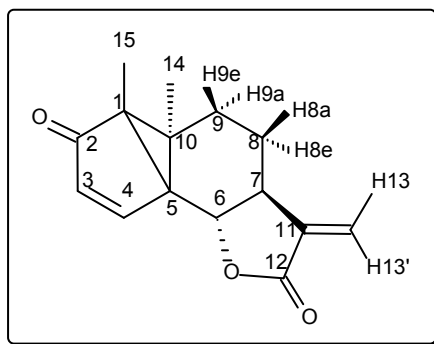
IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3068; 2952; 2875; 1770; 1701; 1570; 1475; 1440; 1031; 999; 752; 693.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (J/Hz): 1,12 (s, 3H; H14); 1,25 (s, 3H; H13); 1,59 (s, 3H; H15); 1,40-1,55 (m, 1H; H9e); 1,80-2,00 (m, 4H; H7, H8e, H8a, H9a); 4,3 (d, 1H, J_{6,7} = 10,8; H6); 6,00 (d, 1H, J_{3,4} = 5,7; H3); 7,30 (t, 1H, J_{3,4'} \cong J_{3,2'} = 8,1; H3' e H5'); 7,40 (tt, 2H, J_{4',3'} = 8,1, J_{4',2'} = 1,5; H4'); 7,60 (d, 1H, J_{4,3} = 5,7; H4); 7,62 (dd, 2H, J_{2',4'} = 1,5, J_{2',3'} = 8,1; H2' e H6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 7,8 (C13); 17,3 (C14); 20,6 (C9); 22,9 (C15); 30,0 (C8); 40,6 (C5); 43,1 (C1); 49,4 (C10); 50,2 (C11); 53,4 (C7); 75,7 (C6); 124,2 (C1'); 129,4 (C3'e C5'); 130,2 (C4'); 131,7 (C3); 138,4 (C2'e C6'); 157,9 (C4); 176,4 (C12); 206,8 (C2).

EM, m/z (%): 402 (M⁺, C₂₁H₂₂O₃Se, 9); 244 (93); 216 (100); 201 (17); 188 (34); 173 (18); 157(18); 105 (30); 91 (46); 77 (49); 65 (23); 55 (44); 41 (53).

2.4.4.1.2. Síntese da 11,13–desidrolumissantonina [12]



[12]

A um balão 100 mL adicionou-se o composto [11] (0,45 g; 1,13 mmol), 6 mL de THF e 0,20 mL de ácido acético. A solução foi resfriada a 0°C e em seguida adicionou-se peróxido de hidrogênio 30% v/v (0,80 mL). A reação foi mantida a 0 °C durante 30 minutos. Foi então adicionada à mistura reagente solução de bicarbonato de sódio. Em seguida, a fase aquosa foi submetida à extração com éter dietílico (3 x 40 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (50 mL), seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida em evaporador rotatório. O material sólido resultante foi cromatografado em coluna de sílica gel (eluente hexano/acetato de etila 2:1 v/v), obtendo-se o composto [12], como um sólido amarelo claro (200 mg; 0,82 mmol, 73%).

Dados referentes ao composto [12]:

T_f: 153,1- 154,2°C.

CCD: R_f = 0,41 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2929, 2876, 1776, 1698, 1568, 1381, 1258, 1134, 1039, 1073, 976, 838, 689.

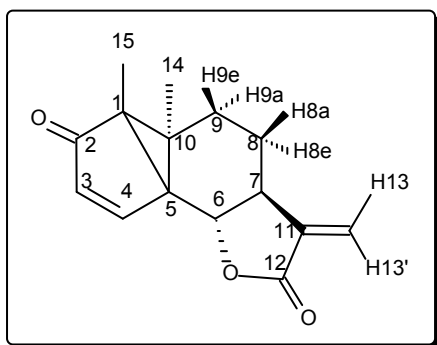
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 1,17 (s, 3H; H14); 1,25 (s, 3H; H15); 1,30-1,40 (dddd, 1H, $J_{8a,8e} \cong J_{8a,9a} \cong J_{8a,7} \cong J_{6,7} = 11,2$, $J_{8a,9e} = 2,6$; H8a); 1,88-2,00 (m, 2H; H9a, H9e); 2,14-2,21 (m, 1H; H8e); 2,56-2,65 (m, 1H; H7); 3,82 (d, 1H, $J_{6,7} = 11,2$; H6); 5,50 (d, 1H, $J_{13,13'} = 3,1$; H13); 6,06 (d, 1H, $J_{3,4} = 5,8$; H3); 6,19 (d, 1H, $J_{13',13} = 3,1$; H13'); 7,65 (d, 1H, $J_{4,3} = 5,8$; H4).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 7,5 (C15); 16,9 (C14); 21,0 (C8); 28,6 (C9); 40,5 (C5); 43,2 (C1); 45,5 (C7); 50,1 (C10); 77,6 (C6); 119,2 (C13); 131,5 (C3); 138,4 (C11); 157,1 (C4); 170,0 (C12); 206,4 (C2)

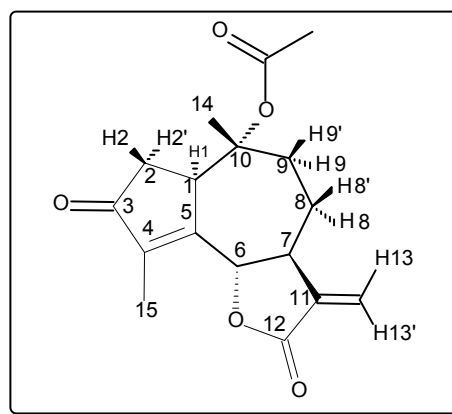
EM, m/z (%): 244 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$, 30); 229 (11); 215 (10); 201 (15); 173 (19); 145 (17); 105 (20); 84 (100); 77(32); 53 (72); 51 (98).

2.4.4.2. Síntese a partir do 3-oxo-7 α H,6 β H-eudesma-1,4,11-trien-6,12-olídeo [10]

2.4.4.2.1. Síntese fotoquímica da 11,13-desidrolumissantonina [12] e do 10 α -acetoxi-3-oxo-1,7 α H,6 β H-guaia-4,11-dien-6,12-olídeo [13]



[12]



[13]

A um tubo de quartzo foram adicionados o composto [10], (650 mg; 2,66 mmol) e 130 mL de ácido acético anidro. Borbulhou-se nitrogênio no meio reacional durante 30 minutos, e em seguida a solução foi irradiada por 4 horas, utilizando-se quatro lâmpadas de vapor de mercúrio de baixa pressão (4 x 15W). Após o término da reação, o ácido acético foi removido em evaporador rotatório sob vácuo (50°C), obtendo-se um óleo amarelo. O óleo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (eluente: hexano/acetato de etila 3:2 v/v), obtendo-se o composto [13] como um sólido branco (35 mg, 0,12 mmol), com rendimento de 4,5% e o composto [12] como um sólido amarelo (120 mg, 0,49 mmol) com rendimento de 18%.

Dados referentes ao composto [13]:

T_f: 139,7- 141,0 °C.

CCD: R_f= 0,32 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

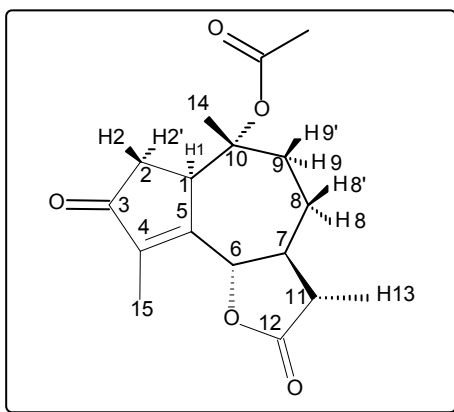
IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2955, 2916, 2848, 1771, 1727, 1705, 1645, 1472, 1370, 1245, 1103, 1058, 1018, 997, 963, 891.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 1,10 (s, 3H; H14); 1,46-1,56 (m, 1H; H8'); 1,95 (s, 3H; H15); 2,01 (s, 3H; CH_3CO); 2,22-2,32 (m, 2H; H8, H9'); 2,43 (dd, 1H, $J_{2,2'} = 19,3$, $J_{2,1} = 2,6$; H2); 2,54 (dd, 1H, $J_{2',2} = 19,3$, $J_{2',1} = 6,2$; H2'); 2,68 (td, 1H, $J_{9,9'} = 13,4$, $J_{9,8} = J_{9,8'} = 4,4$; H9); 3,14 (dt, 1H, $J_{7,6} = 10,9$, $J_{7,8} = J_{7,8'} = 1,4$; H7); 4,20 (dd, 1H, $J_{1,2'} = 6,2$, $J_{1,2} = 2,6$; H1); 4,81 (d, 1H, $J_{6,7} = 10,9$; H6); 5,61 (d, 1H, $J_{13,13'} = 3,2$; H13); 6,33 (d, 1H, $J_{13',13} = 3,2$; H13').

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 9,6 (C15); 20,0 (C14); 22,3 (CH_3CO); 24,5 (C8); 36,9 (C2); 37,5 (C9); 44,5 (C7); 47,3 (C1); 81,7 (C6); 85,5 (C10); 120,8 (C13); 137,6 (C11); 143,2 (C4); 160,3 (C5); 168,8 (C12); 170,4 (CH_3CO); 206,8 (C3).

EM, m/z (%): 304 (M^+ , $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_5$, 0,3); 262 (35); 244 (100); 229 (17); 201 (20); 187 (48); 159 (22); 91 (36); 67 (33); 53 (55); 51 (24).

2.4.5. Síntese do 10 α -acetoxi-3-oxo-1,7 α H,6,11 β H-guaia-4-en-6,12-olídeo (Lactona O-acetilisofotossantônica) [14].



[14]

A um reator de borossilicato resfriado com água corrente, adicionou-se α -santonina [7] (500 mg, 2,0 mmol) e ácido acético anidro (120 mL).

Borbulhou-se nitrogênio no meio reacional por meia hora. Em seguida, a solução foi irradiada com lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (125 W) por 23 horas. Após o término da reação, o ácido acético foi removido em evaporador rotatório sob baixa pressão, obtendo-se um óleo amarelo, que foi solubilizado em metanol a quente e deixado em congelador por duas horas. Após este período ocorreu a formação de cristais brancos, que foram filtrados e lavados com metanol resfriado, obtendo-se assim, 24,3 mg (0,08 mmol) da lactona **[14]**. O filtrado foi cromatografado em coluna de sílica-gel eluída com hexano/acetato de etila 3:2, obtendo-se ainda 139,7 mg (0,46 mmol) do composto **[14]**. O rendimento total da reação foi de 26% (164 mg; 0,54 mmol).
Dados referentes ao composto **[14]**:

T_f: 176,6 – 177,8 °C

CCD: R_f = 0,36 (hexano/acetato de etila 1:1)

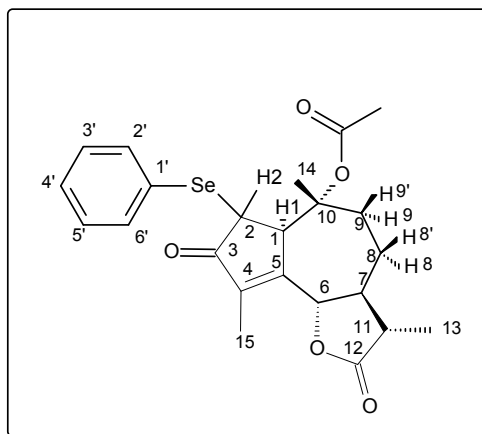
IV (Diclorometano, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2976; 2934; 2876; 1783; 1729; 1707; 1645; 1459; 1371; 1246; 1178; 1045; 982; 969.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (J/Hz): 1,09 (s, 3H, H14); 1,29 (d, 3H, J_{13,11} = 6,7, H13); 1,44-1,51 (m, 1H, H8'); 1,91 (s, 3H, H15); 2,00 (s, 3H, CH₃CO); 2,06 - 2,11 (m, 1H, H8); 2,15-2,25 (m, 2H, H7 e H9'); 2,33 (dq, 1H, J_{11,7} = 12,2, J_{11,13} = 6,7, H11); 2,41 (dd, 1H, J_{2,2'} = 19,4, J_{2,1} = 2,1, H2); 2,50 (dd, 1H, J_{2',2} = 19,4, J_{2',1} = 6,2, H2'); 2,62 (td, 1H, J_{9,9'} = 13,6, J_{9,8} = J_{9,8'} = 4,1, H9); 4,16 (m, 1H, H1); 4,80 (d, 1H, J_{6,7} = 10,6, H6).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 9,49 (C15); 12,46 (C13); 20,04 (C14); 22,29 (CH₃CO); 25,37 (C8); 36,83 (C2); 37,95 (C9); 41,38 (C11); 47,27 (C1); 48,28 (C7); 81,25 (C6); 85,55 (C10); 143,30 (C4); 160,82 (C5); 170,35 (CH₃CO); 177,03 (C12); 207,00 (C3).

EM, m/z (%): 306 (M⁺, C₁₇H₂₂O₅, 0,4); 246 (100); 231 (51); 203 (15); 190 (25); 173 (64); 145 (34); 121 (18); 105 (33); 91 (61); 77 (47); 55 (95); 53 (40).

2.4.6. Síntese do 10 α -acetoxi-3-oxo-1,7 α H,6,11 β H,2-fenilselenil-guaia-4-en-6,12-olídeo [15].



[15]

A um balão de duas bocas (125 mL) adicionou-se THF anidro (2,50 mL) e diisopropilamina (DIPA) anidra (0,50 mL; 3,55 mmol). A mistura foi resfriada a -78°C e mantida sob atmosfera de nitrogênio e sob agitação magnética. Em seguida, adicionou-se n-BuLi (2,60 mL; 3,60 mmol) previamente titulado, mantendo-se a mistura resultante sob agitação magnética por 30 minutos. Após esse período, adicionou-se lentamente o composto [14] (1,00 g; 3,27 mmol) dissolvida em THF anidro (9,00 mL). Deixou-se a mistura sob agitação por mais 30 minutos. Decorrido esse tempo, adicionou-se cloreto de fenilselenila (PhSeCl, 670 mg; 3,55 mmol) solubilizado em THF anidro (7,00 mL). A reação foi mantida à temperatura de -78°C durante 20 minutos e, em seguida, permitiu-se que a temperatura da mistura se igualasse à temperatura ambiente. Foram então adicionados à mistura reagente 30 mL de água destilada e 30 mL de diclorometano (DCM). Após a separação das fases, a fase aquosa foi submetida à extração com diclorometano (2 x 40 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com 30 mL de solução saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material resultante foi fracionado em coluna de sílica gel eluída

com hexano/acetato de etila 3:2 v/v, obtendo-se o composto **[15]** em rendimento de 11% (122 mg; 0,26 mmol).

T_f: 195,9 – 196,7°C.

CCD: R_f = 0,44 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

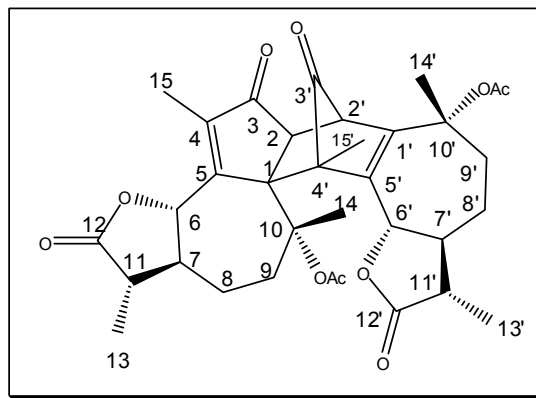
IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3054; 2973; 2928; 2876; 1783; 1731; 1704; 1645; 1577; 1477; 1240; 991; 740.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (J/Hz): 1,06 (s, 3H, H14); 1,24 (d, 3H, $J_{13,11}$ = 6,9, H13); 1,28-1,42 (m, 1H, H8'); 1,80 (s, 3H, H15); 1,83-1,94 (m, 1H, H7); 2,00 (s, 3H, CH₃CO); 2,02 - 2,06 (m, 1H, H8); 2,17 (dq, 1H, $J_{11,7}$ = 12,6, $J_{11,13}$ = 6,9, H11); 2,29 (dt, $J_{9',9}$ = 13,5, $J_{9',8} = J_{9',8'}$ = 4,5, H9'); 2,51 (td, 1H, $J_{9,9'}$ = 13,5, $J_{9,8} = J_{9,8'}$ = 3,9, H9); 3,70 (m, 1H, H2); 3,81 (m, 1H, H1); 4,53 (d, 1H, $J_{6,7}$ = 10,5, H6); 7,25 (t, 2H, $J_{3',2'} \cong J_{3',4'} = 8,1$, H3'e H5'); 7,31 (tt, 1H, $J_{4',3'}$ = 8,1, $J_{4',2'}$ = 1,5, H4'); 7,55 (dd, 2H, $J_{2',3'}$ = 8,1, $J_{2',4'}$ = 1,5, H2' e H6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 9,5 (C15); 12,4 (C13); 20,2 (C14); 22,5 (CH₃CO); 24,8 (C8); 38,1 (C9); 41,3 (C11); 42,3 (C2); 47,9 (C7); 55,5 (C1); 80,2 (C6); 85,4 (C10); 125,9 (C1'); 128,9 (C3'e C5'); 129,2 (C4'); 136,7 (C2'e C6'); 143,5 (C4); 158,3 (C5); 170,3 (CH₃CO); 176,8 (C12); 205,4 (C3).

EM, m/z (%): 462 (M⁺, C₂₃H₂₆O₅Se, 27); 402 (6); 321 (12); 263 (28); 245 (100); 217 (25); 189 (19); 157 (26); 91 (37); 77 (55); 55 (58); 51 (46).

2.4.7. Síntese do dímero [16].



[16]

A um balão de 25,00 mL adicionou-se o composto [15] (90,00 mg; 0,19 mmol), 1,20 mL de THF e 0,03 mL de ácido acético. A solução foi resfriada a 0 °C e em seguida adicionou-se peróxido de hidrogênio 30% v/v (0,15 mL). A reação foi mantida a 0°C durante 2 horas. Foi então adicionada à mistura reagente solução de bicarbonato de sódio. Em seguida, a fase aquosa foi submetida à extração com éter dietílico (3 x 40 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (50 mL), seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida em evaporador rotatório. O material sólido resultante foi cromatografado em coluna de sílica gel (eluente hexano/acetato de etila 2:1 v/v), obtendo-se o dímero [16], como um sólido branco em rendimento de 19% (22 mg; 0,036 mmol).

T_f: 179,9 – 180,7°C.

CCD: R_f = 0,37 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2927; 2871; 1783; 1735; 1703; 1632; 1456; 1241; 1023; 732.

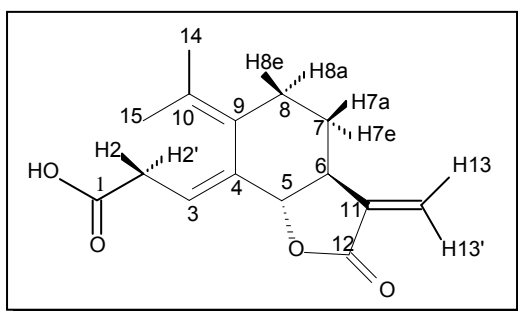
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (J/Hz): 1,18 (d, 3H, $J_{13,11}$ = 6,6, H13); 1,28 (d, 3H, $J_{13',11'}$ = 6,3, H13'); 1,38 (s, 3H, H14); 1,48-1,53 (m, 2H, 1xH8 e 1xH8'); 1,50 (s, 3H, H14'); 1,69 (s, 3H, H15'); 1,90 (s, 3H, H15); 1,92 (s, 3H, CH₃CO); 1,93-2,03 (m, 2H, H7 e H7') 2,05 (s, 3H, CH₃CO); 2,07-2,51 (m, 6H, 1xH8, 1xH8' 1xH9, 1xH9', H11, H11'); 3,13-3,19 (m, 2H, 1xH9, 1xH9'); 3,65 (m, 1H, H2); 3,82 (m, 1H, H2'); 4,50 (d, 1H, $J_{6,7}$ = 10,5, H6); 4,82 (d, 1H, $J_{6',7'}$ = 9,6, H6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 10,0-63,3 (C2, C2', C7, C7', C8, C8', C9, C9', C10, C10', C11, C11', C13, C13' C14, C14', C15, C15', 2xCH₃CO); 80,7 (C6); 81,4 (C6'); 86,7 (C10 e C10'); 142,1 (C4); 149,7 (C1'); 157,5 (C5'); 159,3 (C5); 169,3 e 169,4 (2xCH₃CO); 176,3 e 176,9 (C12 e C12'); 194,7 (C3'); 204,7 (C3).

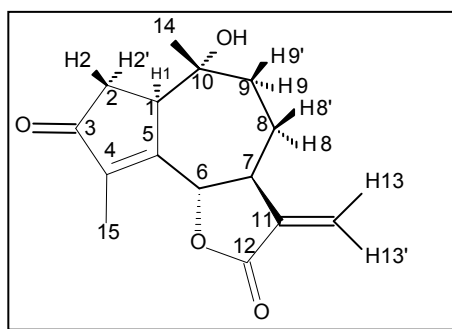
EM, m/z (%): 608 (M⁺, C₃₄H₄₀O₁₀, 0,13); 548 (11); 488 (10); 460 (23); 432 (24) 261 (20); 244 (52); 133 (28); 91 (26); 69 (33); 55 (100).

2.4.8. Síntese de derivados do 3-oxo-7 α H,6 β H-eudesma-1,4,11-trien-6,12-olídeo [10]

2.4.8.1. Síntese fotoquímica do ácido 11,13-desidroisofotossantônico [17] e do 10 α -hidroxi-3-oxo-1,7 α H,6 β H-guaia-4,11-dien-6,12-olídeo (Parishin A) [18].



[17]



[18]

A um reator de borossilicato resfriado com água corrente, adicionou-se o composto [10] (500 mg; 2,05 mmol), 80 mL de água e 80 mL de ácido acético. À mistura reacional foi borbulhado nitrogênio durante 30 minutos. Em seguida, a solução foi irradiada com lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (125 W) por 21 horas. Ao término da reação, concentrou-se a amostra em evaporador rotatório sob vácuo (60°C), obtendo-se um óleo amarelo. O óleo foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel eluída com a mistura de solventes hexano/acetato de etila 1:2 v/v, obtendo-se o composto [17] como um sólido branco (258,00 mg; 0,98 mmol), em rendimento de 48% e o composto [18], também como um sólido branco (191,00 mg; 0,73 mmol), em rendimento de 36%.

Dados referentes ao composto [17]:

T_f: 155,0 – 156,2 °C.

CCD: R_f = 0,32 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2600-3400, 2987, 2925, 2867, 1772, 1703, 1247, 1005.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 1,36-1,52 (dddd, 1H, $J_{7a,8a} \cong J_{7a,6} \cong J_{7a,7e} = 12,6$, $J_{7a,8e} = 3,9$; H7a); 1,63 (s, 3H; H14); 1,77 (s, 3H; H15); 1,85-2,00 (m, 1H; H8a); 2,15-2,30 (dddd, 1H, $J_{7e,7a} = 12,6$, $J_{7e,8a} = 4,8$, $J_{7e,6} = 3,3$, $J_{7e,8e} = 2,4$; H7e); 2,60-2,75 (m, 1H; H6); 2,80-2,90 (ddd, 1H, $J_{8e,8a} = 14,1$, $J_{8e,7a} = 3,9$, $J_{8e,7e} = 2,4$; H8e); 2,93-3,01 (ddd, 1H, $J_{2,2'} = 17,4$, $J_{2,3} = 6,6$, $J_{2,5} = 1,8$; H2); 2,94-3,10 (ddd, 1H, $J_{2',2} = 17,4$, $J_{2',3} = 7,8$, $J_{2',5} = 1,2$; H2'); 4,1 (dq, 1H, $J_{5,6} = 11,2$, $J_{5,3} \cong J_{5,2} \cong J_{5,2'} = 1,2$; H5); 5,4 (d, 1H, $J_{13,13'} = 3,3$; H13); 5,71 (ddd, 1H, $J_{3,2} = 7,8$, $J_{3,2'} = 6,6$, $J_{3,5} = 1,8$; H3); 6,1 (d, 1H, $J_{13',13} = 3,3$; H13').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 20,3 (C15); 22,4 (C14); 25,9 (C7); 30,2 (C8); 34,0 (C2); 51,7 (C6); 83,5 (C5); 111,1 (C3); 117,9 (C13); 127,4 (C9); 131,7 (C10); 139,7 (C11); 140,4 (C4); 170,4 (C12); 177,8 (C1).

EM, m/z (%): 262 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$, 18); 244 (15); 229 (5); 216 (46); 202 (92); 189 (59); 173 (46); 159 (13); 145 (29); 131 (31); 117 (22); 105 (42); 91 (72); 77 (49); 65 (32); 53 (100).

Dados referentes ao composto [18]:

T_f: 177,0 – 178,1 °C.

CCD: R_f = 0,16 (hexano/acetato de etila 1:2 v/v).

IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3445, 3062, 2970, 2930, 2863, 1768, 1699, 1641, 1451, 1257, 1142, 1115, 959.

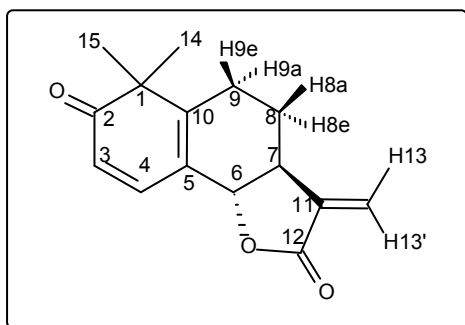
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 0,97 (s, 3H; H14); 1,40-1,60 (dddd, 1H, $J_{8',7} \cong J_{8',8} \cong J_{8',9} = 11,1$, $J_{8',9'} = 3,6$; H8'); 1,80-1,91 (m, 2H; H9', OH); 1,92 (s, 3H; H15); 2,08 (dt, 1H, $J_{9,9'} = 13,5$, $J_{9,8'} = J_{9,8} = 3,6$; H9); 2,20-2,35 (m, 1H; H8); 2,54

(dd, 1H, $J_{2,2'} = 20,1$, $J_{2,1} = 5,4$; H2'); 2,60 (dd, 1H, $J_{2,2'} = 20,1$, $J_{2,1} = 3,6$; H2); 3,00 (td, 1H, $J_{7,8'} = J_{7,6} = 11,1$, $J_{7,8} = 1,5$; H7); 3,20-3,30 (m, 1H; H1); 4,80 (d, 1H, $J_{6,7} = 11,1$; H6); 5,60 (d, 1H, $J_{13,13'} = 3,0$; H13); 6,30 (d, 1H, $J_{13,13'} = 3,0$; H13').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 9,7 (C15); 21,5 (C14); 25,2 (C8); 37,5 (C2); 44,8 (C7); 45,1 (C9); 50,8 (C1); 74,7 (C10); 82,1 (C6); 121,0 (C13); 137,9 (C4); 143,1 (C11); 161,2 (C5); 169,2 (C12); 207,9 (C3).

EM, m/z (%): 262 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$, 100); 244 (31); 229 (10); 219 (49); 204 (47); 191 (66); 174 (60); 173 (60); 159 (46); 145 (61); 131 (51); 117 (47); 110 (36); 91 (73); 77 (52); 67 (64); 53 (99).

2.4.8.2. Síntese fotoquímica da 11,13-desidromazdassantonina [19].



[19]

A um tubo de quartzo adicionou-se o composto [10] (500 mg; 2,00 mmol) e acetonitrila anidra (250 mL). Borbulhou-se a solução com um fluxo contínuo de nitrogênio durante 30 minutos. Em seguida a solução foi irradiada por 16 horas, utilizando-se quatro lâmpadas de vapor de mercúrio de baixa pressão (4 x 15W). Após o término da reação, a acetonitrila foi removida em evaporador rotatório sob vácuo (40°C), obtendo-se o composto [19] (500 mg, 2,00 mmol) como um óleo amarelo em rendimento de 100%.

Dados referentes ao composto [19]:

CCD: $R_f = 0,40$ (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

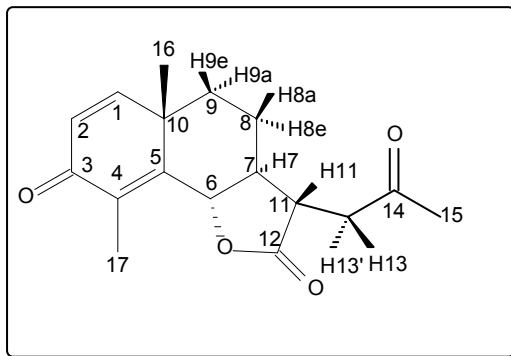
IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2971, 2934, 2875, 1782, 1661, 1626, 1027, 981,713.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 1,26 (s, 6H; H14 e H15); 1,68-1,82 (m, 1H; H8e); 2,30-2,40 (dddd, 1H, $J_{8a,8e} \cong J_{8a,9a} \cong J_{8a,9e} \cong J_{6,7} = 10,8$, $J_{8a,7} = 3,3$; H8a); 2,53-2,61 (m, 2H; H9a, H9e); 2,68-2,70 (ddd, 1H, $J_{7,8e} = 12,3$, $J_{7,6} = 10,8$, $J_{7,8a} = 3,3$; H7); 4,50 (d, 1H, $J_{6,7} = 10,8$; H6); 5,50 (d, 1H, $J_{13,13'} = 3,0$; H13); 6,08 (d, 1H, $J_{3,4} = 9,9$; H3), 6,18 (d, 1H, $J_{13',13} = 3,0$; H13'); 7,22 (d, 1H, $J_{4,3} = 9,9$; H4).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 21,2 (C8); 24,9 (C14); 25,4 (C15); 26,0 (C9); 46,2 (C7); 50,3 (C1); 79,6 (C6); 118,8 (C13); 123,7 (C3); 125,7 (C5); 138,1 (C4); 138,9 (C11); 152,3 (C10); 170,6 (C12); 205,8 (C2).

EM, m/z (%): 244 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$, 99); 229 (36); 215 (42); 201 (76); 187 (42); 145 (32); 131 (17); 115 (29); 91 (71); 77 (52); 65 (52); 53 (95); 39 (100).

2.4.8.3. Síntese do 3-oxo-7 α H,6 β H,11 β H-13-acetil-eudesma-1,4-dien-6,12-olídeo [20]



[20]

A um reator de borossilicato resfriado com água corrente, equipado com uma solução de Ni (II) e Co (II) como filtro, adicionou-se o composto [10] (84 mg; 0,35 mmol) e 45 mL de acetaldéido destilado. À mistura reagente foi borbulhado nitrogênio durante 30 minutos. Em seguida, a solução foi irradiada com lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (125 W) por 22 horas. A solução filtro foi preparada misturando-se NiSO₄.6H₂O (46 g) e CoSO₄.7H₂O (14 g) e 100 mL de água. Ao término da reação, concentrou-se a mistura sob pressão reduzida com a adição de pequenas quantidades de cicloexano. Este procedimento foi repetido várias vezes, obtendo-se, assim, um óleo amarelo. O óleo foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel eluída com a mistura de solventes hexano/acetato de etila 2:3 v/v, obtendo-se o composto [20] como um sólido amarelo (45 mg; 0,16 mmol), em rendimento de 45%.

Os compostos 13-acetil-lumisssantinina [21], ácido 13-acetil-isofotossantônico [22] e o 10 α -hidroxi-3-oxo-1,7 α H,6,11 β H-13-acetil-guaia-4-en-6,12-olídeo [23] foram sintetizados por um processo similar ao descrito anteriormente. As quantidades de cada reagente, o tempo de reação, a proporção de solventes utilizada na cromatografia em coluna e o rendimento das reações são apresentados na Tabela 1:

Tabela 1- Quantidades dos reagentes, tempo de reação, proporção de solventes utilizada na cromatografia em coluna e rendimento das reações.

Material de partida (massa; número de mols)	Volume de acetaldeído (mL)	Tempo de reação (h)	Cromatografia em coluna (proporção de solventes v/v)	Composto (massa; número de mols; rendimento)
[12] (80 mg; 0,33 mmol)	45	22	Hexano/Acetato de etila 1:2	[21] (50 mg; 0,17 mmol; 52%)
[17] (85 mg; 0,32 mmol)	45	22	Hexano/Acetato de etila 1:3	[22] (35 mg; 0,12 mmol; 36%)
[18] (90 mg; 0,34 mmol)	45	22	Acetato de etila	[23] (40 mg; 0,15 mmol; 45%)

Dados referentes ao composto **[20]**:

T_f : 165,3-166,2°C.

CCD: R_f = 0,31 (hexano/acetato de etila 1:3 v/v).

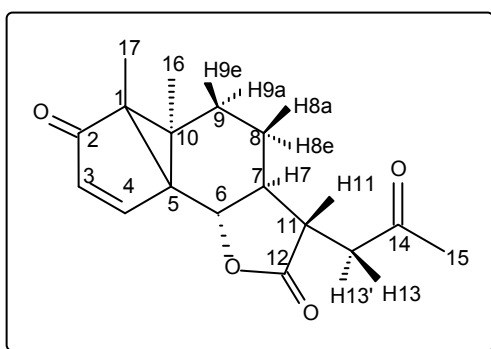
IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3002, 2931, 2872, 1781, 1717, 1663, 1635, 1613, 1458, 1372, 1152, 1036.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 1,32 (s, 3H; H16); 1,38-1,50 (m, 1H; H8a); 1,70-2,00 (m, 4H; H7, H8e, H9e, H9a); 2,12 (s, 3H; H17); 2,22 (s, 3H; H15); 2,60 (dd, 1H, $J_{13,13'} = 18,3$, $J_{13,11} = 7,5$; H13); 2,90 (ddd, 1H, $J_{11,7} = 12,0$, $J_{11,13} = 7,5$, $J_{11,13'} = 3,9$; H11); 3,10 (dd, 1H, $J_{13',13} = 18,3$, $J_{13',11} = 3,9$; H13'); 4,8 (d, 1H, $J_{6,7} = 11,1$; H6); 6,20 (d, 1H, $J_{2,1} = 9,6$; H2); 6,60 (d, 1H, $J_{1,2} = 9,6$; H1).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 11,1 (C17); 23,8 (C9); 25,3 (C16); 30,4 (C15); 38,1 (C8); 41,5 (C10); 41,5 (C11); 42,2 (C13); 52,4 (C7); 81,9 (C6); 126,1 (C2); 129,1 (C4); 150,9 (C5); 155,2 (C1); 176,8 (C12); 186,5 (C3); 205,4 (C14).

EM, m/z (%): 288 (M^+ , $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_4$, 0,01); 245 (0,13); 230 (9); 187 (6); 173 (8); 135 (29); 91 (18); 77 (13); 65 (10); 55 (17); 53 (9); 43 (100); 41 (16).

Dados referentes ao composto **[21]**:



[21]

T_f: 170,1-171,4°C.

CCD: R_f = 0,21 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

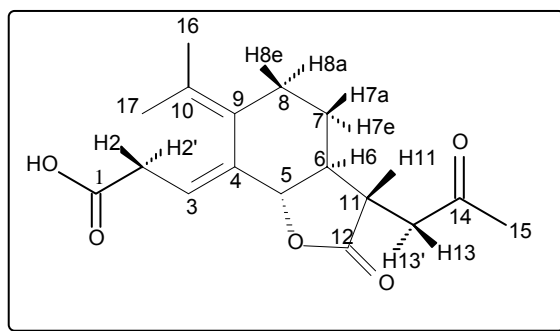
IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3070, 2931, 2872, 1782, 1717, 1700, 1570, 1159, 1000.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 1,11 (s, 3H; H16); 1,24 (s, 3H; H17); 1,25-1,35 (m, 1H; H8a); 1,70-2,00 (m, 4H; H7, H8e, H9e, H9a); 2,22 (s, 3H; H15); 2,60 (dd, 1H, $J_{13,13'} = 18,3$, $J_{13,11} = 7,2$; H13); 2,80 (ddd, 1H, $J_{11,7} = 12,3$, $J_{11,13} = 7,2$, $J_{11,13'} = 3,9$; H11); 3,04 (dd, 1H, $J_{13',13} = 18,3$, $J_{13',11} = 3,9$; H13'); 3,86 (d, 1H, $J_{6,7} = 10,8$; H6); 6,00 (d, 1H, $J_{3,4} = 5,7$; H3); 7,60 (d, 1H, $J_{4,3} = 5,7$; H4).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 7,7 (C17); 17,4 (C16); 23,1 (C8); 29,8 (C9); 30,4 (C15); 40,7 (C5); 41,9 (C11); 42,0 (C13); 42,9 (C1); 47,9 (C7); 50,2 (C10); 78,3 (C6); 131,7 (C3); 157,7 (C4); 177,6 (C12); 205,4 (C14); 206,8 (C2).

EM, m/z (%): 288 (M^+ , $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_4$, 0,6); 270 (10); 245 (3); 227 (10); 191 (59); 173 (48); 157 (15); 145 (50); 131 (18); 117 (12); 107 (100); 91 (47); 77 (23); 55 (45).

Dados referentes ao composto [22]:



[22]

CCD: $R_f = 0,21$ (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

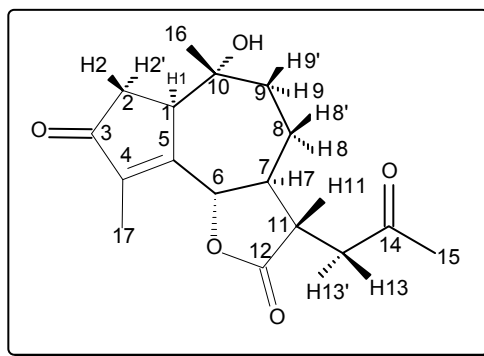
IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2600-3400, 2923, 2857, 1778, 1716, 1160, 1007.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 1,36-1,52 (dddd, 1H, $J_{7a,8a} \cong J_{7a,6} \cong J_{7a,7e} = 12,6$, $J_{7a,8e} = 3,9$; H7a); 1,63 (s, 3H; H16); 1,77 (s, 3H; H17); 1,80-2,00 (m, 3H; H6, H7e, H8a); 2,22 (s, 3H; H15); 2,50 (dd, 1H, $J_{13,13'} = 18,3$, $J_{13,11} = 7,2$; H13); 2,80 (ddd, 1H, $J_{8e,8a} = 13,2$, $J_{8e,7a} = 3,9$, $J_{8e,7e} = 1,8$; H8e); 2,89-3,01 (m, 3H, H2, H2'; H11); 3,02-3,10 (dd, 1H, $J_{13',13} = 18,3$, $J_{13',11} = 4,5$; H13'); 4,20 (dc, 1H, $J_{5,6} = 10,5$; H5); 5,60 (dt, 1H, $J_{3,2} \cong J_{3,2'} = 7,1$, $J_{3,5} = 1,8$; H3).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 20,2 (C17); 22,4 (C16); 28,1 (C7); 30,4 (C15); 30,6 (C8); 33,9 (C2); 42,4 (C13); 42,8 (C11); 53,3 (C6); 83,8 (C5); 110,9 (C3); 127,5 (C9); 131,3 (C10); 140,2 (C4); 177,6 (C1, C12); 205,7 (C14).

EM, m/z (%): 306 (M^+ , $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_5$, 11); 288 (8); 263 (5); 248 (63); 230 (67); 212 (25); 191 (54); 175 (40); 163 (28); 145 (42); 131 (59); 119 (26); 105 (41); 91 (71); 77 (41); 55 (100).

Dados referentes ao composto **[23]**:



[23]

CCD: $R_f = 0,24$ (acetato de etila).

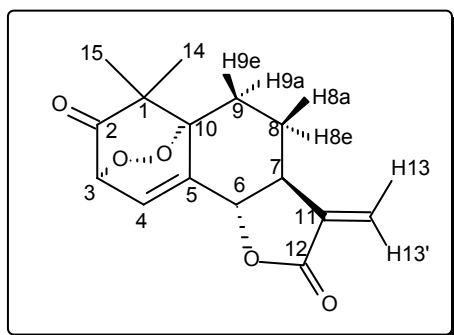
IV (Filme, NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3441, 3062, 2923, 2853, 1769, 1697, 1643, 1454, 1165, 989.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 0,94 (s, 3H; H16); 1,35-1,60 (m, 1H; H8'); 1,65-1,80 (m, 2H; H9', OH); 1,89 (s, 3H; H17); 1,93-2,10 (m, 2H; H8, H9); 2,24 (s, 3H; H15); 2,31-2,43 (dddd, 1H, $J_{7,11} \cong J_{7,8'} \cong J_{7,6} = 11,1$, $J_{7,8} = 1,2$; H7); 2,46-2,54 (dd, 1H, $J_{2,2} = 19,5$, $J_{2,1} = 5,4$; H2'); 2,46-2,64 (dd, 1H, $J_{2,2'} = 19,5$, $J_{2,1} = 2,7$; H2); 2,70 (dd, 1H, $J_{13,13'} = 18,0$, $J_{13,11} = 5,4$; H13); 2,80 (ddd, 1H, $J_{11,7} = 12,0$, $J_{11,13} = 5,4$, $J_{11,13'} = 4,5$; H11); 3,00 (dd, 1H, $J_{13',13} = 18,0$, $J_{13',11} = 4,5$; H13'); 3,20 (m, 1H; H1); 4,85 (d, 1H, $J_{6,7} = 11,1$; H6).

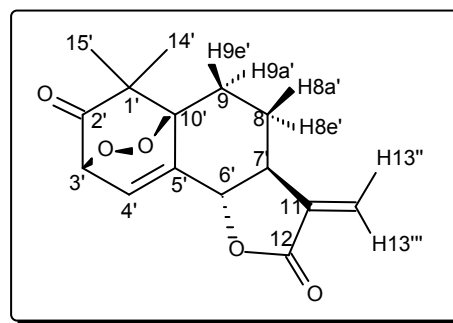
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 9,7 (C17); 21,5 (C16); 26,1 (C8); 30,5 (C15); 37,4 (C2); 41,2 (C13); 45,4 (C11); 46,6 (C9); 50,7 (C7); 53,7 (C1); 74,6 (C10); 82,0 (C6); 143,4 (C4); 161,3 (C5); 176,3 (C12); 205,3 (C14); 208,0 (C3).

EM, m/z (%): 306 (M^+ , $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_5$, 6); 288 (2); 270 (3); 245 (5); 217 (3); 203 (4); 191 (6); 175 (4); 149 (8); 133 (10); 105 (7); 91 (8); 77 (6); 55 (9); 43 (100).

2.4.9. Síntese da mistura de isômeros 2-oxo-3 α ,10 α -peroxi-7 α H,6 β H-eudesma-4,11-dien-6,12-olídeo [24] e 2-oxo-3 β ,10 β -peroxi-7 α H,6 β H-eudesma-4,11-dien-6,12-olídeo [25]



[24]



[25]

A um reator de borossilicato resfriado com água corrente, adicionou-se o composto [19] (450 mg; 1,84 mmol), rosa de bengala (15 mg) e acetonitrila anidra (250 mL). Borbulhou-se a solução com um fluxo contínuo de oxigênio durante 30 minutos. Em seguida, a solução foi irradiada, na região do visível, com lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (250 W) por 5 horas. Ao término da reação, concentrou-se a amostra em evaporador rotatório sob vácuo (40 °C), obtendo-se um óleo amarelo. O óleo foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel eluída com a mistura de solventes hexano/acetato de etila 3:2 v/v, obtendo-se um sólido branco como uma mistura dos isômeros [24] e [25] (150 mg; 0,54 mmol) na proporção de 1:1,4, em rendimento de 29%.

Dados referentes à mistura de isômeros [24] e [25]:

T_f: 160,1-163,5°C.

CCD: R_f = 0,42 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

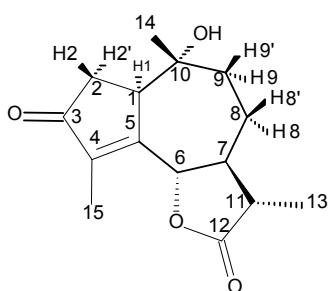
IV (Diclorometano, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3062, 2973, 2939, 2878, 1784, 1741, 1673, 1469, 1385, 1251, 1129, 1044, 977.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (J/Hz): 1,12 (s, 3H; H15); 1,16 (s, 3H; H15'); 1,29 (s, 3H; H14); 1,32 (s, 3H; H14'); 1,75-2,41 (m, 8H; H8a, H8e, H8a', H8e', H9a, H9e, H9a', H9e'); 2,63 -2,75 (m, 1H; H7'); 2,96-3,09 (m, 1H; H7); 4,49 (dd, 1H, $J_{6,7} = 12,0$, $J_{6,4} = 2,1$; H6); 4,64 (dd, 1H, $J_{6',7'} = 12,6$, $J_{6',4'} = 2,7$; H6'); 4,65 (d, 1H, $J_{3,4} = 6,6$; H3); 4,72 (d, 1H, $J_{3',4'} = 6,6$; H3'); 5,52 (d, 1H, $J_{13,13'} = 3,0$; H13); 5,54 (d, 1H, $J_{13'',13'''} = 3,0$; H13''); 6,21 (d, 1H, $J_{13',13} = 3,0$; H13'); 6,24 (d, 1H, $J_{13''',13''} = 3,0$; H13'''); 6,57 (dd, 1H, $J_{4,3} = 6,6$, $J_{4,6} = 2,1$; H4); 6,68 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 6,6$, $J_{4',6'} = 2,7$; H4').

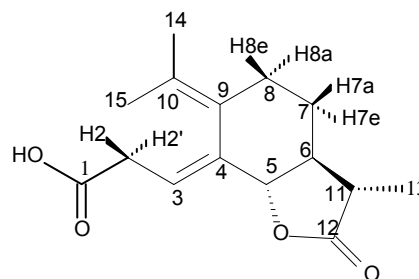
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 19,5-46,4 (C15, C14, C7, C8, C9, C1, C15', C14', C7', C8', C9', C1'); 77,2-86,6 (C3, C6, C10, C3', C6', C10'); 115,6- 149,7 (C4, C5, C11, C13, C4', C5', C11', C13'); 169,5 (C12'); 169,5 (C12); 204,7 (C2'); 204,9 (C2).

EM, m/z (%): 276 (M⁺, C₁₅H₁₆O₅, 0,3); 247 (1); 244 (1); 233 (6); 178 (6); 149 (13); 133 (4); 121 (10); 95 (10); 91 (16); 70 (100); 53 (38).

2.4.10. Síntese fotoquímica do 10 α -hidroxi-3-oxo-1,7 α H,6,11 β H-guaia-4-en-6,12-olídeo [26] e ácido isofotossantônico [27].



[26]



[27]

A um reator de borossilicato resfriado com água corrente, adicionou-se α -santonina [7] (2 g; 8,13 mmol), 80 mL de água e 80 mL de ácido acético. À mistura reacional foi borbulhado nitrogênio durante 30 minutos. Em seguida, a solução foi irradiada com lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (125 W) por 27 horas. Ao término da reação, concentrou-se a amostra em evaporador rotatório sob vácuo (60 °C), obtendo-se um óleo amarelo. O óleo foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel eluída com a mistura de solventes hexano/acetato de etila 1:2, obtendo-se o composto [26] como um sólido branco (687 mg; 2,6 mmol), em rendimento de 32% e o composto [27], também como um sólido branco (950 mg; 3,6 mmol), em rendimento de 44%.

Dados referentes ao composto [27]:

T_f : 145,8 – 147,0°C

CCD: R_f = 0,50 (hexano/acetato de etila 1:1)

IV (Diclorometano, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2979; 2931; 2600 - 3400; 1782; 1709; 1654; 1455; 1373; 1240; 1182; 1137; 1007; 875; 743; 622.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 1,23 (d, 1H, $J_{13,11} = 6,9$, H13); 1,35 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} \cong J_{7a,8a} \cong J_{7a,6} \cong 10,8$, $J_{7a,8e} = 4,1$, H7a); 1,63 (s, 3H, H14); 1,77 (s, 3H, H15); 1,78 - 1,88 (m, 2H, H6 e H8a); 2,00 - 2,06 (m, 1H, H7e); 2,34 (dq,

1H, $J_{11,6} = 12,6$, $J_{11,13} = 6,9$, H11); 2,85 (ddd, 1H, $J_{8e,8a} = 13,8$, $J_{8e,7a} = 4,1$, $J_{8e,7e} = 2,3$, H8e); 2,98 (ddd, 1H, $J_{2,2'} = 17,4$, $J_{2,3} = 7,8$, $J_{2,5} = 1,2$, H2); 3,03 (ddd, 1H, $J_{2',2} = 17,4$, $J_{2',3} = 6,5$, $J_{2',5} = 2,0$, H2'); 4,12 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,8$, H5); 5,67 (ddd, 1H, $J_{3,2} = 7,8$, $J_{3,2'} = 6,5$, $J_{3,5} = 1,4$, H3).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 12,44 (C13); 19,97 (C15); 22,14 (C14); 27,43 (C7); 30,39 (C8); 33,74 (C2); 42,22 (C11); 54,20 (C6); 83,36 (C5); 110,40 (C3); 127,56 (C9); 130,84 (C10); 140,21 (C4); 177,50 (C1); 178,60 (C12).

EM, m/z (%): 264 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$, 32); 246 (26); 218 (15); 191 (90); 175 (23); 145 (32); 131(47); 105 (33); 91 (61); 77 (38); 55 (100); 53 (35).

Dados referentes ao composto **[26]**:

T_f: 162,4 – 163,2°C

CCD: R_f = 0,28 (hexano/acetato de etila 1:3)

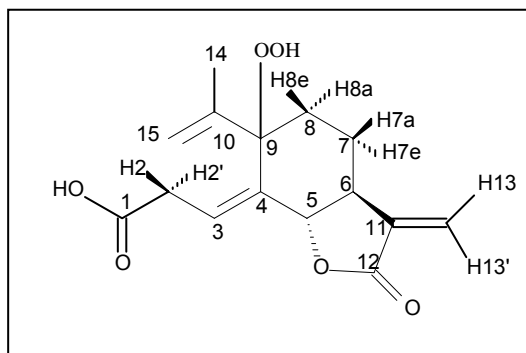
IV (Diclorometano, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3449; 3062; 2971; 2928; 2857; 1777; 1699; 1641; 1458; 1311; 1209; 1177; 1100; 1055; 991; 735; 707; 629.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 0,97 (s, 3H, H14); 1,29 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$, H13); 1,42-1,47 (m, 1H, H8'); 1,75-1,85 (m, 1H, H9'); 1,90 (s, 3H, H15); 2,00-2,25 (m, 3H, H7, H8, H9); 2,32 (dq, 1H, $J_{11,7} = 12,2$, $J_{11,13} = 6,9$, H11); 2,54 (dd, 1H, $J_{2,2} = 19,7$, $J_{2',1} = 5,9$, H2'); 2,60 (dd, 1H, $J_{2,2'} = 19,7$, $J_{2,1} = 3,0$, H2); 3,23 (m, 1H, H1); 4,82 (d, 1H, $J_{6,7} = 11,0$, H6).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 9,45 (C15); 12,50 (C13); 21,32 (C14); 25,89 (C8); 37,17 (C2); 41,44 (C11); 45,38 (C9); 48,51 (C7); 50,51 (C1); 74,46 (C10); 81,49 (C6); 143,12 (C4); 161,30 (C5); 177,15 (C12); 207,71 (C3).

EM, m/z (%): 264 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$, 82); 221 (12); 206 (22); 193 (55); 169 (31); 149 (31); 133 (44); 105 (38); 91 (51); 77 (48); 55 (100); 53 (50).

2.4.11. Síntese do ácido-9-hidroperóxi-isofotossantônico [28].



[28]

A um reator de borossilicato resfriado com água corrente, adicionou-se o composto [27] (450 mg; 1,70 mmol), rosa de bengala (20 mg) e acetonitrila anidra (270 mL). Borbulhou-se a solução com um fluxo contínuo de oxigênio durante 30 minutos. Em seguida, a solução foi irradiada, na região do visível, com lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (250 W) por 5 horas. Ao término da reação, concentrou-se a amostra em evaporador rotatório sob vácuo (40°C), obtendo-se um óleo amarelo. O óleo foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel eluída com a mistura de solventes hexano/acetato de etila 3:2 v/v, obtendo-se o composto [28] como um sólido branco com rendimento de 10% (50 mg; 0,17 mmol).

Dados referentes à mistura de isômeros [28]:

T_f : 162,1-163,3°C.

CCD: $R_f = 0,42$ (hexano/acetato de etila 1:1 v/v).

IV (Diclorometano, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2600-3400, 2968, 2929, 2876, 1769, 1712, 1646, 1550, 1455.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (J/Hz): 1,19 (d, 3H, $J_{13,11'} = 6,9$, H13); 1,60-1,69 (m, 1H, H7a); 1,74-1,82 (m, 2H, H6 e H7e); 1,86 (s, 3H, H14); 1,89-1,98

(m, 1H, H8a); 2,29 (quint., 1H, $J_{11,6} = J_{11,13} = 6,9$, H11); 2,45-2,55 (m, 1H, H8e); 2,97 (ddd, 1H, $J_{2,2'} = 16,5$, $J_{2,3} = 6,0$, $J_{2,5} = 1,8$, H2); 3,61 (dd, 1H, $J_{2',2} = 16,5$, $J_{2',3} = 10,5$, H2'); 4,67 (d, 1H, $J_{5,6'} = 11,4$, H5); 5,12 (s, 2H, H15); 5,92 (ddd, 1H, $J_{3,2'} = 10,5$, $J_{3,2} = 6,0$, $J_{3,5} = 2,4$, H3).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 12,9 (C13); 18,6 (C14); 20,2 (C7); 27,1 (C8); 33,9 (C2); 43,6 (C11); 44,1 (C6); 79,9 (C5); 89,9 (C9), 117,3 (C15); 118,7 (C3); 138,0 (C10); 143,5 (C4); 178,3 (C1); 178,9 (C12).

EM, m/z (%): 296 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_6$, 0,03); 262 (2); 234 (2); 221 (10); 147 (12); 105 (15); 84 (42); 69 (73); 55 (100); 51 (41).

2.5. Ensaio contra células tumorais

Os efeitos citotóxicos dos compostos sintetizados foram avaliados contra as linhagens de células tumorais humanas HL-60 (leucemia), SF-295 (sistema nervoso central), HCT-8 (colon), MDA-MB-435 (melanoma), UACC-257 (melanoma), A549 (pulmão), OVACAR-8 (ovário), A704 (rins), e PC3 (próstata), todas obtidas do Instituto Nacional do Câncer, Bethesda, MD, EUA.

A citotoxicidade foi avaliada através do método do MTT (MOSMAN *et al.* 1983). O ensaio consiste em uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) para formazan, pela atividade da enzima succinil-desidrogenase presente na mitocôndria da célula viável (MOSMANN *et al.*, 1983), permitindo dessa maneira quantificar a porcentagem de células vivas.

As linhagens de células tumorais foram cultivadas em frascos plásticos para cultura (Corning, 25 cm², volume de 50 mL para células aderidas e 75 cm², volume de 250 mL para células em suspensão); utilizando o meio de cultura RPMI 1640 complementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (penicilina/estreptomicina). As células foram incubadas em estufa a 37°C com atmosfera de 5% de CO₂, seguido da observação do crescimento celular com ajuda de microscópio de inversão a cada 24 horas, quando necessário as células foram repicadas em meio de cultura novo, em uma concentração de 0,5-1,0 x 10⁶ células/ mL.

As células em suspensão ou monocamadas foram distribuídas em multiplacas de 96 cavidades numa densidade de 0,3 x 10⁶ células/mL, para células suspensas, 0,7 x 10⁵ células/mL para as aderidas. As substâncias testes (0,09–25 µg/mL), dissolvidas em DMSO, foram incubadas durante 72 horas juntamente com a suspensão de células. A doxorrubicina foi utilizada como controle positivo.

Após o período de incubação, as placas foram centrifugadas (1500 rpm/15 min), e o sobrenadante foi descartado. Cada cavidade recebeu 200 µL da solução de MTT (10% em meio RPMI 1640) e foi reincubada durante 3 horas, em estufa a 37°C com 5% de CO₂. Após esse período, as placas foram novamente centrifugadas (3000 rpm/10 min), o sobrenadante foi desprezado, e

o precipitado foi ressuspenso em 150 μ L de DMSO. Para a quantificação do sal reduzido nas células vivas, as absorbâncias foram determinadas com o auxílio do espectrofotômetro de placa, no comprimento de onda de 550 nm. Essa técnica tem a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula, sendo assim, bastante útil para avaliar a citotoxicidade.

2.6. Ensaio contra células normais (PBMC)

Com intuito de investigar a sensibilidade da proliferação de células normais, as amostras teste foram avaliadas em células mononucleares do sangue periférico (PBMC) durante 72h de exposição (ANSAR *et al.*, 1994). Sangue heparinizado foi coletado de voluntários saudáveis (com idade entre 18 e 25 anos, boa saúde e sem uso de medicamentos) e o PBMC isolado segundo gradiente de centrifugação de Ficoll-Hypaque. Após o isolamento, o PBMC foi ressuspenso em meio RPMI 1640 suplementado com 20% de soro fetal bovino, 100U/mL, 100 μ g/mL de estreptomicina e 4% de fitoemaglutina. As células foram distribuídas em 96 cavidades na concentração de $0,3 \times 10^6$ células/mL, e, após 24h de incubação, adicionou-se a substância teste a cada cavidade. A doxorubicina foi utilizada como controle positivo. 24h antes do fim do período de incubação de 72 h, 10 μ L de solução estoque (0,312 mg/mL) de Alamar blue foi adicionada a cada poço.

As absorbâncias foram determinadas com o auxílio do espectrofotômetro de placa, nos comprimentos de onda de 570 nm e 595 nm. O efeito da droga foi quantificado como porcentagem do controle.

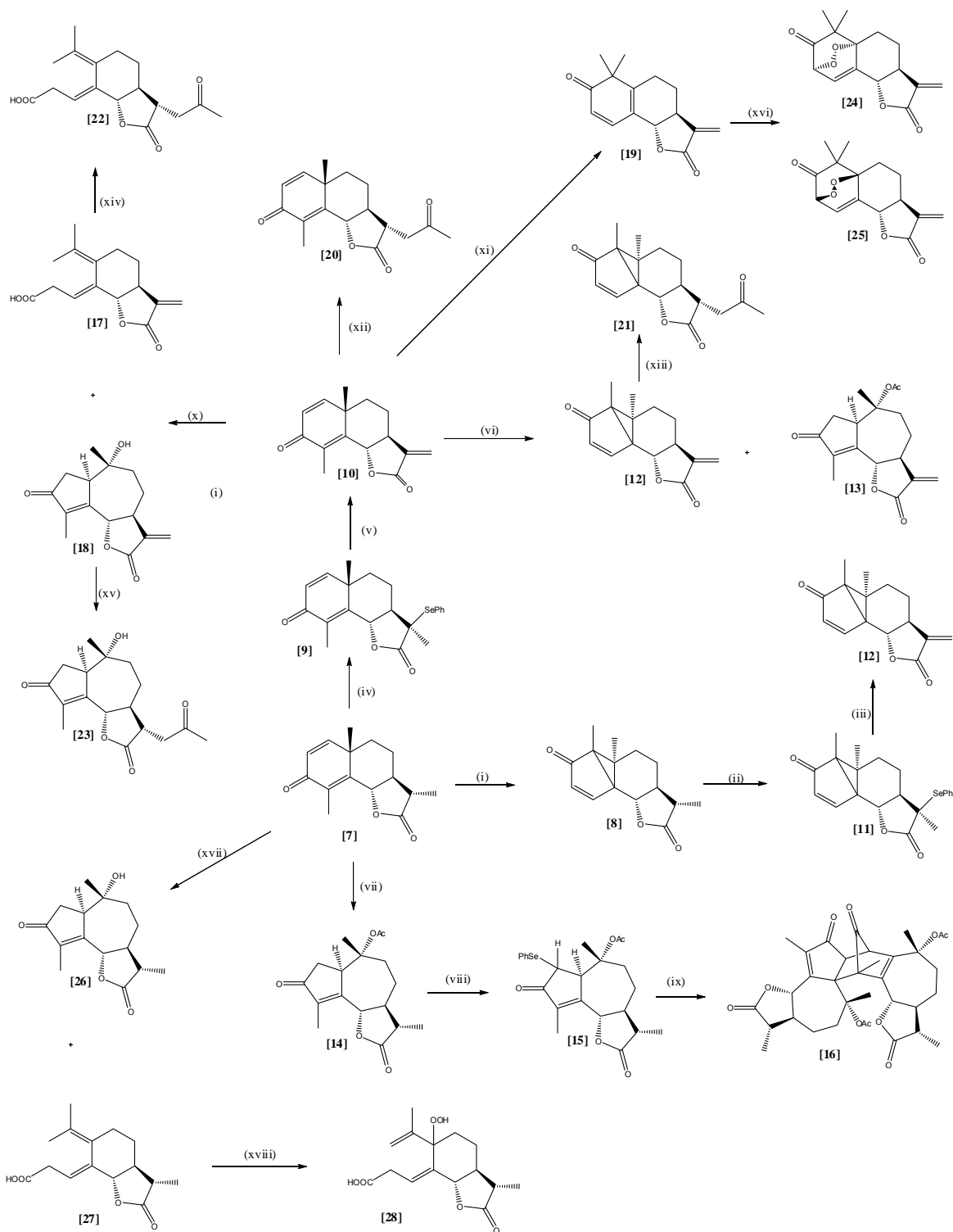
A técnica do Alamar blue (resazurina) faz uso de um indicador de oxidação-redução (redox), o Alamar Blue ou resazurina (azul e não fluorescente) que é reduzido por células viáveis a resorufina (róseo e altamente fluorescente) (ZHI-JUN *et al.*, 1997).

2.6. Análise Estatística.

Os valores de IC₅₀ e seus intervalos de confiança a 95% foram obtidos por regressão não-linear usando o programa Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como observado no Esquema 1, as investigações realizadas nesse trabalho resultaram na obtenção de 21 compostos [8-28] a partir da α -santonina [7], disponível comercialmente. Esses compostos foram preparados por meio de diferentes tipos de reações (reações fotoquímicas, como por exemplo, fotooxigenação e fotoadição e reações de oxidação). As reações fotoquímicas foram realizadas sob diversas condições, variando-se o solvente, a fonte de radiação e o tipo de reator.



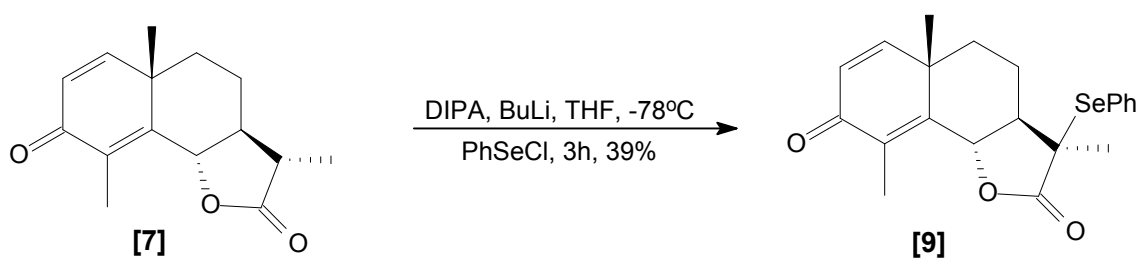
Esquema 1: i) $h\nu$, CH_3CN anidra, RQ, 25°C , 2h, [8]/83%; ii) LDA, PhSeCl, THF, -78°C , 3h, [11]/49%; iii) H_2O_2 , AcOH, THF, 0°C , 1h, [12]/73%; iv) LDA, PhSeCl, THF, -78°C , 3h, [9]/39%; v) H_2O_2 , AcOH, THF, 0°C , 2h, [10]/72%; vi) $h\nu$, AcOH anidro, RQ, 25°C , 4h, [12]/18%, [13]/4,5%; vii) $h\nu$, AcOH anidro, RB, 25°C , 23h, [14]/26%; viii) LDA, PhSeCl, THF, -78°C , 3h, [15]/11%; ix) H_2O_2 , AcOH, THF, 0°C , 2h, [16]/19%; x) $h\nu$, AcOH/ H_2O 1:1 v/v, RB, 25°C , 21h, [17]/48%, [18]/36%; xi) $h\nu$, CH_3CN anidra, RQ, 16h, [19]/100%; xii), (xiii), (xiv) e (xv) $h\nu$, CH_3CHO destilado, RB, 25°C , 22h, [20]/45%, [21]/36%, [22]/45%, [23]/52%; xvi) $h\nu$, O_2 , rosa de bengala, CH_3CN anidra, RB, 25°C , 5h, [24 e 25]/29%; xvii) $h\nu$, AcOH/ H_2O 1:1 v/v, RB, 25°C , 21h, [26]/32%, [27]/44%; xviii) $h\nu$, O_2 , rosa de bengala, CH_3CN anidra, RB, 25°C , 5h, [28]/10%.

3.1. Síntese de compostos contendo o grupo α -metileno- γ -butirolactona.

KUPCHAN *et al.* (1971) reportaram que a atividade citotóxica de lactonas sesquiterpênicas está associada principalmente à presença do grupo α -metileno- γ -butirolactona. Dessa forma foram sintetizados os compostos [10], [12], [13], [17], [18], [19], [24] e [25], que possuem o grupo α -metileno- γ -butirolactona, para posterior avaliação da atividade citotóxica. A síntese e a caracterização estrutural dos compostos [24] e [25] serão discutidas mais adiante, no tópico 3.3.

Para a síntese da α -metileno- γ -lactona [10] foi necessário, inicialmente, obter a lactona [9], que possui um grupo Fenilselenil (PhSe-) na posição α ao grupo carbonila do anel lactônico.

O composto [9] foi sintetizado pela reação da α -santonina [7] com o cloreto de fenilselênio (PhSeCl), na presença de diisopropilamido de lítio (LDA) produzido *in situ*, pela reação entre diisopropilamina (DIPA) e o butillítio previamente titulado. A reação foi mantida a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ e sob atmosfera de nitrogênio (Esquema 2).



Esquema 2- Síntese do composto [9].

A lactona [9] foi isolada como um sólido branco cristalino com rendimento de 39%. O espectro no infravermelho (Figura A1 do Anexo 1) apresentou duas bandas em 693 e 742 cm^{-1} , referentes à deformação angular das ligações $=\text{C}-\text{H}$ do anel aromático monossustituído; bandas em 1769 e 1665 cm^{-1} correspondentes à carbonila da lactona e da cetona α , β -insaturada,

respectivamente; e bandas em 1636 e 1615 cm^{-1} que foram atribuídas aos estiramentos dos carbonos sp^2 vizinhos à carbonila da cetona.

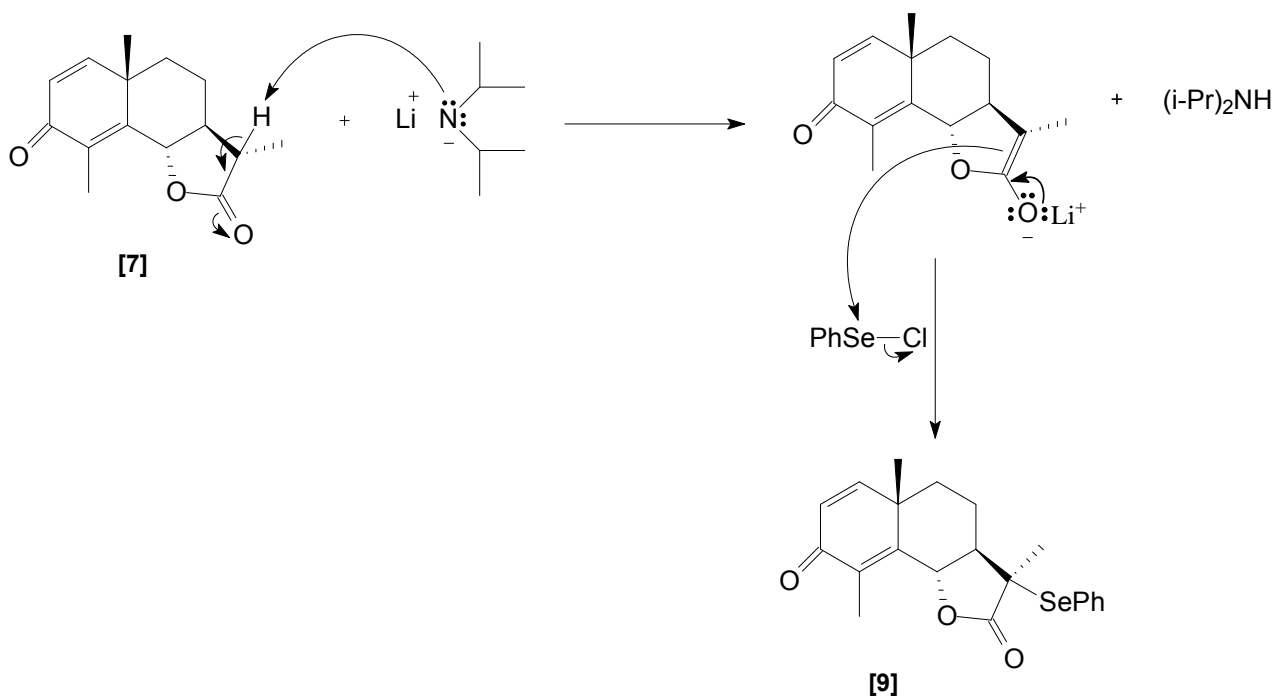
O espectro de RMN de ^1H (Figura A2 do Anexo 1) apresentou sinais na região de δ_{H} 7,35 a 7,65, que comprovam a presença do anel aromático na estrutura do composto **[9]**: observou-se um tripleto em δ_{H} 7,35 ($J_{3',2'} = J_{3',4'} = 7,3$) referente aos hidrogênios equivalentes H3' e H5'; um tripleto em $\delta_{\text{H}} = 7,45$ correspondente ao hidrogênio H4'; e um duplete em δ_{H} 7,65 referente aos hidrogênios equivalentes H2' e H6'.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura A3 do Anexo 1), os sinais referentes aos carbonos do anel aromático aparecem em δ_{C} 123,9 (C1'), 129,2 (C2', C6'), 130,03 (C4') e 138,22 (C3', C5'). Os sinais das carbonilas da lactona e da cetona α,β -insaturada aparecem em δ_{C} 174,7 e 186,2, respectivamente.

Todos os átomos de hidrogênio e carbono tiveram suas atribuições confirmadas por meio da análise dos experimentos bidimensionais NOESY (Figura A4 do Anexo 1) e HMBC (Figura A5 do Anexo 1).

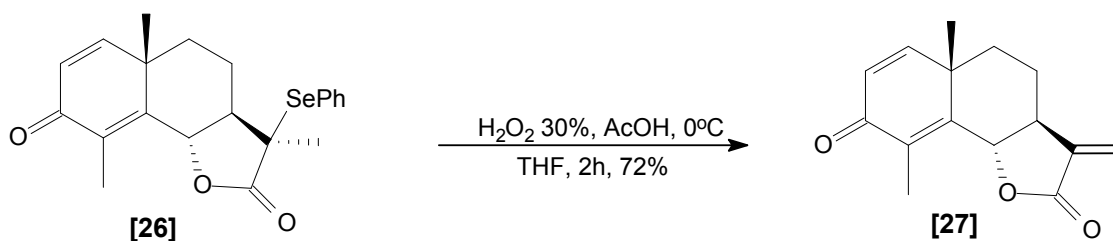
A massa molecular do composto **[9]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura A6 do Anexo 1), que apresentou o pico do íon molecular em m/z 402.

Como comentado anteriormente, o diisopropilamido de lítio (LDA) é produzido *in situ*, pela reação da diisopropilamina com butillítio. O LDA presente no meio reacional remove o hidrogênio α à carbonila lactônica da α -santonina **[7]**, produzindo o enolato de lítio, que reage com o cloreto de fenilselênio, levando à formação do composto **[9]**. Uma proposta de mecanismo dessa reação está apresentado no Esquema 3:



Esquema 3- Mecanismo de formação do composto **[9]**.

Visando a síntese da α -metileno- γ -butirolactona **[10]**, o composto **[9]** foi submetido à reação de oxidação com H_2O_2 30% em presença de ácido acético, a 0°C (Esquema 4).



Esquema 4- Preparo do composto **[10]**.

A lactona **[10]** foi obtida como um sólido amarelo, com rendimento de 72%. No espectro no infravermelho (Figura A7 do Anexo 1) observou-se que as bandas correspondentes ao estiramento das ligações $\text{C}=\text{C}$ aparecem em 1615 e 1635 cm^{-1} . As bandas referentes à carbonila da lactona e da cetona foram observados em 1777 e 1663 cm^{-1} , respectivamente.

Na análise do espectro de RMN de ^1H (Figura A8 do Anexo 1) observou-se a ausência dos sinais na região de δ_{H} 7,35 a 7,65 relativos aos hidrogênios

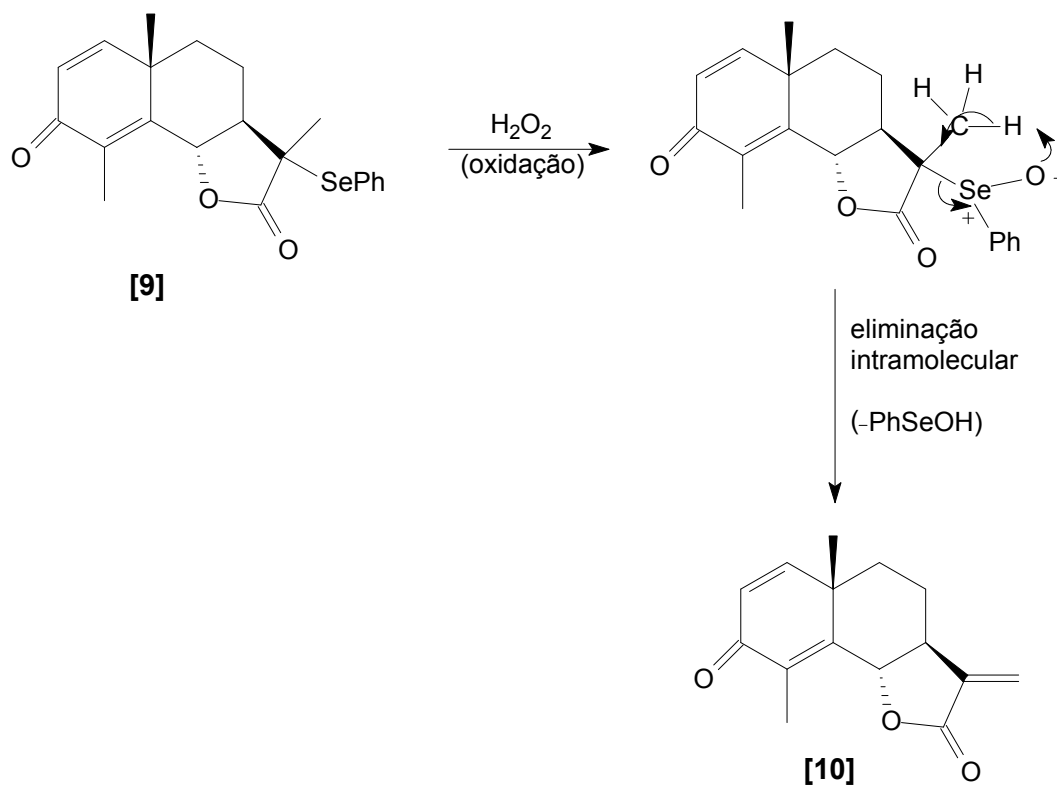
do anel aromático e a presença de dois dupletos em δ_{H} 5,56 e 6,24 ($J_{13,13'} = 2,9$ Hz), que correspondem, respectivamente, aos hidrogênios H13 e H13' da ligação dupla exocíclica, o que comprova a formação do composto **[10]**.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura A9 do Anexo 1) apresentou sinais em δ_{C} 119,6 e 137,6 referentes aos carbonos C13 e C11 (dupla ligação exocíclica), respectivamente, e sinais em δ_{C} 169,0 e 186,2, correspondentes à carbonila da lactona e da cetona, respectivamente.

Todos os átomos de hidrogênio e carbono foram atribuídos de maneira inequívoca por meio da análise do experimento bidimensional HMBC (Figura A10 do Anexo 1).

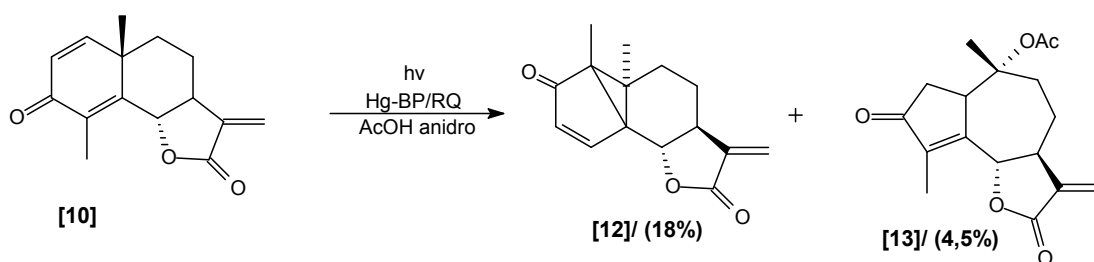
A massa molecular do composto **[10]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura A11 do Anexo 1), que apresentou o pico do íon molecular com intensidade de 45% em m/z 244.

Mecanicamente, duas etapas são envolvidas na conversão da substância com grupo α -fenilselênio na lactona α,β -insaturada **[10]**. A primeira etapa é uma oxidação realizada na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e que resulta na formação de um selenóxido. A segunda é uma eliminação intramolecular espontânea, na qual o átomo de oxigênio de carga negativa ligado ao átomo de selênio age como base. O mecanismo da reação está ilustrado no Esquema 5.



Esquema 5- Proposta mecanística para a formação da lactona α , β -insaturada [10].

Objetivando a síntese do composto [12], o composto [10] foi submetido à reação fotoquímica, na qual se utilizou reator de quartzo e lâmpadas de vapor de mercúrio de baixa pressão e ácido acético anidro como solvente (Esquema 6).



Esquema 6- Síntese dos compostos [12] e [13] a partir da lactona [10].

O composto **[12]** foi isolado como um sólido amarelo cristalino com rendimento de 18%. Nessa reação foi isolado também o composto **[13]**, obtido como um sólido branco cristalino com rendimento de 4,5%.

O composto **[13]** foi caracterizado por meio das espectroscopias no infravermelho, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , dos experimentos bidimensionais HMBC e NOESY e também dos dados da espectrometria de massas. O espectro no infravermelho (Figura 1) apresentou bandas de absorção em 1705, 1727 e 1771 cm^{-1} referentes às carbonilas da cetona, do grupo acetil e da lactona α,β -insaturada, respectivamente. A banda de absorção relativa ao estiramento da ligação C=C vizinha à carbonila da lactona aparece em 1645 cm^{-1} .

O espectro de RMN de ^1H (Figura 2) apresentou simpletos em δ_{H} 1,10, 1,95 e 2,01 correspondentes às metilas H14, H15 e à metila do grupo acetila, respectivamente; dois dupletos em δ_{H} 5,61 e 6,33, referentes aos hidrogênios (H13 e H13') da dupla ligação exocíclica ($J_{13,13'} = 3,2$ Hz); dois dupletos duplos em δ_{H} 2,43 e 2,54, que foram atribuídos aos hidrogênios H2' e H2, que apresentaram um acoplamento geminal ($J_{2,2'} = 19,3$ Hz) e um acoplamento vicinal com H1 ($J_{2',1} = 6,2$ Hz; $J_{2,1} = 2,1$ Hz); e também um duplete triplo relativo ao hidrogênio H9- α , que apresentou um acoplamento geminal com H9' ($J_{9,9'} = 13,4$ Hz) e um acoplamento vicinal com H8 e H8' ($J_{9,8} = J_{9,8'} = 4,4$ Hz).

A atribuição de hidrogênios ligados ao mesmo carbono, porém apresentando deslocamentos químicos diferentes, foi feita por meio da análise de modelos tridimensionais, pela intensidade das constantes de acoplamento (J) e por intermédio do experimento bidimensional NOESY, que mostra correlações entre hidrogênios que se encontram próximos espacialmente, possibilitando prever a estereoquímica dos mesmos. O mapa de contornos deste experimento (Figura 3) apresenta, por exemplo, uma correlação entre os hidrogênios H1 e H9, evidenciando que H9, assim como H1, é um hidrogênio α . Outra correlação observada no mapa de contorno ocorre entre os hidrogênios H6 e H8', o que nos mostra que estes hidrogênios estão espacialmente próximos.

O mapa de contornos NOESY nos permitiu, também, prever a estereoquímica do hidrogênio H1- α e da metila H14- β . Foram observadas

correlações intensas entre H1 e H7 e entre H6 e H14, confirmando as estereoquímicas propostas.

Analisando o espectro de RMN de ^{13}C (Figura 4) do composto observou-se sinais em δ_{C} 120,8 (C13); 137,6 (C11); 143,2 (C4) e 160,3 (C5) que foram atribuídos aos carbonos de ligação dupla e também sinais em δ_{C} 168,6; 170,4 e 206,8 referentes às carbonilas da lactona, do grupo acetil e da cetona, respectivamente.

Todas as atribuições de carbonos e hidrogênios foram confirmadas pelo experimento bidimensional HMBC (Figura 5), que correlaciona hidrogênios e carbonos distantes duas ou três ligações. Ao se analisar a estrutura do composto **[13]**, observa-se que os hidrogênios H15 devem apresentar correlações com C3, C4 e C5, já que esses carbonos se encontram a duas ou três ligações dos hidrogênios H15. Tais correlações são observadas claramente no mapa de contorno HMBC (Figura 5).

A massa molecular do composto **[13]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura 6), que apresentou o pico do íon molecular em m/z 304.

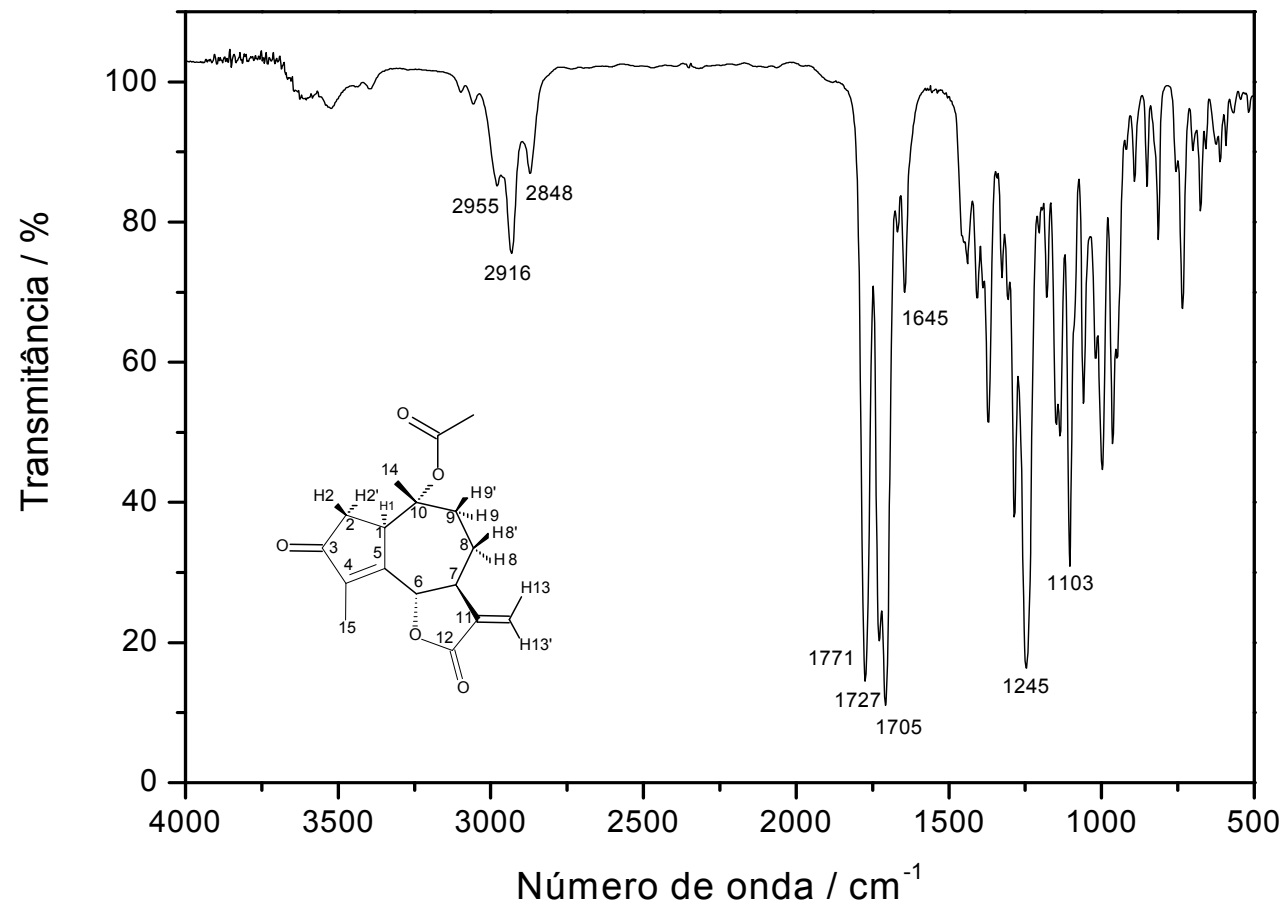


Figura 1- Espectro no infravermelho (IV) do composto **[13]**

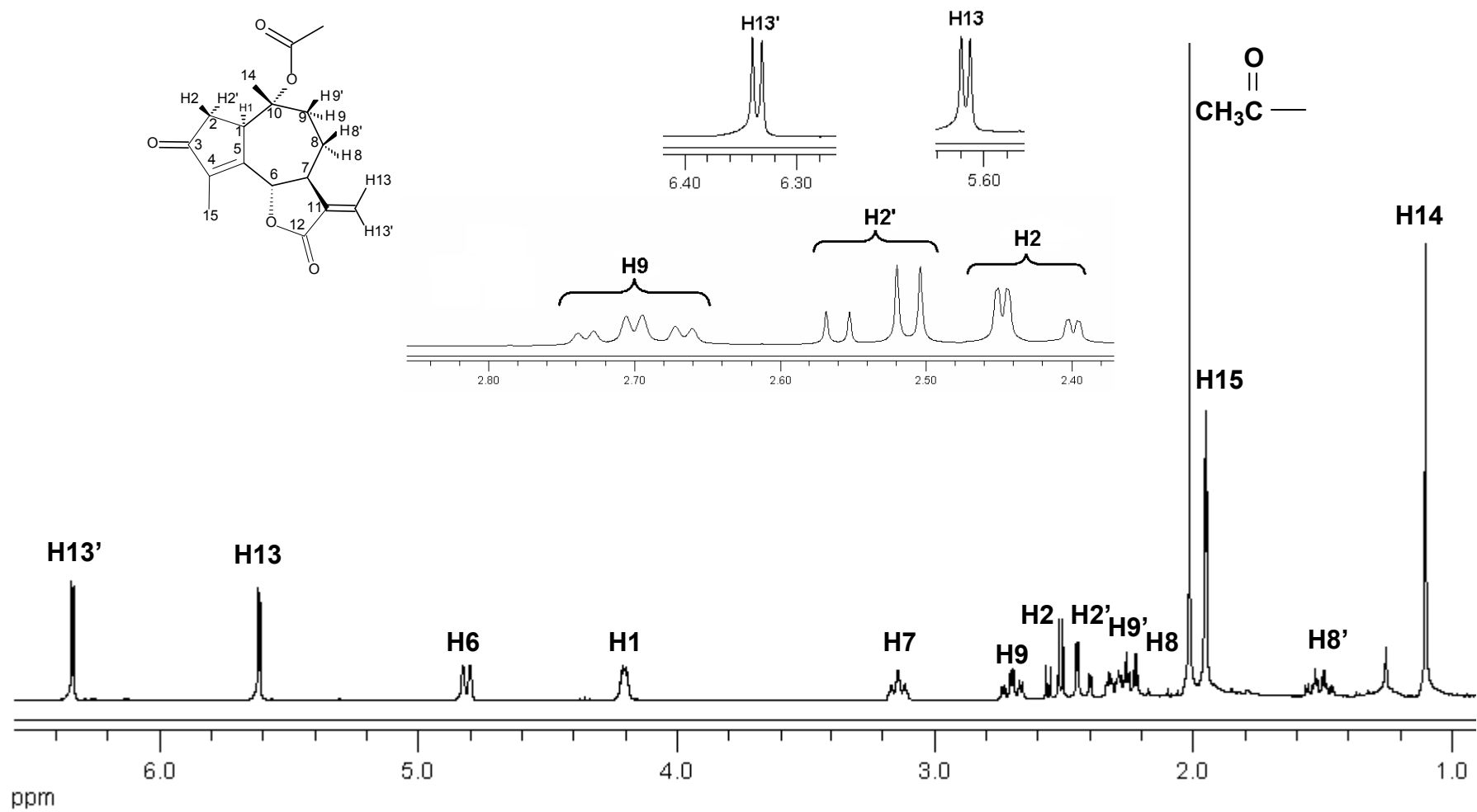


Figura 2- Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto [13]

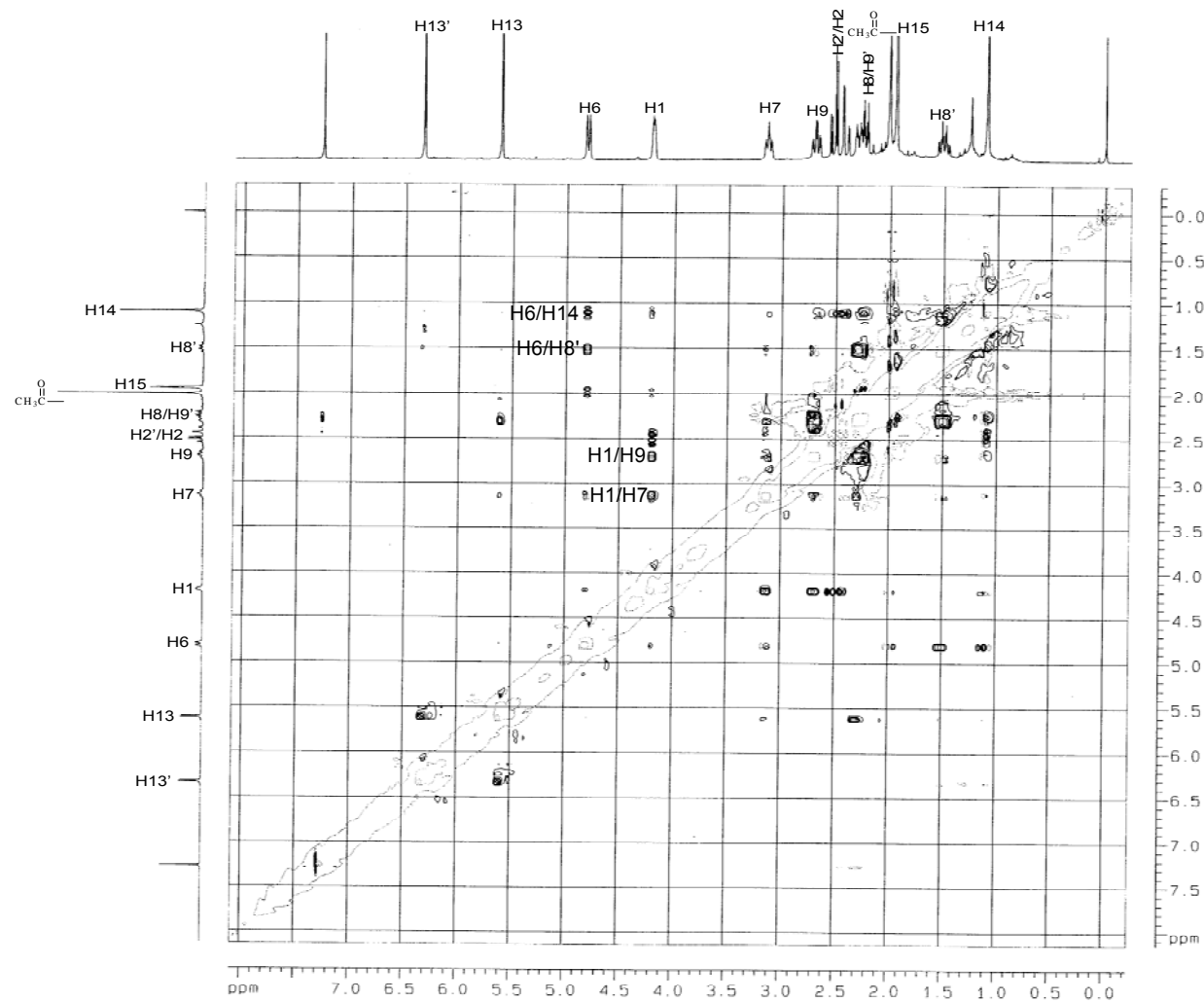


Figura 3- Mapa de contornos NOESY do composto [13]

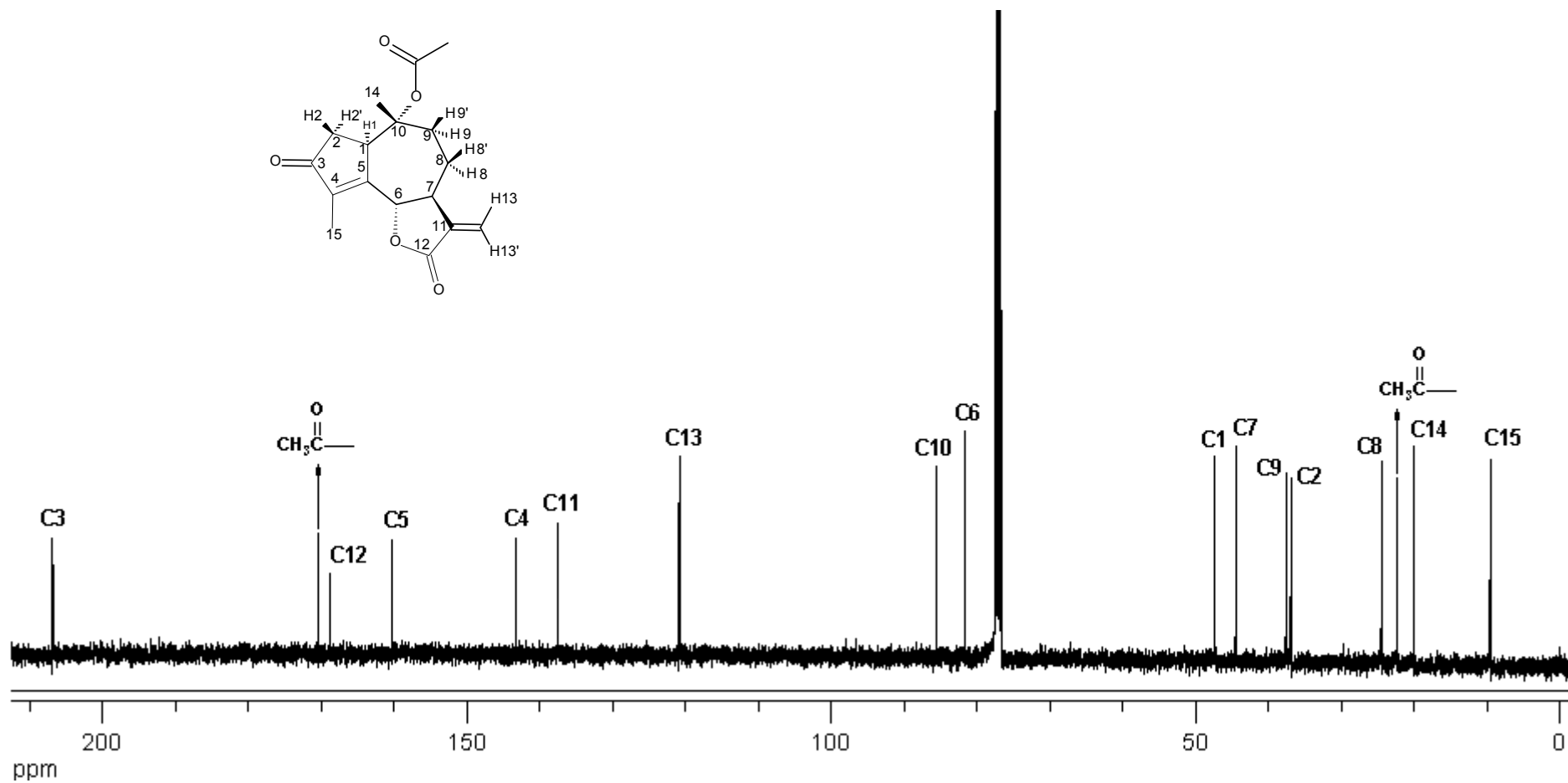


Figura 4- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto [13]

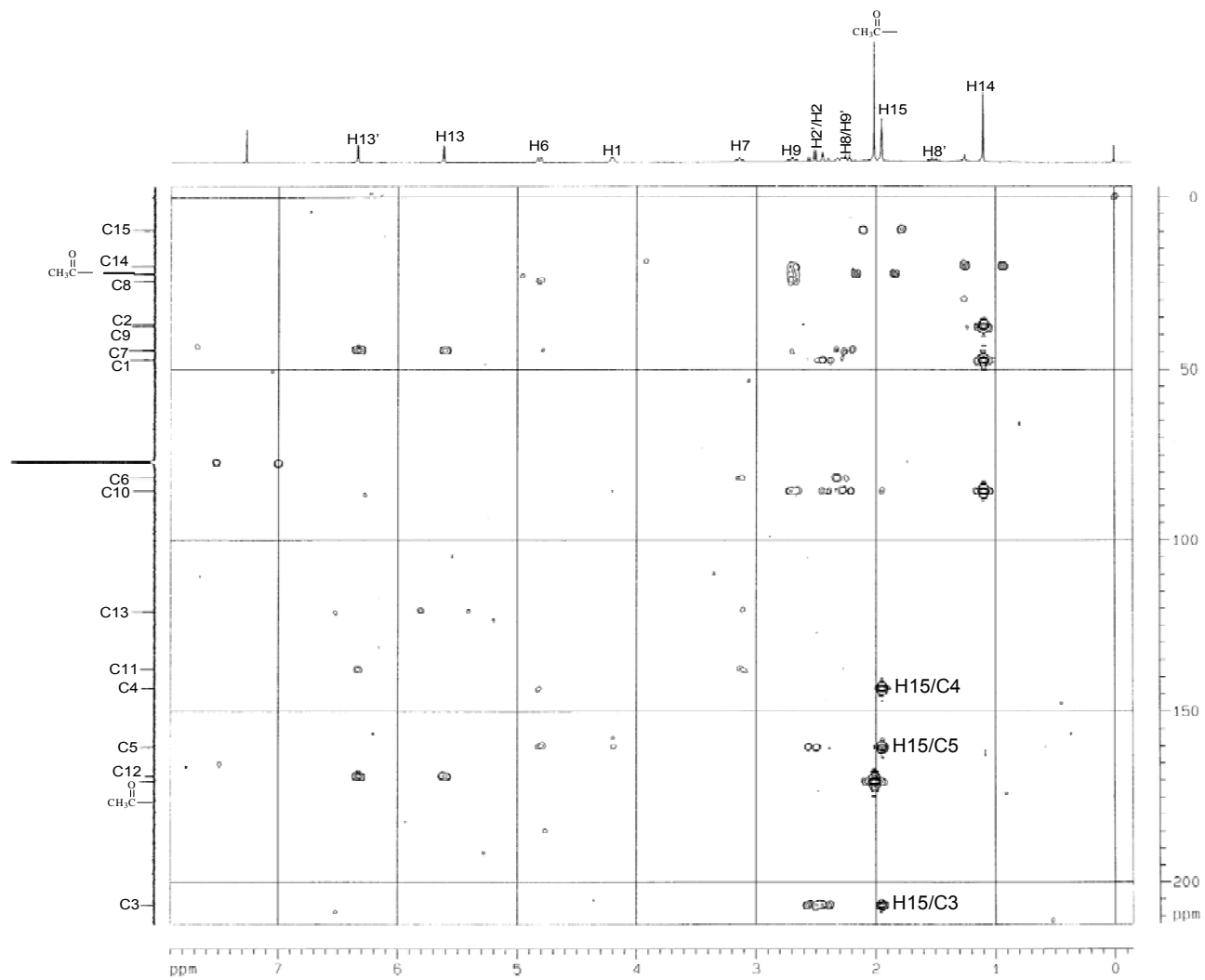


Figura 5- Mapa de contornos HMBC do composto [13]

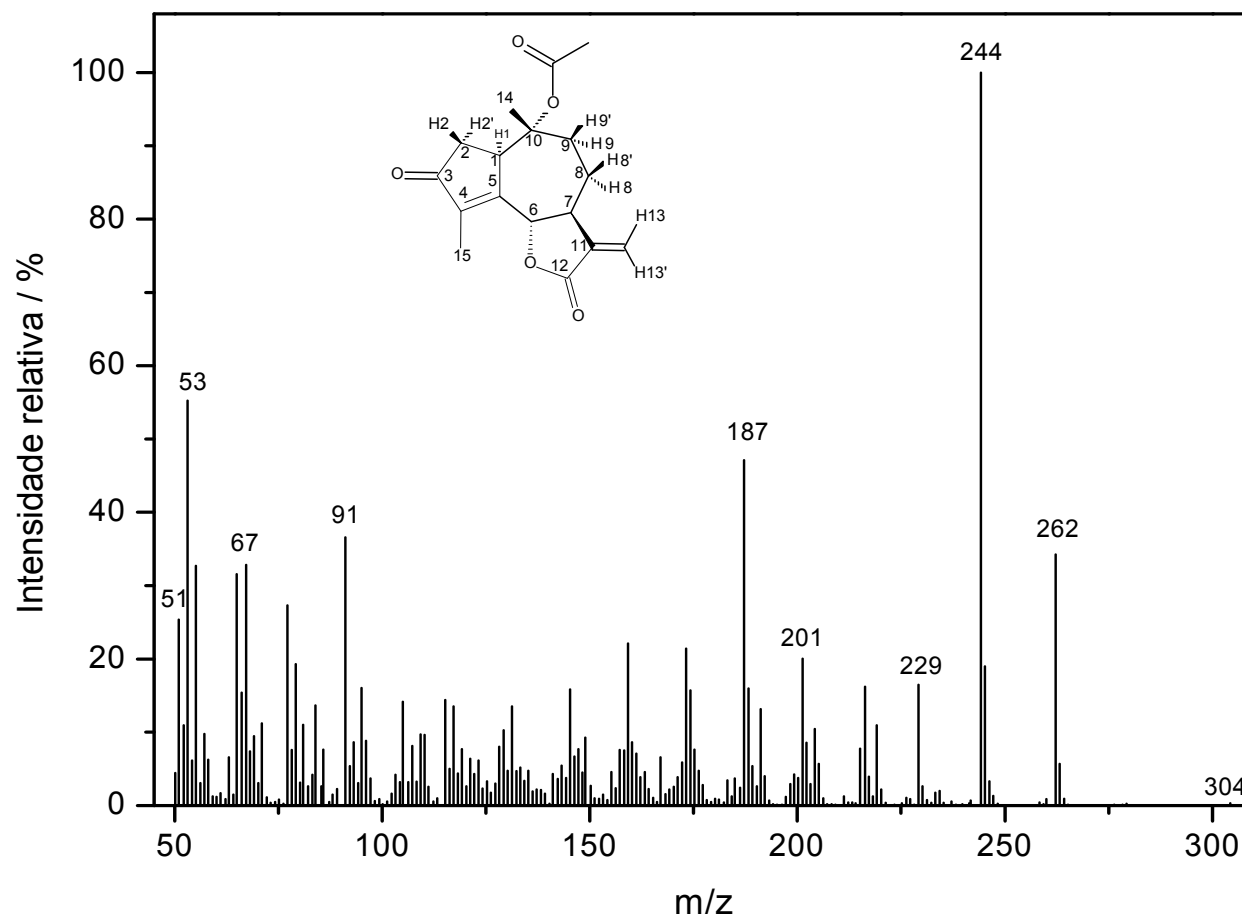
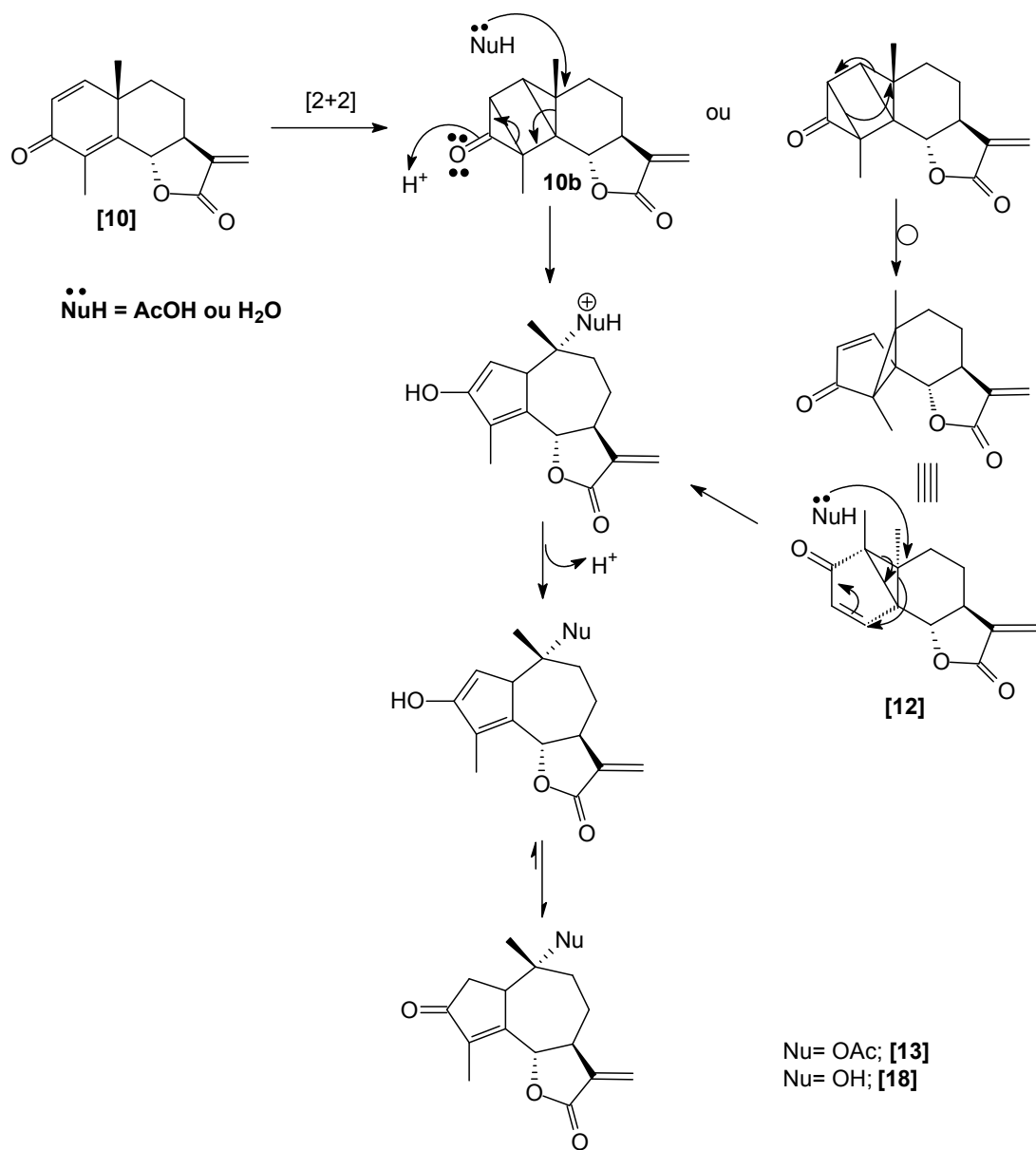


Figura 6- Espectro de massas do composto [13]

Segundo BARTON *et al.*, (1958 a), a formação do composto **[13]** pode ser entendida considerando-se dois mecanismos distintos (Esquema 7): num desses mecanismos, favorecido à temperatura ambiente, há a formação do intermediário instável **10b**, que por ação do ácido acético pode ser convertido no composto **[13]**. O segundo mecanismo ocorre via lactona **[12]**, e é favorecido quando o ácido acético se encontra sob refluxo. Na síntese do composto **[13]**, utilizou-se reator de quartzo e lâmpadas de mercúrio de baixa pressão (15W). Dessa forma, esperava-se que a temperatura da reação fosse mantida a 25°C, já que as lâmpadas de baixa pressão são consideradas lâmpadas frias, por não aquecerem o ambiente onde estão sendo utilizadas. No entanto, durante o progresso da reação observou-se que o reator de quartzo se encontrava aquecido. Portanto a reação ocorreu, provavelmente, com a participação do intermediário **[12]**. Caso esta afirmação seja verdadeira, o baixo rendimento obtido na síntese do composto **[13]** pode ser explicado pelo fato da reação ter sido interrompida após o consumo do material de partida **[10]**. Para um melhor rendimento de **[13]** seria necessário o consumo total do intermediário **[12]**. Outra explicação para o baixo rendimento de **[13]** é a possibilidade de reações laterais devido ao aquecimento do meio reacional. Um estudo cinético da reação por meio de métodos espectroscópicos, como, por exemplo, RMN de ^1H , poderia confirmar se **[13]** é realmente gerado via **[12]**.



Esquema 7- Propostas mecanísticas para a formação dos compostos **[12]** e **[13]**.

O espectro no infravermelho do composto **[12]** (Figura 7) apresentou bandas muito intensas em 1775 e 1698 cm^{-1} referentes aos estiramentos das carbonilas da lactona e do grupo cetona, respectivamente, e uma banda de baixa intensidade em 1568 cm^{-1} correspondente ao estiramento da dupla ligação exocíclica. Comparando-se os espectros no infravermelho do composto **[10]** com o do composto **[12]** observou-se que a banda referente ao estiramento da carbonila da cetona que no composto **[10]** foi observada em 1663 cm^{-1} agora foi observada em 1698 cm^{-1} devido à ausência de uma das duplas conjugadas.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 8) observou-se simpletos em δ_{H} 1,17 e 1,25 atribuídos aos hidrogênios metílicos H14 e H15 respectivamente; um duplete em δ_{H} 3,82 ($J_{6,7} = 11,2$ Hz) referente ao hidrogênio H6 desblindado pelo oxigênio adjacente; dois dupletos em δ_{H} 6,06 e 7,65 ($J_{3,4} = 5,8$ Hz), correspondentes aos hidrogênios H3 e H4, e dois dupletos em δ_{H} 5,50 e 6,19 ($J_{13,13'} = 3,1$ Hz) referentes aos hidrogênios H13 e H13' da dupla ligação exocíclica.

Analisando o espectro de RMN de ^{13}C do composto (Figura 9) observou-se sinais em δ_{C} 119,2 (C13); 131,5 (C3); 138,4, (C11) e 157,1 (C4) que foram atribuídos aos carbonos das ligações dupla e também sinais em δ_{C} 170,0 e 206,4 referentes às carbonilas da lactona, e do grupo cetona, respectivamente.

Todos os átomos de hidrogênio e carbono tiveram suas atribuições confirmadas por meio da análise dos experimentos bidimensionais NOESY (Figura 10) e HMBC (Figura 11).

A massa molecular do composto **[12]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura 12), que apresentou o pico do íon molecular com intensidade de 30% em m/z 244.

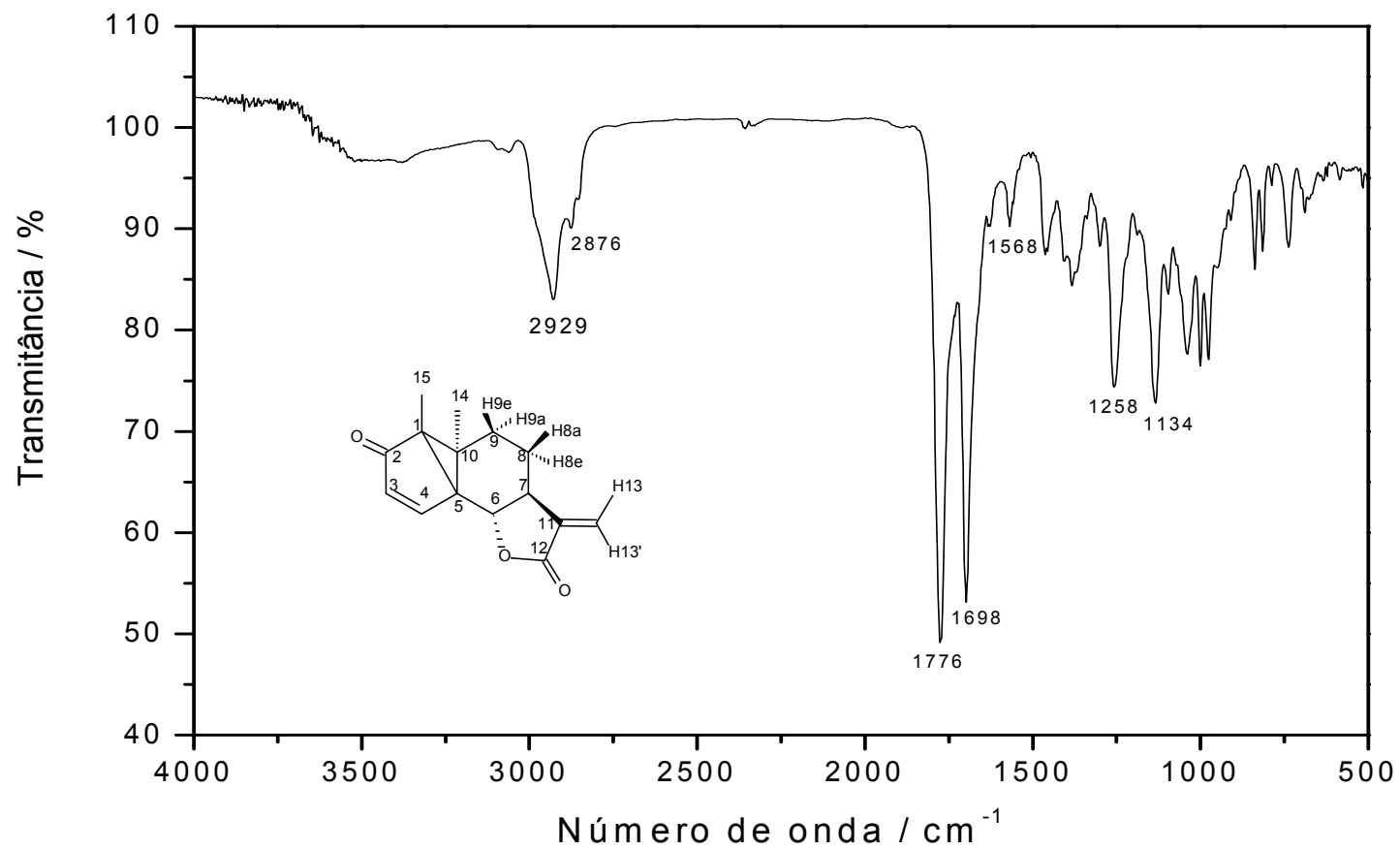


Figura 7- Espectro no infravermelho (IV) do composto [12].

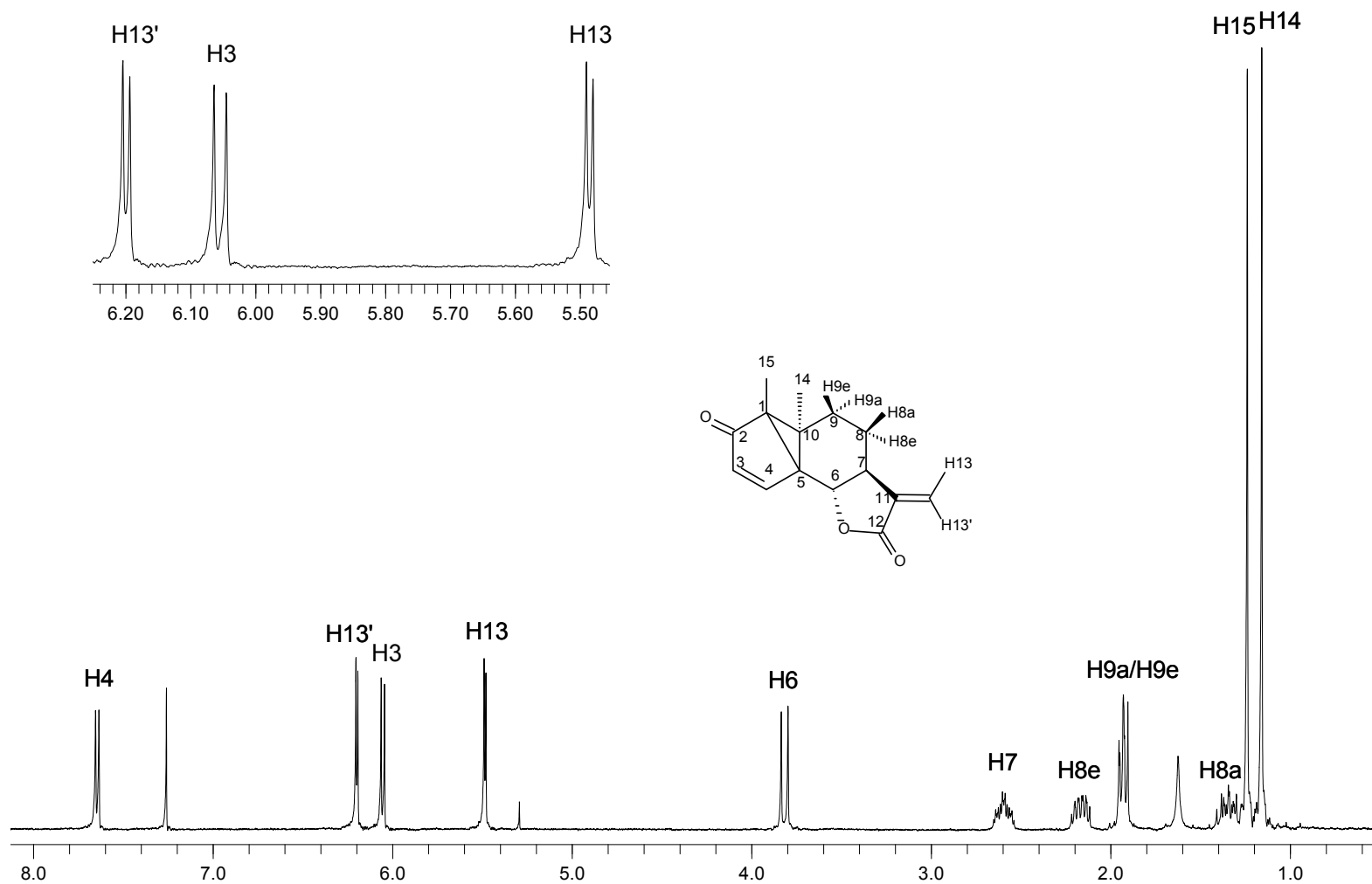


Figura 8- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto [12].

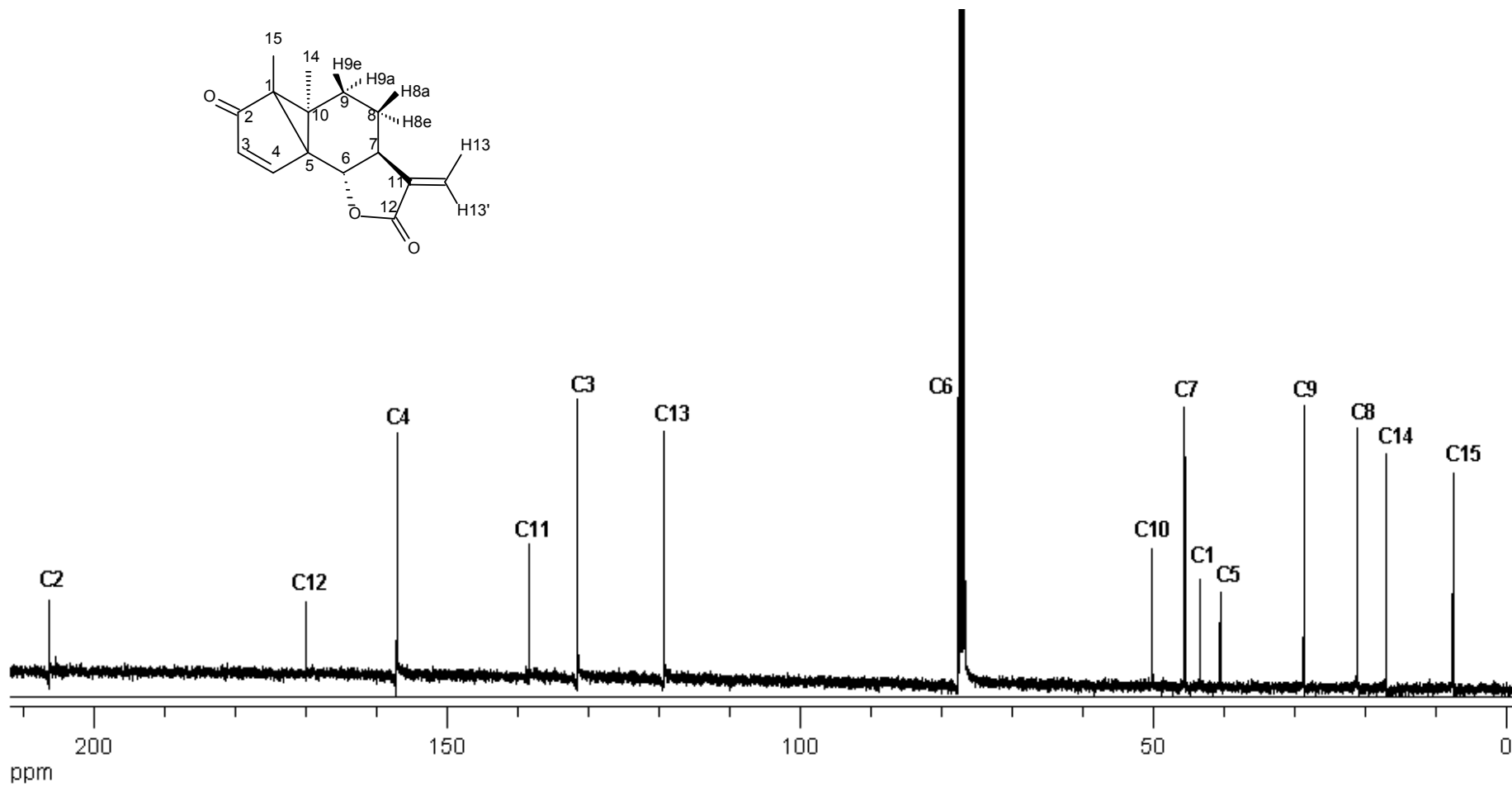


Figura 9- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto [12].

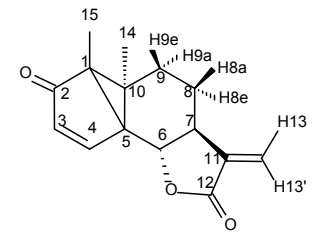
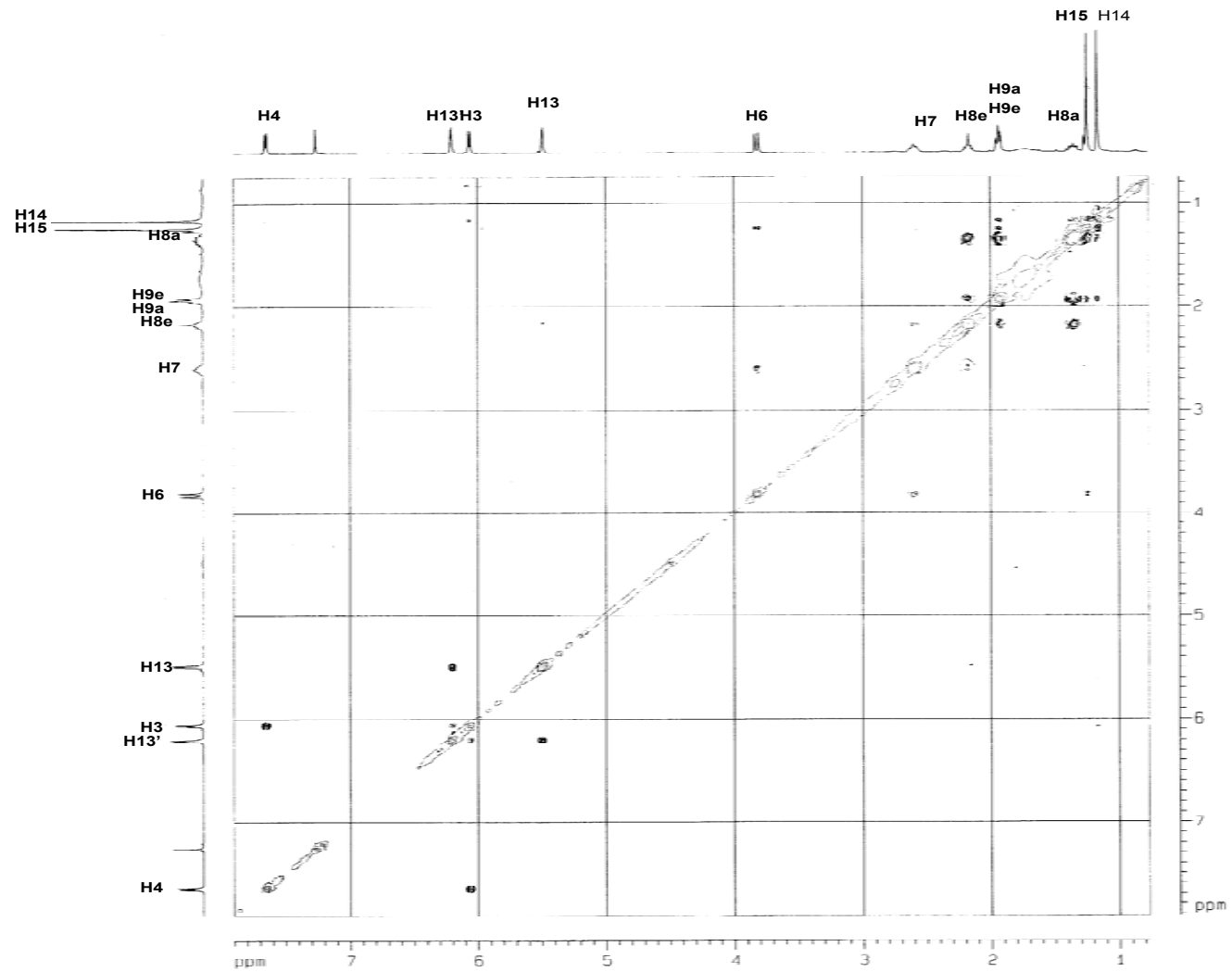


Figura 10- Mapa de Contornos NOESY do composto [12].

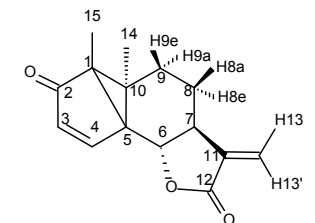
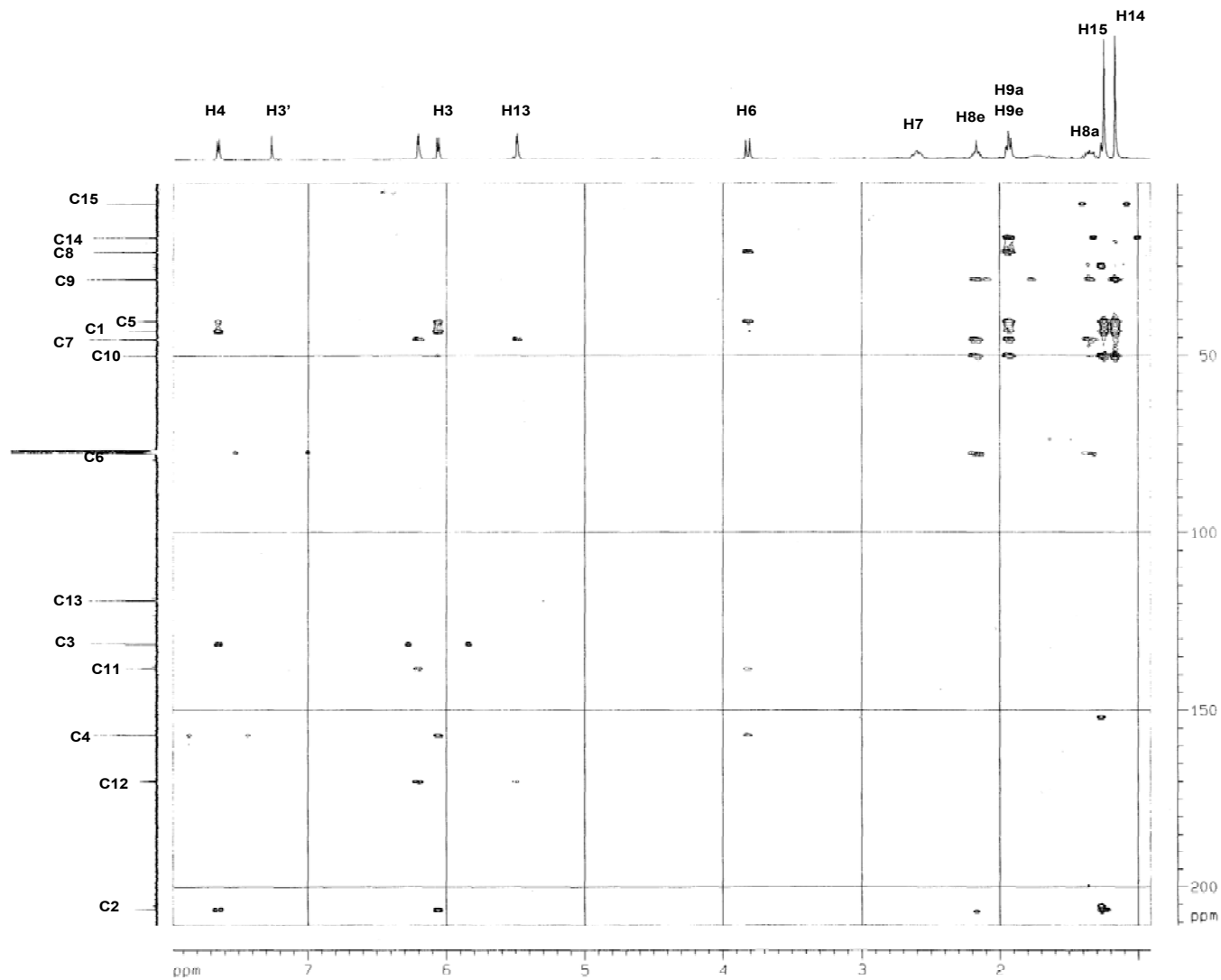


Figura 11- Mapa de contornos HMBC do composto [12].

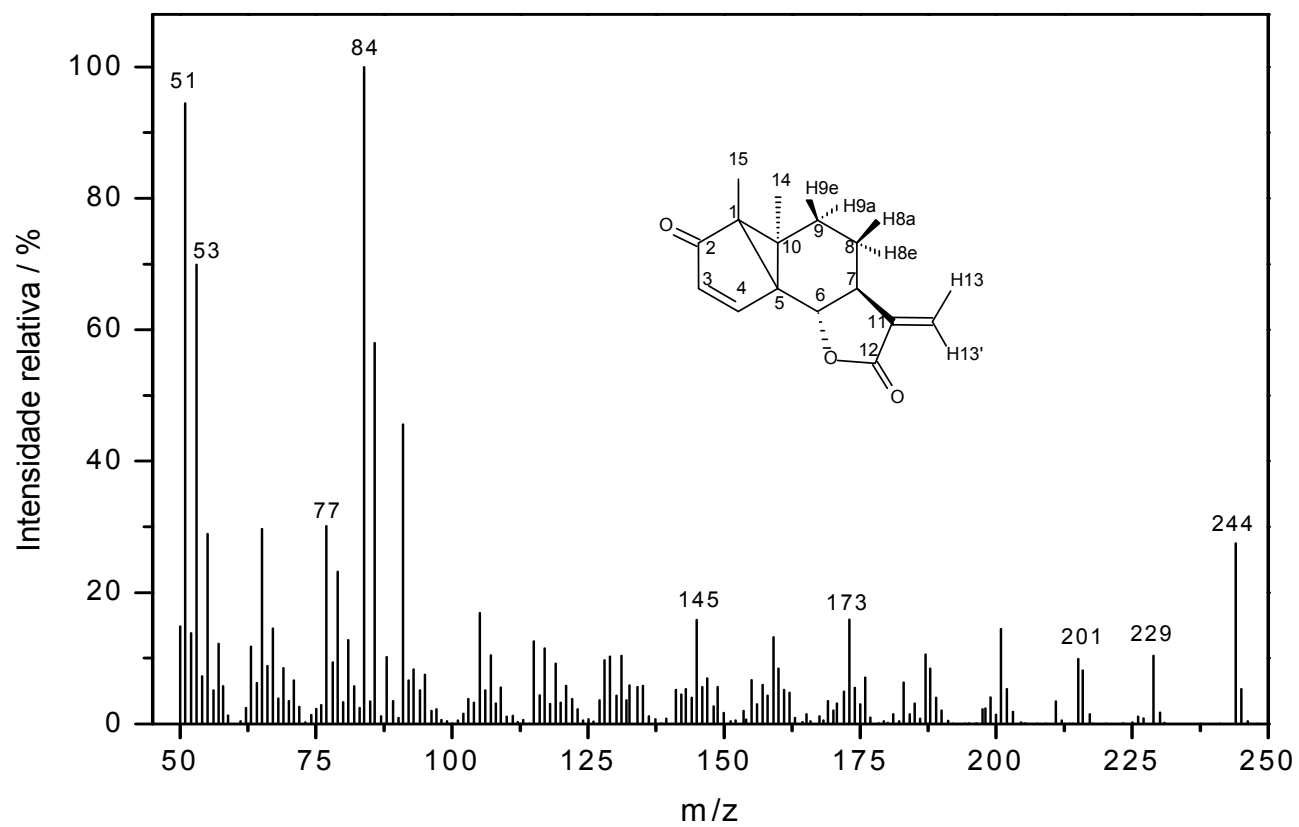
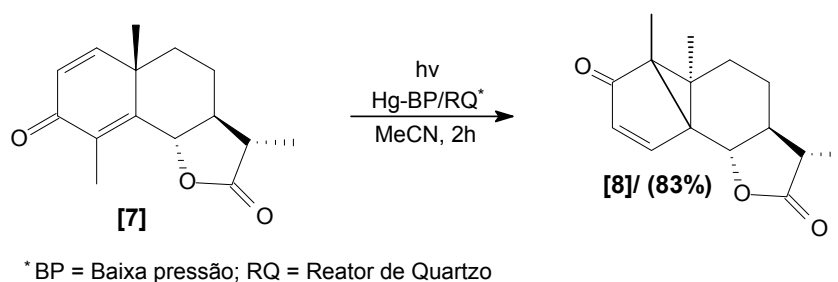


Figura 12- Espectro de massas do composto [12].

Considerando o baixo rendimento alcançado na obtenção do composto **[12]**, buscou-se uma rota sintética alternativa para a preparação dessa substância. Nessa rota alternativa, o material de partida foi a α -santonina, que na presença de luz ultravioleta foi convertida na lumissantonina **[8]**, conforme mostrado no Esquema 8.



Esquema 8: Síntese da lumissantonina **[8]**.

O espectro no infravermelho (Figura A12 do Anexo 1) da lumissantonina **[8]** apresentou bandas muito intensas em 1783 e 1699 cm^{-1} referentes aos estiramentos das carbonilas da lactona e do grupo cetona, respectivamente, e uma banda de baixa intensidade em 1570 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação dupla carbono-carbono.

No espectro de RMN de ^1H de **[8]** (Figura A13 do Anexo 1) observou-se simpletos em δ_{H} 1,11 e 1,22 atribuídos aos hidrogênios metílicos H14 e H15, respectivamente, e um duplete em δ_{H} 1,25 ($J_{13,11} = 6,9$ Hz) referente ao hidrogênio metílico H13. Os hidrogênios da ligação dupla (H3 e H4) aparecem como dupletos devido ao acoplamento entre eles ($J_{3,4} = 5,7$ Hz).

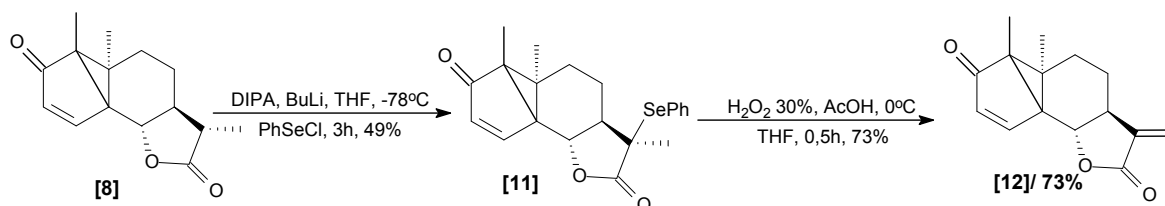
O espectro de RMN de ^{13}C (Figura A14 do Anexo 1) apresentou um sinal em δ_{C} 77,9 referente ao C6 desblindado pelo oxigênio e dois sinais em δ_{C} 178,9 e 206,9 que correspondem às carbonilas da lactona e da cetona α,β -insaturada, respectivamente. Na região de carbonos hibridizados sp^2 (C=C) observou-se apenas dois sinais em δ_{C} 131,7 e 158,0 que foram atribuídos a C3 e C4, respectivamente, o que confirma a formação da

lumissantonina **[8]**, já que seriam observados quatro sinais nessa região caso a reação não se processasse.

Os sinais relativos aos átomos de hidrogênio e carbono do composto **[8]** foram atribuídos por meio da análise dos espectros bidimensionais COSY e HETCOR. O mapa de contornos COSY de **[8]** (Figura A15 do Anexo 1) apresenta, por exemplo, correlação entre H11 e H7 e também entre H11 e a metila H13, justificando o aparecimento de um duplo quarteto no espectro de ^1H . No mapa de contornos HETCOR do composto **[8]** (Figura A16 do Anexo 1) observa-se, por exemplo, correlação entre C6 e H6; C7 e H7, além de várias outras correlações.

A massa molecular do composto **[8]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura A17 do Anexo 1), que apresentou o pico do íon molecular em m/z 246.

A lumissantonina **[8]** foi então submetida à reação com o diisopropilamido de lítio (LDA) produzido *in situ* pela reação entre diisopropilamina (DIPA) e n-BuLi. Em seguida, o organolítio formado foi capturado com cloreto de fenilselênio (PhSeCl), originando o intermediário **[11]**. Posterior oxidação de **[11]** com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) resultou na formação de **[12]**, conforme esquema 9.



Esquema 9- Síntese da lactona **[12]**.

O intermediário **[11]** foi isolado como um sólido amarelo com rendimento de 49%. O espectro no infravermelho (Figura A18 do Anexo 1) apresentou duas bandas em 693 e 752 cm^{-1} , referentes à deformação angular das ligações $=\text{C}-\text{H}$ do anel aromático monossustituído.

O espectro de RMN de ^1H (Figura A19 do Anexo 1) apresentou sinais na região de δ_{H} 7,30 a 7,62, que comprovam a presença do anel aromático na estrutura do composto **[11]**: observou-se um tripleto em δ_{H} 7,30 ($J_{3,4'} \cong J_{3',2'} = 8,1$ Hz) referente aos hidrogênios equivalentes H3' e H5'; um triplo tripleto (tt) em δ_{H} 7,40, $J_{4',3'} = 8,1$ Hz, $J_{4',2'} = 1,5$ Hz, correspondente ao hidrogênio H4'; e um duplo duplete em δ_{H} 7,65 referente aos hidrogênios equivalentes H2' e H6'.

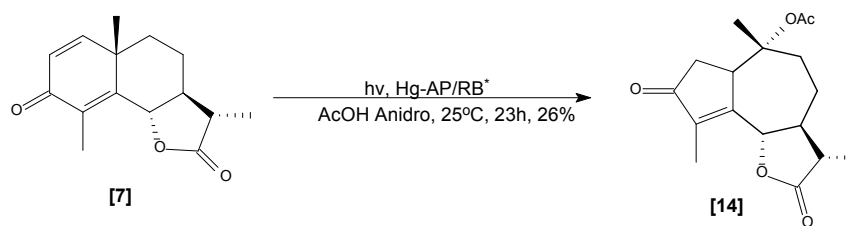
No espectro de RMN de ^{13}C (Figura A20 do Anexo 1), os sinais referentes aos carbonos do anel aromático aparecem em δ_{C} 124,2 (C1'); 129,5 (C3'e C5'); 130,2 (C4') e 138,4 (C2'e C6').

Os sinais relativos aos átomos de hidrogênio e carbono do composto **[11]** foram atribuídos por meio da análise dos espectros bidimensionais COSY (Figura A21 do Anexo 1) e HETCOR (Figura A22 do Anexo 1).

A massa molecular do composto **[11]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura A23 do Anexo 1), que apresentou o pico do íon molecular em m/z 402.

Avaliando o rendimento global obtido nos métodos de síntese da lactona **[12]**, observa-se que quando a síntese ocorreu via lumissantonina **[8]**, o rendimento global foi de 30% enquanto no outro método, onde a síntese passa pelo composto **[10]**, o rendimento foi de apenas 5%. Dessa forma, torna-se mais viável a síntese de **[12]** via lumissantonina **[8]**. O baixo rendimento global obtido via composto **[10]** explica-se pelo baixo rendimento da etapa fotoquímica da rota sintética. Nesta etapa o composto **[10]** atua como material de partida, sendo muito susceptível a reações laterais, devido às duplas ligações presentes na estrutura desse composto.

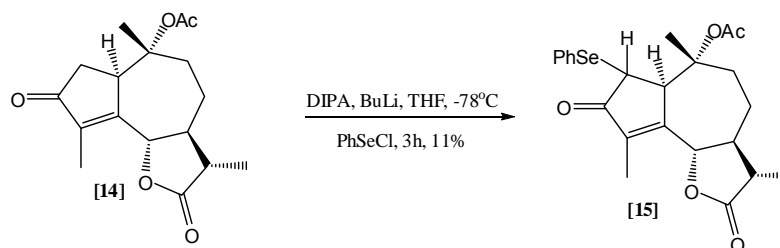
Este novo método foi também aplicado ao composto **[13]**, que havia sido sintetizado com rendimento global de 1%. Inicialmente, a α -santonina foi submetida à reação fotoquímica em presença de ácido acético anidro, obtendo-se a lactona *O*-acetilisofotossantônica **[14]**, conforme mostrado no Esquema 10.



* AP = Alta pressão; RB = Reator de borossilicato

Esquema 10: Esquema geral da síntese lactona *O*-acetilisofotossantônica [14].

A lactona *O*-acetilisofotossantônica [14] foi então submetida à reação para obtenção do organoselênio intermediário. Entretanto, devido à maior acidez do hidrogênio vizinho à carbonila da cetona, ocorreu a formação do intermediário [15], conforme apresentado no Esquema 11, o que impossibilitou a obtenção do composto [13].



Esquema 11: Síntese do intermediário [15].

O intermediário [15] foi isolado como um sólido branco com rendimento de 11%. O espectro no infravermelho (Figura A24 do Anexo 1) apresentou bandas de absorção em 1783, 1731 e 1704 cm^{-1} , relativas ao estiramento C=O da lactona, do grupo acetila e da cetona, respectivamente; uma banda em 3054 cm^{-1} referente ao estiramento =CH do anel aromático e também uma banda em 1645 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação C=C conjugada com a carbonila da cetona.

O espectro de RMN de ^1H (Figura A25 do Anexo 1) apresentou um tripleto em δ_{H} 7,25 ($J_{3',2'} \cong J_{3',4'} = 8,1$ Hz) referente aos hidrogênios equivalentes H3' e H5', um triplo tripleto em δ_{H} 7,31 (tt) ($J_{4',3'} = 8,1$ Hz, $J_{4',2'} = 1,5$ Hz) correspondente ao hidrogênio H4' e um duplo duplete (dd) em δ_{H} 7,55 referente aos hidrogênios equivalentes H2' e H6'. Estes sinais comprovam a presença do anel aromático na estrutura do composto [15]. A entrada do anel aromático na posição indesejada foi confirmada pela

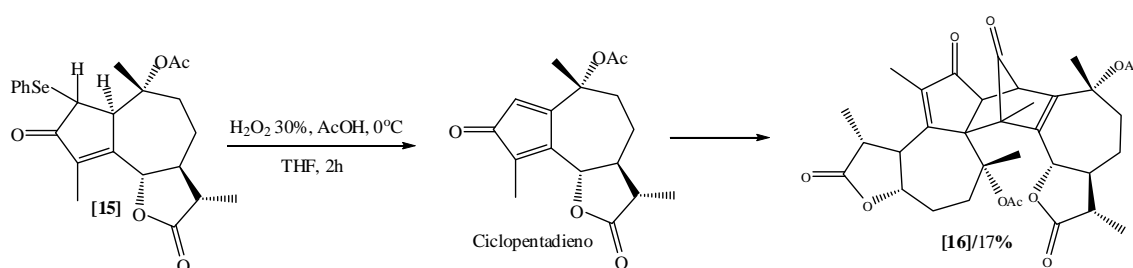
permanência do duplete ($J_{13,11} = 6,9$ Hz) em δ_H 1,24, referente à metila H13, bem como pela presença do multiplete em δ_H 3,70, que foi atribuído ao hidrogênio H2.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura A26 do Anexo 1), os sinais referentes aos carbonos do anel aromático aparecem em δ_C 125,9 (C1'); 128,9 (C3'e C5'); 129,2 (C4') e 136,7 (C2'e C6').

A atribuição dos átomos de hidrogênio e carbono do composto **[15]** foi feita por meio da análise dos espectros bidimensionais COSY (Figura A27 do Anexo 1) e HETCOR (Figura A28 do Anexo 1).

A massa molecular do composto **[15]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura A29 do Anexo 1), que apresentou o pico do íon molecular em m/z 462.

Mesmo não havendo a possibilidade de obtenção do composto **[13]** por meio deste novo método, o intermediário **[15]** foi submetido à reação de oxidação com peróxido de hidrogênio (H_2O_2), originando um produto, cuja estrutura ainda não está completamente elucidada. A análise dos espectros no infravermelho, RMN de 1H , ^{13}C e massas, sugeriram a formação do dímero **[16]**, no entanto, somente uma análise cristalográfica de raios-x irá confirmar, indubitavelmente, a estrutura desse composto, que se apresenta bastante complexa. O dímero **[16]**, caso tenha sido realmente formado, foi obtido como um sólido branco com rendimento de 19%, conforme apresentado no Esquema 12. Inicialmente ocorre a formação de um derivado ciclopentadieno, que rapidamente se dimeriza por meio de uma reação de Diels-Alder.



Esquema 12: Síntese do dímero **[16]**.

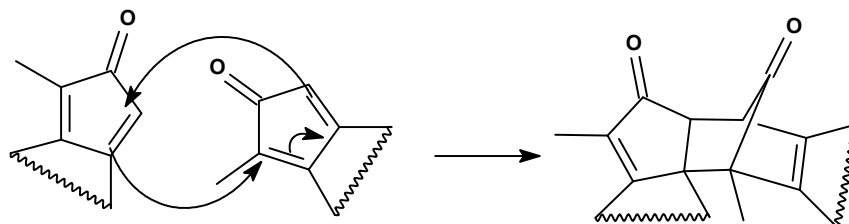
Analisando o espectro no infravermelho do dímero **[16]** (Figura A30 do Anexo 1) observou-se bandas em 1703 , 1733 e 1783 cm^{-1} , relativas ao

estiramento C=O da cetona, do grupo acetila e da lactona, respectivamente.

O espectro de RMN de ^1H (Figura A31 do Anexo 1) apresentou os sinais de forma duplicada sugerindo a formação de um dímero. Foram observados dois dupletos em δ_{H} 1,19 e δ_{H} 1,28 referentes aos hidrogênios H13 e H13' ($J_{13,11} = 6,6$ Hz; $J_{13',11'} = 6,9$ Hz); seis simpletos em δ_{H} na faixa de 1,38 a 2,05 que foram atribuídos às metilas H14, H14', H15, H15', e às metilas dos grupos acetil, além de outros sinais que ajudaram a confirmar a estrutura do dímero formado. O espectro de RMN de ^{13}C (Figura A32 do Anexo 1) apresentou, também, todos os sinais duplicados. Um exemplo é a presença de seis sinais em δ_{C} na faixa de 169,3 a 204,5 referentes às carbonilas presentes na estrutura do dímero.

A massa molecular do composto **[16]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura A33 do Anexo 1), que apresentou o pico do íon molecular em m/z 608. Os picos em m/z 548 e 488, referentes à perda de duas moléculas de ácido acético (CH_3COOH), confirmam a presença dos dois grupos acetil na estrutura do composto **[16]**.

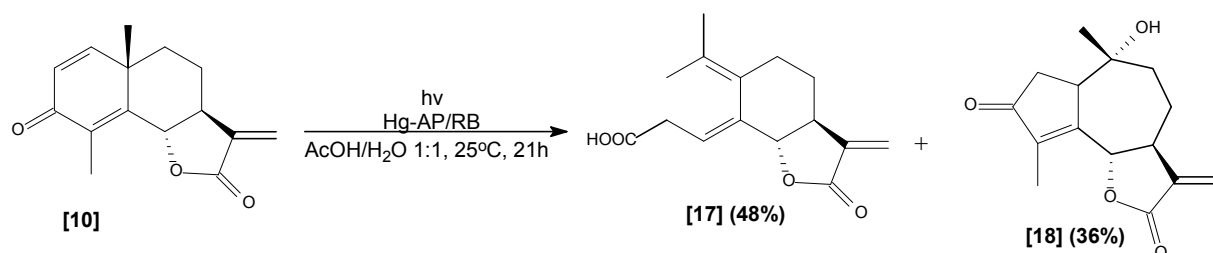
O dímero é formado por meio de uma reação de Diels-Alder entre duas moléculas idênticas do derivado ciclopentadieno. Estas moléculas se aproximam pela face menos impedida, com o anel ciclopentadieno de cada molécula frente a frente. O mecanismo dessa reação é apresentado no Esquema 13.



Esquema 13: Mecanismo de formação do dímero **[16]**.

Visando a síntese da lactona **[17]** e do produto natural (Parishin A) **[18]**, o composto **[10]** foi submetido à reação fotoquímica, à temperatura ambiente, na qual se utilizou reator de borossilicato, lâmpada de vapor de

mercúrio de alta pressão (125 W) como fonte radiação UV e uma mistura ácido acético/ água, na proporção 1:1 v/v, como solvente (Esquema 14). A metodologia utilizada nessa síntese foi descrita na literatura por BARTON, *et al.*,(1958b).



Esquema 14- Síntese fotoquímica do ácido 11,13-deidroisofotossantônico **[17]** e do 10 α -hidroxi-3-oxo-1,7 α H,6 β H-guaia-4,11-dien-6,12-olídeo (Parishin A) **[18]**.

Zhang, *et al.* (2002 e 2006) isolaram o produto natural Parishin A **[18]** da planta perene *Ixeris chinensis*, muito utilizada na China no tratamento de doenças respiratórias, tais como, bronquite, pneumonia e também contra disenteria e indigestão. Neste trabalho, a lactona **[17]** e o produto natural **[18]** foram sintetizados como sólidos brancos com rendimentos de 48% e 36%. Embora o isolamento do Parishin A **[18]** já tenha sido reportado na literatura, não há nenhum relato de sua síntese. Portanto, nós descrevemos nesse trabalho, a primeira síntese do produto natural Parishin A **[18]**.

A estrutura do ácido 11,13-desidroisofotossantônico **[17]** foi confirmada por meio das espectroscopias no infravermelho, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , dos experimentos bidimensionais COSY e HETCOR e também dos dados da espectrometria de massas. Foram observadas como bandas principais no espectro no infravermelho do composto **[17]** (Figura A34 do Anexo 1), a banda larga na região de 2600-3400 cm^{-1} , referente ao estiramento da hidroxila de ácido carboxílico, e as bandas em 1772 e 1703 cm^{-1} , que correspondem ao estiramento das carbonilas da lactona e do ácido carboxílico, respectivamente.

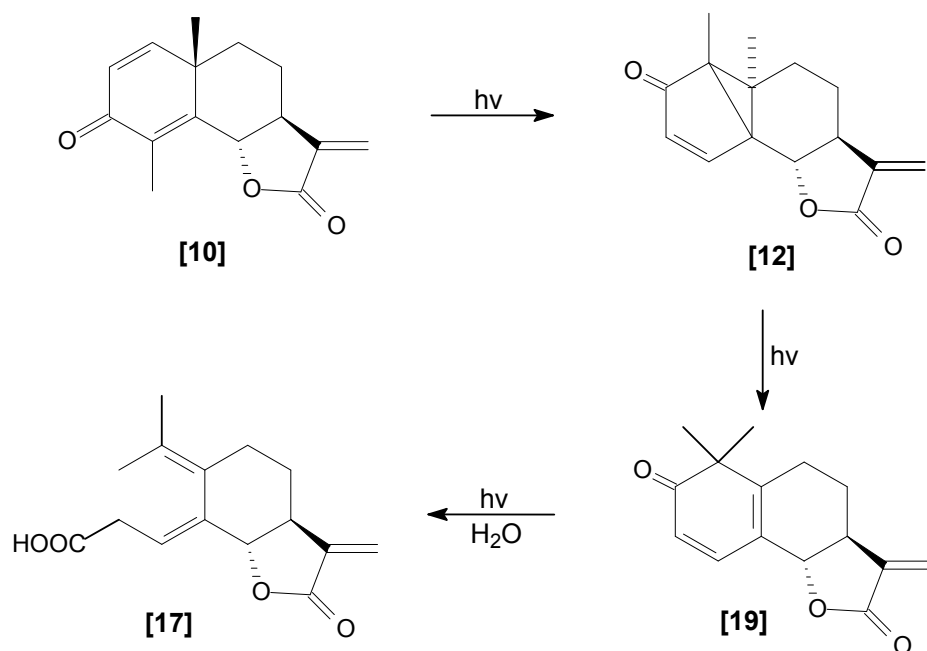
No espectro de RMN de ^1H (Figura A35 do Anexo 1) têm-se como sinais importantes para a confirmação da estrutura da molécula do ácido 11,13-desidroisofotossantônico **[17]**, os simpletos em δ_{H} 1,63 e 1,77, atribuídos às metilas H14 e H15, respectivamente; o duplo duplo duplo duplete (dddd) em δ_{H} 2,20 ($J_{7e,7a} = 12,6$ Hz, $J_{7e,8a} = 4,8$ Hz, $J_{7e,6} = 3,3$ Hz, $J_{7e,8e} = 2,4$ Hz) referente ao hidrogênio H7e; dois duplos duplos dupletos (ddd) em δ_{H} 3,00, referentes a H2 e H2', que apresentam um acoplamento geminal ($J_{2,2'} = 17,4$ Hz), um acoplamento vicinal com H3 ($J_{2,3} = 7,8$ Hz; $J_{2',3} = 6,6$ Hz) e um acoplamento homoalílico, à longa distância, com H5 ($J_{2,5} = 1,2$ Hz; $J_{2',5} = 1,8$ Hz) e dois dupletos em δ_{H} 5,40 e 6,10 ($J_{13,13'} = 3,3$ Hz) relativos aos hidrogênios H13 e H13' da ligação dupla exocíclica..

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura A36 do Anexo 1) apresentou sinais em δ_{C} 170,4, 177,8 que foram atribuídos às carbonilas da lactona e do ácido carboxílico, respectivamente, além de sinais em δ_{C} 111,1; 117,9; 127,4; 131,7; 139,7 e 140,4 referentes aos carbonos C3, C13, C9, C10, C11 e C4, respectivamente.

Todos os sinais nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram confirmados com base na análise dos mapas de contorno COSY (Figura A37 do Anexo 1) e HETCOR (Figura A38 do Anexo 1), respectivamente. O mapa de contornos COSY, por exemplo, apresenta correlação entre H2 e H2', H2 e H5 e também entre H2 e H3, justificando o duplo duplo duplete observado no espectro de RMN de ^1H .

A massa molecular do composto **[17]** foi confirmada através do espectro de massas (Figura A39 do Anexo 1) desse composto, que apresentou pico do íon molecular em m/z 262.

Segundo Fisch e Richards (1963), a formação do ácido 11,13-desidroisofotossantônico **[17]** envolve a participação de intermediários conhecidos como 11,13-desidrolumissantonina **[12]** e 11,13-desidro mazdassantonina **[19]**, conforme apresentado no Esquema 15:



Esquema 15- Intermediários envolvidos na formação do ácido 11,13-desidroisofotossantônico **[17]**.

O espectro no infravermelho do produto natural Parishin A **[18]** (Figura 13) apresentou uma banda intensa e larga em 3445 cm^{-1} relativa ao estiramento da hidroxila, duas bandas intensas em 1768 e 1699 cm^{-1} , que correspondem ao estiramento das carbonilas da lactona e da cetona α,β -insaturada, respectivamente, e uma banda em 1641 cm^{-1} que foi atribuída ao estiramento do grupo alqueno da molécula.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 14) apresentou simpletos em δ_{H} 0,97 e 1,92 correspondentes às metilas H14 e H15, respectivamente; um duplo tripleto em δ_{H} 2,00, referente a H9, que apresenta um acoplamento vicinal com H8 e H8' ($J_{9,8} = J_{9,8'} = 3,6\text{ Hz}$) e um acoplamento geminal com H9' ($J_{9',9} = 13,5\text{ Hz}$); um duplete em δ_{H} 4,80 ($J_{6,7} = 11,1\text{ Hz}$), que foi atribuído ao hidrogênio H6 e dois dupletos em δ_{H} 5,60 e 6,30 ($J_{13,13'} = 3,0\text{ Hz}$) referentes aos hidrogênios H13 e H13' da ligação dupla exocíclica..

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 15) observou-se um sinal em δ_{C} 74,7 correspondente ao carbono C10, que se encontra desblindado pelo oxigênio. Os sinais referentes aos carbonos das ligações duplas carbono-carbono foram observados em δ_{C} 121,0 (C13); δ_{C} 37,9 (C4); $\delta_{\text{C}} = 143,1$

(C11); $\delta_c = 161,2$ (C5). Este espectro apresentou ainda sinais em δ_c 169,3 e 207,9 que foram atribuídos às carbonilas da lactona e da cetona.

Os sinais relativos aos átomos de hidrogênio e carbono do composto foram atribuídos de maneira inequívoca por meio da análise dos espectros bidimensionais COSY (Figura 16) e HETCOR (Figura 17).

A confirmação da massa molecular do composto **[18]** foi feita com base na análise do espectro de massas (Figura 18), onde se observou o pico do íon molecular como pico base em m/z 262.

O mecanismo de formação da lactona **[18]** está apresentado no Esquema 7, onde o nucleófilo, nesse caso, é a H_2O .

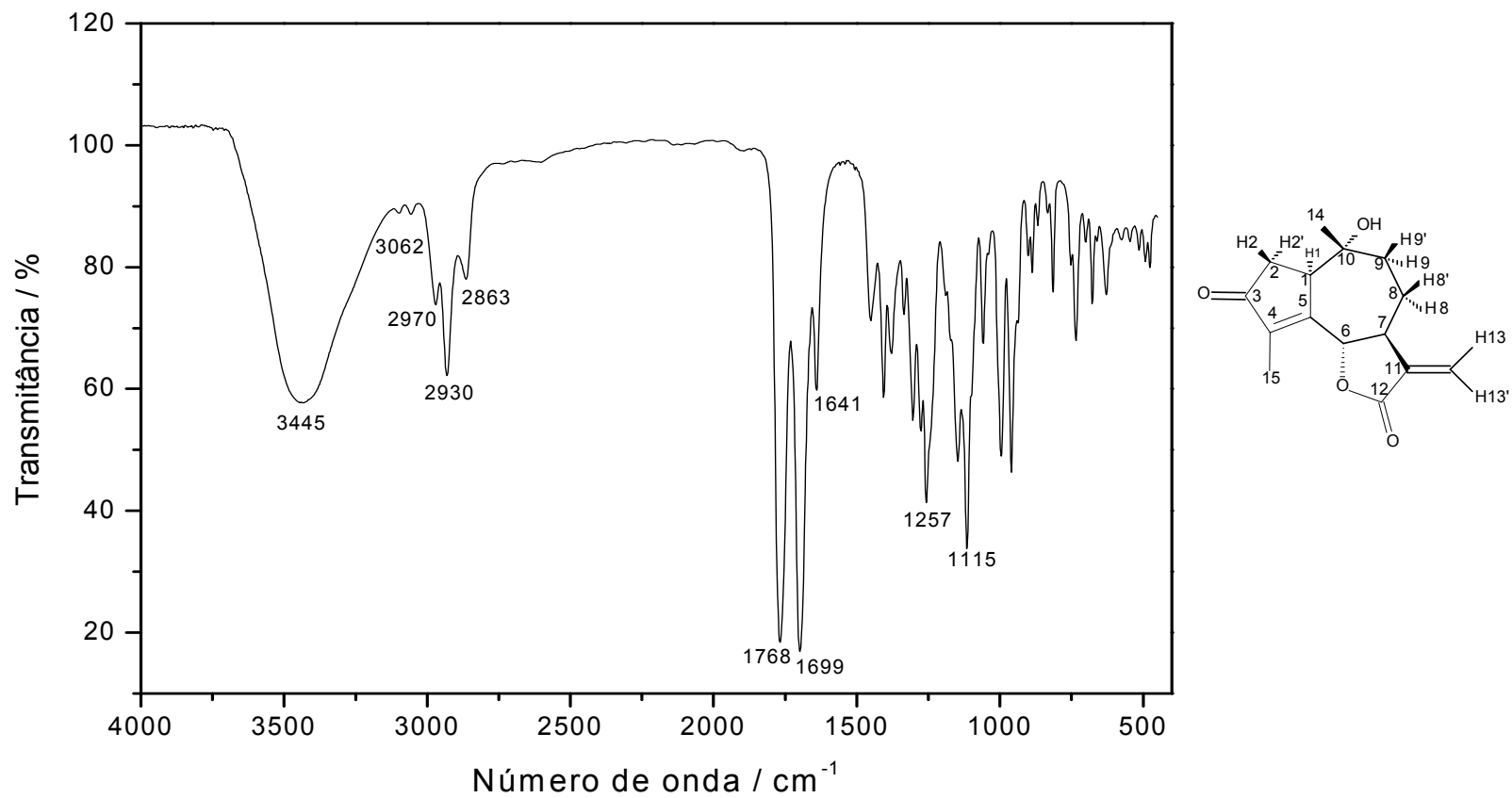


Figura 13- Espectro no infravermelho (IV) do composto [18].

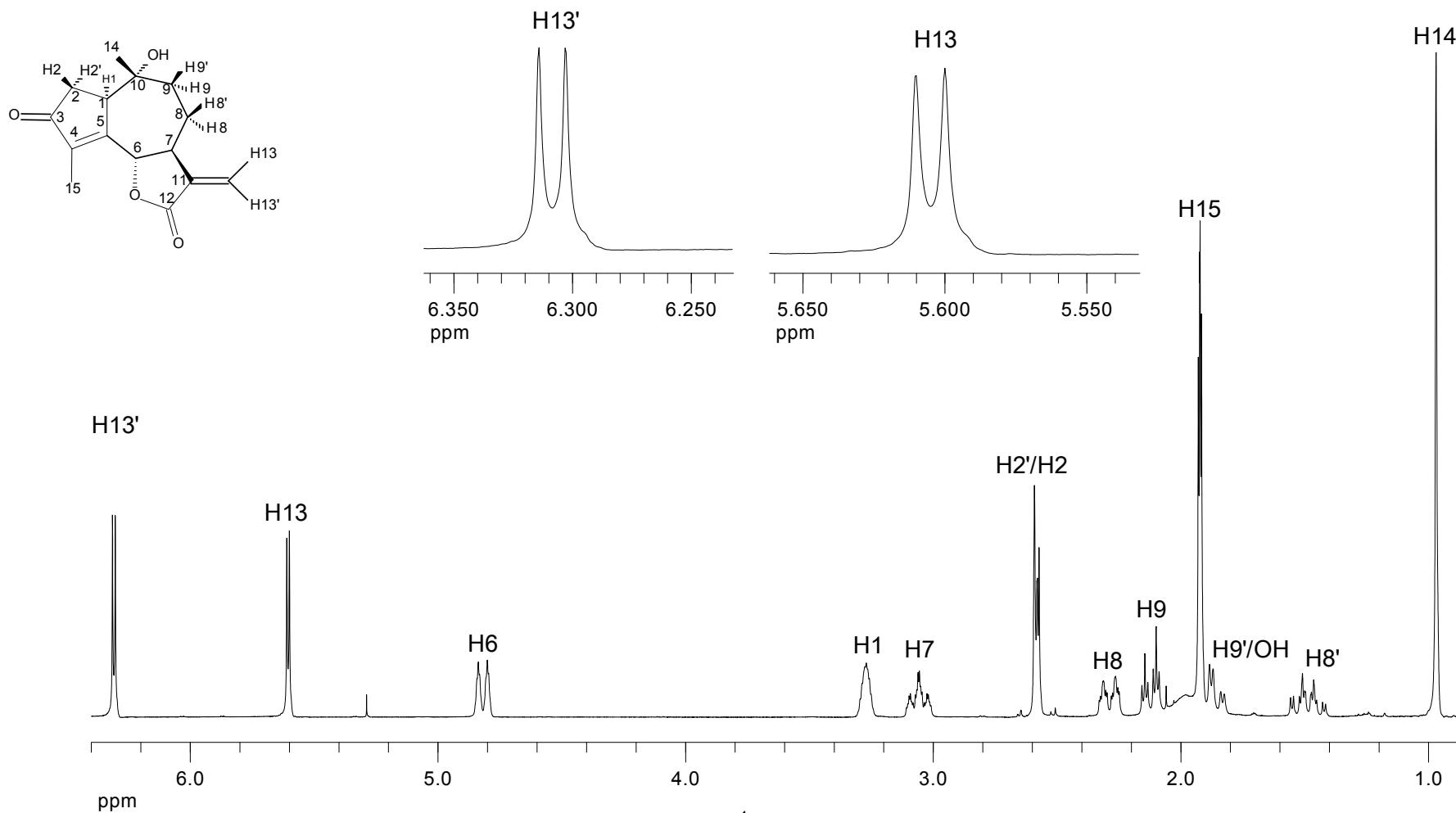


Figura 14- Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [18].

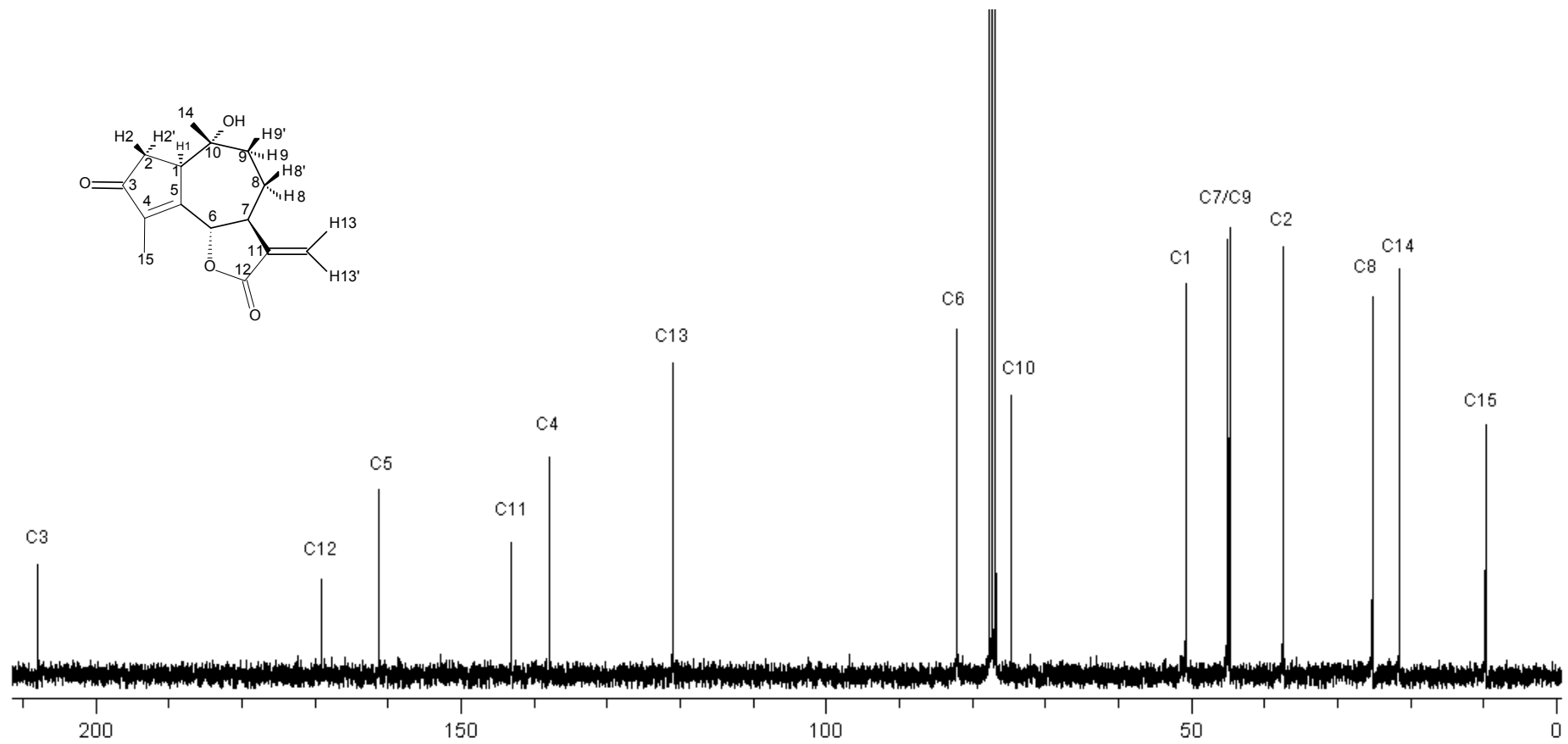


Figura 15- Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [18].

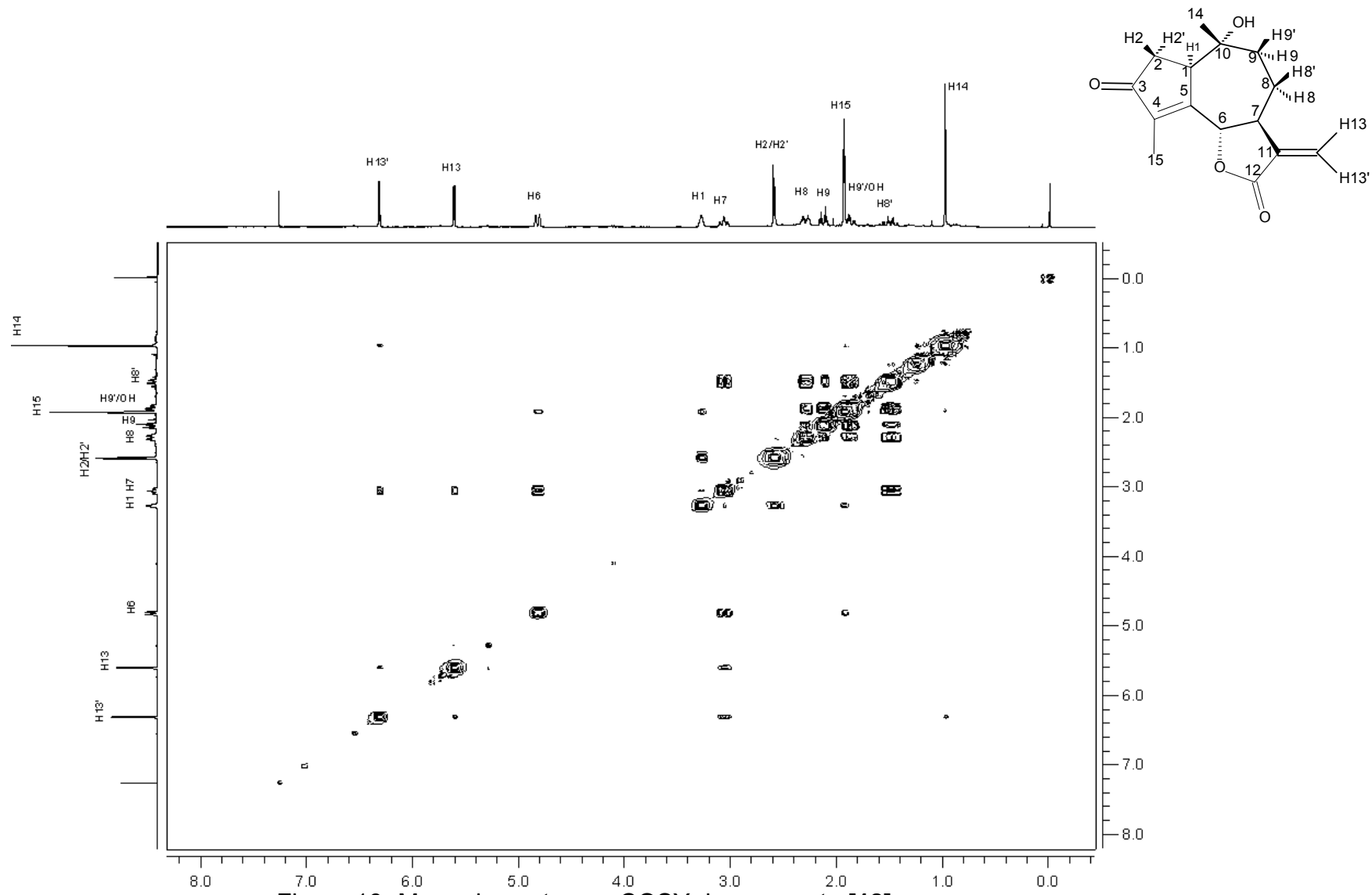


Figura 16- Mapa de contornos COSY do composto [18].

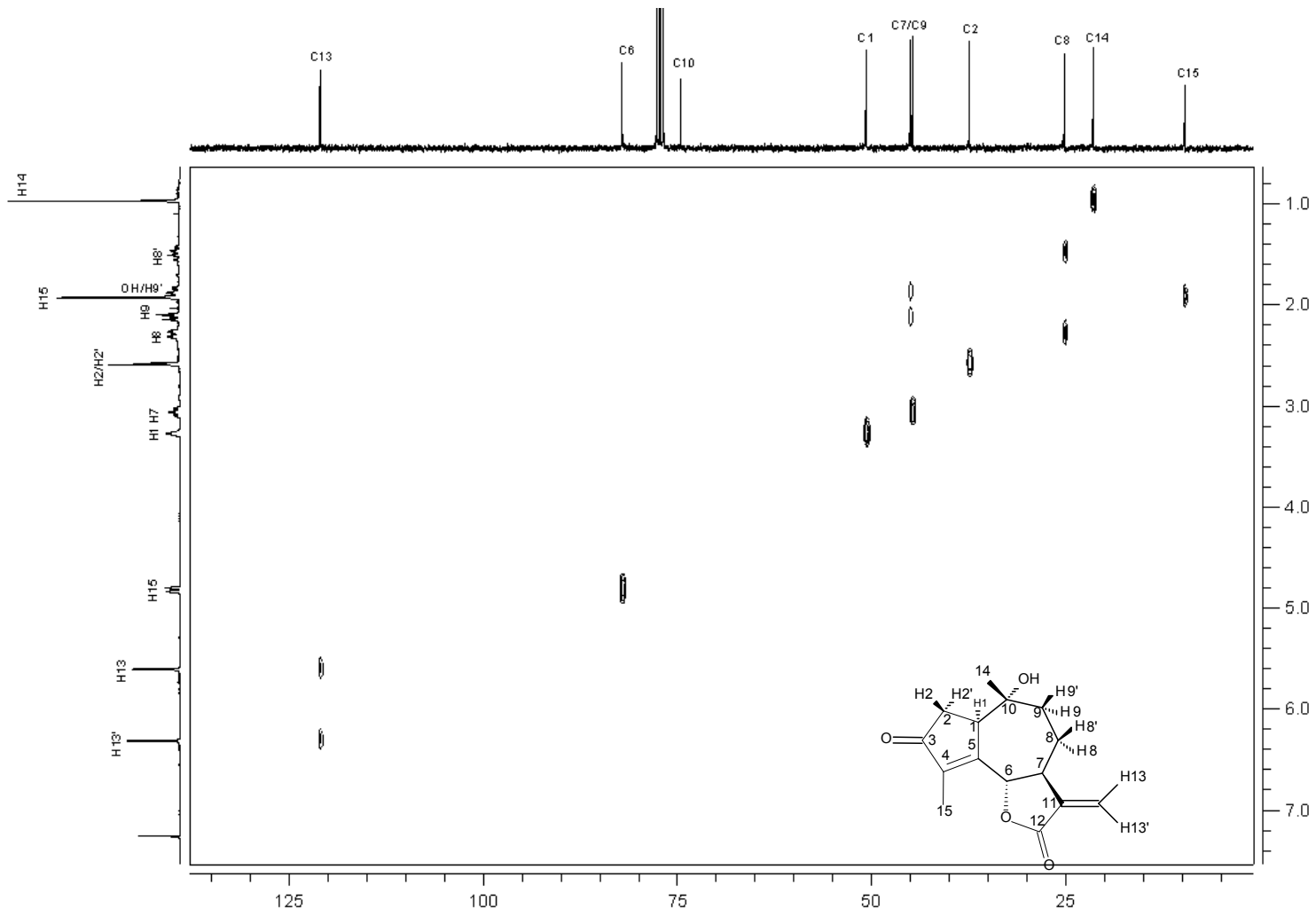


Figura 17- Mapa de contornos HETCOR do composto [18].

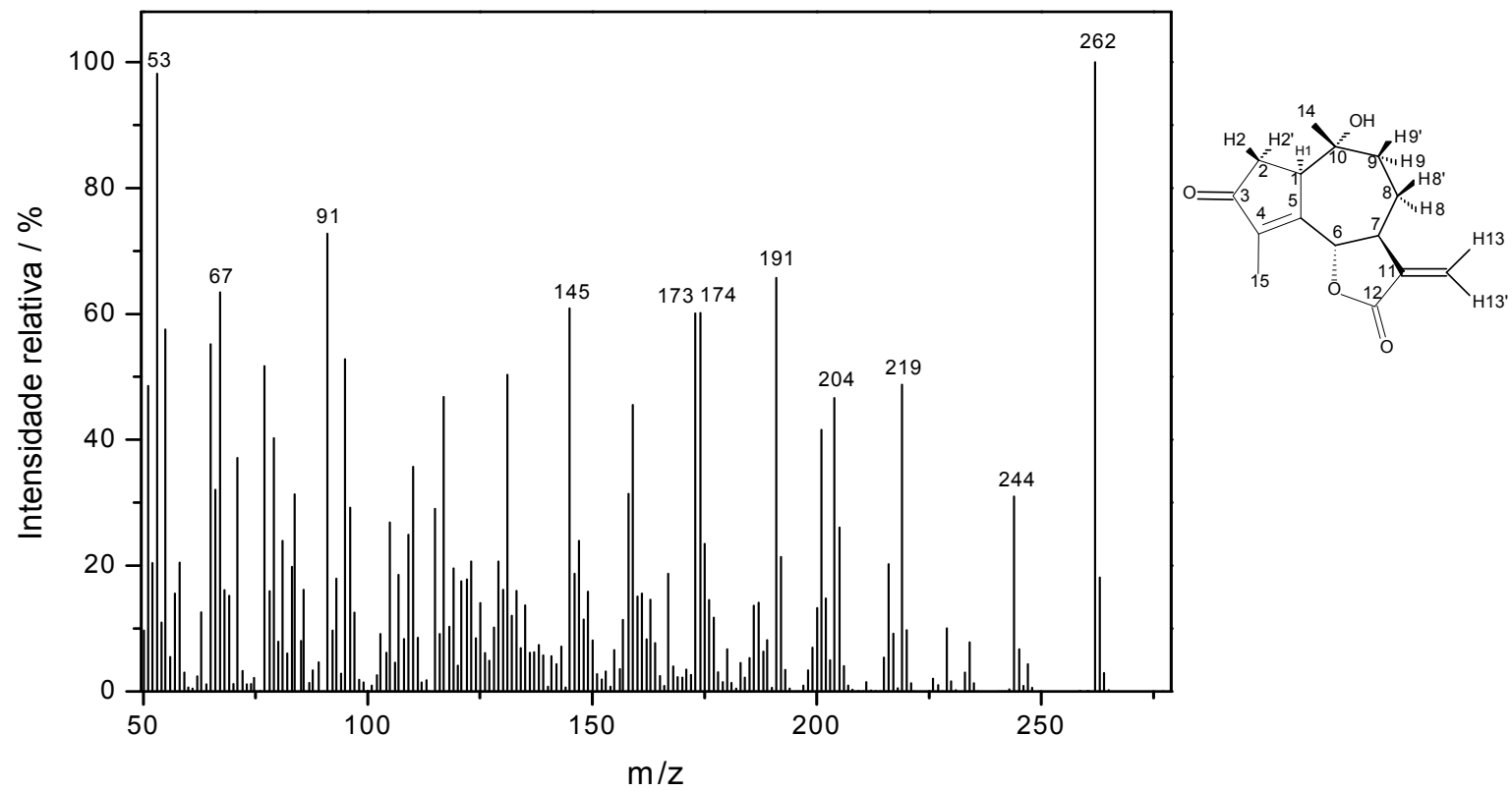
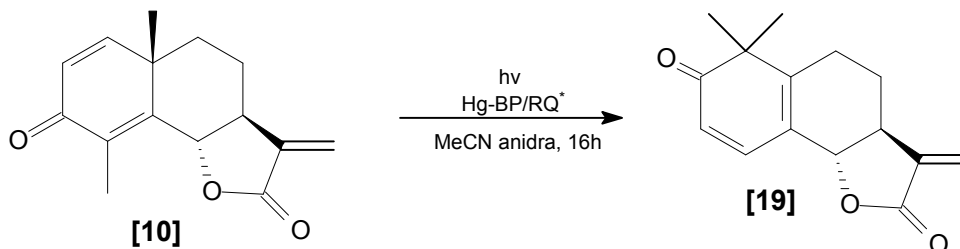


Figura 18- Espectro de massas do composto **[18]**.

Visando a obtenção da 11,13-deidromazdassantonina **[19]**, a lactona **[10]** foi irradiada com lâmpadas de mercúrio de baixa pressão, em reator de quartzo, utilizando-se acetonitrila anidra como solvente. O esquema geral da reação está apresentado no Esquema 16.



* BP = Baixa pressão; RQ = Reator de Quartzo

Esquema 16- Síntese da 11,13-deidromazdassantonina **[19]**.

O composto **[19]** foi obtido como um óleo amarelo, com rendimento de 100%, após dezesseis horas de reação. O espectro no infravermelho da 11,13-desidromazdassantonina **[19]** (Figura A40 do Anexo 1) apresentou bandas intensas em 1782 e 1661 cm^{-1} referentes aos estiramentos das carbonilas da lactona e do grupo cetona insaturado, respectivamente, e bandas de baixa intensidade em 1624 e 1560 cm^{-1} correspondentes ao estiramento das ligações dupla carbono-carbono.

No espectro de RMN de ^1H (Figura A41 do Anexo 1) observou-se um simpleto em δ_{H} 1,26, atribuídos aos hidrogênios metílicos geminais H14 e H15. É interessante lembrar que no espectro de RMN de ^1H do material de partida **[10]** tais metilas apresentaram deslocamentos químicos diferentes por estarem ligados a carbonos com hibridações distintas. Observou-se ainda dois dupletos em δ_{H} 5,50 e 6,18 ($J_{13,13'} = 3,0$ Hz) referentes aos hidrogênios H13 e H13' da dupla ligação exocíclica e outros dois dupletos correspondentes aos hidrogênios H3 e H4 ($J_{3,4} = 9,9$ Hz).

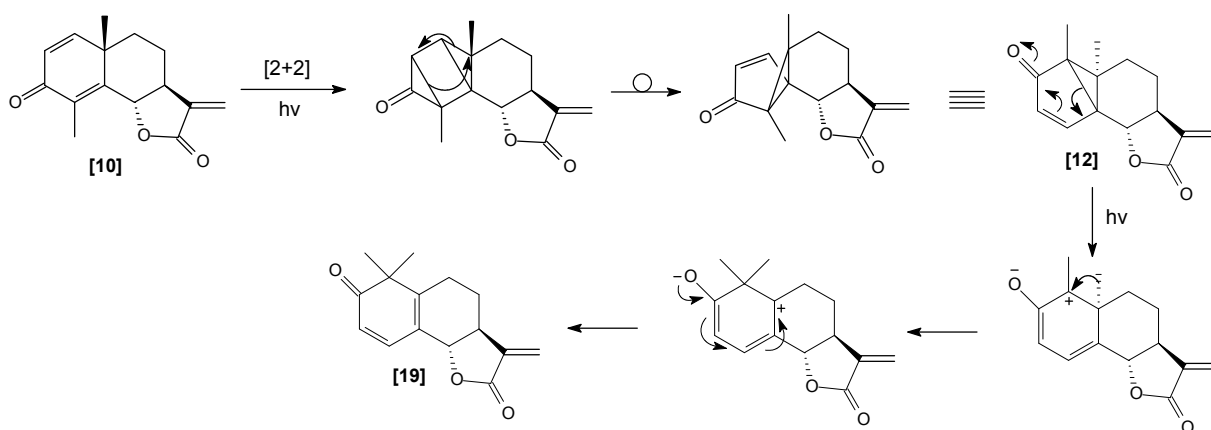
O espectro de RMN de ^{13}C (Figura A42 do Anexo 1) apresentou dois sinais em δ_{C} 24,9 e δ_{C} 25,4 referentes às metilas C14 e C15, respectivamente e dois sinais em δ_{C} 170,6 e 205,8 que correspondem às carbonilas da lactona e da cetona insaturada, respectivamente. Na região de carbonos hibridizados sp^2 ($\text{C}=\text{C}$) observou-se seis sinais em δ_{C} 118,8;

123,7; 125,7; 138,1; 138,9 e 152,3 que foram atribuídos a C13, C3, C5, C4, C11 e C10, respectivamente.

A atribuição inequívoca dos átomos de hidrogênio e carbono desse composto foi realizada por meio da análise dos espectros bidimensionais COSY (Figura A43 do Anexo 1) e HETCOR (Figura A44 do Anexo 1), respectivamente.

A massa molecular do composto **[19]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura A45 do Anexo 1), que apresentou o pico do íon molecular, com 99% de intensidade, em m/z 244.

O mecanismo da fotoconversão do composto **[10]** em 11,13-deidromazdassantonina **[19]**, passando pelo intermediário 11,13-deidrolumissantonina **[12]**, foi proposto por Chapman e Englert (1963) e está apresentado no Esquema 17.



Esquema 17- Mecanismo de formação da 11,13-deidrolumissantonina **[12]** e 11,13-deidromazdassantonina **[19]**.

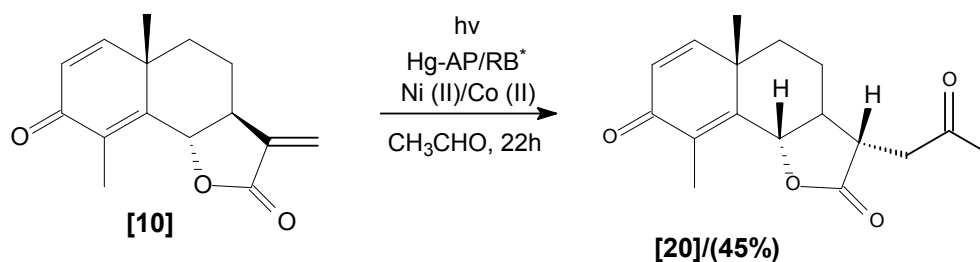
No mecanismo proposto, inicialmente ocorre uma reação de cicloadição [2+2] levando à formação de um intermediário que se rearranja e se converte na 11,13-deidrolumissantonina **[12]**. Em seguida **[12]** sofre rearranjo, após absorver radiação UV, convertendo-se no composto **[19]**.

3.2. Fotoadição de acetaldeído ao grupo α -metileno- γ -butirolactona.

Os compostos [10], [12], [17] e [18] foram submetidos a reações de fotoadição de acetaldeído ao grupo α -metileno- γ -lactona, produzindo os compostos [20], [21], [22] e [23], respectivamente. Esta reação é a primeira etapa da rota sintética de oxetanas. Compostos contendo o anel oxetano têm sido descritos por apresentar uma ampla faixa de atividades biológicas e este fator estrutural é essencial para sua bioatividade (MACÍAS, *et al.*, 2006 b). Portanto, a síntese e a posterior avaliação da citotoxicidade de oxetanas nos permitiriam verificar como a substituição do grupo α -metileno- γ -butirolactona pelo anel oxetano afetaria a atividade citotóxica de lactonas sesquiterpênicas. Foram realizadas várias tentativas de se chegar ao anel oxetano, entretanto, devido à complexidade estrutural dos compostos de partida [10], [12], [17] e [18] não foi possível obter as oxetanas correspondentes.

Visando a síntese do composto [20], a lactona [10] foi submetida à reação fotoquímica, à temperatura ambiente, na qual se utilizou reator de borossilicato, lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (125 W) e acetaldeído destilado. Nestas condições foram formados vários subprodutos não sendo possível, portanto, o isolamento do produto desejado.

Segundo MACÍAS *et al.* (2006 b), para que não haja formação de grande quantidade de subprodutos sob as condições descritas, é necessária a utilização de uma solução de Ni (II) e Co (II) capaz de filtrar parte dos comprimentos de onda emitidos pela lâmpada de mercúrio de alta pressão. Utilizando-se a solução filtro e mantendo-se as demais condições, conforme ilustrado no Esquema 18, o composto [20] pôde ser isolado como um sólido amarelo em rendimento de 45%.



* AP = Alta pressão; RB = Reator de Borossilicato

Esquema 18: Síntese do composto **[20]**.

O composto **[20]** foi caracterizado por meio das espectroscopias no infravermelho, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , dos experimentos bidimensionais COSY e HETCOR e também dos dados da espectrometria de massas.

O espectro no infravermelho (Figura 19) apresentou bandas em 1781 e 1663 cm^{-1} que foram atribuídas ao estiramento das carbonilas da lactona e da cetona α,β -insaturada, respectivamente, e também uma banda em 1717 cm^{-1} que corresponde ao estiramento da carbonila do grupo acetil adicionado, confirmando assim a formação de **[20]**. Observou-se também bandas em 1635 e 1613 cm^{-1} referentes ao estiramento das ligações dupla carbono-carbono.

Analisando o espectro de RMN de ^1H (Figura 20) observou-se simpletos em δ_{H} 1,32; 2,12 e 2,22 correspondentes às metilas H16, H17 e à metila do grupo acetil (H15), respectivamente; dois duplo dupletos (dd) em δ_{H} 2,60 e 3,10, referentes aos hidrogênios H13 e H13' que apresentam um acoplamento geminal ($J_{13,13'} = 18,3$ Hz) e um acoplamento vicinal com H11 ($J_{13,11} = 7,5$ Hz, $J_{13',11} = 3,9$ Hz); e também um duplo duplo duplete (ddd) em δ_{H} 2,90 que foi atribuído ao hidrogênio H11, que apresenta, além dos acoplamentos com H13 e H13', um acoplamento vicinal com H7 ($J_{11,7} = 12,0$ Hz). Esta constante de acoplamento nos permite prever a estereoquímica de H11, e, conseqüentemente, avaliar em qual face da dupla ligação ocorre a adição do grupo acetil. Segundo ALVARENGA *et al.* (2009), a constante de acoplamento entre H7- α e H11- β em eudesmanolídeos e guaianolídeos está em torno de 12,0 Hz. MARCO *et al.* (1990) encontraram uma constante de acoplamento entre H7- α e H11- α em eudesmanolídeos em torno de 7,5 Hz. Dessa forma a estereoquímica de

H11 no composto **[20]** foi definida como β e, conseqüentemente, a adição do grupo acetil ocorreu pela face α da dupla ligação. Essa informação foi corroborada pela análise do espectro NOEDIFF (Figura 21) do composto **[20]**, onde observamos NOE entre o hidrogênio H6- β irradiado e o hidrogênio H11.

Uma análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 22) revelou sinais em δ_{C} 11,1, 25,3 e 30,4 referentes às metilas C17, C16 e C15, respectivamente, e também sinais em δ_{C} 176,8, 186,5 e 205,4, que foram atribuídos às carbonilas da lactona, da cetona α,β -insaturada e do grupo acetil, respectivamente. Observou-se ainda os sinais relativos aos carbonos C11 e C13, que antes de sofrerem a adição do grupo acetil eram observados numa região tpica de carbonos hibridizados sp^2 (C=C), em δ_{C} 137,6 (C11), 119,6 (C13), respectivamente, agora aparecem numa região tpica de carbonos hibridizados sp^3 , em δ_{C} 41,5 e 42,2.

Os átomos de hidrogênio e carbono do composto **[20]** foram atribuídos por meio da análise dos espectros bidimensionais COSY (Figura 23) e HETCOR (Figura 24). Analisando o mapa de contornos COSY observamos uma correlação entre H13 e H13' e também entre H13 e H11, o que está de acordo com o duplo duplete referente a H13 observado no espectro de RMN de ^1H .

A massa molecular do composto **[20]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura 25), que apresentou o pico do ion molecular em m/z 288.

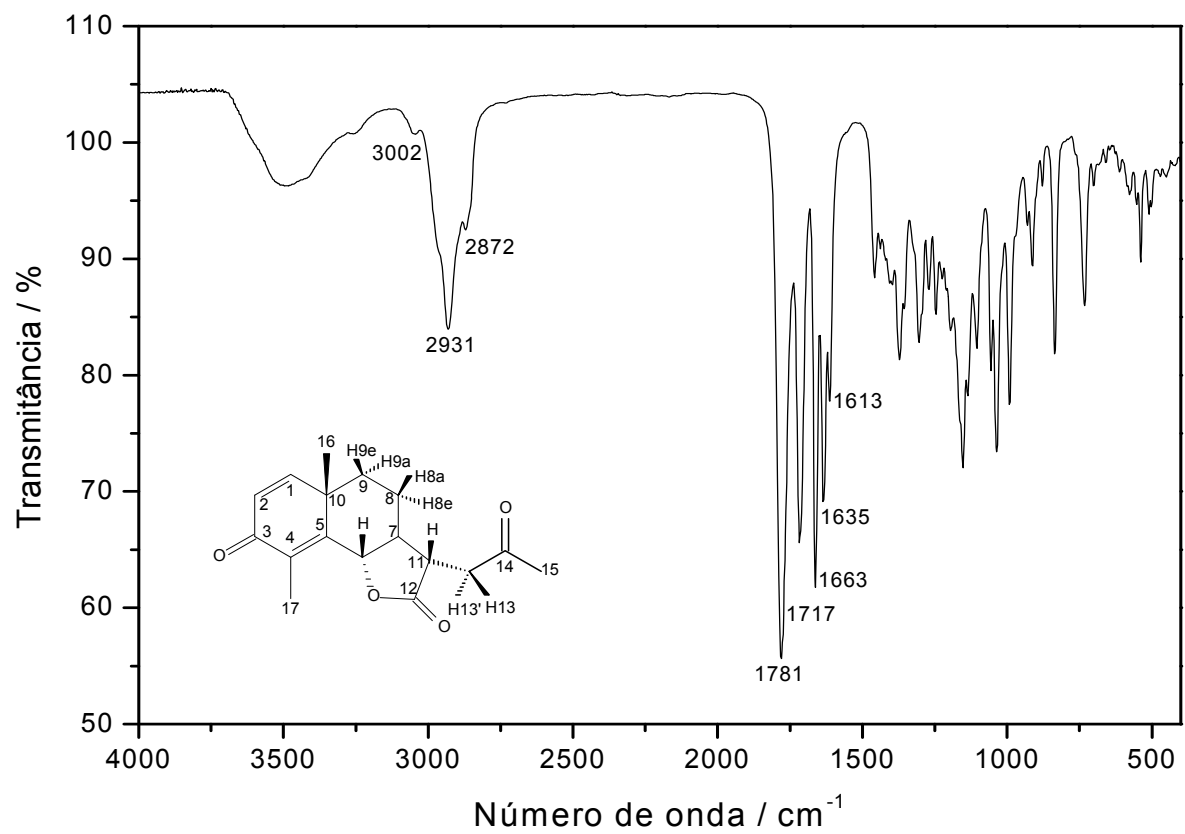


Figura 19- Espectro no infravermelho (IV) do composto [20].

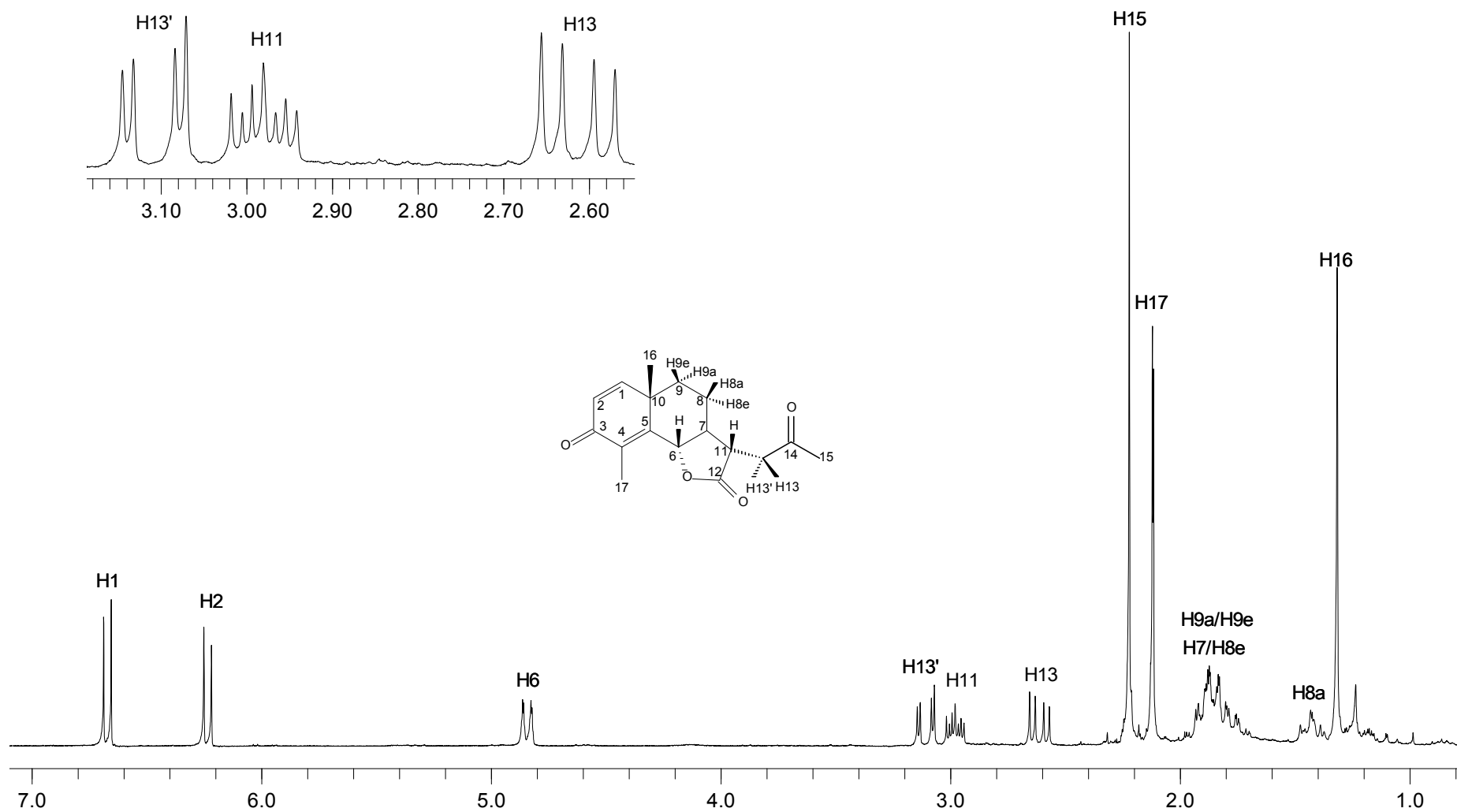


Figura 20- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [20].

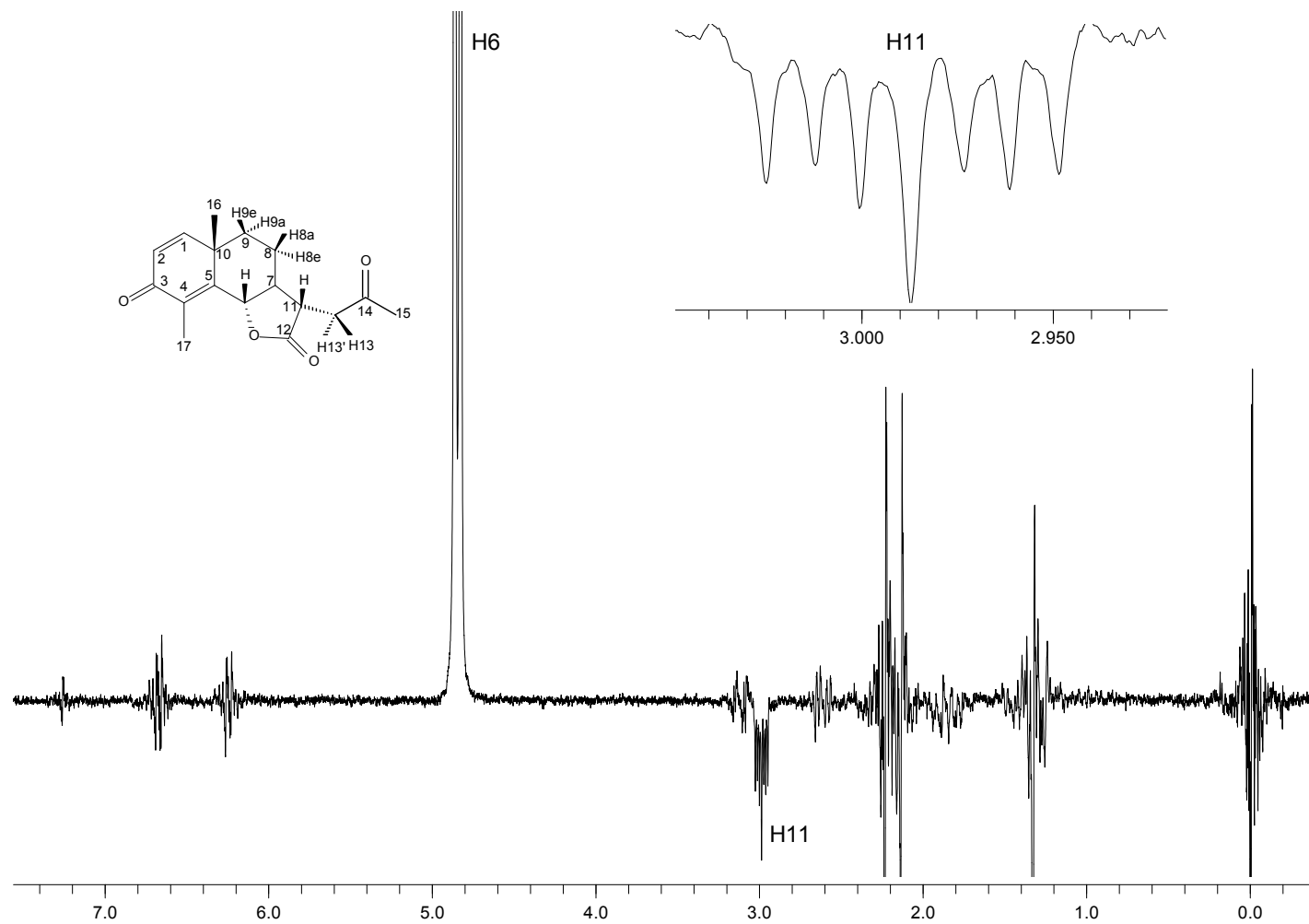


Figura 21- Espectro NOEDIFF do composto [20].

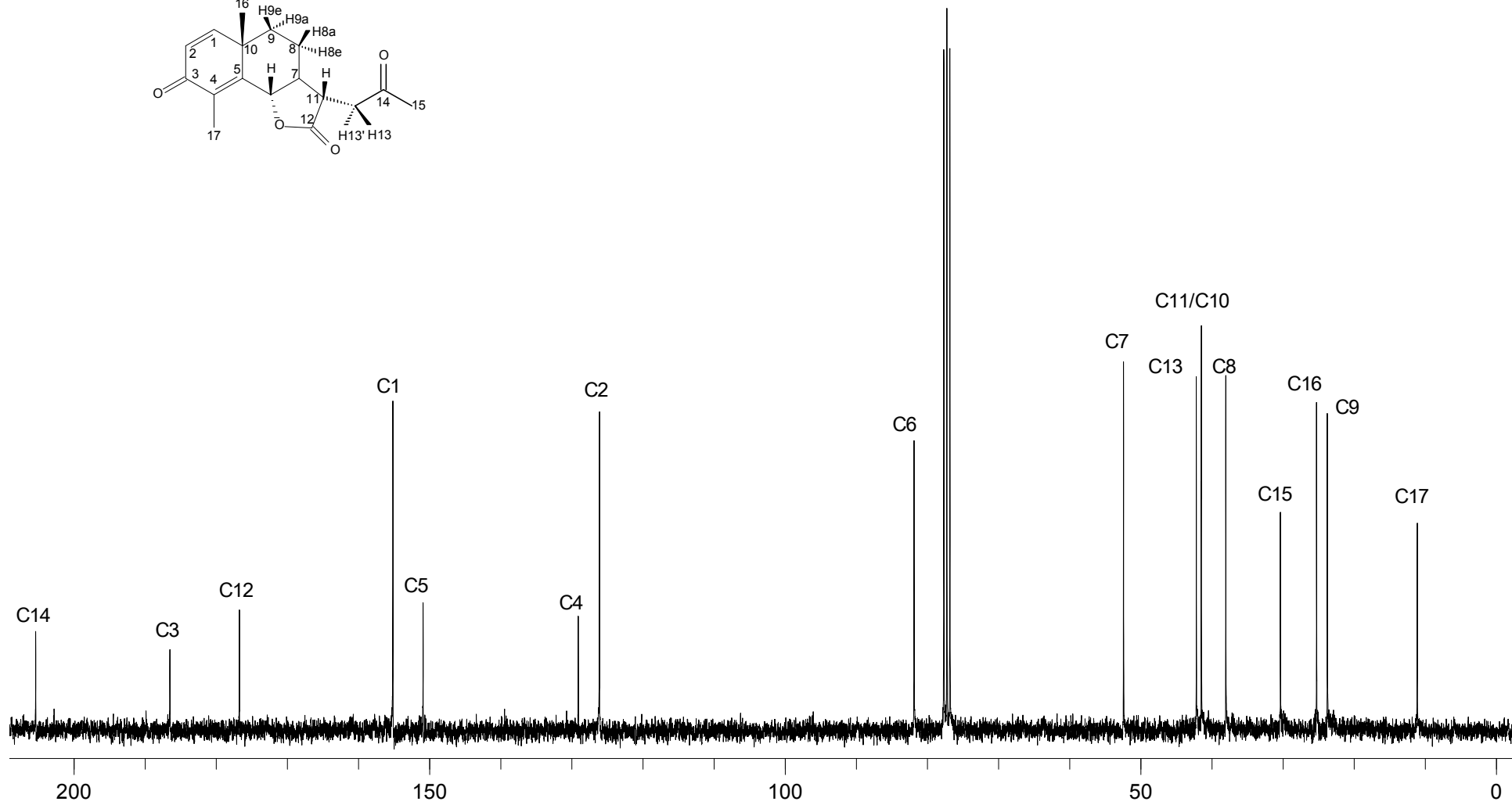
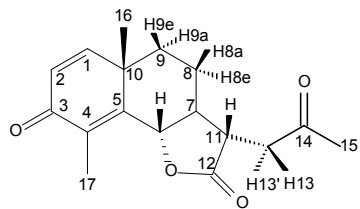


Figura 22- Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [20].

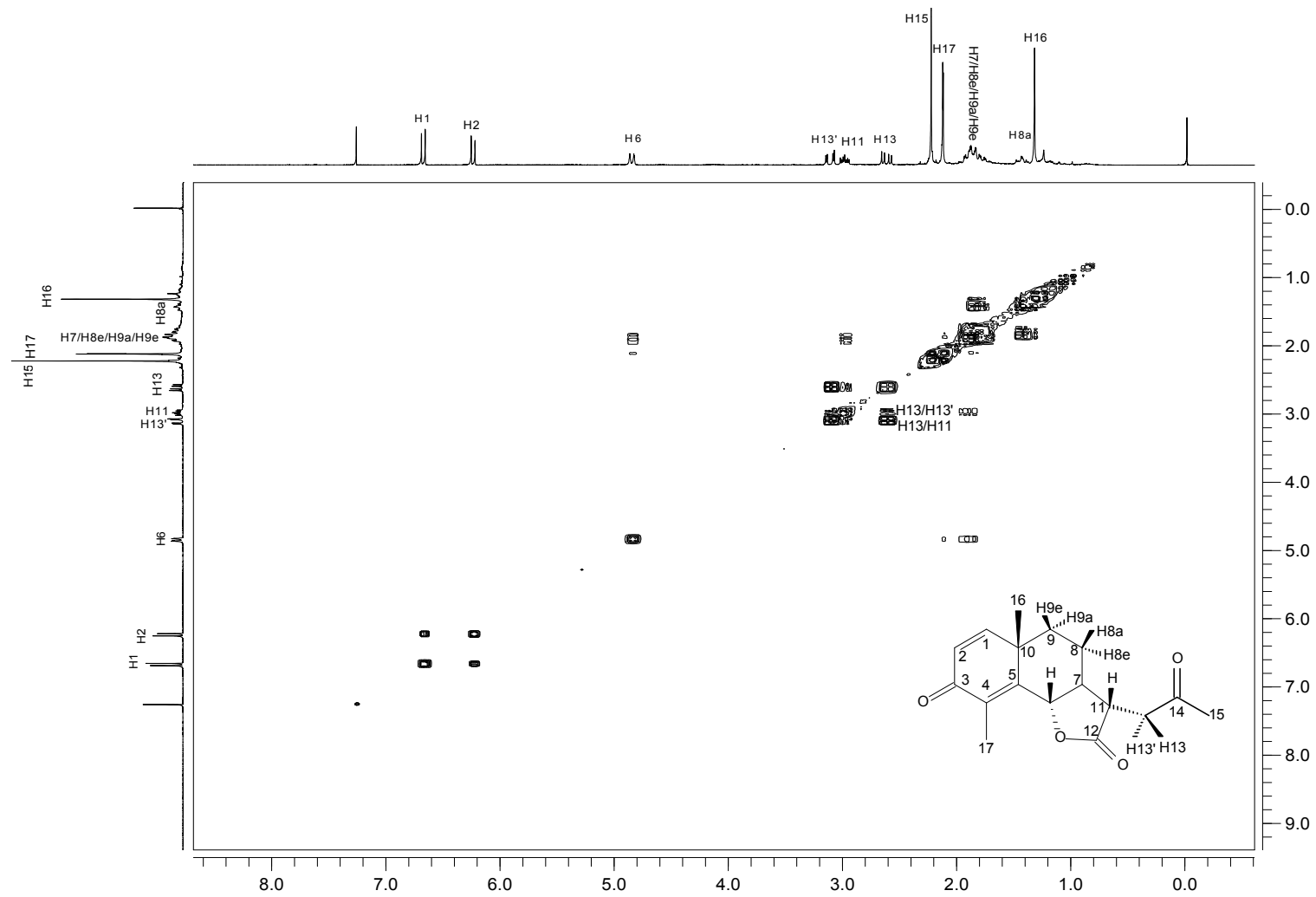


Figura 23- Mapa de contornos COSY do composto [20].

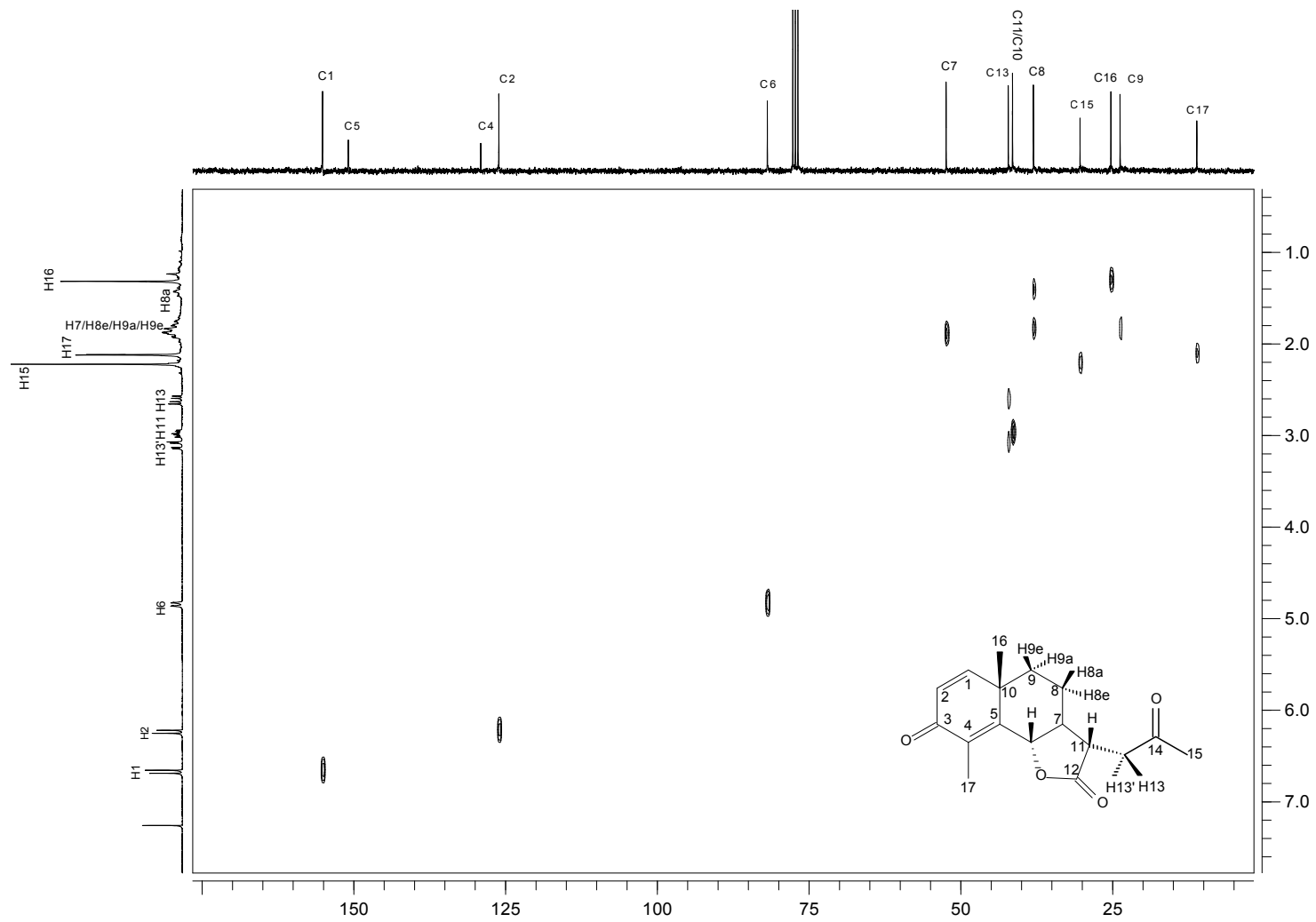


Figura 24: Mapa de contornos HETCOR do composto [20].

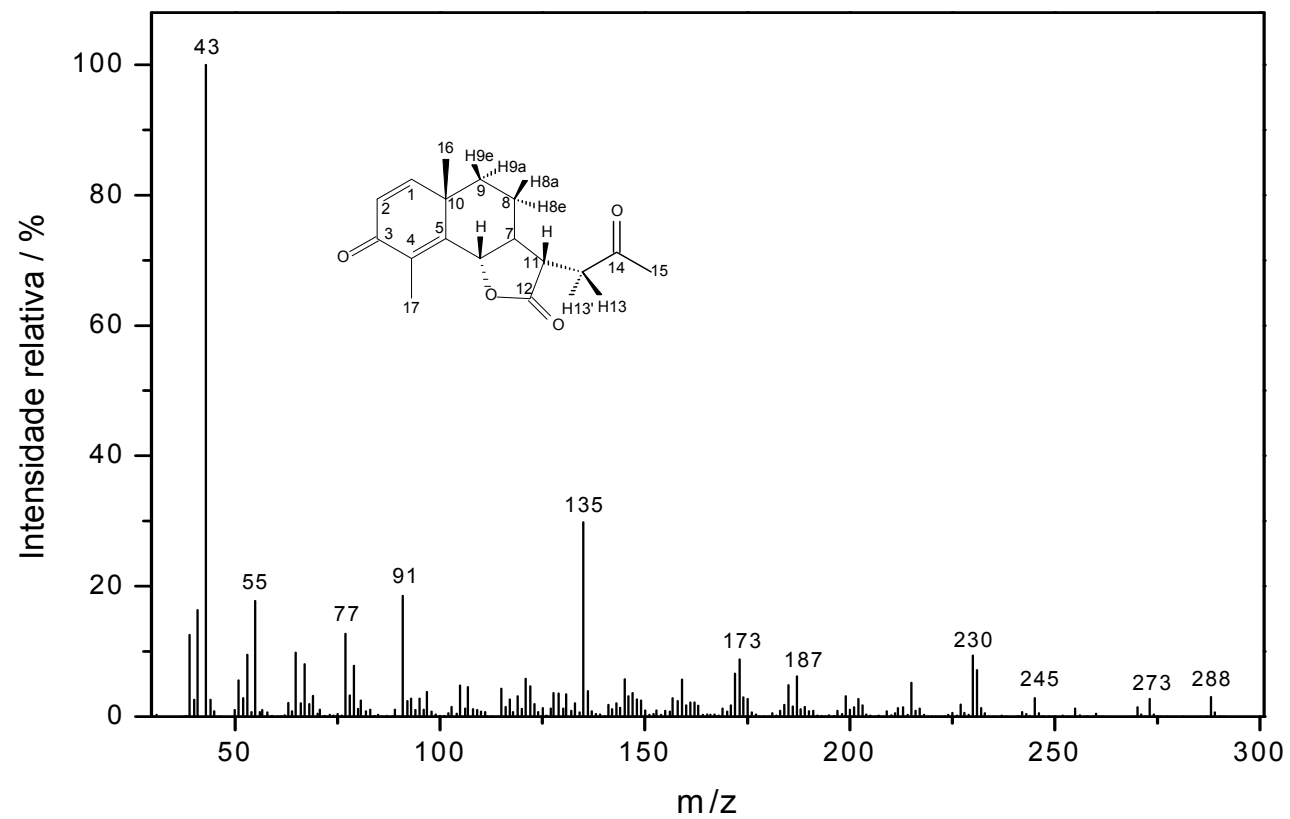
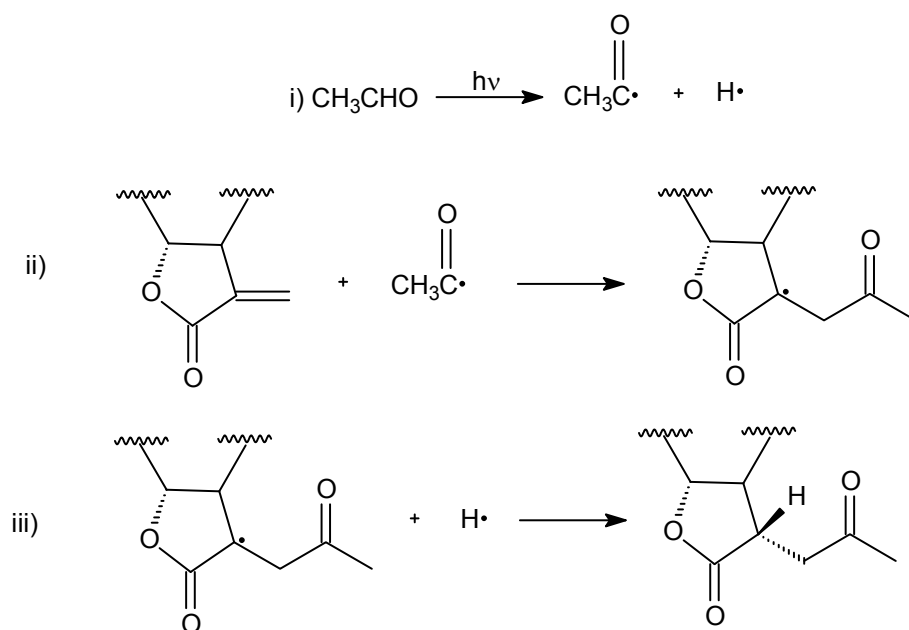


Figura 25- Espectro de massas do composto [20].

A formação de **[20]** pode ser explicada por meio de um mecanismo radicalar (Esquema 19).



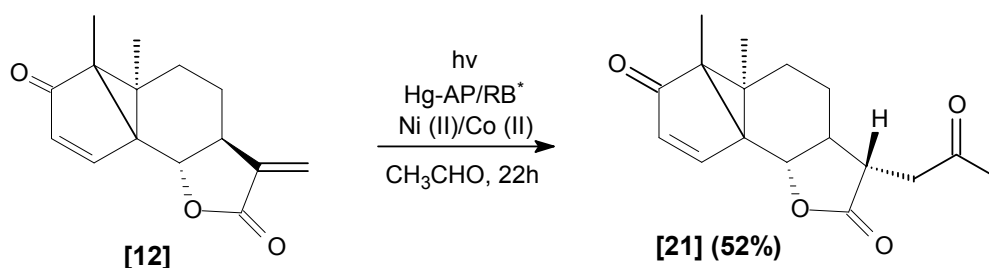
Esquema 19- Mecanismo de formação do composto **[20]**.

Antes de avançarmos na discussão sobre os compostos provenientes das reações de fotoadição, é interessante mostrar os diferentes produtos obtidos pela fotoquímica do composto **[10]** a 25°C em diferentes condições, com seus respectivos rendimentos (Tabela 2). Pode ser observado que a variação das condições das reações fotoquímicas, tais como, solvente, fonte de radiação, tipo de reator, resultou na formação de diferentes produtos, com rendimentos variando de 4,5% a 100%.

Tabela 2- Reação fotoquímica do composto **[10]** sob diversas condições

Condições			
Lâmpada de Hg	Reator	Solvente	Rendimento (%)/ composto
Baixa Pressão (4x15 W)	Quartzo	Ácido acético anidro	18/ [12] e 4,5 [13]
Alta Pressão (125 W)	Borossilicato	Acido acético/água (1:1)	31/ [17] e 27/ [18]
Baixa Pressão (4x15 W)	Quartzo	Acetonitrila anidra	100/ [19]
Alta pressão (125 W)	Borossilicato	Acetaldeído	45/ [20]

Dando continuidade à discussão das reações de fotoadição, podemos destacar agora o composto **[21]**, que foi isolado como um sólido branco, com rendimento de 52%, a partir do composto **[12]**, sob condições reacionais bastante similares àquelas descritas para a síntese de **[20]**. O esquema da reação (Esquema 20) está descrito abaixo.



* AP = Alta pressão; RB = Reator de Borossilicato

Esquema 20- Síntese do composto **[21]**.

Analisando o espectro no infravermelho do composto **[21]** (Figura A46 do Anexo 1) observamos bandas em 1782, 1717 e 1700 cm^{-1} que correspondem ao estiramento das carbonilas da lactona, da cetona saturada e da cetona α,β -insaturada, respectivamente.

Similarmente ao composto **[20]**, o espectro de RMN de ^1H do composto **[21]** (Figura A47 do Anexo 1) apresentou dois duplo dupletos (dd) em δ_{H} 2,60 e 3,04, referentes aos hidrogênios H13 e H13', e também

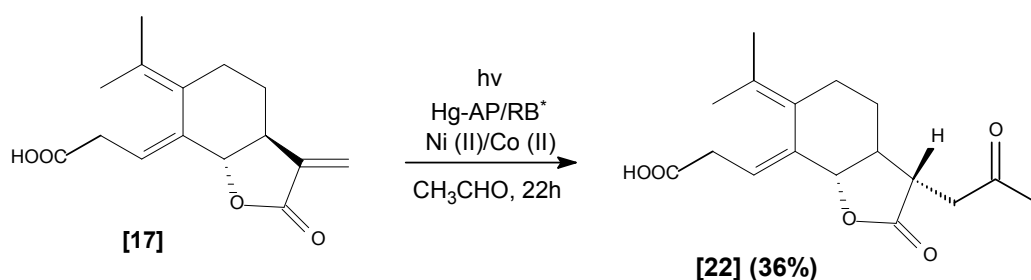
um duplo duplo duplete (ddd) em δ_H 2,80 relativo ao hidrogênio H11, ambos sinais com constantes de acoplamento idênticas a **[20]**. Observou-se ainda dois dupletos em δ_H 6,00 e 7,60 que correspondem a H3 e H4, respectivamente ($J_{3,4} = 5,7$ Hz).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura A48 do Anexo 1) observou-se sinais em δ_C 7,7, 17,4 e 30,4 referentes às metilas C17, C16 e C15, respectivamente; sinais em δ_C 131,7 e 157,7 que foram atribuídos à ligação dupla carbono-carbono e sinais em δ_C 177,6, 205,4 e 206,8 que correspondem às carbonilas da lactona, da cetona saturada e da cetona α,β -insaturada, respectivamente.

A atribuição dos sinais relativos aos átomos de hidrogênio e carbono foi confirmada por meio da análise dos espectros bidimensionais COSY (Figura A49 do Anexo 1) e HETCOR (Figura A50 do Anexo 1), respectivamente.

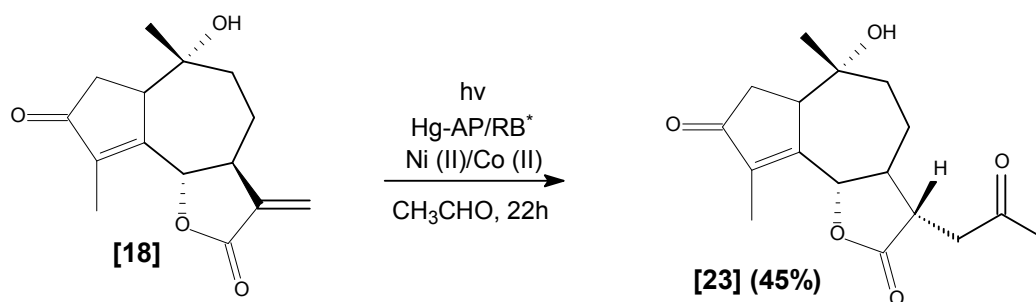
A massa molecular do composto **[21]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura A51 do Anexo 1), que apresentou o pico do íon molecular em m/z 288.

Os compostos **[22]** e **[23]** também foram sintetizados por meio de reações de fotoadição, sob as condições reacionais apresentadas nos Esquemas 21 e 22.



* AP = Alta pressão; RB = Reator de Borossilicato

Esquema 21- Síntese do composto **[22]**.



* AP = Alta pressão; RB = Reator de Borossilicato

Esquema 22- Síntese do composto **[23]**.

O espectro no infravermelho do composto **[22]** (Figura A53 do Anexo 1) apresentou a banda referente à carbonila do grupo acetil em 1716 cm^{-1} . Já no espectro do composto **[23]** (Figura A60 do Anexo 1) tal banda está superposta pela banda correspondente ao estiramento da carbonila da cetona α,β -insaturada.

Os espectros de RMN de ^1H dos compostos **[22]** (Figura A54 do Anexo 1) e **[23]** (Figura A61 do Anexo 1) apresentaram um simpleto em torno de $\delta_{\text{H}} 2,20$ referente à metila do grupo acetil e dois duplo dupletos (dd) em torno de $\delta_{\text{H}} 2,60$ e $3,00$ que correspondem aos hidrogênios H13 e H13', respectivamente.

Analisando os espectros de RMN de ^{13}C (Figura A55 e A62 do Anexo 1) desses compostos observou-se um sinal em torno de $\delta_{\text{C}} 205,0$ referente à carbonila da cetona saturada, bem como um sinal em torno de $\delta_{\text{C}} 30,0$ referente à metila C15.

A atribuição inequívoca dos átomos de hidrogênio e carbono dos compostos **[22]** e **[23]** foi realizada por meio da análise dos espectros bidimensionais COSY (Figura A46 e A53 do Anexo 1) e HETCOR (Figura A47 e A54 do Anexo 1), respectivamente.

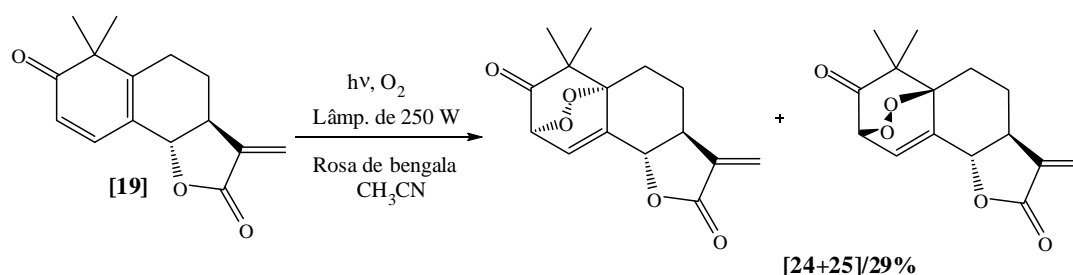
Os espectros de massa desses compostos (Figura A48 e Figura A55 do Anexo 1) apresentaram o pico do íon molecular, com intensidade em torno de 10%, em m/z 306, confirmando assim a massa molecular de **[22]** e **[23]**.

Assim como em [20], nos demais compostos provenientes das reações de fotoadição ([21-23]), a adição do grupo acetil ocorreu pela face α da dupla ligação, conforme observado nos espectros NOEDIFF dos compostos [21] e [23] (Figuras A52 e A65 do Anexo 1).

3.3. Reações de fotooxigenação

A partir da descoberta da droga antimalárica artemisinina [5], compostos contendo o grupo endoperóxido têm despertado um grande interesse devido a sua ampla faixa de atividades biológicas (CASTEEL, 1999; FRAGA, 2004; O'NEILL, 2004). Dessa forma, a 11,13-deidromazdassantonina [19] foi submetida à reação de fotooxigenação, produzindo a mistura de isômeros [24] e [25].

A mistura de isômeros foi obtida como um sólido branco, na proporção 1:1,4, em rendimento de 29%. Nessa reação foi utilizada rosa de bengala, que atua como fotossensibilizador transferindo parte da radiação (no visível) absorvida para a molécula de oxigênio, tornando-a mais reativa. O esquema da reação (Esquema 23) está descrito abaixo.



Esquema 23- Síntese da mistura de isômeros [24] e [25].

A mistura de isômeros [24] e [25] foi caracterizada por meio das espectroscopias no infravermelho, RMN de 1H , RMN de ^{13}C , do experimento bidimensional HETCOR e também dos dados da espectrometria de massas.

A análise do espectro no infravermelho (Figura 26) revelou duas bandas muito intensas em 1741 e 1784 cm^{-1} que foram atribuídas ao estiramento das carbonilas do anel contendo o grupo endoperóxido e da

lactona, respectivamente. Ao se comparar os espectros no infravermelho do composto [19] e da mistura isomérica [24+25] observamos que a banda referente à carbonila da cetona que antes era observada em torno de 1660 cm^{-1} , agora apareceu em 1740 cm^{-1} devido à ausência da conjugação. Observou-se também bandas em 1129 e 1044 cm^{-1} relativas ao estiramento C-O do grupo endoperóxido e da lactona.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 27) apresentou todos os sinais de forma duplicada, sugerindo, portanto, a formação de uma mistura isomérica. A proporção entre os isômeros pôde ser obtida por meio do valor da integral referente aos sinais que se repetiam. O simpleto duplicado referente à metila H15 (Figura 35), assim como os demais sinais duplicados, apresentaram uma relação de 1:1,4 no valor da integral. Logo os isômeros se encontram nessa proporção. No entanto não foi possível identificar a qual dos isômeros se refere cada sinal duplicado.

O espectro de RMN de ^1H apresentou ainda dois dupletos em δ_{H} 4,65 e δ_{H} 4,72 referentes aos hidrogênios H3 e H3' desblindados pelo grupo endoperóxido ($J_{3,4} = 6,6\text{ Hz}$; $J_{3',4'} = 6,6\text{ Hz}$); dois duplo dupletos (dd) em δ_{H} 4,49 e δ_{H} 4,64 correspondentes aos hidrogênios H6 e H6'. Tais hidrogênios apresentam um acoplamento vicinal ($J_{6,7} = 12,0\text{ Hz}$; $J_{6',7'} = 12,6\text{ Hz}$); e um acoplamento alílico ($J_{6,4} = 2,1\text{ Hz}$; $J_{6',4'} = 2,7\text{ Hz}$); e também quatro dupletos em δ_{H} 5,52; 5,54; 6,21 e 6,24 que foram atribuídos aos hidrogênios H13, H13'', H13' e H13''' ($J_{13,13''} = 3,0\text{ Hz}$; $J_{13'',13'''} = 3,0\text{ Hz}$) da ligação dupla exocíclica.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 28) apresentou, também, todos os sinais duplicados. Um exemplo disso é ilustrado considerando-se os sinais referentes aos carbonos desblindados pelos oxigênios do grupo endoperóxido e da lactona que aparecem em torno de δ_{C} 80,0. Caso houvesse a formação de apenas um dos isômeros, três sinais referentes aos carbonos C3, C6 e C10, deveriam ser observados nessa região. No entanto foram observados seis sinais, conforme destacado na Figura 36. A atribuição correta da maioria dos carbonos da mistura isomérica foi feita por meio do experimento bidimensional HETCOR (Figura 29).

A massa molecular dos isômeros **[24]** e **[25]** foi confirmada por meio do espectro de massas (Figura 30), que apresentou o pico do íon molecular em m/z 276.

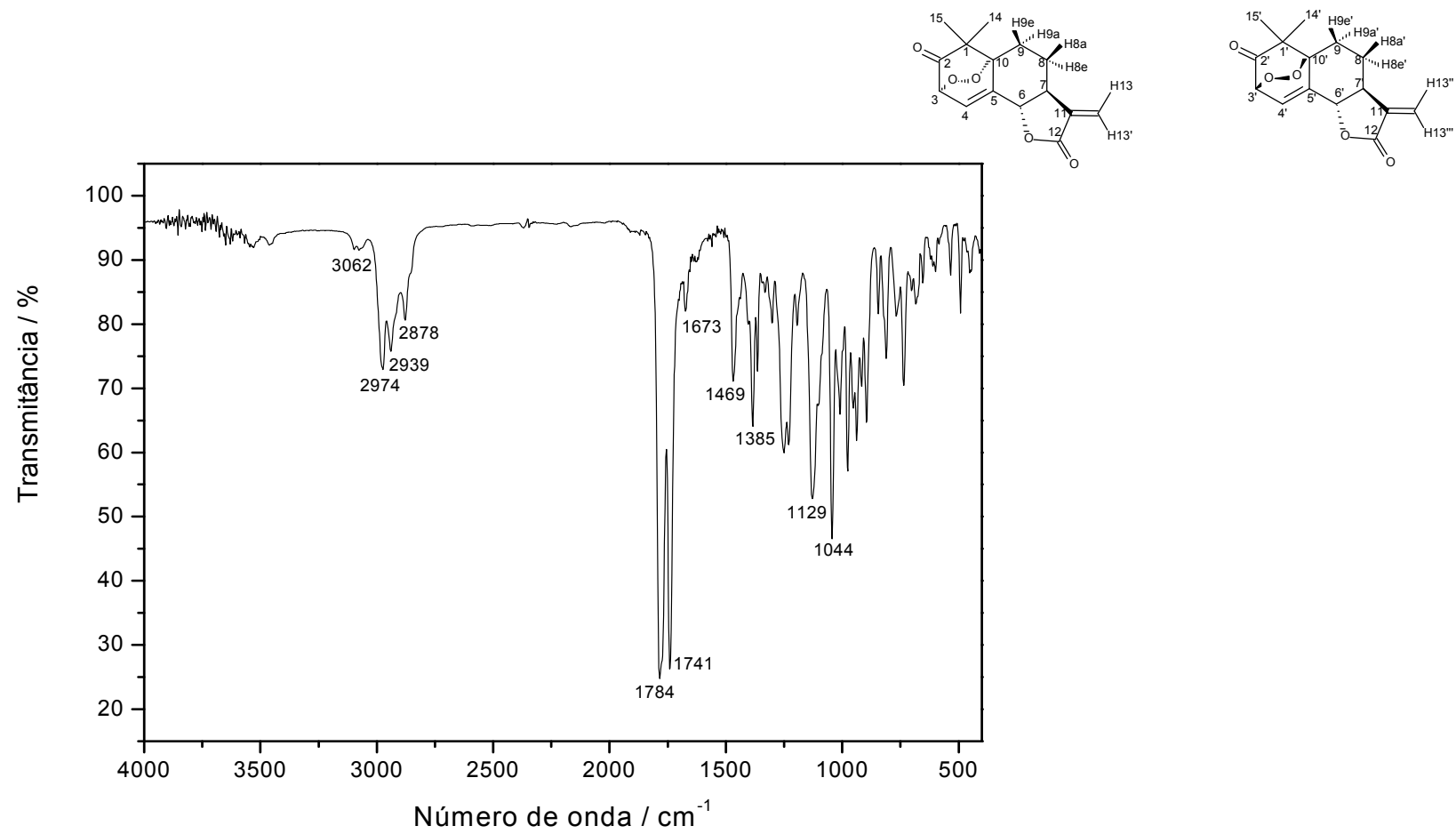


Figura 26- Espectro no infravermelho (IV) da mistura de isômeros [24] e [25].

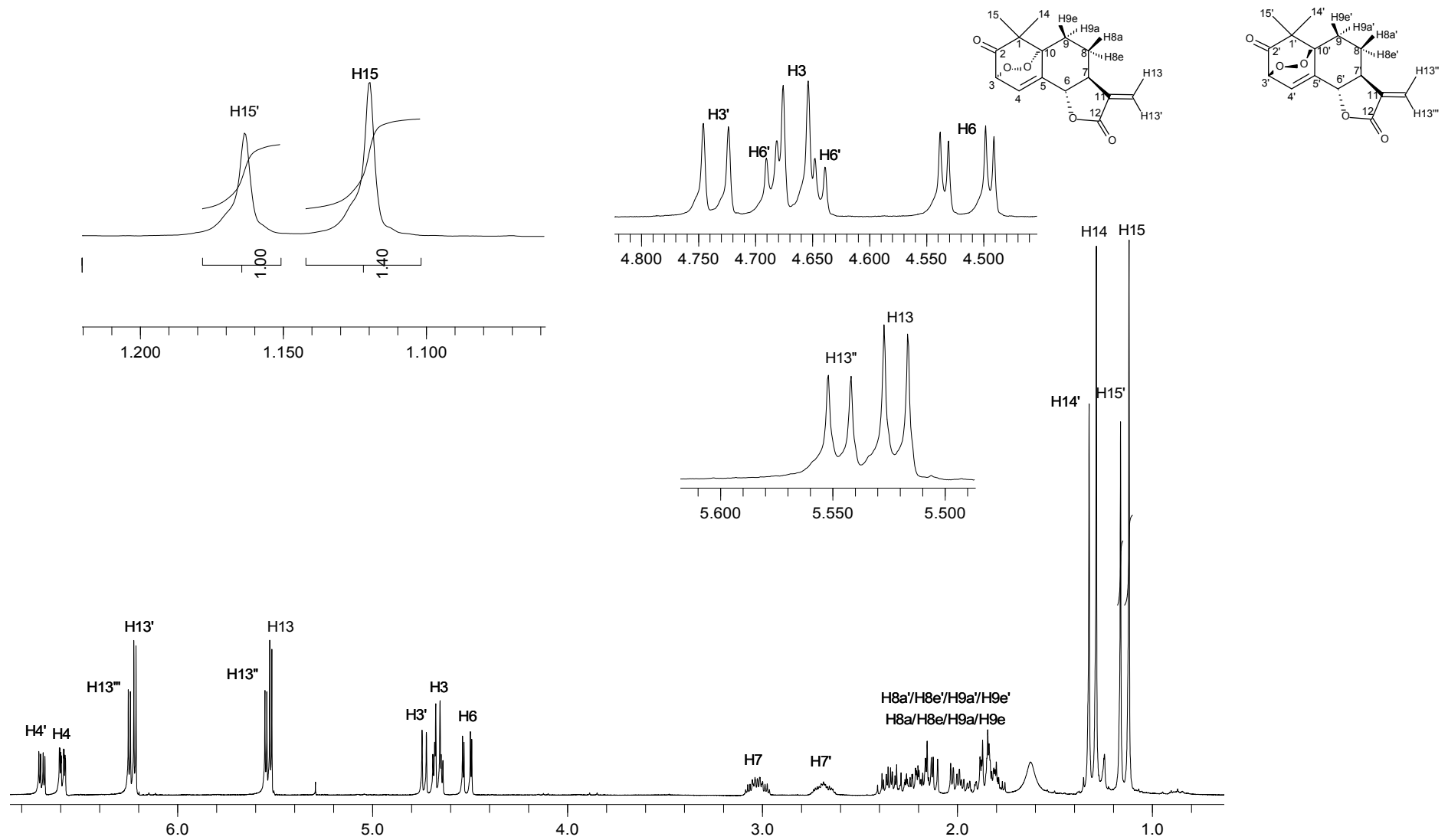


Figura 27- Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da mistura de isômeros [24] e [25].

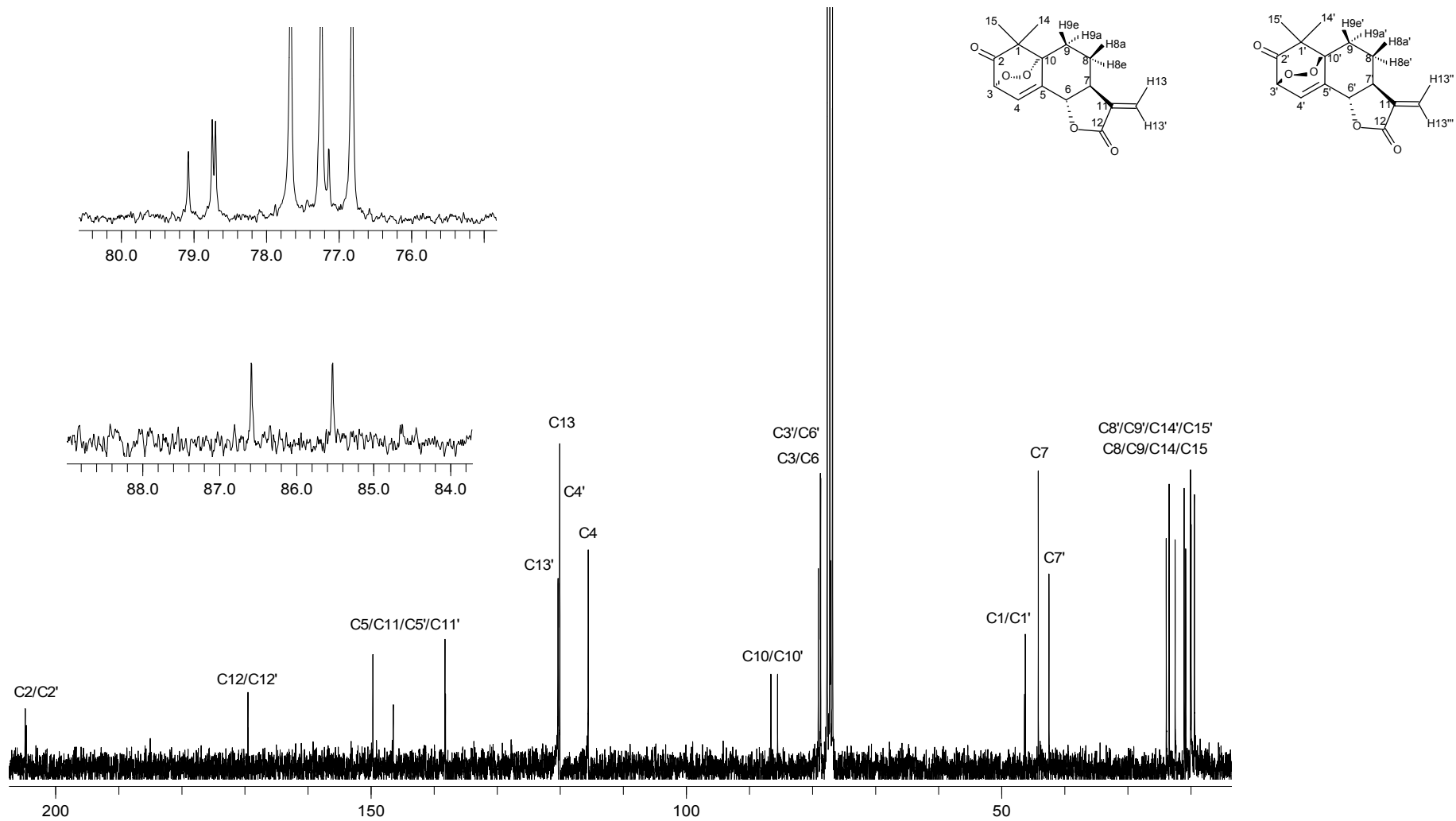


Figura 28- Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da mistura de isômeros [24] e [25].

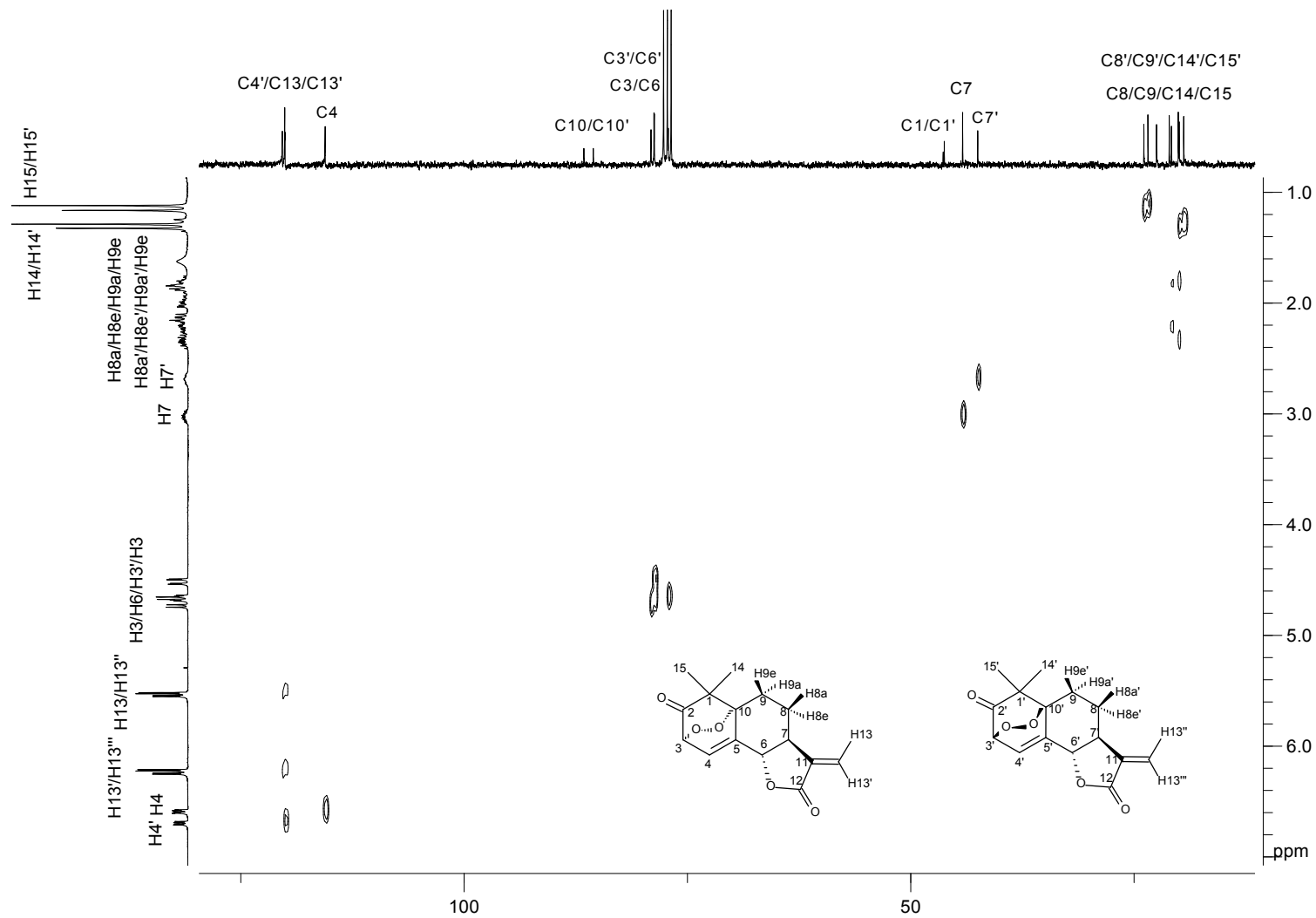


Figura 29- Mapa de contornos HETCOR da mistura de isômeros [24] e [25].

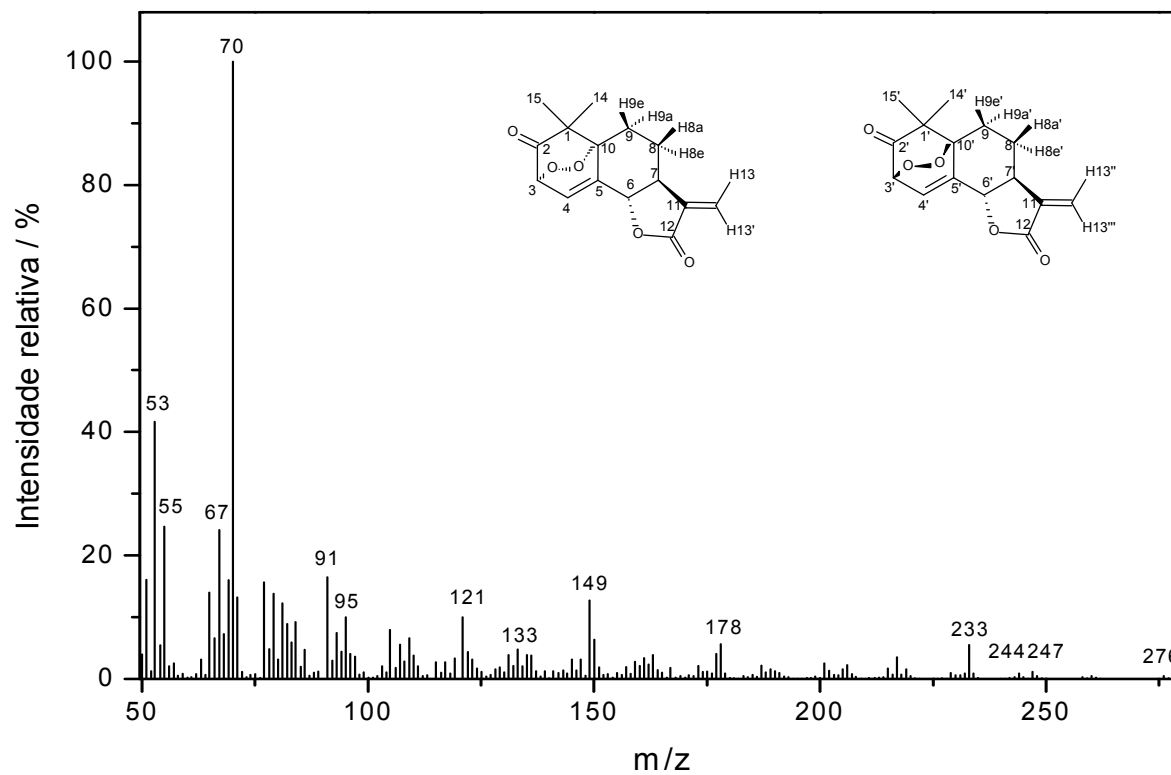
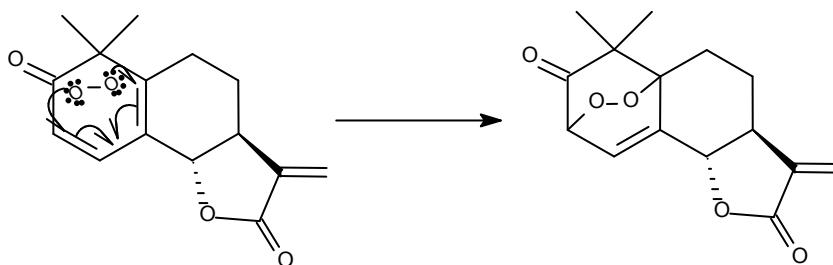


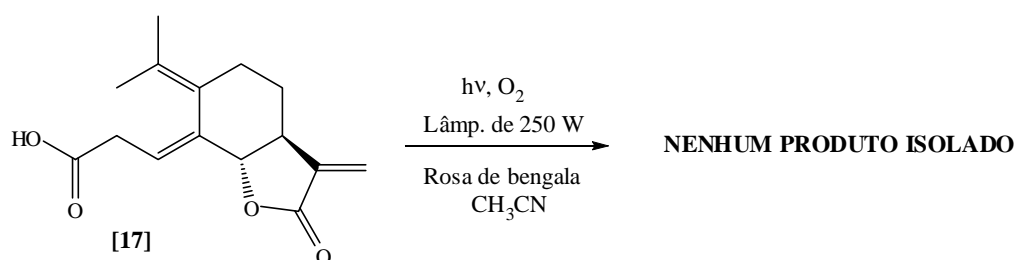
Figura 30- Espectro de massas da mistura de isômeros [24] e [25].

Endoperóxidos podem ser produzidos pela reação de cicloadição (2 + 4) com oxigênio no estado singlete (excitado), uma forma mais reativa do oxigênio. O oxigênio no estado singlete é facilmente produzido pela transferência de energia do fotossensibilizador (rosa de bengala), irradiado por luz visível. O mecanismo de fotooxigenação está representado no Esquema 24.



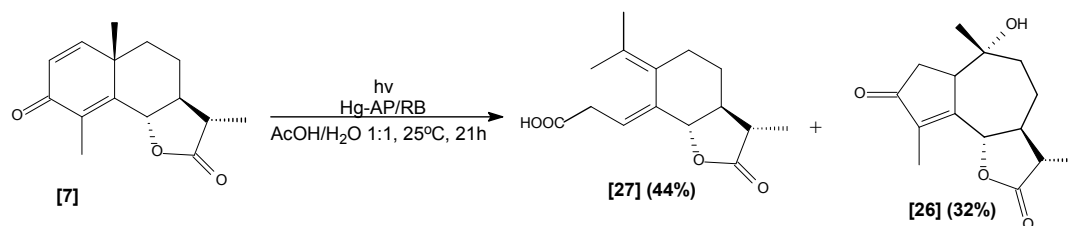
Esquema 24: Mecanismo de formação do endoperóxido.

O composto **[17]** também foi submetido à reação de fotooxigenação, conforme apresentado no esquema 25. No entanto, devido à formação de vários subprodutos e à pequena massa do material bruto obtido não foi possível o isolamento de nenhum produto da reação.



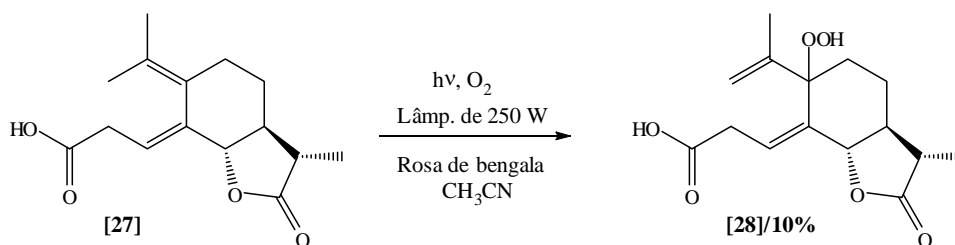
Esquema 25: Tentativa de adição do grupo endoperóxido ao composto **[17]**.

Esta reação foi então repetida utilizando-se agora o ácido isofotossantônico **[27]**, de estrutura muito similar ao composto **[17]**, como material de partida. **[27]** foi obtido em uma única etapa, por meio da mesma metodologia utilizada na síntese de **[17]**. No entanto, utilizou-se a α -santonina **[7]**, disponível comercialmente, como material de partida, conforme esquema 26. Nessa reação foi isolado também o composto **[26]**.



Esquema 26: Síntese dos compostos **[26]** e **[27]**.

O ácido isofotossantônico **[27]** foi submetido à reação de fotooxigenação, em maior escala, sendo possível, agora, o isolamento do derivado hidroperóxido **[28]**, como um sólido branco com rendimento de 10%. O esquema da reação (Esquema 27) é apresentado abaixo.



Esquema 27: Síntese do hidroperóxido **[28]**.

O espectro no infravermelho (Figura A66 do Anexo 1) do composto **[28]** apresentou bandas de absorção em 1712 e 1769 cm^{-1} referentes ao estiramento C=O do ácido carboxílico e da lactona, respectivamente, e duas bandas largas na região de 2600-3400 cm^{-1} que foram atribuídas ao estiramento OH do ácido carboxílico e do grupo hidroperóxido.

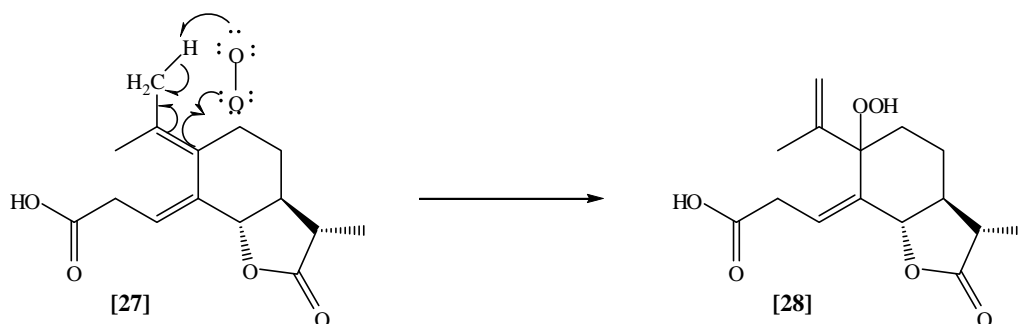
O espectro de RMN de ^1H (Figura A67 do Anexo 1) apresentou um simpleto em δ_{H} 5,12 referente ao grupo metileno da dupla ligação (H15) e um duplo duplo duplete (ddd) em δ_{H} 5,94 ($J_{3,2'} = 10,5$ Hz; $J_{3,2} = 6,0$ Hz; $J_{3,5} = 2,4$ Hz) atribuído ao hidrogênio H3. A presença destes sinais bem como a ausência do sinal referente à metila H15 existente no material de partida **[28]** são importantes para a confirmação da estrutura do composto **[28]**.

Analisando o espectro de RMN de ^{13}C (Figura A68 do Anexo 1) observamos sinais em δ_{C} 79,9 e 89,9 referentes ao carbono C5 e ao carbono onde o grupo hidroperóxido está ligado (C9), respectivamente. Os sinais correspondentes aos carbonos de dupla ligação C=C aparecem em δ_{C} 117,3, 118,7, 138,0 e 143,5.

A atribuição inequívoca dos átomos de hidrogênio e carbono foi feita com base na análise dos experimentos bidimensionais COSY (Figura A69 do Anexo 1) e HETCOR (Figura A70 do Anexo 1).

A massa molecular do composto **[28]** foi confirmada através do espectro de massas (Figura A71 do Anexo 1) desse composto, que apresentou pico do íon molecular em m/z 296. O pico em m/z 262, referente à perda de uma molécula de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), confirma a presença do grupo hidroperóxido.

O mecanismo de formação do derivado hidroperóxido **[28]** está apresentado no Esquema 28.



Esquema 28: Mecanismo de formação do hidroperóxido **[28]**.

3.4. Ensaios de citotoxicidade.

A citotoxicidade das lactonas sesquiterpênicas [8-13, 17-25] foi avaliada contra as linhagens celulares tumorais humanas HL-60 (leucemia), SF-295 (sistema nervoso central), HCT-8 (côlon), MDA-MB-435 (melanoma), UACC-257 (melanoma), A549 (pulmão), OVACAR-8 (ovário), A704 (rins), e PC3 (próstata), utilizando o ensaio MTT descrito anteriormente. Doxorrubicina foi utilizado como controle positivo. A Tabela 1 sumariza os dados de IC₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$) para atividade citotóxica. Analisando a Tabela observamos que os compostos [10], [12] e [13], exibiram citotoxicidade relativamente elevada contra todas as linhagens tumorais testadas, com valores de IC₅₀ na faixa de 0,36 a 14,50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A eficácia citotóxica desses compostos foi comparável àquela das bem conhecidas lactonas sesquiterpênicas partenolídeo e helenalina (HALL *et al.*, 1977 e DIRSCH *et al.*, 2001).

Os compostos [17] e [18] também demonstraram atividade bastante significativa contra HL-60 (leucemia), SF-295 (sistema nervoso central) e HCT-8 (côlon), com valores de IC₅₀ na faixa de 5,70 a 16,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Interessantemente, tais compostos não apresentaram atividade contra MDAMB-435 (melanoma). Em estudos de ZHANG *et al.*, 2006, o produto natural Parishin A [18], isolado de *Irexia chinensis*, apresentou moderada atividade contra WI-38 (fibroblasto), VA-13 (tumor maligno de pulmão) e HepG2 (hepatoma humano), com IC₅₀ de 24,0 ; 22,0 e 23,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

O composto [19], que, assim como os compostos [10, 12, 13, 17 e 18], apresenta o grupo α -metileno- γ -butirolactona em sua estrutura, foi moderadamente potente contra HL-60 e MDAMB-435, com IC₅₀ de 11,90 e 8,60 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Entretanto, ele foi inativo contra as outras células tumorais testadas (IC₅₀>100 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

Adição de um grupo endoperóxido ao composto [19], dando a mistura de isômeros [24] e [25], aumentou significativamente a potência contra as linhagens tumorais testadas, com valores de IC₅₀ de 1, 45 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (HL-60), 2, 54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (SF-295), 4, 35 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (HCT-8) and 3, 26 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (MDA-MB-435). Julgando pela potência do composto [19], o grupo

endoperóxido é um importante fator estrutural para a boa atividade da mistura de isômeros **[24]** e **[25]**.

O composto **[8]** exibiu baixa atividade citotóxica com valores de IC_{50} na faixa de $49,84 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $91,46 \mu\text{mol L}^{-1}$. Já a lactona **[11]** apresentou IC_{50} de $8,73 \mu\text{mol L}^{-1}$ contra a linhagem tumoral HL-60, mas não foi capaz de inibir significativamente o crescimento das outras linhagens tumorais testadas ($IC_{50} > 100 \mu\text{mol L}^{-1}$).

A citotoxicidade dos compostos **[10]**, **[12, 13, 17, 18]** e da mistura de isômeros **[24]** e **[25]** foi testada também contra células normais (PBMC). Os resultados presentes na Tabela 1 mostram que os efeitos dessas lactonas são, em geral, menos pronunciados em células normais, o que as tornam seletivas contra as células tumorais testadas.

Adição do grupo acetil ao grupo α -metileno- γ -butirolactona dos compostos **[10]**, **[12]**, **[17]** e **[18]**, dando **[20]**, **[21]**, **[22]** e **[23]**, respectivamente, resultou em diminuição da potência citotóxica, o que reforçou a importância do grupo α -metileno- γ -butirolactona.

Tabela 1 – Atividade citotóxica (IC₅₀ [µmol.L⁻¹]) das lactonas sesquiterpênicas

Linhagens celulares	Lactonas								Doxorrubicina
	8	9	10	11	12	13	17	18	
Células tumorais									
L-60	80,16 65,68-91,31	>100	1,14 0,23-2,77	8.73 6.98-10.97	2,30 1,87-2,84	1,60 1,09-2,35	8,70 6,49-11,07	5,70 4,58-6,87	0,04 0,03-0,05
SF-295	68,78 53,37-78,66	>100	2,70 0,67-1,90	>100	2,15 1,90-2,40	3,06 2,52-3,70	16,40 14,50-18,70	10,30 9,16-11,45	0,48 0,34-0,72
HCT-8	59,19 46,54-65,25	>100	2,92 0,98-4,86	>100	1,96 1,64-2,29	0,36 0,16-0,79	12,20 10,70-14,12	8,30 6,49-11,07	0,02 0,02-0,03
MDA-MB-435	91,46 82,23-99,60	>100	6,74 5,56-7,21	>100	4,57 3,26-5,32	8,84 5,62-10,23	>100	>100	0,96 0,68-1,32
UACC-257	>100	>100	6,05 5,26-6,56	>100	4,87 4,32-5,12	7,76 5,56-8,23	Nd	Nd	0,60 0,51-0,70
A549	69,35 55,26-74,23	>100	13,43 12,56-13,98	>100	14,50 14,01-14,87	10,23 9,53-11,56	Nd	Nd	0,72 0,54-1,54
OVACAR8	49,84 45,55-56,28	>100	6,94 6,53-7,26	>100	3,88 3,12-4,21	8,67 8,01-8,98	Nd	Nd	0,51 0,26-0,96
A704	85,43 69,23-95,23	>100	10,14 9,23-11,23	>100	3,61 3,01-3,89	9,24 8,56-10,23	Nd	Nd	2,00 1,46-2,72
PC3	66,45 59,29-75,37	>100	13,04 12,56-13,78	>100	5,07 4,85-5,79	14,41 14,02-14,97	Nd	Nd	1,32 0,62-1,56
Células normais									
PBMC	Nd	Nd	3,23 1,64-5,33	Nd	13,36 5,74-29,10	13,45 5,92-29,60	30,50 21,76-48,47	8,30 5,73-11,83	1,77 0,92-3,13

Doxorrubicina foi usada como controle positivo. Dados são apresentados como valores de IC₅₀ e intervalo de confiança de 95% de dois experimentos independentes. Nd: não determinado.

Tabela 1 – Atividade citotóxica (IC₅₀ [μmol.L⁻¹]) das lactonas sesquiterpênicas – Continuação

Linhagens tumorais	19	20	Lactonas			24 e 25	Doxorubicina
			21	22	23		
Células tumorais							
HL-60	11.90 8.62-16.41	>100	>100	>100	>100	1.45 1.45-1.81	0.04 0.02-0.04
SF-295	>100	>100	>100	>100	>100	2.54 1.81-2.90	0.48 0.40-0.52
HCT-8	>100	>100	>100	>100	>100	4.35 1.45-12.33	0.02 0.02-0.04
MDA-MB-435	8.60 7.48-10.10	>100	>100	>100	>100	3.26 2.90-3.98	0.96 0.68-1.32
Células normais							
PBMC	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	36.05 25.53-50.9	1.66 0.88-2.84

Doxorubicina foi usada como controle positivo.

Dados são apresentados como valores de IC₅₀ e intervalo de confiança de 95% de dois experimentos independentes.

4. CONCLUSÕES

A α -santonina, disponível comercialmente, foi utilizada como material de partida para o preparo do produto natural Parishin A e de outras 20 lactonas sesquiterpênicas, com rendimentos variando de 4,5 a 100%.

A citotoxicidade dos compostos **[8-13, 17-25]** foi avaliada contra as linhagens de células tumorais humanas HL-60 (leucemia), SF-295 (sistema nervoso central), HCT-8 (colon), MDA-MB-435 (melanoma), UACC-257 (melanoma), A549 (pulmão), OVACAR-8 (ovário), A704 (rins), e PC3 (próstata). Os compostos **[10, 12, 13, 17, 18 e 19]**, que possuem o grupo α -metileno- γ -butirolactona em sua estrutura, mostraram citotoxicidade relativamente alta contra as células tumorais, com valores de IC_{50} variando de 0,36 a 16,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A mistura de isômeros **[24 e 25]**, que possui, além do grupo α -metileno- γ -butirolactona, a ponte endoperóxido, foi bastante potente contra as células tumorais, com valores de IC_{50} entre 1,45 e 4,35 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Os compostos mais ativos contra células tumorais (**10, 12, 13, 17, 18 e 24/25**) foram testados também contra células normais (PBMC). Os resultados demonstraram que os efeitos desses compostos foram, em geral, menos pronunciados contra células normais, o que os tornam seletivos contra células tumorais.

Com relação aos estudos das relações estrutura-atividade, podemos concluir que o grupo α -metileno- γ -butirolactona e o grupo endoperóxido têm importantes papéis na citotoxicidade das lactonas sesquiterpênicas. Com base nesses resultados, novos compostos com alta citotoxicidade poderão ser preparados futuramente.

CAPÍTULO 2: Estudo da relação estrutura-atividade (SAR) de lactonas sesquiterpênicas derivadas da α -santonina.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de representar a estrutura da matéria no nível molecular levou ao desenvolvimento de uma nova área de pesquisa dentro da física e da química, conhecida como modelagem molecular. O reconhecimento desta nova área de pesquisa pelo mundo científico veio com o prêmio Nobel em Química em 1998 concedido a John Pople e Walter Kohn, pelas contribuições no desenvolvimento da química computacional e modelagem molecular (SANTOS, 2001).

A aplicação de métodos computacionais no estudo e no planejamento de compostos bioativos tem se tornado uma prática rotineira nos dias atuais. Do ponto de vista do planejamento, é importante destacar que, quando se fala do uso da modelagem molecular, não se pretende chegar a uma molécula bioativa simplesmente através do uso de programas de computador. O processo de desenvolvimento dessas moléculas, devido à sua complexidade, envolve necessariamente o trabalho de uma equipe multidisciplinar, que emprega um grande conjunto de métodos computacionais de modo sistemático de forma a facilitar e otimizar o processo de desenvolvimento de compostos bioativos, em uma constante troca de informações com grupos de síntese química e avaliação da atividade destes compostos (SANT'ANNA, 2009).

Para que as interações ou as reações que ocorrem durante a ação da substância bioativa aconteçam, deve haver complementaridade estrutural entre tal substância e o receptor. Esta complementaridade permite o estabelecimento de interações mais ou menos específicas, como interações dipolo-dipolo e íon-íon, ligações hidrogênio e forças de dispersão, que contribuem para a energia de interação entre o bioligante e o receptor. É justamente neste ponto que a modelagem molecular pode dar sua contribuição para o desenvolvimento de substâncias bioativas, pois através dela pode se ter uma descrição detalhada da estrutura, das interações intermoleculares e, se for o caso, das reações químicas entre o bioligante e o receptor (SANT'ANNA, 2009).

A modelagem molecular depende do tipo de informação disponível. Duas diferentes situações podem ser avaliadas quando um estudo da relação estrutura-atividade é realizado: o sítio ativo do receptor é conhecido (por análise de raios-x ou RMN) ou desconhecido. Para o primeiro caso, a modelagem molecular é aplicada para se chegar a uma molécula complementar ao sítio ativo do receptor. Quando o sítio ativo é desconhecido, técnicas de QSAR ou SAR podem ser aplicadas para uma série de compostos similares com atividade biológica previamente determinada. Neste caso, as interações com o receptor são consideradas indiretamente, através de modelos de correlação entre a atividade de compostos conhecidos e propriedades específicas associadas a esses compostos, como por exemplo, o mapa de potencial eletrostático, o contorno da densidade eletrônica e as energias e os coeficientes dos orbitais de fronteira HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) e do LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) (BARREIRO E RODRIGUES, 1997).

Técnicas quimiométricas tais como PCA (principal component analysis) e HCA (hierarchical cluster analysis) são frequentemente utilizadas para se obter correlações estrutura-atividade (SAR).

PCA é frequentemente empregado para reduzir a dimensionalidade de um sistema multidimensional. O principal objetivo do PCA é comprimir os dados em um pequeno número de novas variáveis chamadas componentes principais (PC_s), que são combinação linear das variáveis originais e têm a importante propriedade de serem completamente não-correlacionadas. O primeiro novo eixo PC1 é escolhido na direção que maximiza a variância; o segundo eixo deve ser escolhido ortogonal ao primeiro e tem a segunda máxima variância e assim por diante (PINHEIRO *et al.*, 2001).

Na Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) distâncias entre pares de amostras são calculadas e comparadas. Pequenas distâncias entre as amostras indicam que elas são semelhantes. Por outro lado, as diferentes amostras serão separadas por distâncias relativamente grandes. HCA inicia-se com cada amostra definida como seu próprio cluster, em seguida, amostras semelhantes são agrupadas para formar novos grupos até que todas as amostras são parte de um único cluster. O objetivo principal do HCA é representar dados de uma maneira que enfatize agrupamentos naturais

atribuindo, assim, as categorias a que pertencem as amostras. A visualização dos grupos, correspondentes às diferentes classes é obtida na forma de dendogramas onde as linhas verticais representam os compostos e as linhas horizontais representam a similaridade entre elas (SOUZA *et al.*, 2003).

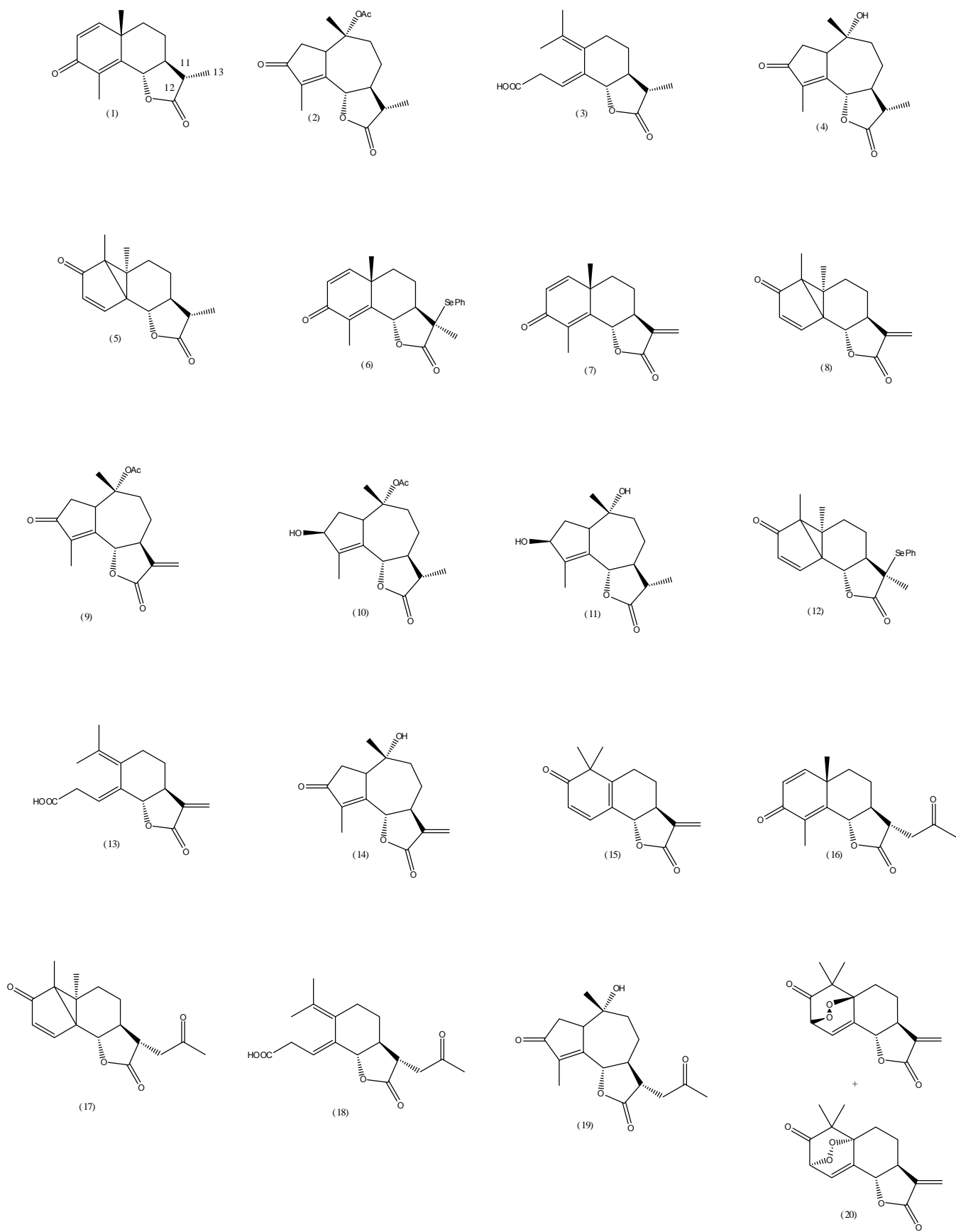
O principal objetivo desse trabalho foi estudar a relação entre parâmetros moleculares selecionados (descritores) e a citotoxicidade de um conjunto de lactonas sesquiterpênicas. O método semi-empírico PM6 foi utilizado para calcular descritores atômicos e moleculares de 20 lactonas descritas no capítulo anterior como agentes citotóxicos.

Os descritores (variáveis) foram escolhidos levando-se em conta três classes de variáveis: eletrônicas, estéricas e hidrofóbicas, as quais representam as possíveis interações moleculares entre as lactonas sesquiterpênicas e o receptor biológico. A análise de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamento hierárquico (HCA) foram empregadas para obter uma relação entre as variáveis calculadas e a citotoxicidade contra células tumorais HL-60 (leucemia).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Compostos

A estrutura química das 20 lactonas sesquiterpênicas estudadas neste capítulo estão apresentadas no Esquema 1. A numeração adotada para os átomos de carbono está apresentada na estrutura da α -santonina [1]. Os respectivos valores de IC₅₀ (concentração mínima para inibir em 50% o crescimento das células tumorais HL-60) estão apresentados na Tabela 1.



Esquema 1: Estrutura das 20 lactonas estudadas.

2.2. Cálculo dos descritores atômicos e moleculares

As geometrias das 20 lactonas sesquiterpênicas foram completamente otimizadas utilizando o método de mecânica molecular MMFF (HALGREN, 1996). Quando necessário, diferentes conformações foram calculadas para um determinado composto e somente a mais estável foi considerada posteriormente. Os descritores moleculares foram calculados usando o método semi-empírico PM6 (STEWART, 2007), baseando-se na conformação mais estável de cada derivado. Cálculos MMFF e PM6 foram feitos usando os softwares PC Spartan Pro e MOPAC 2009 (STEWART, 2009), respectivamente.

Os seguintes descritores foram calculados:

Descritores eletrônicos:

Energia do HOMO (E_{HOMO}) e do LUMO (E_{LUMO});

Eletroafinidade de Mulliken, calculada pela equação $X = (E_{\text{HOMO}} + E_{\text{LUMO}})/2$;

Eletroafinidade, calculada como $(- E_{\text{LUMO}})$;

Momento de dipolo (μ);

Calor de formação (ΔH_f);

Energia total (E_t);

Energia eletrônica (E_{el});

Carga atômica líquida sobre os átomos de carbono C11 (Q11), C12 (Q12) e C13 (Q13).

Descritores estéricos:

Área molecular (MA);

Volume molecular (MV).

Descritores hidrofóbicos:

Coeficiente de partição ($\log P$).

Os coeficientes de partição foram calculados utilizando o software PC Spartan Pro. A análise estatística foi realizada utilizando o programa MATLAB 6.0 (WISE, *et al.*, 1999).

Tabela 1

Valores das quatro mais importantes propriedades que classificam as 20 lactonas sesquiterpênicas e sua citotoxicidade (IC₅₀) contra células tumorais HL-60 (leucemia). E_{HOMO} é a energia do mais orbital molecular ocupado. Q11, Q12 e Q13 são as cargas atômicas sobre os átomos de carbonos 11, 12 e 13, respectivamente.

Compostos	E _{HOMO} (eV)	Q11	Q12	Q13	IC ₅₀ (μM)
1	-10.008	-0.2033	0.6032	-0.4572	>100
2	-10.062	-0.2070	0.6075	-0.4574	>100
3	-9.229	-0.2119	0.6133	-0.4512	>100
4	-10.037	-0.2086	0.6072	-0.4570	>100
5	-10.013	-0.2022	0.6052	-0.4572	80.16
					65.68-91.31
6	-8.921	-0.0970	0.6023	-0.4757	>100
7	-10.045	-0.1537	0.6112	-0.2374	1.14
					0.23-2.77
8	-10.041	-0.1528	0.6133	-0.2377	2.30
					1.87-2.84
9	-10.089	-0.1574	0.6149	-0.2333	1.60
					1.09-2.35
10	-9.704	-0.2085	0.6094	-0.4565	>100
11	-9.688	-0.2102	0.6092	-0.4562	>100
12	-8.974	-0.0899	0.5953	-0.4752	8.73
					6.98-10.97
13	-9.255	-0.1570	0.6197	-0.2363	8.70
					6.87-11.07
14	-10.059	-0.1579	0.6144	-0.2346	5.70
					4.56-6.84
15	-9.683	-0.1509	0.6148	-0.2379	11.90
					8.62-16.41
16	-10.142	-0.2095	0.6049	-0.4453	>100
17	-9.981	-0.2032	0.6044	-0.4451	>100
18	-9.391	-0.2009	0.6067	-0.4570	>100
19	-10.155	-0.2148	0.6087	-0.4455	>100
20	-9.410	-0.1528	0.6144	-0.2343	1.45
					1.45-1.81

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. PCA

O método PCA foi utilizado objetivando uma separação das 20 lactonas sesquiterpênicas em dois grupos (citotóxicos e não-citotóxicos), baseando-se nos descritores atômicos e moleculares calculados. Antes de aplicar o PCA, cada variável foi auto-escalada até que elas pudessem ser comparadas umas com as outras na mesma escala. Após o escalonamento, foram realizadas várias tentativas para se obter uma boa classificação do conjunto de compostos. A melhor separação foi obtida com quatro variáveis (ver Tabela 1) das catorze que tínhamos inicialmente: E_{HOMO} (Energia do HOMO); Q11 (carga atômica líquida sobre C11); Q12 (carga atômica líquida sobre C12) e Q13 (carga atômica líquida sobre C13). Isto sugere que as outras variáveis não são importantes para classificar estes compostos de acordo com suas citotoxicidades.

Utilizando este reduzido conjunto de variáveis, a variância total do conjunto de dados originais é representada por quatro PCs, como segue: PC1 = 46.09%, PC2 = 39.89%, PC3 = 13.26% e PC4 = 0.76 %. Um número de plotagens dos PCs foi examinado e o mais informativo (PC1 x PC2) está apresentado na Figura 1. Esta projeção representa 85.98% da variância total do conjunto de dados originais.

A Figura 1 mostra que as lactonas sesquiterpênicas analisadas estão separadas em dois grupos, A e B. O grupo A contém as lactonas sesquiterpênicas **1-6**, **10-12**, **16-19**, com baixo grau de citotoxicidade ($IC_{50} > 80.16 \mu\text{M}$) contra células tumorais HL-60, exceto o composto **12** com IC_{50} de $8.73 \mu\text{M}$ (Tabela 1). O grupo B consiste nas lactonas sesquiterpênicas (compostos **7**, **8**, **9**, **13**, **14**, **15**, **20**) com alta citotoxicidade ($1.14 < IC_{50} < 11.90 \mu\text{M}$) contra células tumorais HL-60 (Tabela 1).

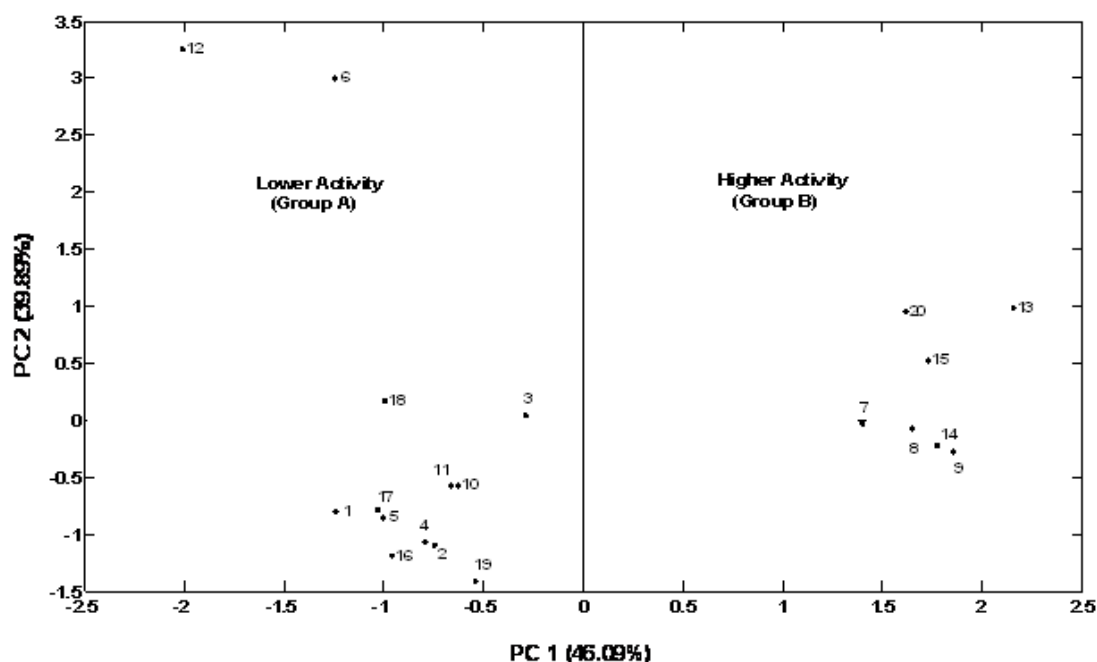


Figura 1: Plotagem das componentes principais (PC1xPC2) para as 20 lactonas sesquiterpênicas com citotoxicidade contra células tumorais. O PCA separa os compostos em dois grupos: baixa atividade (grupo A) e alta atividade (grupo B).

Adicionalmente, pode ser visto que os grupos A e B são separados principalmente ao longo de PC1. Os pesos para as variáveis selecionadas em PC1, PC2, PC3 e PC4 são dados na Tabela 2.

Tabela 2.
Pesos para as quatro primeiras componentes principais.

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4
E_{HOMO}	-0.1145	0.1904	0.6609	0.7169
Q11	0.6807	0.7080	-0.1710	0.0783
Q12	0.6642	-0.4881	0.5138	-0.2379
Q13	0.2871	-0.4735	-0.5197	0.6507

A Figura 2 exibe a plotagem dos pesos dos dois primeiros PCs (PC1 x PC2). De acordo com a Figura 2, o descritor E_{HOMO} é responsável por descrever os compostos inativos (PC1 < 0) e os descritores Q11, Q12 e Q13 são responsáveis por descrever os ativos (PC1 > 0).

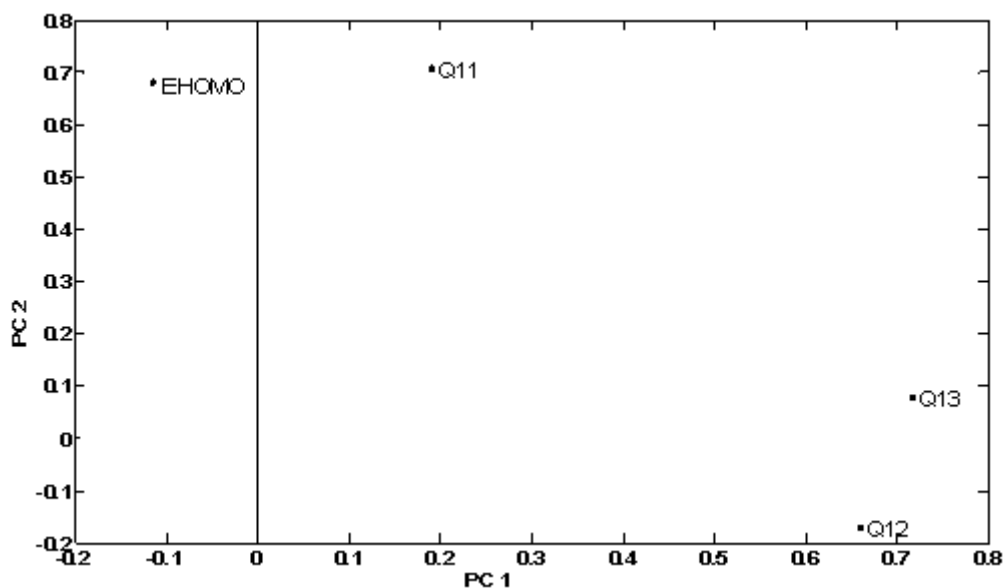


Figura 2: Plotagem dos pesos das duas primeiras componentes principais para as variáveis responsáveis pela separação dos compostos em ativos e inativos.

De acordo com a Tabela 2, PC1 pode ser expresso pela seguinte equação:

$$PC1 = 0.6807 [Q11] + 0.6642 [Q12] + 0.2871 [Q13] - 0.1145 [E_{HOMO}]$$

Desta equação, podemos ver que para uma dada lactona sesquiterpênica se tornar ativa ($PC1 > 0$) ela deve ter valores mais negativos para E_{HOMO} (note que E_{HOMO} tem valores negativos, conforme observado na Tabela 1), valores menos negativos de Q11 e Q13, juntamente com mais valores mais positivos de Q12.

A energia dos orbitais de fronteira representa uma importante propriedade em vários processos químicos e farmacológicos, e a razão para isto é o fato que estas propriedades dão informação sobre o caráter de doação ou recepção de elétrons de um composto. A equação acima indica que a energia do HOMO (E_{HOMO}) para os compostos ativos devem apresentar menores (mais negativos) valores que os compostos inativos. Isto significa que os compostos ativos não são bons doadores de elétrons quando comparados aos inativos, o que é consistente com o fato de que, na maioria dos casos, a

atividade de lactonas sesquiterpênicas está relacionada à reação do grupo α -metileno- γ -lactona com nucleófilos apropriados, por exemplo, grupos sulfidril de cisteína, em uma reação de Adição de Michael (MATTOS e MARZORATI, 1999). Isto é também uma consequência das maiores cargas positivas sobre o carbono C12. Portanto, lactonas sesquiterpênicas são, geralmente, bons aceptores de elétrons, o que está de acordo com os requerimentos estruturais (dupla ligação conjugada a um grupo retirador de elétrons) para uma Reação de Adição de Michael.

3.2. HCA

Os resultados obtidos na análise HCA são exibidos no dendograma mostrado na Figura 3. Os mesmos descritores selecionados pela análise de PCA foram utilizados (E_{HOMO} , Q11, Q12, Q13). Figura 3 mostra que as 20 lactonas sesquiterpênicas são separadas em dois grupos A e B, exatamente como observado na análise de PCA. Portanto, os descritores E_{HOMO} , Q11, Q12 and Q13 foram confirmados como os mais importantes para a classificação das lactonas sesquiterpênicas em compostos inativos ou ativos contra células tumorais HL-60.

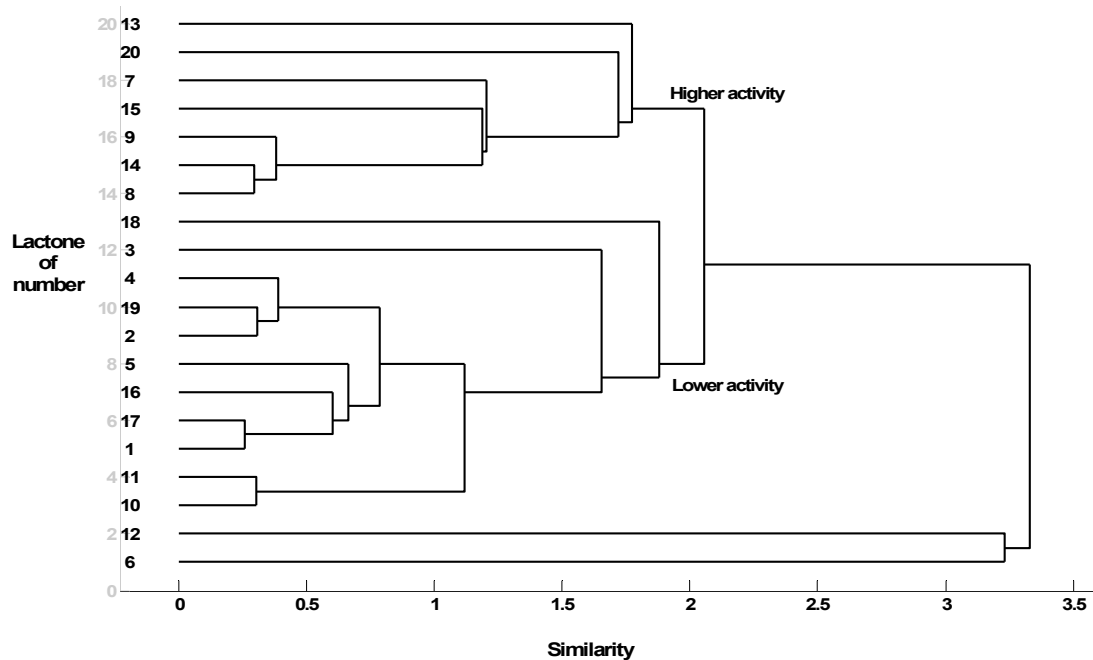


Figura 3: Dendograma obtido com Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) para as 20 lactonas sesquiterpênicas com citotoxicidade contra células tumorais. O HCA classifica os compostos em dois grupos: baixa atividade (grupo A) e alta atividade (Grupo B).

4. CONCLUSÕES

A Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamento hierárquico (HCA) mostraram que as 20 lactonas sesquiterpênicas estudadas podem ser classificadas em dois grupos: ativos (Grupo A) e inativos (Grupo B) contra células tumorais HL-60. Os descritores eletrônicos E_{HOMO} , Q11, Q12 e Q13 são os mais importantes para a separação entre moléculas ativas e inativas. Isto indica que efeitos eletrônicos têm importante papel no entendimento da citotoxicidade das lactonas sesquiterpênicas contra células tumorais. A análise de PCA indica que compostos com mais negativos valores de E_{HOMO} , Q11 and Q13 e mais positivos valores de Q12 são os mais ativos. Estes resultados reforçam o fato de que a presença do grupo α -metileno- γ -lactona propício a reagir com nucleófilos em uma reação de Adição de Michael, tem um papel significativo no mecanismo pelo qual lactonas sesquiterpênicas exercem suas atividades biológicas. Com base nos resultados desse estudo da correlação estrutura-atividade, novas lactonas sesquiterpênicas podem ser planejadas e obtidas com altas citotoxicidades contra células tumorais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, V. L., LEITAO, A., REINA, L. C. B., MONTANARI, C. A., DONNICI, L. C.; Câncer e Agentes Antineoplásticos Ciclo-Celular Específicos e Ciclo-Celular não Específicos que Interagem com o DNA: uma Introdução, **Química Nova**, v. 28, p. 118-129, 2005.

ALVARENGA, E. S., BARBOSA, L. C. A., SALIBA, W. A., ARANTES, F. F. P., DEMUNER, A. J.; Síntese e Avaliação da Atividade Fitotóxica de Derivados da α -santonina, **Química Nova**, v. 32, p. 401-406, 2009.

ANSAR, A. S., GOGAL, R. M., WALSH, J. E.; A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation assay., **Journal of Immunological Methods**, v. 170, 211-224, 1994.

BANERJEE, A.K., VERA, W.J., GONZALES, N.C.; Synthesis of Terpenoid Compounds from α -Santonin, **Tetrahedron**, v. 49, n. 22, p. 4761-4788, 1993.

BARBOSA, L. C. A., COSTA, A. V., VELOSO, D. P., LOPES, J. L. C., TERRONES, M. G. H., KING-DIAZ, B., LOTINA-HENSEN, B.; Phytogrowth-inhibitory lactones derivatives of glaucolide B, **Z. Naturforsch**, v.59, p. 803, 2004 .

BARBOSA, L. C. A., TEIXEIRA, R. R., MONTANARI, R. M, Phytotoxic Natural Products as Models for the development of crop protection agents, **In: Current Trends in Phytochemistry**. Ed: Francesco Epifano. Research Signpost, Kerala, Índia, p. 21-59, 2008.

BARGUES, V., BLAY, G., CARDONA, L., GARCÍA, B., PEDRO, J. R.; Stereoselective Synthesis of (+)-11 β H,13-Dihydroestafiatin, (+)-11 β H,13-Dihydroludartin, (-)-Compressanolide, and (-)-11 β H-Dihydromichelolide from Santonin. **J. Nat. Prod.**, v. 65, p. 1703-1706, 2002

BARTON, D.H.R., MAYO, P., SHAFIQ, M.; Photochemical Transformations. Part V. The Constitutions of Photosantonin Acid and Derivatives, **J. Chem. Soc.**, p. 3314-3319, 1958 (a).

BARTON, D. H. R., MAYO, P., SHAFIQ, M.; Photochemical Transformations. Part II. The Constitution of Lumisantonin, **J. Chem. Soc.**, v. 140, p. 140-145, 1958 (b).

BIRLADEANU, L. The Stories of Santonin and Santonic Acid., **Essays**. p. 1202-1208, 2003.

BARREIRO, E. J.; RODRIGUES, C. R.; Modelagem Molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal, **Química Nova**, v. 20, p. 300-310, 1997.

CASEY, M. LEONARD, J. LYGO, B. PROCTER, G.; **Advanced Practical Organic Chemistry**. Chapman and Hall, New York, 1990.

CASTEEL, D. A.; Peroxy natural products, **Nat. Prod. Rep.** v. 16, p. 55, 1999.

CHAPMAN, O. L., ENGLERT, L. F.; A Mechanistically Significant Intermediate in the Lumisantonin to Photosantonin Acid Conversion, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 85, p. 3028-3029, 1963.

CHON, S., JANG, H.; KIM, D., KIM, Y., BOO, H., KIM, Y.; Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants., **Scientia Horticulturae**, v. 106, p. 309-317, 2005.

DIRSCH, V. M., STUPPNER, H., VOLLMAR, A. M.; Helenalin Triggers a CD95 Death Receptor-independent Apoptosis That Is Not Affected by Overexpression of Bcl-xL or Bcl-2, **Cancer Res.**, v. 61, p. 5817-5823, 2001.

DUKE, S. O., VAUGHIN, K. C., ELSOHL, H. N.; Artemisinin, a constituent of Annual Wormwood (*Artemisia annua*), is a selective phytotoxin. **Weed Sci.**, v. 35, p. 499-505, 1987.

FISCH, M. H., RICHARDS, J. H.; The Mechanism of the Photoconversion of Santonin; **J. Am. Chem. Soc.**, v. 85, p. 3029-3030, 1963.

FRAGA, B. M.; Natural sesquiterpenoids, **Nat. Prod. Rep.** v. 21, p. 669, 2004.

GENG, G. J.; Interaction of vascular endothelial cells with leucocytes, platelets and cancer cells in inflammation, thrombosis and cancer growth and metastasis, **Acta Pharmacol. Sin.**, v. 24, p. 1297-1300, 2003.

GUZMAN, M. L., ROSSI, R. M., KARNISCHKY, L., LI, X., PETERSON, D. R., HOWARD, D. S., JORDAN, C. T.; The sesquiterpene lactone parthenolide induces apoptosis of human acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells, **Blood**, v. 105, p. 4163-4169, 2005.

HALL, I. H., LEE, K. H., MAR, E. C., STARNES, C. O., WADDELL, T. G.; Antitumoral agents. A proposed mechanism for inhibition of cancer growth by tenulin and helenalin and related cyclopentenones, **J. Med. Chem.**, v. 20, p. 333-336, 1977.

HALGREN, T. A.; Merck molecular force field. I. Basis, Form, Scope, Parametrization, and Performance of MMFF94, **J. Comput. Chem.**, v. 17, p. 490-519, 1996.

HEHNER, S. P., HEINRICH, M., BORK, P. M., VOGT, M., RATTER, F., LEHMANN, V., SCHULZE- OSTHOFF, K., DROGE, W., SCHMITZ, M. L., **J. Biol. Chem.**, v. 273, p. 288-1297, 1998.

KOEHN, F. E., CARTER, G. T.; The evolving role of natural products in drug discovery, **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, p. 206-220, 2005.

KUPCHAN, M., EAKIN, M. A., TOMAS, A. M.; Tumor inhibitors. Structure-cytotoxicity relations among the sesquiterpene lactones, **J. Med. Chem**, v. 14, p. 1147-1152, 1971.

LIPTON, M.F., SORENSEN, C.M., SADLER, A.C., SHAPIRO, R. H.; **J. Organometal. Chem.**, v. 186, p. 155-158, 1960.

MACÍAS, F. A., FERNANDEZ, A., VARELA, R. M., MOLINILLO, J. M. G., TORRES, A., ALVES, P. L. C. A; Sesquiterpene lactones as allelochemicals, **J. Nat. Prod.**, v.69, p. 795 – 800, 2006 a.

MACÍAS, F. A., GALINDO, J. C. G., CASTELLANO, D., VELASCO, R. F.; Sesquiterpene Lactones with Potential Use as Natural Herbicide Models (I): *trans,trans*-Germacranolides, **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, p. 4407-4414, 1999.

MACÍAS, F. A., GALINDO, J. C. G., MASSANET, G. M; Potential Allelopathic Activity of Several Sesquiterpene Lactone Models. **Phytochemistry**, v. 31, p. 1969-1977, 1992.

MACÍAS, F. A., VIÑOLO, V. M. I., FRONCZEK, F. R., MASSANET, G. M. and MOLINILLO, J. M. G.; 11,16-Oxetanes lactones. Spectroscopic evidences and conformational analysis, **Tetrahedron**, v. 62, p. 7747-7755, 2006 b.

MARCO, J. A., SANZ, J. F., FALCÓ, E.; New Oxygenated Eudesmanolides from *Artemisia Herba-Alba*, **Tetrahedron**, v. 46, p. 7941-7950, 1990.

MATTOS, M. C, MARZORATI, L; Aspectos Mecanísticos da Adição de Michael. **Química. Nova**, v. 22, p. 710-714, 1999.

MOSMAN, T.; Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v.65, p. 55-63, 1983.

O'NEILL, P. M. and POSNER, G. H.; A Medicinal Chemistry Perspective on Artemisinin and Related Endoperoxides, **J. Med. Chem.**, v. 47, p. 2945-2964, 2004.

PERRIN, D.D., ARMAREGO, W.L.F.; **Purification of laboratory chemicals**. 3rd Edition, 1994.

PC Spartan Pro, **Wavefunction**, Inc., Irvine, CA, USA.

PINHEIRO, J.C., FERREIRA, M.M.C., ROMERO, O.A.S.; Antimalarial activity of dihydroartemisinin derivatives against *P. falciparum* resistant to mefloquine: a quantum chemical and multivariate study, **J. Mol. Struct (Theochem.)**, v. 572, p. 35-44, 2001.

ROZALSKY, M., KRAJEWSKA, U., PANCZYK, M., MIROWSKI, M., ROZALSKA, B., WAZEK, T., JANECKI, T.; Synthesis and evaluation of 4-methylideneisoxazolidin-5-ones- A new class of highly cytotoxic α -methylidene- γ -lactones, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, p. 248-255, 2007.

SANT'ANNA, C. M. R.; Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução, **Revista Virtual de Química**, v. 1, p. 49-57, 2009.

SANTOS, H. F. O Conceito da Modelagem Molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, N° 4, 2001.

SOUZA, J., SANTOS, R. H. A., FERREIRA, M. M. C., MOLFETTA, F. A., CAMARGO, A. J., HONÓRIO, K. M., SILVA, A. B. F.; A quantum chemical and statistical study of flavonoid compounds (flavones) with anti-HIV activity, **Eur. J. Med. Chem.**, v. 38, p. 929-938, 2003.

STEWART, J. J. P.; Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements, **J. Mol. Model.**, v. 13, p. 1173-1212, 2007.

STEWART, J. J. P.; MOPAC2009, Stewart Computational Chemistry, version 9.327W.

WISE, M., Gallagher, N. B.; **PLS Toolbox**, Version 2.0.1c for use with MATLAB 6.0, 1999.

WOYNAROVSKI, J. M., KONOPA, J.; Inhibition of DNA biosynthesis in hela cells by cytotoxic and antitumor sesquiterpene lactones, **Molecular Pharmacology**, v. 19., p. 97-102, 1981.

ZHANG, S., WANG, J., XUE, H., DENG, Q., XING, F. and ANDO, M.; Three New Guaianolides from Siyekucaï (*Ixeris chinenseis*), **J. Nat. Prod.**, v. 65, p.1927-1929, 2002.

ZHANG, S., ZHAO, M., BAI, L., HASEGAWA, T., WANG, J., WANG, L., XUE, H., DENG, Q., XING, F., BAI, Y., SAKAY, J., BAI, J., KOYANAGI, R., TSUKUMO, Y., KATAOKA, T., NAGAI, K., HIROSE, K. and ANDO, M.; Three Bioactive Guaianolides from Siyekucaï (*Ixeris chinenseis*), **J. Nat. Prod.**, v. 69, p.1425-1428, 2006.

ZHI-JUN, Y.; SRIRANGANATHAN, N.; VAUGHT, T.; ARASTU, S.K.; ANSAR A. S.; A dye-based lymphocyte proliferation assay that permits multiple immunological analyses: mRNA, cytogenetic, apoptosis, and immunophenotyping studies, **Journal of Immunological Methods** v. 210, p. 25-39, 1997.

ANEXO I

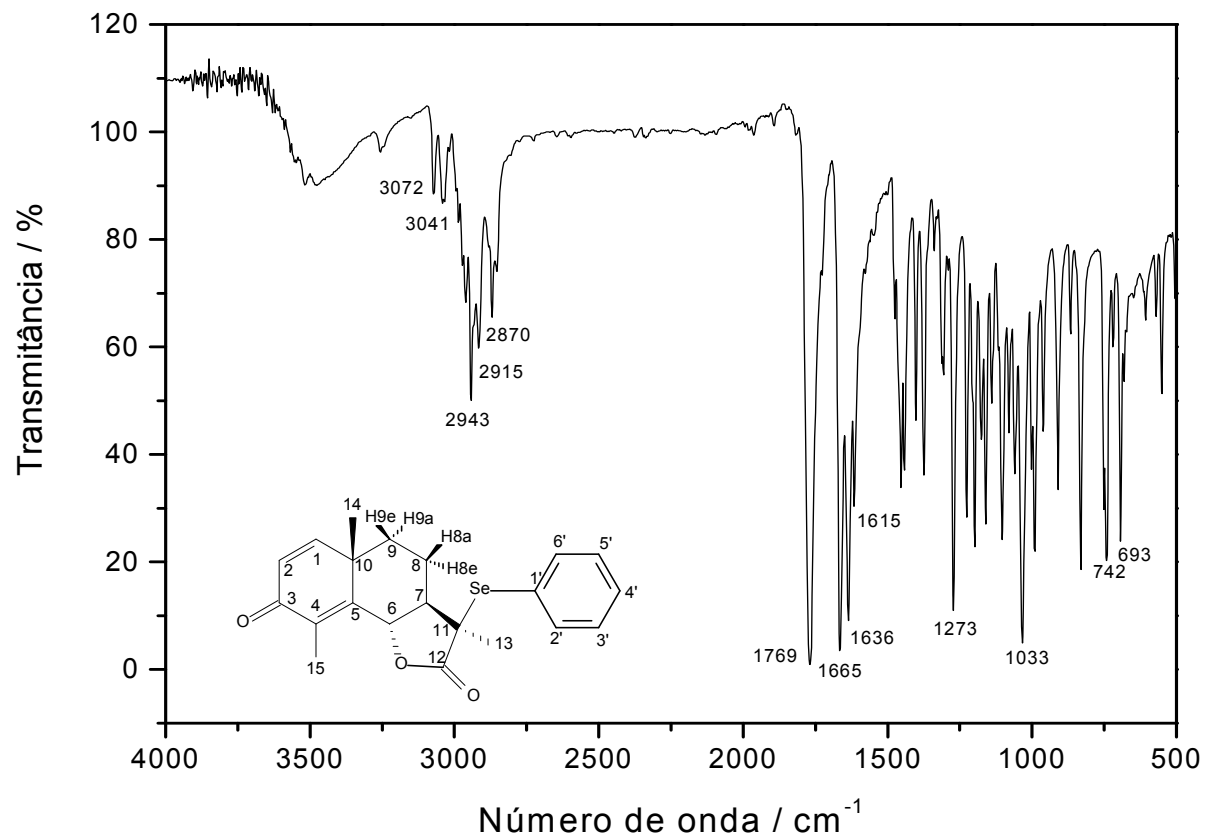


Figura A1- Espectro no infravermelho (IV) do composto [9].

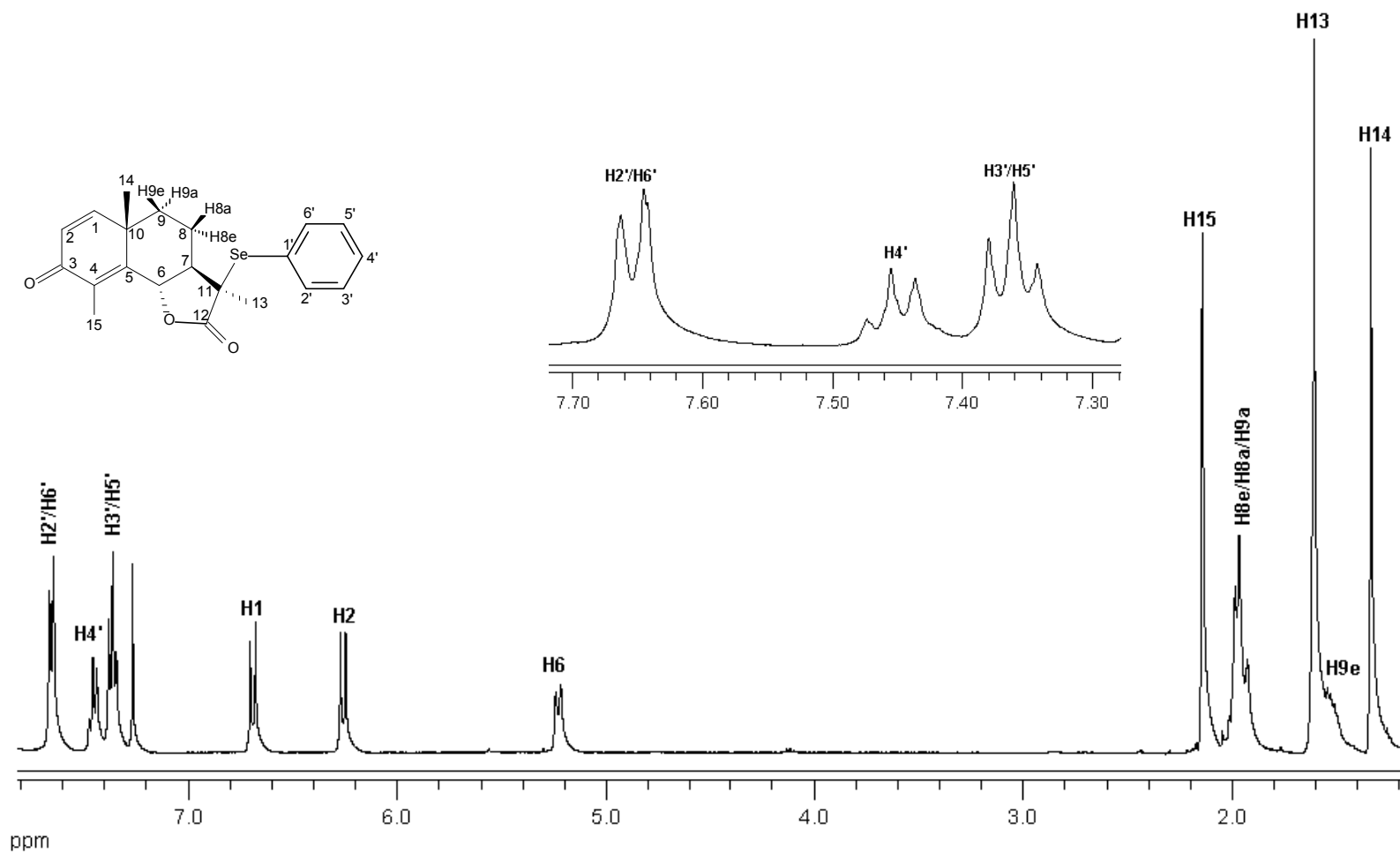


Figura A2- Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto [9].

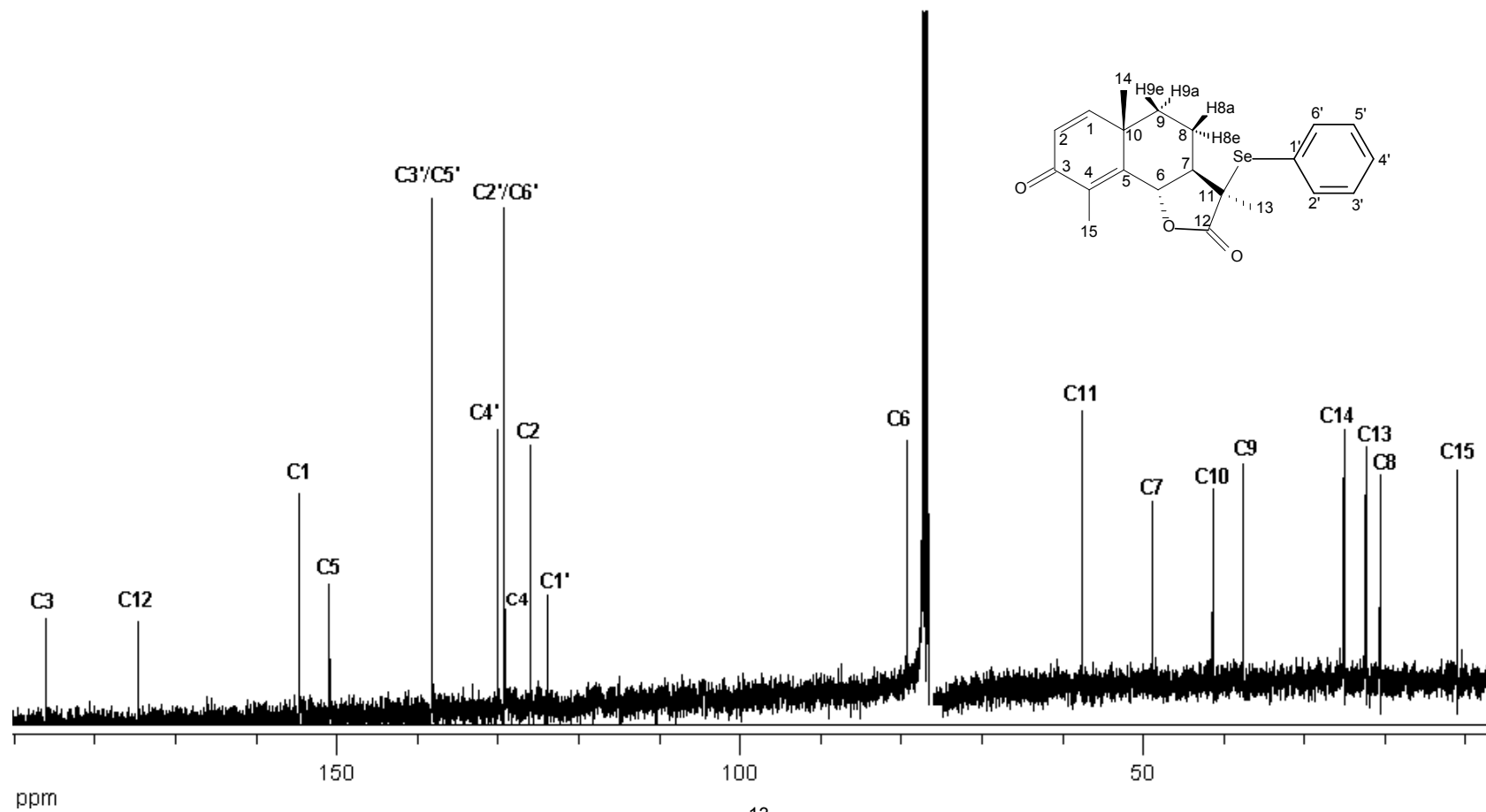


Figura A3- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto [9].

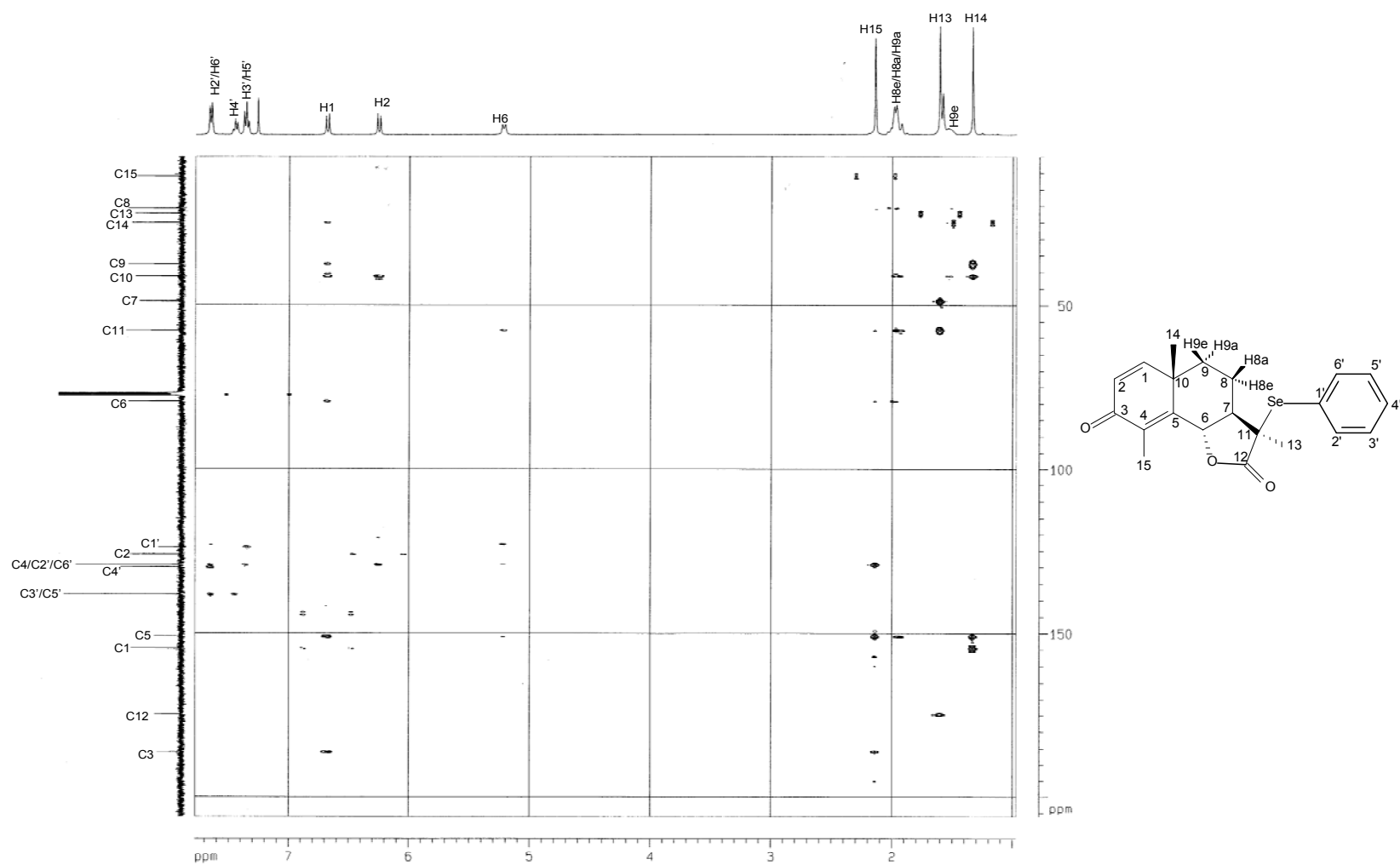


Figura A4- Mapa de contornos HMBC do composto [9].

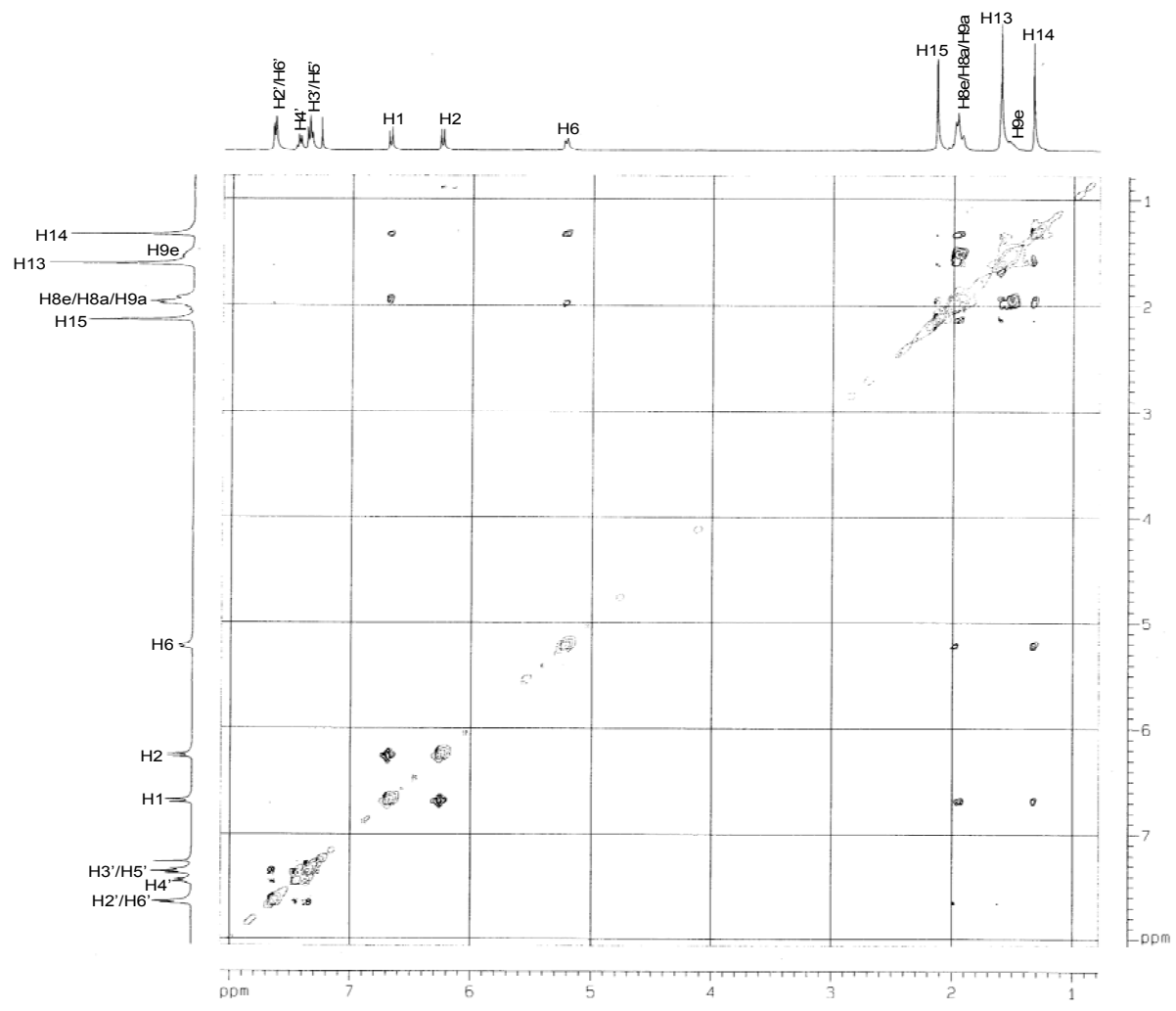


Figura A5- Mapa de contornos NOESY do composto [9].

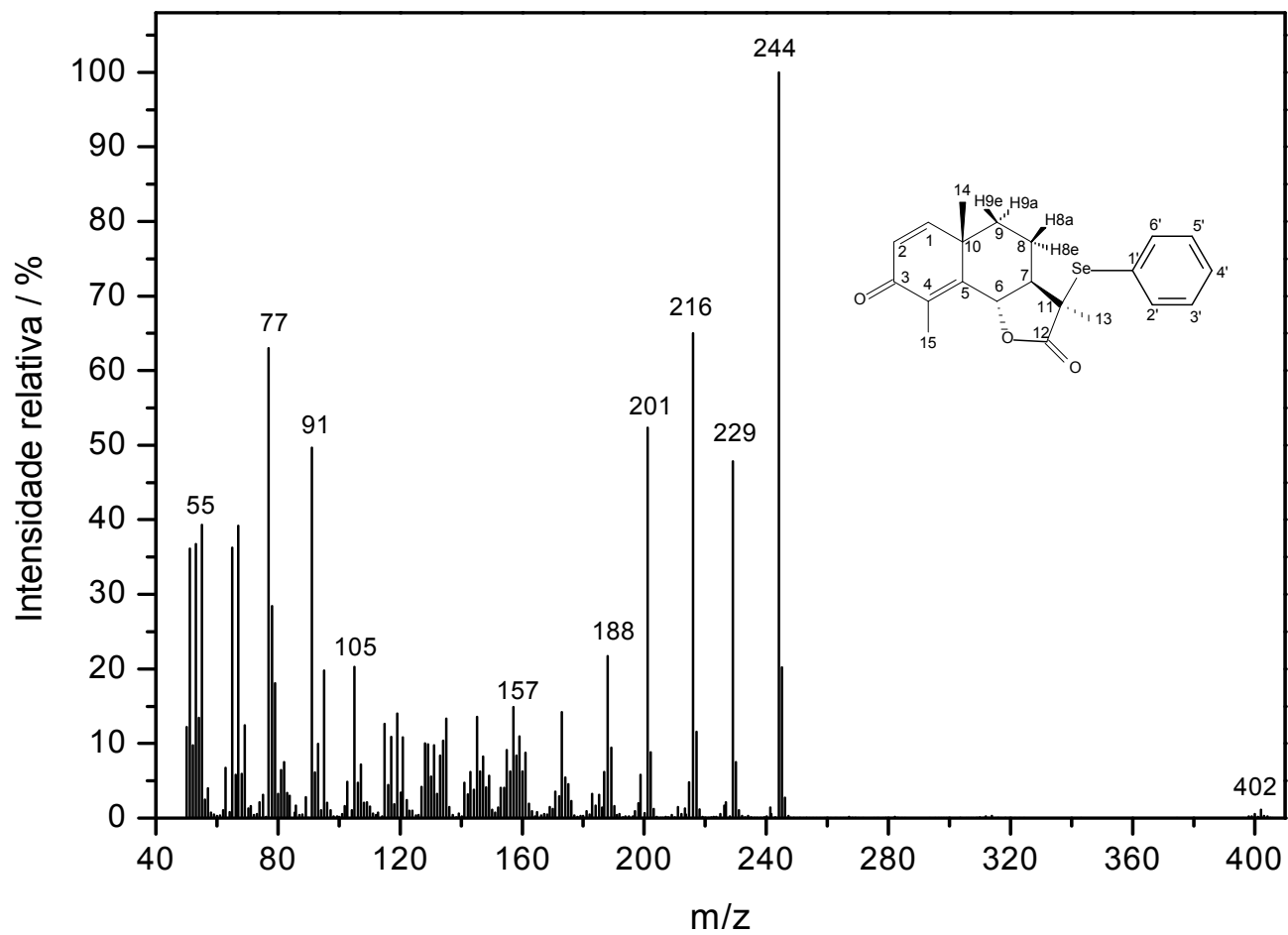


Figura A6- Espectro de massas do composto [9].

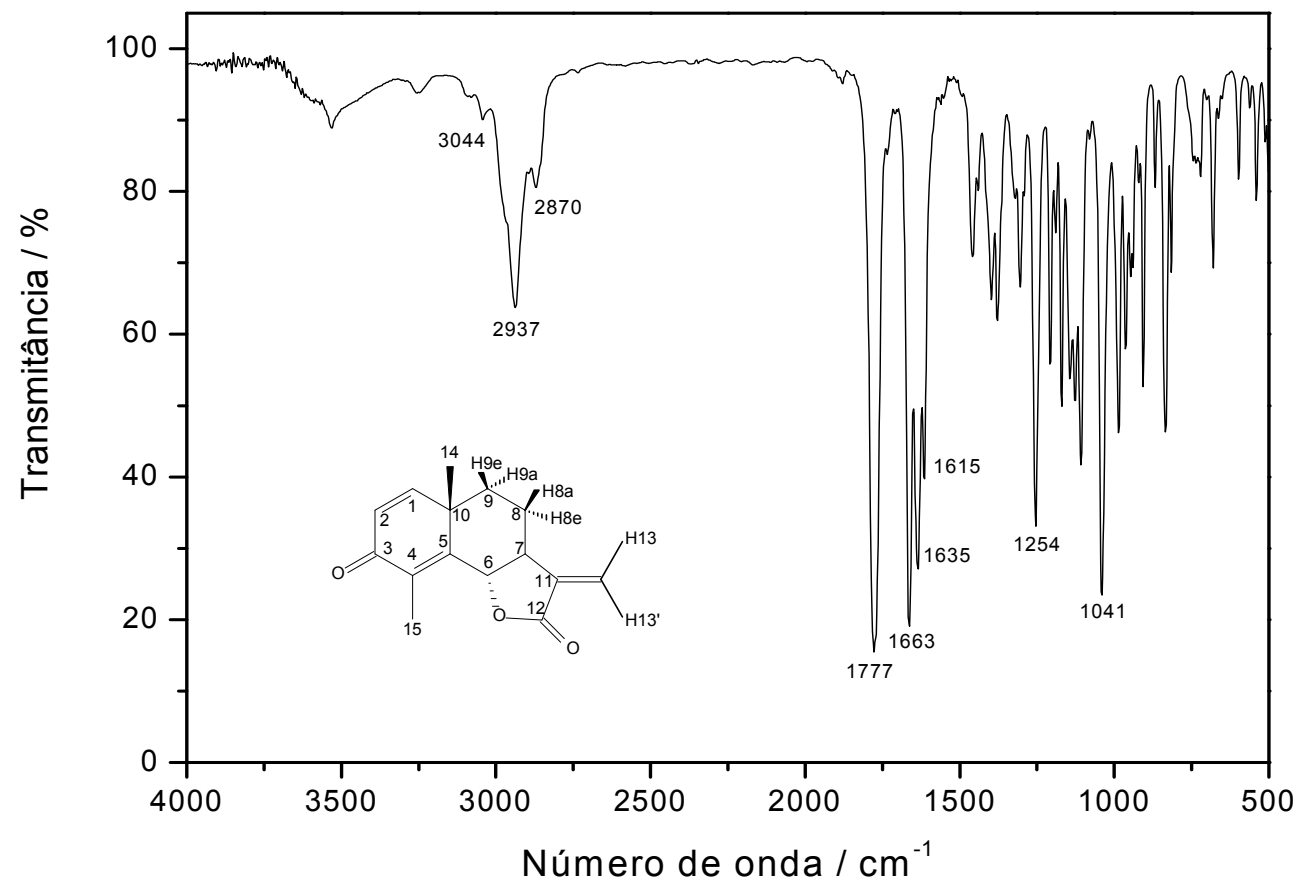


Figura A7- Espectro no infravermelho (IV) do composto [10].

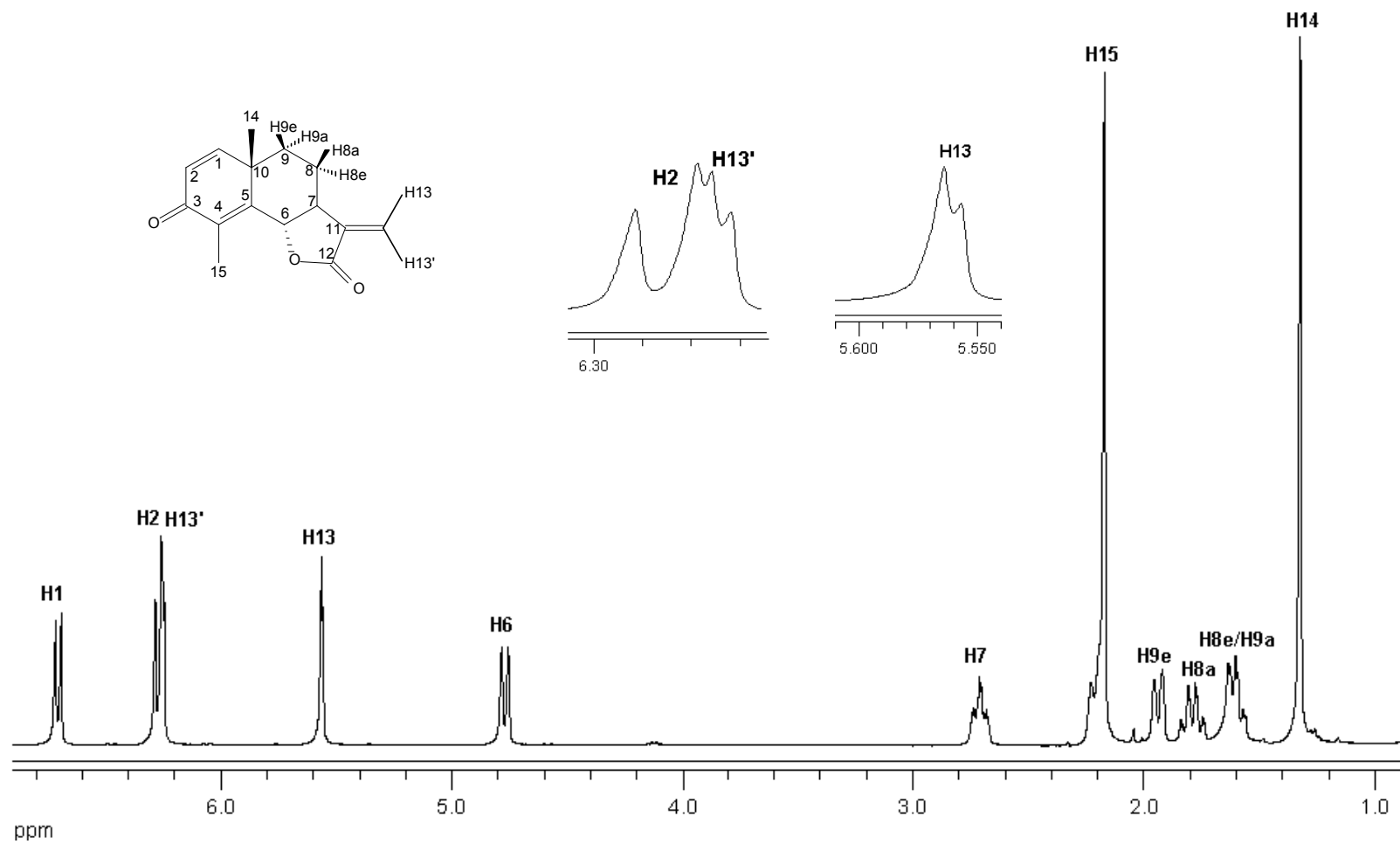


Figura A8- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto [10].

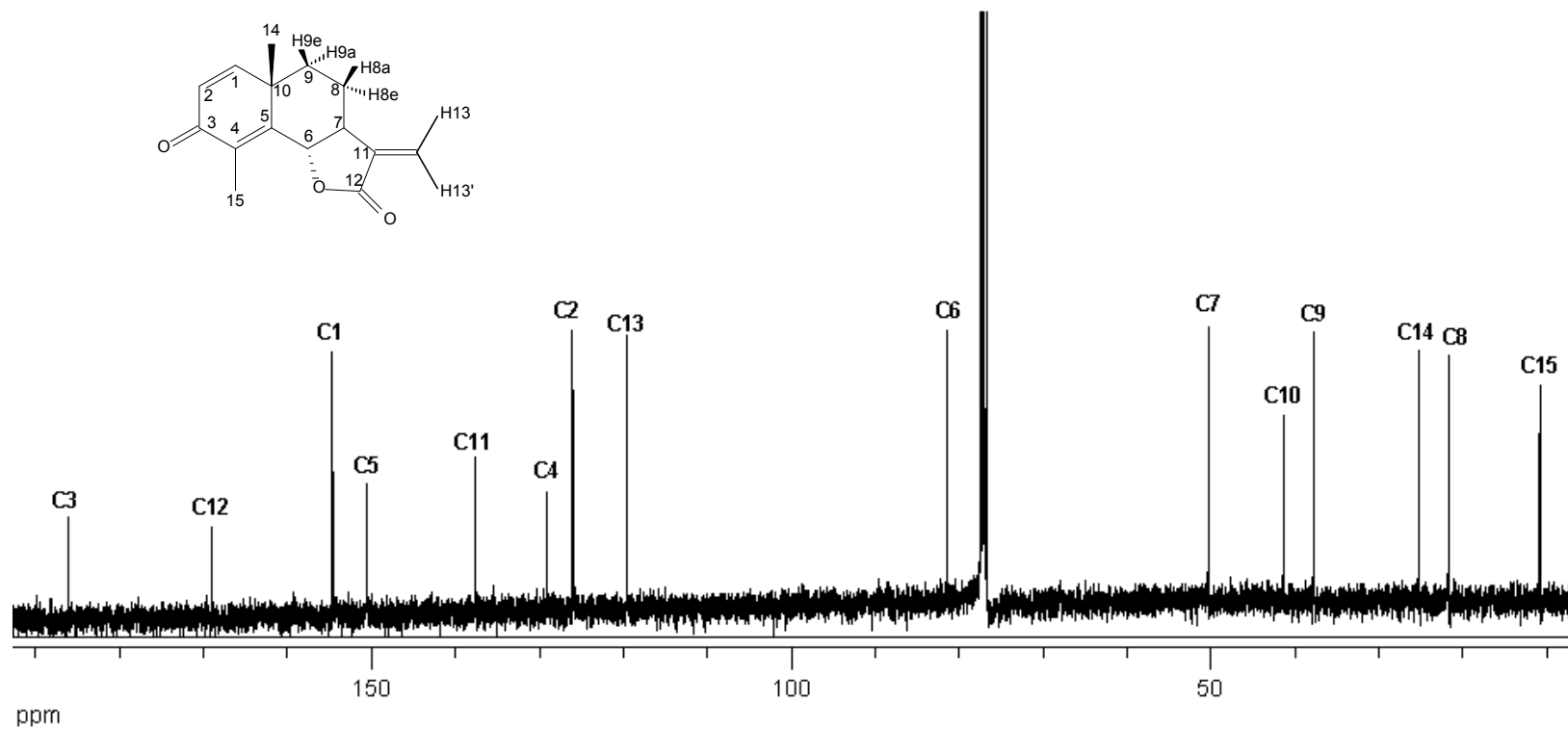


Figura A9- Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto [10].

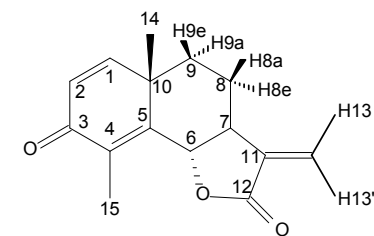
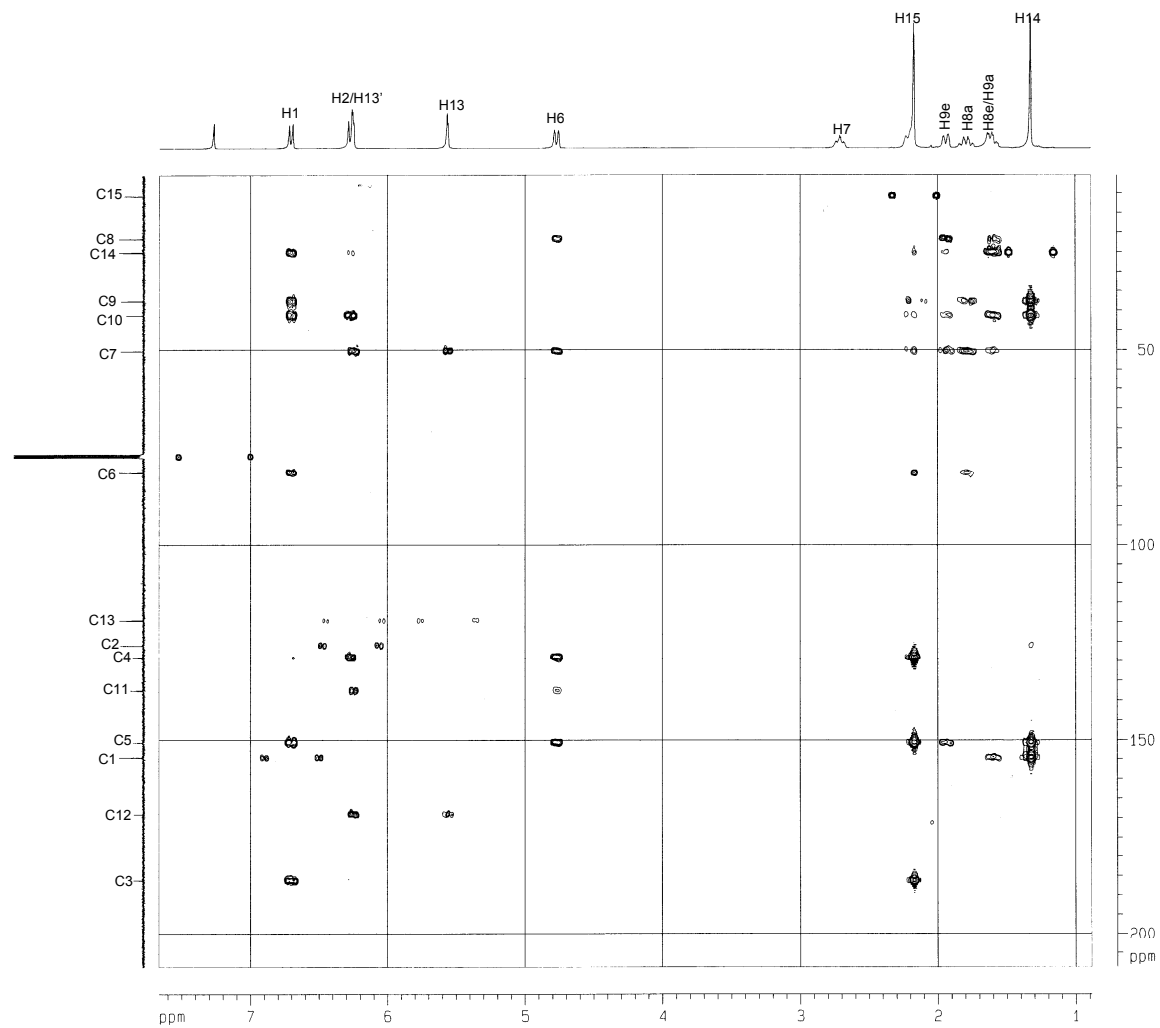


Figura A10- Mapa de contornos HMBC do composto **[10]**.

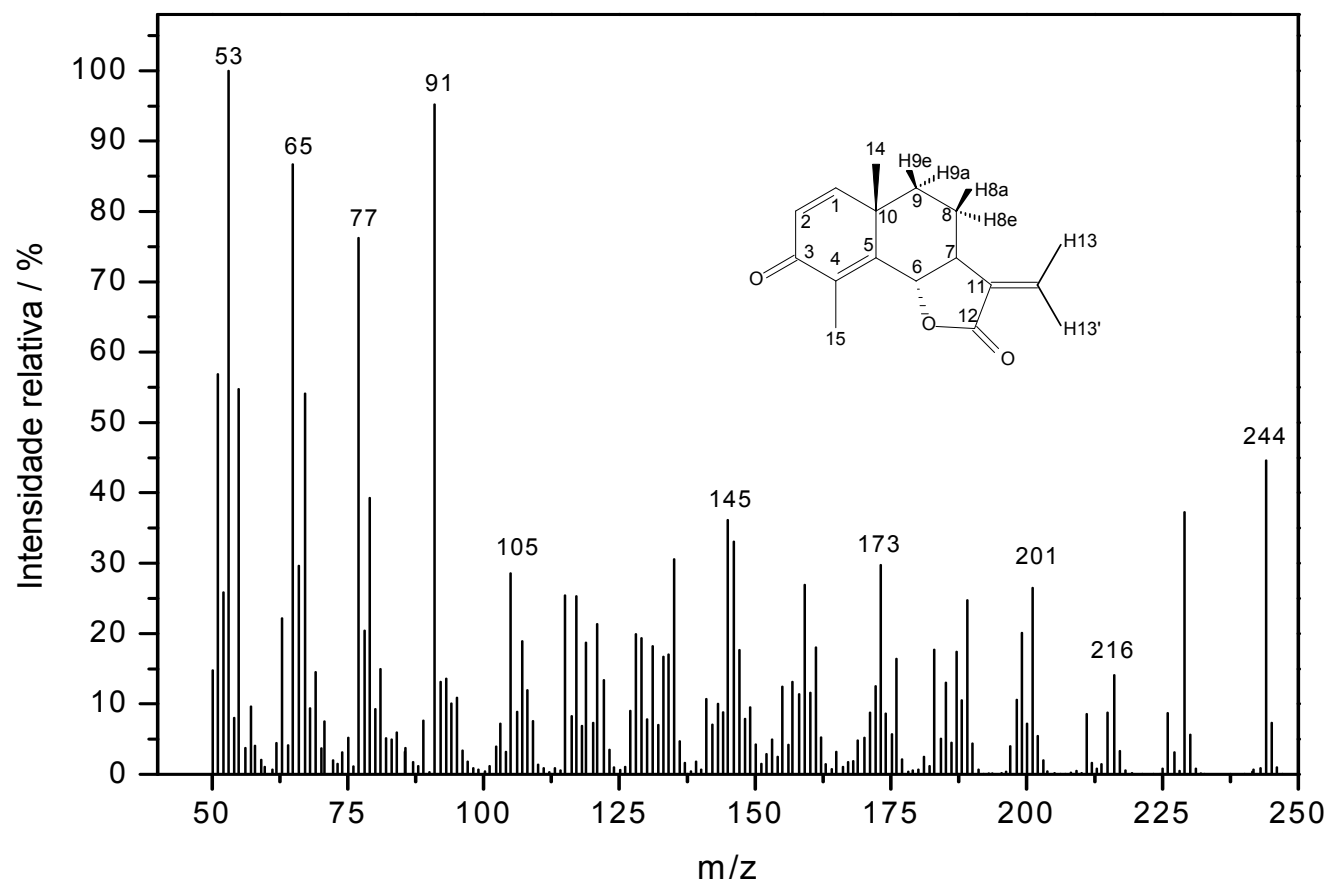


Figura A11- Espectro de massas do composto [10].

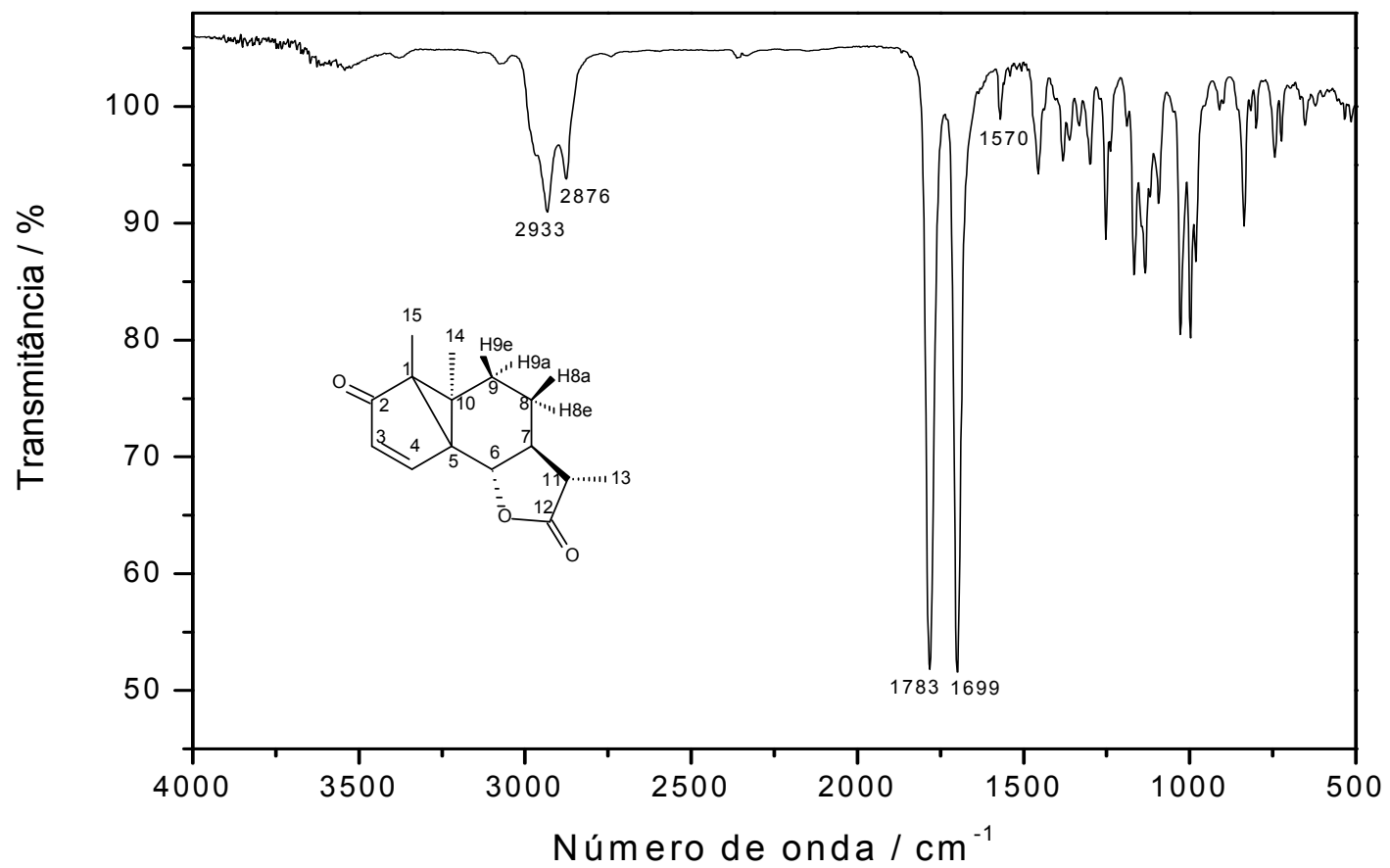


Figura A12- Espectro no infravermelho (IV) do composto [8].

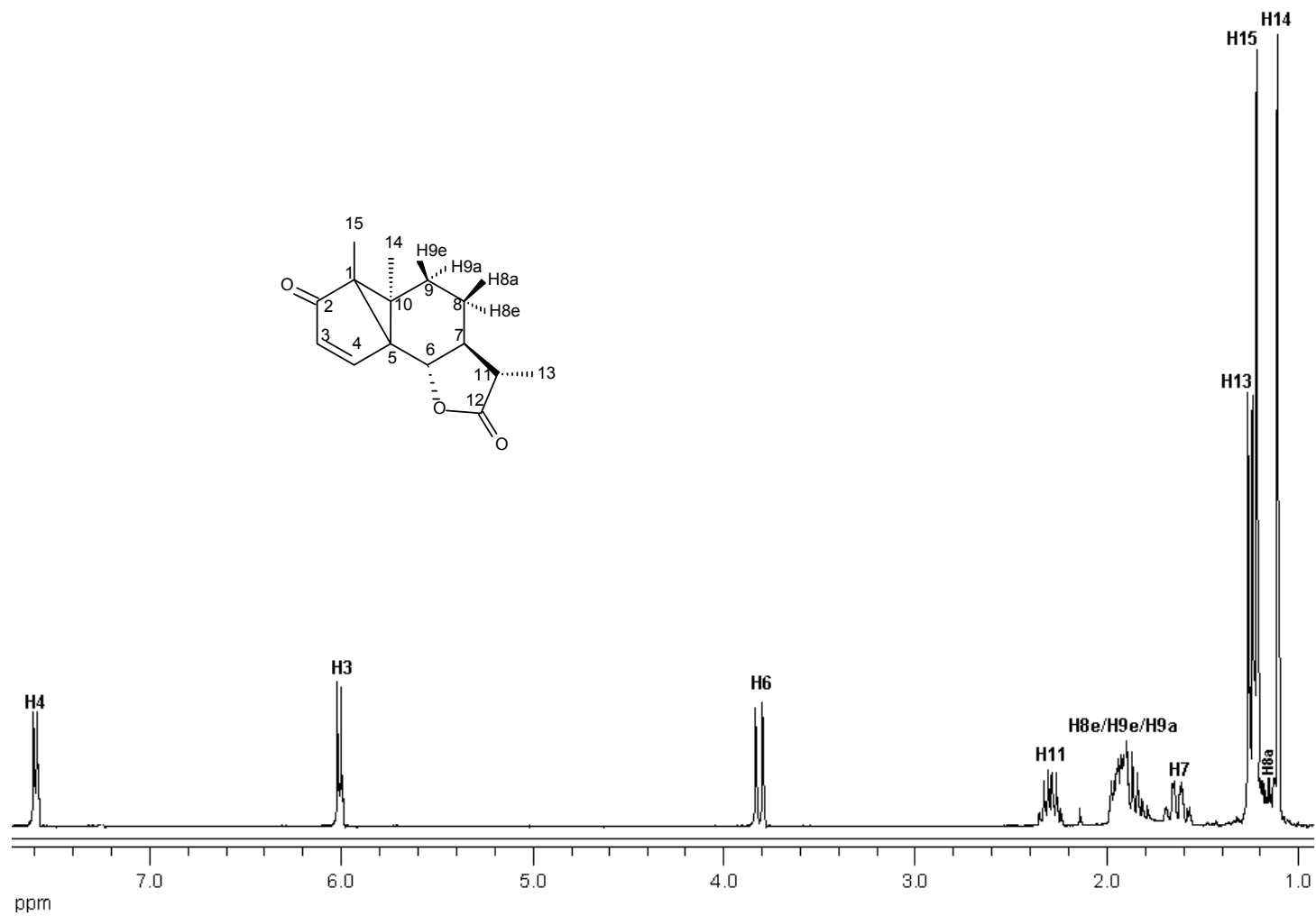


Figura A13- Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [8].

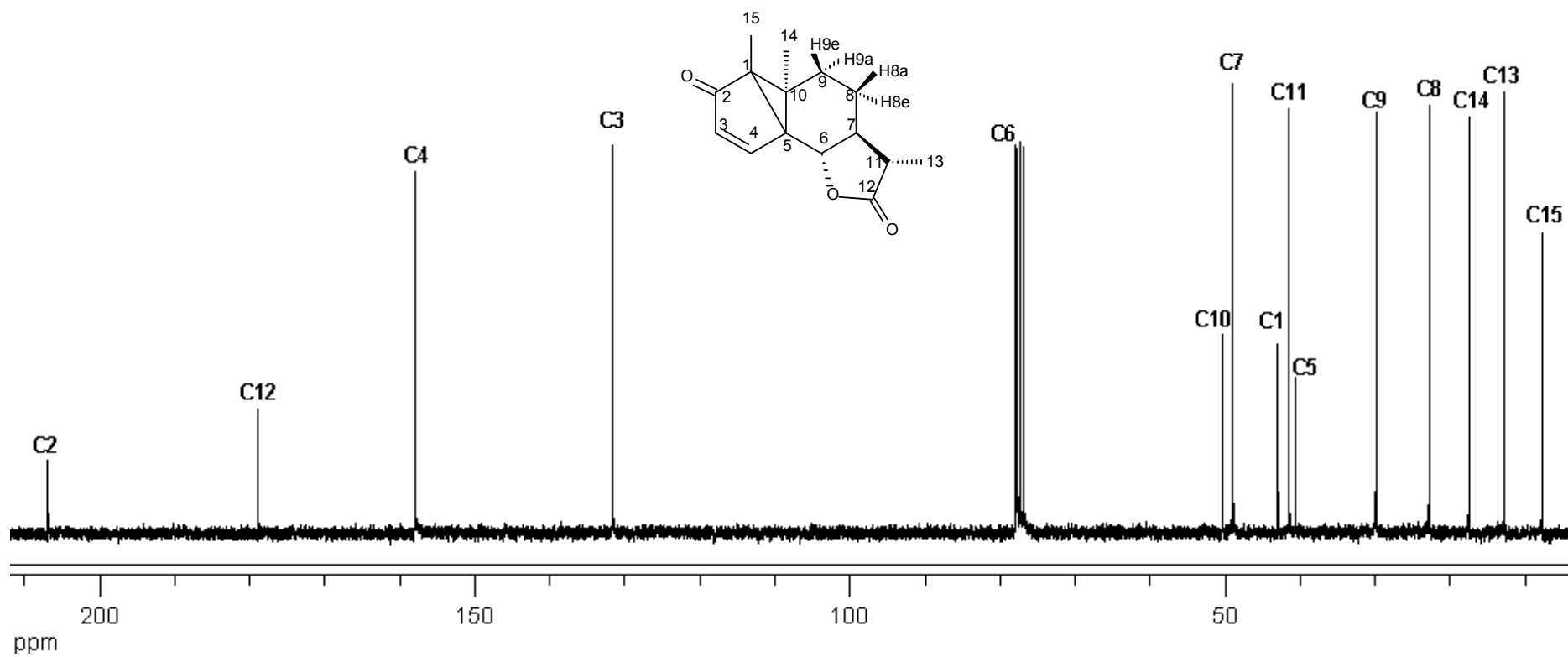


Figura A14- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto [8].

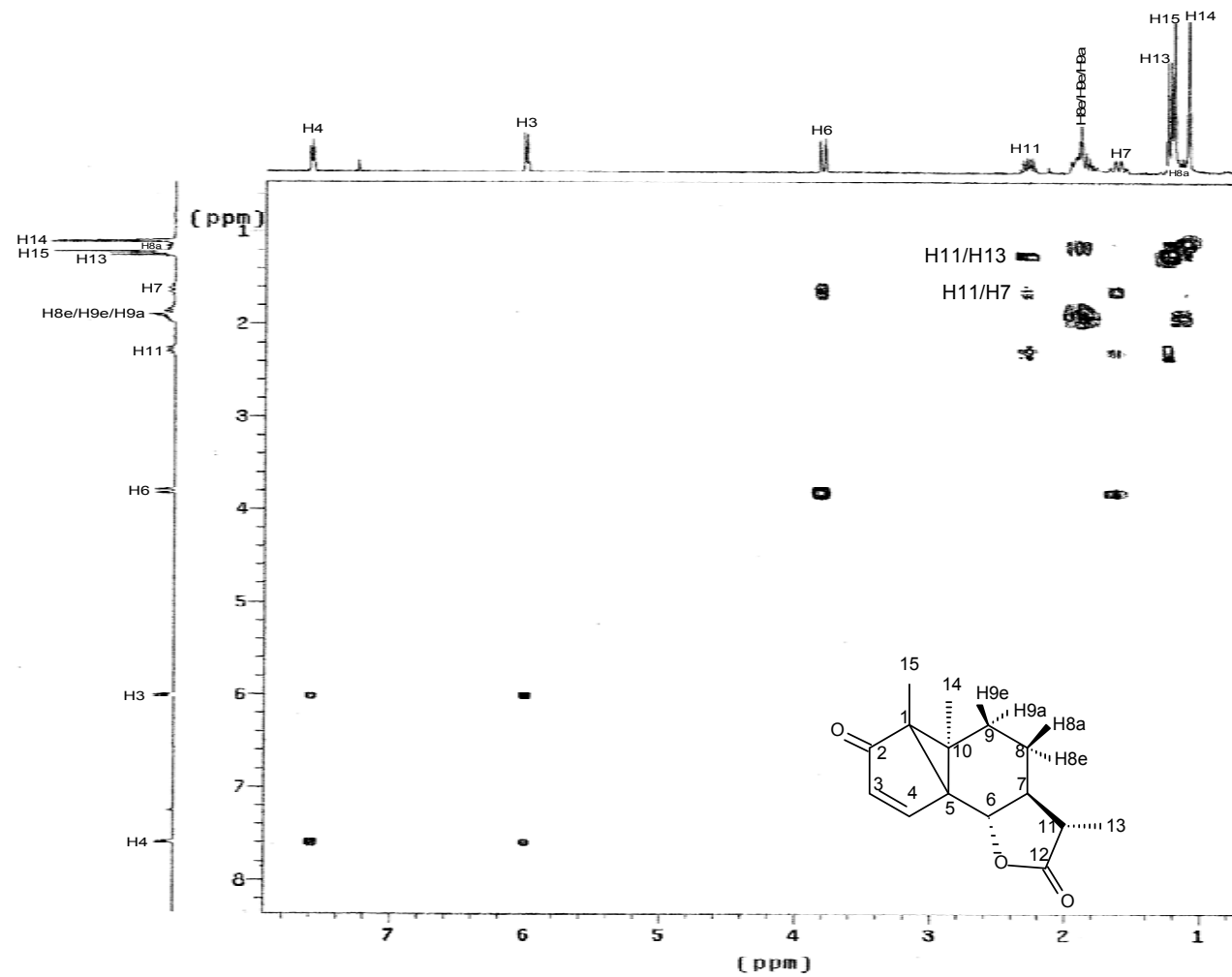


Figura A15- Mapa de contornos COSY do composto [8].

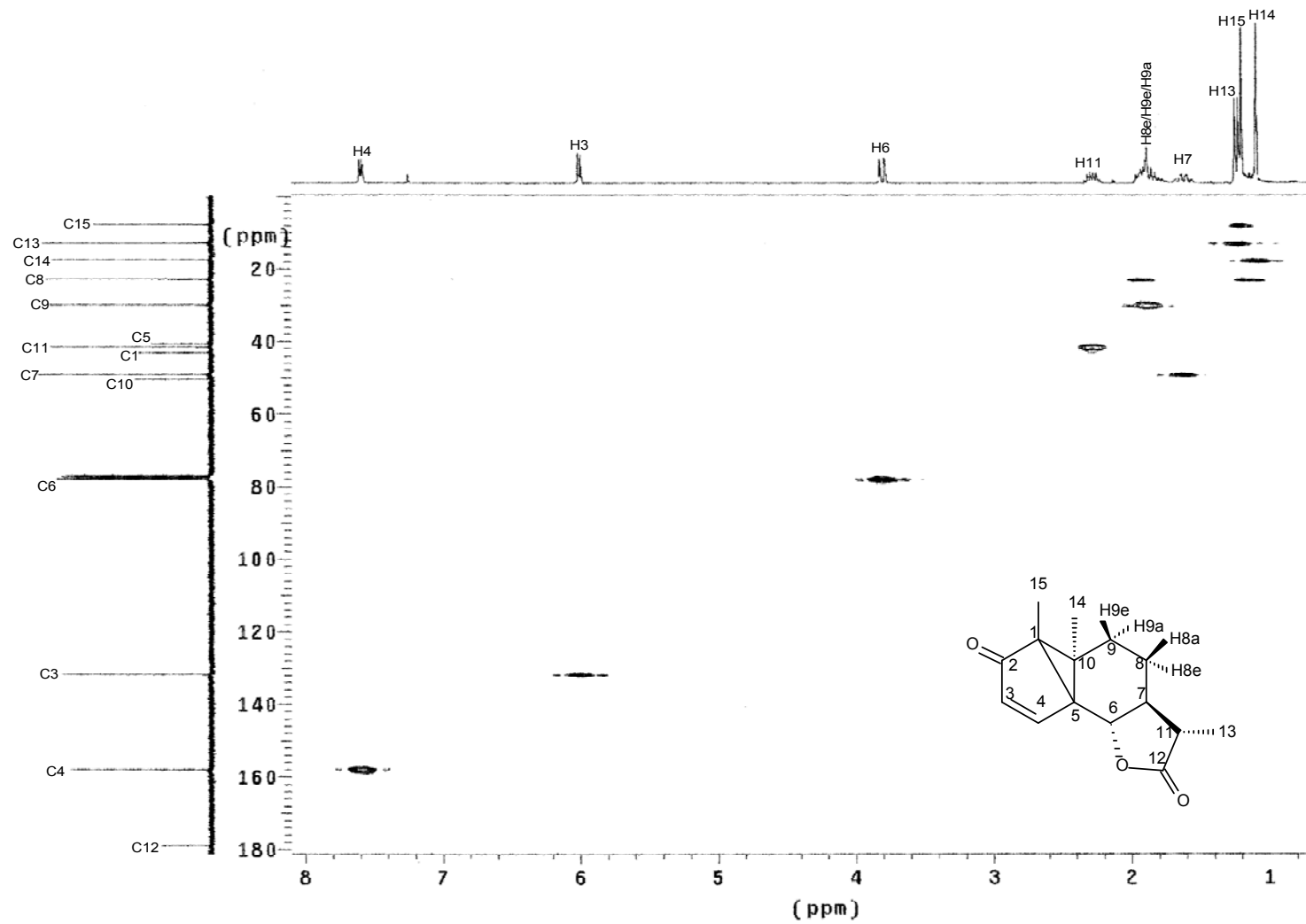


Figura A16- Mapa de contornos HETCOR do composto [8].

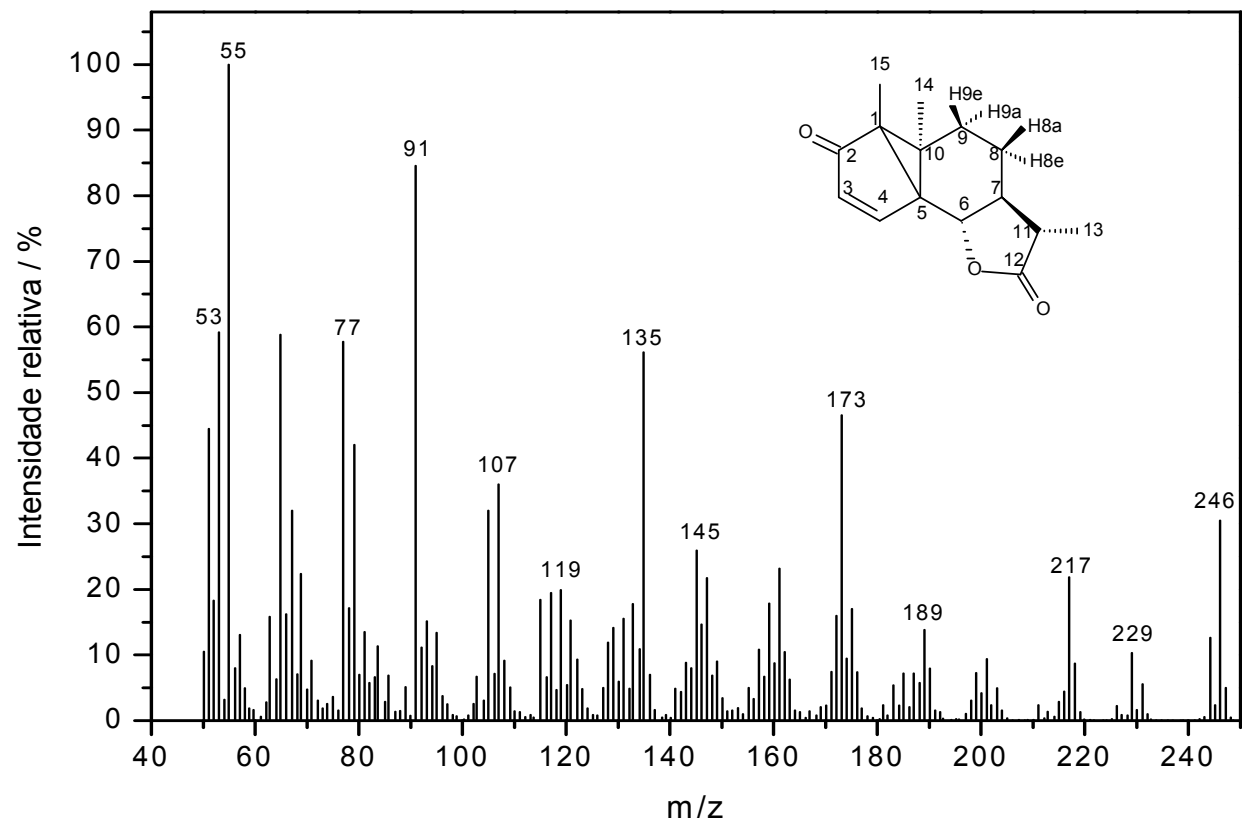


Figura A17- Espectro de massas do composto [8].

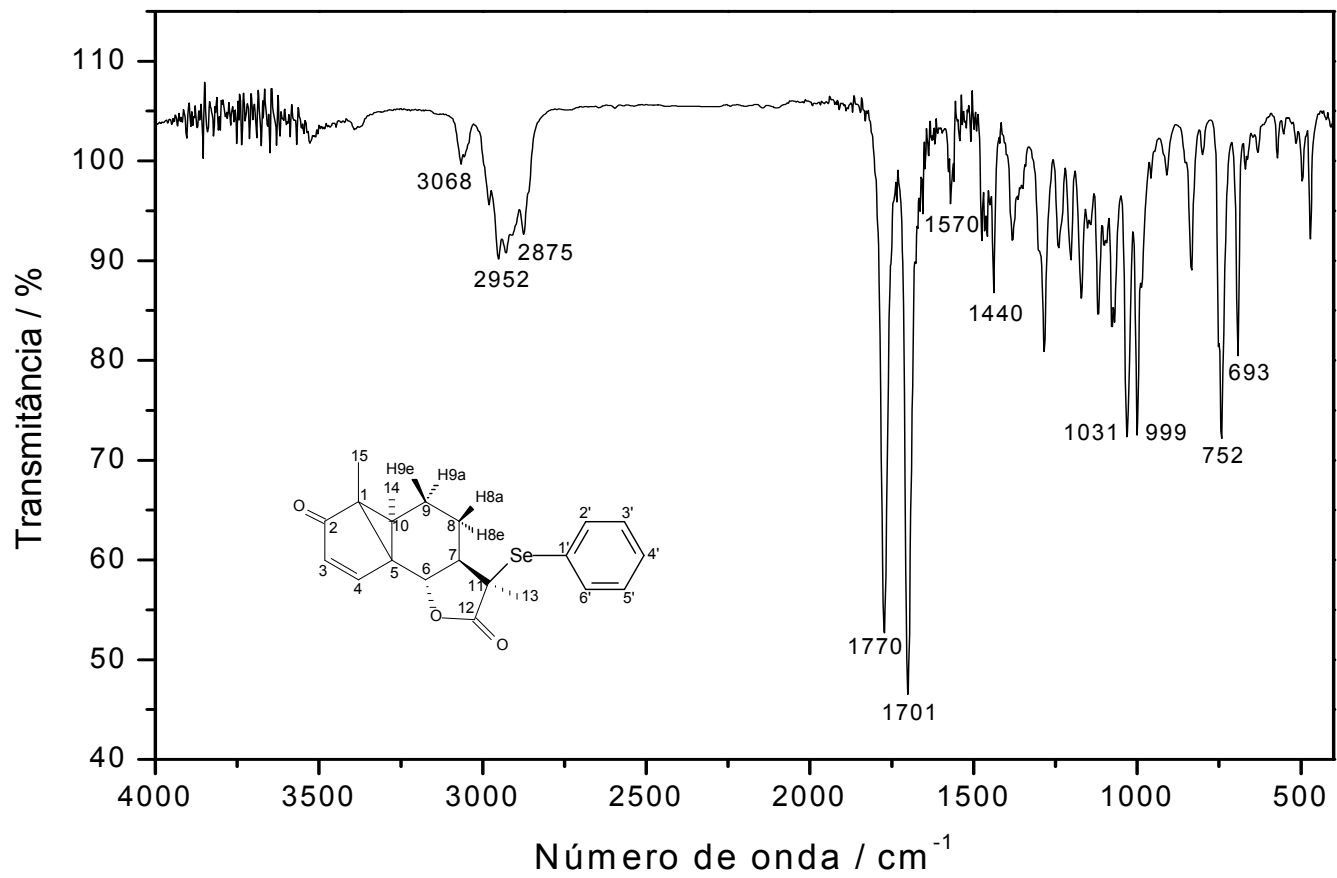


Figura A18- Espectro no infravermelho (IV) do composto [11].

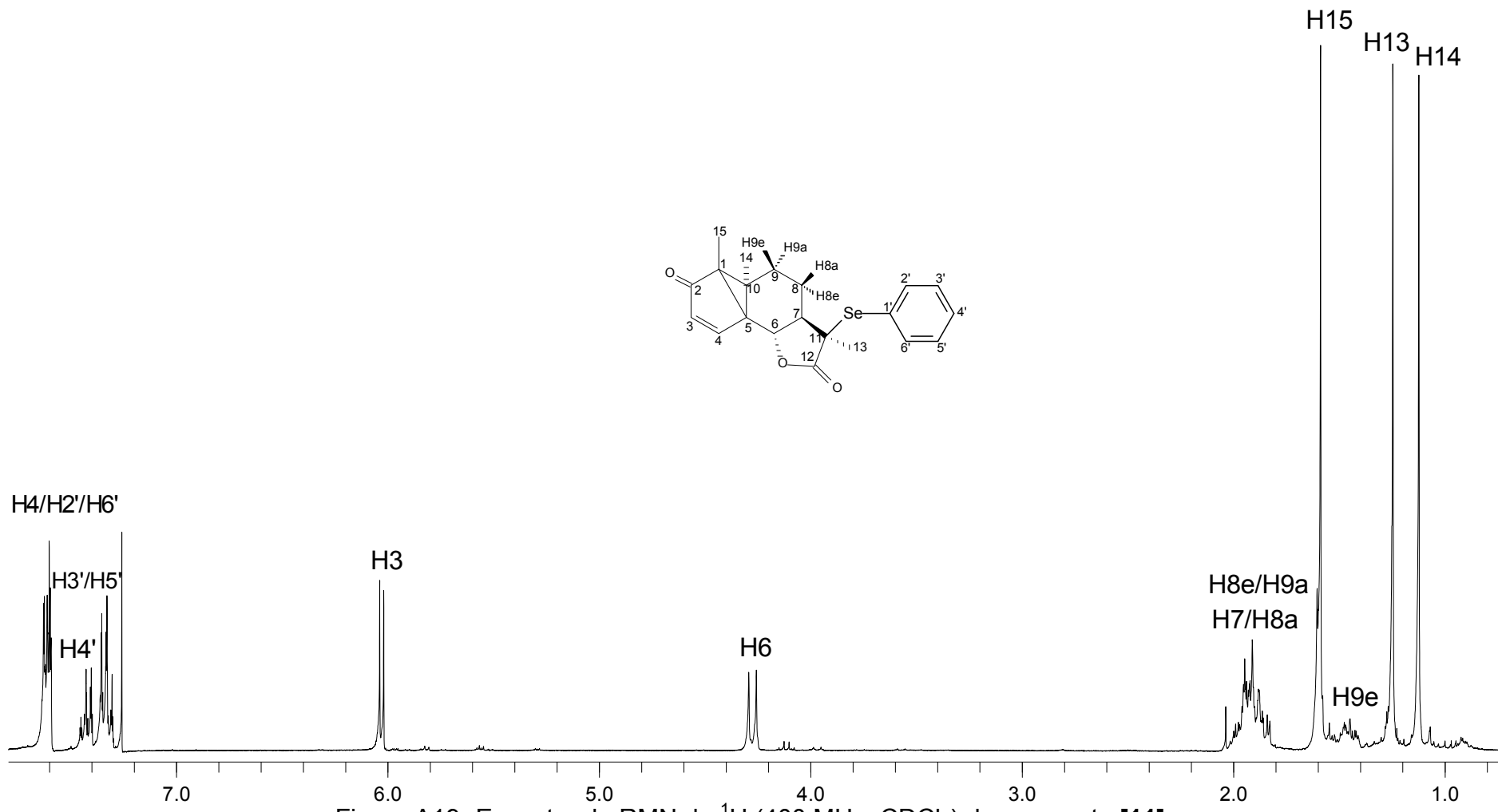


Figura A19- Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto [11].

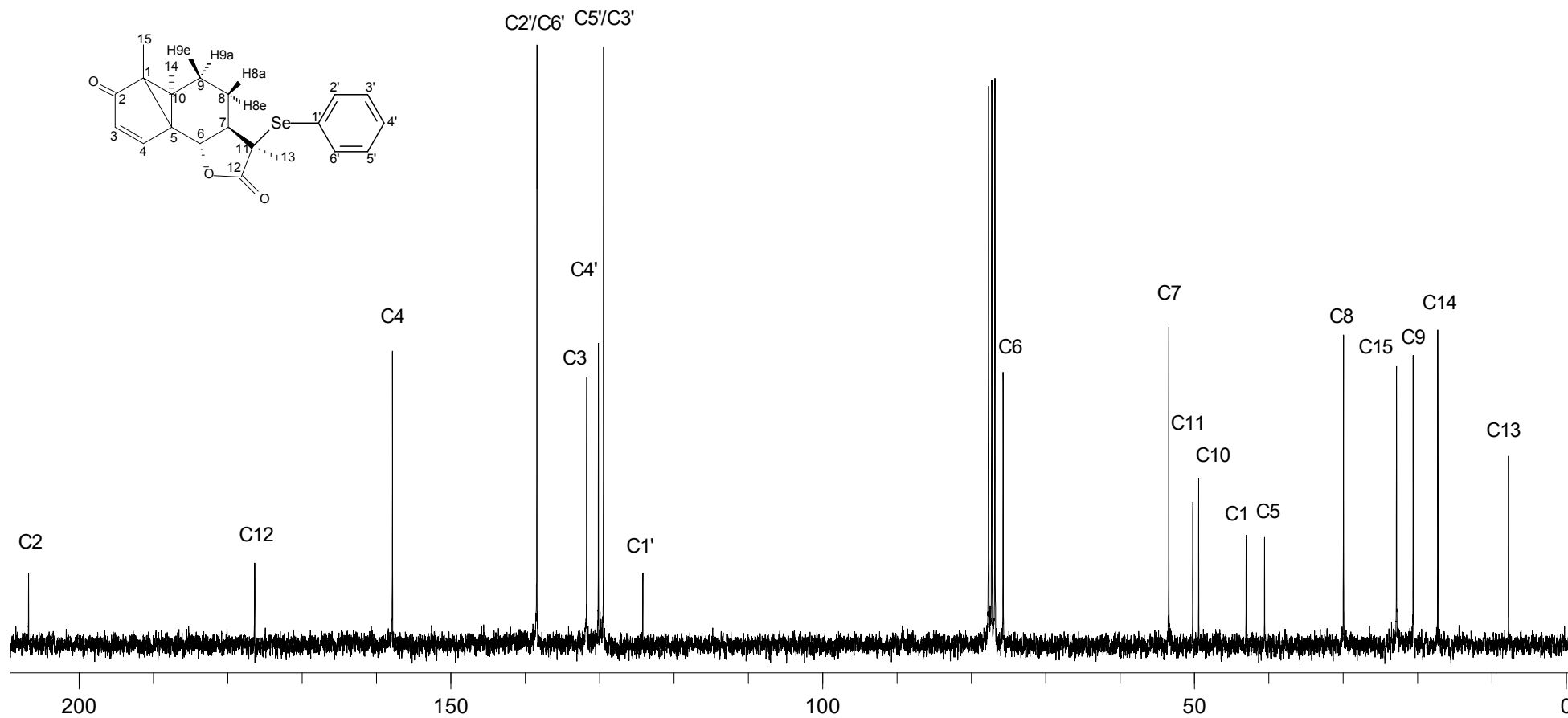


Figura A20- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto [11].

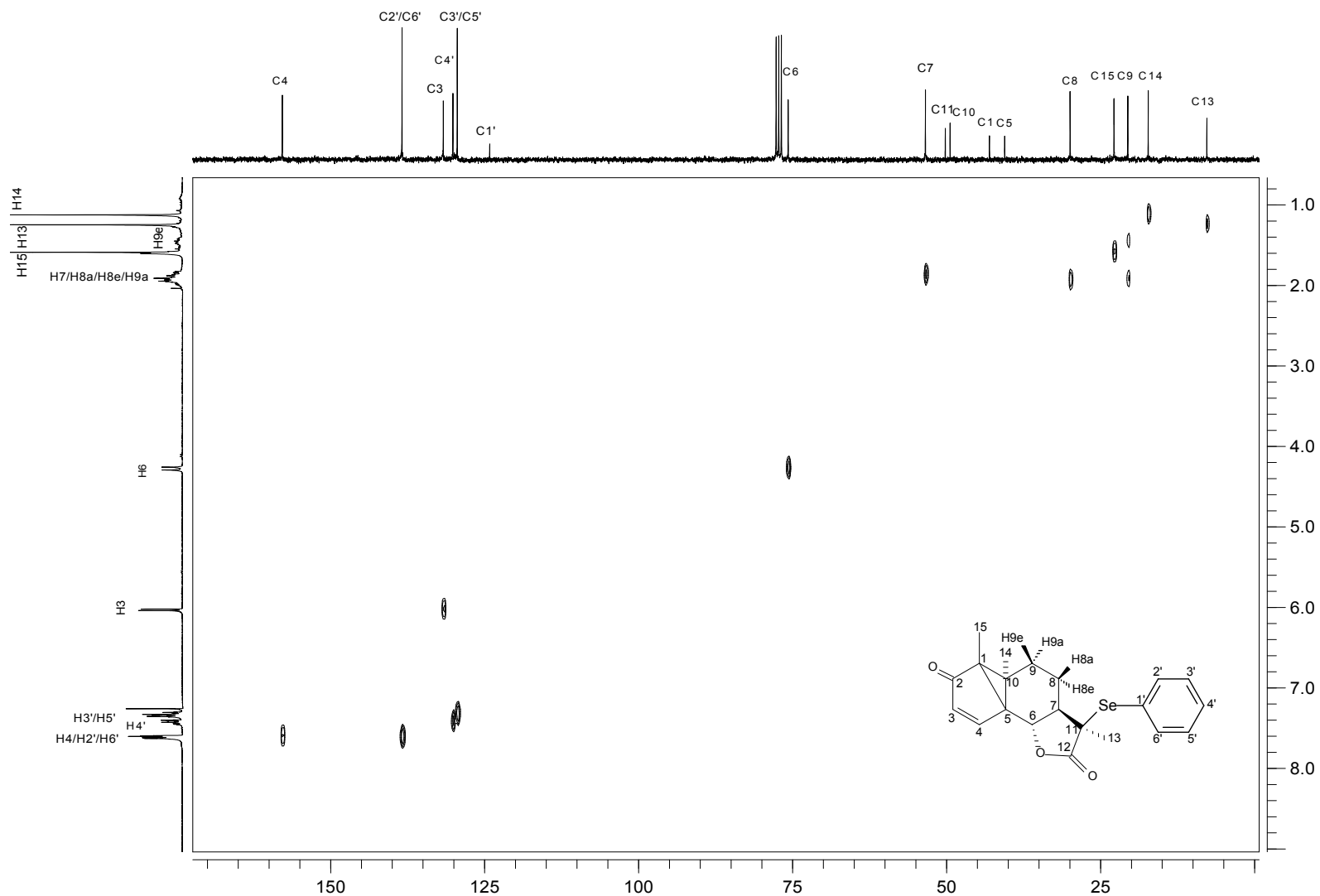


Figura A22- Mapa de contornos HETCOR do composto [11].

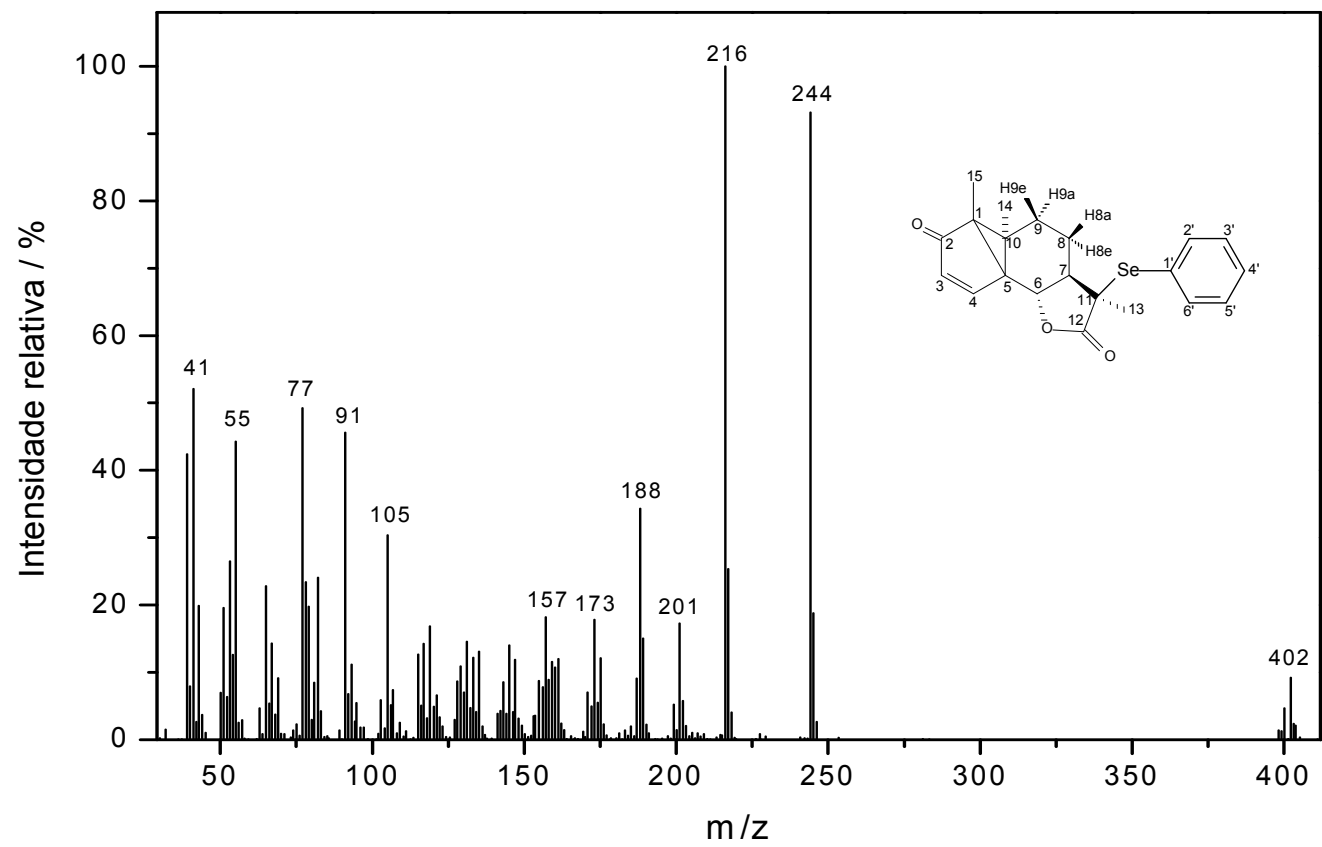


Figura A23- Espectro de massas do composto [11].

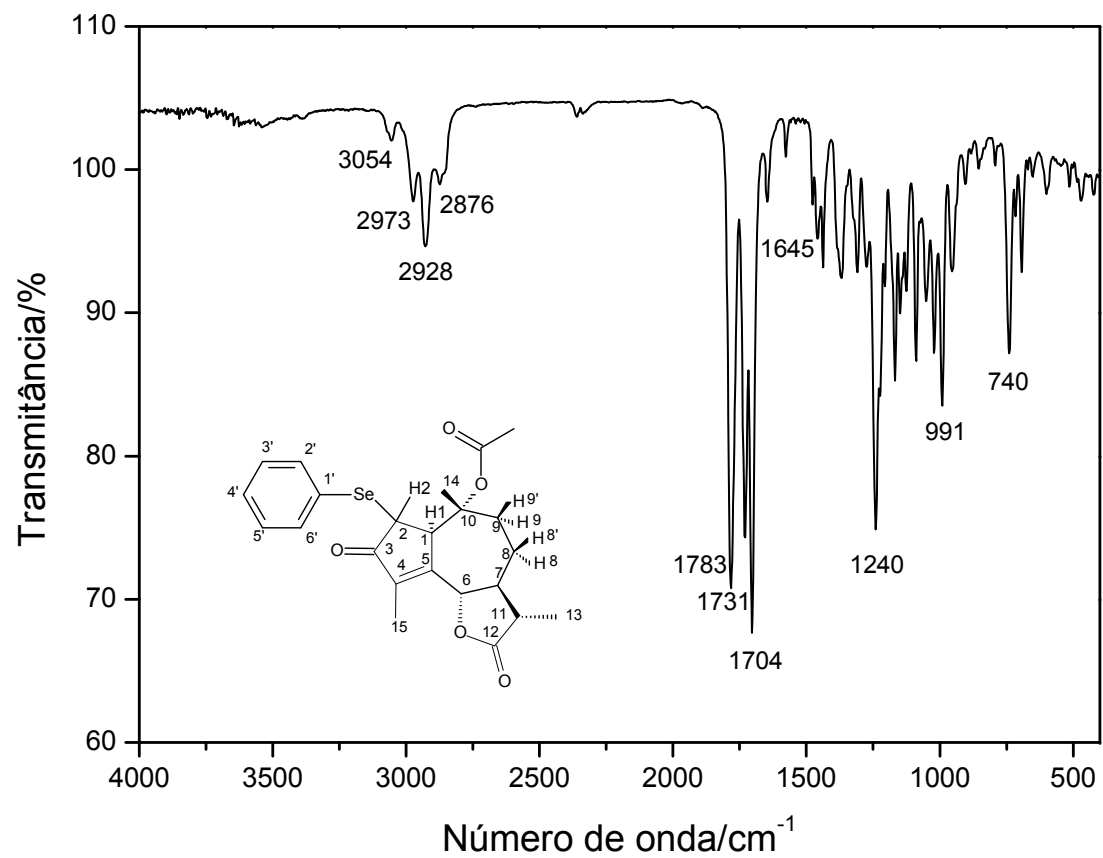


Figura A24: Espectro no infravermelho (IV) do composto [15].

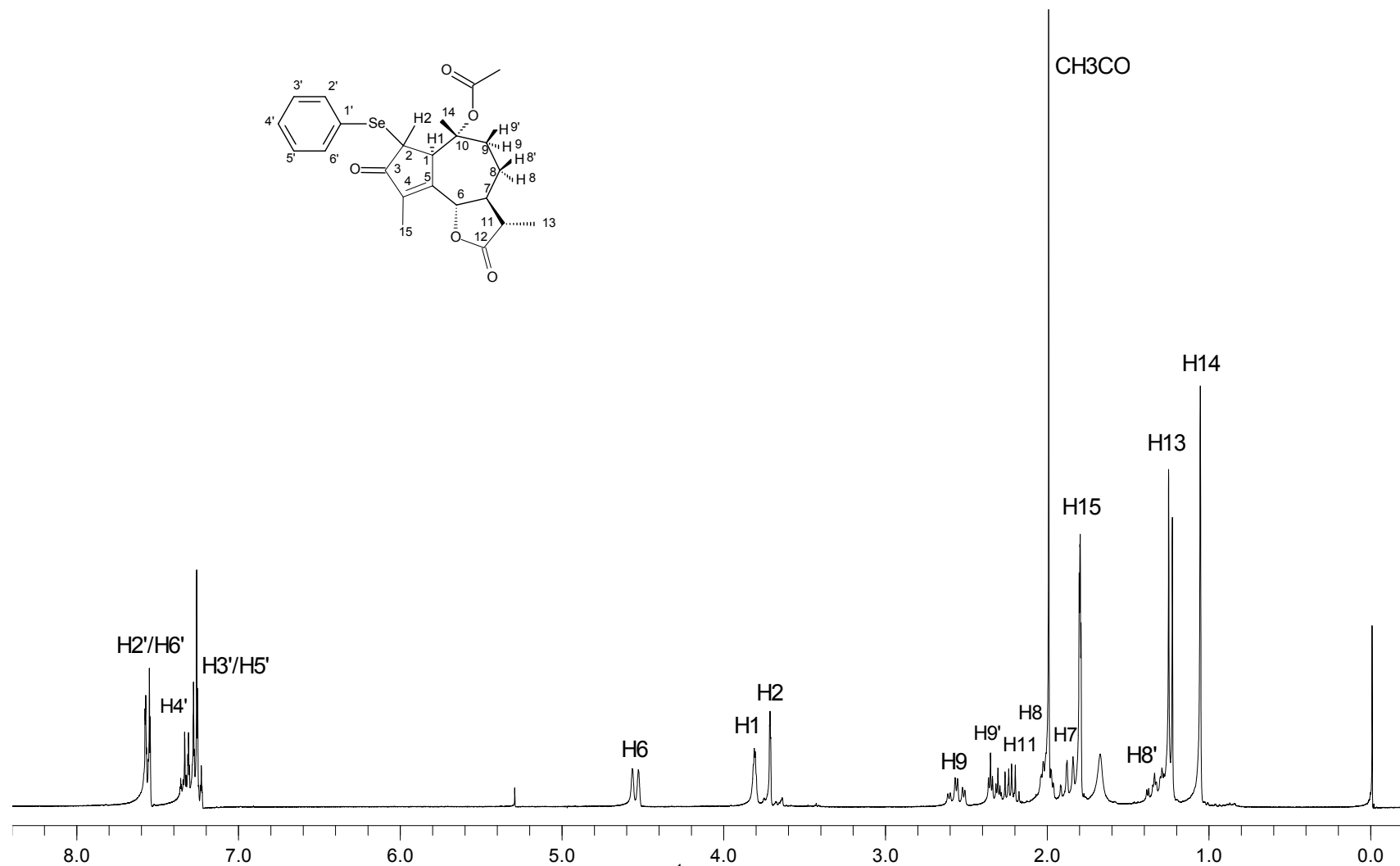


Figura A25: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [15].

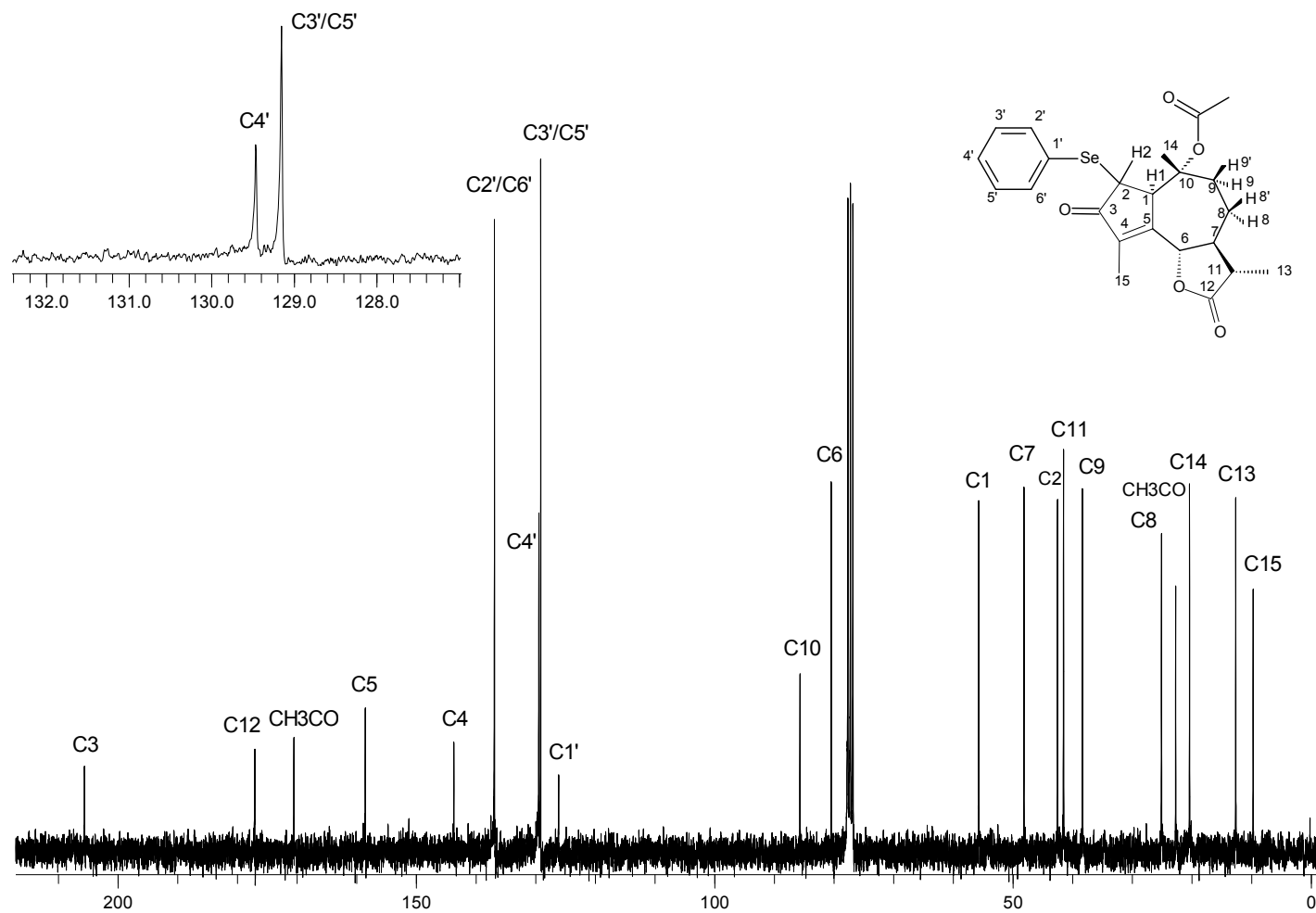


Figura A26- Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [15].

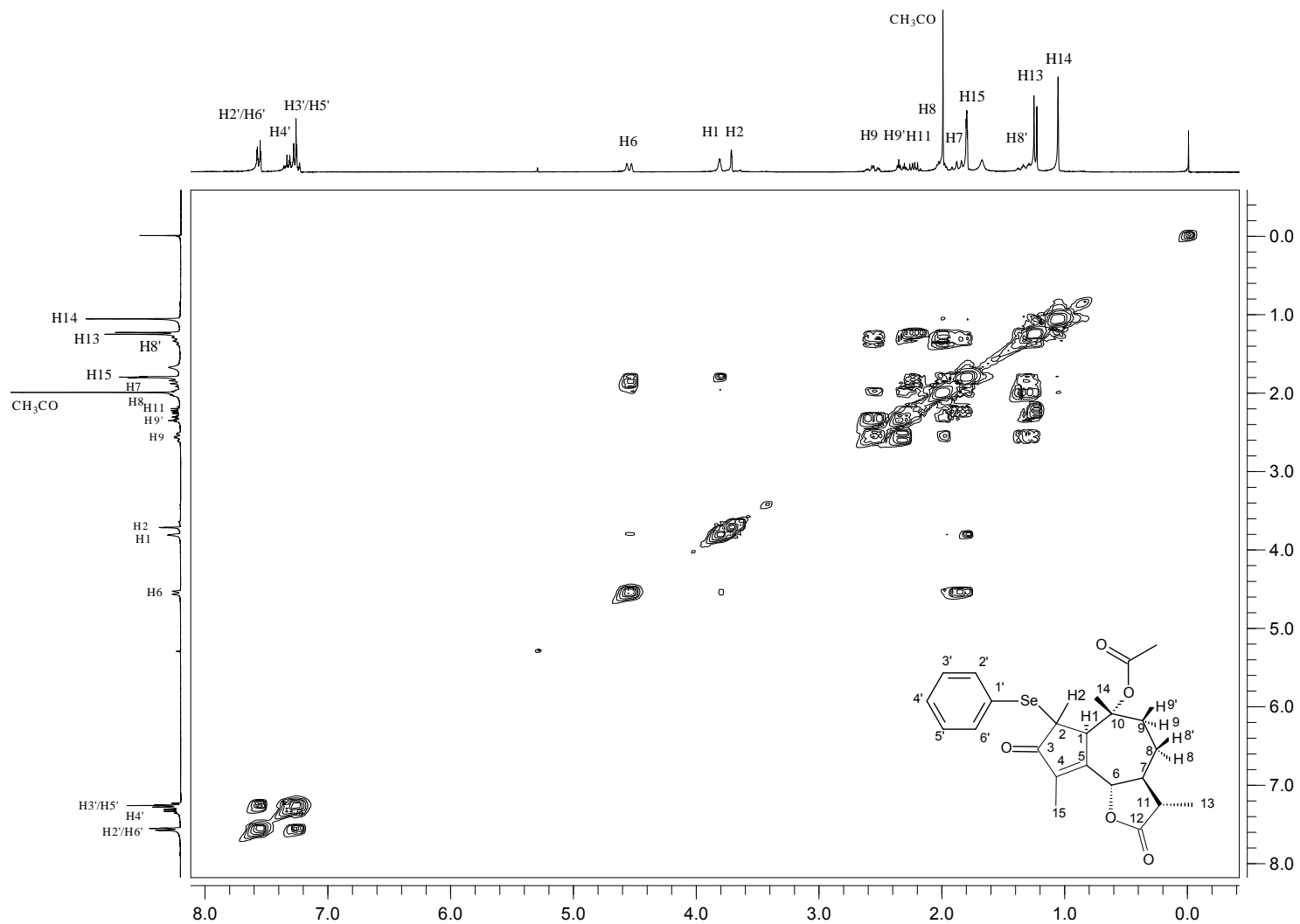


Figura A27: Mapa de contornos COSY do composto [15].

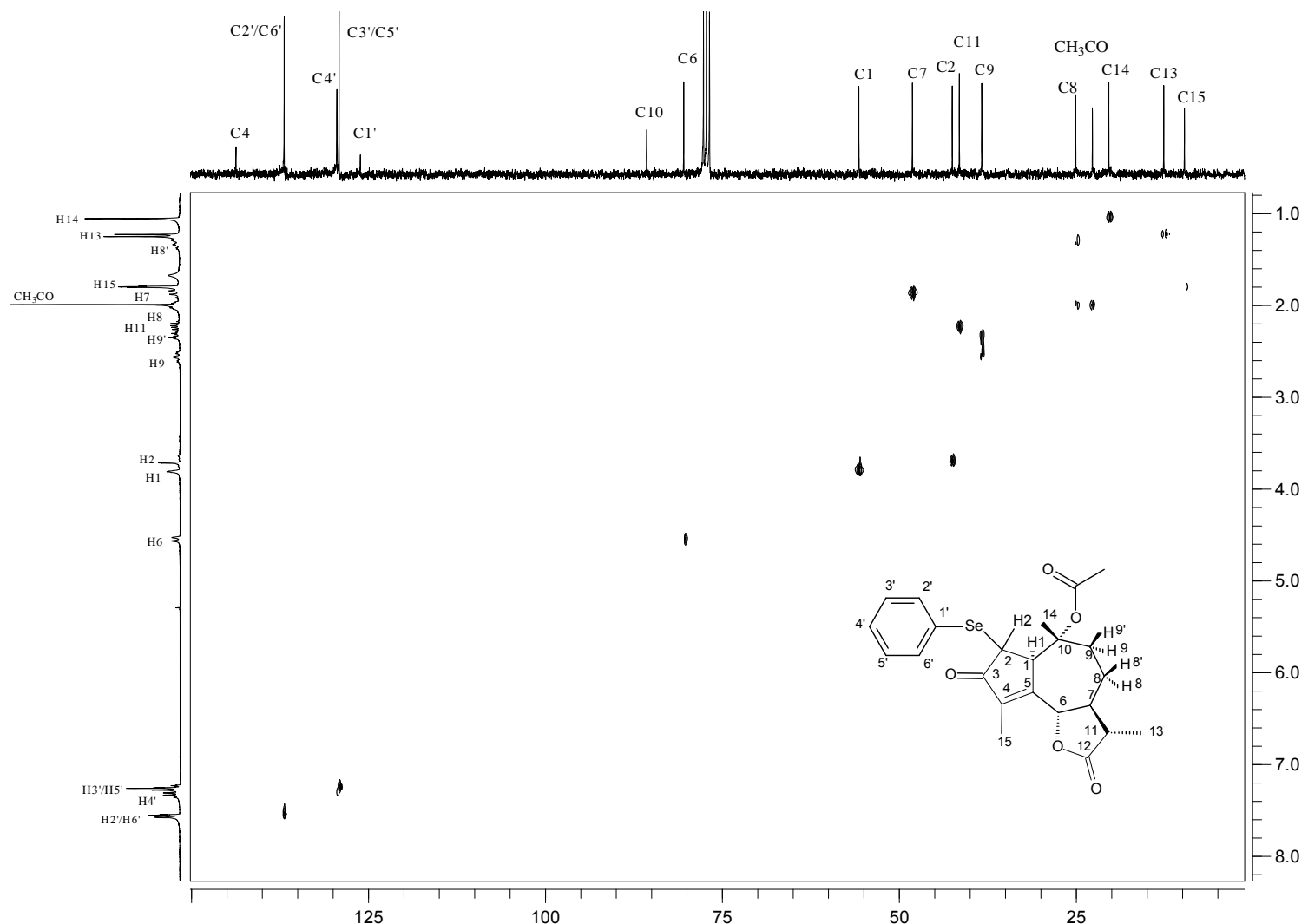


Figura A28: Mapa de contornos HETCOR do composto [15]

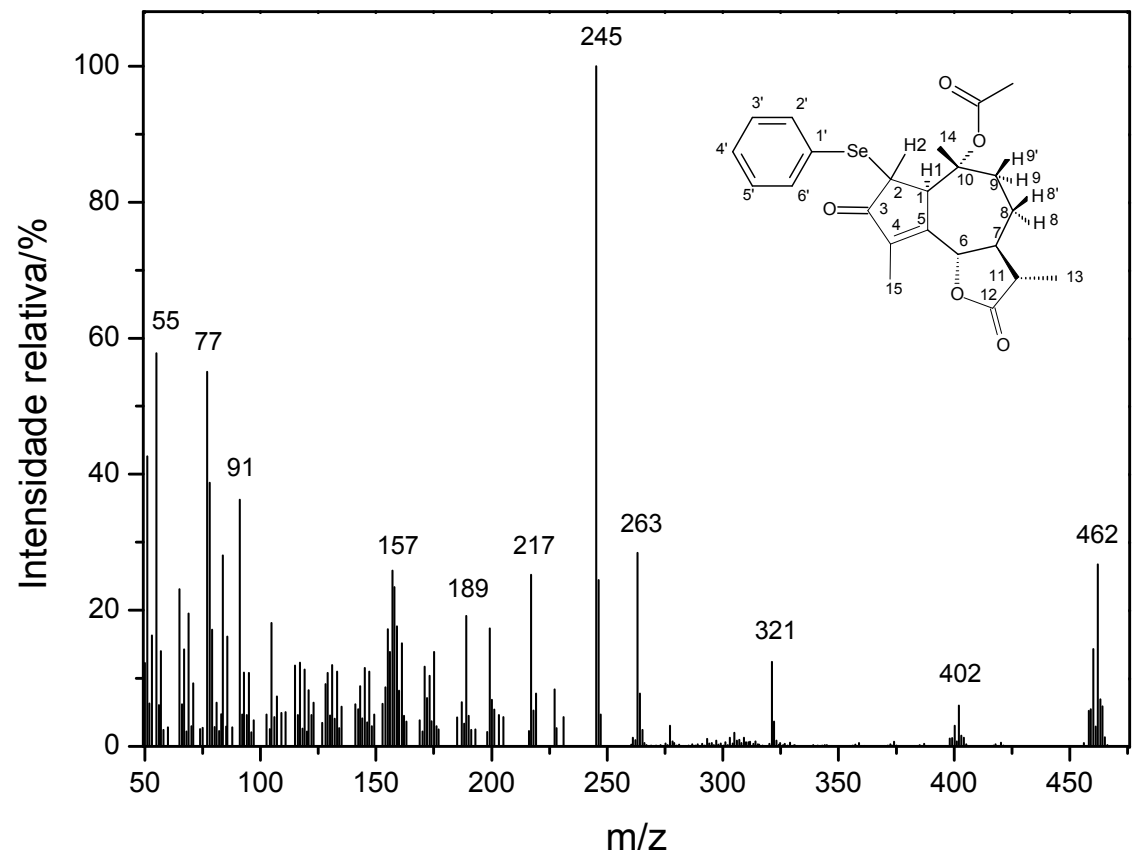


Figura A29: Espectro de massas do composto [15]

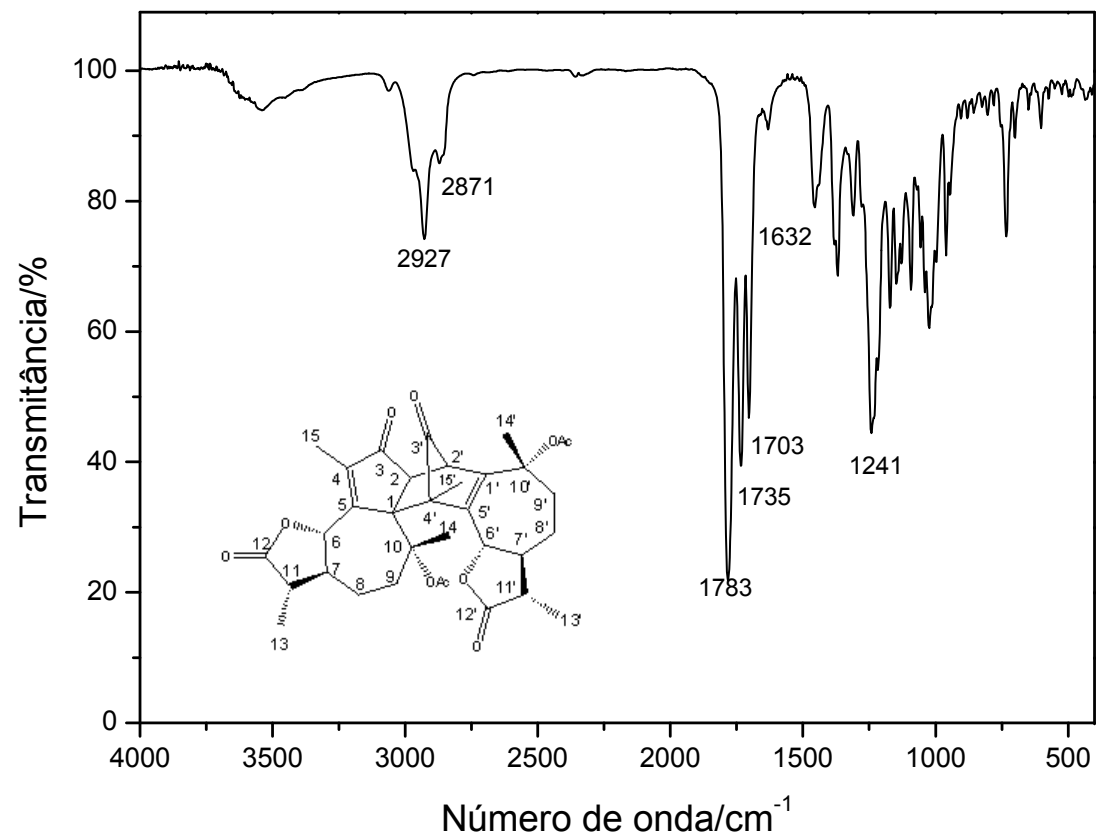


Figura A30: Espectro no infravermelho (IV) do composto **[16]**

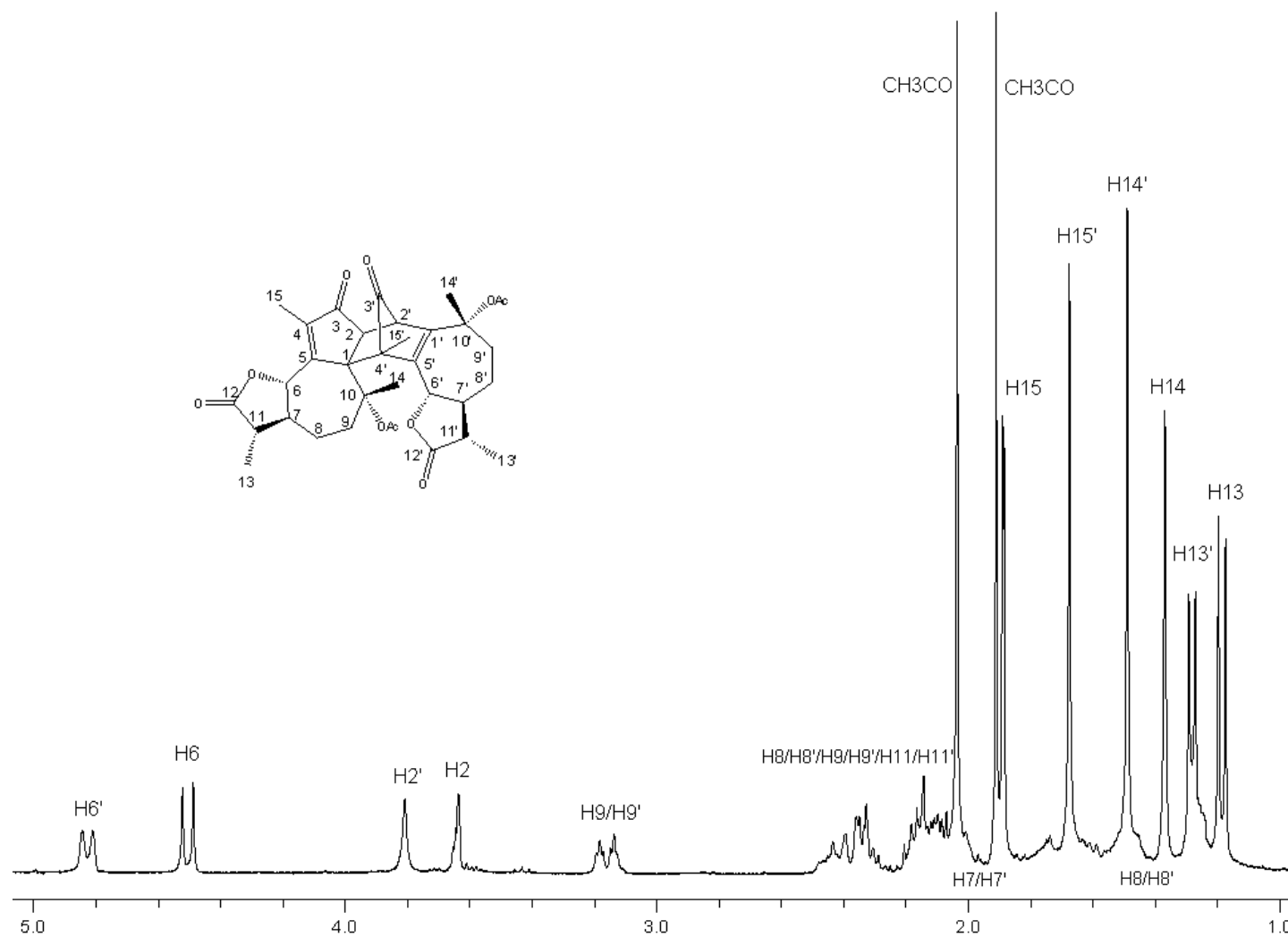


Figura A31: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **[16]**.

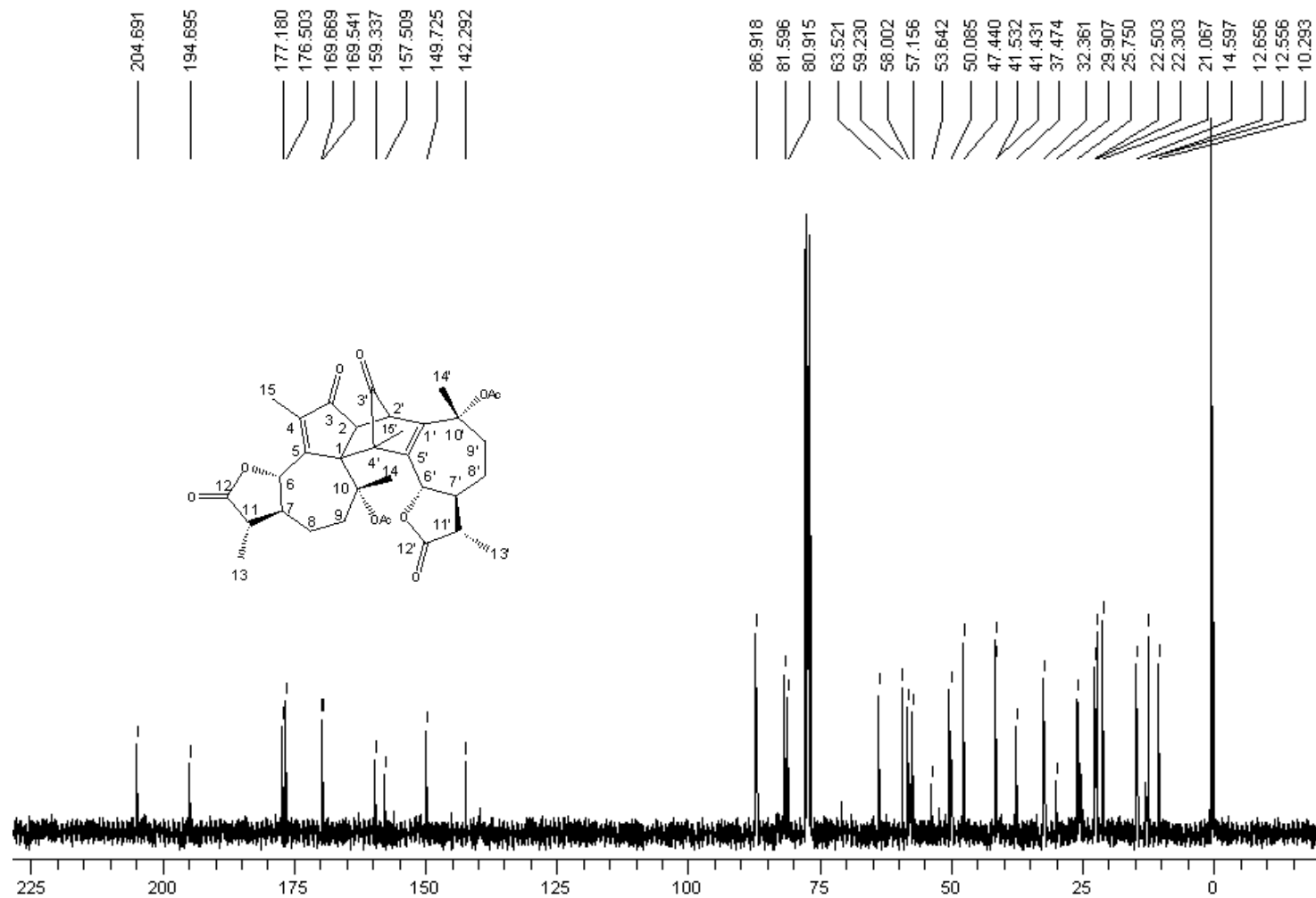


Figura A32: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [16]

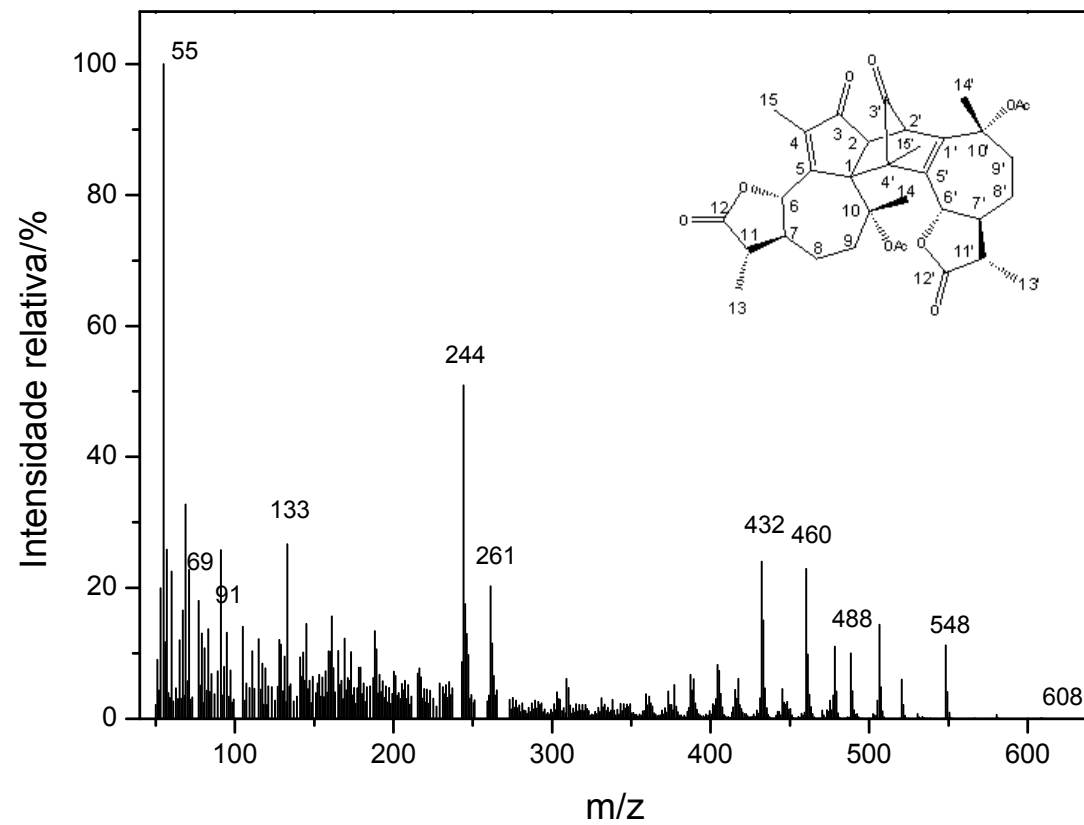


Figura A33: Espectro de massas do composto [16]

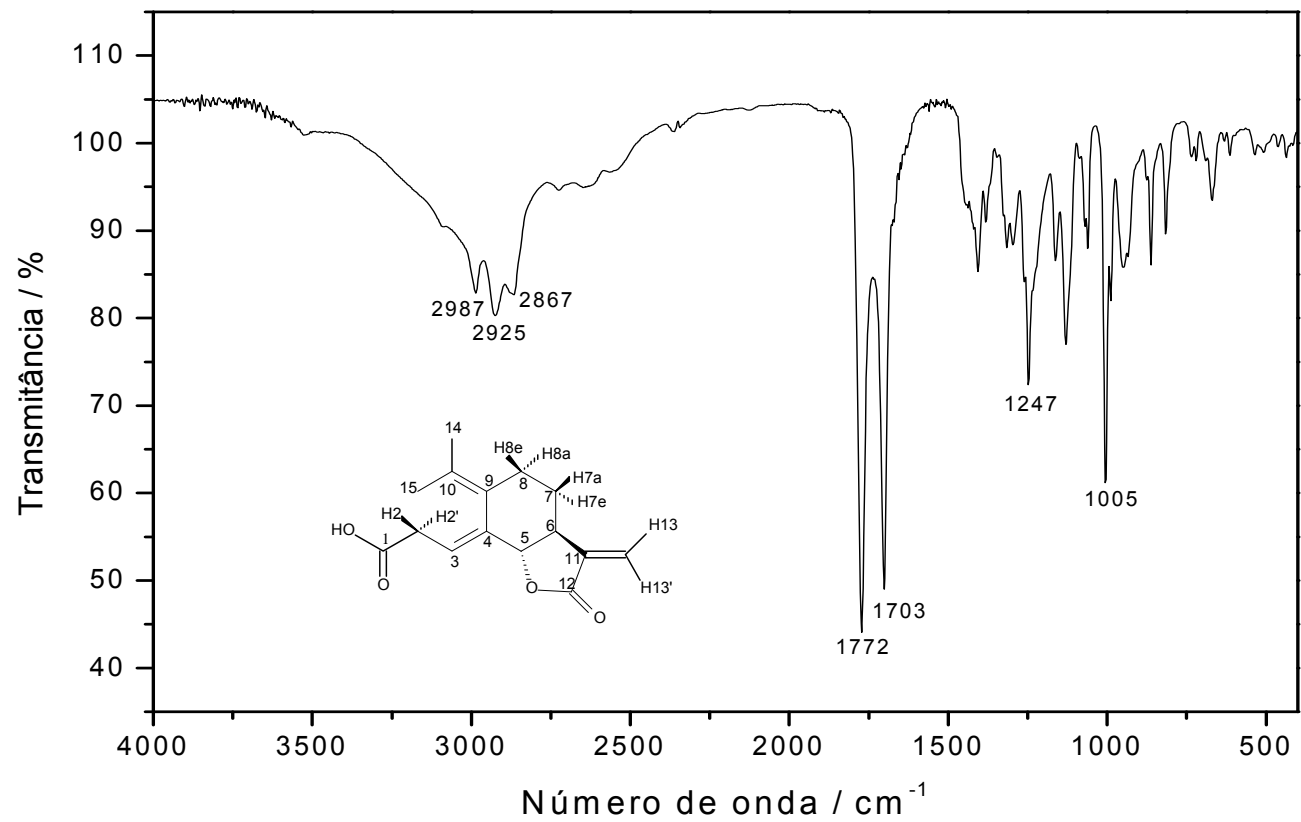


Figura A34- Espectro no infravermelho (IV) do composto [17].

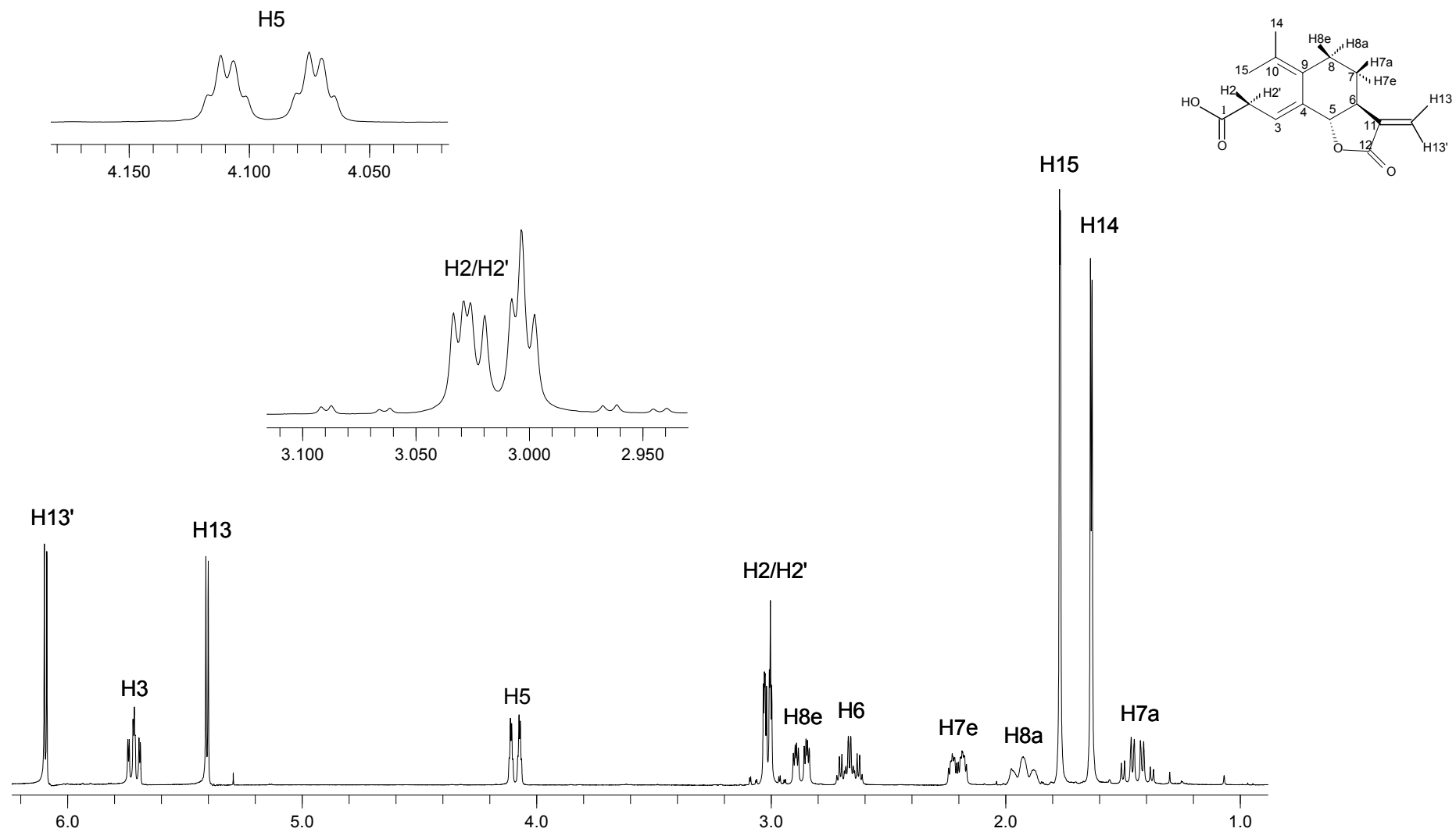


Figura A35- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [17].

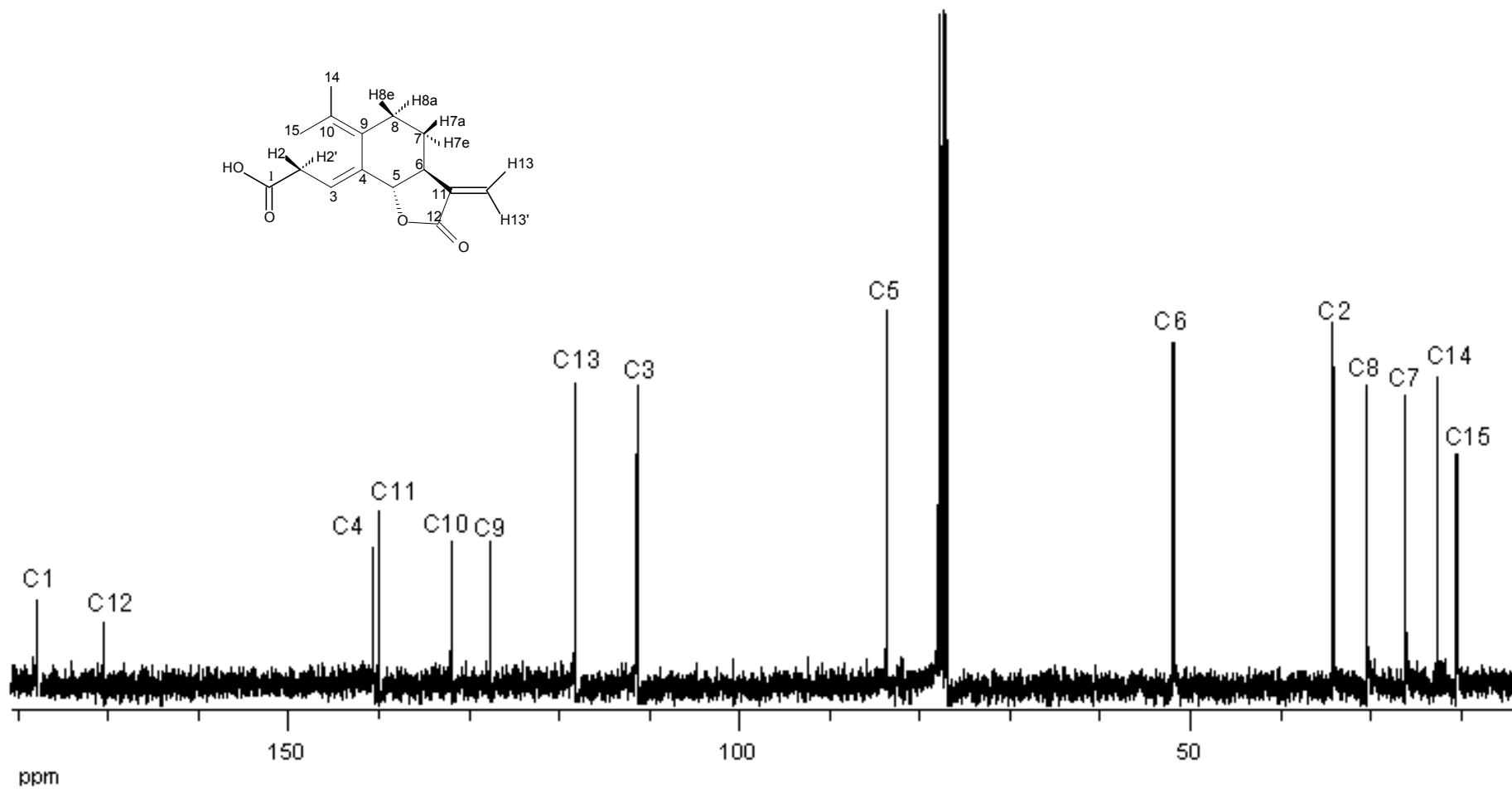


Figura A36- Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [17].

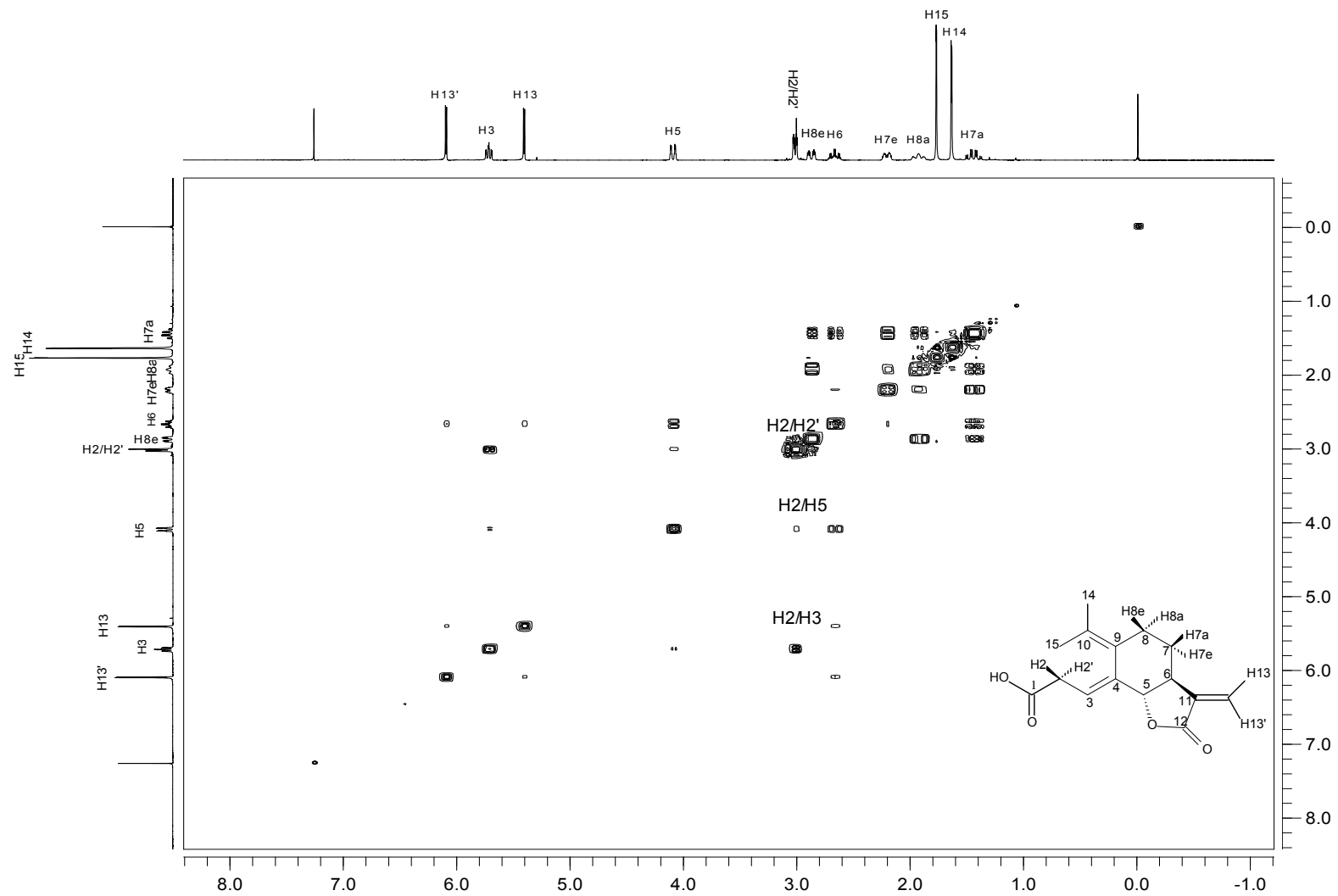


Figura A37- Mapa de contornos COSY do composto [17].

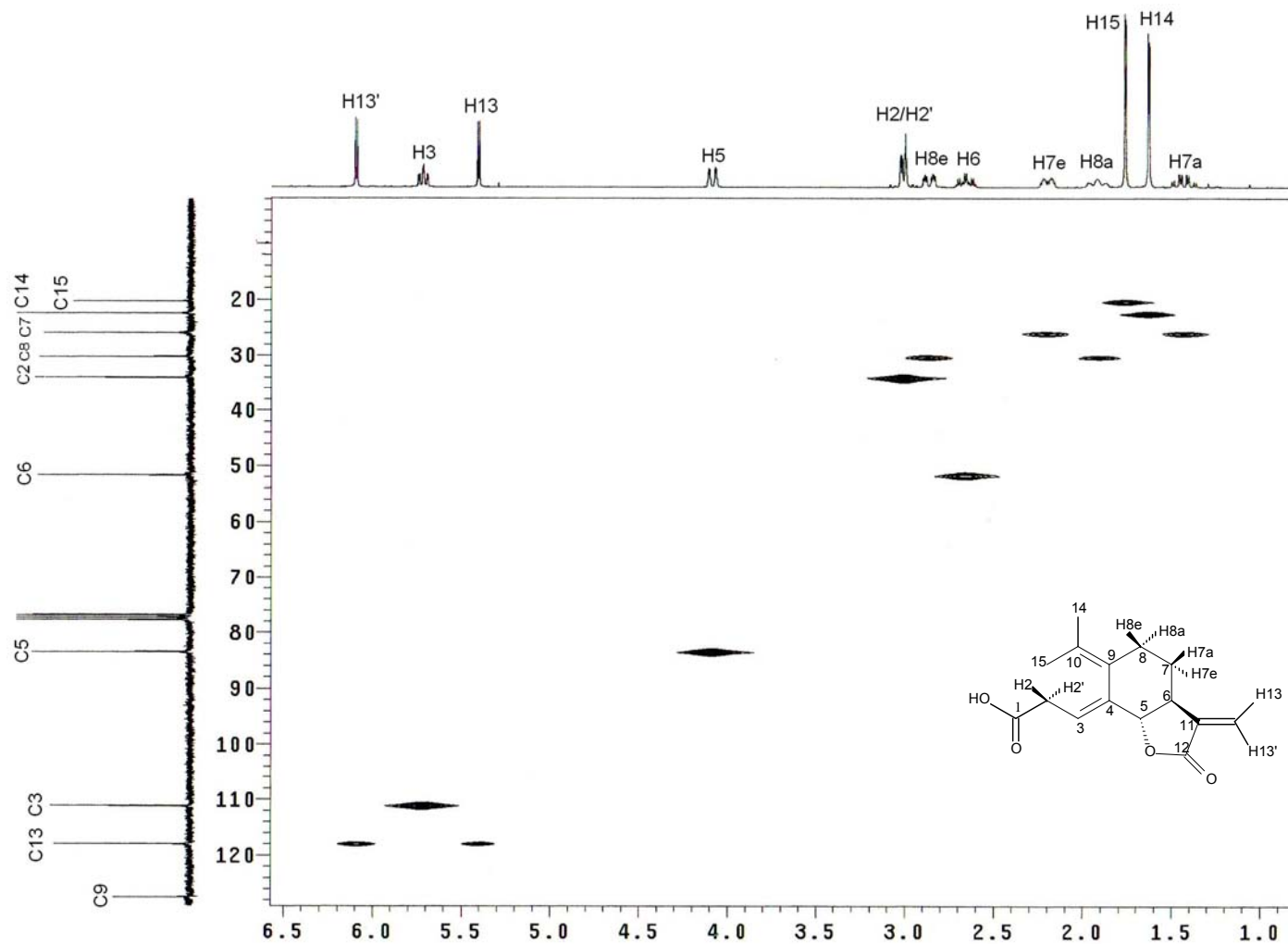


Figura A38- Mapa de contornos HETCOR do composto [17].

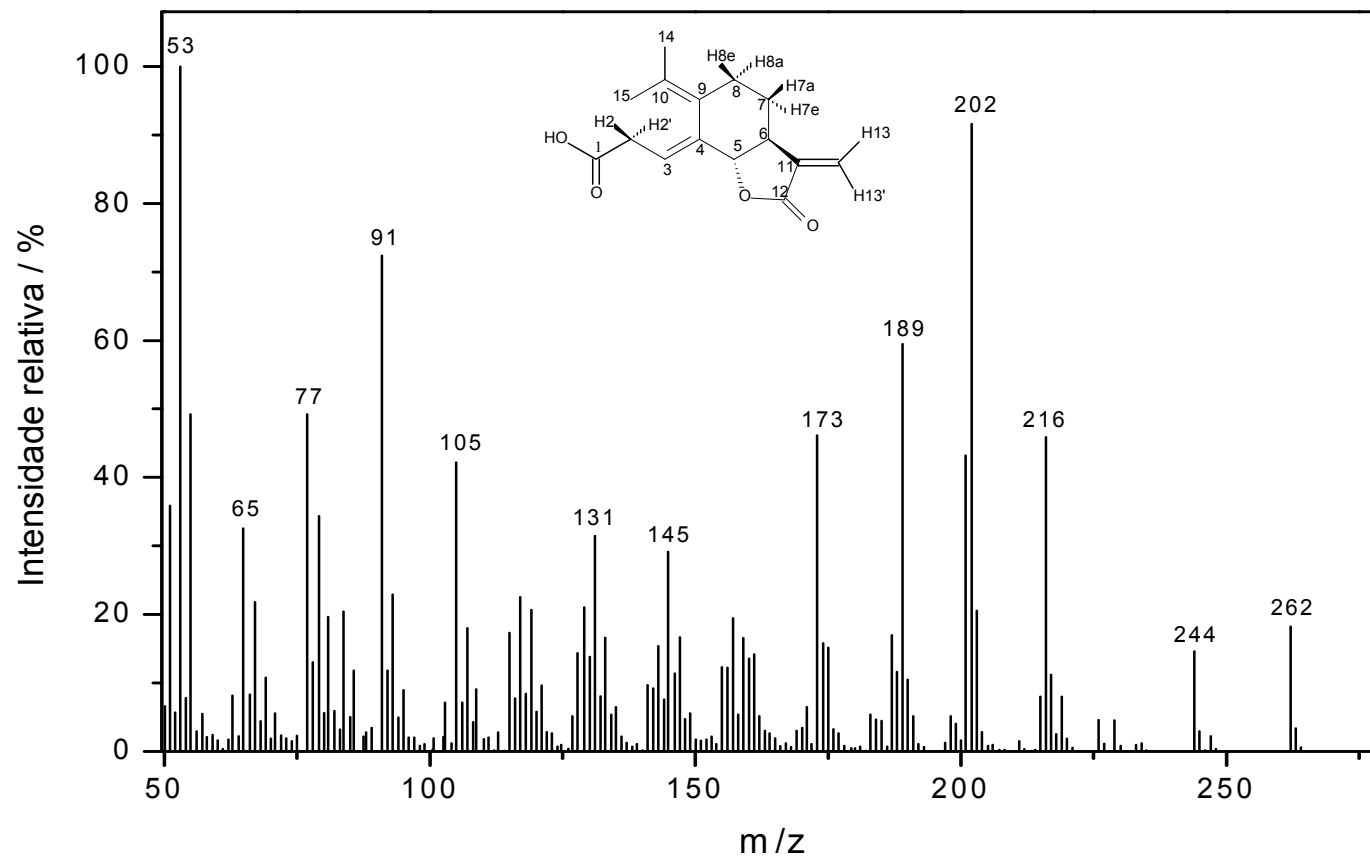


Figura A39- Espectro de massas do composto [17].

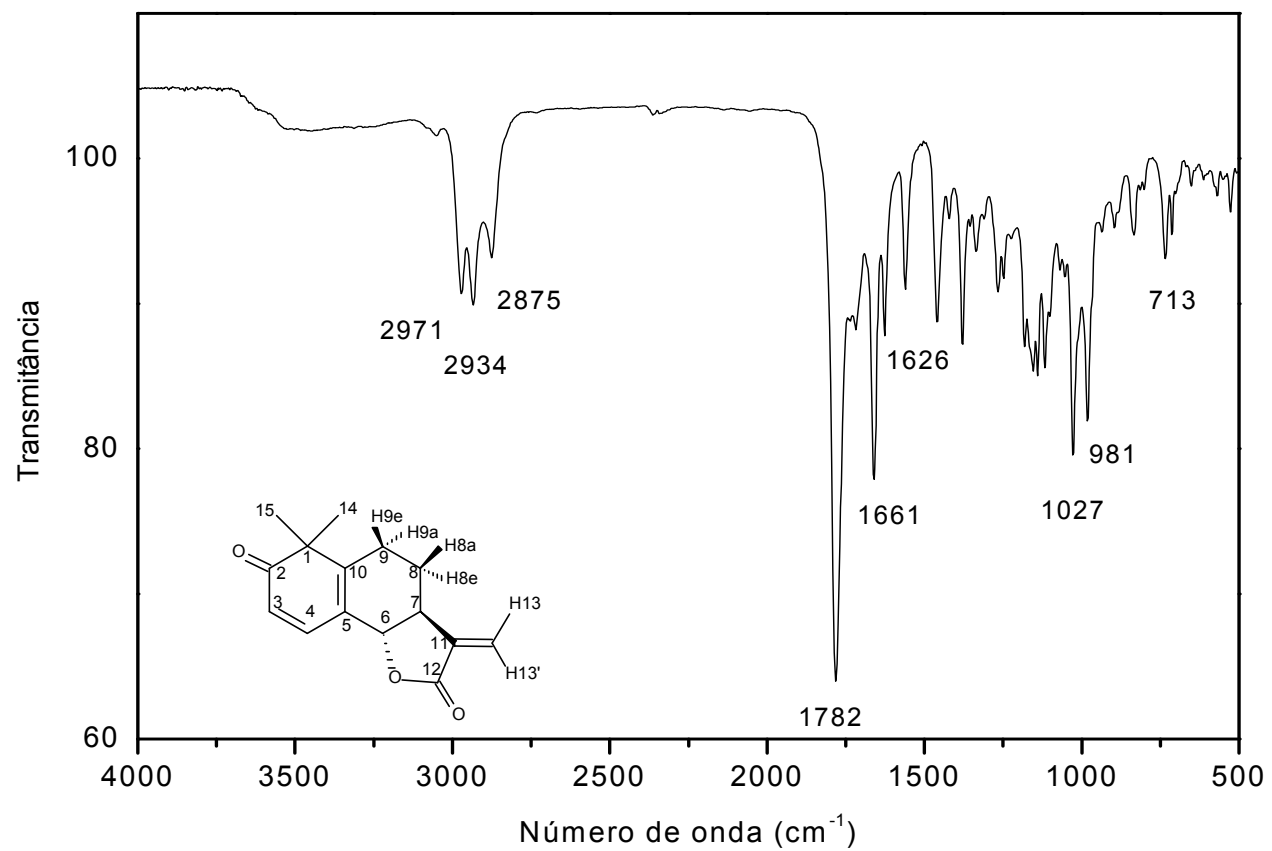


Figura A40- Espectro no infravermelho (IV) do composto **[19]**.

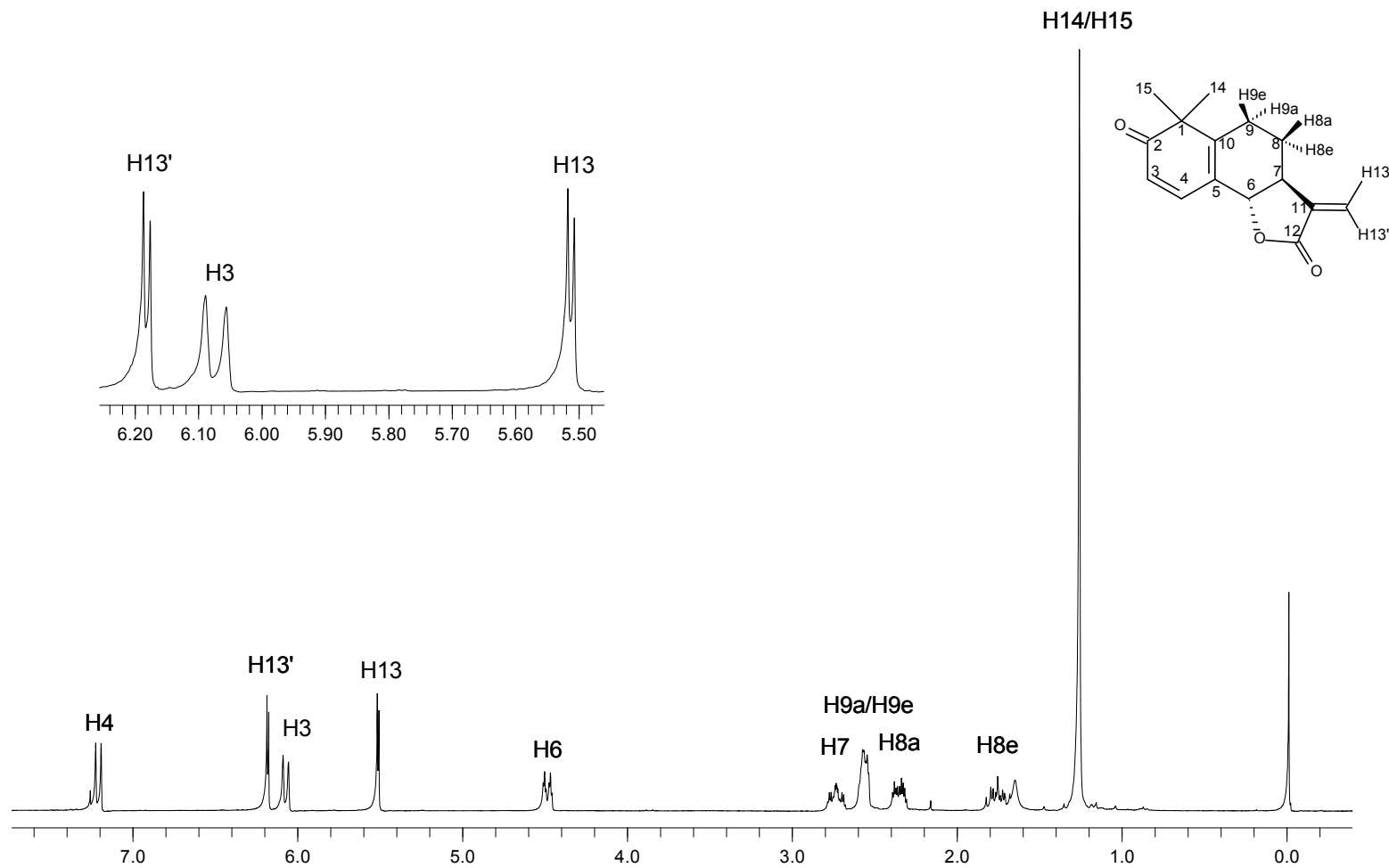


Figura A41- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **[19]**.

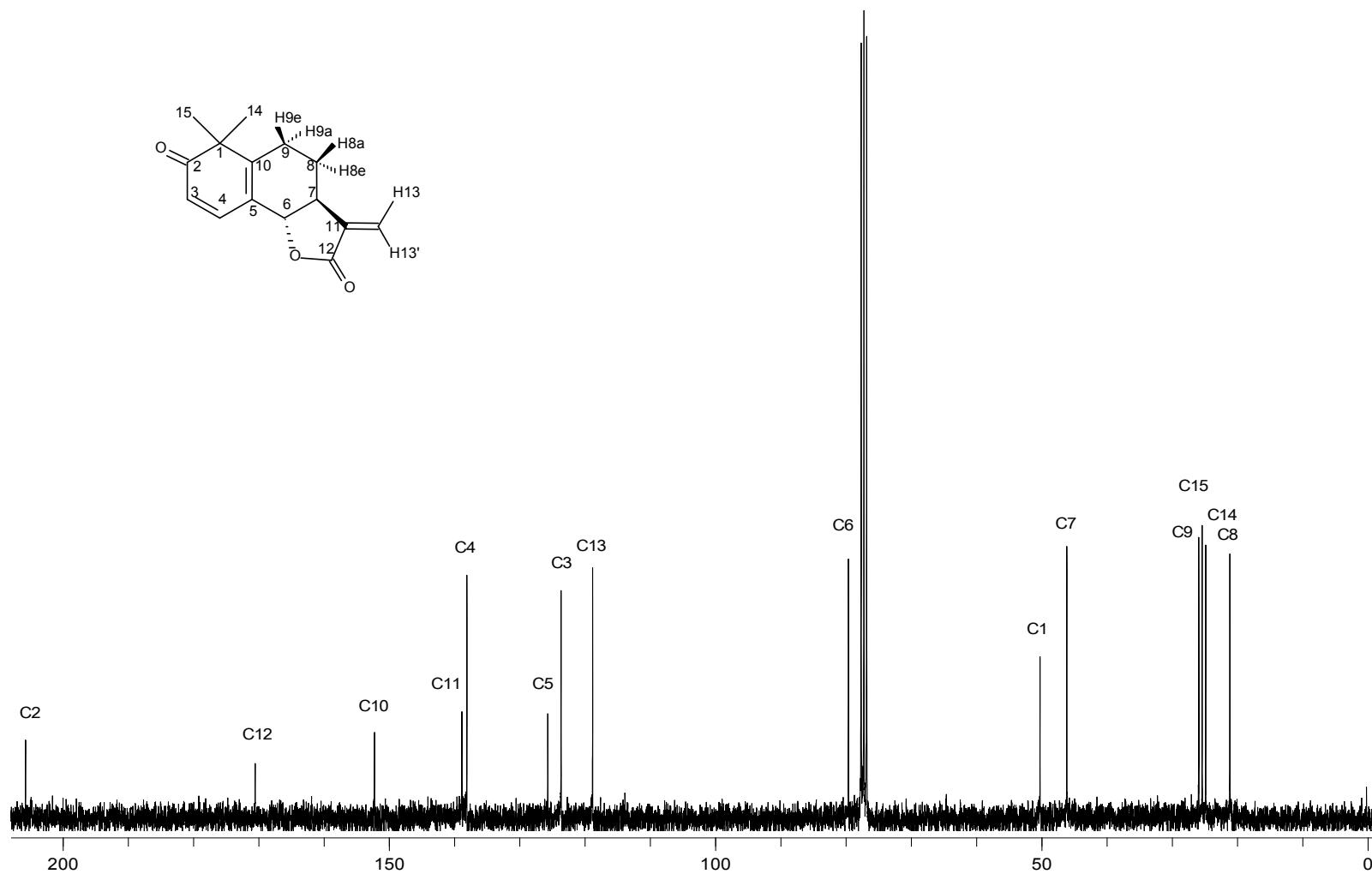


Figura A42- Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [19].

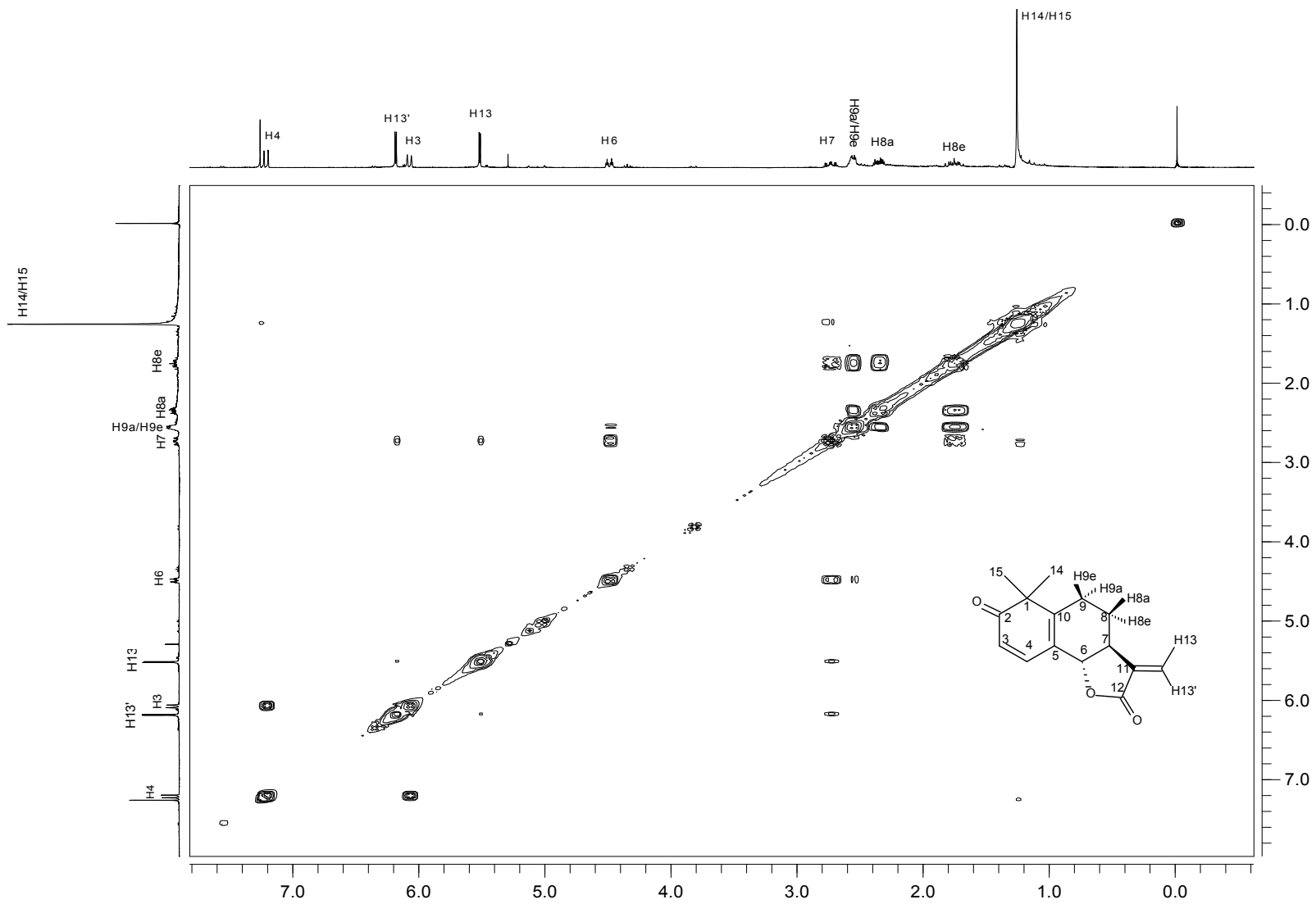


Figura A43- Mapa de contornos COSY do composto [19].

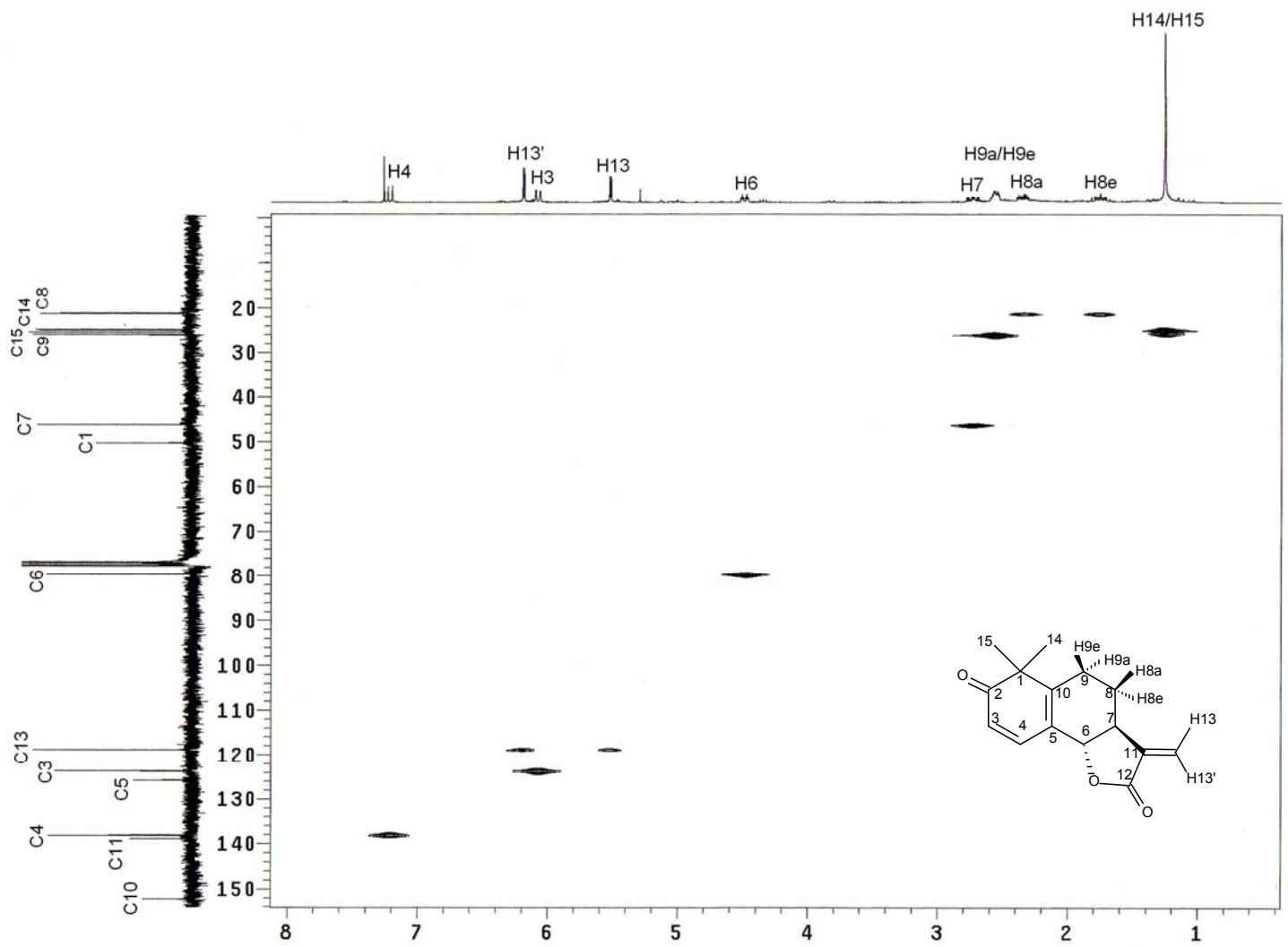


Figura A44- Mapa de contornos HETCOR do composto [19].

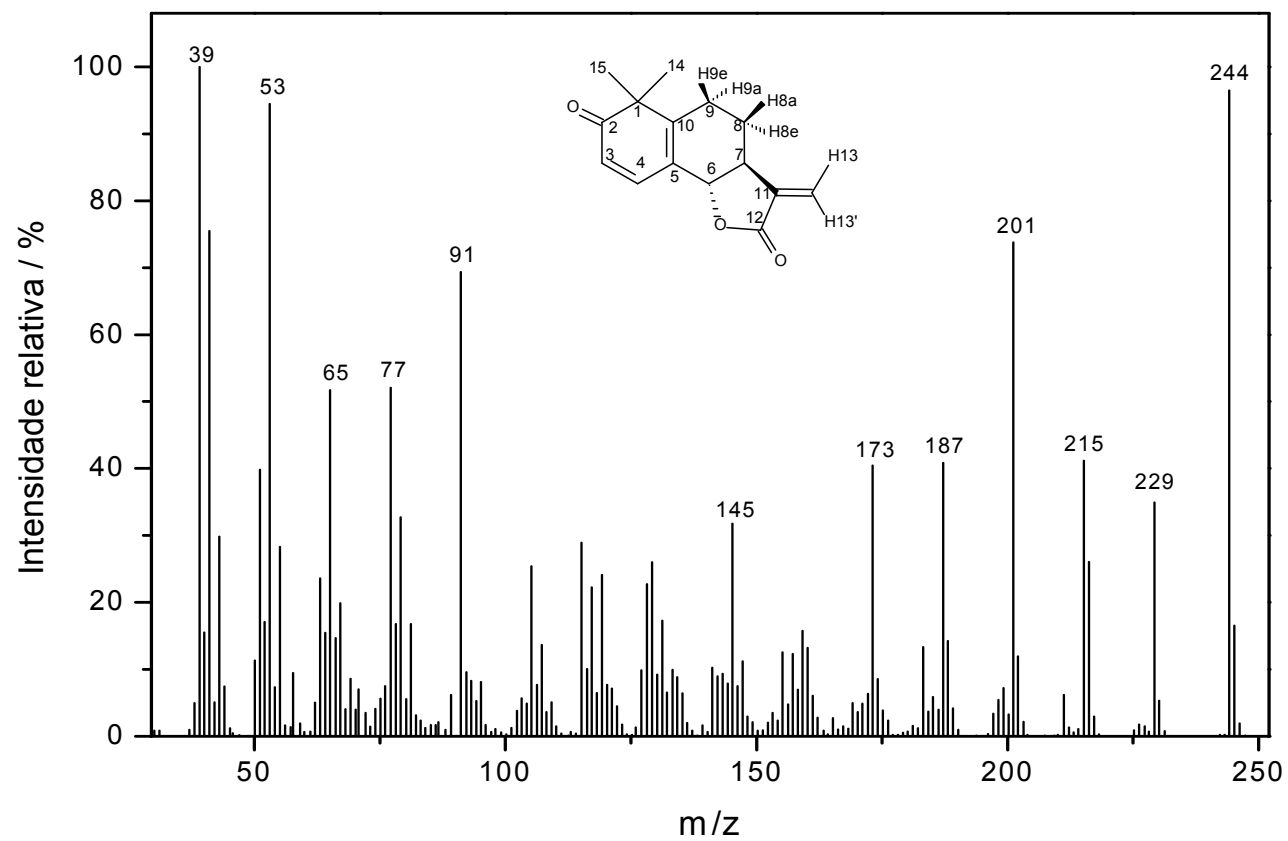


Figura A45- Espectro de massas do composto [19].

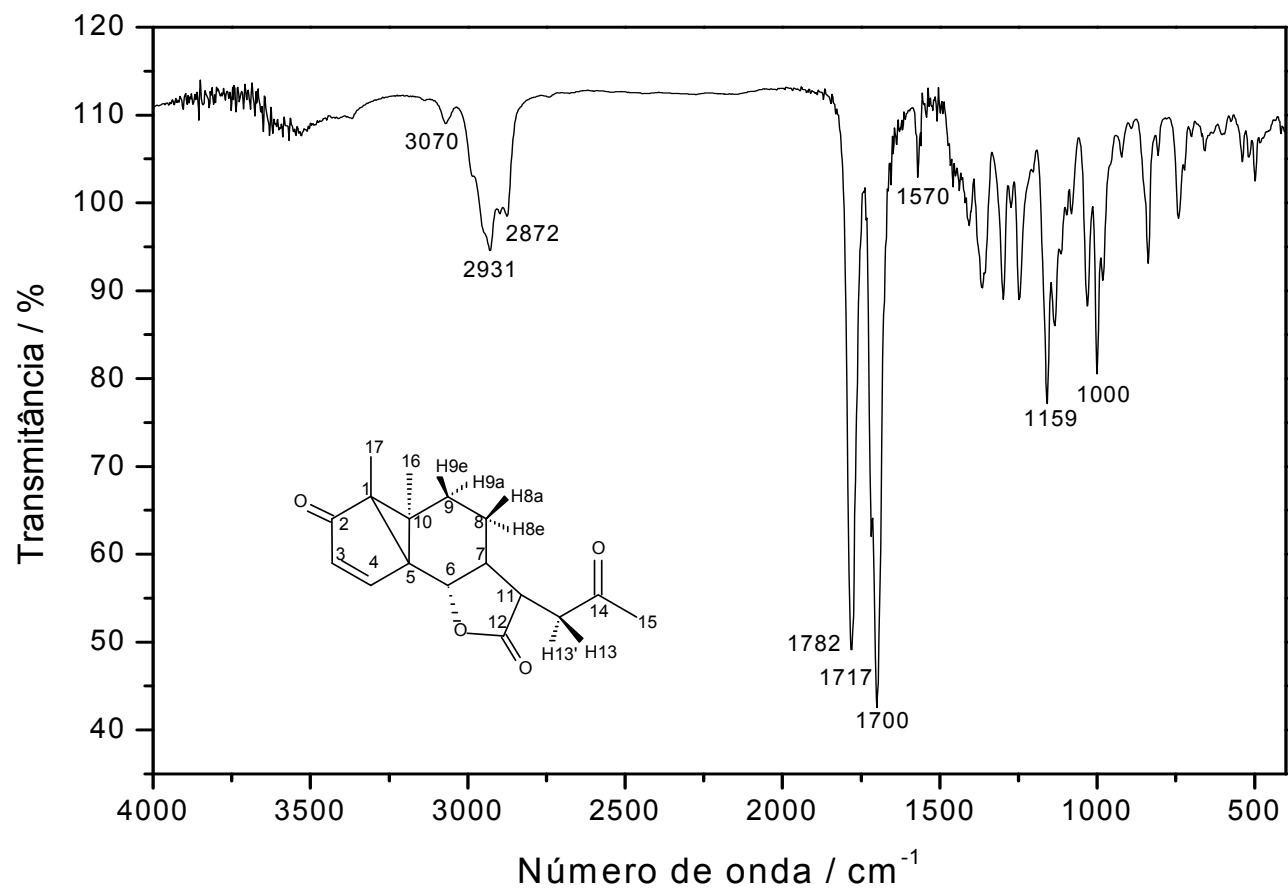


Figura A46- Espectro no infravermelho (IV) do composto [21].

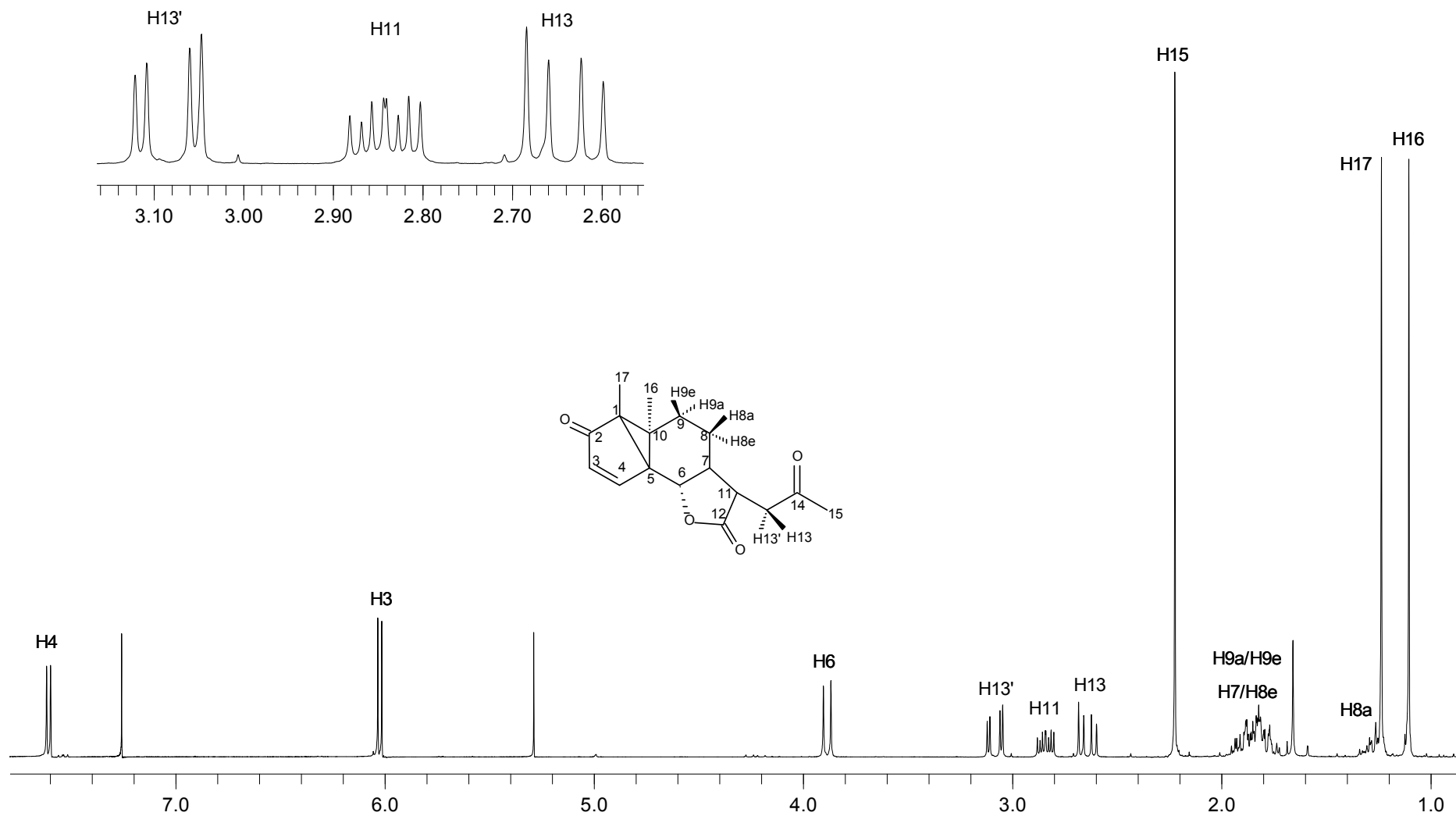


Figura A47- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [21].

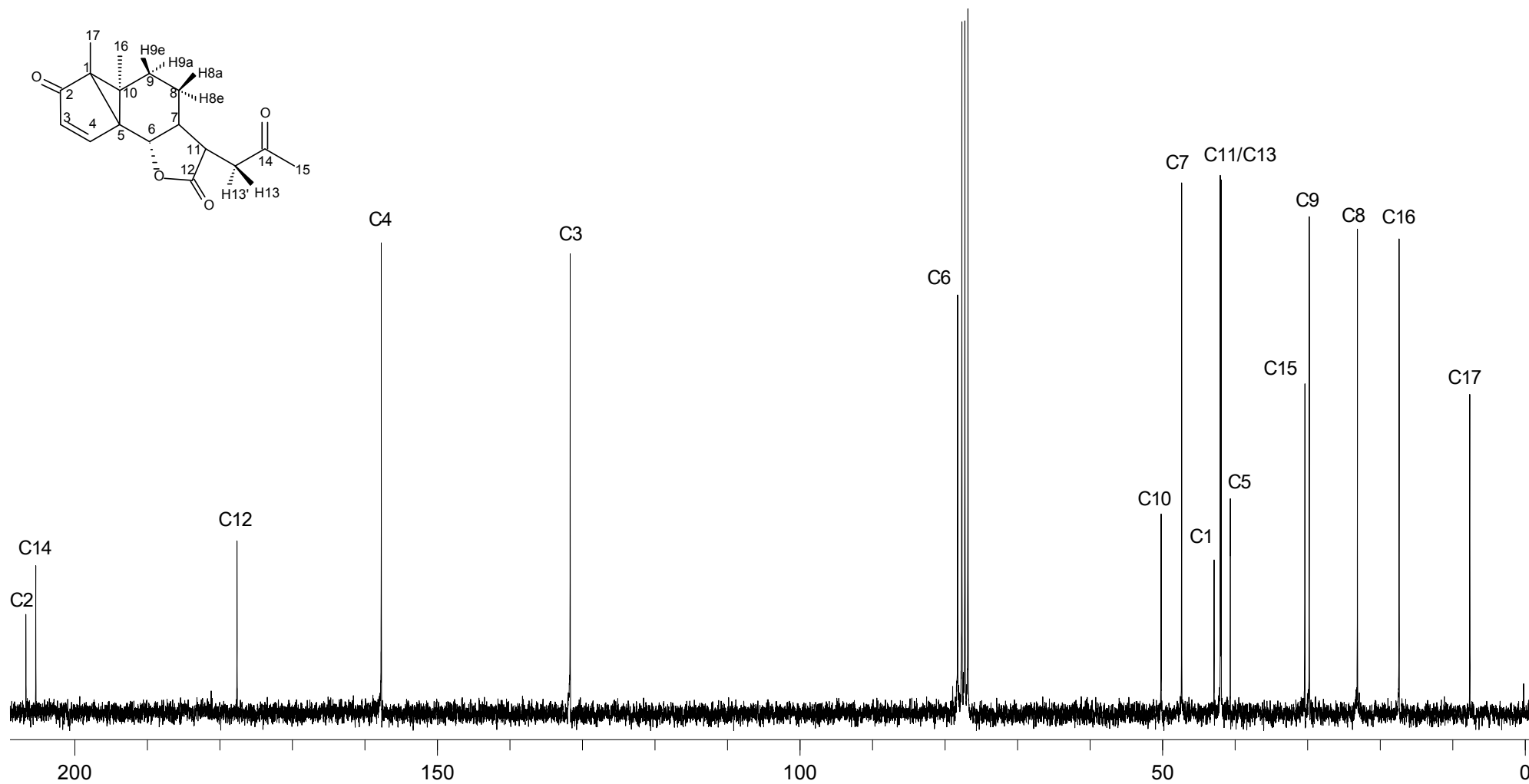


Figura A48- Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [21].

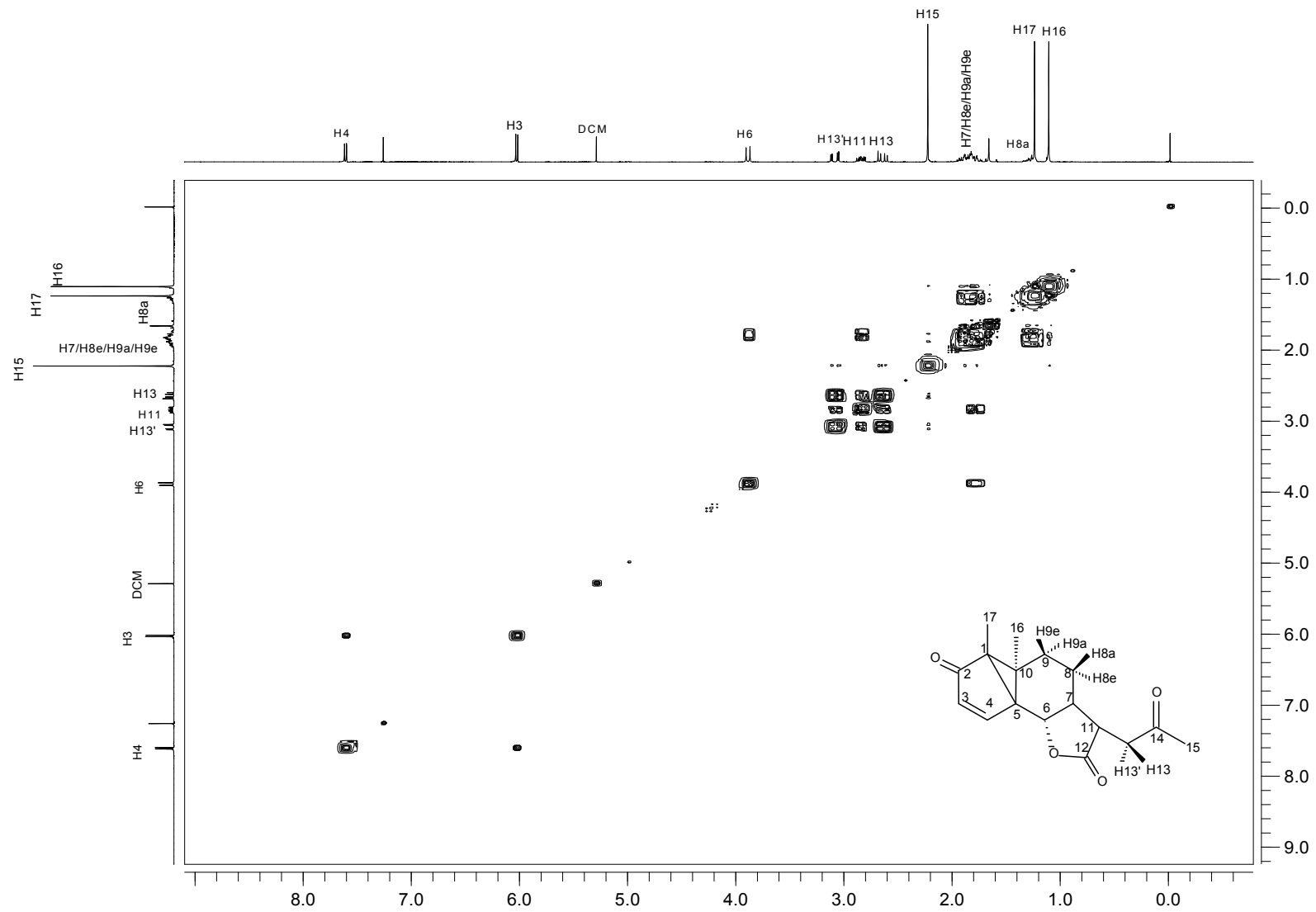


Figura A49- Mapa de contornos COSY do composto [21].

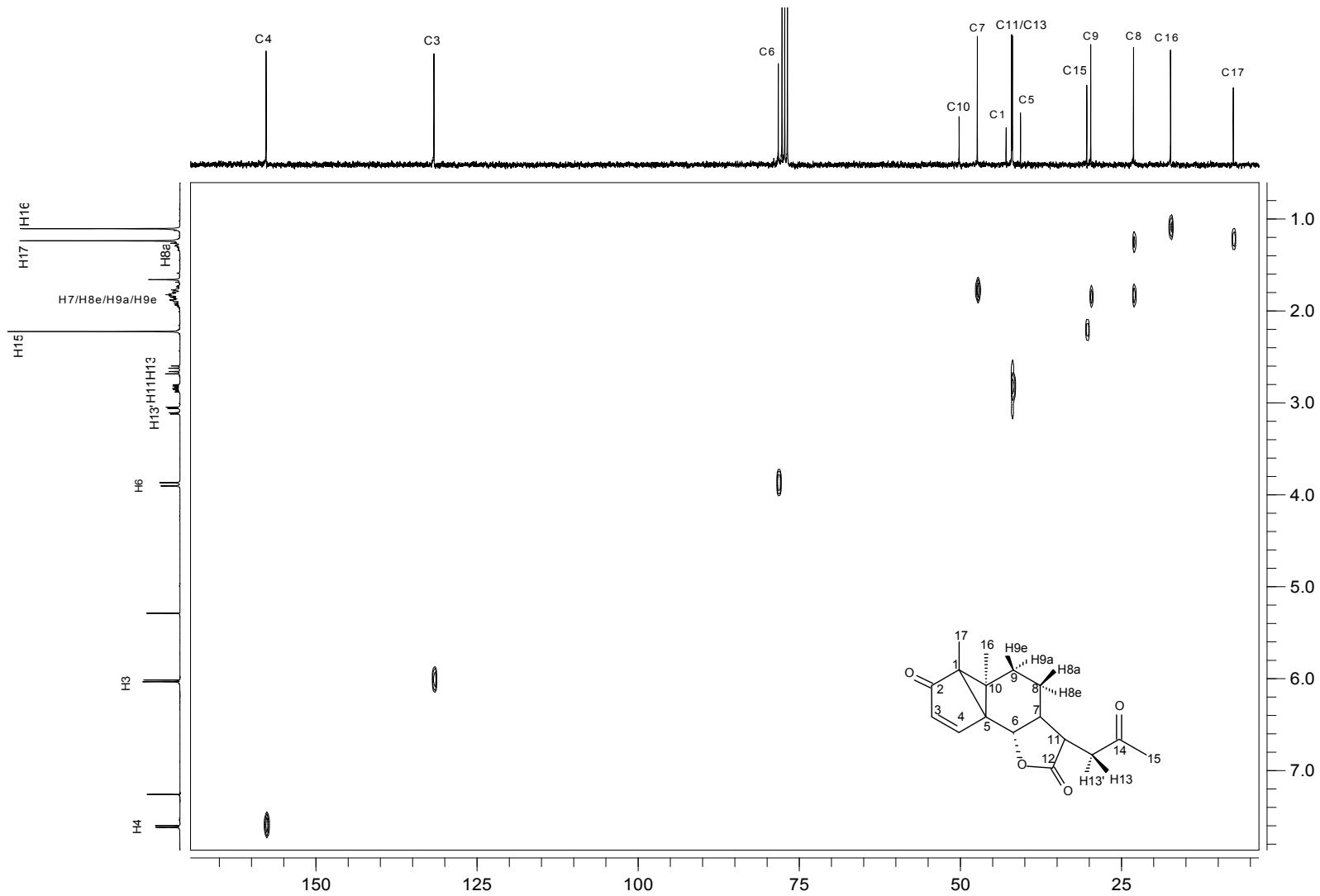


Figura A50- Mapa de contornos HETCOR do composto [21].

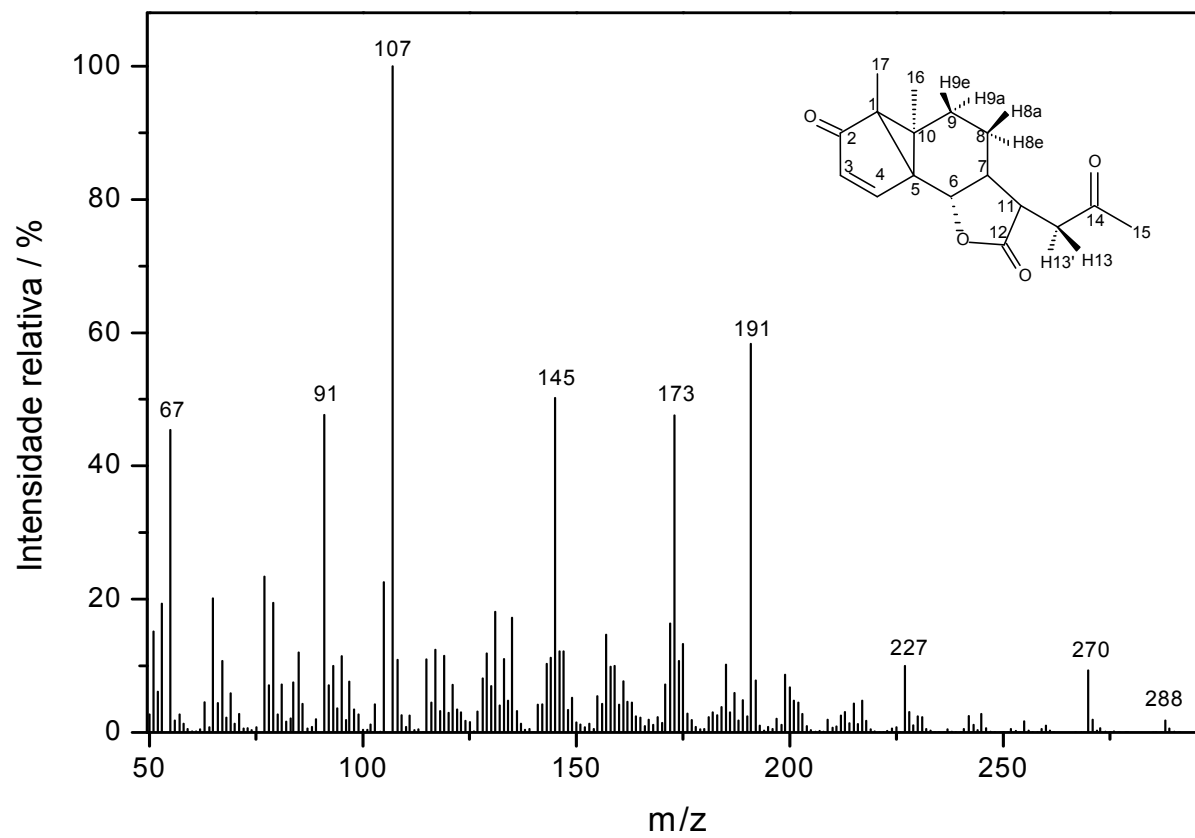


Figura A51- Espectro de massas do composto [21].

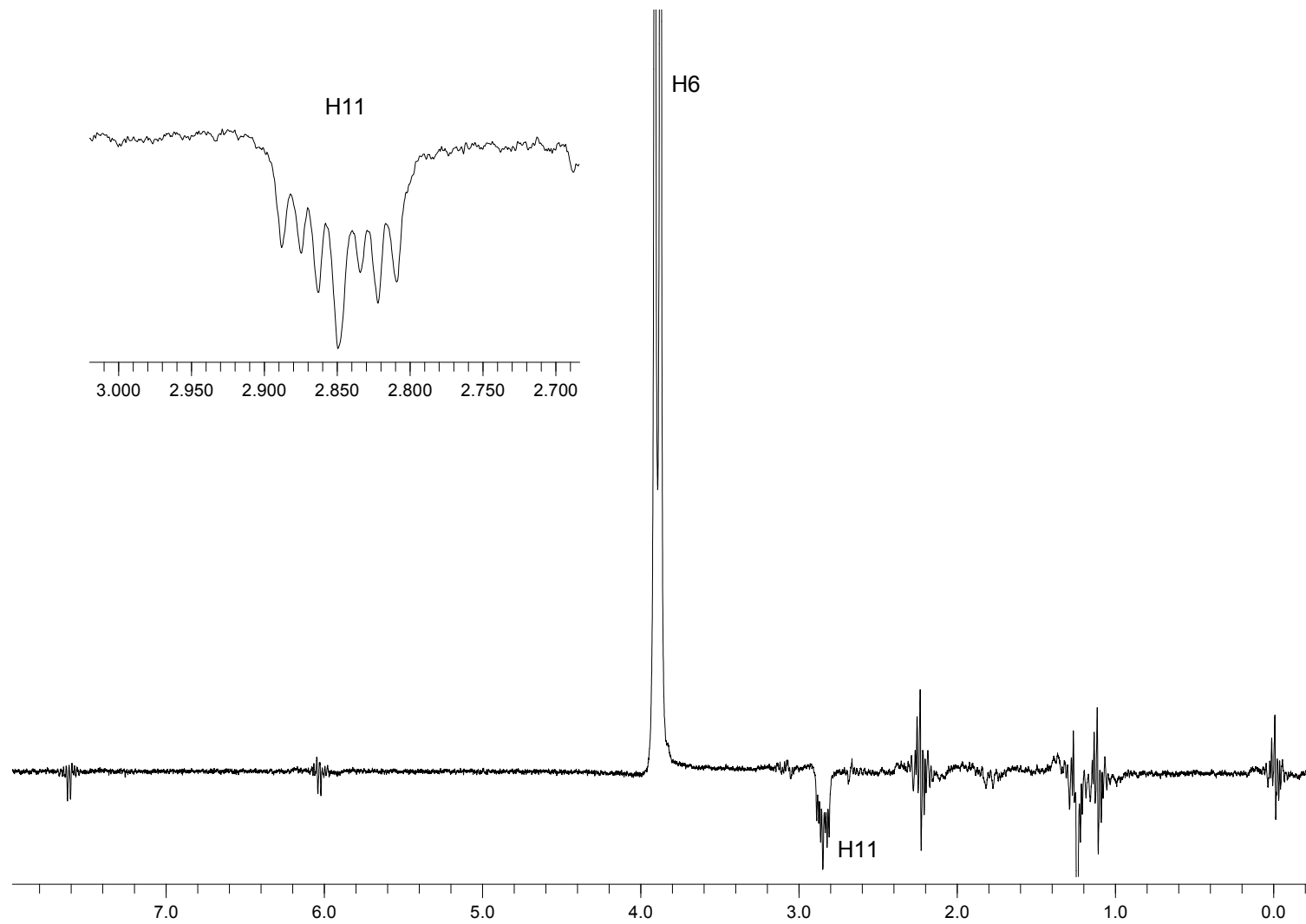


Figura A52: Espectro NOEDIFF do composto [21]

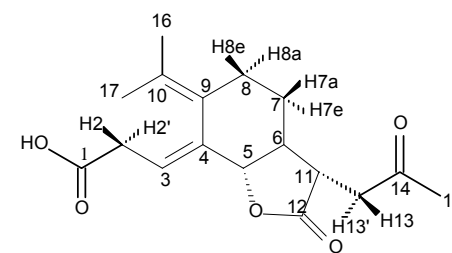
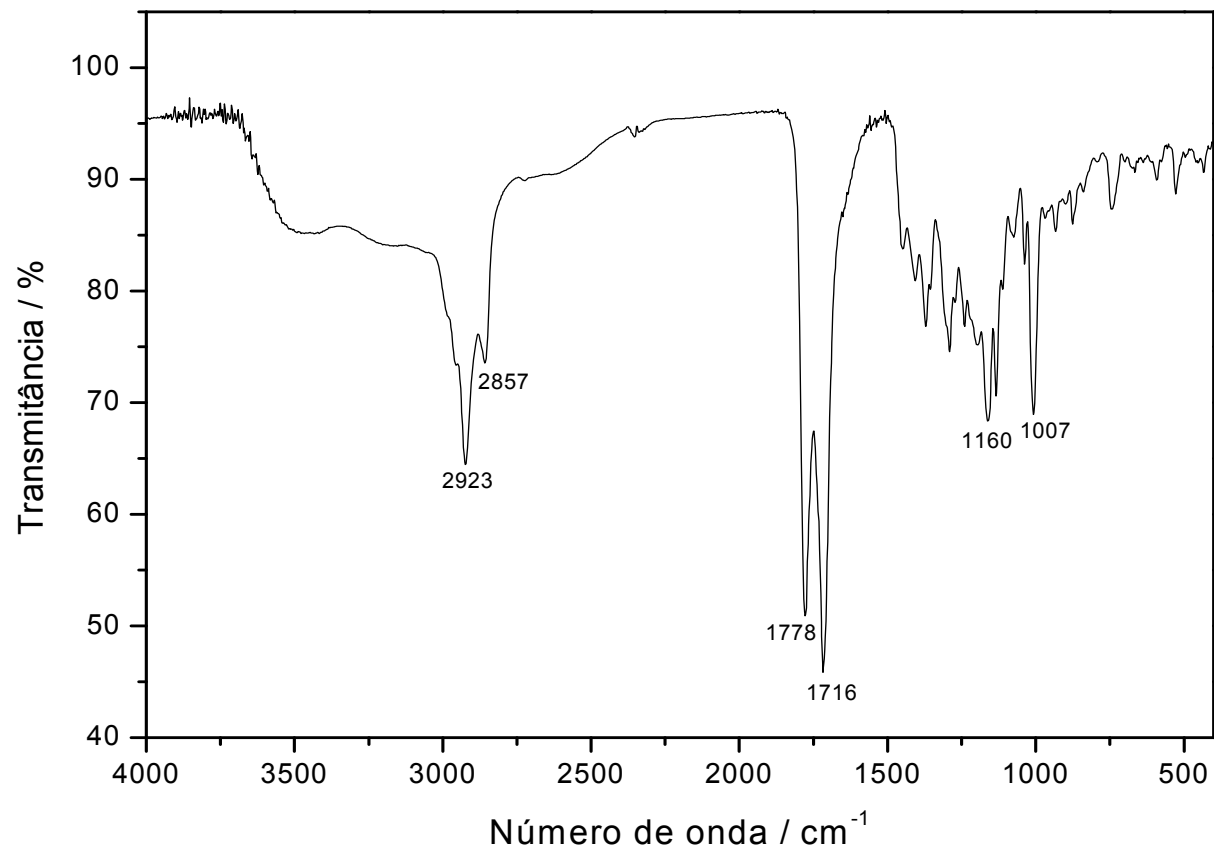


Figura A53- Espectro no infravermelho do composto [22].

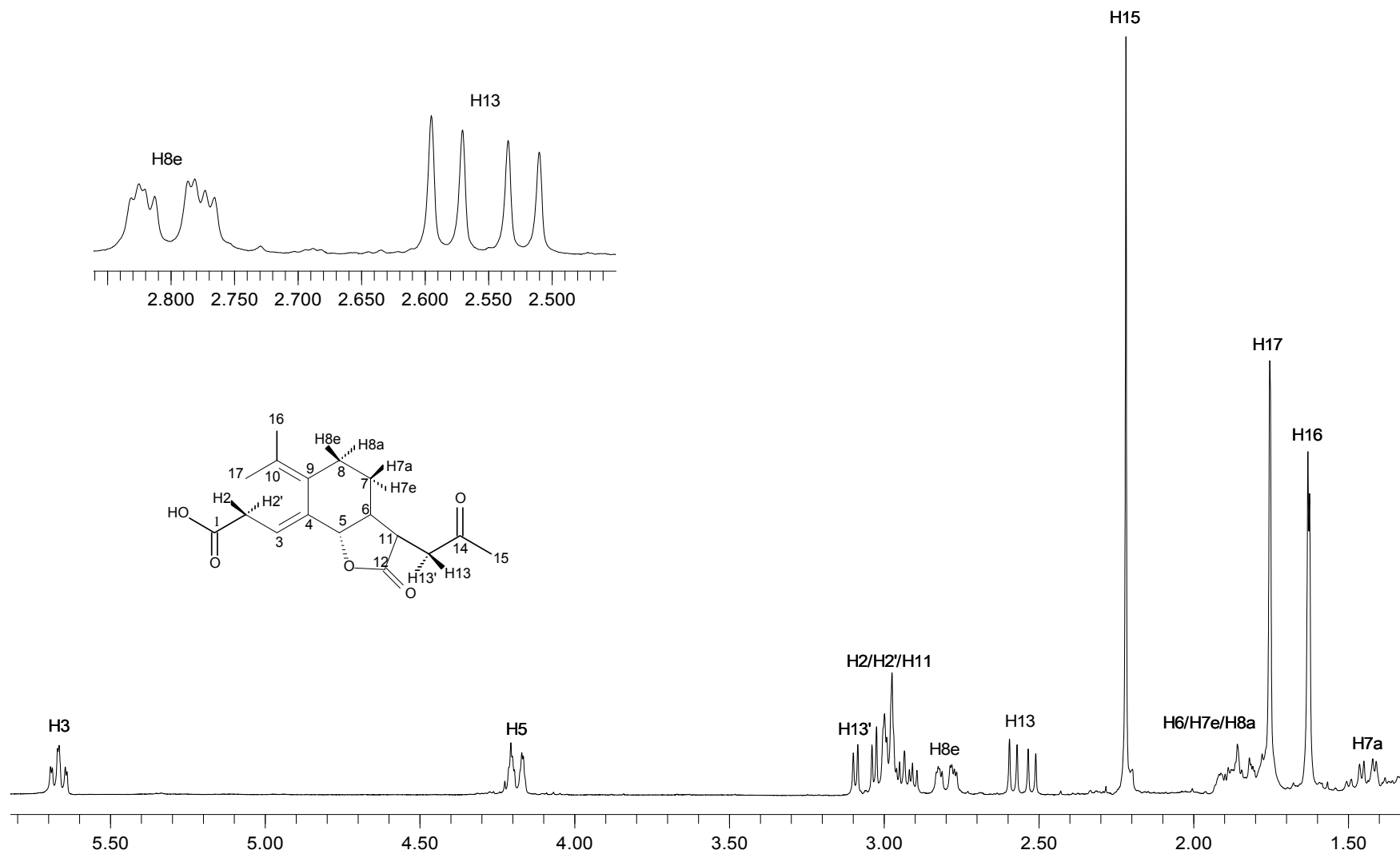


Figura A54- Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [22].

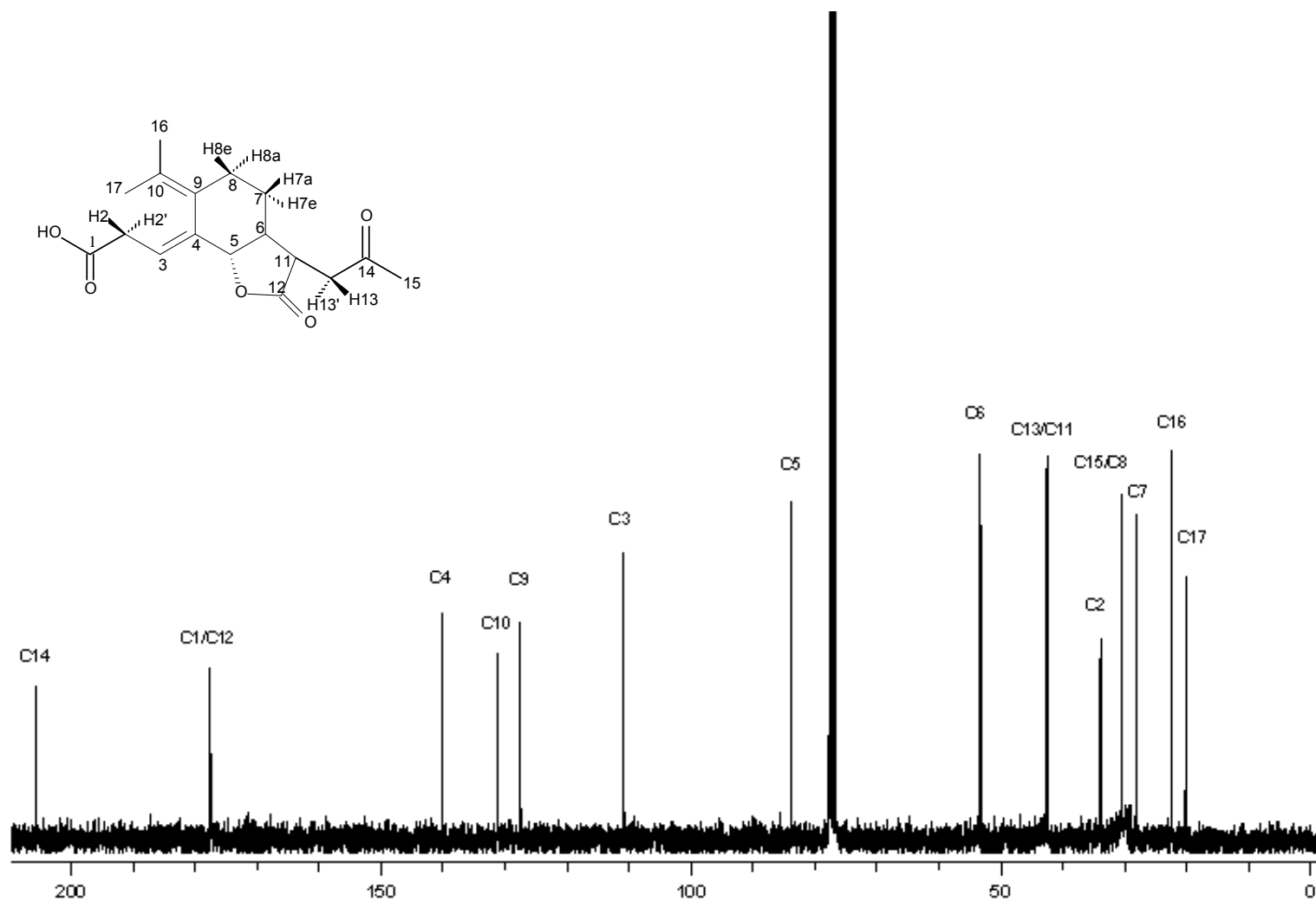


Figura A55- Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [22].

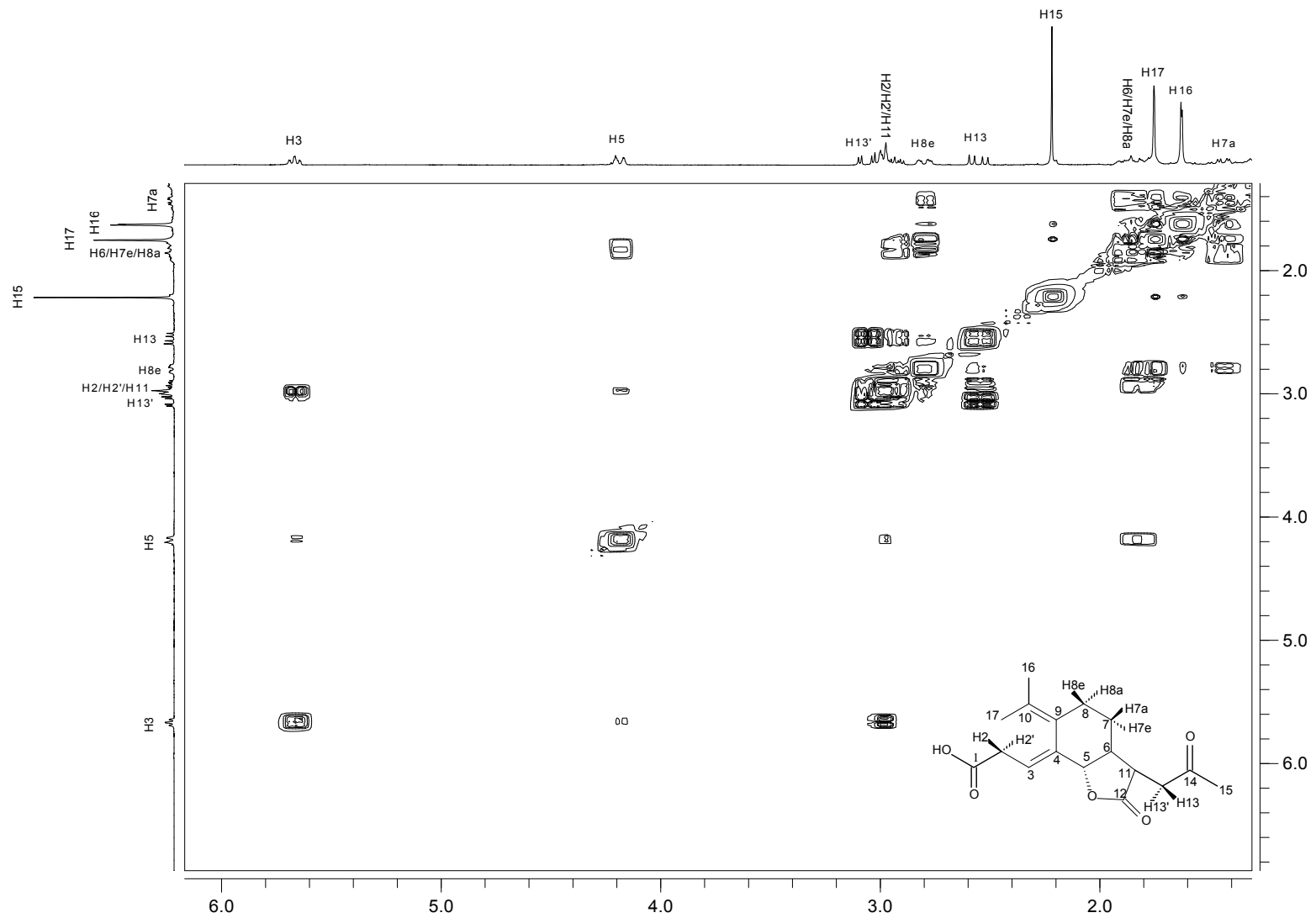


Figura A56- Mapa de contornos COSY do composto [22].

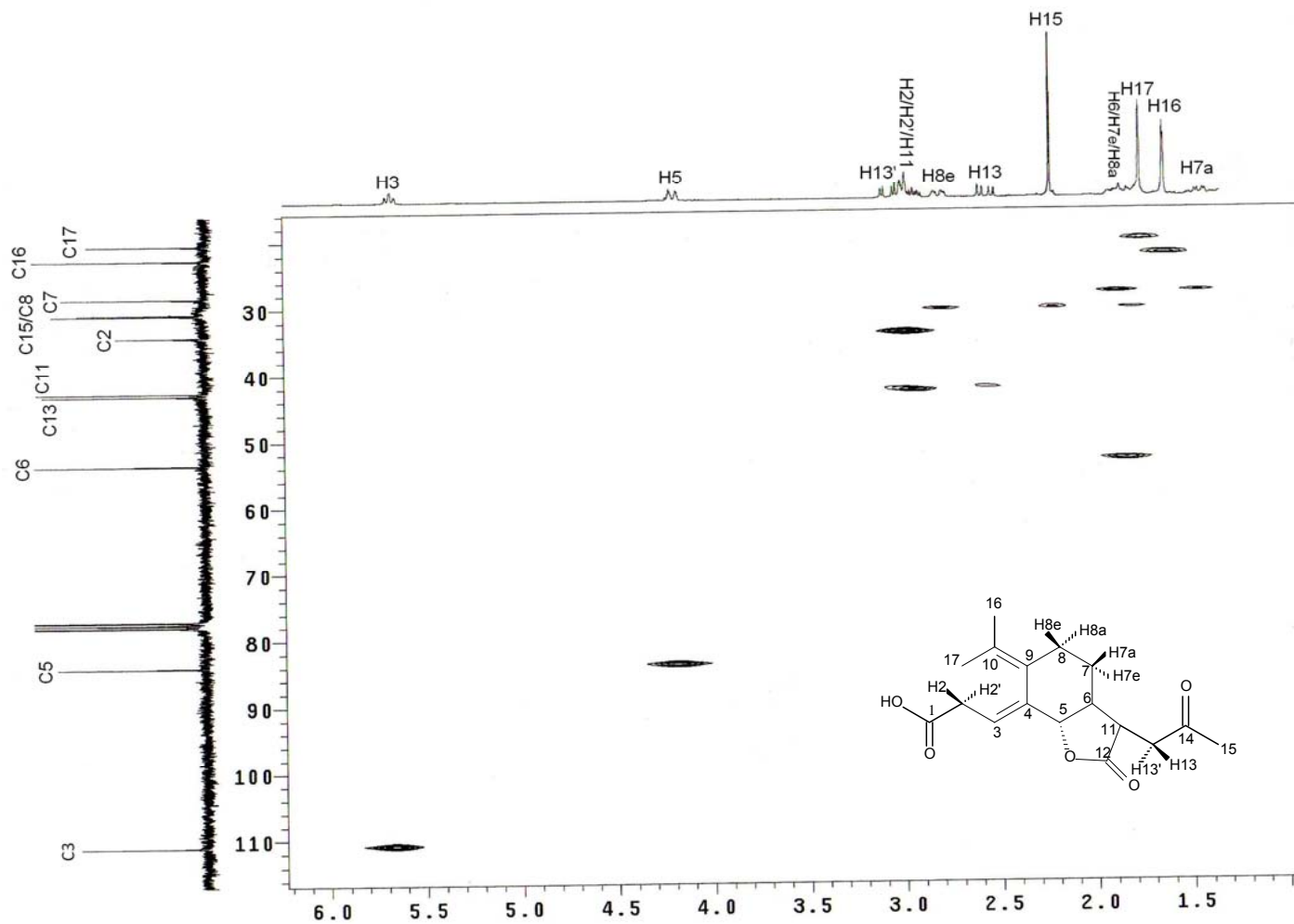


Figura A57- Mapa de contornos HETCOR do composto [22].

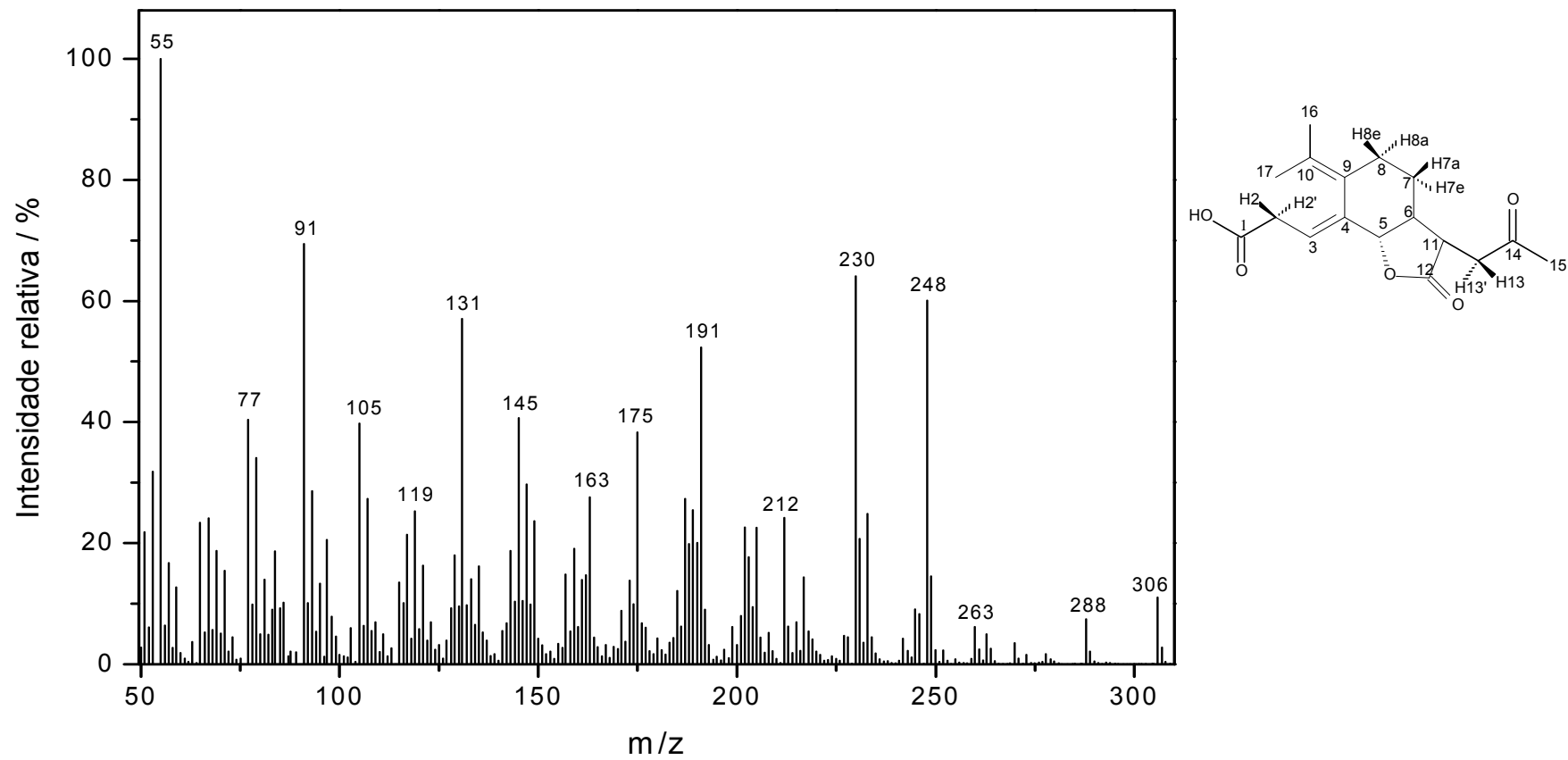


Figura A58- Espectro de massas do composto [22].

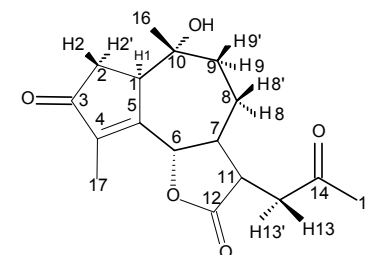
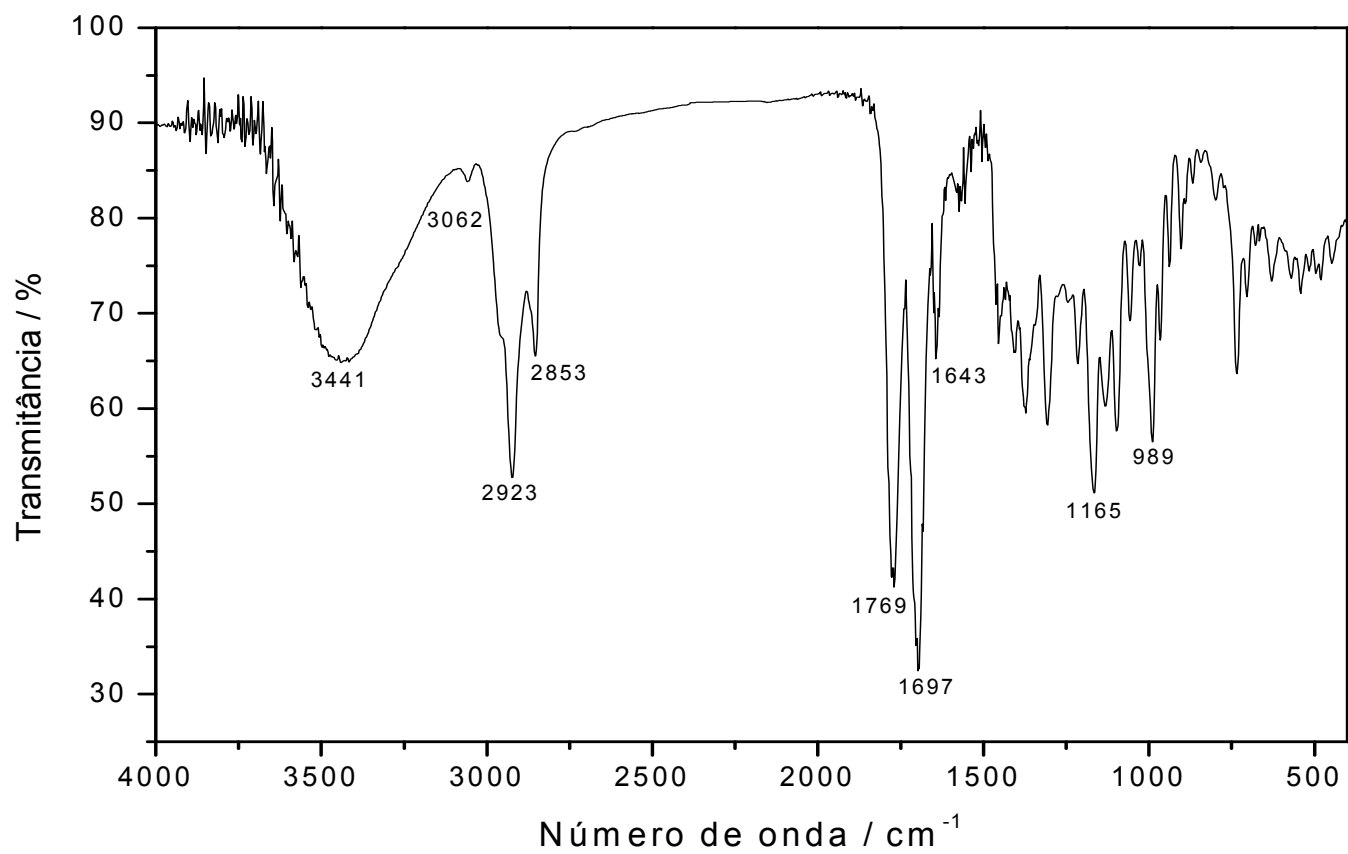


Figura A59- Espectro no infravermelho do composto [23].

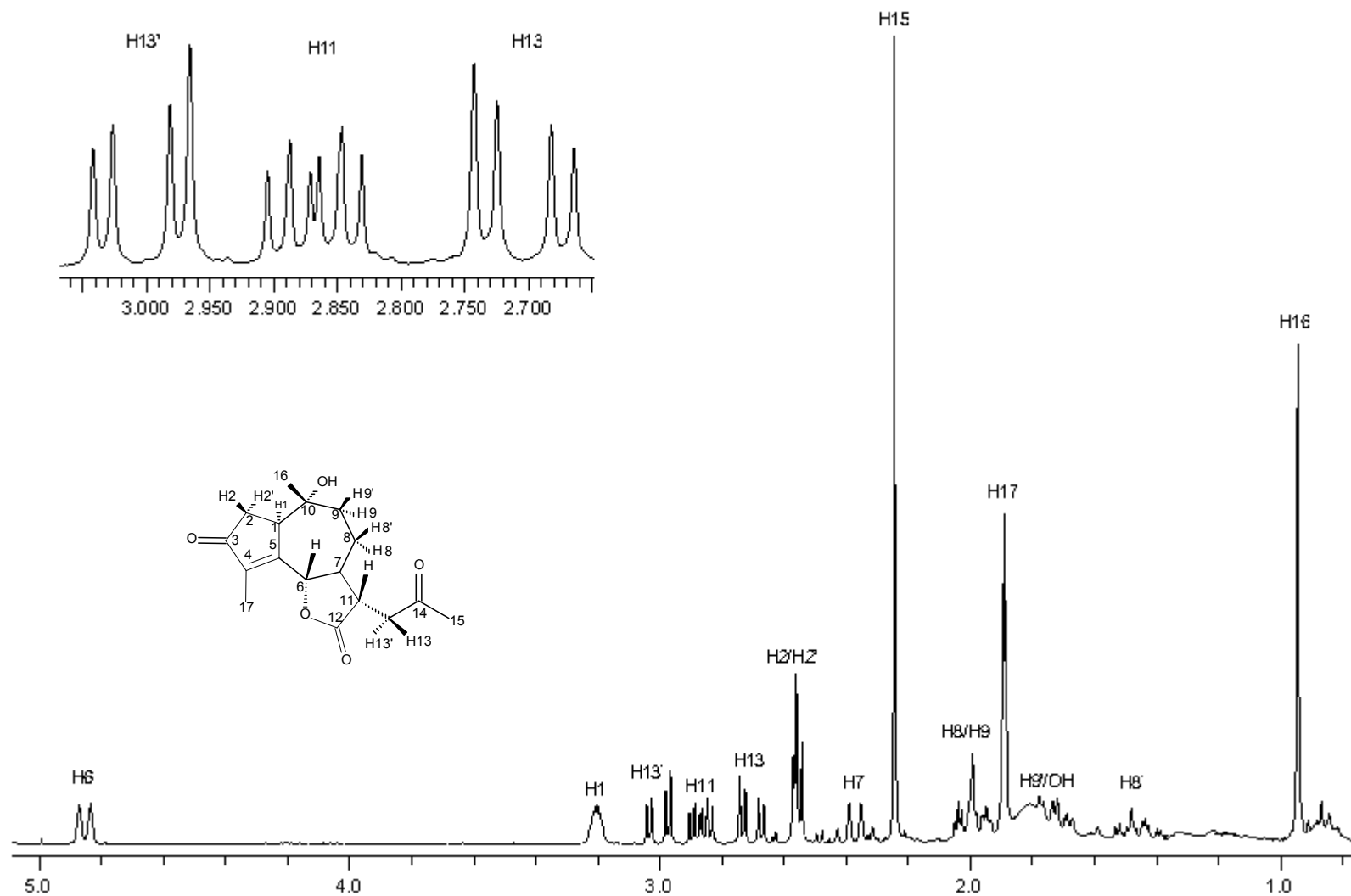


Figura A60- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [23].

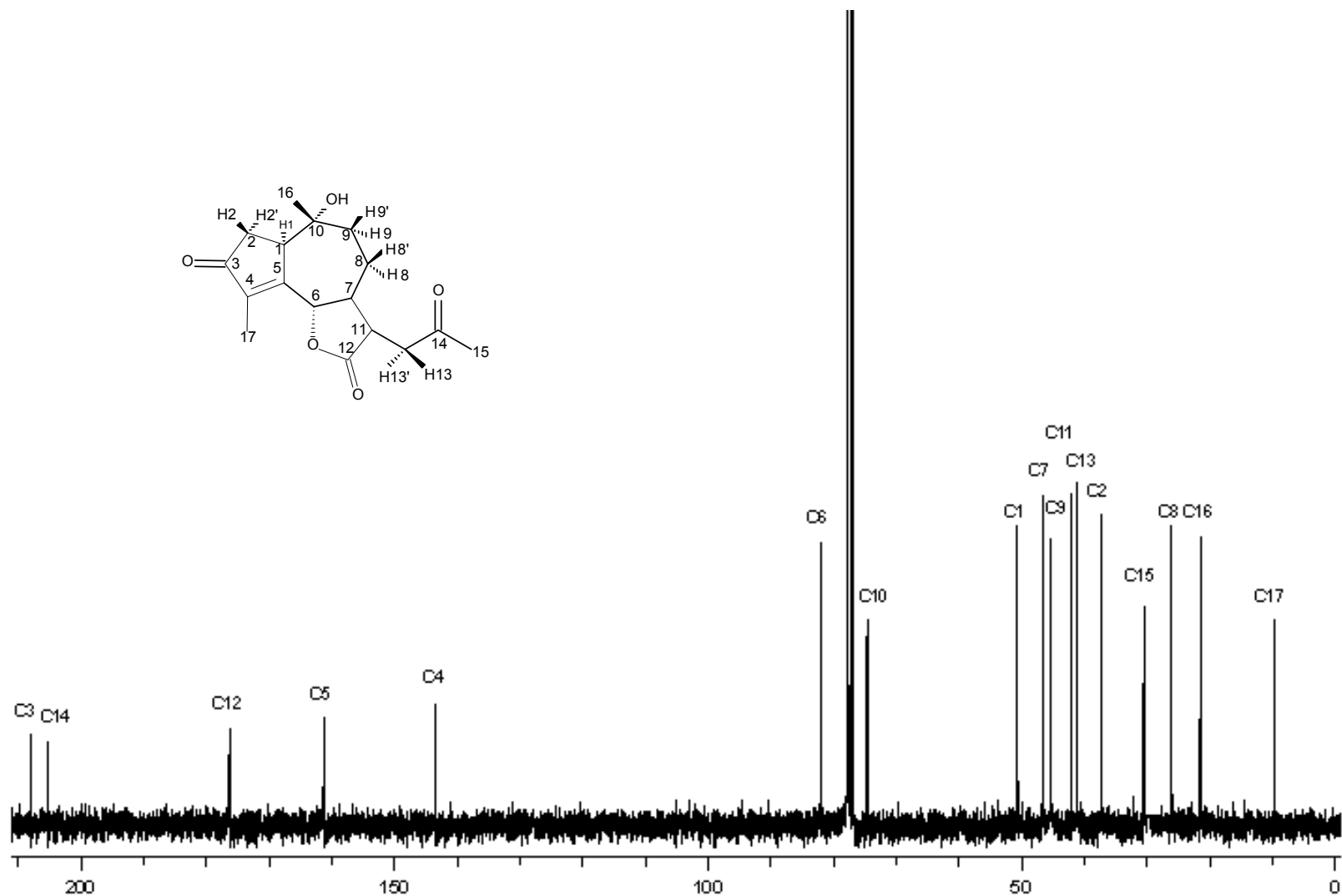


Figura A61- Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [23].

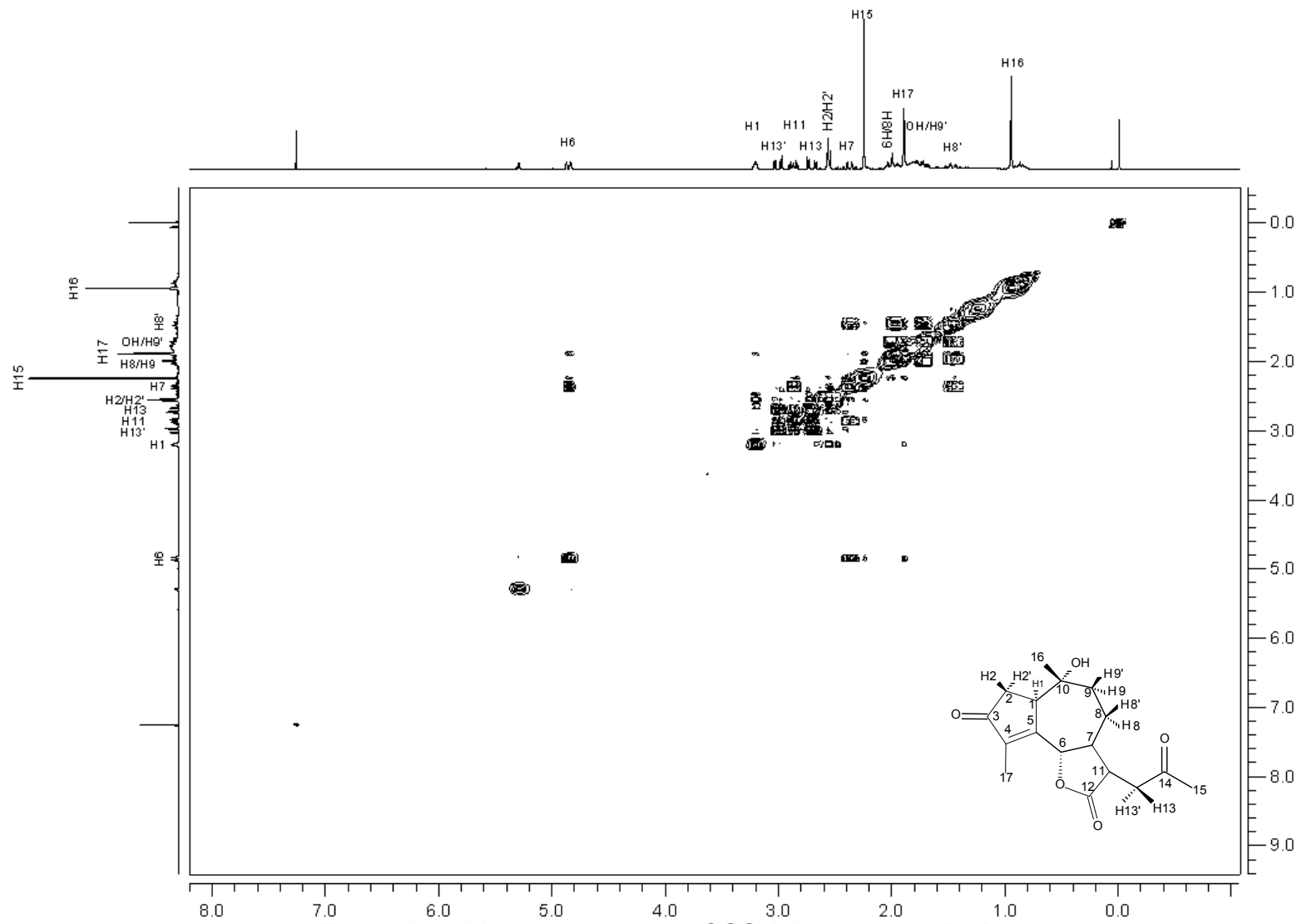


Figura A62- Mapa de contornos COSY do composto [23].

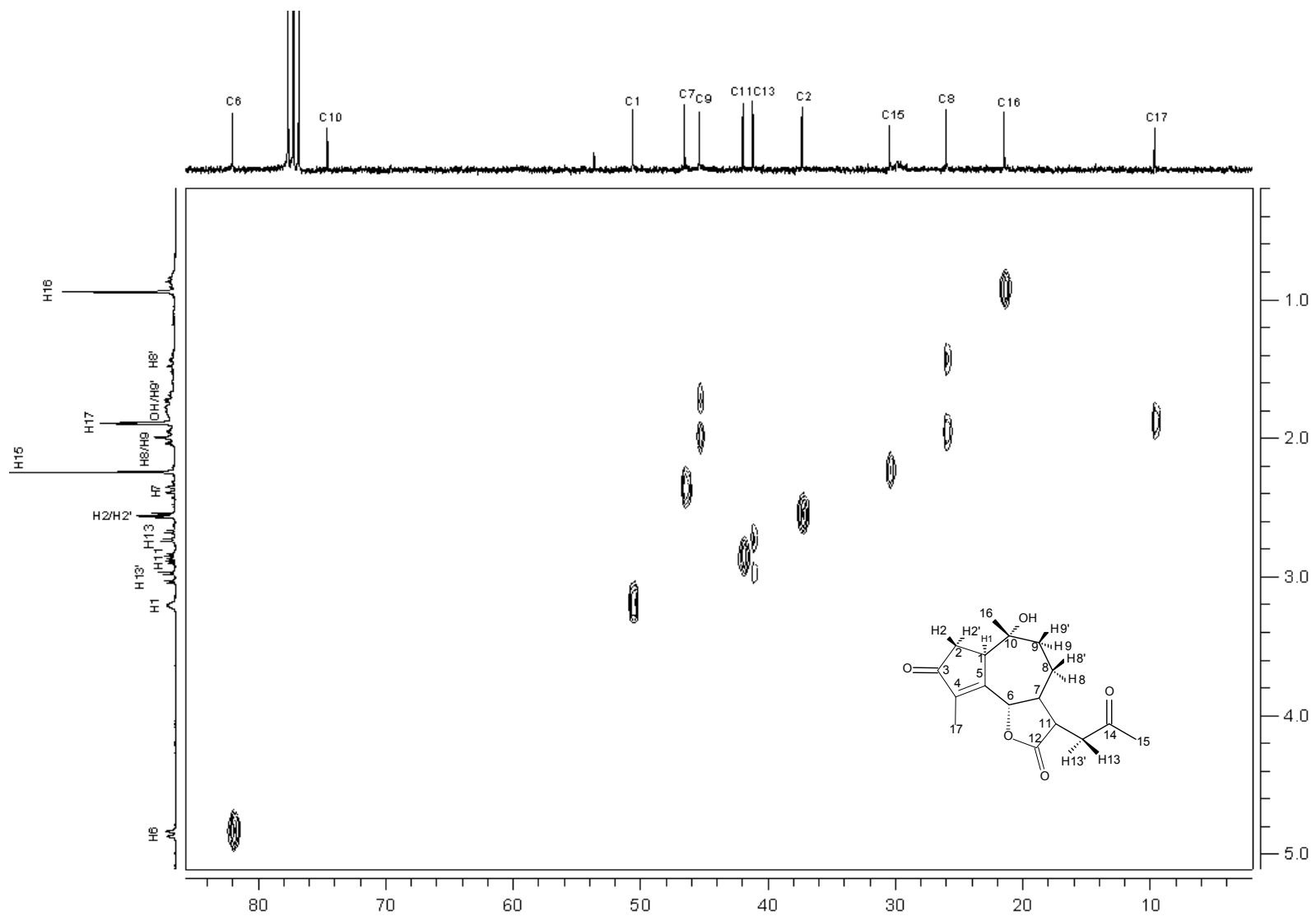


Figura A63- Mapa de contornos HETCOR do composto [23].

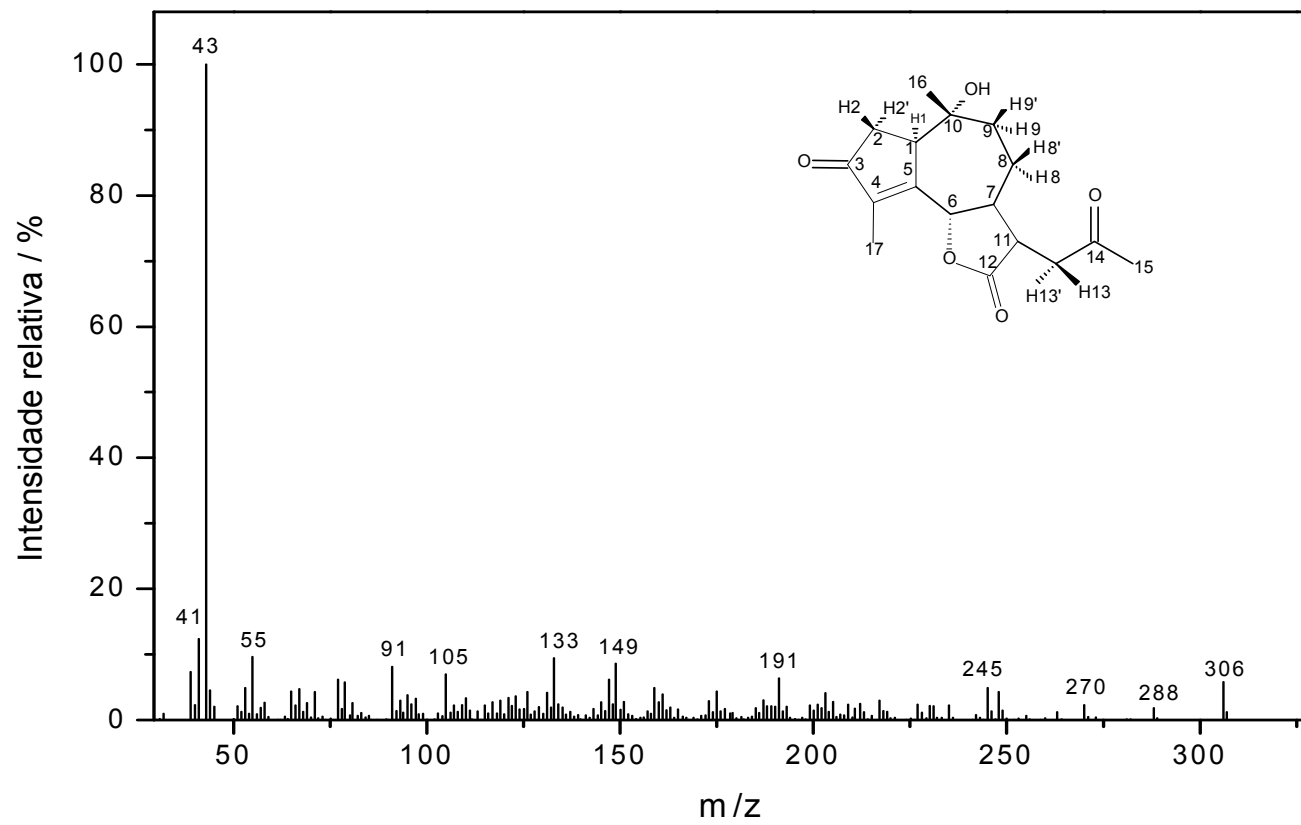


Figura A64- Espectro de massas do composto [23].

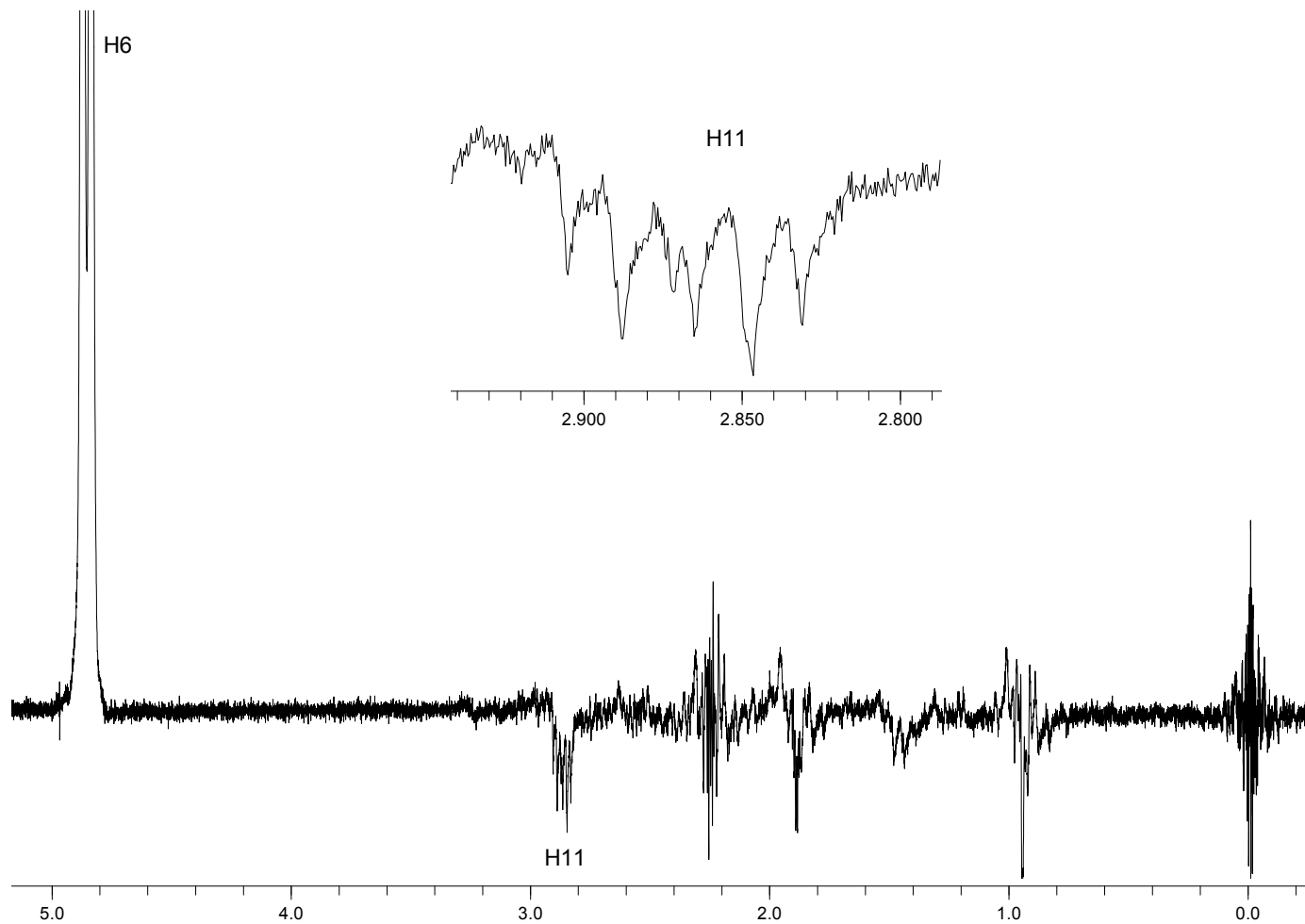


Figura A65- Espectro NOEDIFF do composto [23].

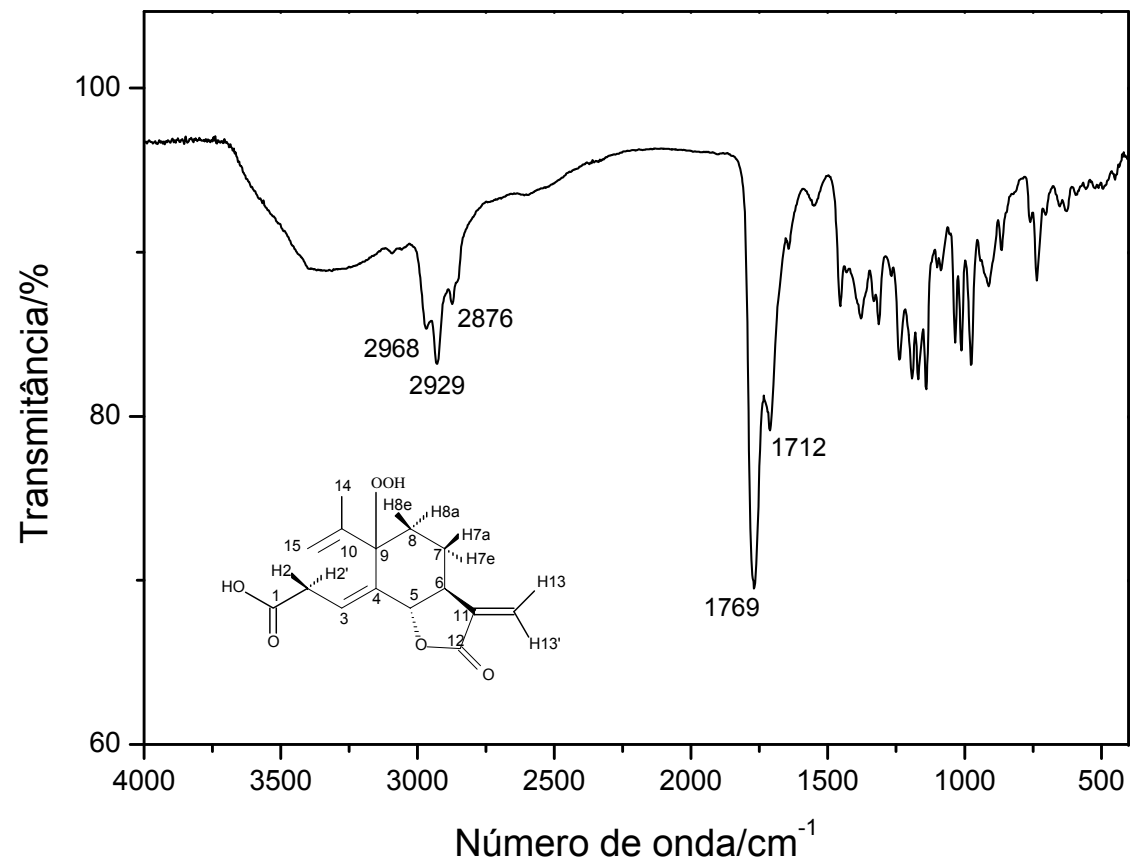


Figura A66: Espectro no infravermelho (IV) do composto [28]

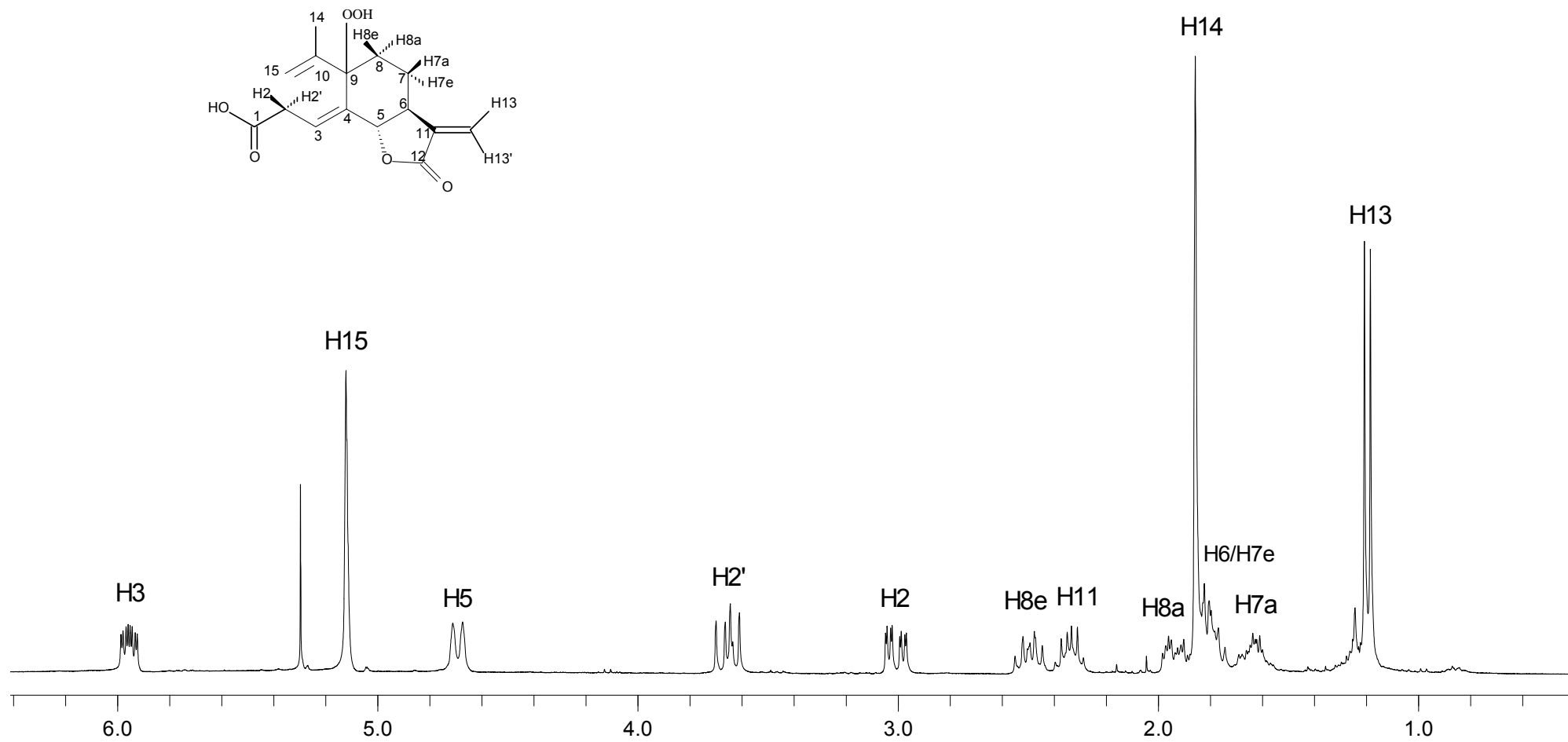


Figura A67: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [28]

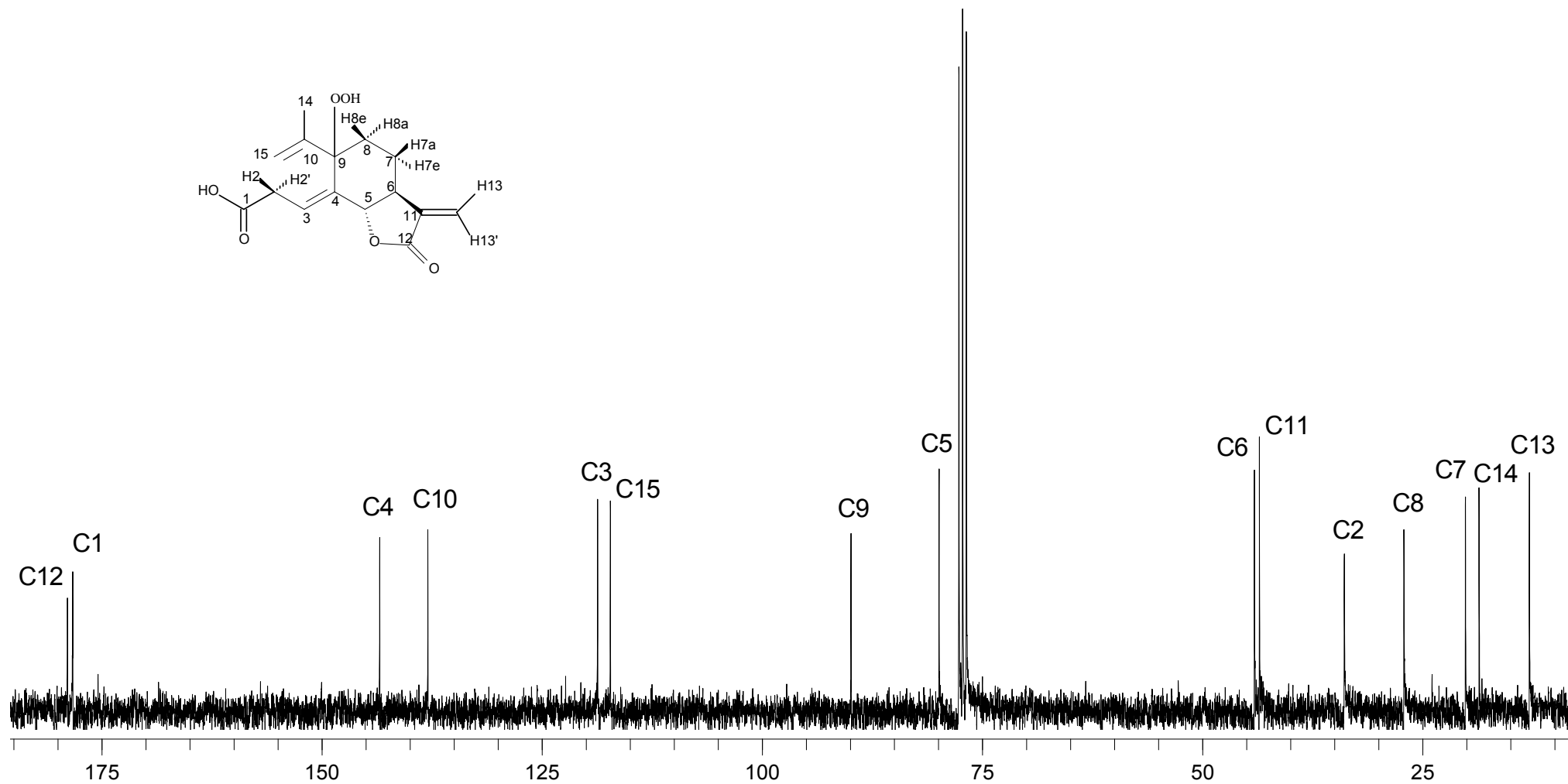
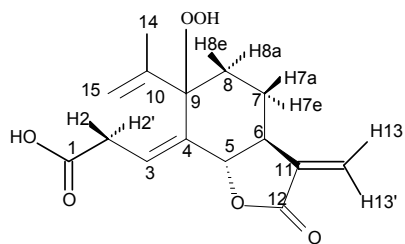


Figura A68: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [28]

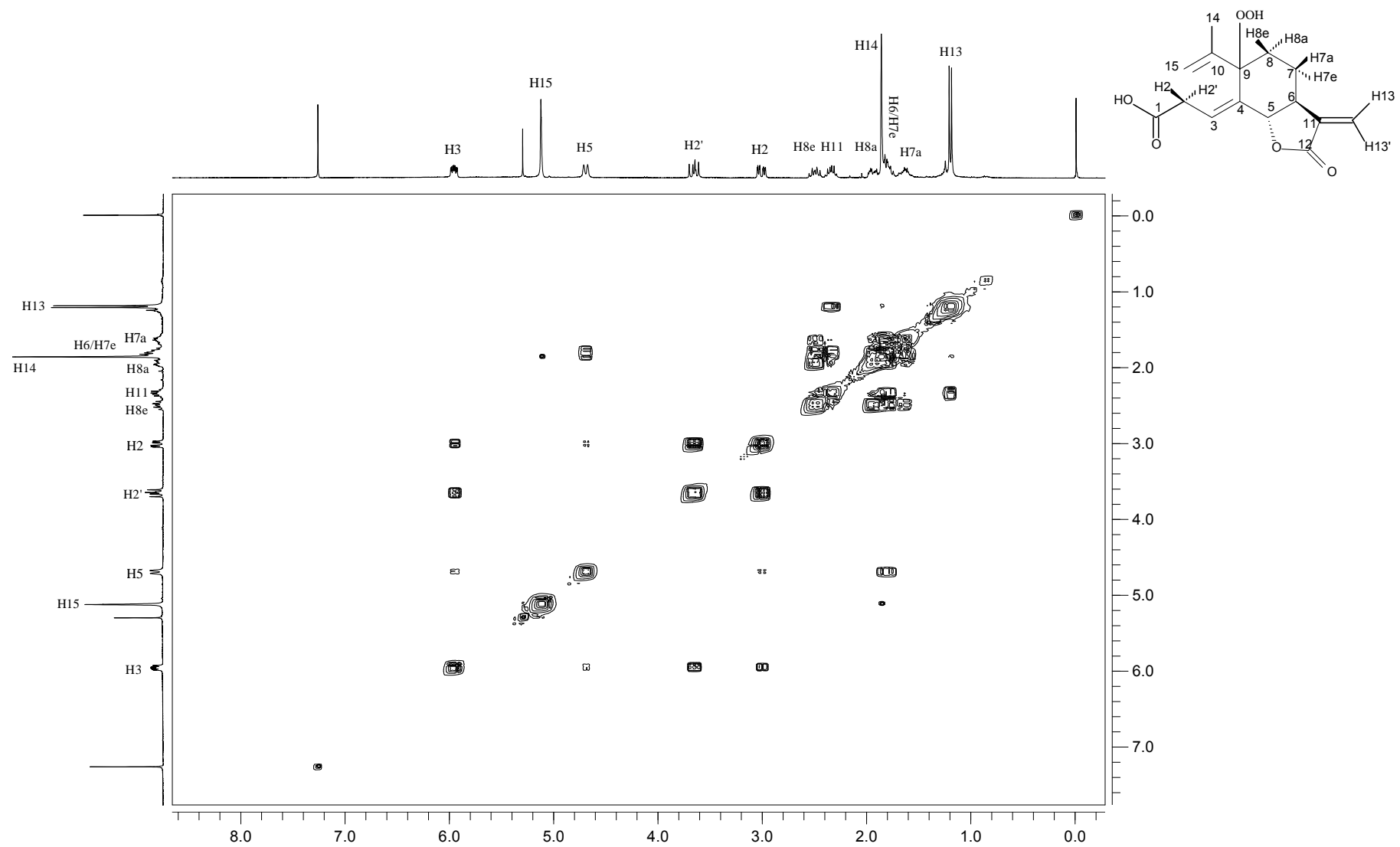


Figura A69: Mapa de contornos COSY do composto [28]

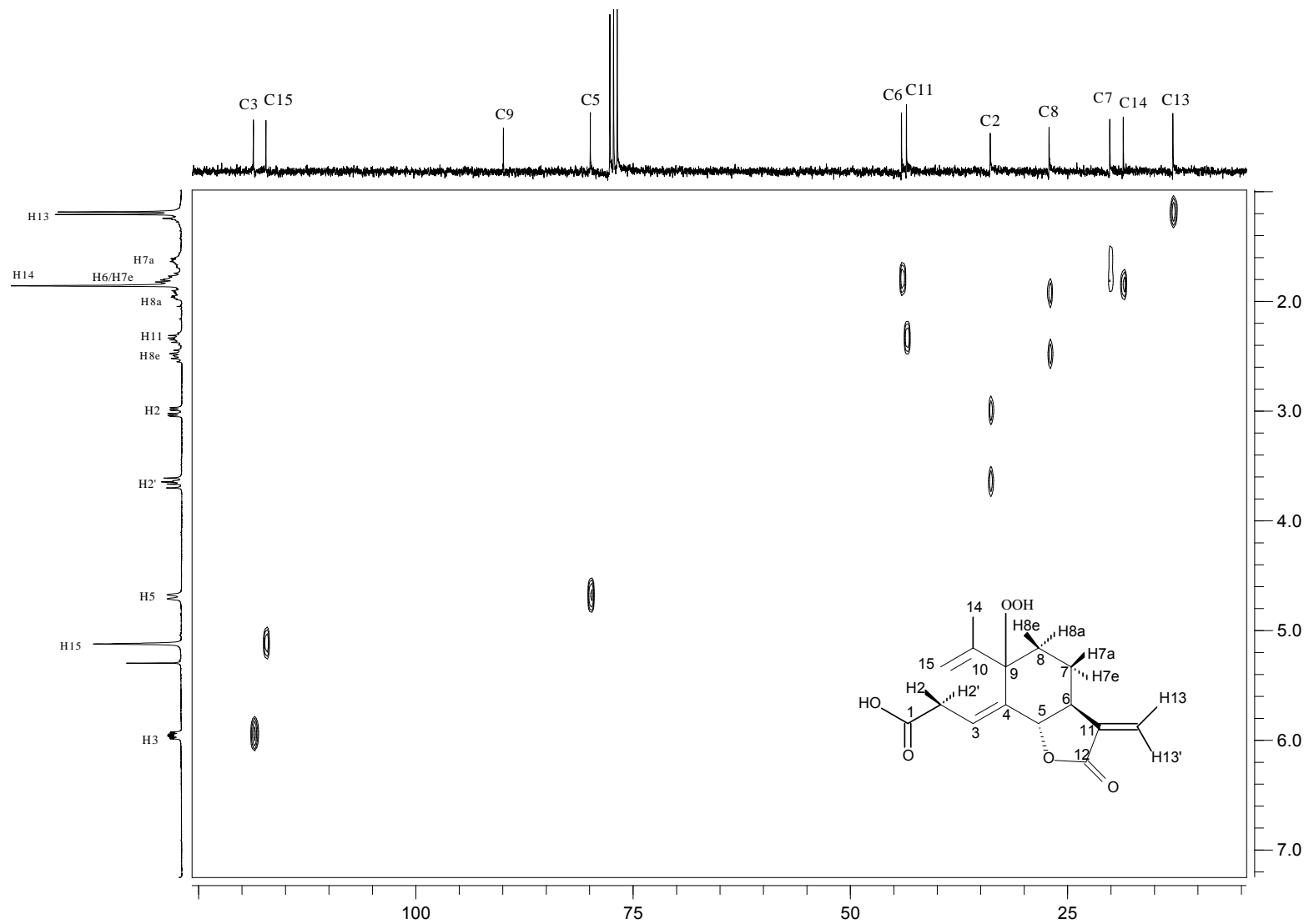


Figura A69: Mapa de contornos HETCOR do composto [28]

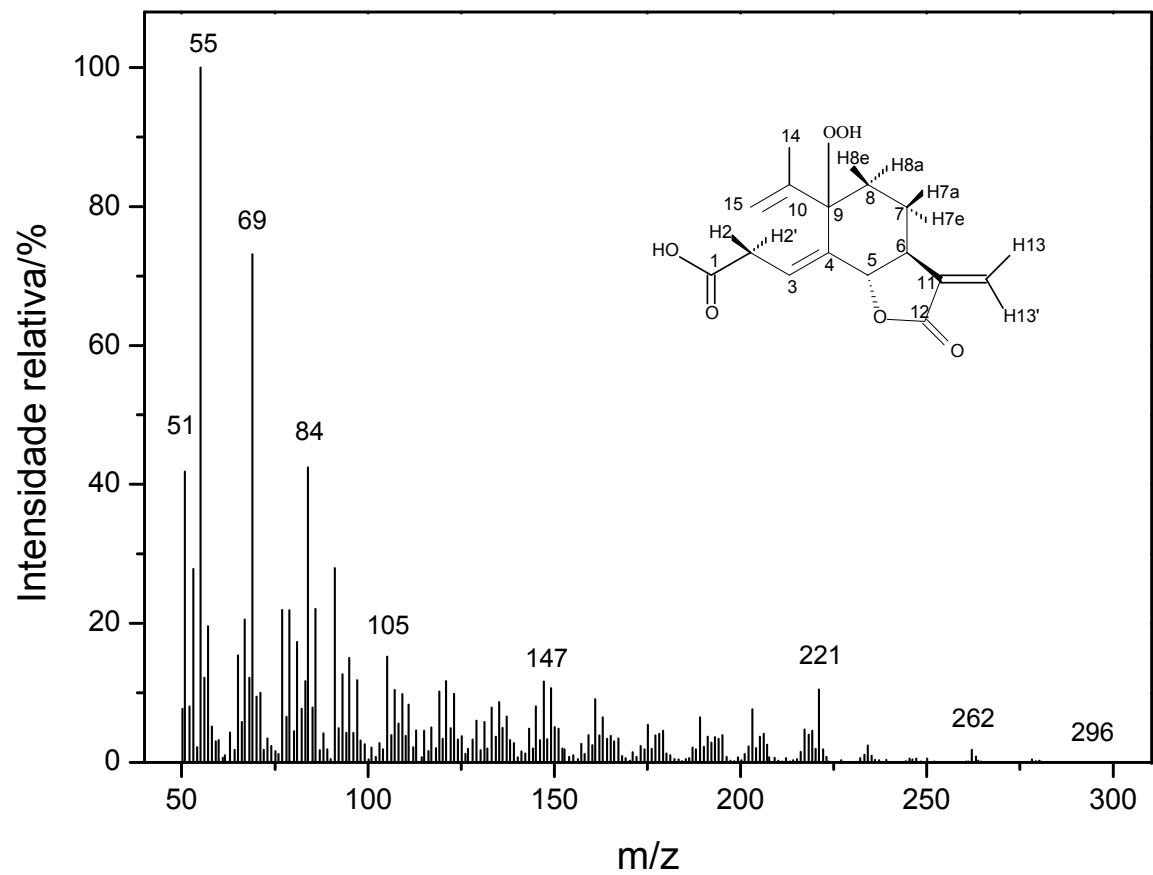


Figura A70: Espectro de massas do composto [28]