

SIMONE AUGUSTO SILVA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICÂNCER DE NOVAS
AMIDAS DERIVADAS DO ÁCIDO FOTOSSANTÔNICO**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

S586s
2013

Silva, Simone Augusto, 1987-
Síntese e avaliação da atividade anticâncer de novas amidas
derivadas do ácido fotossantônico / Simone Augusto Silva. –
Viçosa, MG, 2013.
xviii, 158 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Elson Santiago de Alvarenga.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 79-82.

1. Amidas. 2. Câncer - Tratamento - Pesquisa. 3. Ácido
fotossantônico. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Química. Programa de Pós-Graduação em Agroquímica.
II. Título.

CDD 22. ed. 547.042

SIMONE AUGUSTO SILVA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICÂNCER DE NOVAS
AMIDAS DERIVADAS DO ÁCIDO FOTOSSANTÔNICO**

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

Aprovada: 16 de Agosto de 2013

Prof. Róbson Ricardo Teixeira

Prof^a. Célia Regina Álvares Maltha
(Coorientadora)

Prof. Gaspar Diaz Muñoz

Prof. Gustavo Costa Bressan

Prof. Elson Santiago de Alvarenga
(Orientador)

“Nosso destino não está escrito nas estrelas, mas em nós mesmos”. (William Shakespeare)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por conduzir meus passos em todos os momentos da vida. É a certeza da Sua presença que me faz sonhar, acreditar no amanhã e prosseguir nessa aventura que é viver.

A minha mãe Maria das Graças (Graça), que compartilhou das minhas alegrias e angústias, sempre acreditando no meu sucesso mesmo quando nem eu acreditava.

A minha irmã Jana, minha fiel escudeira e a meu cunhadinho que tanto amo, por todo o apoio e, em especial, por todas as viagens fora de hora ao longo de todos esses anos de UFV. Obrigada por fazerem parte da minha vida!

A nossa menininha Elisa (Lili), que mesmo antes de nascer já ocupa um espaço gigante no meu coração. Que o mundo possa ser um lugar melhor pra você florzinha!

Ao meu irmão Alex, meus avós, parentes e amigos de Castelo, que acompanharam essa trajetória e sempre torceram pelo meu sucesso.

Ao professor Elson Santiago de Alvarenga pela amizade, paciência e por toda a sabedoria que sempre com muita generosidade me foi compartilhada ao longo desses anos.

Aos meus queridos “irmãos do laboratório” Juran, Suélen (composto 31), Fran, Alex, Milena e Kariny, por fazer do laboratório um ambiente familiar.

À Gabi, Fernanda e Nath, que não mediram esforços para me ajudar ao longo desse trabalho e, principalmente, na reta final. Serei eternamente grata!

À Sam, Ane, Débora, Nath, Denise, Giovanna, Núbia, Ediane, amigas da república ou do alojamento. Sem dúvida, conviver com vocês me tornou uma pessoa um pouquinho melhor!

Aos amigos de Viçosa, em especial à Lourdes e aos membros da Pequena Via, por todo o aprendizado e pela oportunidade de conhecer um pouquinho mais sobre Santa Teresinha e seus lindos ensinamentos.

Aos amigos do LASA e do antigo LABQUIL, em especial a Emiliana, Jodieh, Antônio, Johana e Magaly pela boa convivência e por todos os bons momentos compartilhados.

Aos amigos da QUI 2007, em especial à Angélica e Cyntia pelos bons e maus momentos compartilhados.

Ao Departamento de Química, ao LASA, ao professor Demunner e aos técnicos (Onesina, Cristiane, José Luiz e Márcio) pelo excelente serviço prestado.

Ao estudante Raoni, pela cooperação na realização dos ensaios de atividade anticâncer e ao professor Gustavo Bressan pelo espaço cedido e por todo o suporte oferecido durante a realização do trabalho.

Aos membros da banca, os professores Célia, Gustavo, Róbson e Gaspar, pela disponibilidade e por todas as sugestões apresentadas.

À Universidade Federal de Viçosa pelo espaço e oportunidade de realizar esse trabalho e ao CNPq e CAPES pelo financiamento.

A todos que contribuíram para a realização desse trabalho e que, por algum motivo os nomes não foram lembrados, o meu muito obrigada!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ESQUEMAS	xiv
LISTA DE GRÁFICOS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS	xvi
RESUMO	xviii
ABSTRACT	xix
CAPÍTULO 1: SÍNTESE DE DERIVADOS DO ÁCIDO FOTOSSANTÔNICO	
1.1 INTRODUÇÃO	1
1.1.1 Produtos naturais como modelos para obtenção de novos compostos bioativos	1
1.1.2 Lactonas sesquiterpênicas	3
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	7
1.2.1 Técnicas experimentais	7
1.2.1.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	7
1.2.1.2 Cromatografia em coluna	7
1.2.2 Caracterização das substâncias	7
1.2.2.1 Espectrometria no Infravermelho	7
1.2.2.2 Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN)	7
1.2.2.3 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas	7
1.2.2.4 Temperatura de fusão	8
1.2.3 Tratamento de solventes	8
1.2.3.1 Tratamento do diclorometano	8
1.2.4 Procedimentos de síntese.....	9
1.2.4.1 Síntese fotoquímica do ácido fotossantônico [17]	9
1.2.4.2 Obtenção <i>in situ</i> do cloreto de ácido do ácido fotossantônico [17]	10
1.2.4.3 Síntese dos compostos [18-35]	11
1.2.5 Dados referentes aos compostos [18-35]	12

1.2.5.1 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(metilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [18].....	12
1.2.5.2 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(etilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [19].....	13
1.2.5.3 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(propilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [20].....	14
1.2.5.4 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(butilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [21].....	15
1.2.5.5 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(pentilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [22].....	17
1.2.5.6 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(hexilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [23].....	18
1.2.5.7 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(isopropilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [24].....	19
1.2.5.8 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(isobutilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [25].....	20
1.2.5.9 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(cicloexillamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [26].....	22
1.2.5.10 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(fenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [27].....	23
1.2.5.11 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(4'-bromofenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [28].....	24
1.2.5.12 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(4'-clorofenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [29].....	26
1.2.5.13 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(2'-clorofenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [30].....	27
1.2.5.14 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(2',5'-dimetoxifenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [31].....	28
1.2.5.15 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(4'-metilfenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [32].....	30

1.2.5.16 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(benzilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [33].....	31
1.2.5.17 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(4'-benzilpiperidin-1'-amino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [34].....	32
1.2.5.18 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(2'-(pirrolidinil)etilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [35].....	34
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
1.3.1 Síntese fotoquímica do ácido fotossantônico [17].....	37
1.3.2 Síntese dos compostos [18-35].....	43
1.3.2.1 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(2'-clorofenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [30].....	51
1.3.2.2 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(metilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno) hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [18].....	54
1.3.2.3 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(etilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno) hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [19].....	57
1.3.2.4 Características similares nos espectros no Infravermelho, RMN de ¹³ C e ¹ H dos compostos [18-35].....	59
1.4 CONCLUSÕES	69
 CAPÍTULO 2: ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTICÂNCER	
2.1. INTRODUÇÃO	70
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	72
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
2.4. CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
ANEXOS	83

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Estrutura química da quinina [1], atropina [2], colchicina [3] e morfina [4]...	2
Figura 2: Estrutura da azadiractina [5] e da rotenona [6].....	3
Figura 3: Exemplos de lactonas sesquiterpênicas bioativas	4
Figura 4: Estrutura de alguns derivados da α -santonina [12].....	5
Figura 5: Esquema das etapas e aminas utilizadas nas reações de síntese dos compostos [18-35].....	6
Figura 6: Diferença nos estiramentos C=O de um ácido carboxílico saturado não-dimerizado e dimerizado por ligações de hidrogênio.....	39
Figura 7: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [17].....	39
Figura 8: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do ácido fotossantônico [17].....	40
Figura 9: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do ácido fotossantônico [17].....	41
Figura 10: Espectro de massas do ácido fotossantônico [17].....	42
Figura 11: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [30].....	45
Figura 12: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [30].....	46
Figura 13: Relação de Karplus – variação aproximada do acoplamento ^3J ($\text{H}_x\text{-C-C-H}_y$) com o ângulo diedro (φ).....	47
Figura 14: (I) - representação espacial para o composto [30]. (II) - rotação na estrutura de [30] com destaque para os hidrogênios H6 (vermelho), H7a (azul claro), H7e (verde), H8a (rosa) e H8e (azul).....	48
Figura 15: Acoplamentos envolvendo os hidrogênios H6, H7a, H7e, H8a e H8e e valores aproximados para o ângulo diedro esperado.....	49
Figura 16: Representação para o desdobramento do sinal em δ 1,40.....	50
Figura 17: Mapa de contornos COSY para o composto [30].....	51
Figura 18: Mapa de contornos HETCOR do composto [30].....	52
Figura 19: Espectro de massas do composto [30].....	53
Figura 20: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [18].....	54
Figura 21: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [18].....	55
Figura 22: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [18].....	56
Figura 23: Espectro de massas do composto [18].....	56
Figura 24: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [19].....	57

Figura 25: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [19].....	58
Figura 26: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [19].....	59
Figura 27: Espectros no IV (pastilha de KBr) para os compostos [17] e [22].....	60
Figura 28: Princípios ativos de alguns fármacos comerciais anticâncer.....	71
Figura 29: Compostos [12], [17] e [18-35] avaliados no bioensaio de atividade anticâncer.....	72
Figura 30: Estrutura do MTT e da espécie reduzida formazan.....	73
Figura 31 - Perfil dose-resposta do composto [31] e do fármaco comercial (VP16) na viabilidade de células Jurkat, tratadas por 48 h com quantidades crescentes desse composto.....	77
Figura 32: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [20].....	84
Figura 33: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [20].....	85
Figura 34: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [20].....	86
Figura 35: Mapa de contornos COSY do composto [20].....	87
Figura 36: Espectro de massas do composto [20].....	88
Figura 37: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [21].....	89
Figura 38: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [21].....	90
Figura 39: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [21].....	91
Figura 40: Mapa de contornos COSY do composto [21].....	92
Figura 41: Espectro de massas do composto [21].....	93
Figura 42: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [22].....	94
Figura 43: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [22].....	95
Figura 44: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [22].....	96
Figura 45: Mapa de contornos COSY do composto [22].....	97
Figura 46: Espectro de massas do composto [22].....	98
Figura 47: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [23].....	99
Figura 48: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [23].....	100
Figura 49: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [23].....	101
Figura 50: Mapa de contornos COSY do composto [23].....	102
Figura 51: Espectro de massas do composto [23].....	103
Figura 52: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [24].....	104
Figura 53: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [24].....	105
Figura 54: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [24].....	106

Figura 55: Mapa de contornos COSY do composto [24].....	107
Figura 56: Espectro de massas do composto [24].....	107
Figura 57: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [25].....	109
Figura 58: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [25].....	110
Figura 59: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [25].....	111
Figura 60: Mapa de contornos COSY do composto [25].....	112
Figura 61: Espectro de massas do composto [25].....	113
Figura 62: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [26].....	114
Figura 63: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [26].....	115
Figura 64: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [26].....	116
Figura 65: Mapa de contornos COSY do composto [26].....	117
Figura 66: Espectro de massas do composto [26].....	118
Figura 67: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [27].....	119
Figura 68: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [27].....	120
Figura 69: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) para o composto [27].....	121
Figura 70: Mapa de contornos COSY do composto [27].....	122
Figura 71: Espectro de massas do composto [27].....	123
Figura 72: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [28].....	124
Figura 73: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [28].....	125
Figura 74: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [28].....	126
Figura 75: Mapa de contornos COSY do composto [28].....	127
Figura 76: Espectro de massas do composto [28].....	128
Figura 77: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [29].....	129
Figura 78: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [29].....	130
Figura 79: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [29].....	131
Figura 80: Mapa de contornos COSY do composto [29].....	132
Figura 81: Espectro de massas do composto [29].....	133
Figura 82: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [31].....	134
Figura 83: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [31].....	135
Figura 84: Espectro de RMN ¹³ C (300 MHz, CDCl ₃) do composto [31].....	136
Figura 85: Mapa de contornos COSY do composto [31].....	137
Figura 86: Espectro de massas do composto [31].....	138

Figura 87: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [32].....	139
Figura 88: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [32].....	140
Figura 89: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [32].....	141
Figura 90: Mapa de contornos COSY do composto [32].....	142
Figura 91: Espectro de massas do composto [32].....	143
Figura 92: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [33].....	144
Figura 93: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [33].....	145
Figura 94: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [33].....	146
Figura 95: Mapa de contornos COSY do composto [33].....	147
Figura 96: Espectro de massas do composto [33].....	148
Figura 97: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [34].....	149
Figura 98: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [34].....	150
Figura 99: Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do composto [34].....	151
Figura 100: Mapa de contornos HETCOR do composto [34].....	152
Figura 101: Espectro de massas do composto [34].....	153
Figura 102: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [35].....	154
Figura 103: Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto [35].....	155
Figura 104: Espectro de RMN ¹³ C (300 MHz, CDCl ₃) do composto [35].....	156
Figura 105: Mapa de contornos COSY do composto [35].....	157
Figura 106: Espectro de massas do composto [35].....	158

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Comparação entre os dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [17] obtidos nesse trabalho e os dados descritos na literatura.....	40
Tabela 2: Comparação entre os dados de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto [17] obtidos neste trabalho e os descritos na literatura	42
Tabela 3: Comparação entre os sinais de H6, H8a, H7e, H13, H14 e H15 atribuídos para o ácido fotossantônico [17] e para os compostos [18-35].....	62
Tabela 4: Comparação entre os sinais de H7a e H8e atribuídos para o ácido fotossantônico [17] e para os compostos [18-35].....	64
Tabela 5: Comparação entre os sinais de H3, H5 e H2a H2b atribuídos para o ácido fotossantônico [17] e para os compostos [18-35]	66
Tabela 6: Comparação entre os sinais dos carbonos (C1-C15) do composto [17] e dos compostos [18-35]	68
Tabela 7 – Efeito inibitório (%) dos compostos [12] e [17-35] sobre a viabilidade de células Jurkat após 48 h de tratamento (média \pm desvio padrão; n = 4).....	74

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1: Obtenção do ácido fotossantônico [17] a partir de [12].....	37
Esquema 2: Mecanismo de formação do ácido fotossantônico [17].....	38
Esquema 3: Mecanismo para a formação do cloreto de ácido pela reação de um ácido carboxílico e cloreto de oxalila.....	43
Esquema 4: Mecanismo de formação das amidas [18-35] pela reação do cloreto de ácido com a amina correspondente.	44
Esquema 5: Proposta de fragmentação para o composto [30].....	53

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1: Efeito inibitório (%) dos compostos [12] e [17-35] na concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre a viabilidade de células Jurkat após 48 h de tratamento.....	75
Gráfico 2: Efeito inibitório (%) dos compostos [12] e [17-35] na concentração de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre a viabilidade de células Jurkat após 48 h de tratamento.....	76
Gráfico 3: Efeito inibitório (%) dos compostos [12] e [17-35] na concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre a viabilidade de células Jurkat após 48 h de tratamento.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC	American Type Culture Collection
AP	Alta pressão
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG	Cromatografia gasosa
COSY	Correlated Spectroscopy
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
dddd	Duplo duplo duplo dupleto
dq	Duplo quarteto
δ	Deslocamento químico
EM	Espectrometria de massas
Ha	Hidrogênio na posição axial
He	Hidrogênio na posição equatorial
Hz	Hertz
HETCOR	Heteronuclear Chemical Shift Correlation
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
MHz	Megahertz
m	Multiplete
q	Quarteto
quint	Quinteto
RB	Reator de borossilicato
Rf	Fator de retenção
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RPMI	Roswell Park Memorial Institute
sext	Sexteto
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
Tf	Temperatura de fusão
v/v	Relação volume/volume

RESUMO

SILVA, Simone Augusto, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Agosto de 2013. **Síntese e avaliação da atividade anticâncer de novas amidas derivadas do ácido fotossantônico.** Orientador: Elson Santiago de Alvarenga. Coorientadores: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Célia Regina Álvares Maltha.

Os produtos naturais são fonte de compostos químicos com características variadas que, em alguns casos, vem sendo utilizados como modelos para a síntese de novas substâncias bioativas. Dessa forma, a primeira etapa do presente trabalho foi a conversão fotoquímica da α -santonina [12], uma lactona sesquiterpênica de origem natural, no ácido fotossantônico [17]. A transformação *in situ* do ácido [17] no respectivo cloreto de ácido com cloreto de oxalila possibilitou a utilização deste intermediário em reações de substituição nucleofílica pelo tratamento com diferentes aminas, resultando na síntese de 18 novos compostos [18-35] com rendimentos elevados para a maioria das amidas. Essas substâncias foram caracterizadas pela análise dos espectros no IV, RMN de ^1H e ^{13}C , experimentos bidimensionais COSY e HETCOR e por espectrometria de massas. As estruturas [12] e [17-35] tiveram a atividade anticâncer avaliada sobre a linhagem de células leucêmicas Jurkat. Na concentração de $100 \mu\text{molL}^{-1}$ foi possível constatar que as substâncias [17], [22], [26], [29], [30], [31], [32] e [34] foram as que mais inibiram a proliferação da linhagem de células testada. Com exceção do composto [31], que se manteve consideravelmente ativo mesmo na menor concentração avaliada, a diminuição da concentração proporcionou uma queda na atividade anticâncer desses compostos. Embora o valor obtido na determinação do IC_{50} para [31] tenha sido superior ao verificado para o fármaco comercial etoposídeo (VP-16), foi possível observar que a metodologia sintética utilizada foi favorável ao desenvolvimento de uma substância mais ativa que o precursor [17] sobre a inibição da proliferação da linhagem de células Jurkat. Esses resultados sugerem que a utilização de alguns produtos naturais como modelos em síntese orgânica é uma estratégia que possibilita a obtenção de derivados sintéticos mais ativos. Entretanto, são necessários novos estudos de atividade dos compostos sintetizados sobre outras linhagens de células objetivando um maior conhecimento do potencial anticâncer dos mesmos, assim como novos ensaios que possibilitem um maior conhecimento sobre o potencial biológico da nova classe de compostos sintetizada.

ABSTRACT

SILVA, Simone Augusto, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2013. **Synthesis and evaluation of anticancer activity of new amides derived from photossantonin acid.** Adviser: Elson Santiago de Alvarenga. Co-Advisers: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa and Célia Regina Álvares Maltha.

Natural products are a source of chemical compounds with different characteristics that in some cases has been used as models for the synthesis of new compounds with biological potential. Thus, the first step of this work was the photochemical conversion of α -santonin [12], a natural sesquiterpenic lactone, in photossantonin acid [17]. The transformation *in situ* of the acid [17] on the respective acid chloride by treatment with oxalyl chloride allowed the use of nucleophilic substitution with different amines, resulting in the synthesis of 18 novel compounds [18-35] with high yields for amides majority. The synthesized compounds were characterized by infrared, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy, two-dimensional experiments COSY/HETCOR and mass spectrometry. The compounds [12] and [17-35] have their anticancer activity evaluated on Jurkat leukemic cell line. Concentration of $100\ \mu\text{molL}^{-1}$ was established that the substances [17], [22], [26], [29], [30], [31], [32] e [34] were the most active on the inhibition of the proliferation of the tested cell line. Excepting to compound [31], which remained substantially active even at the lowest concentration evaluated, a decrease on concentration led to a decrease on the anticancer activity of the compounds. Although the value obtained on IC_{50} determination for the compound [31] was higher than for the commercial drug etoposide (VP-16), it was observed that the synthetic methodology used was favorable to the development of a substance more active than the precursor [17] on the inhibition of proliferation of the Jurkat cell line. These results suggest that the use of natural products as models in organic synthesis is a strategy that allows the obtaining of more active derivatives. However, additional studies of the activity of the synthesized compounds on other cell lines are necessary to gain further knowledge of the anticancer potential, as well as new tests that allow a better understanding of the biological potential of the new class of synthesized compounds.

CAPÍTULO 1

SÍNTESE DE DERIVADOS DO ÁCIDO FOTOSSANTÔNICO

1.1 INTRODUÇÃO

1.1.1 Produtos naturais como modelos para obtenção de novos compostos bioativos

A busca por inspiração na natureza com o intuito de desenvolver novos compostos bioativos é bastante recorrente, sejam eles empregados, por exemplo, como fármacos para a cura/controlar de doenças, herbicidas para o combate às plantas daninhas ou inseticidas que possibilitem o controle de pragas.

Tal escolha se deve a capacidade de alguns seres vivos produzirem uma ampla variedade de substâncias denominadas metabólitos secundários, algumas delas com elevado grau de complexidade estrutural. Nas plantas, por exemplo, a origem desses compostos está relacionada principalmente aos mecanismos de defesa e adaptação. Sob a ação de predadores, algumas substâncias são liberadas objetivando afastá-los; há também as que são liberadas para atrair polinizadores e garantir a manutenção e propagação das espécies (MONTANARI e BOLZANI, 2001).

A percepção do homem sobre a utilidade dos produtos naturais teve início com as primeiras civilizações, as quais utilizavam plantas para obtenção de chás com benefícios medicinais, essências aromatizantes e corantes empregados na pintura de cavernas e locais sagrados. O interesse por estes produtos se intensificou ao longo dos anos, principalmente com o desenvolvimento de técnicas favoráveis ao isolamento e caracterização desses compostos (VIEGAS, *et al.*, 2004).

Os primeiros estudos sistemáticos sobre plantas, desenvolvidos principalmente a partir do século XIX, permitiram isolar princípios ativos responsáveis pelas propriedades medicinais de algumas plantas e ervas, por exemplo, a quinina [1], a atropina [2], a colchicina [3] e a morfina [4]. Em 1826 teve início a comercialização da morfina [4] como o primeiro produto farmacêutico puro de origem natural (NEWMAN, *et al.*, 2000; MONTANARI e BOLZANI, 2001; BUTLER, 2004).

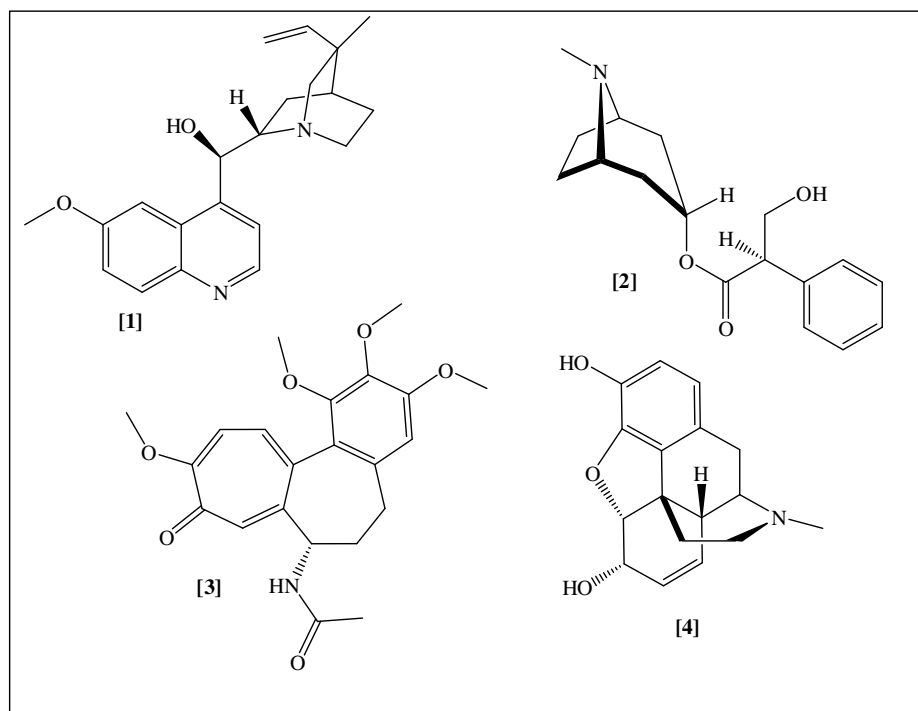


Figura 1: Estrutura química da quinina [1], atropina [2], colchicina [3] e morfina [4].

Tais descobertas impulsionaram o desenvolvimento de novas pesquisas relacionadas aos produtos naturais e, devido a enorme diversidade de plantas, um grande número de diferentes compostos puderam ser isolados e caracterizados. Dentre esses se encontra a azadiractina [5], isolada da planta *Azadirachta indica* em 1966. Esse composto apresenta relevante ação inseticida, sendo utilizado como princípio ativo em inseticidas comerciais para culturas de algodão, arroz, feijão, tomate, entre outras. Devido à complexidade, sua estrutura só foi corretamente elucidada em 1976. (MORGAN, 2009; NCPIM, 2013). A rotenona [6], que dentre outras plantas pode ser isolada da *Derris elliptica*, também é um produto natural comercializado devido as suas propriedades inseticidas (MANN e KAUFMAN, 2012).

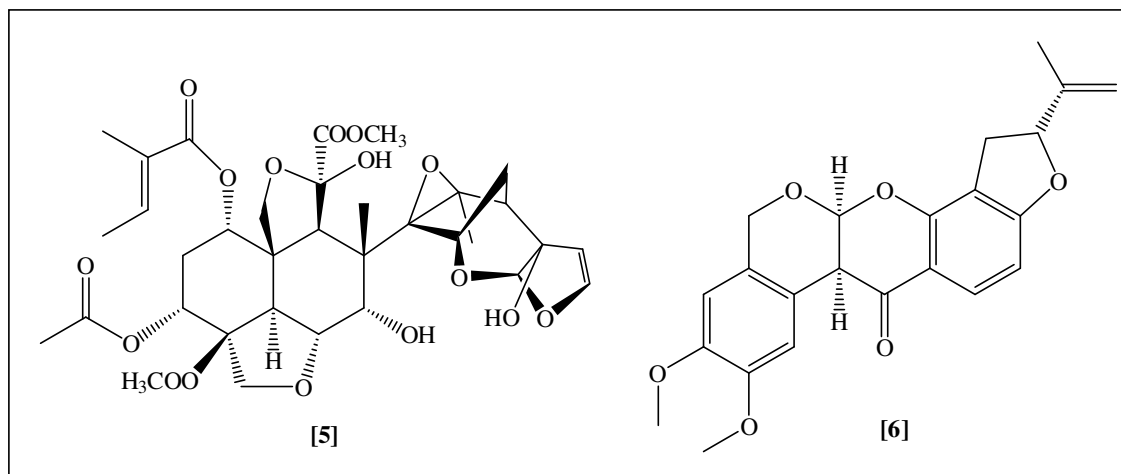


Figura 2: Estrutura da azadiractina [5] e da rotenona [6].

As atividades biológicas relevantes apresentadas pelos produtos naturais motivaram químicos orgânicos a desenvolverem rotas sintéticas para preparação dessas substâncias. Outros trabalhos sintéticos objetivaram a modificação estrutural dos compostos bioativos, a fim de produzir derivados ainda mais promissores.

1.1.2 Lactonas Sesquiterpênicas

Um grupo de compostos de ampla ocorrência em plantas são as lactonas sesquiterpênicas, presentes nas famílias *Acanthaceae*, *Anacardiaceae*, *Apiaceae*, *Euphorbiaceae*, *Lauraceae*, *Magnoliaceae* e *Menispermaceae*. Porém, a maior ocorrência de lactonas sesquiterpênicas é na família *Asteraceae*, contribuindo com cerca de 3000 dentre as mais de 7000 estruturas já descritas na literatura (MACÍAS *et al.*, 2006; CHATURVEDI, 2011). Diversas lactonas sesquiterpênicas naturais e sintéticas apresentaram atividade biológica. O costunolídeo [7], por exemplo, obtido de raízes de *Saussurea lappa*, apresentou atividade antiproliferativa nos testes contra câncer intestinal em ratos; a (+)-artemisinina [8], obtida da *Artemisia annua* exibiu atividade antimalárica; o 40-acetoximalacitanolideo [9] mostrou-se significativamente ativo contra fungos da espécie *Cladosporium cladosporioides*; o composto [10], um derivado sintético do produto natural glaucolídeo [11], inibiu fortemente a germinação da espécie dicotiledônea *Physalis ixocarpa*; (CHATURVEDI, 2011; ALVARENGA, 2009).

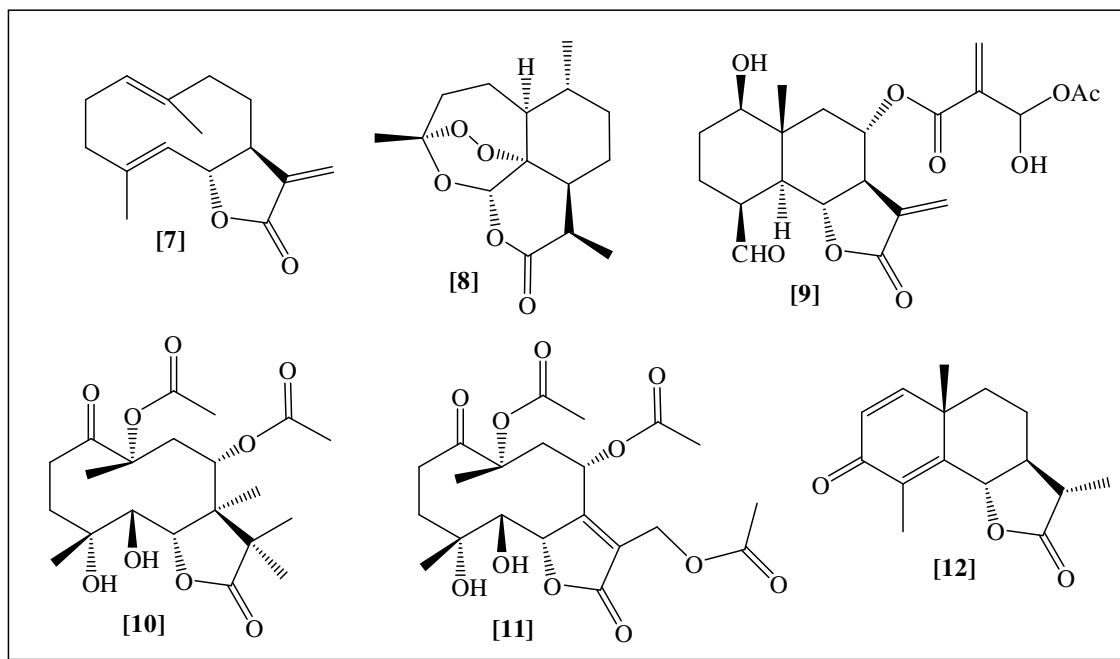


Figura 3: Exemplos de lactonas sesquiterpênicas bioativas.

A α -santonina [12] é uma lactona sesquiterpênica encontrada em diferentes espécies de *Artemisia* tais como, *Artemisia santonica*, *Artemisia absinthium* e *Artemisia maritima*. Essa lactona tem sido muito utilizada na medicina tradicional indiana e chinesa para o tratamento de dores nos nervos, inflamações e para o combate de vermes que acometem o intestino (SCHWARZ *et al.*, 2007). Testes *in vitro* contra a espécie *Trypanosoma brucei brucei* também revelaram que este composto apresenta atividade antitripanocida (OTOGURO *et al.*, 2011). Além disso, a α -santonina [12] também se mostrou ativa ao inibir a germinação de sementes de *Sinapis juncea* (mostarda) (PICMAN, 1986).

Devido a sua atividade biológica, disponibilidade comercial e características estruturais que favorecem modificações, α -santonina [12] vem sendo utilizada como material de partida em trabalhos de síntese orgânica. As estruturas [13-17] são exemplos de compostos obtidos a partir da α -santonina [12], quando esta é irradiada sob diferentes condições fotoquímicas (ANDO *et al.*, 1987; BLAY *et al.*, 1981; BLAY *et al.* 2004; ALVARENGA *et al.*, 2009; ARANTES *et al.*, 2009; ARANTES *et al.*, 2010; ALVARENGA *et al.*, 2011).

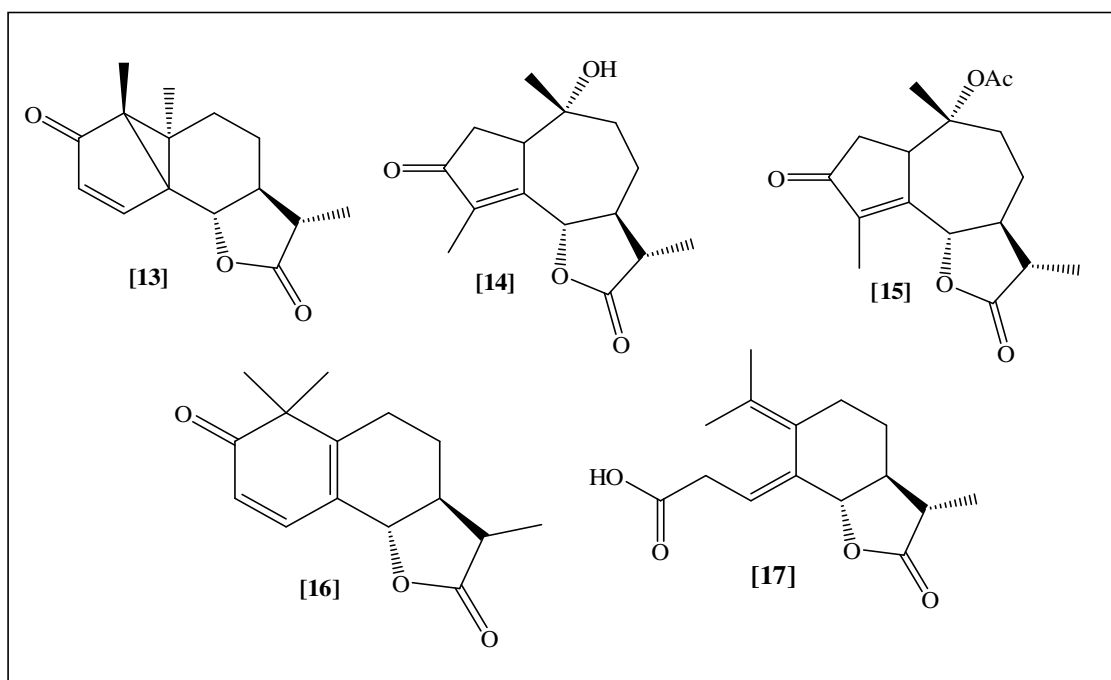


Figura 4: Estrutura de alguns derivados da α -santonina [12].

A irradiação da α -santonina [12] por lâmpadas de mercúrio de alta pressão em uma mistura de ácido acético e água resulta na formação dos compostos [14] e [17] como produtos principais. Embora o ácido fotossantônico [17] seja o produto majoritário nessa reação, há poucos relatos na literatura sobre a utilização desse composto na síntese de novas estruturas químicas com potencial bioativo. Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo a síntese de 18 amidas inéditas [18-35] derivados do ácido fotossantônico [17] bem como a avaliação do potencial desses compostos sobre a proliferação de células humanas Jurkat (leucemia).

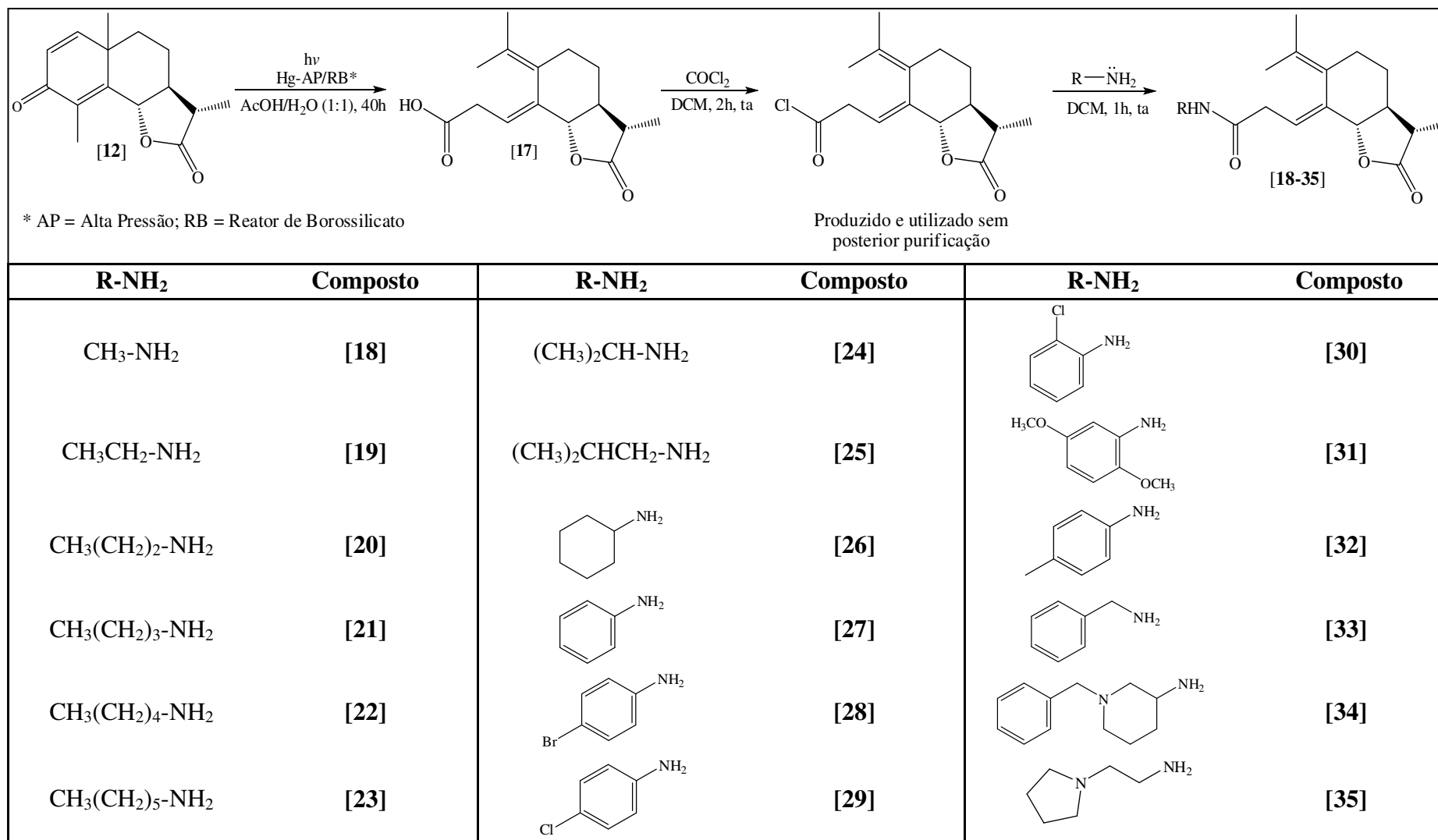


Figura 5: Esquema das etapas e aminas utilizadas nas reações de síntese dos compostos [18-35].

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Técnicas experimentais

1.2.1.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Nas análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas placas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio (WHATMAN AL/SIL G/UV254). Após a eluição, as placas foram observadas sob lâmpada ultravioleta ($\lambda = 254$ nm) e reveladas com solução de vanilina (500 mg em 50 mL de etanol e 2 mL de H₂SO₄ concentrado).

1.2.1.2 Cromatografia em coluna

As separações cromatográficas em coluna foram efetuadas utilizando-se sílica-gel (70-230 Mesh, SIGMA-ALDRICH). Os eluentes foram utilizados sem prévia purificação.

1.2.2 Caracterização das Substâncias

1.2.2.1 Espectroscopia no infravermelho

Os espectros de IV foram realizados com o espectrofotômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000 (Departamento de Química, UFV). As amostras foram analisadas sob a forma de pastilhas de KBr.

1.2.2.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H, 300 MHz) e de carbono (RMN de ¹³C, 75 MHz), foram obtidos em espectrômetro VARIAN MERCURY 300 MHz (Departamento de Química, UFV). Como solvente foi utilizado clorofórmio deuterado (CDCl₃), que também foi utilizado como padrão interno de referência (δ 7,25). As constantes de acoplamento escalar (*J*) foram expressas em Hertz (Hz).

1.2.2.3 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas

Os cromatogramas e espectros de massas foram obtidos nos equipamentos CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos

(LASA) e CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5000 do Laboratório de Química Supramolecular e Biomimética (LQSB) do Departamento de Química da UFV. As moléculas foram ionizadas por impacto de elétrons (IE) com energia de 70 eV ($6,75 \times 10^3 \text{ kJ mol}^{-1}$).

1.2.2.4 Temperatura de fusão

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302 MICROQUÍMICA, e os valores das faixas não foram corrigidos.

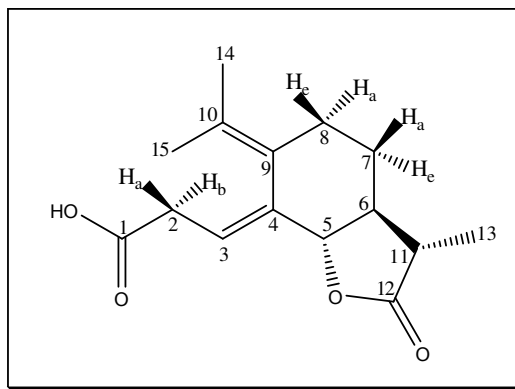
1.2.3 Tratamento de Solventes

1.2.3.1 Tratamento do diclorometano

Ao diclorometano utilizado nas reações foi adicionada peneira molecular 4Å e o frasco foi vedado e armazenado por 24 horas antes da sua utilização. (ARMAREGO e CHAI, 2003).

1.2.4 Procedimentos de Síntese

1.2.4.1 Síntese fotoquímica do ácido fotossantônico [17]



[17]

A um reator de borossilicato resfriado com água corrente adicionou-se α -santonina [12] (3,0 g; 12,2 mmol), 175 mL de ácido acético e 175 mL de água destilada. Borbulhou-se nitrogênio durante 30 minutos na mistura reacional que, em seguida, foi irradiada com duas lâmpadas de vapor de mercúrio de alta pressão (2 x 125 W) por 40 horas. Ao término da reação o solvente foi removido em evaporador rotatório sob vácuo (60 °C), obtendo-se um óleo amarelo. Esse óleo foi então submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel tendo como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila 2:1(v/v). O ácido fotossantônico [17] foi obtido como um sólido branco (1,60 g, 6,06 mmol) com rendimento de 50%.

Característica: sólido branco

CCD: R_f = 0,52 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v)

Recristalização: clorofórmio/pentano

Tf: 145,3 – 146,9 °C (**Tf literatura:** 145,8 – 147,0 °C; ARANTES, *et al.*, 2009).

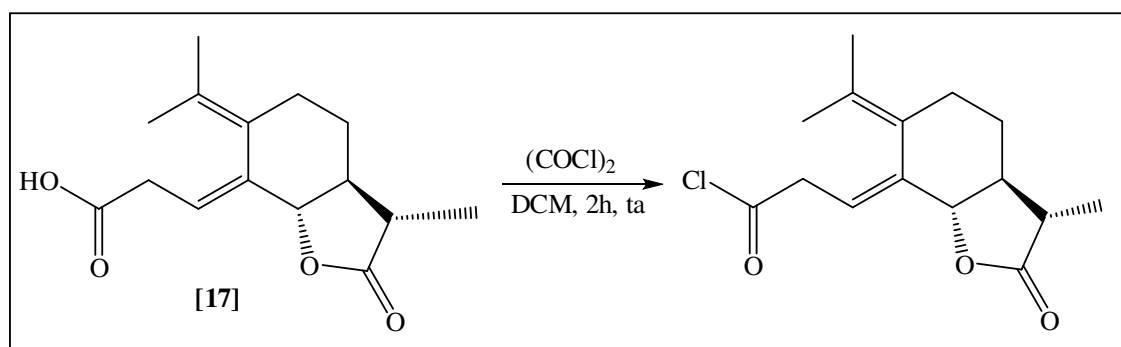
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3440 – 2500 (banda larga) ; 2985; 2933; 2881; 1781; 1723; 1648; 1456; 1382; 1252; 1143; 1004; 864; 730; 680; 513.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,21 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,31 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,4$; $J_{7a,8e} = 3,9$; H7a); 1,61 (d, 3H; $J_{14,8a} = 1,9$; H14); 1,75 (s, 3H, H15); 1,68-1,90 (m, 2H, H6 e H8a); 1,94-2,06 (m, 1H, H7e); 2,32 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$, H11); 2,82 (ddd, 1H, $J_{8e,8a} = 13,7$; $J_{8e,7a} = 3,9$; $J_{8e,7e} = 2,3$, H8e); 2,88-3,06 (m, 2H, H2a e H2b); 4,11 (dd, 1H, $J_{5,6} = 10,7$; $J_{5,3} = 1,5$, H5); 5,60-5,68 (m, 1H, H3).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,1 (C15); 22,3 (C14); 27,6 (C7); 30,5 (C8); 34,0 (C2); 42,4 (C11); 54,3 (C6); 83,5 (C5); 110,5 (C3); 127,7 (C9); 131,1 (C10); 140,3 (C4); 178,2 (C1); 178,9 (C12).

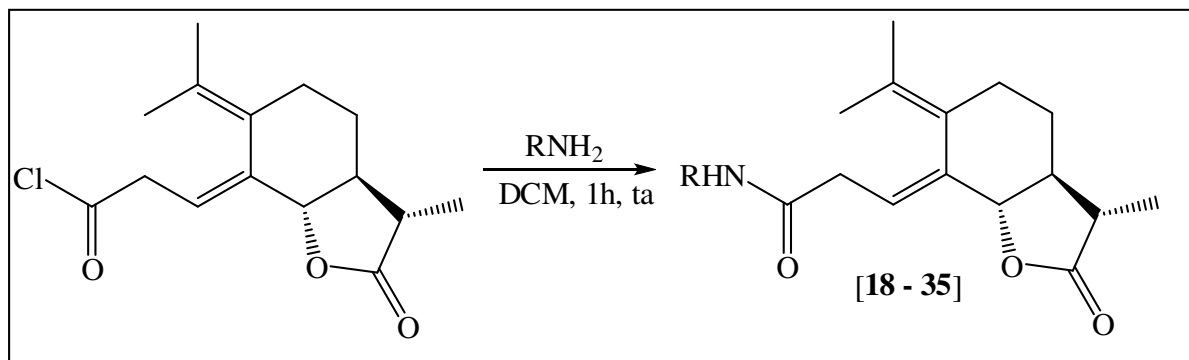
EM, m/z (%): 264 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$, 26); 246 (2); 236 (5); 218 (14); 203 (10); 191 (100); 175 (30); 163 (22); 145 (36); 131 (49); 119 (19); 105 (28); 91 (47); 77 (34); 69 (18); 55 (49); 41 (51).

1.2.4.2 Obtenção *in situ* do cloreto de ácido do ácido fotossantônico [17]



A um balão bitubulado (100 mL) e sob atmosfera de nitrogênio foram adicionados 300 mg (1,14 mmol) do ácido fotossantônico [17], 5 mL de diclorometano e, após a dissolução completa do ácido, foram então adicionados 245 μL (2,86 mmol) de cloreto de oxalila. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética por duas horas à temperatura ambiente e, após esse período, o solvente e o excesso de cloreto de oxalila foram removidos em evaporador rotatório sob vácuo a 30 °C, levando a obtenção do cloreto do ácido fotossantônico como um óleo alaranjado, que foi imediatamente utilizado na próxima etapa da rota sintética sem posterior purificação.

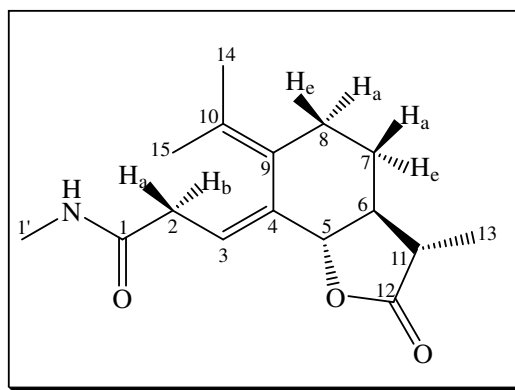
1.2.4.3 Síntese dos compostos [18 - 35]



Após remoção do solvente e do excesso de cloreto de oxalila na etapa de formação do cloreto de ácido, o óleo alaranjado resultante no balão foi redissolvido com 5 mL de diclorometano, mantendo-se em atmosfera inerte de nitrogênio. Foram então adicionados 2,86 mmol da amina correspondente e a reação foi mantida sob agitação magnética por uma hora. Terminada a reação, o solvente foi removido em evaporador rotatório sob vácuo à 30 °C e o produto bruto obtido foi então purificado em coluna de sílica-gel e repurificado por recristalização.

1.2.5 Dados Referentes aos Compostos [18-35]

1.2.5.1 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(metilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [18]



[18]

Característica: sólido branco

CCD: 0,47 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v)

Rendimento: 83%

Recristalização: clorofórmio/pentano

Tf: 157,3 – 158,4 °C

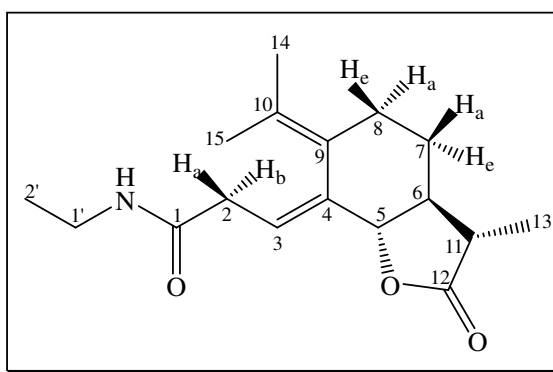
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3242; 3076; 2969; 2945; 2927; 2863; 1775; 1651; 1568; 1005; 841.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,20 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,32 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,5$; $J_{7a,8e} = 4,1$; H7a); 1,58-1,65 (s, 3H; H14); 1,73 (s, 3H, H15); 1,66-1,89 (m, 2H, H6 e H8a); 1,95-2,06 (m, 1H, H7e); 2,32 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,5$; $J_{11,13} = 6,8$, H11); 2,76 (d, 3H, $J_{1',\text{NH}} = 3,6$; H1'); 2,68-2,97 (m, 3H, H8e, H2a e H2b); 4,11 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$, H5); 5,56 (t, 1H, $J_{3,2ae\ 2b} = 6,9$; H3); 5,85 (sl, 1H, NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,2 (C15); 22,4 (C14); 26,6 (C1'); 27,6 (C7); 30,8 (C8); 36,3 (C2); 42,4 (C11); 54,5 (C6); 83,5 (C5); 111,3 (C3); 127,4 (C9); 131,4 (C10); 141,3 (C4); 171,9 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 277 (M^+ , $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_3$, 32); 259 (8); 249 (12); 234 (41); 218(21); 204 (46); 175 (44); 159 (26); 147 (59); 145 (100); 131 (99); 119 (27); 105 (43); 91 (59); 77 (36); 73 (69); 58 (70); 55 (65); 41 (61); 32 (63).

1.2.5.2 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(etilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [19]



[19]

Característica: sólido branco

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

Rendimento: 95%

Recristalização: tolueno/pentano

Tf: 88,0 – 89,0 °C

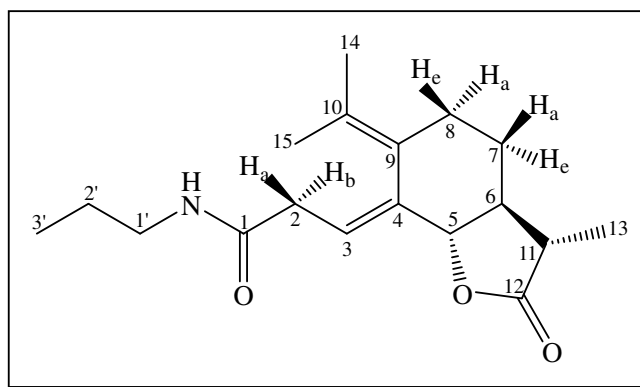
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3254; 3081; 2971; 2930; 2873; 1782, 1764, 1639; 1568; 1137; 1005; 744; 596.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,11 (t, 3H, $J_{2',1'} = 7,3$; $\text{H}_{2'}$); 1,22 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H_{13}); 1,34 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,5$; $J_{7a,8e} = 4,2$; H_{7a}); 1,60 (s, 3H; H_{14}); 1,74 (s, 3H; H_{15}); 1,65-1,89 (m, 2H, H_6 e H_{8a}); 1,96-2,07 (m, 1H, H_{7e}); 2,34 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H_{11}); 2,75-2,95 (m, 3H, H_{8e} , H_{2a} e H_{2b}); 3,26 (quint, 2H, $J_{1',2'} \text{e NH} = 6,9$; $\text{H}_{1'}$); 4,12 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$, H_5); 5,56-5,69 (m, 2H, H_3 e NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C_{13}); 15,0 ($\text{C}_{2'}$), 20,2 (C_{15}); 22,4 (C_{14}); 26,6 ($\text{C}_{1'}$); 27,6 (C_7); 30,8 (C_8); 34,7 ($\text{C}_{1'}$); 36,4 (C_2); 42,4 (C_{11}); 54,6 (C_6); 83,5 (C_5); 111,3 (C_3); 127,5 (C_9); 131,3 (C_{10}); 141,3 (C_4); 170,9 (C_1); 178,8 (C_{12}).

EM, m/z (%): 291 (M^+ , $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_3$, 36); 273 (6); 263 (11); 248 (37); 218 (53); 204 (17); 190 (24); 175 (44); 159 (25); 147 (96); 145 (100); 131 (92); 119 (33); 105 (53); 91 (66); 87 (66); 79 (34); 72 (64); 55 (66); 46 (54); 44 (63); 41 (59); 30 (17).

1.2.5.3 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(propilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [20]



[20]

Característica: sólido branco

CCD: 0,53 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v)

Rendimento: 93%

Recristalização: tolueno/pentano

Tf: 65,6 – 66,9 °C

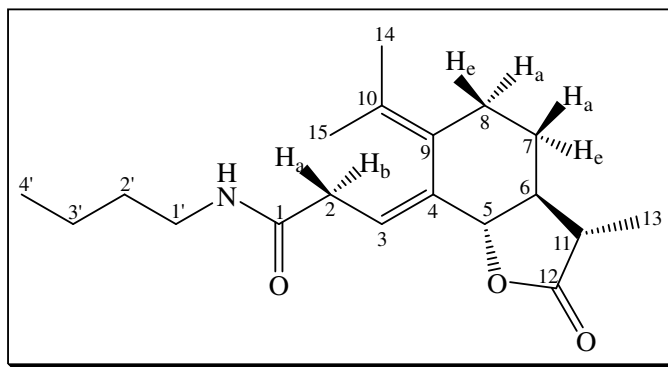
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3259; 3081; 2964; 2931; 2873; 1779; 1639; 1567; 1138; 1005; 746; 597.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 0,89 (t, 3H, $J_{3',2'} = 7,4$; H3'); 1,22 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,34 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,4$; $J_{7a,8e} = 4,1$; H7a); 1,49 (sext, 2H, $J_{2',3'e} 1' = 7,2$; H2'); 1,60 (s, 3H; H14); 1,74 (s, 3H, H15); 1,66-1,89 (m, 2H, H6 e H8a); 1,97-2,07 (m, 1H, H7e); 2,34 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,76-2,96 (m, 3H, H8e, H2a e H2b); 3,19 (q, 2H, $J_{1',2'e} \text{e NH} = 7,2$; H1'); 4,13 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,6$; H5); 5,55-5,69 (m, 2H, H3 e NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 11,5 (C3'); 12,6 (C13); 20,2 (C15); 22,4 (C14); 23,0 (C2'); 27,6 (C7); 30,8 (C8); 36,5 (C2); 41,5 (C1'); 42,4 (C11); 54,7 (C6); 83,5 (C5); 111,3 (C3); 127,4 (C9); 131,4 (C10); 141,3 (C4); 171,1 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 305 (M^+ , $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_3$, 32); 287 (4); 277 (9); 262 (32); 249 (9); 246 (6); 232 (35); 218 (23); 204 (15); 190 (27); 175 (36); 159 (21); 147 (110); 145 (89); 131 (84); 119 (31); 105 (50); 101 (36); 91 (59); 77 (31); 69 (22); 60 (60); 55 (60); 43 (94); 41 (85); 30 (18).

1.2.5.4 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(butilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [21]



[21]

Característica: sólido branco

CCD: 0,23 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 75%

Recristalização: tolueno/pentano

Tf: 71,4 – 72,3 °C

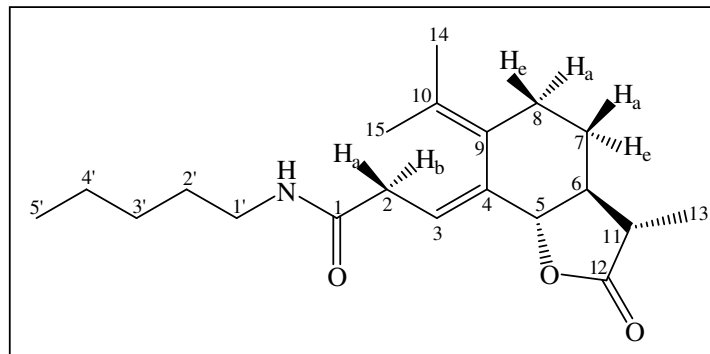
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3265; 3086; 2956; 2931; 2864; 1779; 1636; 1567; 1455; 1240; 1137; 1005; 745.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 0,90 (t, 3H, $J_{4',3'} = 7,2$; H4'); 1,22 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,26-1,38 (m, 3H; H7a e H3'); 1,45 (quit, 2H, $J_{2',3'}$ e $1' = 7,2$; H2'); 1,60 (s, 3H; H14); 1,74 (s, 3H, H15); 1,65-1,89 (m, 2H, H6 e H8a); 1,94-2,08 (m, 1H, H7e); 2,34 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,76-2,95 (m, 3H, H8e, H2a e H2b); 3,22 (q, 2H, $J_{1',2'}$ e $\text{NH} = 6,6$; H1'); 4,13 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$; H5); 5,53-5,67 (m, 2H, H3 e NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 13,9 (C4'); 20,2 (C15); 20,2 (C3'); 22,4 (C14); 27,6 (C7); 30,8 (C8); 31,8 (C2'); 36,5 (C2); 39,5 (C1'); 42,4 (C11); 54,7 (C6); 83,5 (C5); 111,4 (C3); 127,4 (C9); 131,3 (C10); 141,3 (C4); 171,0 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 319 (M^+ , $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{NO}_3$, 33); 301 (3); 291 (7); 276 (26); 263 (8); 248 (17); 218 (22); 204 (19); 191 (12); 175 (35); 159 (20); 147 (100); 145 (79); 131 (71); 119 (27); 115 (31); 105 (46); 91 (54); 74 (97); 55 (56); 41 (83); 30 (23).

1.2.5.5 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(pentilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [22]



[22]

Característica: sólido branco

CCD: 0,32 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 58%

Recristalização: tolueno/pentano

Tf: 72,9 – 73,9 °C

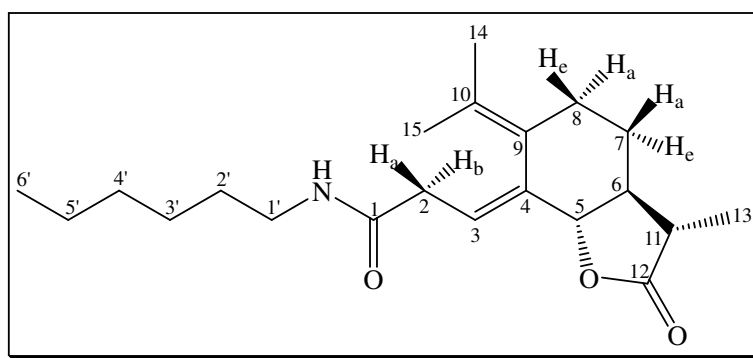
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3259; 3083; 2956; 2930; 2860; 1778; 1635; 1567; 1454; 1238; 1137; 1006; 745.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 0,86 (t, 3H, $J_{5',4'} = 6,8$; $\text{H}_{5'}$); 1,21 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H_{13}); 1,23-1,38 (m, 5H; H_{7a} , $\text{H}_{3'}$ e $\text{H}_{4'}$); 1,46 (quit, 2H, $J_{2',3' \text{ e } 1'} = 6,9$; $\text{H}_{2'}$); 1,60 (s, 3H; H_{14}); 1,74 (s, 3H, H_{15}); 1,69-1,89 (m, 2H, H_6 e H_{8a}); 1,96-2,07 (m, 1H, H_{7e}); 2,34 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H_{11}); 2,74-3,00 (m, 3H, H_{8e} , H_{2a} e H_{2b}); 3,21 (q, 2H, $J_{1',2' \text{ e } \text{NH}} = 6,9$; $\text{H}_{1'}$); 4,12 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$; H_5); 5,50-5,74 (m, 2H, H_3 e NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 14,2 (C5'); 20,2 (C15); 22,4 (C14); 22,5 (C4'); 27,6 (C7); 29,2 (C3'); 29,4 (C2'); 30,8 (C8); 36,5 (C2); 39,8 (C1'); 42,4 (C11); 54,7 (C6); 83,5 (C5); 111,4 (C3); 127,4 (C9); 131,3 (C10); 141,3 (C4); 171,0 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 333 (M^+ , $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_3$, 31); 305 (5); 290 (22); 277 (8); 260 (42); 246 (6); 218 (27); 204 (15); 190 (17); 175 (32); 159 (18); 147 (100); 145 (78); 131 (73); 119 (25); 105 (44); 91 (49); 88 (53); 73 (29); 55 (57); 43 (84); 41 (69); 32 (20); 30 (25).

1.2.5.6 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(hexilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [23]



[23]

Característica: sólido branco

CCD: 0,40 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 49%

Recristalização: tolueno/pentano

Tf: 80,7 – 82,3 °C

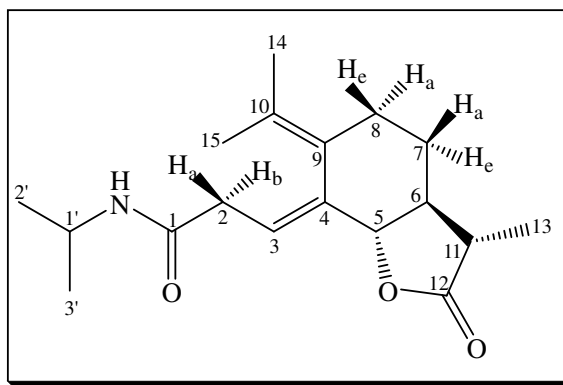
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3257; 3081; 2954; 2928; 2856; 1765; 1638; 1563; 1454; 1238; 1138; 1000; 875; 743

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 0,86 (t, 3H, $J_{5',4'} = 6,8$; $\text{H6}'$); 1,21 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,23-1,39 (m, 7H; H7a , $\text{H3}'$, $\text{H4}'$ e $\text{H5}'$); 1,40-1,54 (m, 2H, $\text{H2}'$); 1,60 (s, 3H; H14); 1,74 (s, 3H, H15); 1,68-1,89 (m, 2H, H6 e H8a); 1,96-2,08 (m, 1H, H7e); 2,34 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,75-2,98 (m, 3H, H8e , H2a e H2b); 3,21 (q, 2H, $J_{1',2'} \text{ e } \text{NH} = 6,6$; $\text{H1}'$); 4,12 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$; H5); 5,54-5,72 (m, 2H, H3 e NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 14,2 ($\text{C6}'$); 20,2 (C15); 22,4 (C14); 22,7 ($\text{C5}'$); 26,8 ($\text{C3}'$); 27,6 (C7); 29,7 ($\text{C2}'$); 30,8 (C8); 31,6 ($\text{C4}'$); 36,5 (C2); 39,8 ($\text{C1}'$); 42,4 (C11); 54,7 (C6); 83,5 (C5); 111,4 (C3); 127,4 (C9); 131,3 (C10); 141,3 (C4); 170,9 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 347 (M^+ , $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{O}_3$, 31); 304 (15); 291(6); 274 (37); 218 (21); 204 (14); 190 (16); 175 (28); 159 (17); 147 (100); 145 (73); 131 (62); 119 (22); 105 (36); 102 (43); 91 (39); 73 (24); 55 (56); 43 (87); 41 (65); 30 (22).

1.2.5.7 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(isopropilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [24]



[24]

Característica: sólido branco

CCD: 0,38 (hexano/acetato de etila 1:1 v/v)

Rendimento: 88%

Recristalização: tolueno/pentano

Tf: 112,2 – 113,7 °C

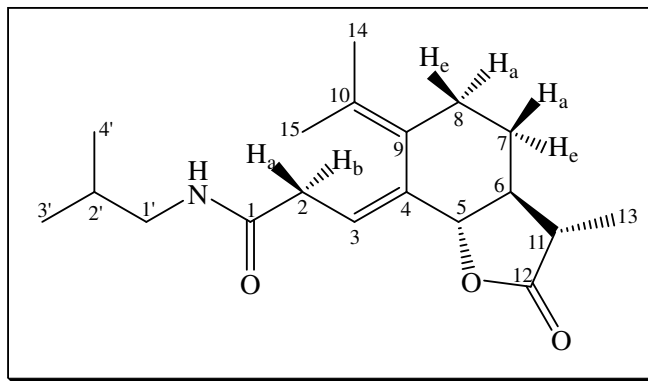
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3258; 3094; 2965; 2924; 2863; 1778; 1639; 1550; 1455; 1368; 1239; 1176; 1133; 1008; 877; 741; 686; 587.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,12 (dd, 6H, $J_{2'e3'}, 1' = 6,5$; $J_{2'e3'}, \text{NH} = 2,5$; H2' e H3'); 1,22 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,34 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,4$; $J_{7a,8e} = 4,0$; H7a); 1,60 (s, 3H; H14); 1,74 (s, 3H, H15); 1,65-1,89 (m, 2H, H6 e H8a); 1,95-2,07 (m, 1H; H7e); 2,34 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,74-2,93 (m, 3H; H8e, H2a e H2b); 3,98-4,17 (m, 2H; H1'e H5); 5,40 (sl, 1H, NH); 5,60 (t, 1H, $J_{3,2} = 6,9$; H3).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,2 (C15); 22,4 (C14); 22,9 (C2' e C3'); 27,6 (C7); 30,8 (C8); 36,5 (C2); 41,6 (C1'); 42,4 (C11); 54,7 (C6); 83,6 (C5); 111,4 (C3); 127,5 (C9); 131,2 (C10); 141,3 (C4); 170,1 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 305 (M^+ , $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_3$, 31); 287 (3); 277 (7); 262 (16); 249 (6); 232 (22); 218 (16); 204 (11); 190 (19); 175 (28); 159 (16); 147 (100); 145 (63); 131 (55); 119 (24); 105 (44); 101 (30); 91 (52); 86 (38); 74 (26); 60 (44); 55 (45); 43 (68).

1.2.5.8 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(isobutilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [25]



[25]

Característica: sólido branco

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

Rendimento: 77%

Recristalização: tolueno/pentano

Tf: 92,8 – 94,3 °C

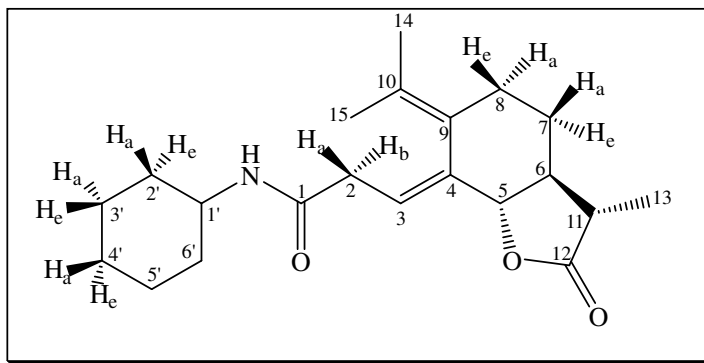
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3257; 3082; 2962; 2929; 2871; 1781; 1640; 1564; 1451; 1370; 1236; 1138; 1005; 876; 744; 595.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 0,88 (d, 6H, $J_{4'e3',2'} = 6,7$; H3' e H4'); 1,22 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,35 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,4$; $J_{7a,8e} = 4,0$; H7a); 1,62 (s, 3H; H14); 1,75 (s, 3H, H15); 1,65-1,89 (m, 3H, H6, H8a e H2'); 1,97-2,07 (m, 1H; H7e); 2,34 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,79-2,97 (m, 3H; H8e, H2a e H2b); 3,06 (t, 2H, $J_{1',2'}$ e $J_{\text{NH}} = 6,4$; H1'); 4,13 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,6$; H5); 5,57-5,70 (m, 2H, H3 e NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,7 (C13); 20,2 (C3', C4' e C15); 22,4 (C14); 27,6 (C7); 28,6 (C2'); 30,9 (C8); 36,5 (C2); 42,4 (C11); 47,1 (C1'); 54,8 (C6); 83,5 (C5); 111,4 (C3); 127,4 (C9); 131,4 (C10); 141,4 (C4); 171,0 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 319 (M^+ , $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{NO}_3$, 31); 301 (3); 291 (7); 276 (24); 263 (9); 246 (37); 218 (20); 204 (17); 191 (12); 175 (32); 159 (19); 147 (100); 145 (77); 131 (66); 119 (24); 115 (33); 105 (42); 91 (51); 74 (86); 60 (55); 55 (57); 41 (79); 30 (21).

1.2.5.9 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(cicloexilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [26]



[26]

Característica: sólido branco

CCD: 0,48 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 97 %

Recristalização: clorofórmio/pentano

Tf: 86,0 – 87,7 °C

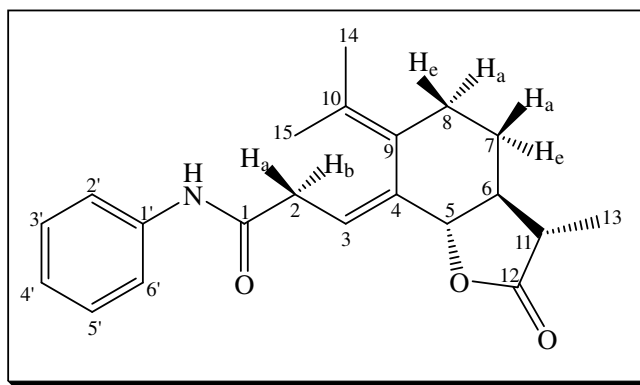
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3251; 3069; 2930;2853; 1766; 1639; 1557; 1450; 1237; 1138; 1004; 752; 597.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,01-1,18(m, 2H; H2'(1H)/H6'(1H)); 1,21 (d,3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,18-1,42 (m, 4H; H7a, H4'(1H) e H3'(1H) /H5'(1H)); 1,59 (s, 3H; H14); 1,52-1,79 (m, 4H; H6, H4'(1H) e H3'(1H)/H5'(1H)); 1,74 (s, 3H, H15); 1,79-1,91 (m, 3H, H8a e H2'(1H)/H6'(1H)); 1,96-2,06 (m, 1H, H7e); 2,33 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,75-2,93 (m, 3H;H8e, H2a e H2b); 3,64-3,80 (m, 1H; H1'); 4,11 (d, 1H; $J_{5,6} = 10,6$; H5); 5,59 (t, 2H, $J_{3,2} = 6,7$; H3 e NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,2 (C15); 22,4 (C14); 25,0 (C3'e C5'); 25,6 (C4'); 27,6 (C7); 30,8 (C8); 33,2 (C2' e C6'); 36,5 (C2); 42,4 (C11); 48,5 (C1'); 54,7 (C6); 83,5 (C5); 111,4 (C3); 127,6 (C9); 131,2 (C10); 141,3 (C4); 170,2 (C1); 178,7 (C12).

EM, m/z (%): 345 (M^+ , $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_3$, 26); 302 (8); 289 (4); 272 (23); 246 (5); 218 (14); 204 (10); 190 (12); 175 (16); 159 (11); 147 (100); 131 (43); 119 (17); 105 (33); 100 (22); 91 (35); 74 (39); 60 (58); 55 (76); 41 (56).

1.2.5.10 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(fenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [27]



[27]

Característica: sólido amarelo claro

CCD: 0,52 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 75 %

Recristalização: clorofórmio/pentano

Tf: 178,2 – 179,5 °C

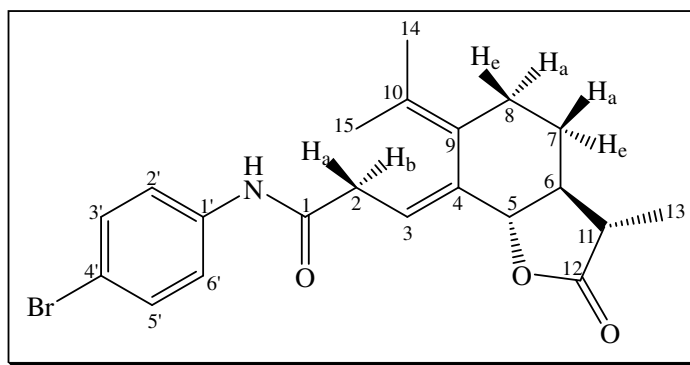
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3328; 3080; 3060; 3022; 2974; 2928; 2914; 2851; 1763; 1691; 1544; 1499; 1439; 1369; 1314; 1238; 1141; 1000; 755; 737; 694; 508.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,22 (d,3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,35 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,4$; $J_{7a,8e} = 4,0$; H7a); 1,65 (s, 3H; H14); 1,76 (s, 3H, H15); 1,70-1,93 (m, 2H, H6 e H8a); 1,97-2,07 (m, 1H, H7e); 2,34 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,80-2,91 (m, 1H, H8e); 2,93-3,13 (m, 2H, H2a e H2b); 4,14 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$; H5); 5,73 (t, 1H, $J_{3,2} = 6,7$; H3); 7,08 (t, 1H, $J_{4', 3'e 5'} = 7,4$; H4'); 7,29 (t, 2H, $J_{3'e 5', 2',6'e 4'} = 7,8$; H3' e H5'); 7,48 (d, 2H, $J_{2'e 6', 3'e 5'} = 7,8$; H2' e H6'); 7,56 (s, 1H, NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,2 (C15); 22,4 (C14); 27,6 (C7); 30,9 (C8); 37,5 (C2); 42,4 (C11); 54,6 (C6); 83,6 (C5); 111,2 (C3); 120,2 (C2' e C6'); 124,5 (C4'); 127,6 (C9); 129,1 (C3' e C5'); 131,4 (C10); 138,0 (C1'); 141,7 (C4); 169,5 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 339 (M^+ , $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_3$, 22); 296 (14); 266 (24); 246 (20); 218 (21); 204 (23); 190 (13); 175 (29); 159 (15); 145 (73); 135 (43); 131 (57); 119 (21); 105 (29); 93 (100); 91 (46); 77 (56); 65 (24); 55 (62); 41 (50).

1.2.5.11 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(4'-bromofenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [28]



[28]

Característica: sólido amarelo claro

CCD: 0,24 (hexano/acetato de etila 3:1 v/v)

Rendimento: 71%

Recristalização: clorofórmio/pentano

Tf: 187,4 – 188,4 °C

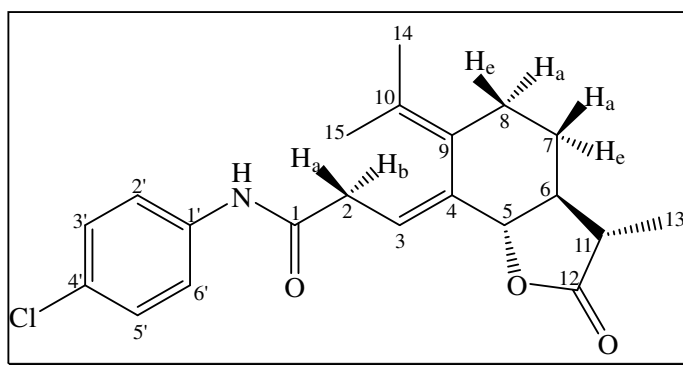
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3333; 3104; 2966; 2933; 2913; 2850; 1760; 1695; 1586; 1529; 1486; 1392; 1319; 1183; 1138; 1005; 840; 812; 745; 705; 511.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,22 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,36 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,4$; $J_{7a,8e} = 4,0$; H7a); 1,64 (s, 3H; H14); 1,77 (s, 3H, H15); 1,69-1,92 (m, 2H, H6 e H8a); 1,98-2,10 (m, 1H, H7e); 2,35 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,83-2,91 (m, 1H; H8e); 2,93-3,12 (m, 2H, H2a e H2b); 4,14 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$; H5); 5,71 (t, 1H, $J_{3,2} = 6,7$; H3); 7,40 (s, 4H; H2', H3', H5' e H6'); 7,51 (s, 1H, NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,3 (C15); 22,4 (C14); 27,6 (C7); 30,9 (C8); 37,5 (C2); 42,4 (C11); 54,6 (C6); 83,5 (C5); 110,9 (C3); 117,1 (C4'); 121,7 (C2' e C6'); 127,5 (C9); 131,5 (C10); 132,1 (C3' e C5'); 137,1 (C1'); 141,9 (C4); 169,4 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 417 (M^+ , $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{BrNO}_3$, 19); 374 (10); 346 (16); 246 (20); 229 (5); 218 (32); 204 (36); 190 (17); 173 (71); 159 (22); 145 (100); 131 (79); 119 (24); 105 (35); 91 (66); 77 (32); 65 (24); 55 (73); 41 (56).

1.2.5.12 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(4'-clorofenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [29]



[29]

Característica: sólido amarelo claro

CCD: 0,45 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 86%

Recristalização: clorofórmio/pentano

Tf: 188,0 – 189,0 °C

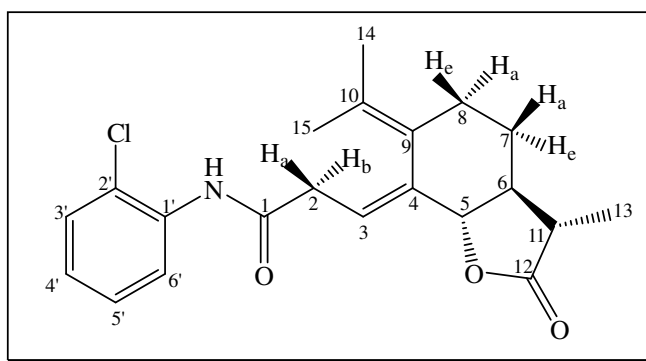
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3324; 3053; 2987; 2936; 2918; 2856; 1765; 1693; 1595; 1532; 1493; 1398; 1310; 1239; 1139; 1003; 836; 721; 509.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,23 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,36 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,5$; $J_{7a,8e} = 3,9$; H7a); 1,64 (s, 3H; H14); 1,77 (s, 3H, H15); 1,70-1,88 (m, 2H, H6 e H8a); 1,99-2,09 (m, 1H, H7e); 2,36 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,8$; H11); 2,82-2,93 (m, 1H; H8e); 2,94-3,14 (m, 2H; H2a e H2b); 4,15 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,8$; H5); 5,71 (t, 1H, $J_{3,2} = 6,7$; H3); 7,26 (d, 2H, $J_{3'e 5', 2'e 6'} = 9,0$; H3' e H5'); 7,45 (d, 3H, $J_{2'e 6', 3'e 5'} = 8,7$; H2' e H6' e NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,3 (C15); 22,5 (C14); 27,6 (C7); 30,9 (C8); 37,4 (C2); 42,4 (C11); 54,7 (C6); 83,5 (C5); 110,8 (C3); 121,4 (C2'e C6'); 127,5 (C9); 129,1 (C3'e C5'); 129,4 (C4'); 131,5 (C10); 135,5 (C1'); 141,9 (C4); 169,4 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 373 (M^+ , $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{ClNO}_3$, 26); 330 (10); 300 (13); 247 (20); 218 (29); 204 (31); 190 (17); 175 (39); 159 (21); 147 (56); 145 (100); 131 (76); 127 (89); 119 (20); 105 (31); 91 (54); 77 (31); 65 (19); 55 (72); 41 (55).

1.2.5.13 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(2'-clorofenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [30]



[30]

Característica: sólido amarelo claro

CCD: 0,55 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 94 %

Recristalização: clorofórmio/pentano

Tf: 124,9 – 126,6 °C

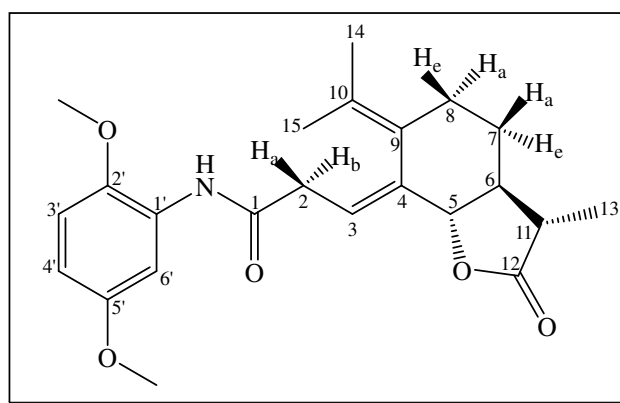
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3338; 3032; 2969; 2929; 2877; 1782; 1686; 1594; 1527; 1438; 1310; 1178; 1134; 1003; 930; 849; 738; 653.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,24 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,40 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,4$; $J_{7a,8e} = 4,0$; H7a); 1,68 (s, 3H; H14); 1,79 (s, 3H, H15); 1,81-1,93 (m, 2H, H6 e H8a); 2,01-2,11 (m, 1H, H7e); 2,38 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,91 (ddd, 1H, $J_{8e,8a} = 13,8$; $J_{8e,7a} = 3,3$; $J_{8e,7e} = 2,1$; H8e); 3,03 (ddd, 1H; $J_{2a,2b} = 16,6$; $J_{2a,3} = 5,3$; $J_{2a,5} = 2,0$; H2a); 3,19 (dd, 1H; $J_{2b,2a} = 16,5$; $J_{2b,3} = 9,6$; H2b); 4,19 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$; H5); 5,78 (ddd, 1H; $J_{3,2b} = 9,6$; $J_{3,2a} = 5,7$; $J_{3,5} = 1,2$; H3); 7,03 (t, 1H, $J_{4',3'e5'} = 7,8$; H4'); 7,26 (t, 1H, $J_{5',4'e6'} = 8,1$; H5'); 7,34 (d, 1H, $J_{3',4'} = 7,8$; H3'); 7,79 (s, 1H, NH); 8,37 (d, 1H, $J_{6',5'} = 8,4$; H6').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,5 (C13); 20,1 (C15); 22,2 (C14); 27,3 (C7); 30,7 (C8); 37,5 (C2); 42,0 (C11); 54,6 (C6); 83,1 (C5); 110,3 (C3); 121,2 (C6'); 122,4 (C2'); 124,5 (C4'); 127,0 (C9); 127,7 (C5'); 128,9 (C3'); 131,7 (C10); 134,3 (C1'); 142,8 (C4); 169,0 (C1); 178,3 (C12).

EM, m/z (%): 373 (M^+ , $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{ClNO}_3$, 18); 330 (8); 300 (12); 246 (19); 218 (27); 204 (25); 190 (16); 175 (41); 159 (20); 145 (100); 131 (67); 127 (61); 119 (18); 105 (26); 91 (43); 77 (28); 65 (17); 55 (64); 41 (50).

1.2.5.14 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(2',5'-dimetoxifenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [31]



[31]

Característica: sólido amarelo claro

CCD: 0,44 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 82 %

Recristalização: clorofórmio/pentano

Tf: 60,1 – 61,1 °C

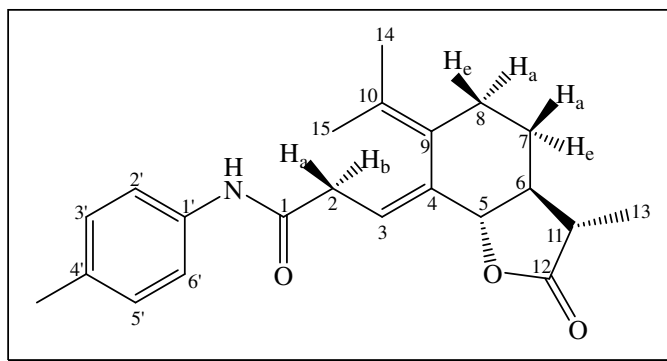
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3390; 2966; 2932; 2860; 2835; 1782; 1688; 1600; 1530; 1479; 1452; 1428; 1219; 1177; 1046; 1004; 875; 797; 713; 620.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,25 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,8$; H13); 1,39 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,4$; $J_{7a,8e} = 3,9$; H7a); 1,67 (s, 3H; H14); 1,77 (s, 3H, H15); 1,79-1,96 (m, 2H, H6 e H8a); 2,00-2,10 (m, 1H, H7e); 2,38 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,6$; $J_{11,13} = 6,9$; H11); 2,84-2,93 (m, 1H; H8e); 2,98 (ddd, 1H; $J_{2a,2b} = 16,4$; $J_{2a,3} = 5,4$; $J_{2a,5} = 2,0$; H2a); 3,14 (dd, 1H; $J_{2b,2a} = 16,4$; $J_{2b,3} = 9,7$; H2b); 3,76 (s, 3H, OCH_3); 3,79 (s, 3H, OCH_3); 4,18 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$; H5); 5,78 (ddd, 1H; $J_{3,2b} = 9,6$; $J_{3,2a} = 5,3$; $J_{3,5} = 1,5$; H3); 6,54 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,9$; $J_{4',6'} = 3,0$; H4'); 6,76 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,9$; H3'); 7,91 (s, 1H, NH); 8,08 (d, 1H, $J_{6',4'} = 3,0$; H6').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,7 (C13); 20,3 (C15); 22,4 (C14); 27,6 (C7); 30,8 (C8); 37,8 (C2); 42,4 (C11); 54,7 (C6); 56,0 e 56,3 (OCH_3); 83,5 (C5); 105,9 (C6'); 108,6 (C4'); 110,8 (C3'); 111,1 (C3); 127,3 (C9); 128,4 (C1'); 131,6 (C10); 142,1 (C4); 142,4 (C2'); 154,0 (C5'); 169,1 (C1); 178,6 (C12).

EM, m/z (%): 399 (M^+ , $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_5$, 33); 356 (2); 326 (1); 246 (2); 195 (14); 164 (10); 153 (100); 145 (16); 138 (67); 131 (9); 119 (4); 105 (7); 91 (10); 77 (7); 65 (4); 55 (16); 41 (12).

1.2.5.15 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(4'-metilfenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [32]



[32]

Característica: sólido branco-gelo

CCD: 0,26 (hexano/acetato de etila 3:1 v/v)

Rendimento: 96 %

Recristalização: clorofórmio/pentano

Tf: 169,8 – 171,2 °C

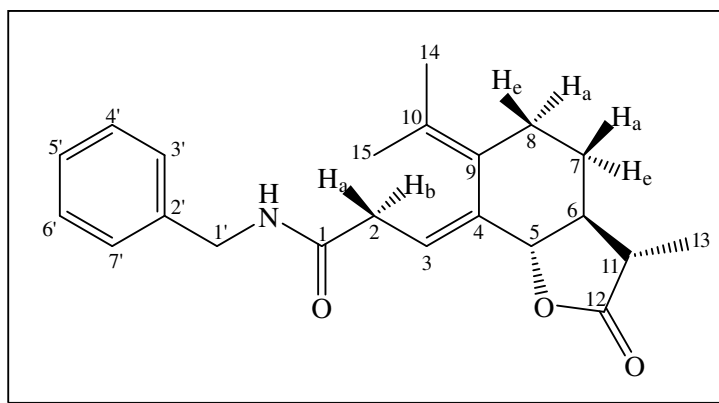
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3337; 2989; 2973; 2936; 2913; 2854; 1766; 1689; 1600; 1531; 1514; 1455; 1314; 1137; 1001; 825; 740; 717; 512.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,23 (d,3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,36 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,4$; $J_{7a,8e} = 4,0$; H7a); 1,65 (s, 3H; H14); 1,77 (s, 3H, H15); 1,70-1,92 (m, 2H, H6 e H8a); 1,97-2,10 (m, 1H, H7e); 2,29 (s, 3H, CH_3); 2,26-2,42 (m, 1H; H11); 2,82-2,92 (m, 1H; H8e); 2,92-3,13(m, 2H; H2a e H2b); 4,15 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,7$; H5); 5,73 (t, 1H, $J_{3,2} = 6,8$; H3); 7,10 (d, 2H, $J_{3'e 5',2' e 6'} = 8,2$; H3' e H5'); 7,35 (d, 2H, $J_{2'e 6',3' e 5'} = 8,3$; H2', H6' e NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,3 (C15); 21,1 (CH_3); 22,5 (C14); 27,6 (C7); 30,9 (C8); 37,4 (C2); 42,4 (C11); 54,7 (C6); 83,6 (C5); 111,2 (C3); 120,3 (C2' e C6'); 127,5 (C9); 129,6 (C3' e C5'); 131,5 (C10); 134,2 (C4'); 135,3 (C1'); 141,8 (C4); 169,2 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 353 (M^+ , $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_3$, 21); 325 (1); 310 (7); 280 (11); 246 (10); 238 (2); 218 (11); 204 (12); 190 (7); 175 (14); 163 (11); 149 (47); 145 (34); 131 (27); 119 (13); 107 (100); 91 (34); 77 (22); 65 (12); 55 (32); 41 (26).

1.2.5.16 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(benzilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [33]



[33]

Característica: sólido branco

CCD: 0,34 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 79%

Tf: 131,9 – 133,0 °C

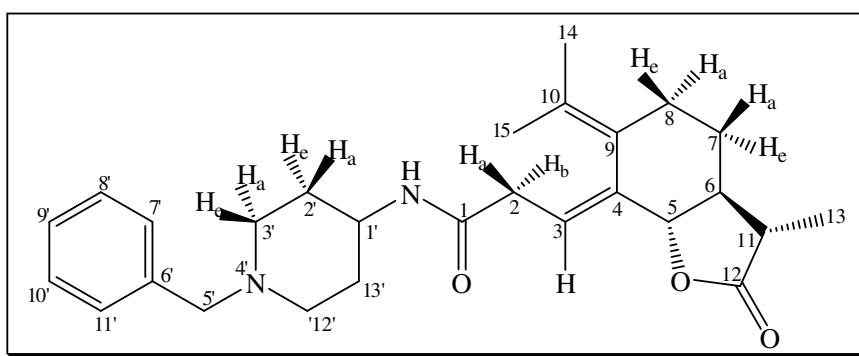
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3407; 3258; 3064; 3029; 2978; 2928; 2863; 1767; 1660; 1637; 1540; 1452; 1238; 1182; 1137; 1000; 880; 726; 694; 606.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,17 (d,3H, $J_{13,11} = 6,8$; H13); 1,30 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,5$; $J_{7a,8e} = 3,9$; H7a); 1,59 (s, 3H; H14); 1,73 (s, 3H, H15); 1,63-1,84 (m, 2H, H6 e H8a); 1,90-2,02 (m, 1H, H7e); 2,27 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,5$; $J_{11,13} = 6,8$; H11); 2,74-2,86 (m, 1H; H8e); 2,86-3,01(m, 2H; H2a e H2b); 4,06 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,6$; H5); 4,31-4,48 (m, 2H, H1'); 5,63 (t, 1H, $J_{3,2} = 7,3$; H3); 6,04 (s, 1H, NH); 7,18-7,37 (m, 5H; H3', H4', H5', H6' e H7').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,2 (C15); 22,4 (C14); 27,6 (C7); 30,8 (C8); 36,4 (C2); 42,3 (C11); 43,8 (C1'); 54,5 (C6); 83,5 (C5); 111,3 (C3); 127,5 (C9); 127,6 (C5'); 127,9 (C4' e C6'); 128,8 (C3' e C7'); 131,3 (C10); 138,4 (C2'), 141,4 (C4); 171,0 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): 353 (M^+ , $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_3$, 15); 325 (3); 310 (4); 297 (3); 280 (14); 262 (2); 245 (3); 218 (9); 204 (6); 190 (7); 175 (13); 163 (8); 147 (36); 131 (27); 119 (10); 106 (28); 91 (100); 77 (16); 65 (17); 55 (24); 41 (21).

1.2.5.17 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(4'-benzilpiperidin-1'-amino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [34]



[34]

Característica: sólido amarelo claro

CCD: 0,38 (acetato de etila)

Rendimento: 85%

Recristalização: tolueno/pentano

Tf: 59,6 – 61,2 °C

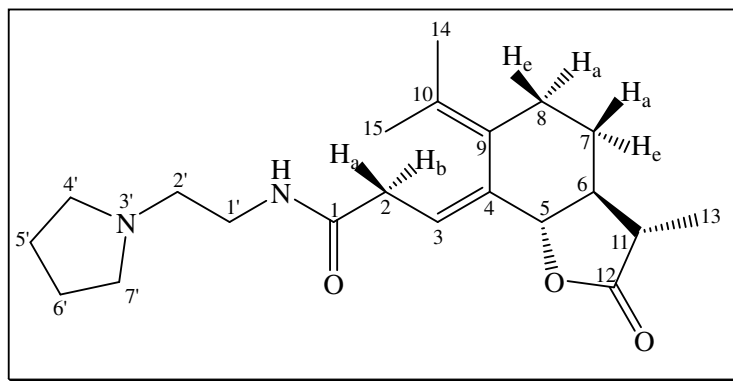
IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3287; 3060; 3025; 2929; 2858; 2800; 2758; 1782; 1649; 1539; 1453; 1137; 1005; 741; 698.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,23 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,26-1,52 (m, 3H; H7a e H2'(1H) e H13' (1H)); 1,60 (s, 3H; H14); 1,75 (s, 3H, H15); 1,64-1,93 (m, 4H, H6, H8a e H2' (1H) e H13'(1H)); 1,97-2,17 (m, 3H; H7e e H3' (1H) e H12' (1H)); 2,23-2,40 (m, 1H; H11); 2,74-2,94 (m, 5H; H2a, H2b, H8e, H3'(1H) e H12' (1H)); 3,48 (s, 2H; H5'); 3,70-3,85 (m, 1H; H1'); 4,12 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,6$; H5); 5,48 (d, 1H, $J_{\text{NH},1'} = 8,0$; NH); 5,60 (t, 1H, $J_{3,2} = 6,9$; H3); 7,14-7,39 (m, 5H; H7', H8', H9', H10' e H11').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,7 (C13); 20,2 (C15); 22,4 (C14); 27,6 (C7); 30,9 (C8); 32,2 (C2' e C13'); 36,5 (C2); 42,4 (C11); 46,7 (C1'); 52,4 (C3' e C12'); 54,7 (C6); 63,2 (C5'); 83,5 (C5); 111,4 (C3); 127,3 (C9'); 127,5 (C9); 128,4 (C8' e C10'); 129,4 (C7' e C11'); 131,3 (C10); 138,1 (C2'); 141,4 (C4); 170,3 (C1); 178,8 (C12).

EM, m/z (%): (MM = 436 g/mol, $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$); 263 (9); 246 (10); 235 (8); 220 (21); 218 (22); 204 (19); 190 (37); 175 (31); 159 (23); 145 (84); 131 (100); 119 (19); 105 (27); 91 (52); 77 (30); 65 (17); 55 (58); 41 (68).

1.2.5.18 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(2'-(pirrolidinil)etilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [35]



[35]

Característica: sólido amarelo claro

CCD: 0,30 (acetato de etila/metanol 1:1 v/v)

Rendimento: 83%

Recristalização: tolueno/pentano

Tf: 72,1 – 73,7 °C

IV (Pastilha de KBr, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3460; 3262; 3091; 2969; 2931; 2876; 2864; 2794; 1779; 1643; 1574; 1450; 1134; 1006; 877; 745; 511.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (J/Hz): 1,20 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,9$; H13); 1,33 (dddd, 1H, $J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6} = 12,5$; $J_{7a,8e} = 3,9$; H7a); 1,60 (s, 3H; H14); 1,73 (s, 3H, H15); 1,66-1,91 (m, 9H, H6, H8a, H5' e H6'); 1,93-2,05 (m, 1H; H7e); 2,32 (dq, 1H, $J_{11,6} = 13,7$; $J_{11,13} = 6,8$; H11); 2,55 (sl, 4H; H4' e H6'); 2,61 (t, 2H, $J_{2',1'} = 5,9$; H2'); 2,74-2,97 (m, 3H; H8e, H2a e H2b); 3,26-3,40 (m, 2H, H1'); 4,11 (d, 1H, $J_{5,6} = 10,6$; H5); 5,57-5,63 (m, 1H; H3); 6,41 (s, 1H, NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (C13); 20,2 (C15); 22,3 (C14); 23,6 (C5' e C6'); 27,7 (C7); 30,7 (C8); 36,4 (C2); 37,9 (C1'); 42,4 (C11); 54,0 (C4' e C7'); 54,6 (C6); 54,7 (C2'); 83,6 (C5); 111,7 (C3); 127,5 (C9); 131,1 (C10); 141,1 (C4); 171,2 (C1); 178,8 (C12).

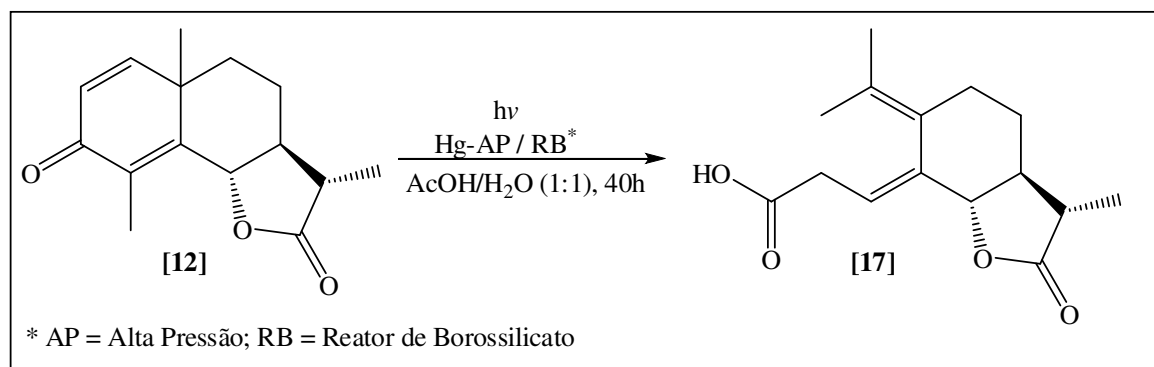
EM, m/z (%): (MM = 360 g/mol, $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$); 145 (1); 139 (2); 111 (1); 97 (22); 84 (100); 70 (3); 69 (3); 55 (5); 42 (5); 30 (2).

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As investigações realizadas nesse trabalho tiveram início com a síntese do ácido fotossantônico [17], obtido através da irradiação fotoquímica da α -santonina [12]. Essa etapa foi seguida da reação *in situ* para a obtenção do cloreto de ácido derivado de [17], a partir do qual foram efetuadas reações com diversas aminas para a obtenção dos dezoito compostos inéditos [18-35]. Um indicativo da alta pureza em que esses compostos foram obtidos são as faixas estreitas de fusão determinadas para cada um.

A devida caracterização estrutural foi efetuada a partir das informações obtidas pela espectroscopia no, espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C , bem como a partir dos experimentos bidimensionais COSY e HETCOR. A massa molecular dos compostos foi confirmada por espectrometria de massas, não tendo sido observado o pico esperado para o íon molecular no espectro de apenas duas das estruturas sintetizadas [34 e 35].

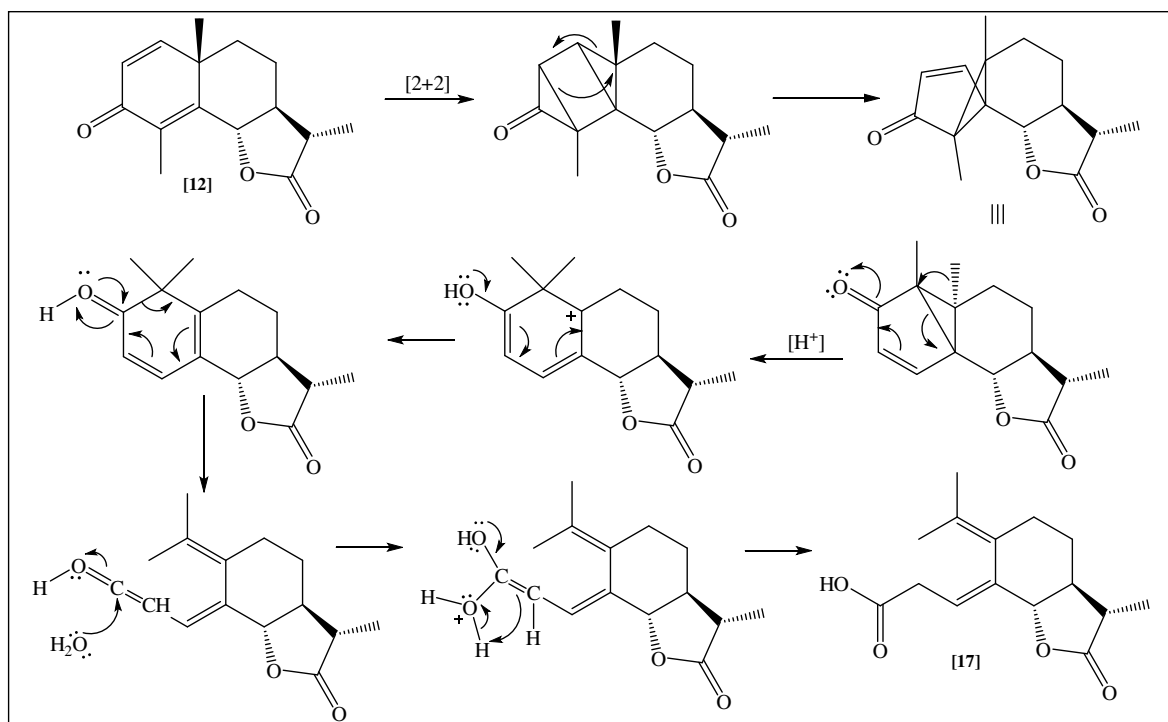
1.3.1 Síntese do ácido fotossantônico [17]



Esquema 1: Obtenção do ácido fotossantônico [17] a partir de [12].

A síntese do ácido fotossantônico [17] foi realizada tendo como referência os trabalhos publicados por ARANTES *et al.* (2009) e ALVARENGA *et al.* (2009). Ambos descrevem a síntese de [17] a partir da irradiação fotoquímica da α -santonina [12], utilizando um reator de borossilicato e uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (125 W) em uma mistura de ácido acético e água na proporção de (1:1 v/v). O rendimento para [17] relatado em ambos os trabalhos foi de 44 %. Nesse trabalho, a síntese para esse composto foi realizada também a partir da α -santonina [12] dissolvida em uma mistura de ácido acético/ água (1:1) em reator de borossilicato, porém efetuando-se a irradiação com duas lâmpadas de vapor de mercúrio de alta pressão (250 W). O rendimento foi melhorado para 50 %, resultado ligeiramente superior ao descrito por ARANTES *et al.* (2009) e ALVARENGA *et al.* (2009). Foi verificada a formação de uma grande quantidade de subprodutos na reação, que não foram isolados.

A explicação para a formação dos subprodutos observados é a possibilidade de outros rearranjos na estrutura dos vários intermediários pelos quais ocorre a formação do composto [17]. A proposta mecanística para a formação de [17] baseia-se nos trabalhos publicados por CHAPMAN & ENGLERT (1963) e FISCH e RICHARDS (1968), conforme a apresentado no esquema 2.



Esquema 2: Mecanismo de formação do ácido fotossantônico [17].

No espectro no infravermelho do composto [17] (Figura 6) pode ser observada a banda larga entre 3440 e 2500 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da hidroxila do grupo carboxila. Esse alargamento é característico da dimerização de ácidos carboxílicos por meio de ligações de hidrogênio (BARBOSA 2007). As bandas em 2985 , 2933 e 2880 cm^{-1} caracterizam o estiramento de ligações C-H de carbonos com hibridização sp^3 .

Os valores típicos para as bandas de estiramento da carbonila de uma lactona saturada de cinco membros e de um ácido carboxílico saturado de cadeia longa não-dimerizado são de, aproximadamente, 1770 e $1780\text{-}1740\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. Porém, como já mencionado, ácidos carboxílicos comumente se apresentam como dímeros associados por ligações de hidrogênio, o que resulta em um enfraquecimento da ligação C=O e faz com que a frequência para o estiramento que caracteriza esse modo vibracional (estiramento C=O) nos ácidos carboxílicos diminua (Figura 6) (BARBOSA 2007).

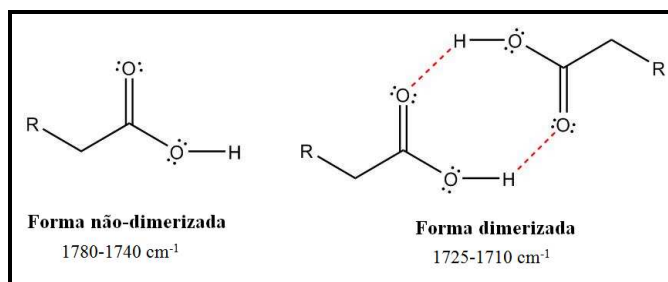


Figura 6: Diferença nos estiramentos C=O de um ácido carboxílico saturado não-dimerizado e dimerizado por ligações de hidrogênio.

Visto que a faixa do estiramento para a hidroxila (ligação O-H) do ácido apresentou padrão de associação (banda larga), a banda em 1722 cm^{-1} foi então atribuída ao estiramento C=O do ácido carboxílico (dimerizado) e a observada em 1781 cm^{-1} foi então atribuída ao estiramento C=O da lactona.

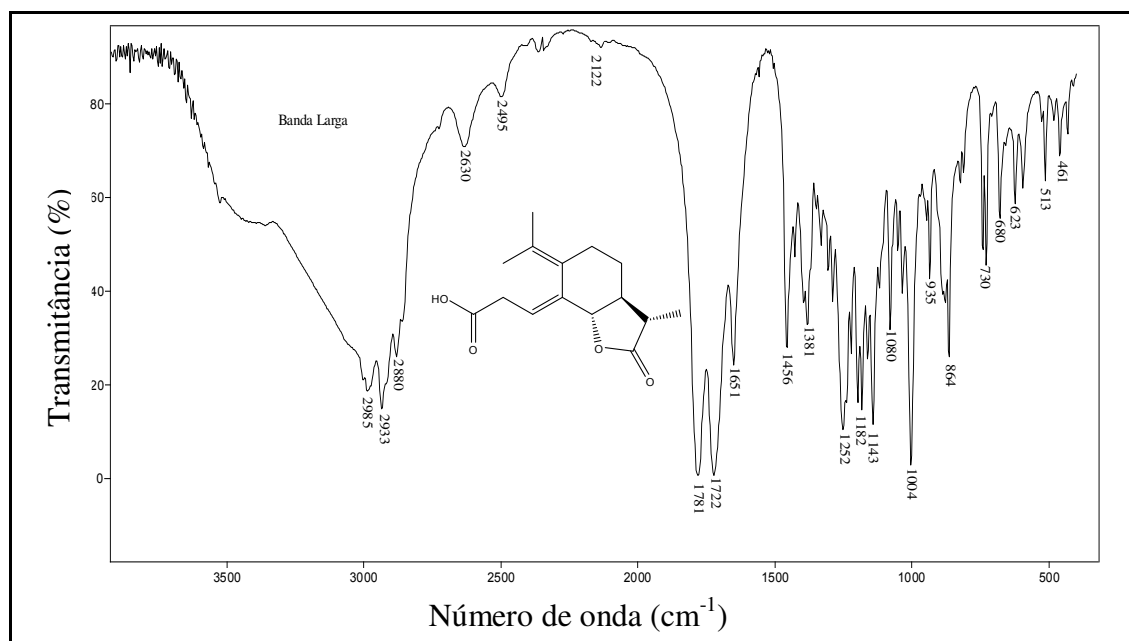


Figura 7: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [17].

Os sinais observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 8) do composto [17] foram comparados com os resultados da literatura (ARANTES, 2009). Na tabela 1 podem ser observados os resultados obtidos nesse trabalho, juntamente com os valores descritos na literatura. Os resultados apresentam-se bastante coerentes e sugerem a obtenção do composto [17].

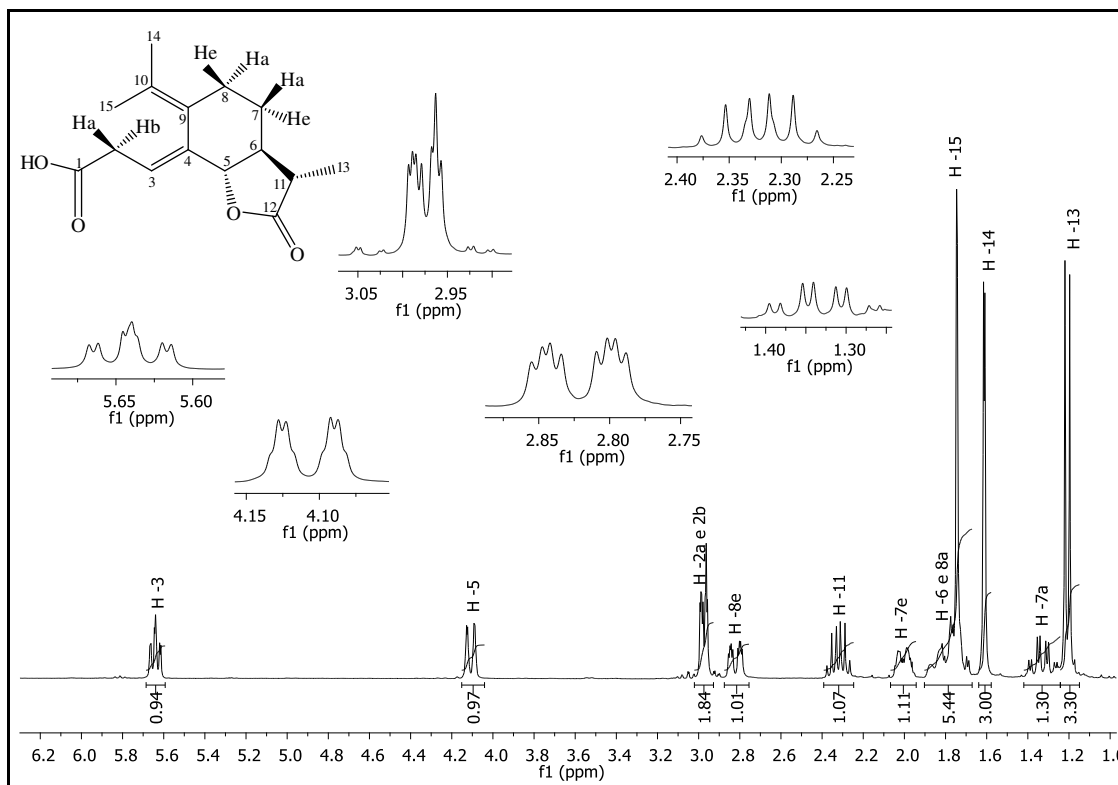


Figura 8: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do ácido foscarnônico [17].

Tabela 1: Comparação entre os dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [17] obtidos nesse trabalho e os dados descritos na literatura

δ	δ^*	Mult.	Mult.*	J	J^*	Atribuição
1,21	1,23	d	d	6,9	6,9	H13
1,31	1,35	dddd	dddd	12,4; 3,9	10,8; 4,1	H7a
1,61	1,63	d	s	1,9	---	H14
1,75	1,77	s	s	---	---	H15
1,68-1,90	1,78 – 1,88	m	m	---	---	H6 e H8a
1,94-2,06	2,00-2,06	m	m	---	---	H7e
2,32	2,34	dq	dq	13,7; 6,9	12,6; 6,9	H11
2,82	2,85	ddd	ddd	13,7; 3,9; 2,3	13,8; 4,1; 2,3	H8e
2,88-3,06	2,98	m	ddd	---	17,4; 7,8; 1,2	H2a e H2b
	3,03		ddd		17,4; 6,5; 2,0	
4,11	4,12	dd	d	10,7; 1,5	10,8	H5
5,60-5,68	5,67	m	ddd	---	7,8; 6,5; 1,4	H3

*Valores descritos na literatura (ARANTES, *et al*, 2009): RMN ^1H , (400 MHz, CDCl_3)

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 9) do composto [17], os valores obtidos para os sinais de carbono esperados para o composto foram bastante coerentes com os descritos na literatura (ARANTES, 2009), o que pode ser constatado pela análise dos resultados apresentados na tabela 2.

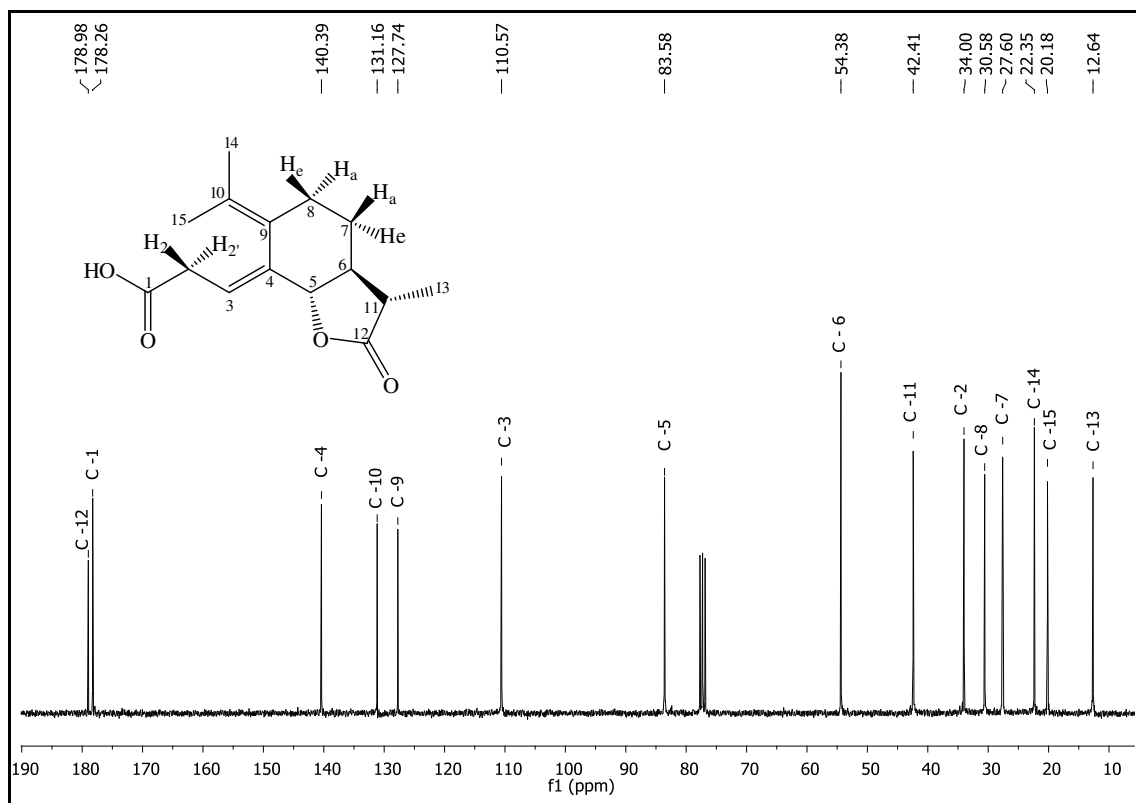
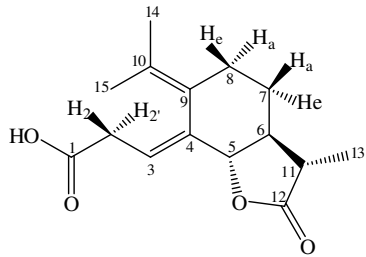


Figura 9: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do ácido fotossantônico [17].

Tabela 2: Comparação entre os dados de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto [17] obtidos neste trabalho e os descritos na literatura

	δ	δ^*	Atribuição
		12,6	12,4
	20,1	19,9	C15
	22,3	22,1	C14
	27,6	27,4	C7
	30,5	30,3	C8
	34,0	33,7	C2
	42,4	42,2	C11
	54,3	54,2	C6
	83,5	83,3	C5
	110,5	110,4	C3
	127,7	127,5	C9
	131,1	130,8	C10
	140,3	140,2	C4
	178,2	177,5	C1
	178,9	178,6	C12

*Valores descritos na literatura (ARANTES, *et al*, 2009): RMN ^{13}C , (400 MHz, CDCl_3)

A massa molecular do composto [17] foi confirmada através do espectro de massas (Figura 10), que exibiu o pico do íon molecular (m/z 264).

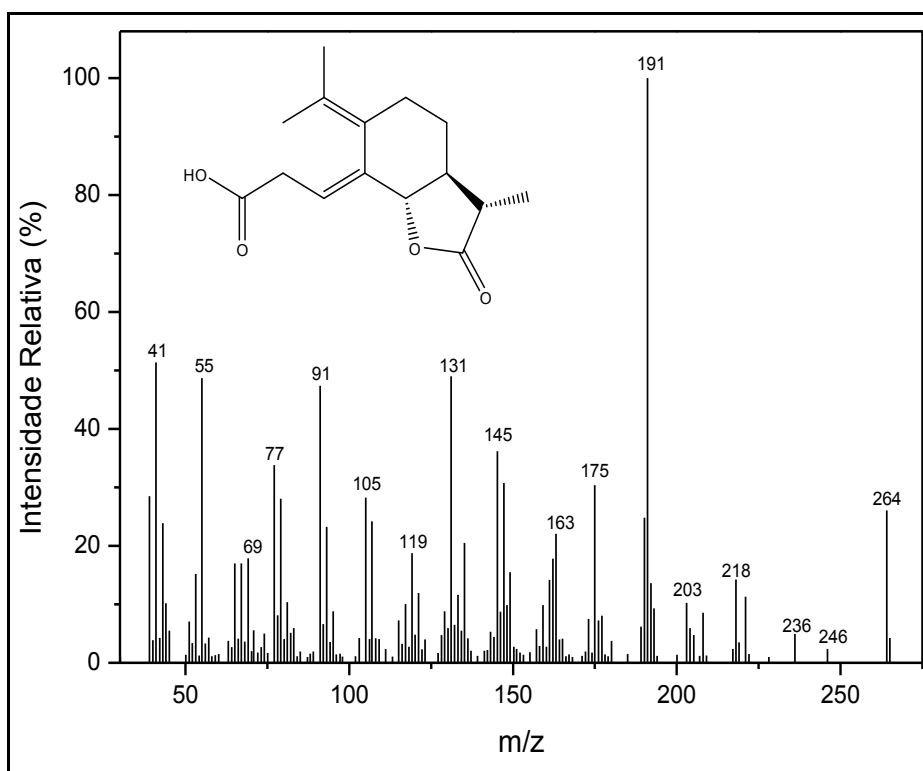
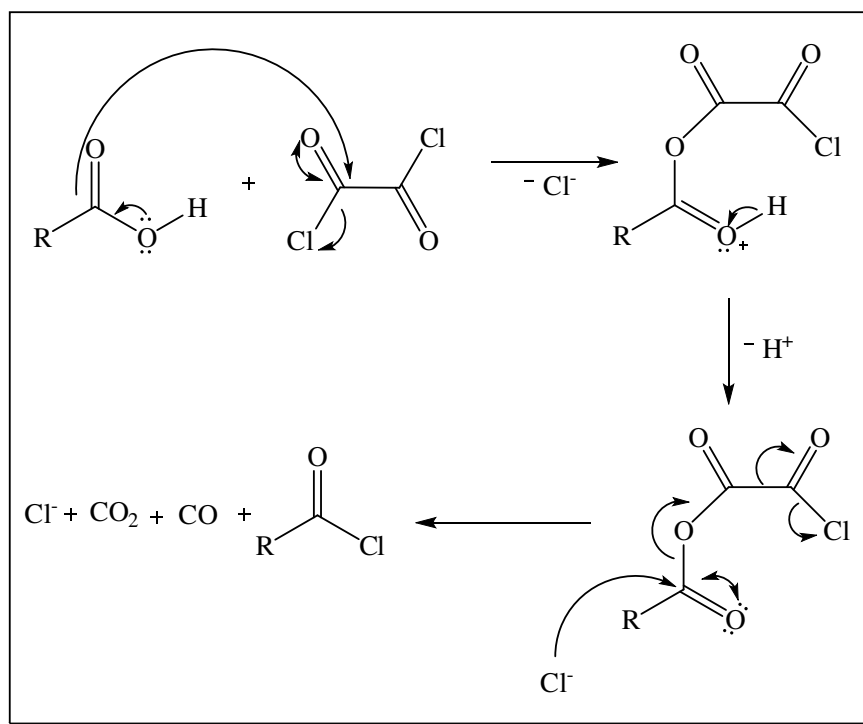


Figura 10: Espectro de massas do ácido fotossantônico [17].

1.3.2 Síntese dos Compostos [18-35]

A síntese dos compostos [18-35] teve início com a obtenção do cloreto de ácido derivado do ácido fotossantônico [17]. Esse procedimento foi adotado devido ao fato de cloretos de ácido serem mais reativos que os ácidos carboxílicos precursores, o que se fundamenta no fato do cloro ser um melhor grupo abandonador que a hidroxila (MARCH, 1992).

O mecanismo simplificado (esquema 3) que propõe a formação do cloreto de ácido derivado de [17] tem como ponto de partida o ataque nucleofílico a uma das carbonilas do cloreto de oxalila por um par de elétrons da hidroxila, havendo então a eliminação de um átomo de cloro. Na próxima etapa do mecanismo, o ânion cloreto se liga à carbonila do ácido carboxílico, ocorrendo então a liberação de monóxido e dióxido de carbono (CO e CO₂), além de um íon cloreto.

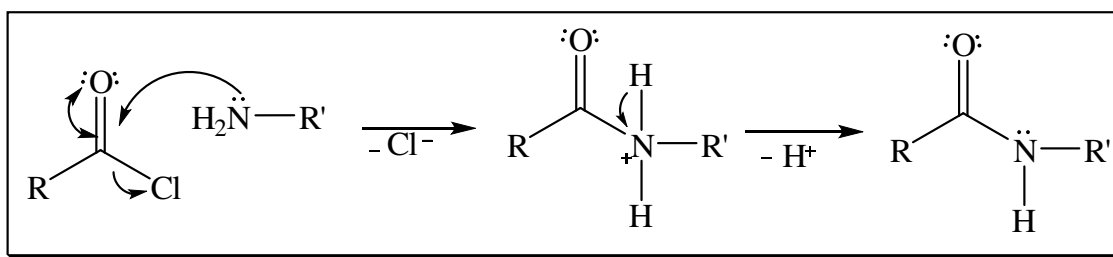


Esquema 3: Mecanismo para a formação do cloreto de ácido pela reação de um ácido carboxílico e cloreto de oxalila.

Utilizou-se o cloreto de oxalila (COCl)₂ na reação de formação do cloreto de ácido já que a utilização desse reagente proporciona a formação de sub-produtos voláteis facilmente eliminados por evaporação, dispensando uma etapa adicional de purificação (MARCH, 1992).

Desse modo, o cloreto de ácido foi formado *in situ* e, após a remoção do solvente e do excesso de cloreto de oxalila, teve sequência a síntese das amidas.

A próxima etapa possibilitou a síntese de 18 compostos inéditos [18-35], com rendimentos que variaram de 49% a 97%. A formação desses compostos se dá pela reação das diferentes aminas com o cloreto de ácido formado na etapa anterior da reação, via mecanismo de substituição nucleofílica no carbono acídico (esquema 4). O ataque do par de elétrons do nitrogênio da amina ao carbono da carbonila do cloreto de ácido resulta na eliminação do átomo de cloro com formação da amida protonada. A perda de H⁺ que ocorre a seguir resulta na formação da amida.



Esquema 4: Mecanismo de formação das amidas [18-35] pela reação do cloreto de ácido com a amina correspondente.

As 18 novas estruturas sintetizadas apresentam características semelhantes nos espectros no infravermelho, RMN de ¹³C e ¹H, devido ao fato de todos os átomos de carbono e hidrogênio presentes na estrutura do ácido fotossantônico [17] (com exceção do OH) permanecerem na estrutura dos produtos. Por esse motivo, será efetuada a seguir a discussão detalhada sobre a caracterização da estrutura [30], tomada como exemplo, além da discussão sucinta sobre a caracterização das estruturas [18] e [19].

1.3.2.1 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(2'-clorofenilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno)hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [30]

O composto [30] foi obtido como um sólido amarelo claro em 94 % de rendimento, apresentando temperatura de fusão de 124,9 – 126,6 °C.

No espectro de infravermelho de [30] (Figura 11) as principais bandas que sugerem a ocorrência da reação são as observadas em 3338, 1682 e 1594 cm⁻¹, que caracterizam os estiramentos N-H, C=O da amida e a deformação angular da ligação N-H, respectivamente.

Além dessas, a banda em 3032 cm^{-1} surge em decorrência do estiramento $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$ e a banda observada em 1782 cm^{-1} é resultante do estiramento C=O da lactona.

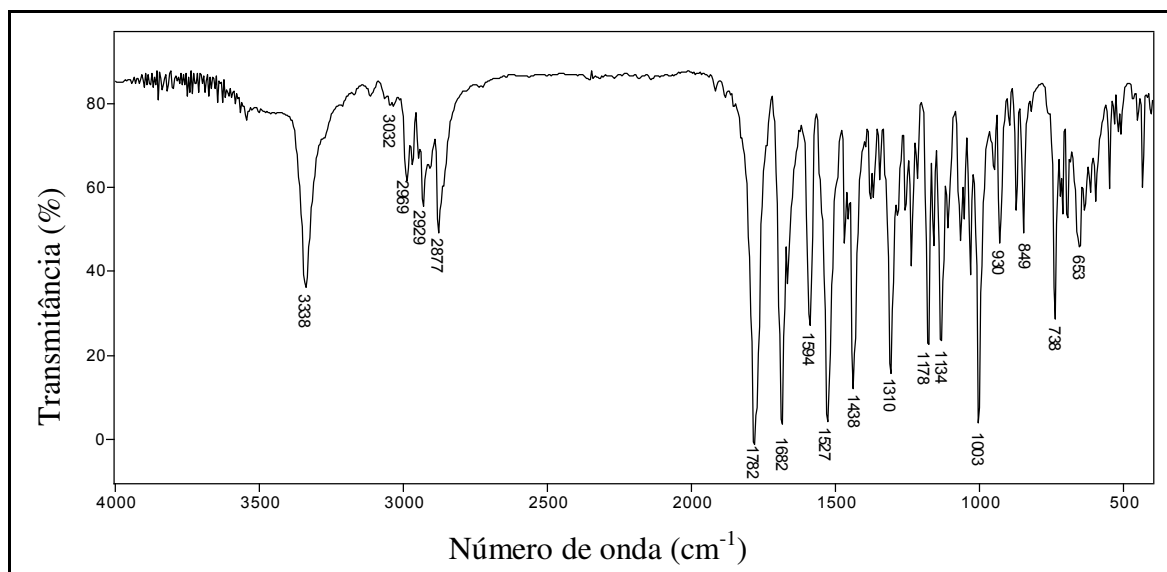


Figura 11: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [30].

No espectro de RMN de ^1H de [30] (Figura 12), a confirmação da estrutura obtida teve início com a observação do sinal em δ 1,24, um duplete integrado para 3 átomos de hidrogênio. O baixo valor para o deslocamento químico, o valor da integração e sua multiplicidade permitiram atribuí-lo ao conjunto de hidrogênios denominados H13. Tendo sido determinado o valor da constante do acoplamento para H13 ($J = 6,9\text{ Hz}$), a análise das demais constantes de acoplamento permitiu atribuir o sinal em δ 2,38 ($J = 6,9\text{ Hz}$) a H11, cujo deslocamento é característico de hidrogênios ligados a carbono sp^3 α à carbonila. A multiplicidade desse sinal (um duplo quarteto) e a integração para 1 hidrogênio também são coerentes com o esperado para H11.

Os simpletos em δ 1,68 e δ 1,79, ambos integrados para três átomos de hidrogênio cada, foram atribuídos a H14 e H15, respectivamente. O duplo duplo duplete observado em δ 3,03 foi atribuído a H2a e a multiplicidade observada é devida aos acoplamentos entre H2a e H2b ($^2J = 16,6\text{ Hz}$), H2a e H3 ($^3J = 5,3\text{ Hz}$) e H2a e H5 ($^5J = 2,0\text{ Hz}$). O duplo duplete em 3,19 foi atribuído a H2b, com constante de acoplamento entre H2b e H2a ($^2J = 16,5\text{ Hz}$) e entre H2b e H3 ($^3J = 9,6\text{ Hz}$).

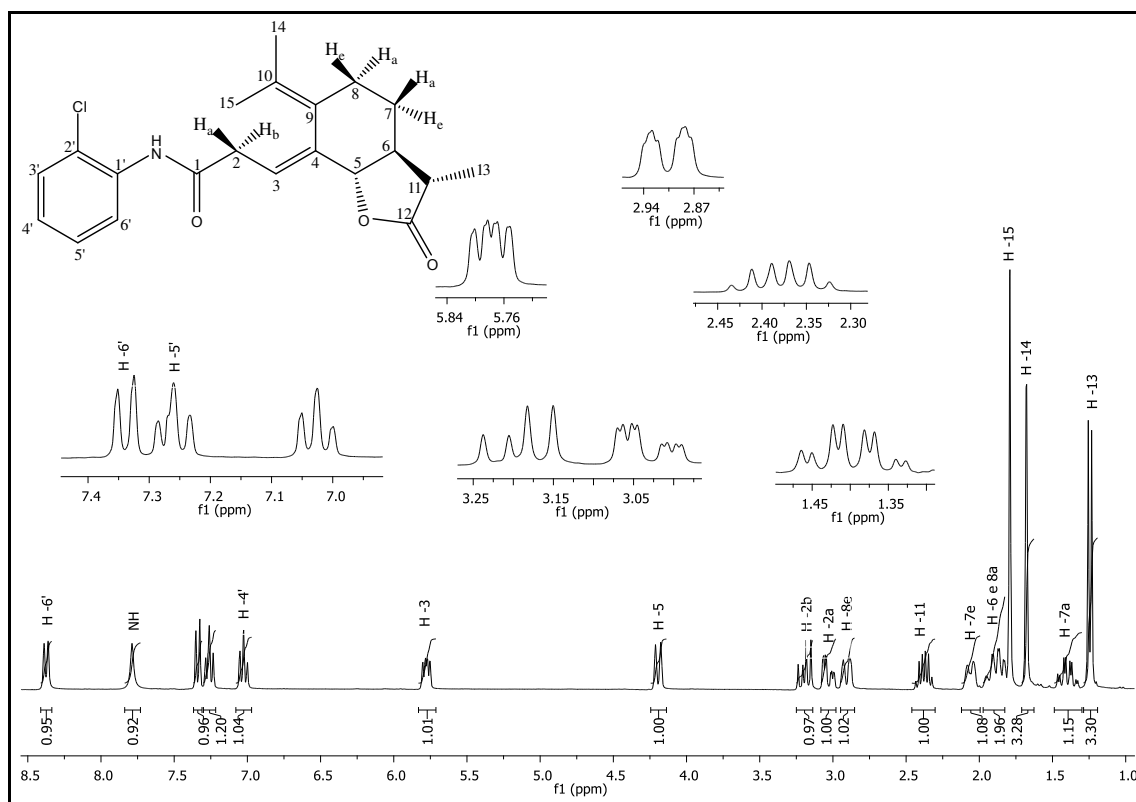


Figura 12: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [30].

O duplete observado em δ 4,19 está de acordo com o esperado para H5 (hidrogênio ligado a carbono sp^3 vizinho de grupos retiradores de elétrons).

O sinal em δ 5,78 aparece na região do espectro característica de hidrogênios ligados a carbonos híbridos sp^2 . Integrado para 1 átomo de hidrogênio, esse sinal foi atribuído a H3, tendo sido observado como um duplo duplo duplete devido aos acoplamentos entre H3 e H2a ($^3J = 5,7$ Hz), H3 e H2b ($^3J = 9,6$ Hz) e H3 e H5 ($^4J = 1,2$ Hz).

A discussão sobre as atribuições dos hidrogênios H6, H7a, H7e, H8a e H8e faz referência à proposição de Martin Karplus (Figura 13), que relaciona a magnitude dos acoplamentos (acoplamento $\text{H}_x\text{-C-C-H}_y$, 3J) com o ângulo diedro da ligação entre eles.

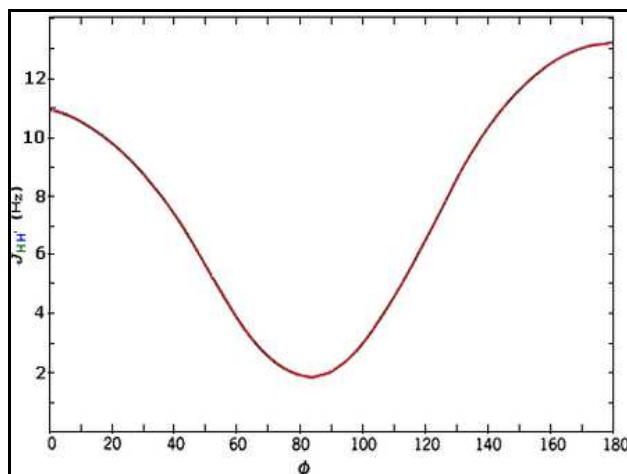


Figura 13: Relação de Karplus – variação aproximada do acoplamento 3J ($H_x-C-C-H_y$) com o ângulo diedro (ϕ).

Com base nesses resultados, torna-se então possível analisar os hidrogênios representados por H6, H7a, H7e, H8a e H8e. A Figura 14, obtida a partir do programa ChemBio3D Ultra 12.0 possibilita uma melhor visualização do arranjo desses e dos demais átomos de [30] no espaço, sendo que a estrutura **II** representa apenas uma rotação da estrutura **I** para facilitar a análise. Nas ilustrações, o hidrogênio H6 (posição axial) foi indicado em vermelho, H7a (axial) foi indicado em azul claro e H7e (posição equatorial) em verde. Em azul escuro foi representado o hidrogênio denominado de H8e (equatorial) e em rosa o H8a (axial), sendo as posições axiais (a) e equatoriais (e), denominações atribuídas aos hidrogênios em anéis de 6 membros na conformação em cadeira.

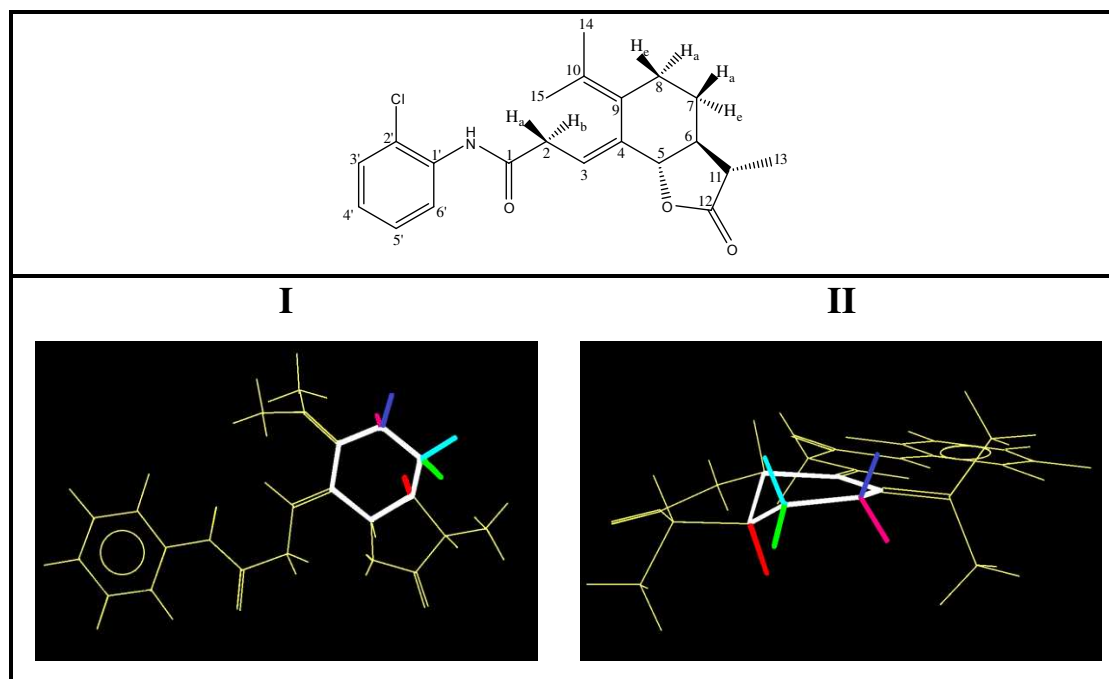


Figura 14: (I) - representação espacial para o composto [30]. (II) - rotação na estrutura de [30] com destaque para os hidrogênios H6 (vermelho), H7a (azul claro), H7e (verde), H8a (rosa) e H8e (azul).

Acoplamento entre hidrogênios que exibem uma relação do tipo axial-axial (a,a), cujo ângulo diedro é próximo de 180° resultam em uma constante de maior magnitude (10-14 Hz). Para as relações do tipo axial-equatorial (a,e) e equatorial-equatorial (e,e), o valor desse ângulo é próximo de 60° e isso resulta em acoplamentos de menor magnitude que o caso anterior (a,e = 2-6 Hz) e (e,e = 2-5 Hz). As faixas para esses valores decorrem das possíveis variações nos ângulos entre as ligações, que se devem a diferenças nos comprimentos entre as ligações C-C envolvidas, a eletronegatividade dos demais substituintes, entre outras.

Acoplamentos geminais (em anéis de seis membros saturados) que ocorrem entre dois hidrogênios de um mesmo carbono (H_x-C-H_y , 2J), são acoplamentos que também resultam em J de maior magnitude (12-18 Hz) (PAVIA, 2010).

Os acoplamentos possíveis (a,a; a,e; e,e; geminal) entre H6, H7a, H7e, H8a e H8e, assim como os ângulos diedros esperados podem ser observados na Figura 15.

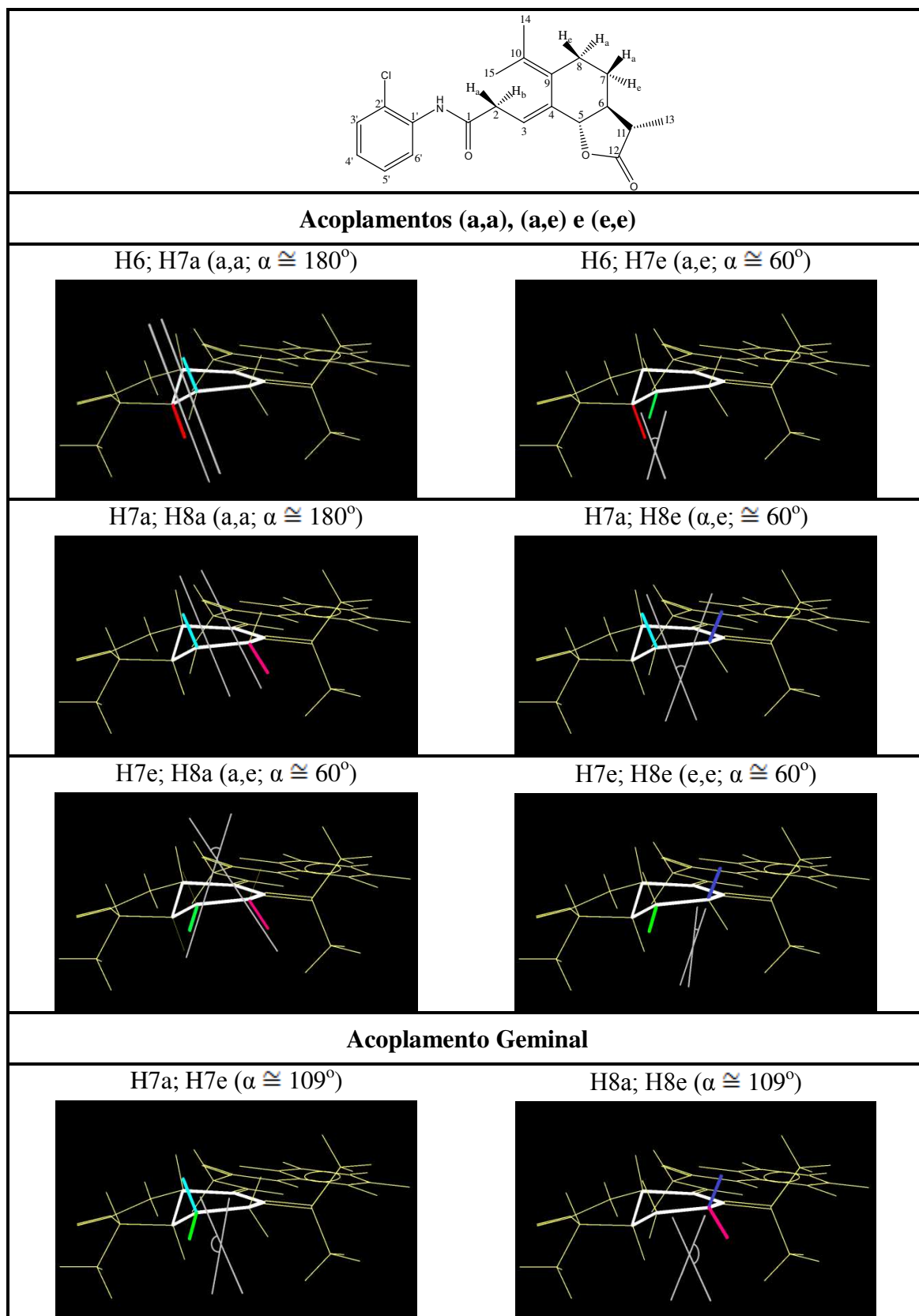


Figura 15: Acoplamentos envolvendo os hidrogênios H6, H7a, H7e, H8a e H8e e valores aproximados para o ângulo diedro esperado.

O desdobramento do sinal em δ 1,40 (dddd, $J = 12,4$ Hz e $J = 4,0$ Hz) integrado para 1 hidrogênio é ilustrado pelo triângulo de Pascal na Figura 16. O valor do deslocamento químico sugere hidrogênios ligados ao carbono C7 (H7a e H7e). Analisando as possibilidades e comparando as previsões com os valores de J calculados, pode-se atribuir esse sinal a H7a. Esse resultado ilustra um caso em que hidrogênios quimicamente distintos (H6; H7e; H8a) acoplam com H7a devido à equivalência magnética que eles exibem.

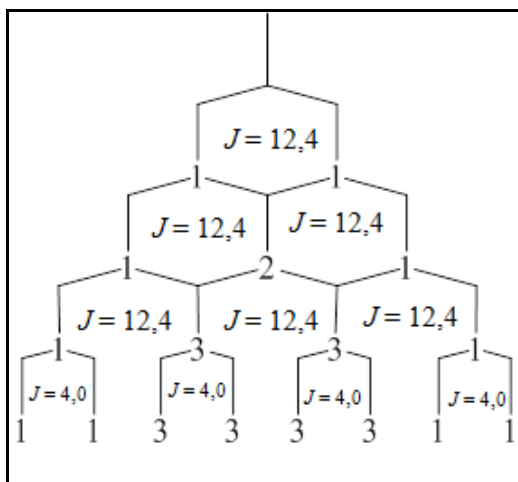


Figura 16: Representação para o desdobramento do sinal em δ 1,40.

O valor para o deslocamento do duplo duplo duplete (ddd) em δ 2,91 ($J = 13,8$; 3,3 e 2,1 Hz) caracteriza a presença de grupos retiradores de elétrons ligados ao carbono em que o hidrogênio se encontra, como o carbono C8 vizinho de uma dupla ligação. Entretanto, a integração para 1 hidrogênio, indica a diferença entre os dois átomos possíveis (H8a e H8e). Efetuando-se a análise das possibilidades, espera-se para H8a dois acoplamentos de maior magnitude e um de menor valor, enquanto para H8e é esperado um valor de J maior e dois outros menores. Assim os valores de J possibilitam atribuir esse sinal a H8e.

Os demais sinais de hidrogênio de [30] envolvidos nessa análise também foram verificados no espectro, porém em um padrão complexo que impossibilitou o cálculo das constantes de acoplamento. O multipletto em δ 1,81-1,93 integrado para 2 átomos de hidrogênio foi atribuído a H8a e H-6 e o multipletto em δ 2,01-2,11 integrado para 1 hidrogênio foi atribuído a H7e, com base nas correlações observadas no mapa de contornos COSY (Figura 17).

Em relação aos sinais que surgem em função da ocorrência da reação e formação da amida composto [30], o tripleto em δ 7,03 ($J = 7,8$ Hz) integrado para 1 átomo de hidrogênio

foi atribuído a H4'. Em δ 7,26 ($J = 8,1$ Hz) observou-se também um tripuleto integrado para um átomo de hidrogênio o qual foi atribuído a H5'. O duplete em δ 7,34 ($J = 7,8$ Hz) integrado para 1 hidrogênio foi atribuído a H3', o simpleto em δ 7,79 foi atribuído ao NH e o duplete em $\delta = 8,37$ ($J = 8,4$ Hz) também integrado para 1 hidrogênio foi atribuído a H6'.

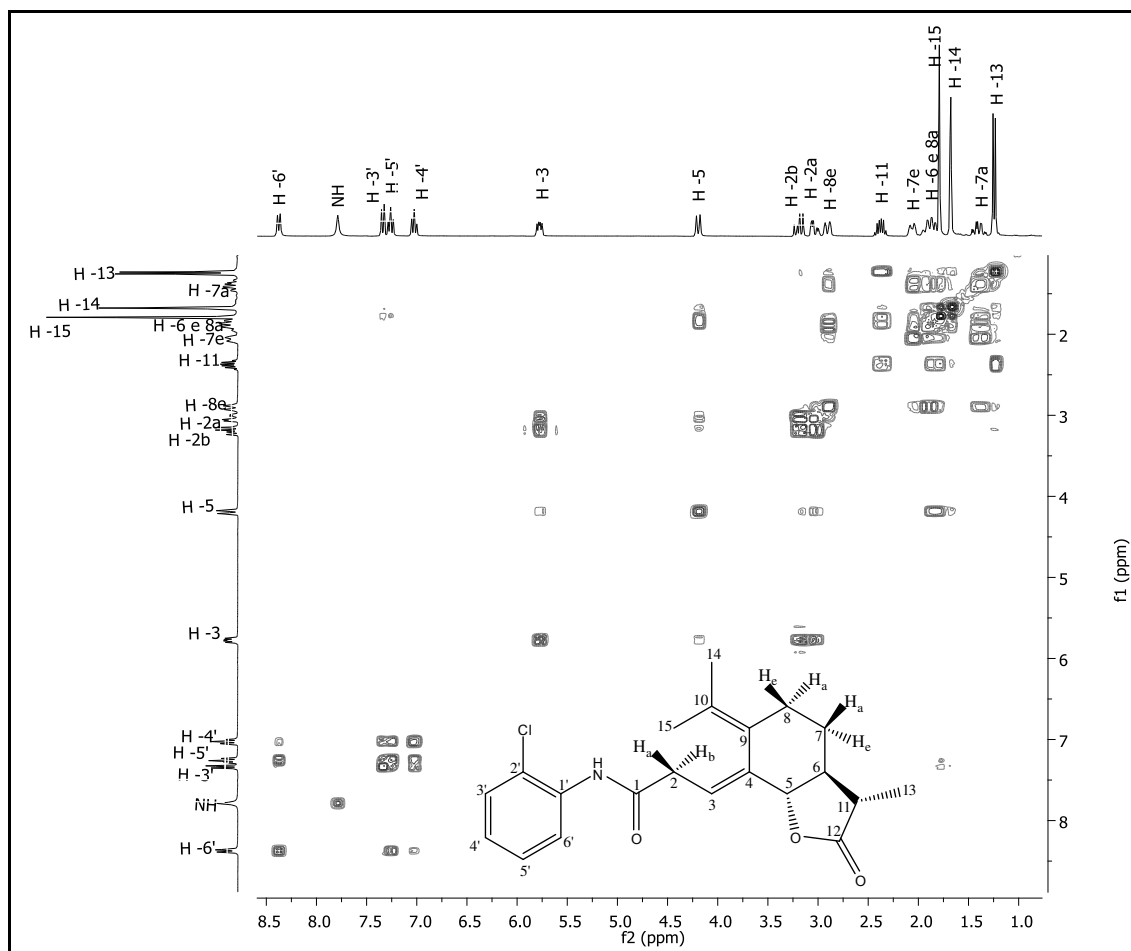


Figura 17: Mapa de contornos COSY para o composto [30].

Tendo sido atribuídos todos os hidrogênios no espectro de RMN de ^1H de [30] a análise das correlações entre esses e os respectivos carbonos foi facilitada pela análise do mapa de contornos HETCOR (Figura 18).

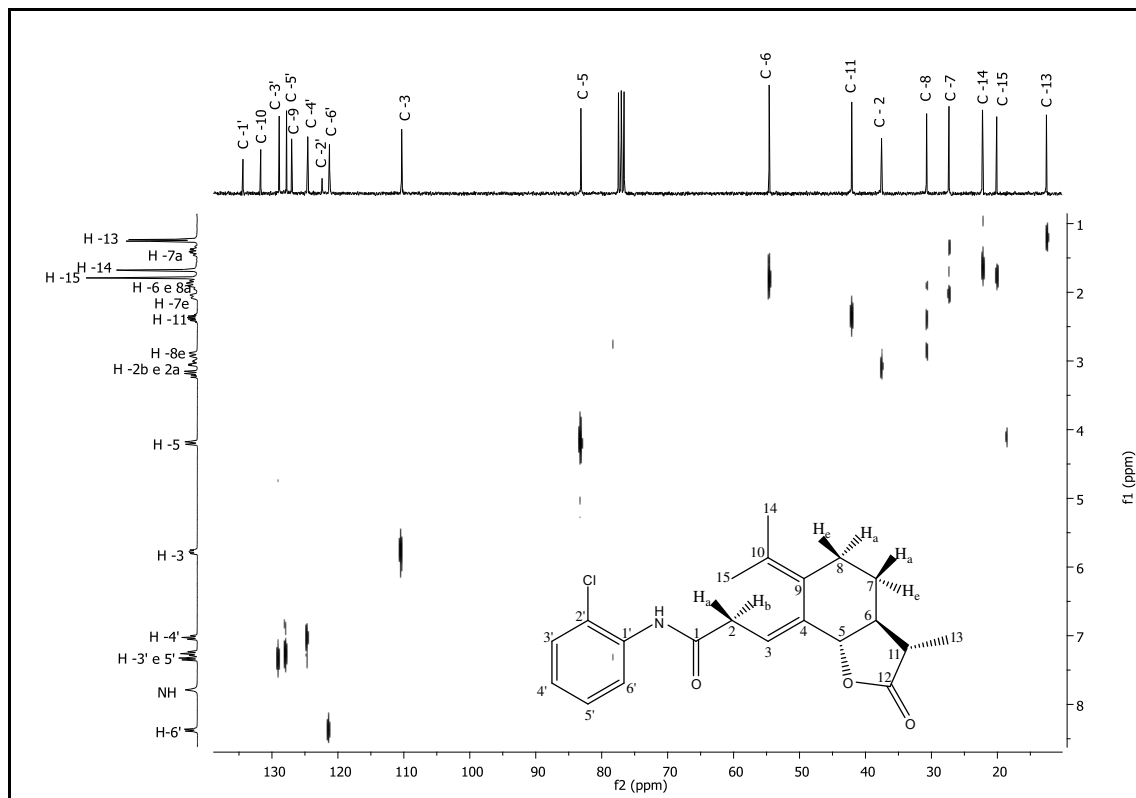


Figura 18: Mapa de contornos HETCOR do composto [30].

No mapa de contornos HETCOR (Figura 18) do composto [30], a análise da correlação observada entre os sinais dos hidrogênios e carbonos possibilitou a atribuição do sinal em δ 12,5 como sendo referente a C13, devido à correlação entre esse sinal e o duplete exibido por H13 (δ 1,24). O dddd (δ 1,40) atribuído ao hidrogênio H7a possibilitou a atribuição do sinal em δ 27,3 como sendo referente ao carbono C7. Similarmente, o ddd (δ 2,91) atribuído ao hidrogênio H8e possibilitou a atribuição do sinal em δ 30,7 como sendo referente ao carbono C8. De modo análogo, o sinal em δ 37,5 foi atribuído a C2, δ 42,0 (C11), δ 54,6 (C6), δ 83,1 (C5), δ 110,3 (C3), δ 121,2 (C6'), δ 122,4 (C2'), δ 124,5 (C4'), δ 127,0 (C9), δ 127,7 (C5'), δ 128,9 (C3'), δ 131,7 (C10), δ 134,3 (C1') e δ 142,8 (C4). Os sinais em δ 169,0 e 178,3 foram atribuídos às carbonilas do ácido carboxílico e da lactona, respectivamente.

Pelo espectro de massas (Figura 19) pode-se confirmar a massa molar do composto. O pico do íon molecular foi observado com intensidade de 18% em m/z 373. Foi observado ainda o pico $[M+2]$ com intensidade de aproximadamente um terço da intensidade exibida pelo íon molecular, o que é característico de compostos com um átomo de cloro na estrutura. Dentre os picos mais intensos, destaca-se o m/z 145, sendo as propostas das fragmentações apresentadas no (esquema 5). A conjugação da carga positiva verificada nesse fragmento justifica sua estabilidade.

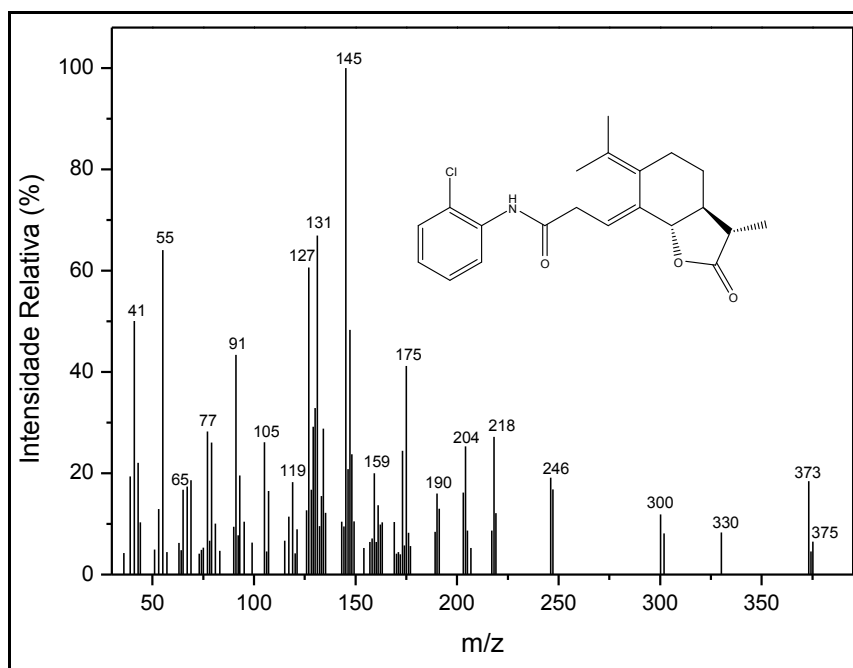
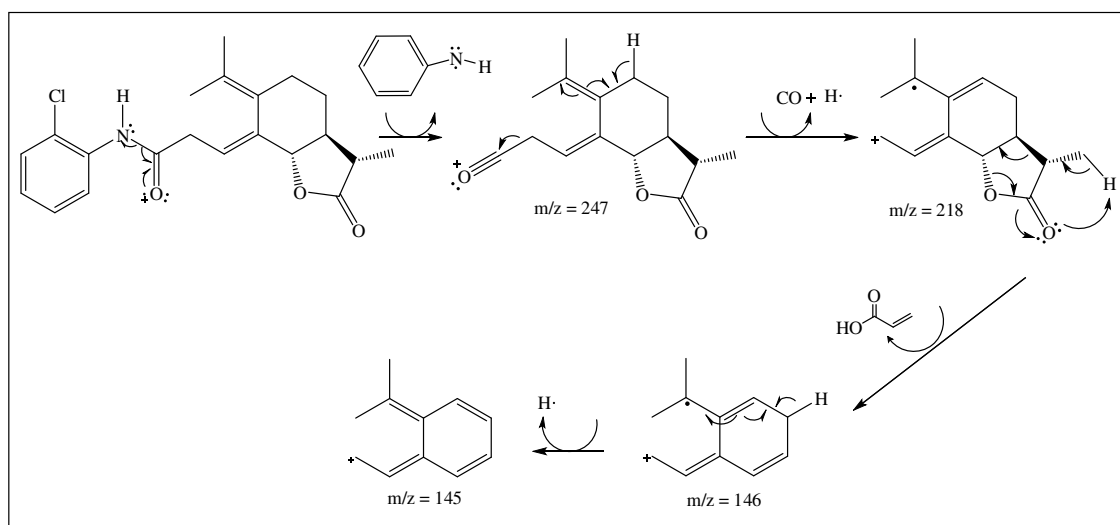


Figura 19: Espectro de massas do composto [30].



Esquema 5: Proposta de fragmentação para o composto [30].

1.3.2.2 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(metilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno) hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [18]

O composto [18] foi obtido como um sólido branco em 83% de rendimento, apresentando temperatura de fusão de (157,3 – 158,4 °C).

No espectro no infravermelho (Figura 20) do composto [18], as principais bandas que indicam a formação da amida aparecem em 3242, 1651 e 1568 cm^{-1} , referindo-se aos estiramentos N-H e C=O da amida e a deformação angular de N-H, respectivamente.

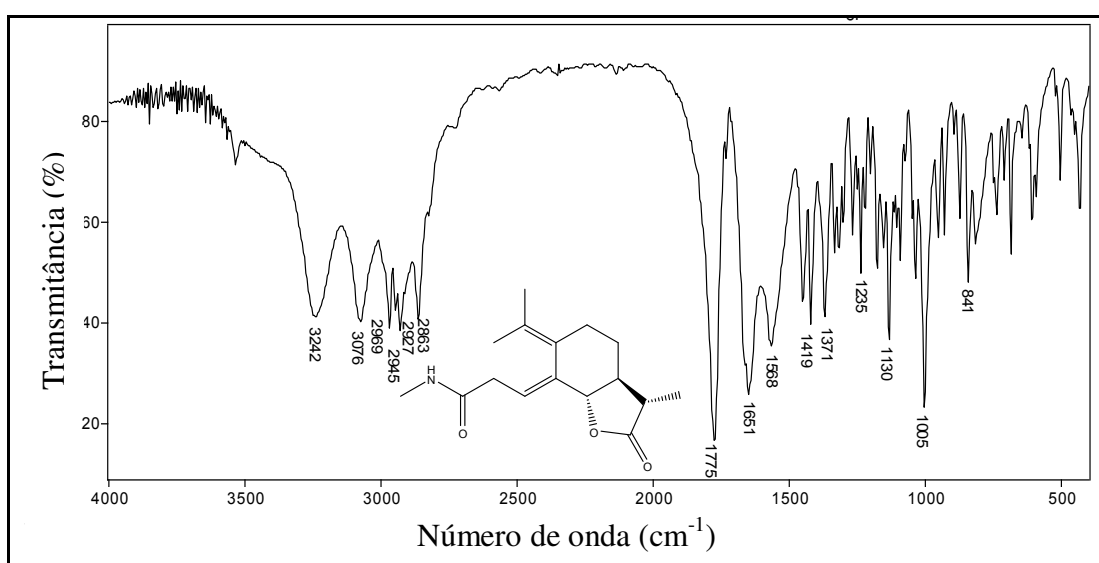


Figura 20: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [18].

No espectro de RMN de ^1H (Figura 21), observa-se o duplete em δ 2,76 integrado para três átomos de hidrogênio, que indica o sucesso da reação. Esse deslocamento químico é compatível com o sinal de hidrogênios cujo carbono está diretamente ligado a um elemento eletronegativo como o nitrogênio. Desse modo, o sinal em δ 2,76 foi atribuído à H1'. O simpleto largo observado em δ 5,85 também é de fundamental importância para a confirmação da reação. A integração desse simpleto largo para um átomo de hidrogênio possibilitou atribuí-lo ao hidrogênio do grupo NH da amida.

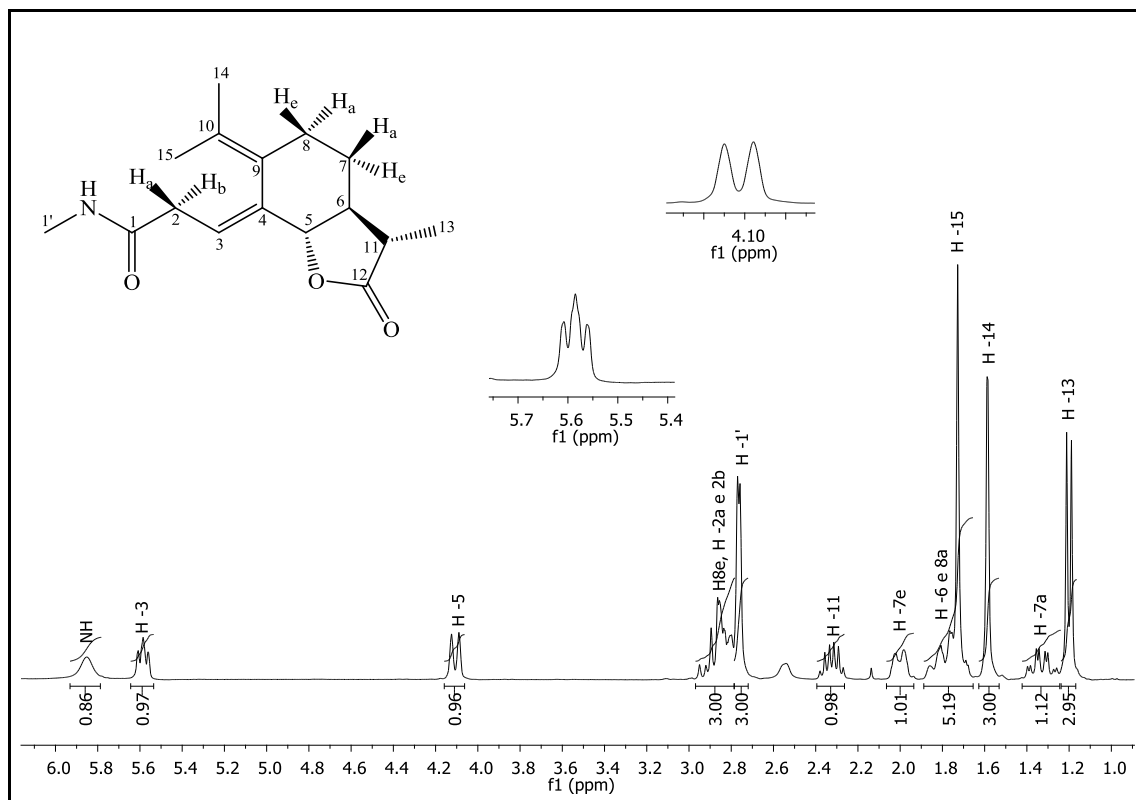


Figura 21: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [18].

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 22), o sinal observado em δ 26,6 foi atribuído a C1'. A observação desse sinal no espectro é fundamental importância para a confirmação da reação, visto que ele é a principal diferença entre o espectro do material de partida e o espectro do produto. Em δ 171,9 pode ser observado o sinal atribuído a C1 (carbonila da amida).

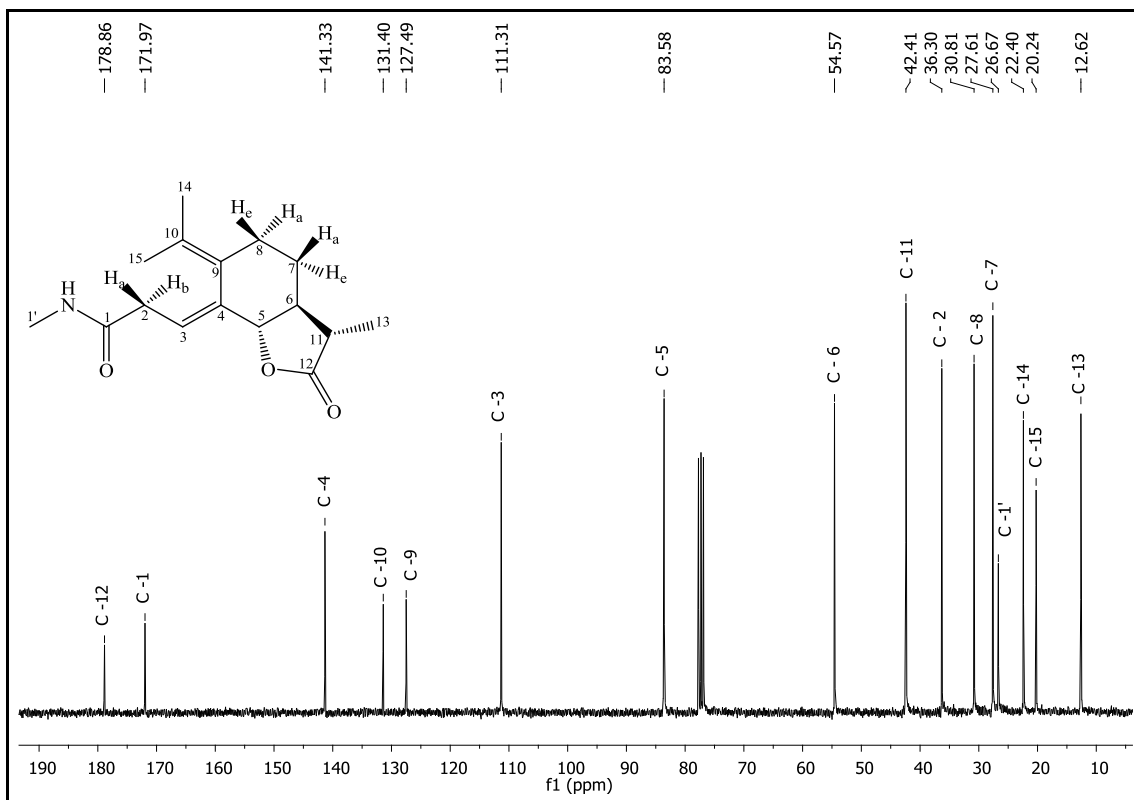


Figura 22: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [18].

A massa molecular do composto foi confirmada através do espectro de massas (Figura 23), exibindo o pico do íon molecular com intensidade de 32% ($m/z = 277$).

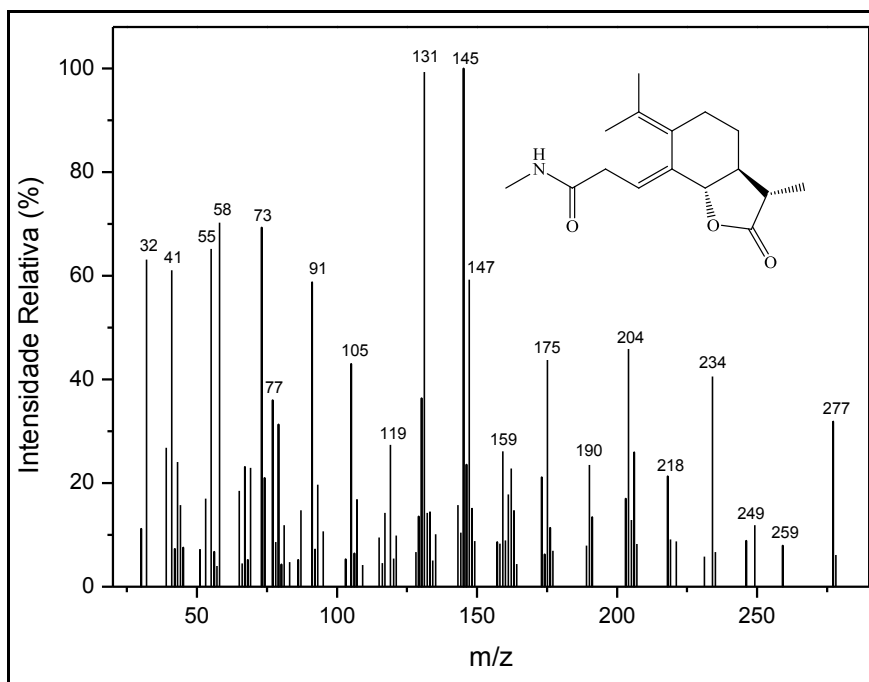


Figura 23: Espectro de massas do composto [18].

1.3.2.3 (5S,6S,11S,E)-4-[1-(etilamino)-1-oxopropilideno]-11-metil-9-(propan-10-ilideno) hexaidrobenzofuran-12(3H)ona [19]

O composto [19] foi obtido como um sólido branco em 95% de rendimento, apresentando temperatura de fusão de (88,0 – 89,0 °C).

As bandas mais importantes para a confirmação da obtenção do composto [19] no espectro no infravermelho (Figura 24) foram observadas em 3254, 1639 e 1568 cm^{-1} , referindo-se aos estiramentos N-H e C=O da amida e a deformação angular de N-H, respectivamente.

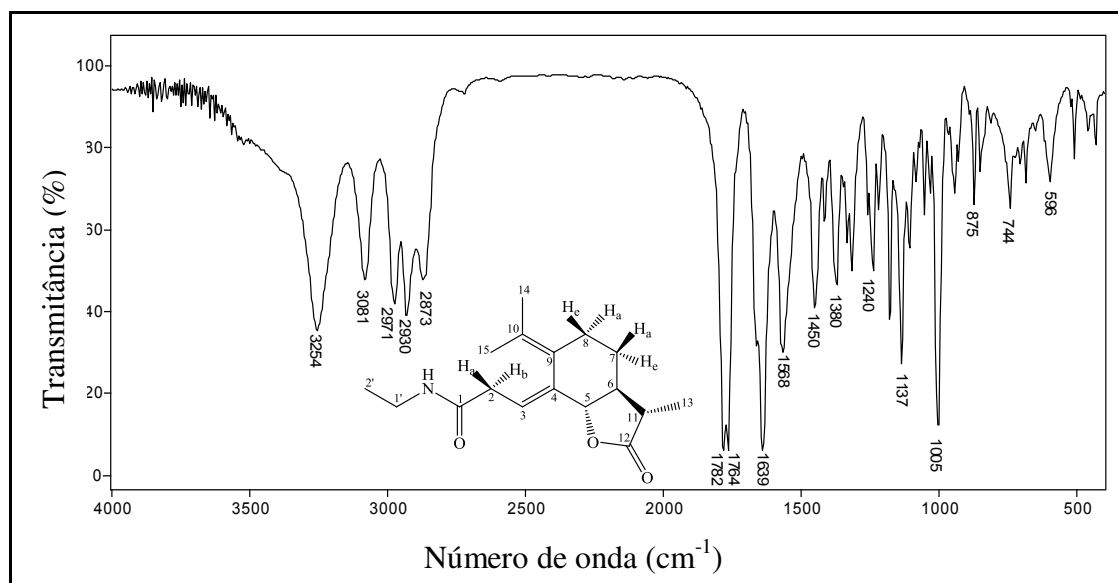


Figura 24: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [19].

No espectro de RMN de ^1H (Figura 25), observam-se como principais sinais que permitem a comprovação da estrutura, o tripleto em δ 1,11 ($J_{2',1'} = 7,3$ Hz) integrado para 2 átomos de hidrogênio atribuído a H2' e o quinteto observado em $\delta = 3,26$ ($J_{1',2'e\text{NH}} = 6,9$ Hz) integrado para dois átomos de hidrogênio atribuído a H1', que acopla com os hidrogênios H2' e NH. Observou-se também um multipletto em δ 5,56-5,69, integrado para 2 átomos de hidrogênio. Comparando esse resultado com o obtido para o ácido fotossantônico [19] foi possível concluir que esse sinal refere-se à superposição nos valores de deslocamento químico para H3 e NH.

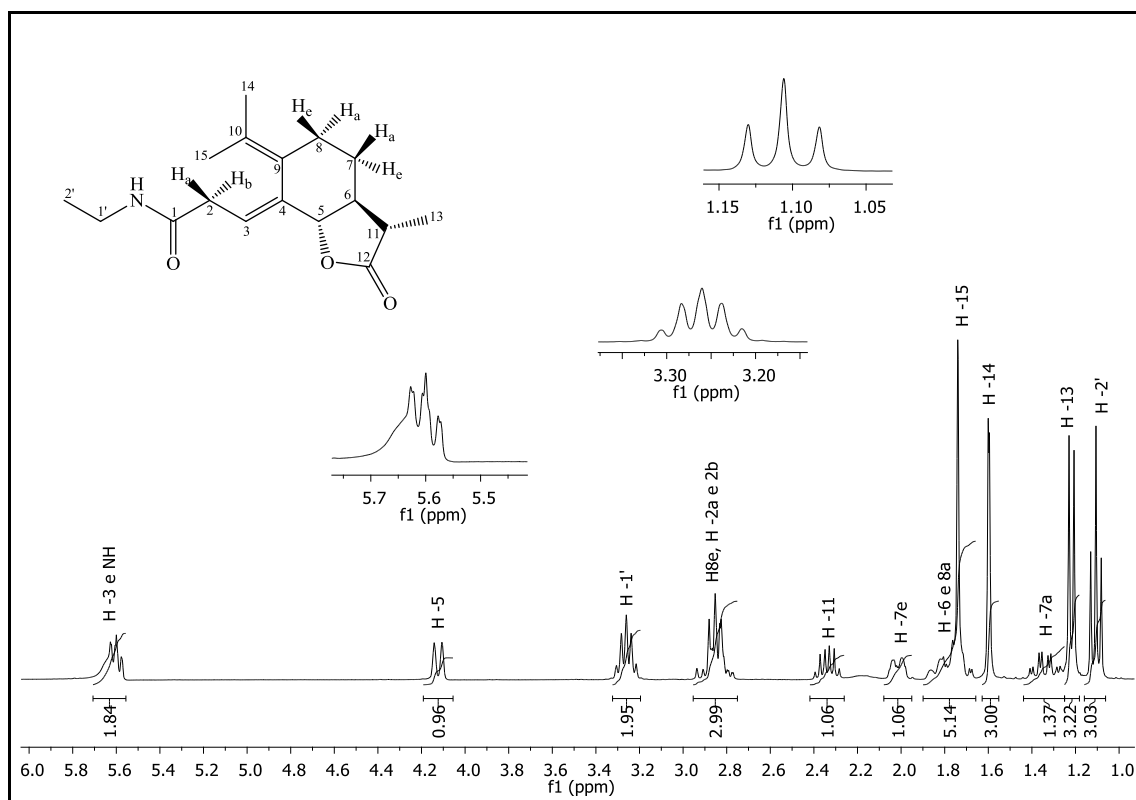


Figura 25: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [19].

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 26) o sinal observado em δ 27,6 foi atribuído a $\text{C}2'$ e o sinal em δ 34,7 foi atribuído ao carbono $\text{C}1'$, sendo esse valor característico de um carbono ligado a um elemento eletronegativo como o nitrogênio. O sinal em δ 170,9 foi atribuído a $\text{C}1$ (carbonila da amida).

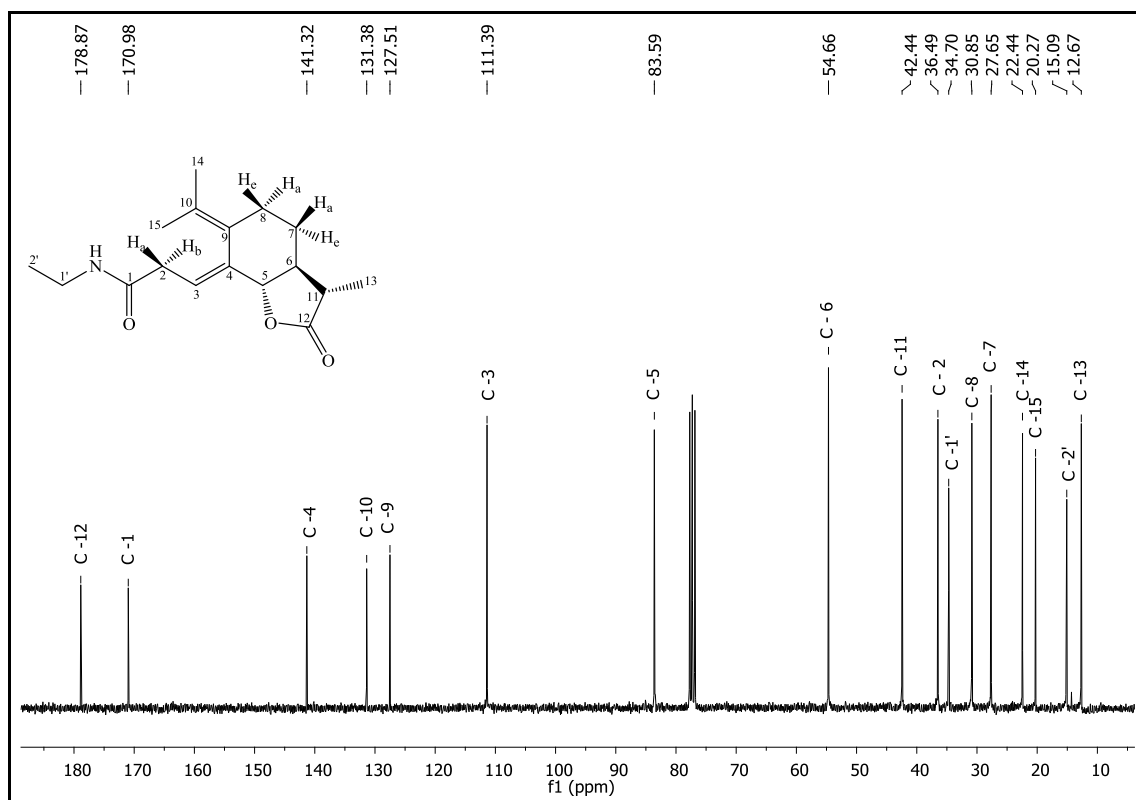


Figura 26: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [19].

As demais amidas também foram caracterizadas de forma semelhante, a partir dos mesmos métodos espectrométricos descritos acima. O conjunto de dados com valores próximos ou coincidentes, os quais se originam da parte da estrutura do ácido que se mantêm em cada um dos produtos, serão resumidamente apresentados na sequência da discussão.

1.3.2.4 Características similares nos espectros no Infravermelho, RMN de ¹³C e ¹H dos compostos [18-35]

Conforme já mencionado, há semelhanças nos resultados obtidos ao ser efetuada a caracterização das 18 novas estruturas sintetizadas, devido ao material de partida e a metodologia serem comuns à síntese das estruturas [18-35].

Nos espectros no infravermelho dos compostos [18-35] as principais bandas que indicam o sucesso da reação são as bandas que se referem ao estiramento das ligações N-H e as bandas atribuídas ao estiramento C=O da carbonila da amida. Efetuando-se uma comparação entre o espectro do ácido fotossantônico [17] e o espectro do produto [22], por

exemplo, (Figura 27), pode-se observar que a banda larga que foi atribuída ao estiramento da ligação O-H não é observada no espectro do produto. Em 3262 cm^{-1} pode ser observada uma nova banda, cujo aspecto mais alongado e a região em que foi observada permite atribuí-la ao estiramento da ligação N-H da amida.

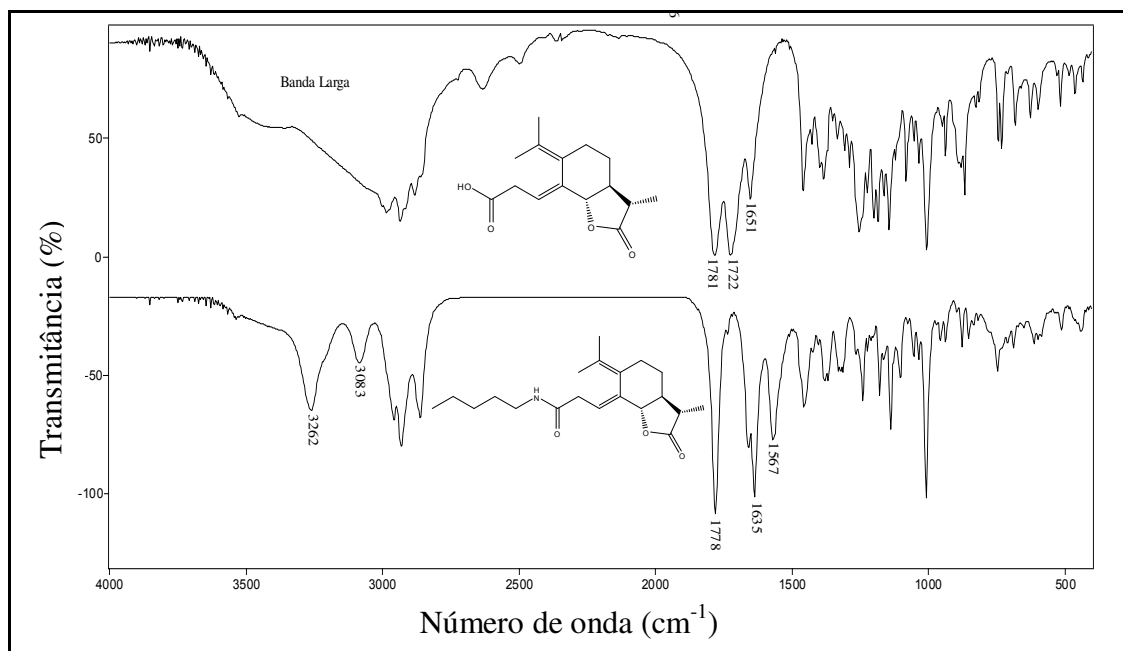


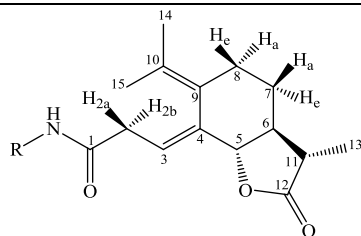
Figura 27: Espectros no infravermelho (pastilha de KBr) para os compostos [17] e [22].

A banda em 3083 cm^{-1} assinalada no espectro do produto [22] refere-se ao estiramento C-H de carbonos com hibridização sp^2 . Essa banda também deveria ter sido observada no espectro do composto [17], porém com o alargamento da banda de estiramento O-H não foi possível observá-la. A banda atribuída ao estiramento da carbonila da lactona exibiu uma pequena variação no valor observado para o espectro do material de partida e dos produtos, porém a banda antes observada em 1722 cm^{-1} e atribuída ao estiramento da carbonila do ácido carboxílico em [17] desapareceu no espectro do composto [22], sendo observada uma nova banda intensa em 1635 cm^{-1} , banda essa que caracteriza o estiramento (C=O) em amidas. Essa banda foi observada na mesma região característica do estiramento da ligação C=C e em vários dos espectros no infravermelho para os compostos [18-35] foram observadas sobreposições. A banda observada em 1567 cm^{-1} no espectro do composto [22], região em que não foi verificada qualquer banda no espectro do material de partida, surge em decorrência da deformação angular da ligação N-H da amida (BARBOSA, 2007).

Em relação aos dados de RMN de ^1H dos compostos [18-35], a análise desses espectros foi resumida na tabela 3 e possibilita constatar que o duplete em δ 1,61 e o simpleto em δ 1,75 atribuídos, respectivamente, a H14 e H15 no espectro do ácido fotossantônico [17], assim como o duplete em δ 1,21 atribuído a H13 ($J_{13,11} = 6,9$ Hz), foram verificados nos espectros de todos os produtos com valores de δ e J muito próximos aos valores da referência. A diferença a ser destacada é o sinal atribuído a H14 nos produtos, que não foi observado como duplete em nenhum desses espectros. O multiplete em δ 1,94-2,06 atribuído a H7e e o multiplete em δ 1,68-1,90 atribuído a sobreposição dos sinais gerados por H6 e H8a no espectro de [17] foram observados também como multipletos nos espectros das amidas [18-35], com pequenas variações nos valores de δ . Para os compostos [26], [34] e [35], houve sobreposição dos sinais de H7e e H6/H8a com outros sinais presentes em cada estrutura.

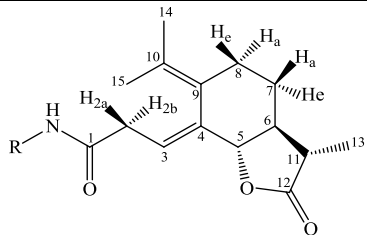
Tabela 3: Comparação entre os sinais de H6, H8a, H7e, H13, H14 e H15 atribuídos para o ácido fotossantônico [17] e para os compostos [18-35].

Composto	R	H6 e H8a	H7e	H13		H14	H15
		m	m	d	$J_{13,11}$	s	S
17	---	1,68-1,90	1,94-2,06	1,21	6,9	1,61 (d)	1,75
18	Metil	1,66-1,89	1,95-2,06	1,20	6,9	1,59	1,73
19	Etil	1,65-1,89	1,96-2,07	1,22	6,9	1,60	1,74
20	Propil	1,66-1,89	1,97-2,07	1,22	6,9	1,60	1,74
21	Butil	1,65-1,89	1,94-2,08	1,22	6,9	1,60	1,74
22	Pentil	1,69-1,89	1,96-2,07	1,21	6,9	1,60	1,74
23	Hexil	1,68-1,89	1,96-2,08	1,21	6,9	1,60	1,74
24	Isopropil	1,65-1,89	1,95-2,07	1,22	6,9	1,60	1,74
25	Isobutil	1,65-1,89	1,97-2,07	1,22	6,9	1,62	1,75
26	Cicloexil	1,52-1,91	1,96-2,06	1,21	6,9	1,59	1,74
27	Fenil	1,70-1,93	1,97-2,07	1,22	6,9	1,65	1,76
28	4-bromofenil	1,69-1,92	1,98-2,10	1,22	6,9	1,64	1,77
29	4-clorofenil	1,70-1,88	1,99-2,09	1,23	6,9	1,64	1,77
30	2-clorofenil	1,81-1,93	2,01-2,11	1,24	6,9	1,68	1,79
31	2,5-dimetoxifenil	1,79-1,96	2,00-2,10	1,25	6,8	1,67	1,77
32	4-metilfenil	1,70-1,92	1,97-2,10	1,23	6,9	1,65	1,77
33	Benzil	1,63-1,84	1,90-2,02	1,17	6,8	1,59	1,73
34	4-benzilpiperidinil	1,64-1,93	1,97-2,17	1,23	6,9	1,60	1,75
35	2-pirrolidiniletal	1,66-1,91	1,93-2,05	1,20	6,9	1,60	1,73



Pela análise dos valores para os sinais de RMN de ^1H apresentados na tabela 4, pode-se ainda verificar que o sinal atribuído ao hidrogênio H7a (dddd) no espectro da maioria dos produtos exibiu valores para δ e J muito semelhantes aos observados para o ácido [17]. Nos casos em que esse sinal foi observado como um multiplete, para os compostos [21-23], [26] e [34] o valor para a faixa do deslocamento químico é compatível com os resultados obtidos para esse sinal nas demais estruturas. O sinal atribuído a H8e (δ 2,82; ddd) no espectro de [17] foi atribuído a um multiplete nos espectros de todos os produtos. Para os compostos [18-26] [34] e [35] foi verificada a sobreposição do sinal (H8e) a outros sinais presentes na estrutura.

Tabela 4: Comparação entre os sinais de H7a e H8e atribuídos para o ácido fotossantônico [17] e para os compostos [18-35].

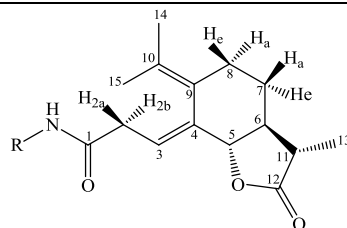
					
ATRIBUIÇÃO					
Composto	R	H7a (dddd)			H8e (m)
		δ	$J_{7a,7e} = J_{7a,8a} = J_{7a,6}$	$J_{7a,8e}$	δ
17	---	1,31	12,4	3,9	2,82 (ddd)
18	Metil	1,32	12,5	4,1	2,68-2,97
19	Etil	1,34	12,5	4,2	2,75-2,95
20	Propil	1,34	12,4	4,1	2,76-2,96
21	Butil	1,26-1,38	---	---	2,76-2,95
22	Pentil	1,23-1,38	---	---	2,74-3,00
23	Hexil	1,23-1,39	---	---	2,75-2,98
24	Isopropil	1,34	12,4	4,0	2,74-2,93
25	Isobutil	1,35	12,4	4,0	2,79-2,97
26	Cicloexil	1,18-1,42	---	---	2,75-2,93
27	Fenil	1,35	12,4	4,0	2,80-2,91
28	4-bromofenil	1,36	12,4	4,0	2,83-2,91
29	4-clorofenil	1,36	12,5	3,9	2,82-2,93
30	2-clorofenil	1,40	12,4	4,0	2,86-2,95
31	2,5-dimetoxifenil	1,39	12,4	3,9	2,84-2,93
32	4-metilfenil	1,36	12,4	4,0	2,82-2,92
33	Benzil	1,30	12,5	3,9	2,74-2,86
34	4-benzilpiperidinil	1,26-1,52	---	---	2,74-2,94
35	2-pirrolidiniletal	1,33	12,5	3,9	2,74-2,97

Na tabela 5 são apresentados os valores dos sinais atribuídos a H5, H2a, H2b e H3 nos espectros de [17] e dos compostos [18-35]. Para o sinal atribuído a H5, os valores nos deslocamentos químicos dos produtos foram pouco variáveis quando comparados ao composto [17]. Entretanto, o acoplamento via 4 ligações químicas observado entre H5 e H3 no espectro do material de partida não foi detectado em nenhum dos sinais dos produtos. Nestes, H5 foi atribuído a um duplete resultante do acoplamento entre H5 e H6 e não mais como um duplo duplete como em [17]. O valor calculado para as constantes desse acoplamento variou de 10,6 a 10,9 Hz. No espectro do composto [24] foi observada sobreposição do sinal gerado por H5 com o de outro hidrogênio dessa estrutura, o que resultou no multiplete em δ 3,98-4,17, sendo essa faixa de deslocamento químico coerente com os demais sinais.

O sinal atribuído a H3 no espectro do composto [17] foi o multiplete em δ 5,60-5,68. Em alguns dos produtos [19-23], [25] e [35] o sinal atribuído a esse hidrogênio foi observado também no espectro como um multiplete, caso em que H3 acopla com H2a e H2b de forma diferente, mas não suficiente para possibilitar o cálculo das constantes envolvidas. Nos espectros dos compostos [24], [26-29] e [32-34] o sinal referente a H3 foi observado com um triplete, pois nessas estruturas a diferença entre H2a e H2b na conformação de menor energia é muito pouco significativa. O acoplamento entre esses hidrogênios e H3 exibe então constantes equivalentes ($J_{3,2} = J_{2,3}$). Para os compostos [30] e [31] o sinal de RMN de ^1H atribuído a H3 aparece no espectro como um duplo duplo duplete. Nesses casos, a diferença entre os hidrogênios H2a e H2b é grande o suficiente e permite a determinação das constantes de acoplamento envolvidos. O valor de $J = 9,6$ Hz pode ser atribuído ao acoplamento entre H3 e H2b, devido ao maior ângulo esperado entre essas ligações. Os valores de $J = 5,7$ Hz no composto [30] e $J = 5,3$ Hz no espectro de RMN de ^1H do composto [31] referem-se ao acoplamento entre H3 e H2a em cada estrutura, cujo menor valor para a constante desse acoplamento é coerente com o menor ângulo esperado entre as ligações de H3 e H2a. Os valores de $J = 1$ Hz no composto [30] e $J = 1,5$ Hz no composto [31] apresenta valor coerente com o esperado para o acoplamento alílico entre H3 e H5 (4J).

Os hidrogênios H2a e H2b foram atribuídos a um multiplete tanto em [17] como na maioria dos produtos [18-29] e [32-35]. Porém, nos compostos [31] e [32], H2a foi atribuído a um duplo duplo duplete e H2b a um duplo duplete, respectivamente.

Tabela 5: Comparação entre os sinais de H3, H5 e H2a H2b atribuídos para o ácido fotossantônico [17] e para os compostos [18-35].



	R	H3			H5 (d)		H2a e 2b
		δ	Multiplicidade	$J_{3,2}$	δ	$J_{5,6}$	δ
17	---	5,60-5,68	m	---	4,11	10,7;1,5	2,88-3,06
18	Metil	5,56	t	6,9	4,11	10,7	2,68-2,97
19	Etil	5,56-5,69	m	---	4,12	10,7	2,75-2,95
20	Propil	5,55-5,69	m	---	4,13	10,6	2,76-2,96
21	Butil	5,53-5,67	m	---	4,13	10,7	2,76-2,95
22	Pentil	5,50-5,74	m	---	4,12	10,7	2,74-3,00
23	Hexil	5,54-5,72	m	---	4,12	10,7	2,75-2,98
24	Isopropil	5,60	t	6,9	3,98-4,17	---	2,74-2,93
25	Isobutil	5,57-5,70	m	---	4,13	10,6	2,79-2,97
26	Cicloexil	5,59	t	6,7	4,11	10,6	2,75-2,93
27	Fenil	5,73	t	6,7	4,14	10,7	2,93-3,13
28	4-bromofenil	5,71	t	6,7	4,14	10,7	2,93-3,12
29	4-clorofenil	5,71	t	6,7	4,15	10,8	2,94-3,14
30	2-clorofenil	5,78	ddd	9,6; 5,7; 1,2	4,19	10,7	3,03 (H2a); 3,19 (H2b)
31	2,5-dimetoxifenil	5,78	ddd	9,6; 5,3; 1,5	4,18	10,7	2,98 (H2a); 3,14 (H2b)
32	4-metilfenil	5,73	t	---	4,15	10,7	2,92-3,13
33	Benzil	5,63	t	---	4,06	10,6	2,86-3,01
34	4-benzilpiperidinil	5,60	t	6,9	4,12	10,6	2,74-2,94
35	2-pirrolidiniletil	5,57-5,63	m	---	4,11	10,6	2,74-2,97

Nos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos [18-35], também estão presentes todos os sinais verificados no material de partida. Desse modo, a tabela 6 foi construída no intuito de simplificar as análises. Pode-se constatar porque as modificações efetuadas na estrutura do ácido fotossantônico [17] e que resultaram nos compostos [18-35] não ocasionaram mudanças muito significativas nos sinais atribuídos a C5 até C15, devido à distância em que esses átomos se situam na estrutura em relação ao sítio de modificação. Os carbonos dos produtos que tiveram os seus deslocamentos químicos alterados em relação ao composto [17] foram C1, C2, C3 e C4, sendo que para os carbonos C2, C3 e C4, essa diferença foi pequena. Os sinais observados nos espectros de RMN de ^{13}C para os carbonos C1 nas estruturas dos produtos são, sem dúvida, os que mais exibiram diferença em relação ao ácido fotossantônico [17], visto que a modificação da estrutura ocorre nesse carbono. Todos os valores dos sinais dos carbonos da carbonila (C=O) da amida apareceram mais blindados e são coerentes com os valores esperados.

Tabela 6: Comparação entre os sinais dos carbonos (C1-C15) do composto [17] e dos compostos [18-35].

	R	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15
17	---	178,2	34,0	110,5	140,3	83,5	54,3	27,6	30,5	127,7	131,1	42,4	178,9	12,6	22,3	20,1
18	Metil	171,9	36,3	111,3	141,3	83,5	54,5	27,6	30,8	127,4	131,4	42,4	178,8	12,6	22,4	20,2
19	Etil	170,9	36,4	111,3	141,3	83,5	54,6	27,6	30,8	127,5	131,3	42,4	178,8	12,6	22,4	20,2
20	Propil	171,1	36,5	111,3	141,3	83,5	54,7	27,6	30,8	127,4	131,4	42,4	178,8	12,6	22,4	20,2
21	Butil	171,0	36,5	111,4	141,3	83,5	54,7	27,6	30,8	127,4	131,3	42,4	178,8	12,6	22,4	20,2
22	Pentil	171,0	36,5	111,4	141,3	83,5	54,7	27,6	30,8	127,4	131,3	42,4	178,8	12,6	22,4	20,2
23	Hexil	170,9	36,5	111,4	141,3	83,5	54,7	27,6	30,8	127,4	131,3	42,4	178,8	12,6	22,4	20,2
24	Isopropil	170,1	36,5	111,4	141,3	83,6	54,7	27,6	30,8	127,5	131,2	42,4	178,8	12,6	22,4	20,2
25	Isobutil	171,0	36,5	111,4	141,4	83,5	54,8	27,6	30,9	127,4	131,4	42,4	178,8	12,7	22,4	20,2
26	Cicloexil	170,2	36,5	111,4	141,3	83,5	54,7	27,6	30,8	127,6	131,2	42,4	178,7	12,6	22,4	20,2
27	Fenil	169,5	37,5	111,2	141,7	83,6	54,6	27,6	30,9	127,6	131,4	42,4	178,8	12,6	22,4	20,2
28	4-bromofenil	169,4	37,5	110,9	141,9	83,5	54,7	27,6	30,9	127,5	131,5	42,4	178,8	12,6	22,4	20,3
29	4-clorofenil	169,4	37,4	110,8	141,9	83,5	54,7	27,6	30,9	127,5	131,5	42,4	178,8	12,6	22,5	20,3
30	2-clorofenil	169,0	37,5	110,3	142,8	83,1	54,6	27,3	30,7	127,0	131,7	42,0	178,3	12,5	22,2	20,1
31	2,5-dimetoxifenil	169,1	37,8	111,1	142,1	83,5	54,7	27,6	30,8	127,3	131,6	42,4	178,6	12,7	22,4	20,3
32	4-metilfenil	169,2	37,4	111,2	141,8	83,6	54,7	27,6	30,9	127,5	131,5	42,4	178,8	12,6	22,5	20,3
33	Benzil	171,0	36,4	111,3	141,4	83,5	54,5	27,6	30,8	127,5	131,3	42,3	178,8	12,6	22,4	20,2
34	4-benzilpiperidinil	170,3	36,5	111,4	141,4	83,5	54,7	27,6	30,9	127,5	131,3	42,4	178,8	12,7	22,4	20,2
35	2-pirrolidiniletil	171,2	36,4	111,7	141,1	83,6	54,6	27,7	30,7	127,5	131,1	42,4	178,8	12,6	22,3	20,2

1.4 CONCLUSÕES

Esse trabalho descreve a síntese de 18 compostos inéditos [18-35], cujo procedimento sintético desenvolvido inicia-se com a obtenção do ácido fotossantônico [17], que por sua vez foi obtido a partir do produto natural α -santonina [12].

A reação de [17] com cloreto de oxalila resultou na formação *in situ* do cloreto de ácido, que via reação de substituição nucleofílica com diferentes aminas possibilitou a síntese dos compostos [18-35] em rendimentos que variaram de 49% a 97%. Essas estruturas foram caracterizados por meio das análises dos espectros no infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C e experimentos bidimensionais COSY e HETCOR. A massa molecular foi confirmada por espectrometria de massas.

Vale ressaltar que há poucos relatos na literatura sobre a utilização do ácido fotossantônico [17] como modelo para a síntese de novas amidas. Esse fato, associado ao pouco conhecimento sobre o potencial biológico da nova classe de compostos sintetizados nesse trabalho, torna-se relevante a realização de bioensaios que possibilitem um maior conhecimento desse provável potencial, a fim de direcionar trabalhos futuros.

CAPÍTULO 2

ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTICÂNCER

2.1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) prevê que, no ano de 2030, aproximadamente 27 milhões de novos casos de câncer sejam verificados no mundo. No Brasil, a previsão ainda para 2013 é de 385 mil novos casos, não inclusos nessa previsão os casos de câncer de pele não melanoma (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Um dos principais tratamentos para câncer é a quimioterapia, em que são aplicados fármacos que tem como finalidade destruir as células cancerígenas. Dentre os fármacos introduzidos no mercado para tratamento do câncer, 60% originam-se de produtos naturais (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010).

A Camptotecina [36] (Figura 28) isolada da planta *Camptotheca acuminata*, é exemplo de um fármaco de fonte natural comercializado devido a ação antiproliferativa sobre diversas linhagens de células tumorais. Alterações na estrutura desse composto possibilitaram a obtenção de dois derivados também ativos, o topotecano [37] e o irinotecano [38], comercializados com os nomes de (Hycamtin[®]) e (Camptosar[®]), respectivamente. Outro exemplo de fármaco comercial anticâncer desenvolvido a partir de um produto natural é o etoposídeo (VP-16) [39] (YAMAZAKI *et al.*, 2003; COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010).

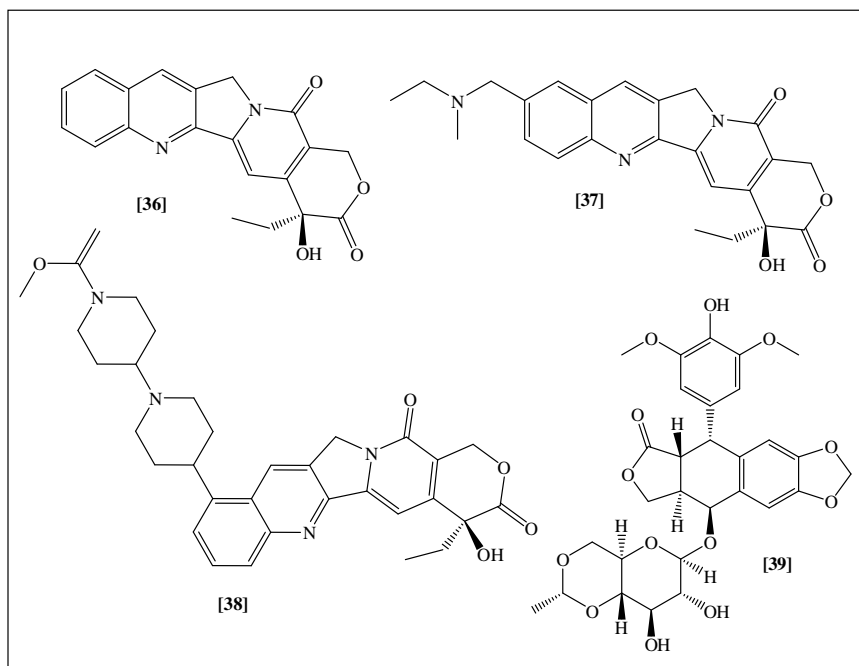


Figura 28: Princípios ativos de alguns fármacos comerciais anticâncer.

O potencial farmacológico exibido por diversos produtos naturais e seus derivados, associado à crescente demanda por novos compostos ativos contra diferentes tipos de câncer motivaram os ensaios de citotoxicidade dos 18 compostos inéditos sintetizados nesse trabalho [18-35] contra uma linhagem de células leucêmicas (Jurkat). O ácido fotossantônico [17] e a α -santonina [12] também foram avaliados (Figura 29).

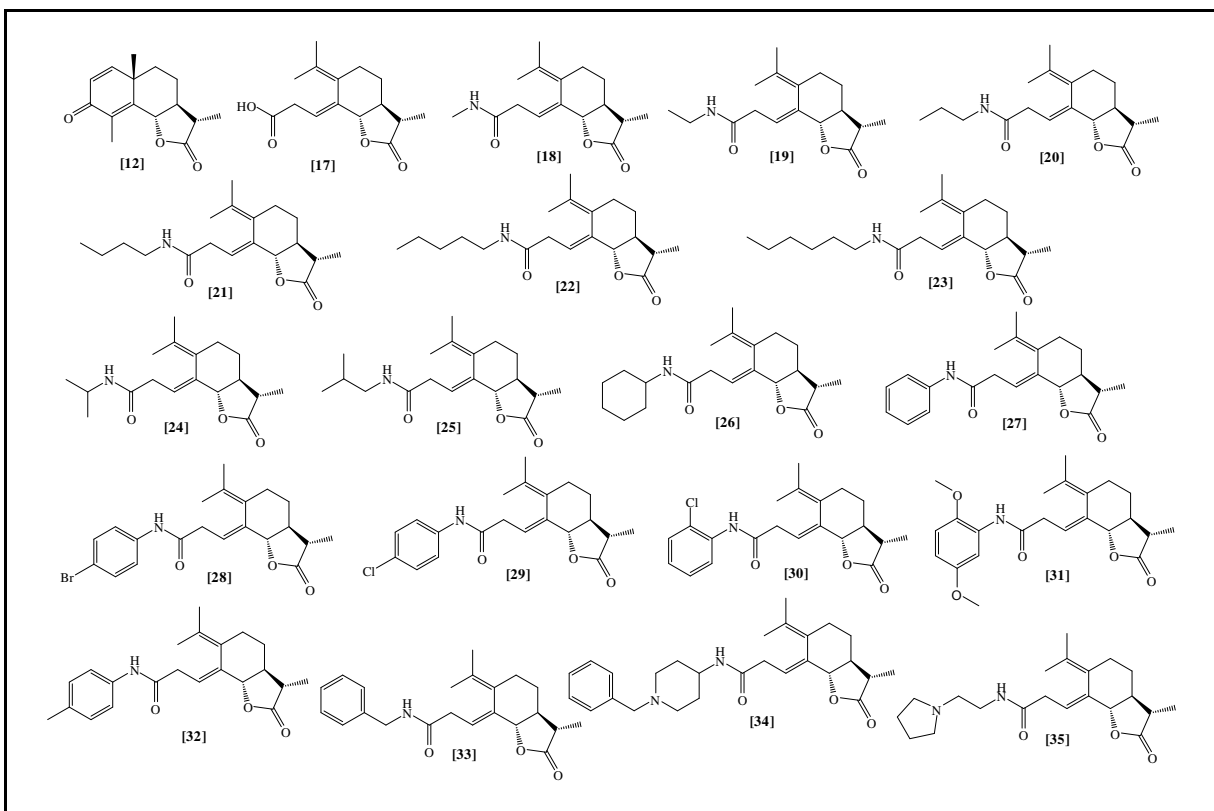


Figura 29: Compostos [12], [17] e [18-35] avaliados no bioensaio de atividade anticâncer.

Os bioensaios de atividade citotóxica dos compostos [12] e [17-35] foram desenvolvidos no Laboratório de Infectologia Molecular Animal (LIMA), situado no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

A linhagem de células humanas Jurkat (leucemia linfóide T derivada) foi adquirida da ATCC (Rockville, MD, EUA). O cultivo ocorreu em meio RPMI 1640 (Sigma Aldrich, St, Louis, EUA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (LGC, Campinas, Brasil), estreptomicina $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e 100 U mL^{-1} de penicilina, a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ sob 5,0% de atmosfera de CO_2 . Os compostos foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO – Sigma Aldrich, St, Louis, EUA), tendo sido preparada uma solução estoque de 50 mmol L^{-1} de cada um dos compostos [12] e [17-35]. Para a avaliação da atividade antitumoral dos compostos sintetizados, as células foram cultivadas em placas de 96 poços (TPP, Trasadingen, Suíça) com uma densidade de $2,0 \times 10^4$ células por poço nas concentrações de 0, 10, 30 e $100 \mu\text{mol}$

L⁻¹ dos compostos [12] e [17-35] por um período de 48 h. A viabilidade celular foi determinada por colorimetria pelo método do MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]. Após 48 h de exposição aos tratamentos, 0,5 mg mL⁻¹ do MTT foi adicionado a cada poço e as placas foram incubados por um período adicional de 2 h a 37 °C, seguido pela remoção da solução contendo o MTT e da adição de 100 µL/poço de DMSO para solubilizar os cristais de formazan. As absorbâncias foram medidas em espectrômetro UV-VISÍVEL (540 nm).

Na determinação do IC₅₀ para o composto [31], o procedimento seguido foi similar ao relatado acima, diferindo nos valores das concentrações do composto em que as células foram cultivadas. Esses valores foram de: 0,01, 0,1, 1, 2, 4, 8, 16, 25, 50, 75, 100, 150 e 200 µmol L⁻¹. O experimento foi realizado duas vezes, de modo independente. Para a obtenção do valor de IC₅₀ utilizou-se o programa Prism Graphpad.

A atividade antitumoral da α -santonina [12], do ácido fotossantônico [17] e dos compostos [18-35] foi avaliada segundo o método MTT (MOSMAN, 1983). O ensaio consiste em uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal amarelo brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) para o produto de cor azul formazan (Figura 30), pela atividade da enzima succinil-desidrogenase presente na mitocôndria da célula viável permitindo, dessa maneira, quantificar a porcentagem de células vivas.

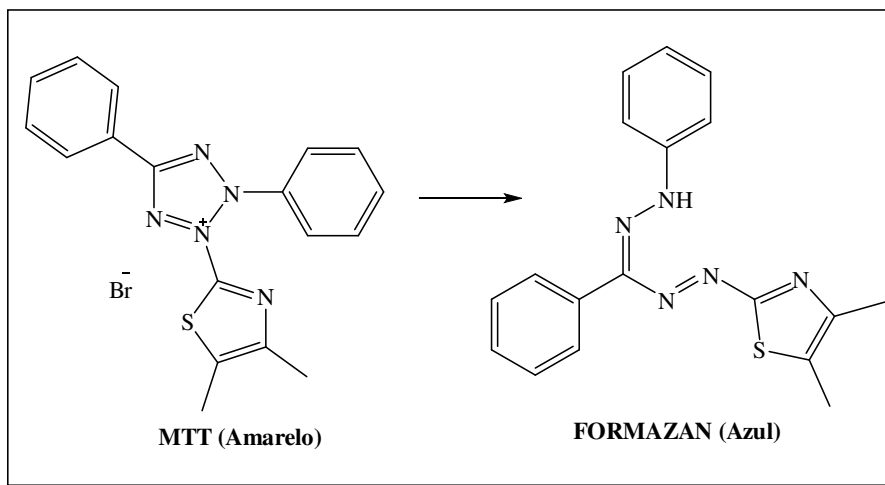


Figura 30: Estrutura do MTT e da espécie reduzida formazan.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos [12] e [17-35] foram avaliados em quadruplicata nas concentrações de 10, 30 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre a linhagem de células Jurkat. Os resultados obtidos nessa análise estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7 – Efeito inibitório (%) dos compostos [12] e [17-35] sobre a viabilidade de células Jurkat após 48 h de tratamento (média \pm desvio padrão; n = 4)

Compostos	100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	30 $\mu\text{mol L}^{-1}$	10 $\mu\text{mol L}^{-1}$
[12]	32,93 \pm 4,35	23,23 \pm 8,85	31,31 \pm 8,10
[17]	72,83 \pm 3,24	54,95 \pm 6,16	30,30 \pm 10,05
[18]	13,50 \pm 5,46	30,42 \pm 4,03	15,73 \pm 7,58
[19]	21,86 \pm 3,91	15,73 \pm 7,33	11,87 \pm 6,91
[20]	12,31 \pm 7,70	30,76 \pm 8,54	32,94 \pm 5,92
[21]	25,09 \pm 8,54	21,48 \pm 9,70	9,72 \pm 7,07
[22]	60,01 \pm 2,79	5,83 \pm 2,74	8,90 \pm 5,72
[23]	47,26 \pm 3,09	23,10 \pm 5,21	12,33 \pm 5,00
[24]	25,33 \pm 3,74	18,56 \pm 5,38	26,65 \pm 0,72
[25]	33,04 \pm 1,50	42,92 \pm 2,62	33,79 \pm 5,12
[26]	68,10 \pm 3,44	43,62 \pm 6,90	11,18 \pm 3,15
[27]	14,41 \pm 5,15	6,28 \pm 8,60	18,85 \pm 8,72
[28]	38,61 \pm 11,79	49,62 \pm 8,80	9,45 \pm 8,46
[29]	61,11 \pm 5,54	44,59 \pm 9,57	40,56 \pm 13,54
[30]	66,67 \pm 2,08	48,52 \pm 3,43	31,67 \pm 5,40
[31]	71,32 \pm 0,49	66,65 \pm 2,85	74,42 \pm 2,44
[32]	67,77 \pm 5,23	35,21 \pm 6,79	36,93 \pm 8,97
[33]	48,33 \pm 5,69	27,50 \pm 9,64	19,31 \pm 10,62
[34]	69,09 \pm 3,60	45,19 \pm 6,14	26,60 \pm 6,04
[35]	34,95 \pm 4,95	33,53 \pm 4,12	39,50 \pm 6,20

De acordo com os resultados obtidos (tabela 7 e gráfico 1), percebe-se que na concentração mais elevada (100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) os compostos [17], [22], [26], [29], [30], [31], [32] e [34] foram os mais eficazes em inibir a proliferação das células. O maior efeito inibitório nessa concentração foi ocasionado pelo ácido fotossantônico [17], utilizado na síntese dos compostos [18-35]. A α -santonina [12], produto natural a partir do qual o composto [17] é obtido, apresentou um efeito inibitório pouco significativo em relação aos demais compostos ativos nessa concentração.

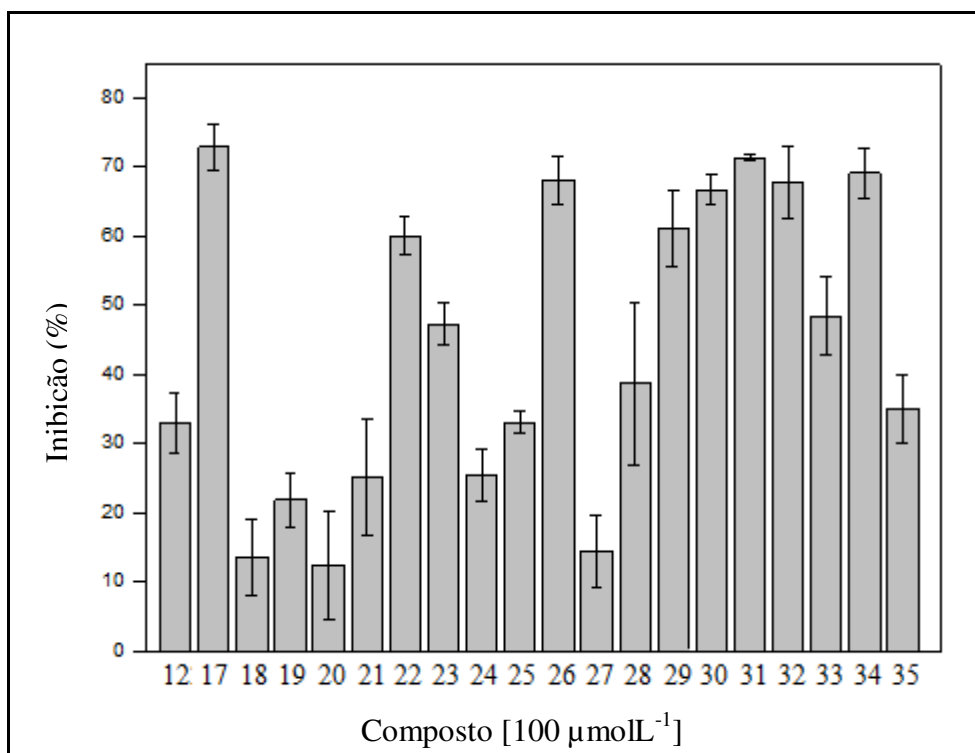


Gráfico 1: Efeito inibitório (%) dos compostos [12] e [17-35] na concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre a viabilidade de células Jurkat após 48 h de tratamento.

Na concentração de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ dos compostos [12] e [17-35] (tabela 7 e gráfico 2), o efeito inibitório dos compostos testados foi menos pronunciado. Nessa concentração, os melhores resultados foram obtidos para os tratamentos do ácido fotossantônico [17] e do composto [31], que inibiram a proliferação das células em mais de 50%.

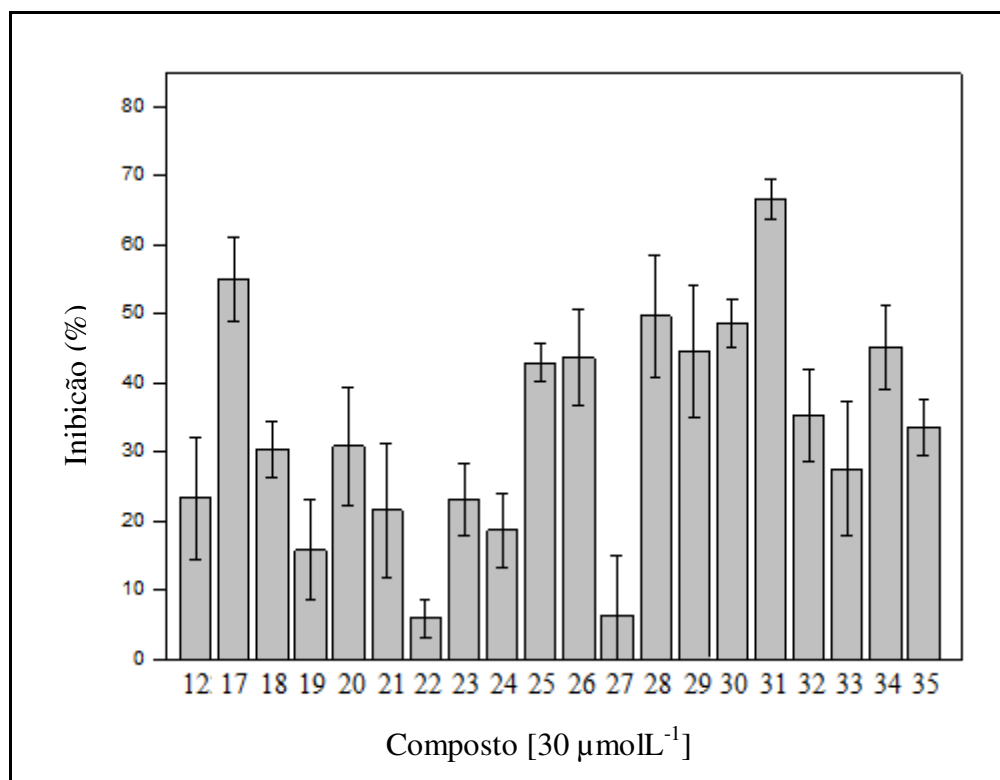


Gráfico 2: Efeito inibitório (%) dos compostos [12] e [17-35] na concentração de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre a viabilidade de células Jurkat após 48 h de tratamento.

Na concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, (gráfico 3) o efeito inibitório exibido pela maioria dos compostos testados foi menor, com exceção do resultado observado para o composto [31], que inibiu a proliferação das células em valor superior a 70%.

Com base nesse resultado, foi então efetuado o experimento para a determinação da concentração do composto [31] necessária para inibir 50% da proliferação das células (IC_{50}) a partir de dois experimentos independentes. O valor médio de IC_{50} encontrado para [31] foi de $19,88 \pm 1,45 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 31). Portanto o composto [31] mostrou ser menos eficiente do que o fármaco comercial VP16 ($\text{IC}_{50} = 0,10 \mu\text{mol L}^{-1}$), pois uma maior concentração de [31] é necessária para inibir 50% da atividade proliferativa das células Jurkat. Porém, comparando-se os resultados obtidos para o ácido fotossantônico [17] e para o produto natural [12], pode-se concluir que as modificações estruturais que resultaram no composto [31] foram eficazes para o aumento da sua atividade frente à proliferação da linhagem de células leucêmicas Jurkat.

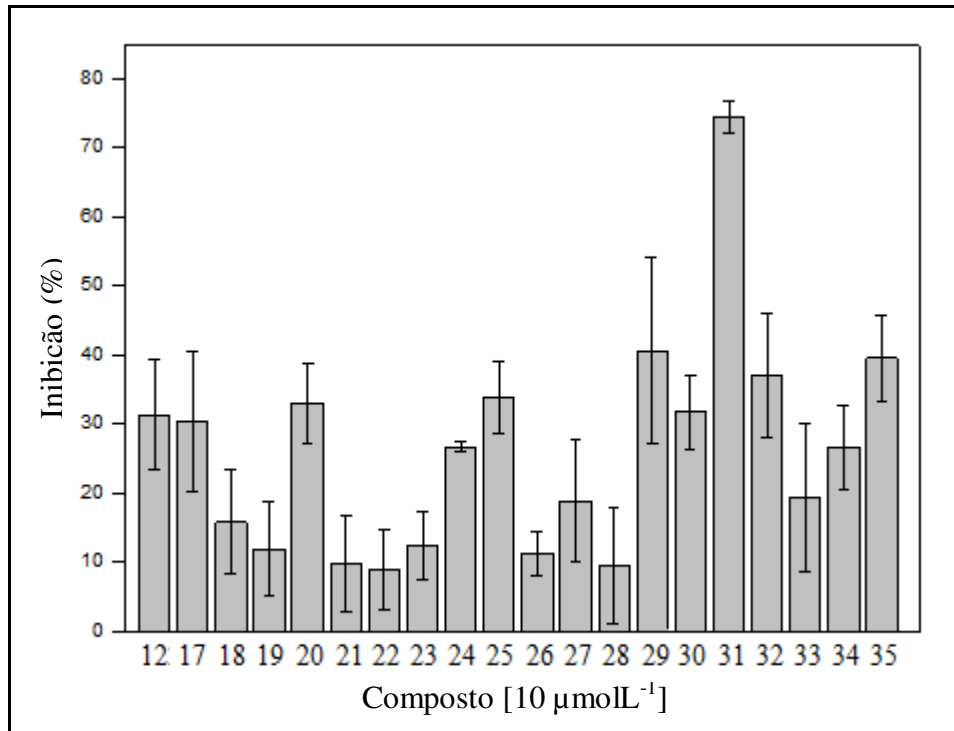


Gráfico 3: Efeito inibitório (%) dos compostos [12] e [17-35] na concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre a viabilidade de células Jurkat após 48 h de tratamento.

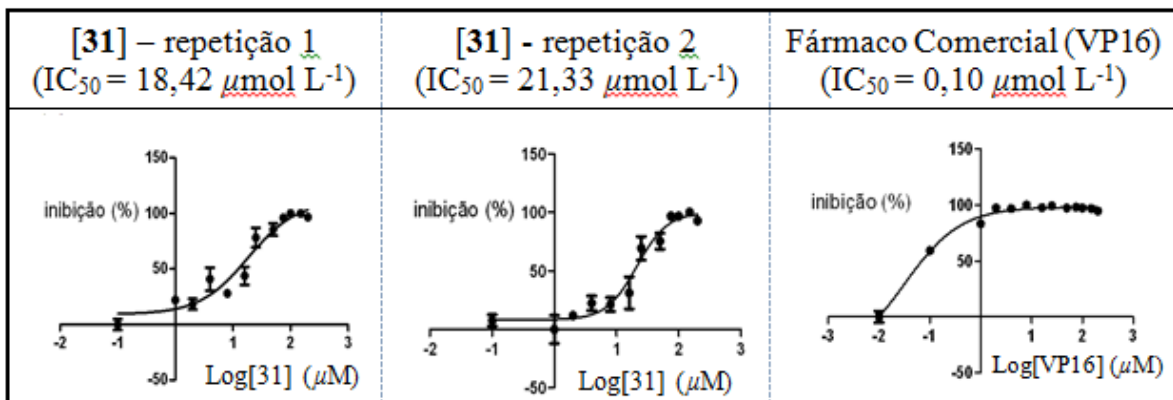


Figura 31 - Perfil dose-resposta do composto [31] e do fármaco comercial (VP16) na viabilidade de células Jurkat, tratadas por 48 h com quantidades crescentes desse composto.

2.4 CONCLUSÕES

Nos ensaios de avaliação da atividade antitumoral dos compostos [12], [17] e [18-35] sobre a linhagem de células humanas Jurkat constatou-se que, na concentração mais elevada ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$), as substâncias [17], [22], [26], [29], [30], [31], [32] e [34] foram as mais ativas. Observou-se também que a atividade foi menos pronunciada quando a concentração dos compostos foi reduzida, com exceção de [31] ($\text{IC}_{50}=19,88 \pm 1,45 \mu\text{mol L}^{-1}$) que se manteve consideravelmente ativo, mesmo na menor concentração avaliada. Apesar do IC_{50} do composto [31] ser superior ao do produto comercial etoposídeo (VP-16) na inibição da proliferação das células humanas Jurkat utilizadas no experimento, os resultados possibilitam afirmar que obteve-se pelo menos um composto mais ativo que o seu precursor [17].

Estudos de atividade dos compostos sintetizados sobre outras linhagens de células são necessários para um maior conhecimento do potencial antitumoral desses compostos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, E. S.; SILVA, S. A.; BARBOSA, L. C. A.; DEMUNER, A. J.; PARREIRA, A. G.; RIBEIRO, R. I. M. A.; MARCUSSI, S.; FERREIRA, J. M. S.; RESENDE, R. R.; GRANJEIRO, P. A.; SILVA, J. A.; SOARES, A. M.; MARANGONI, S.; DA SILVA, S. L. Synthesis and evaluation of sesquiterpene lactone inhibitors of phospholipase A₂ from *Bothrops jararacuçu*. **Toxicon**, v.57, p. 100–108, 2011.

ALVARENGA, E. S.; BARBOSA, L. C. A.; SALIBA, W. A.; ARANTES, F. F. P.; DEMUNER, A. J.; SILVA, A.A. Síntese e avaliação da atividade fitotóxica de derivados da α -santonina. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 401-406, 2009.

ANDO, M.; WADA, T.; KUSAKA, H.; TAKASE, K.; HIRATA, N.; YANAGI, Y. Studies on the syntheses of sesquiterpene lactones. Improved syntheses of (+)-tuberiferin and the related α -methylene γ -lactones and their biological activities. **The Journal of Organic Chemistry**, v.52, p. 4792-4796, 1987.

ARANTES, F. F. P.; BARBOSA, L. C. A.; ALVARENGA, E. S.; DEMUNER, A. J.; BEZERRA, D. P.; FERREIRA, J. R. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; MORAES, M. O. Synthesis and cytotoxic activity of α -santonin derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 44, p. 3739–3745, 2009.

ARANTES, F. F. P.; BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; DEMUNER, A. J.; COSTA, P. M.; FERREIRA, J. R. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; MORAES, M. O.; PESSOA, C. Synthesis of novel α -santonin derivatives as potential cytotoxic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 45, p. 6045–6051, 2010.

ARANTES, F. F. P.; BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; DEMUNER, A. J.; FIDÊNCIO, P. H.; CARNEIRO, J. W. M. A quantum chemical and chemometric study of sesquiterpene lactones with cytotoxicity against tumor cells. **Journal of Chemometrics**, (wileyonlinelibrary.com), 2011.

ARMAREGO, W. L. F.; CHAI, C. L. L. **Purification of laboratory chemicals**, 5.ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2003.

BARBOSA, L. C.; **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Editora UFV, 2007, 81 p.

BLAY, G.; CARDONA, M. L.; GARCIA, B.; PEDRO, J. R. Functionality transfer from C6 to C8 in sesquiterpenes. Synthesis of 8-epi-Ivangustin and 8-epi-isoivangustin from santonin. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 56, p. 6172-6175, 1991.

BLAY, G.; CARDONA, L.; COLLADO, A. M.; GARCIA, B.; MORCILLO, V.; PEDRO, J.R. Synthesis of spirovetivane sesquiterpenes from santonin. Synthesis of (+)-anhydro- β -rotunol and all diastereomers of 6,11-spirovetivadiene. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 69, p. 7294-7302, 2004.

BUTLER, M. S. The role os natural product chemistry in drug discovery. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 2141-2153, 2004.

CHAPMAN, O. L.; ENGLERT, L. F. A Mechanistically significant intermediate in the lumisantonin to photosantonin acid conversion. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, p. 3028-3029, 1963.

CHATURVEDI, D. **Opportunity, challenge and scope of natural products in medicinal chemistry**. Editora Research Signpost, 2011, p. 313-334.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N.; MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: estudos no laboratório nacional de oncologia experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v.2, n.1, p. 47-58, 2010.

FISCH, M. H.; RICHARDS, J. H. Photoproducts from irradiation of lumisantonin in aprotic medium. **Journal of American Chemical Society**, v. 90, p. 1553-1557, 1968.

MACÍAS, F.A.; FERNANDEZ, A.; VARELA, R. M.; MOLINILLO, J. M.G.; TORRES, A.; ALVES, P. L. C. A. Sesquiterpene lactones as allelochemicals. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 795-800, 2006.

MANN, R. S.; KAUFMAN, P. E. Natural product pesticides: their development, delivery e use against insect vectors. **Mini-reviews in Organic Chemistry**, v. 9, p. 185-202, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2011). Estimativa 2012: **Incidência de câncer no Brasil**. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>>. Acesso em: julho de 2013.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseados em produtos naturais. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 105-111, 2001.

MORGAN, E. D.; Azadirachtin, a scientific gold mine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 4096-4105, 2009.

MOSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunology Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

NCIPM - **National Centre for Integrated Pest Management**. <<http://www.ncipm.org.in/neem-based-insecticides.htm>>, acessado em 14/07/2013.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovered. **Natural Product Reports**, v. 17, p. 215-234, 1999.

OTOGURO, K.; IWATSUKI, M.; ISHIYAMA, A.; NAMATAME, M.; NISHIHARA-TUKASHIMA, A.; KIYOHARA, H.; HASHIMOTO, T.; ASAKAWA, Y.; OMURA, S.; YAMADA, H. In vitro antitrypanosomal activity of plant terpenes against *Trypanosoma brucei*. **Phytochemistry**, v. 72, p. 2024–2030, 2011.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia** - Tradução da 4^a edição Norte-americana. Editora Cengage Learning, 2010, 716 p.

PICMAN, A. K. Biological activities of sesquiterpene lactones. **Biochemical and Systematics and Ecology**, v. 14, p. 255-281, 1986.

SCHWARZ, O.; JAKUPOVIC, S.; AMBROSI, H.; HAUSTEDT, L. O.; MANG, C.; MULLER-KUHRT, L. Natural products in parallel chemistry - novel 5-lipoxygenase inhibitors from BIOS-based libraries starting from α -santonin. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 9, p. 1104–1113, 2007.

VIEGAS, C. J.; BOLZANI, V. S. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quimica Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

YAMAZAKI, Y.; URANO, A.; SUDO, H.; KITAJIMA, M.; TAKAYAMA, H.; YAMAZAKI, M.; AIMI, N.; SAITO K. Metabolite profiling of alkaloids and strictosidine synthase activity in camptothecin producing plants. **Phytochemistry**, v. 62, p. 461–470, 2003.

ANEXOS

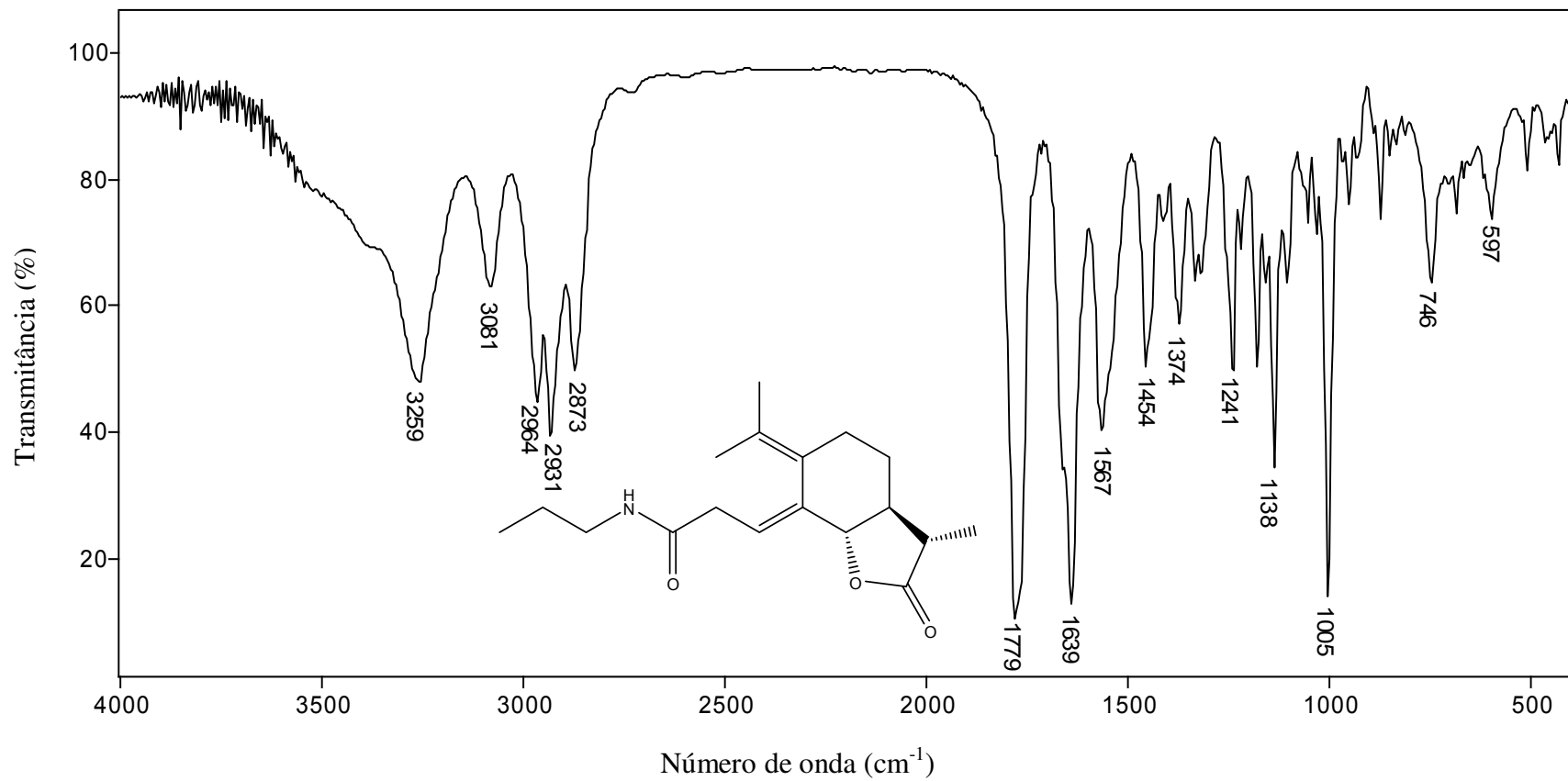


Figura 32: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [20].

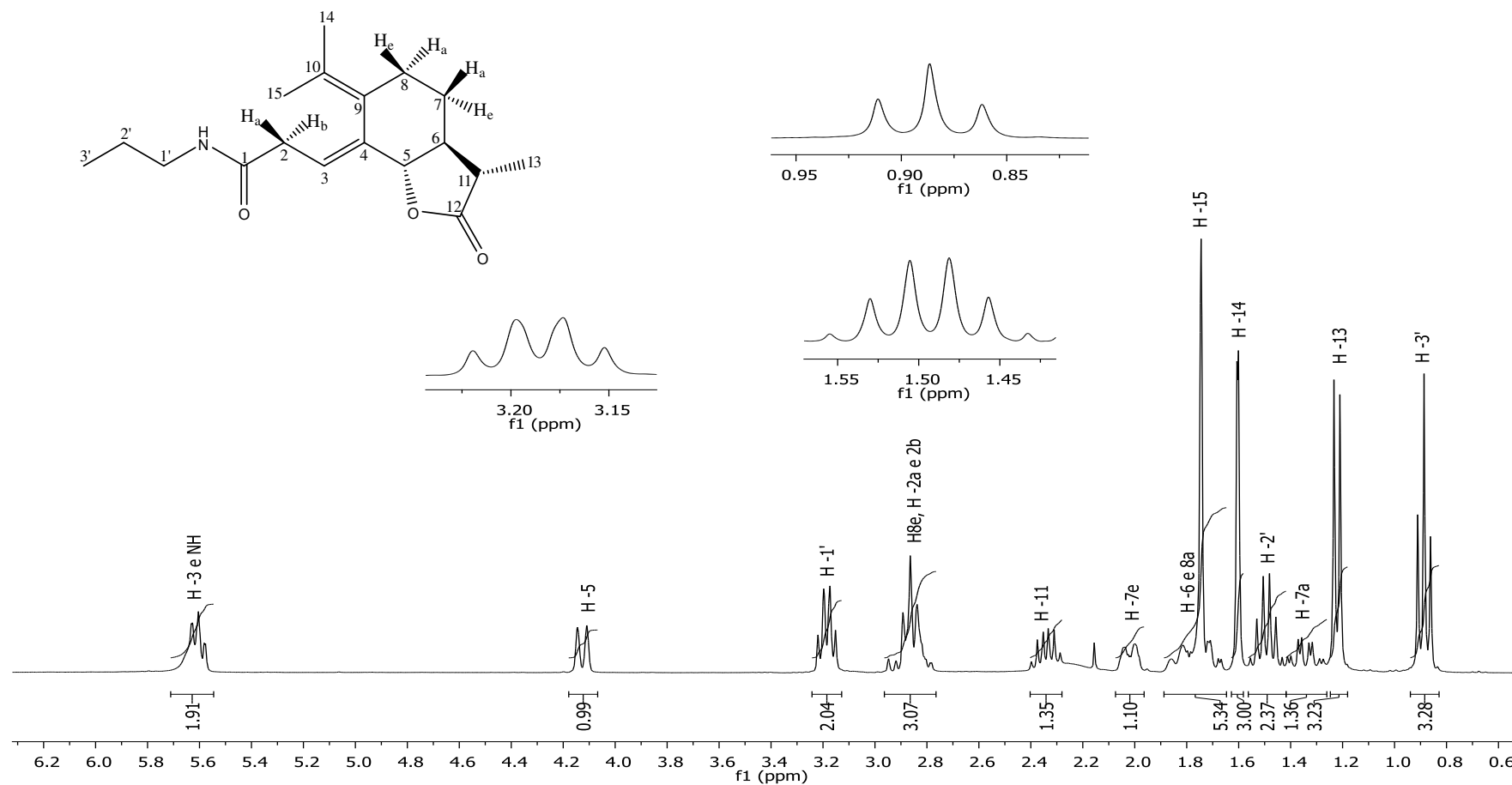


Figura 33: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [20].

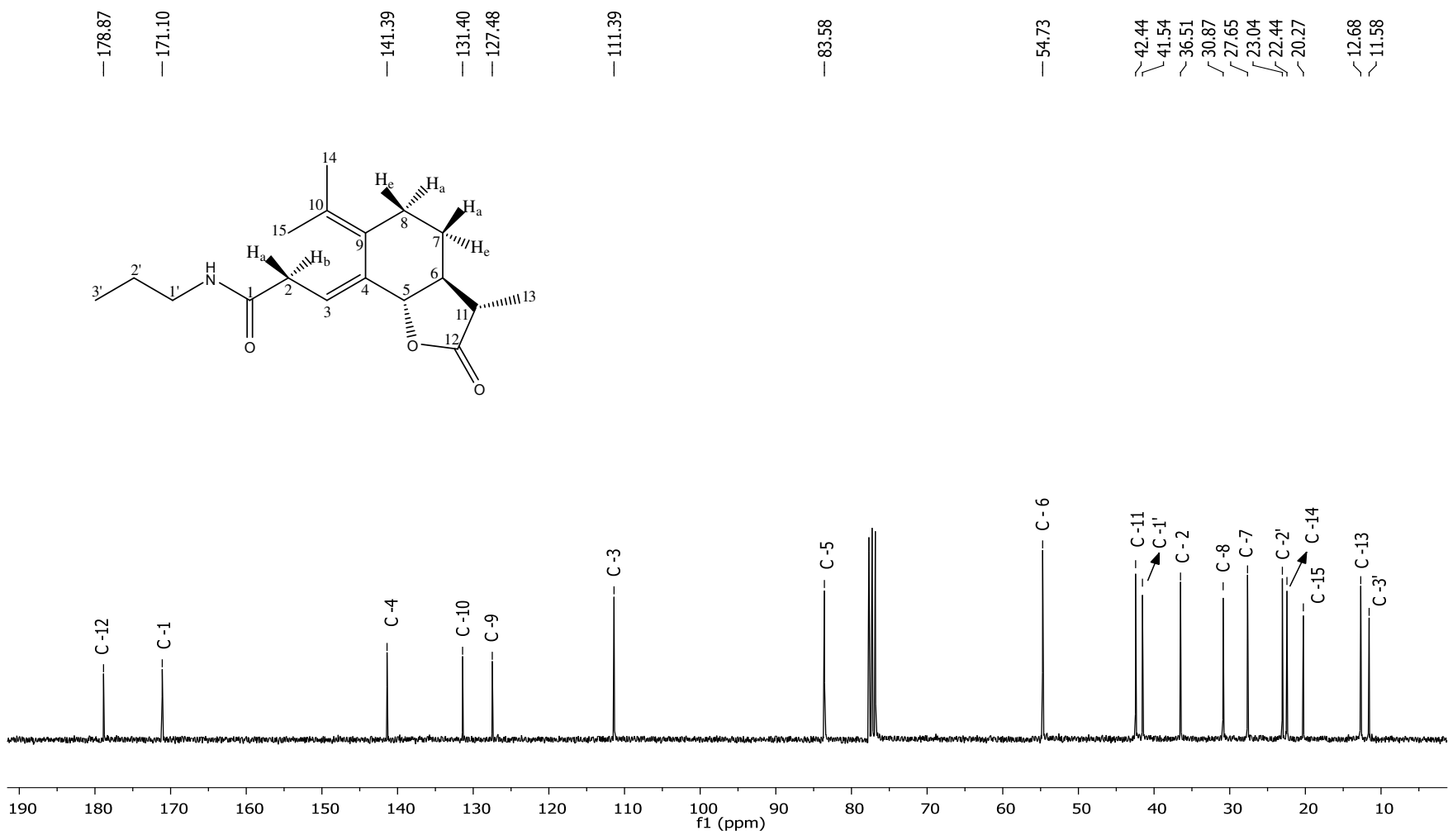


Figura 34: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [20].

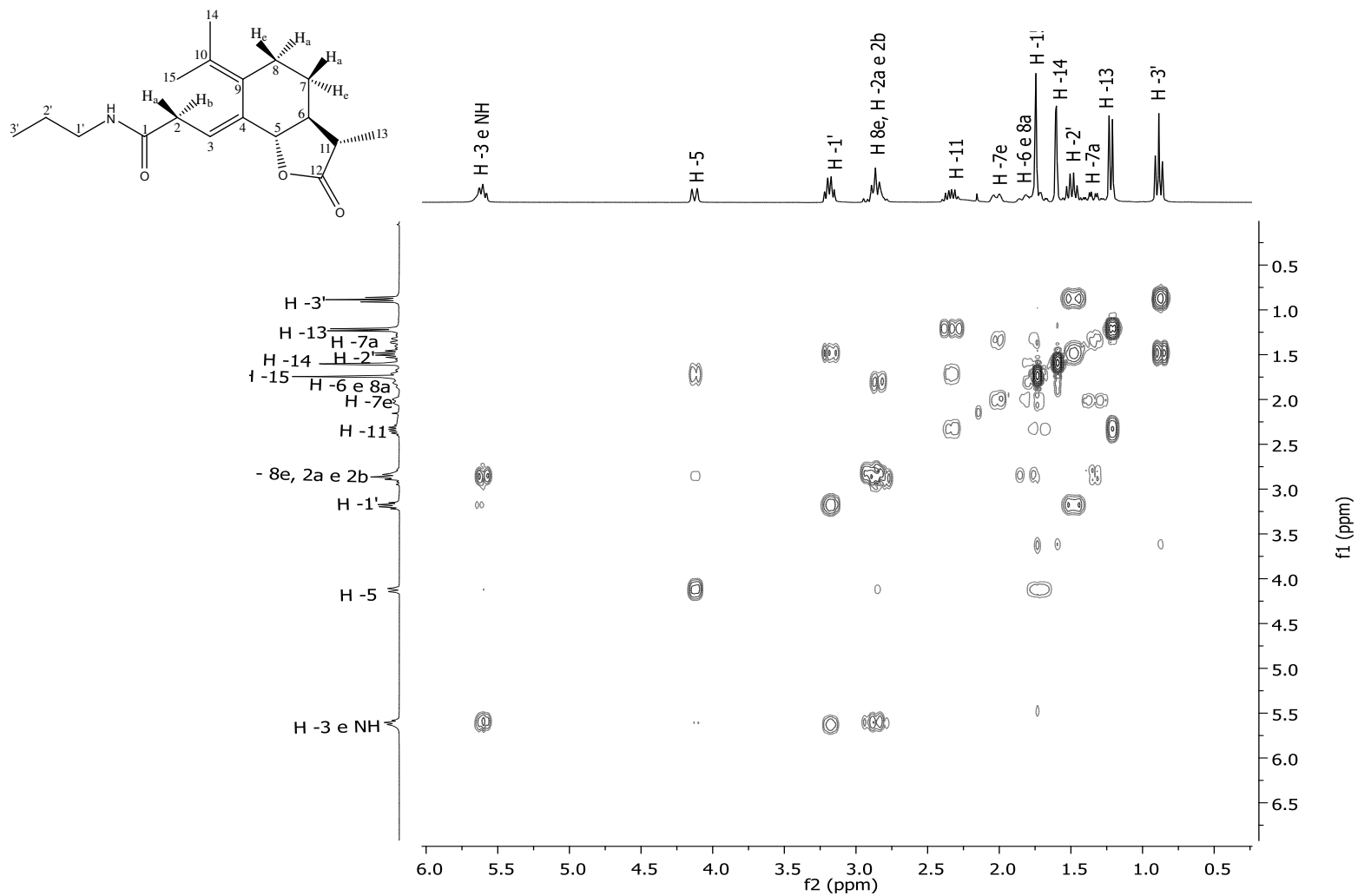


Figura 35: Mapa de contornos COSY do composto [20].

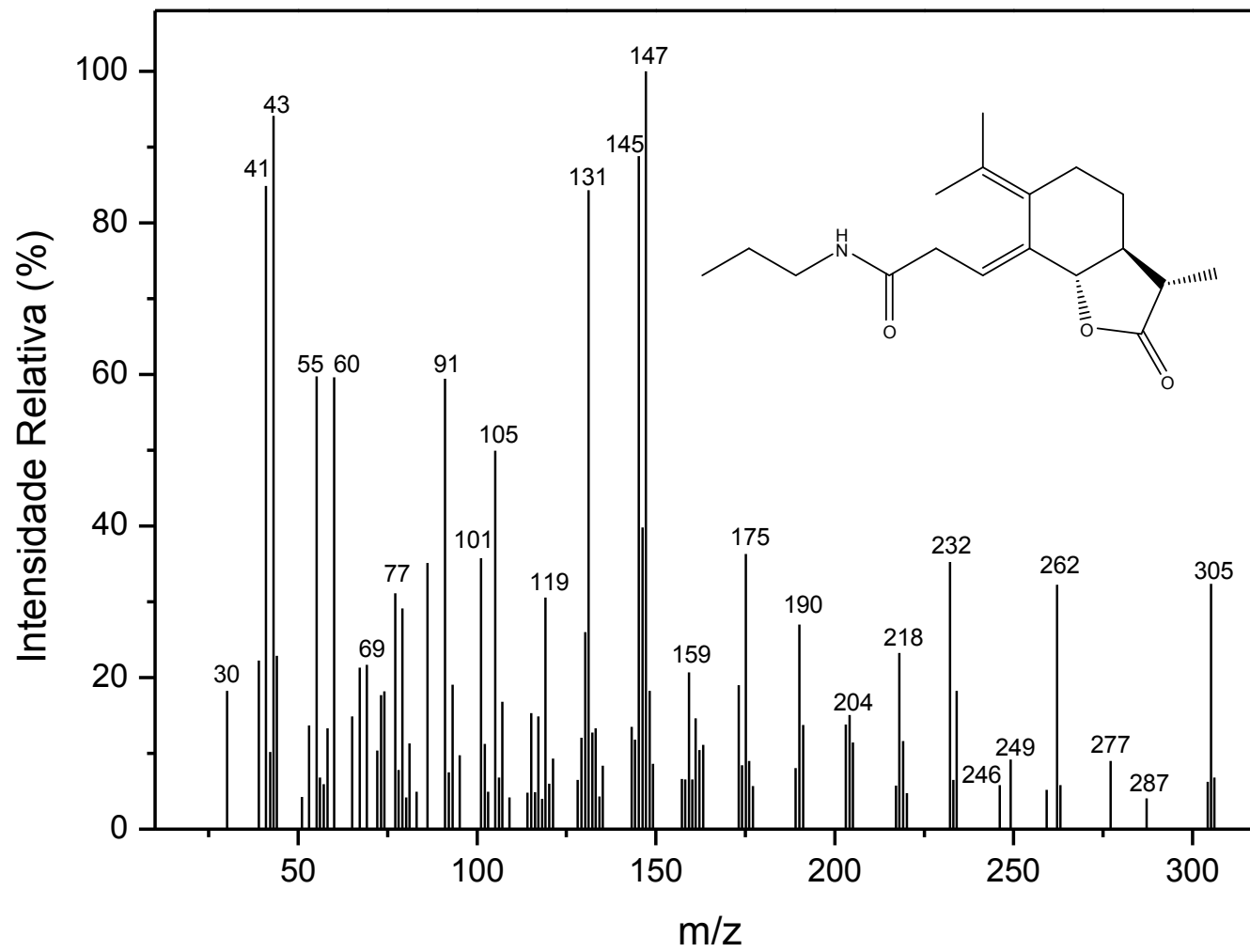


Figura 36: Espectro de massas do composto [20].

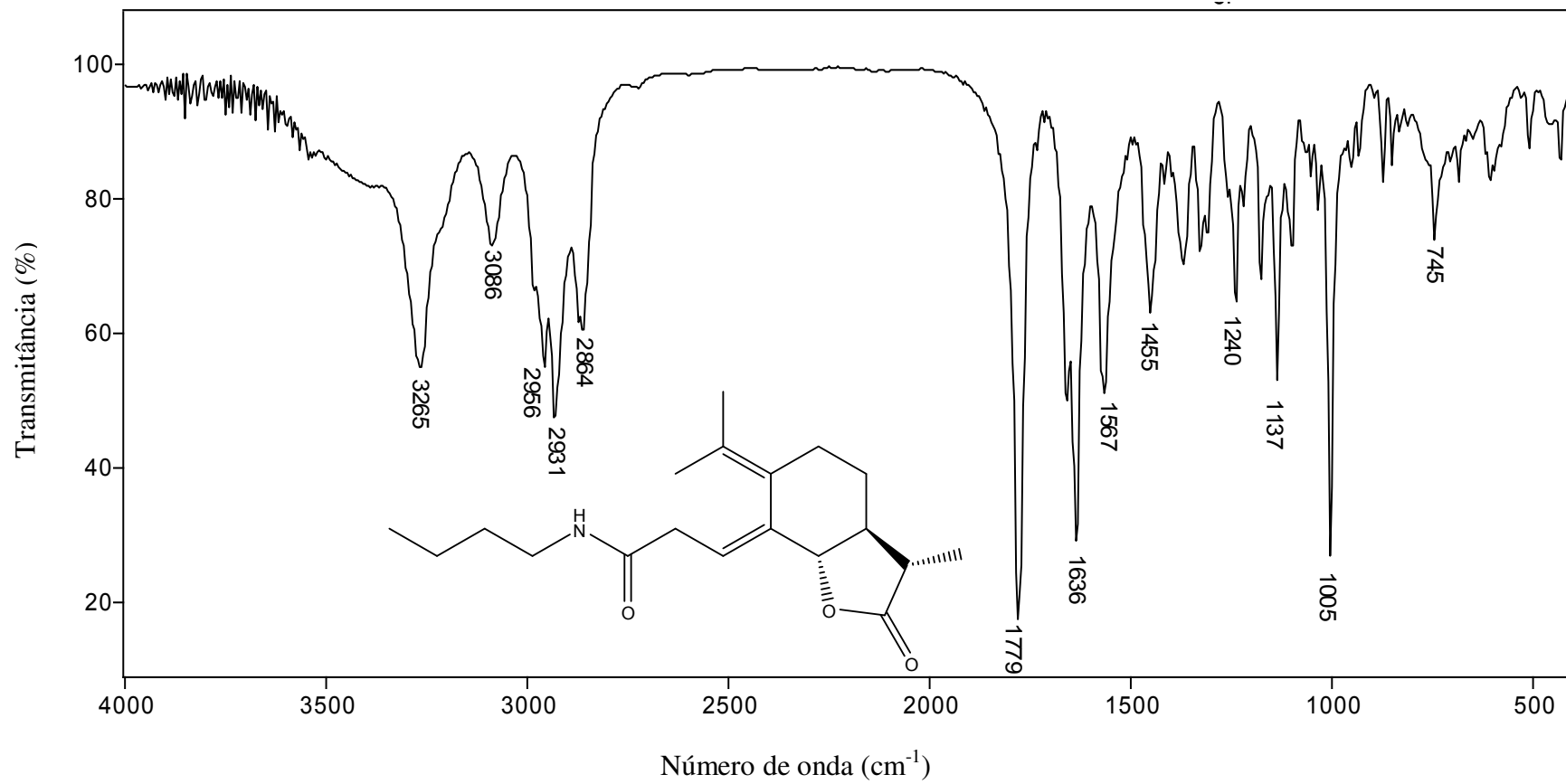


Figura 37: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [21].

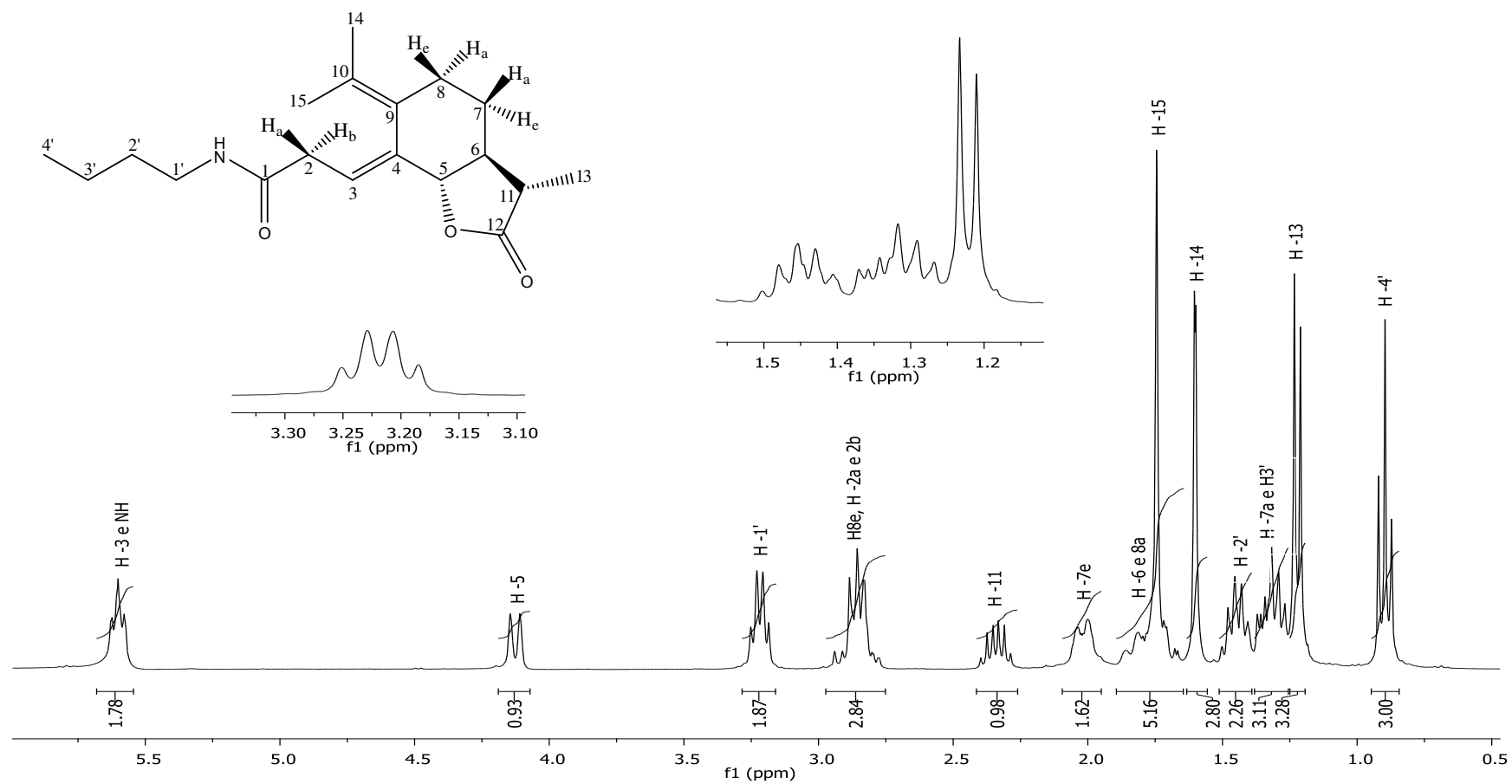


Figura 38: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [21].

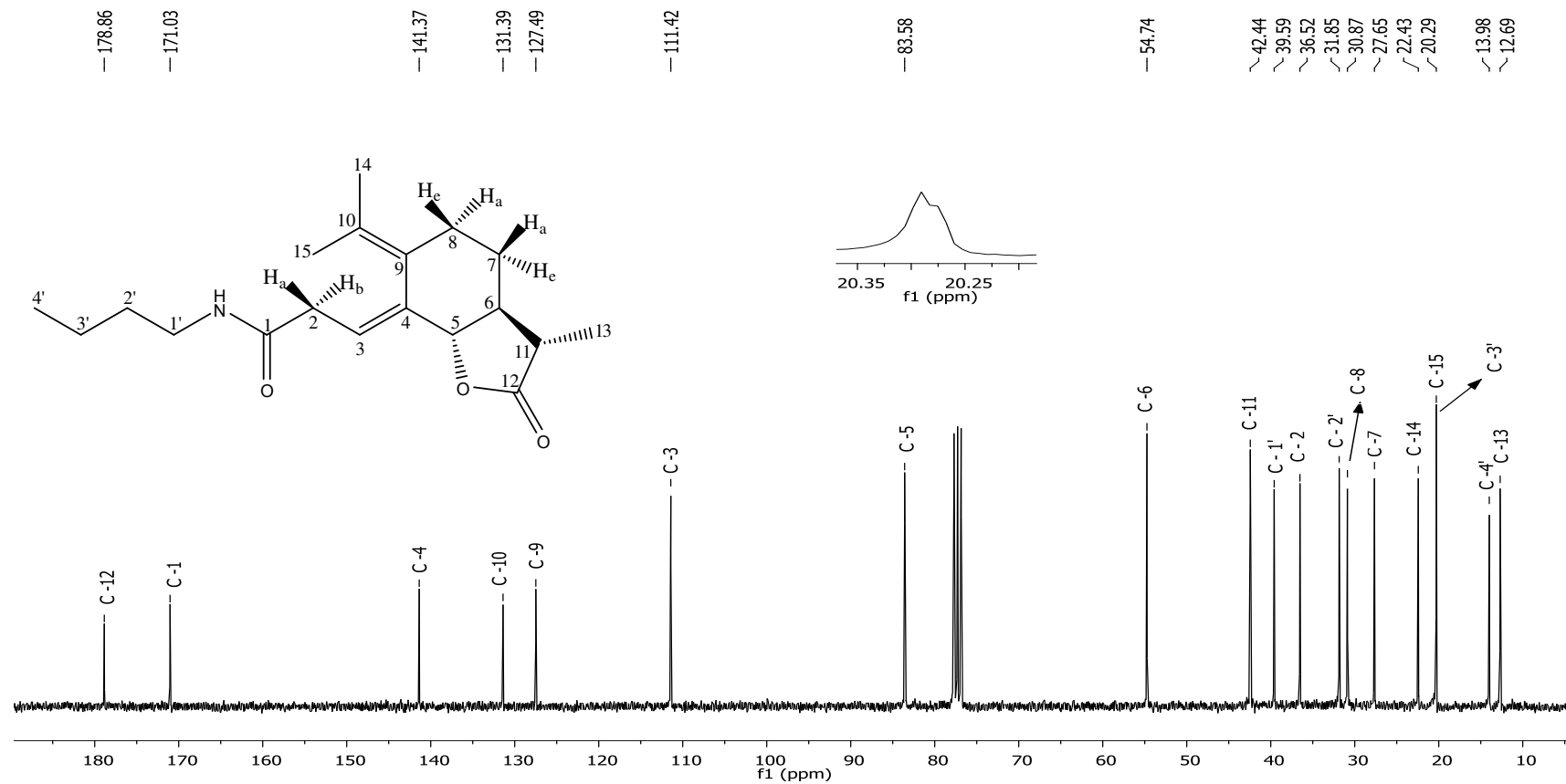


Figura 39: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [21].

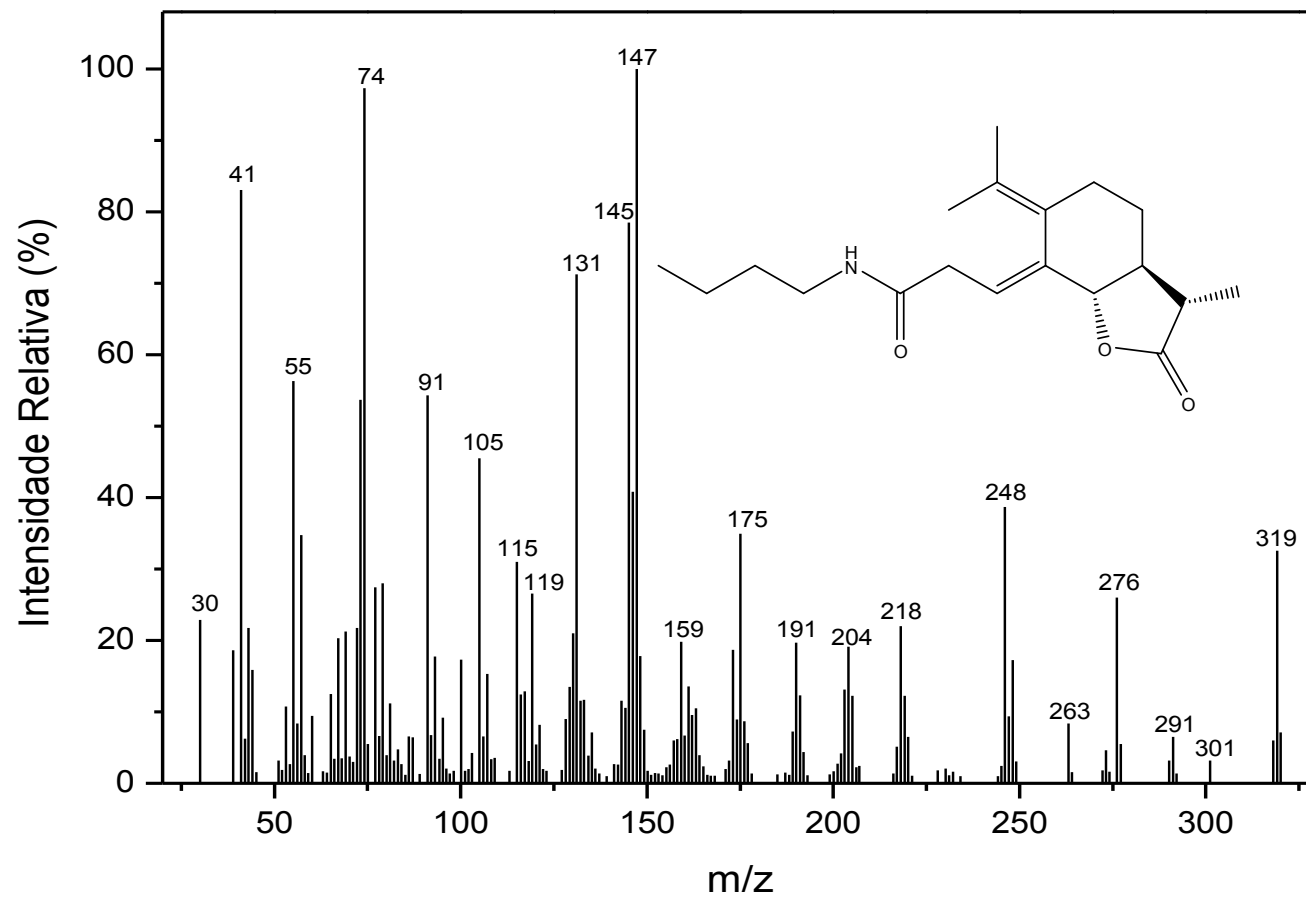


Figura 41: Espectro de massas do composto [21].

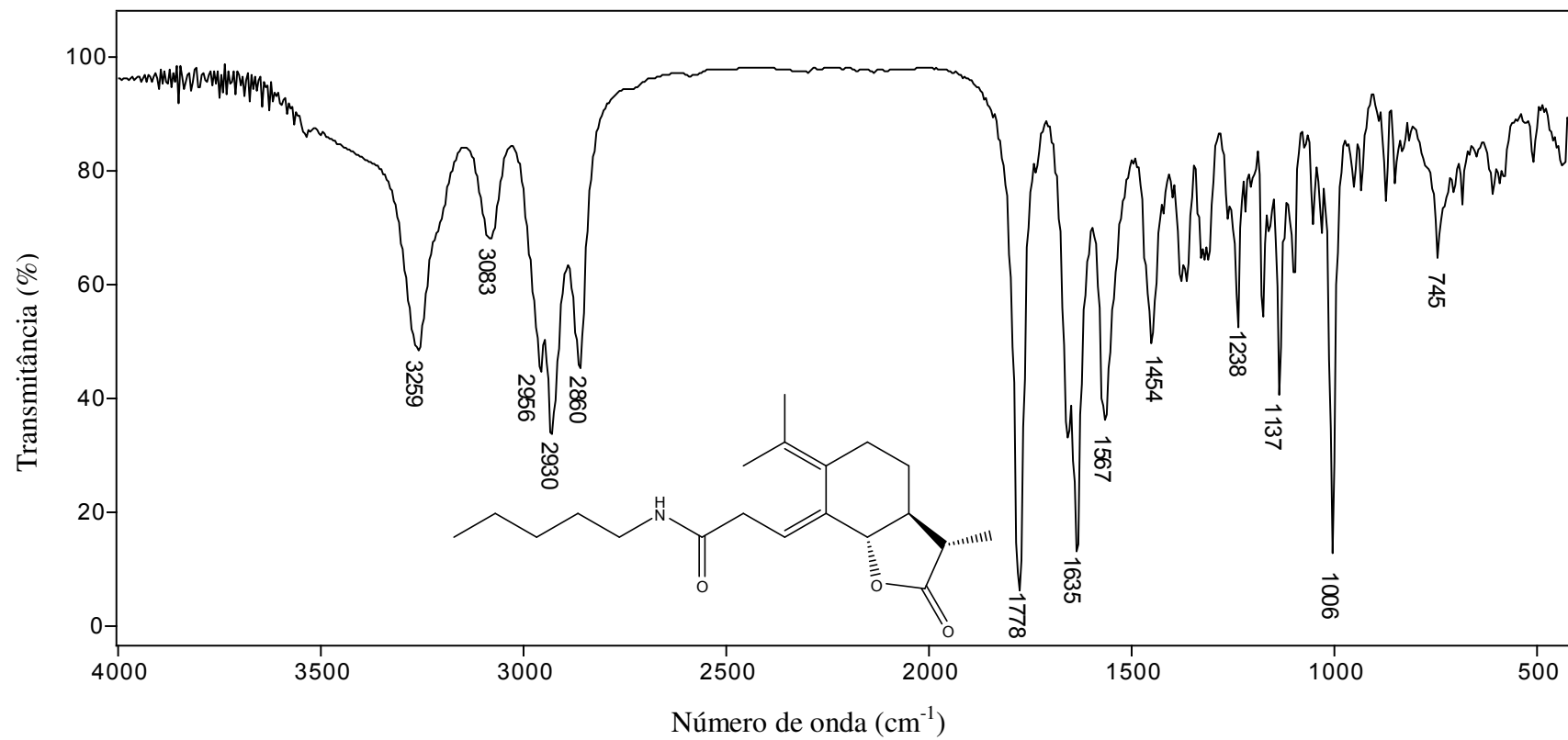


Figura 42: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [22].

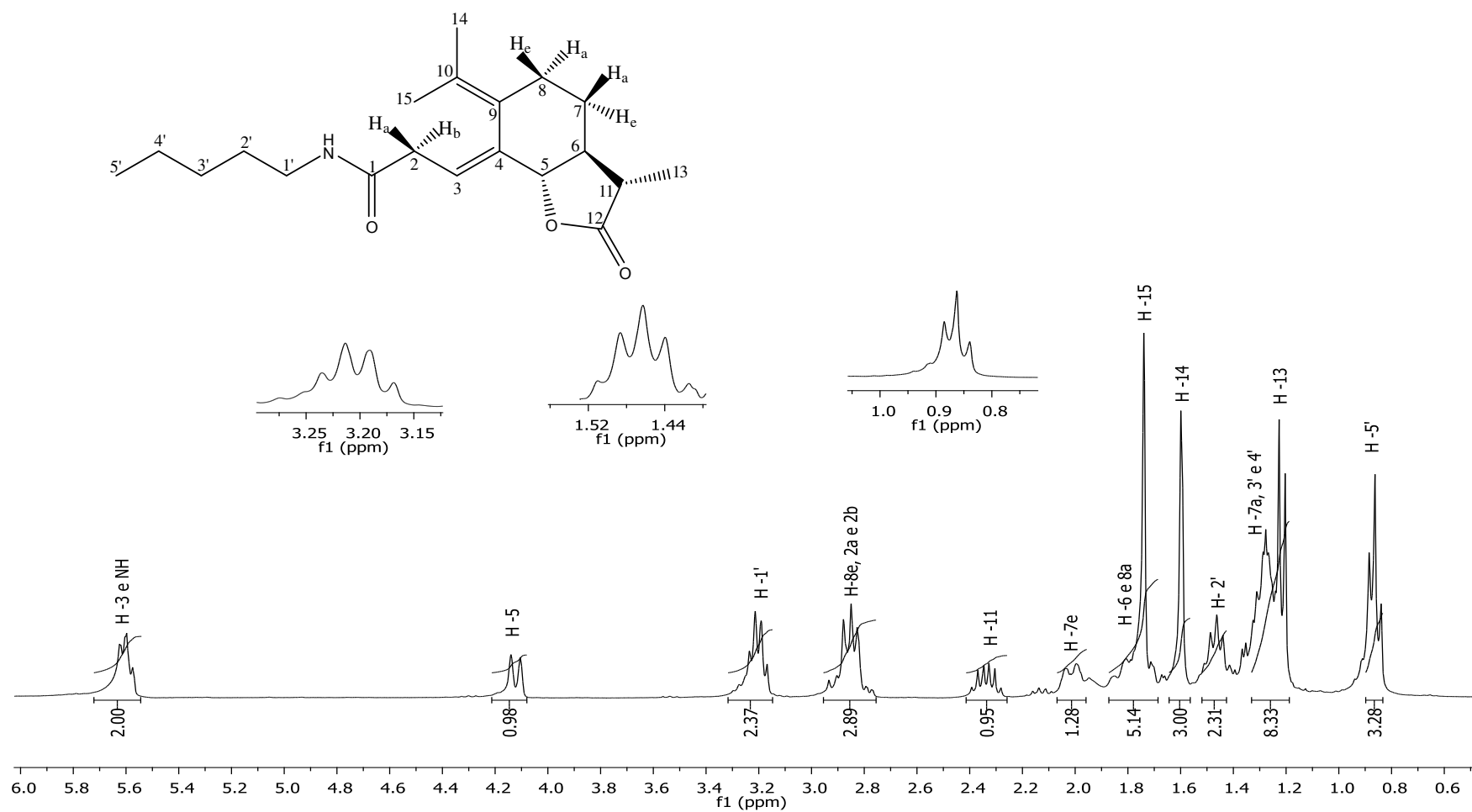


Figura 43: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [22].

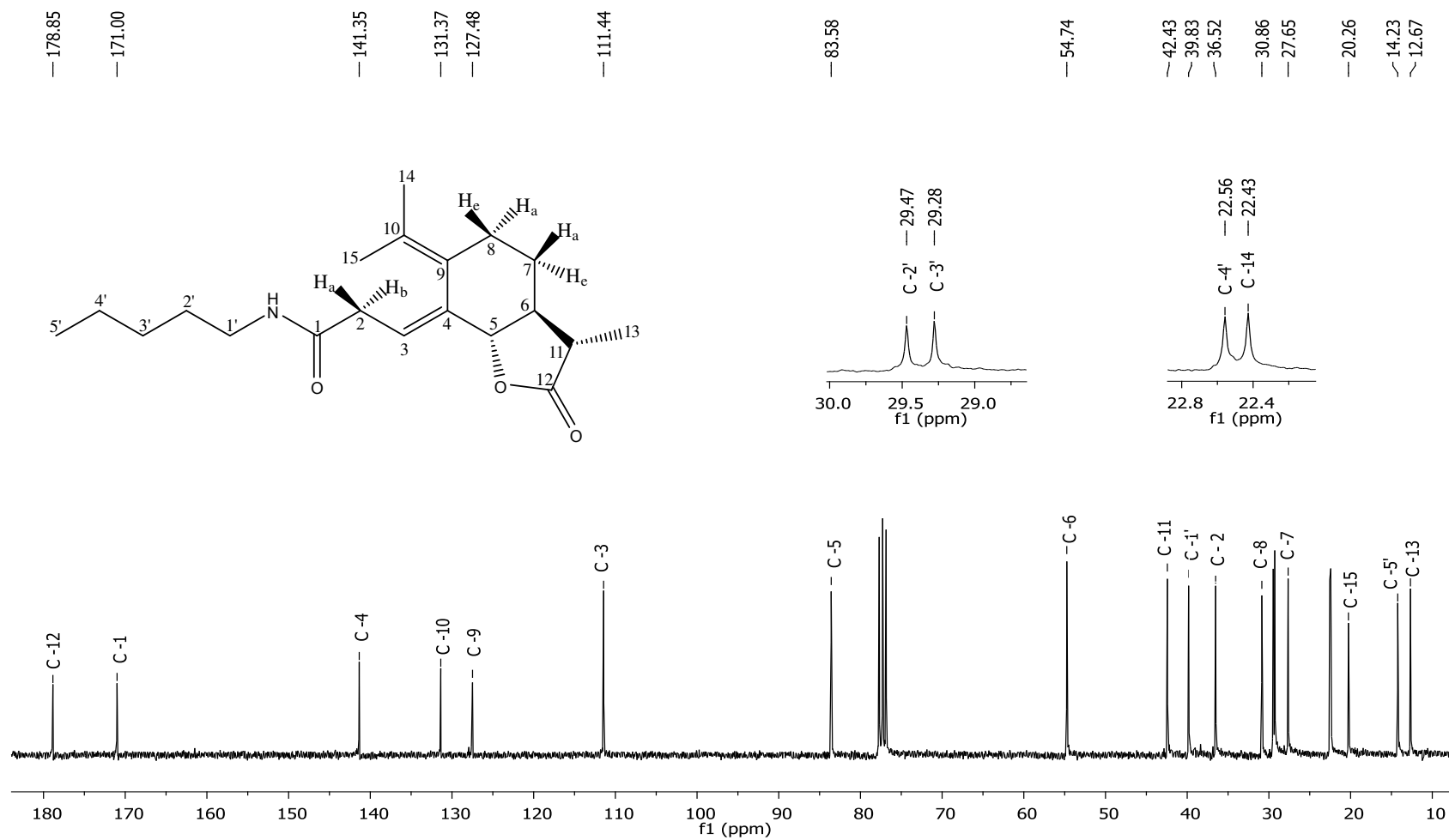


Figura 44: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [22].

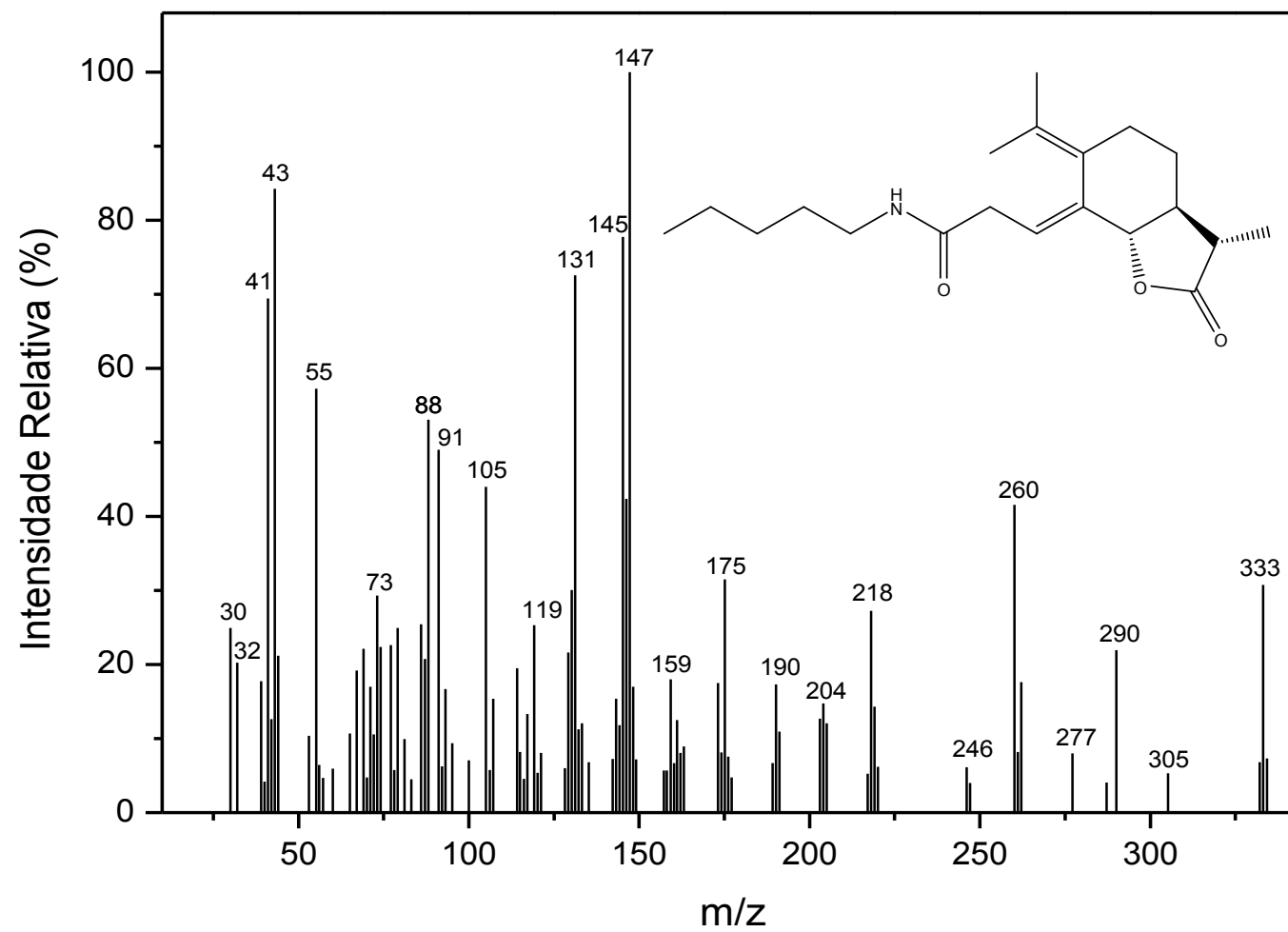


Figura 46: Espectro de massas do composto [22].

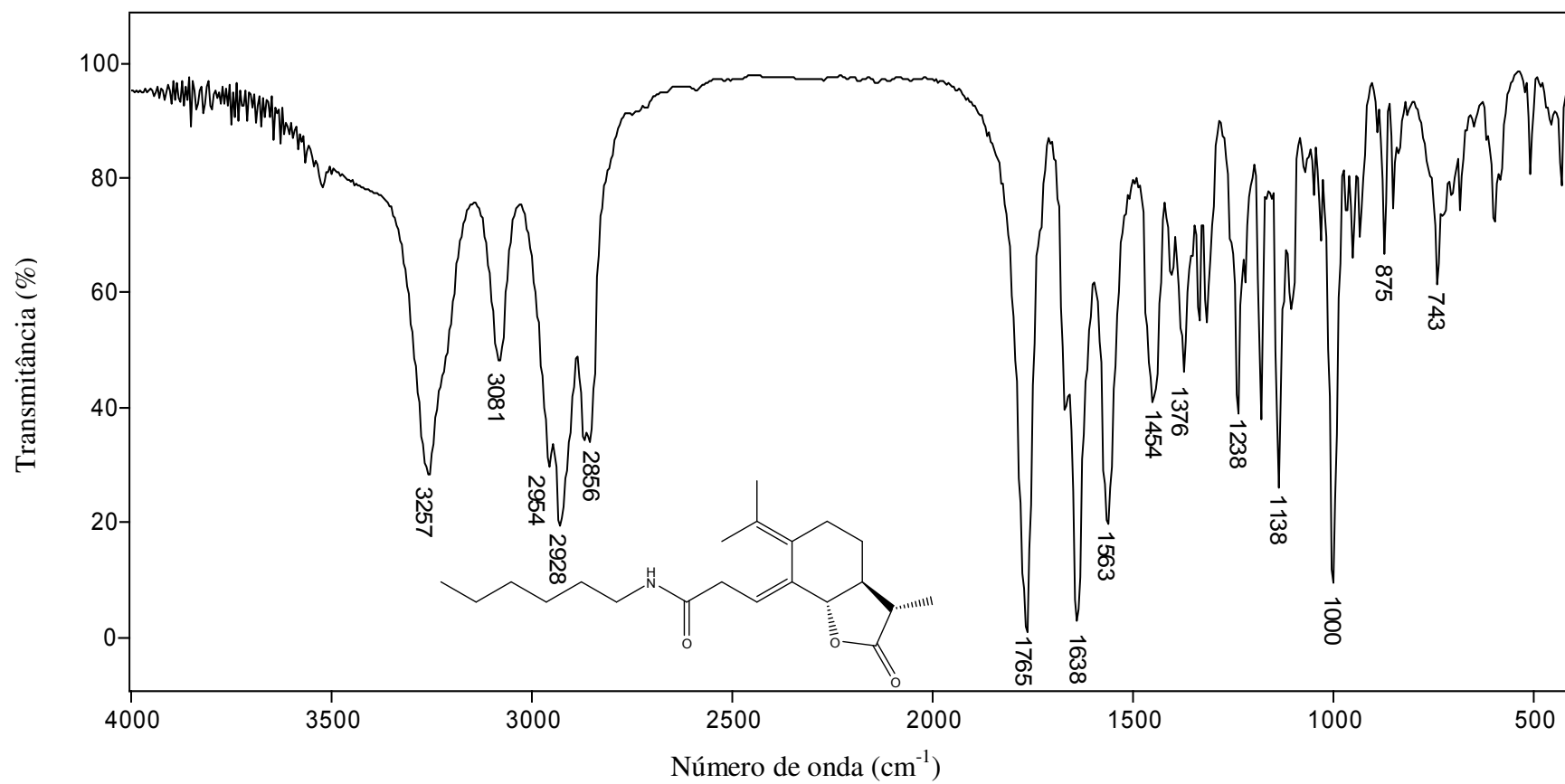


Figura 47: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [23].

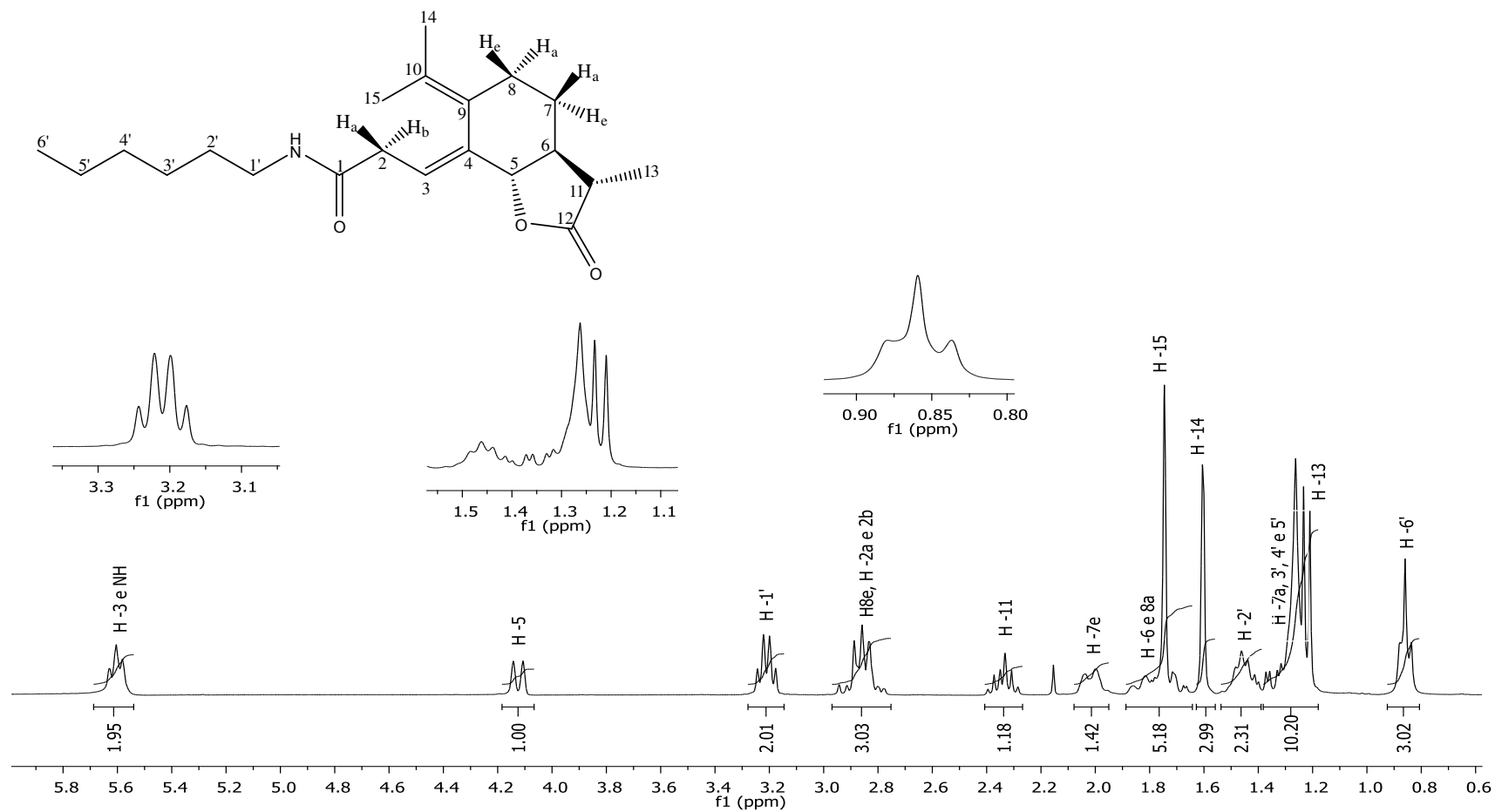


Figura 48: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [23].

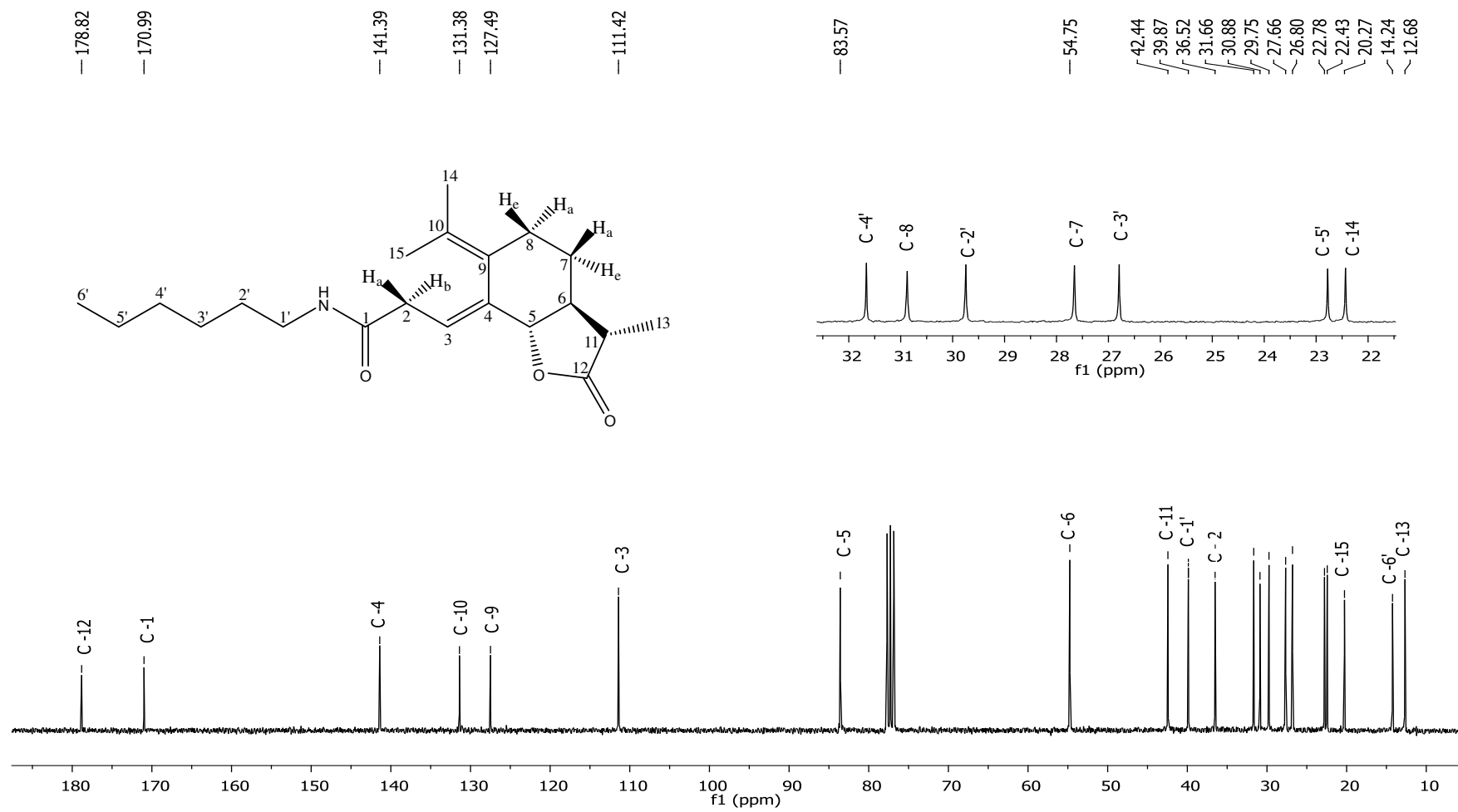


Figura 49: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [23].

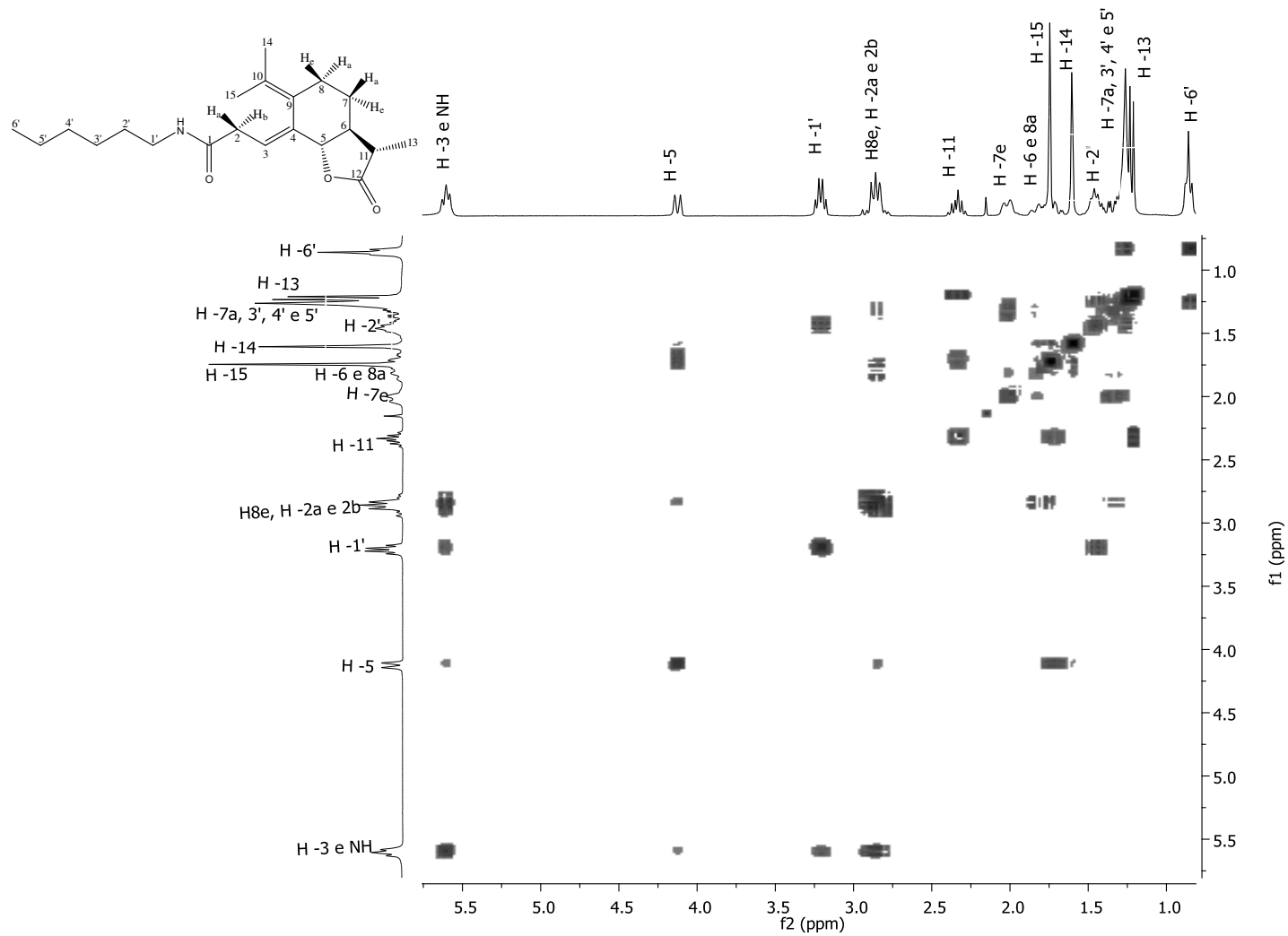


Figura 50: Mapa de contornos COSY do composto [23].

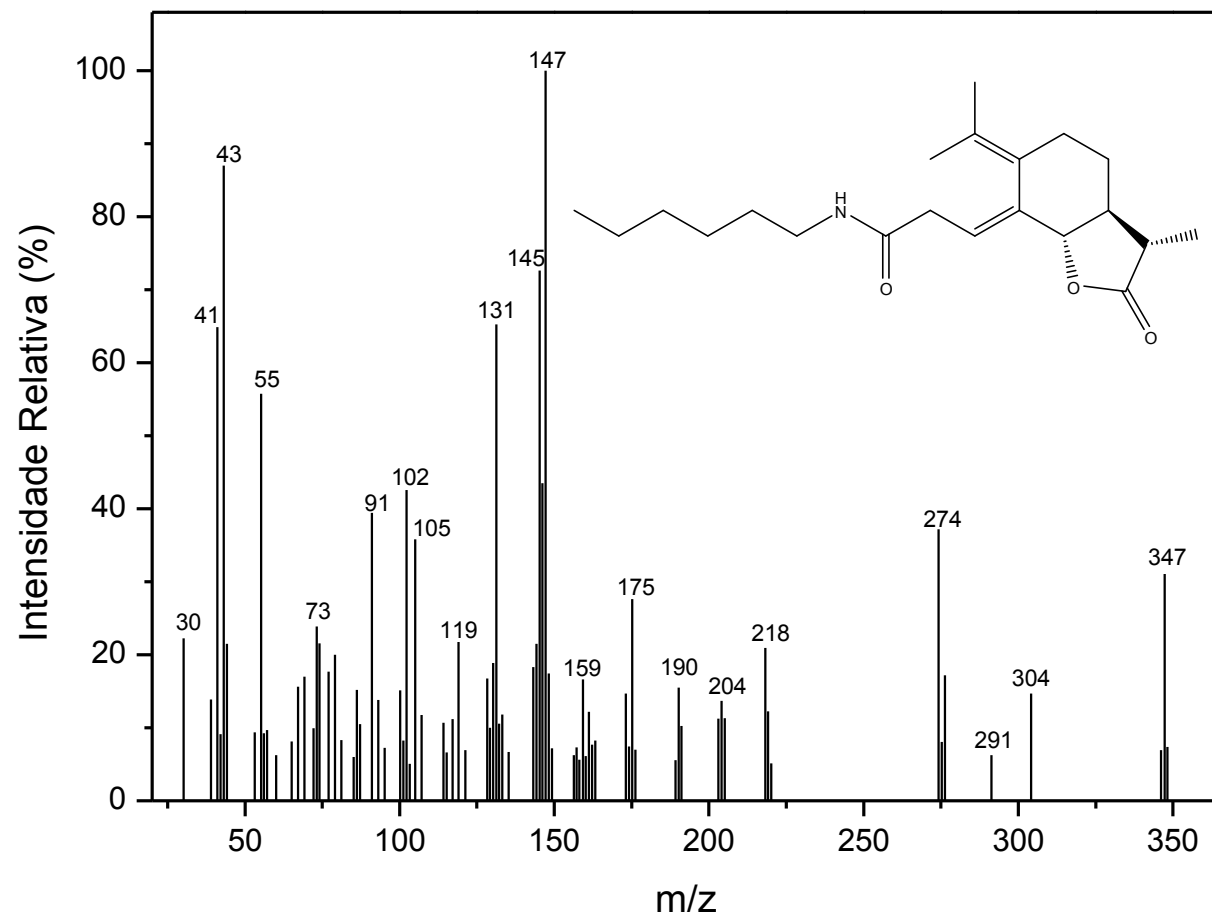


Figura 51: Espectro de massas do composto [23].

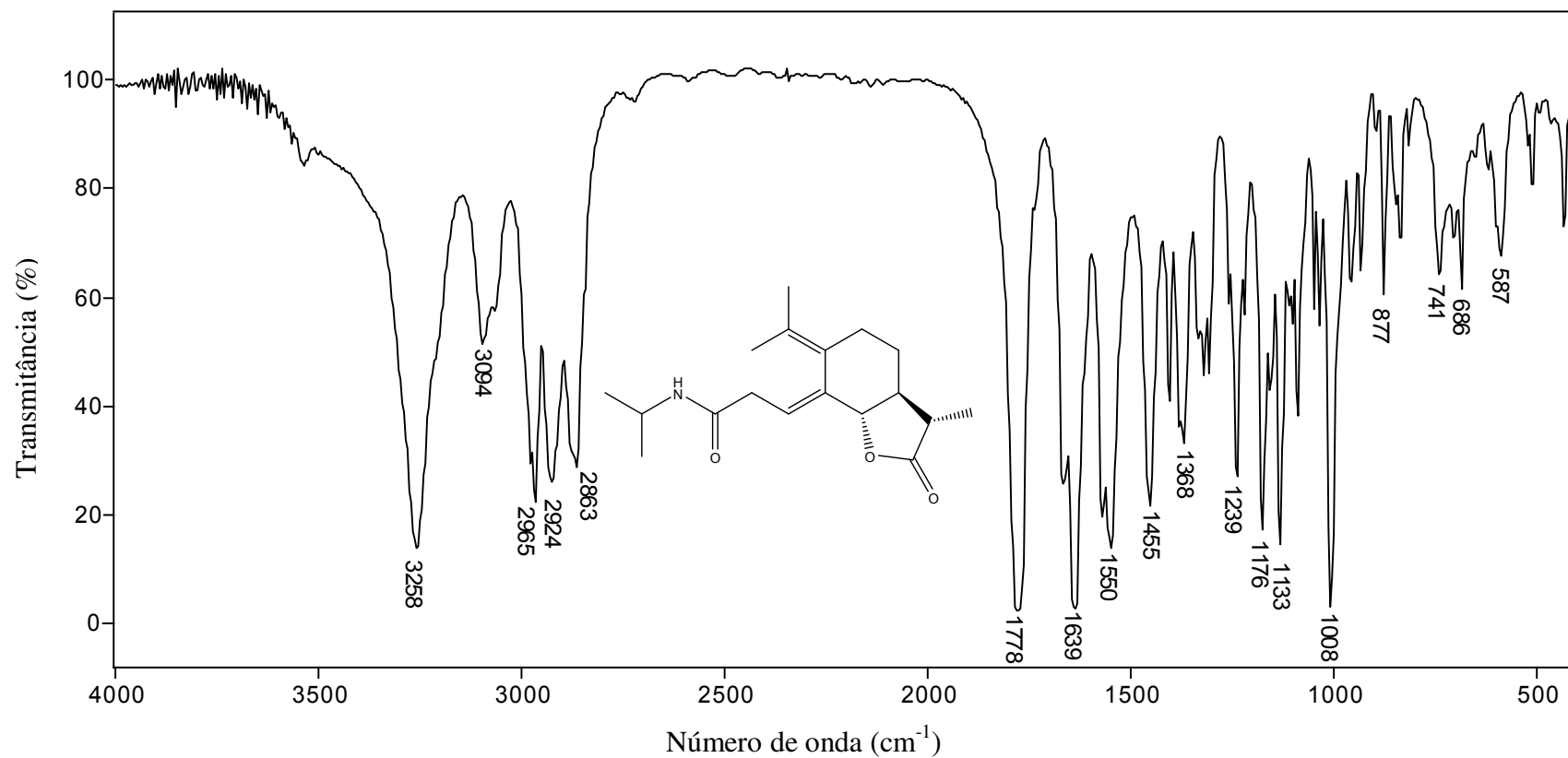


Figura 52: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [24].

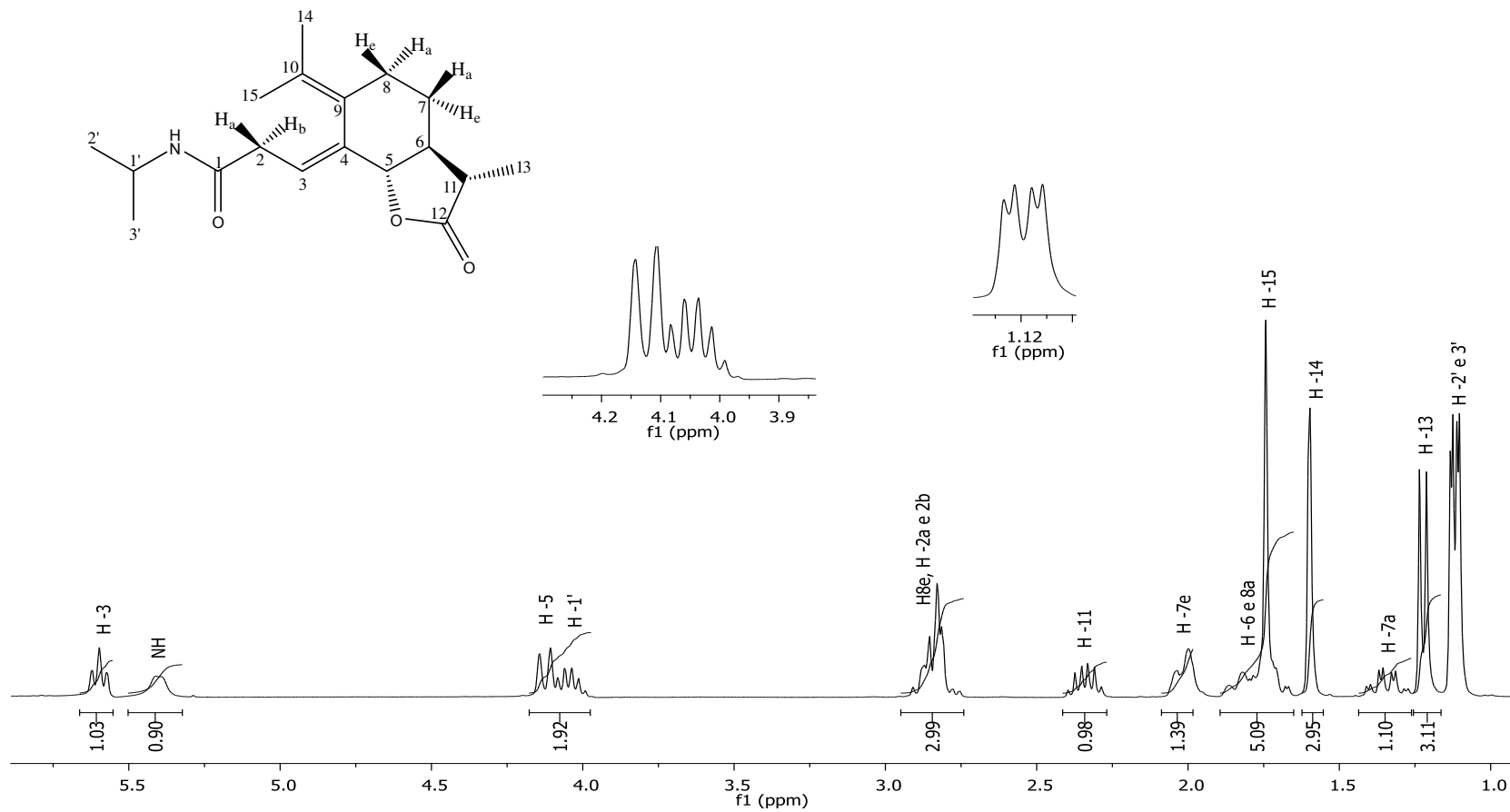


Figura 53: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [24].

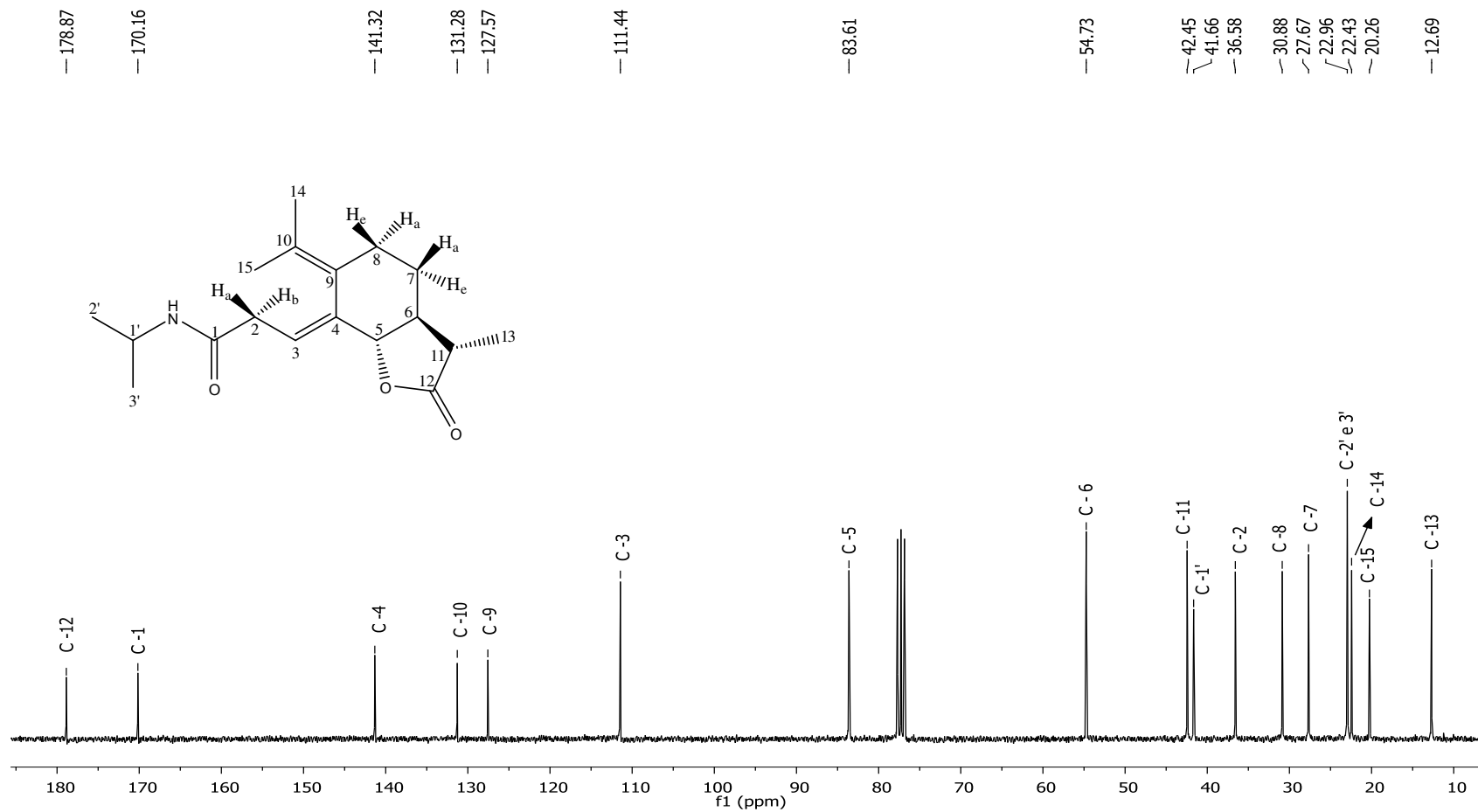


Figura 54: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [24].

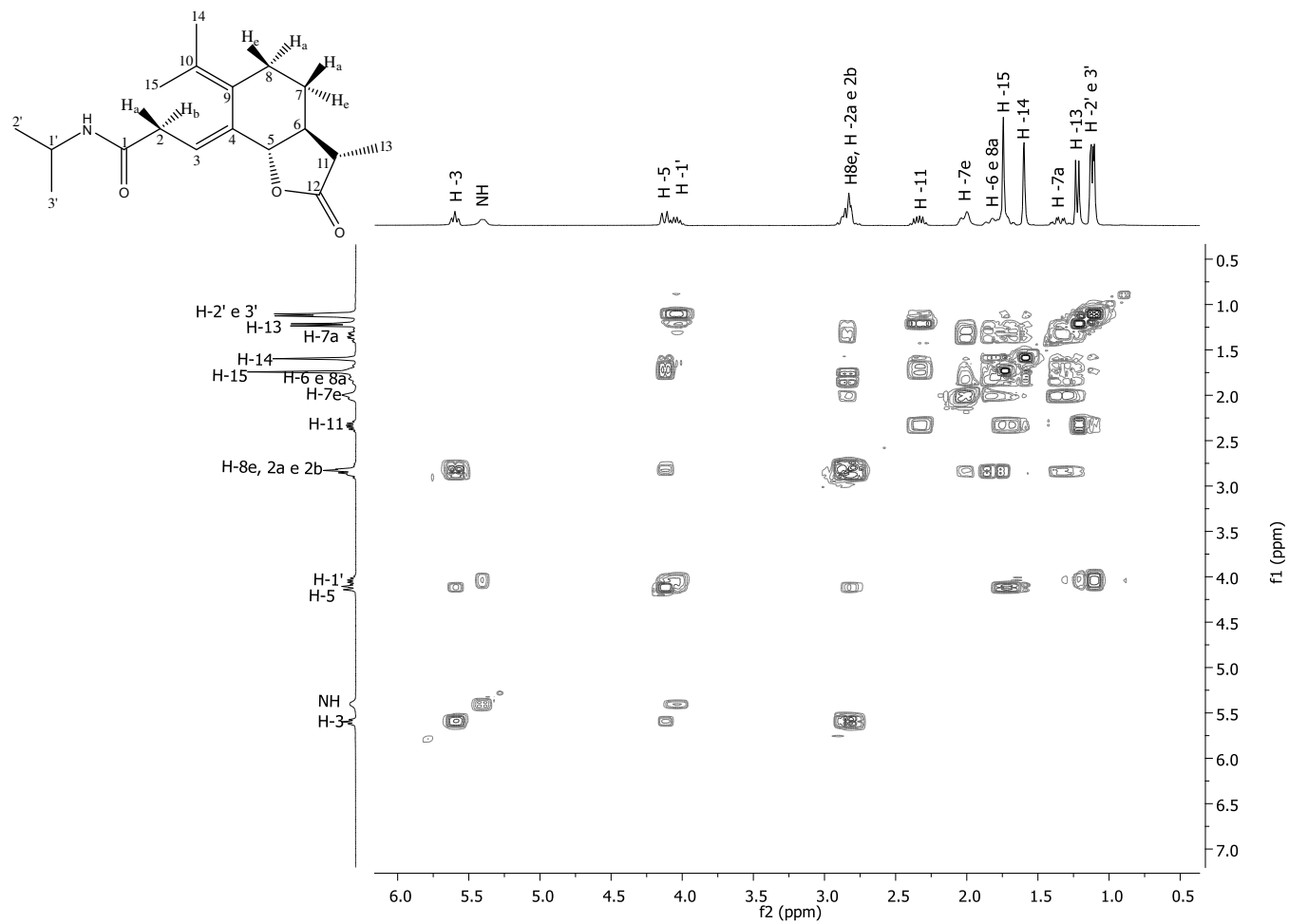


Figura 55: Mapa de contornos COSY do composto [24].

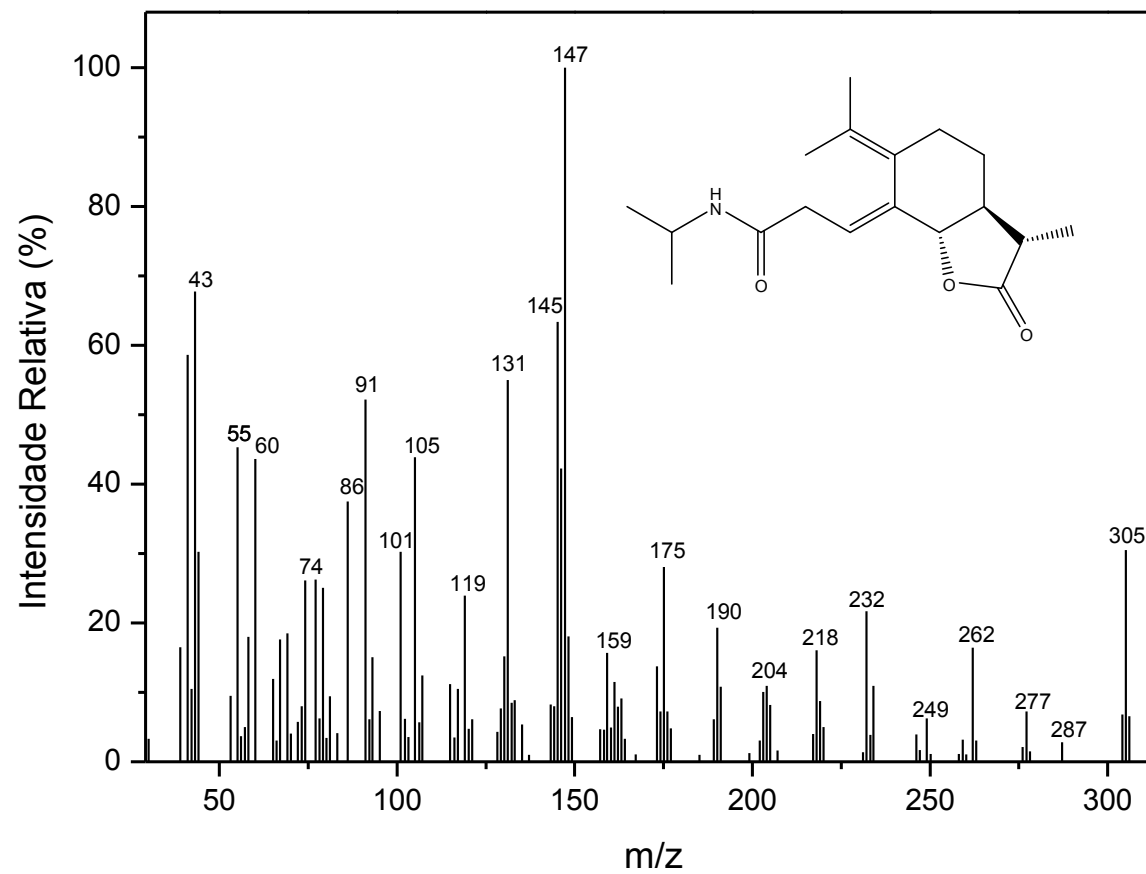


Figura 56: Espectro de massas do composto [24].

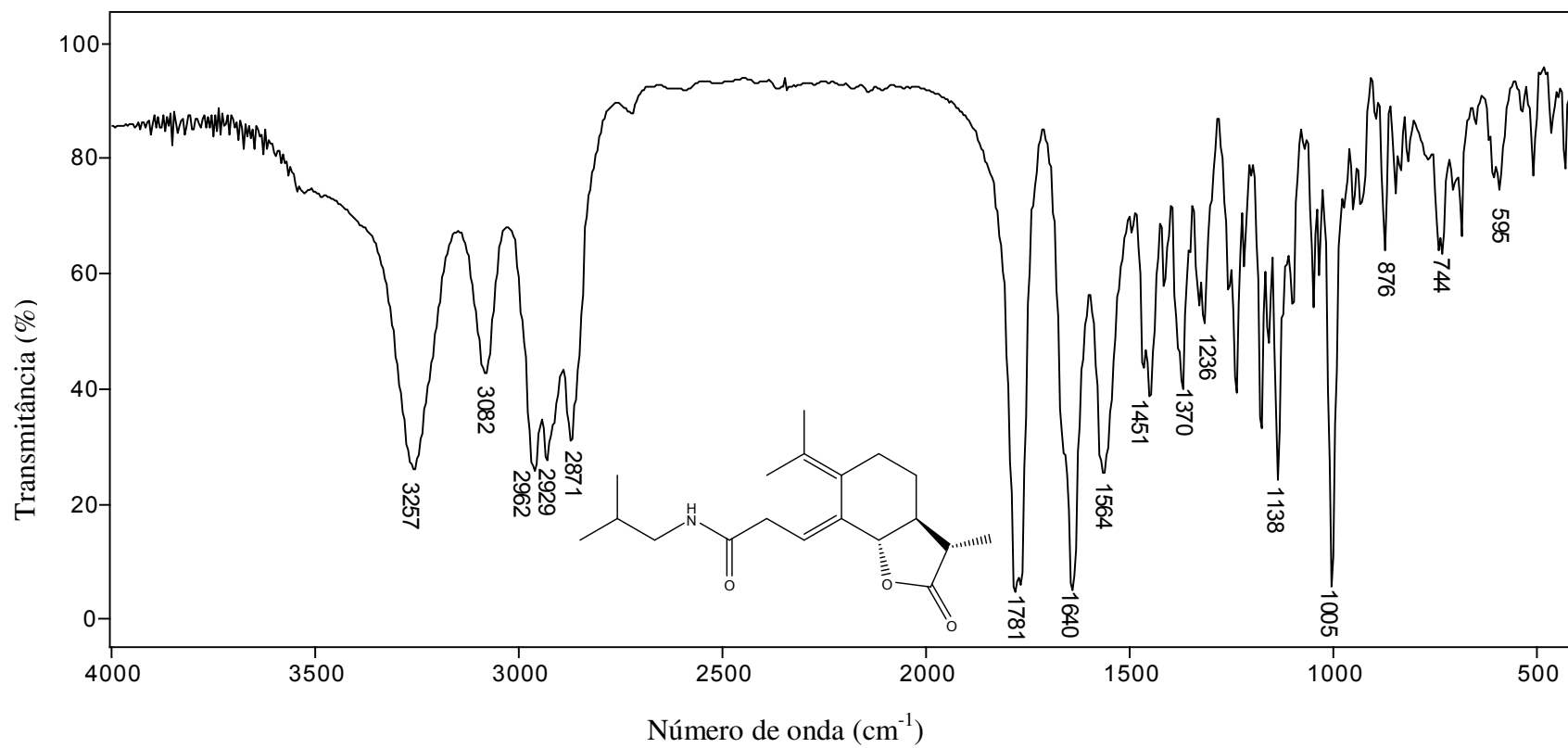


Figura 57: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [25].

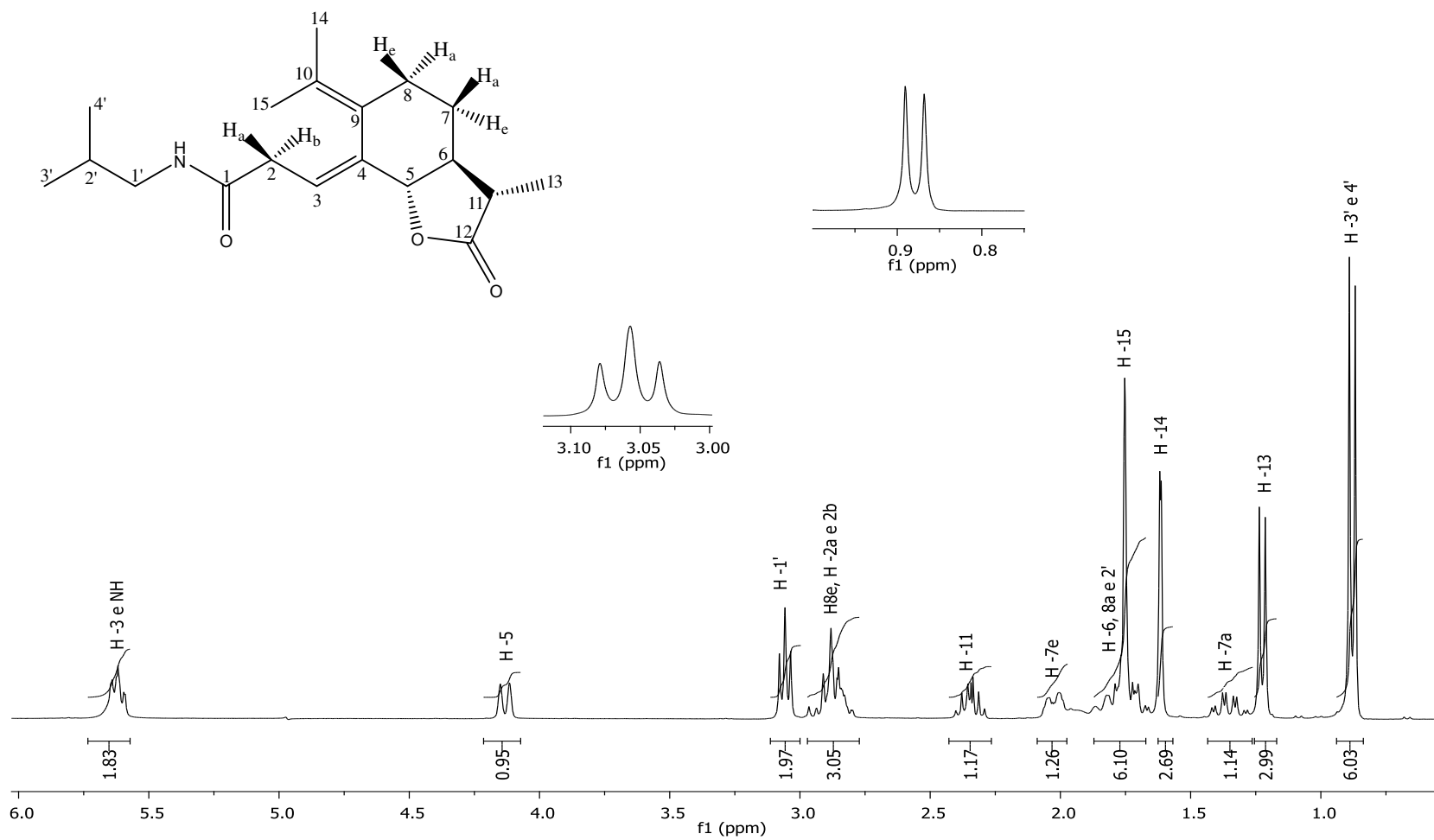


Figura 58: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [25].

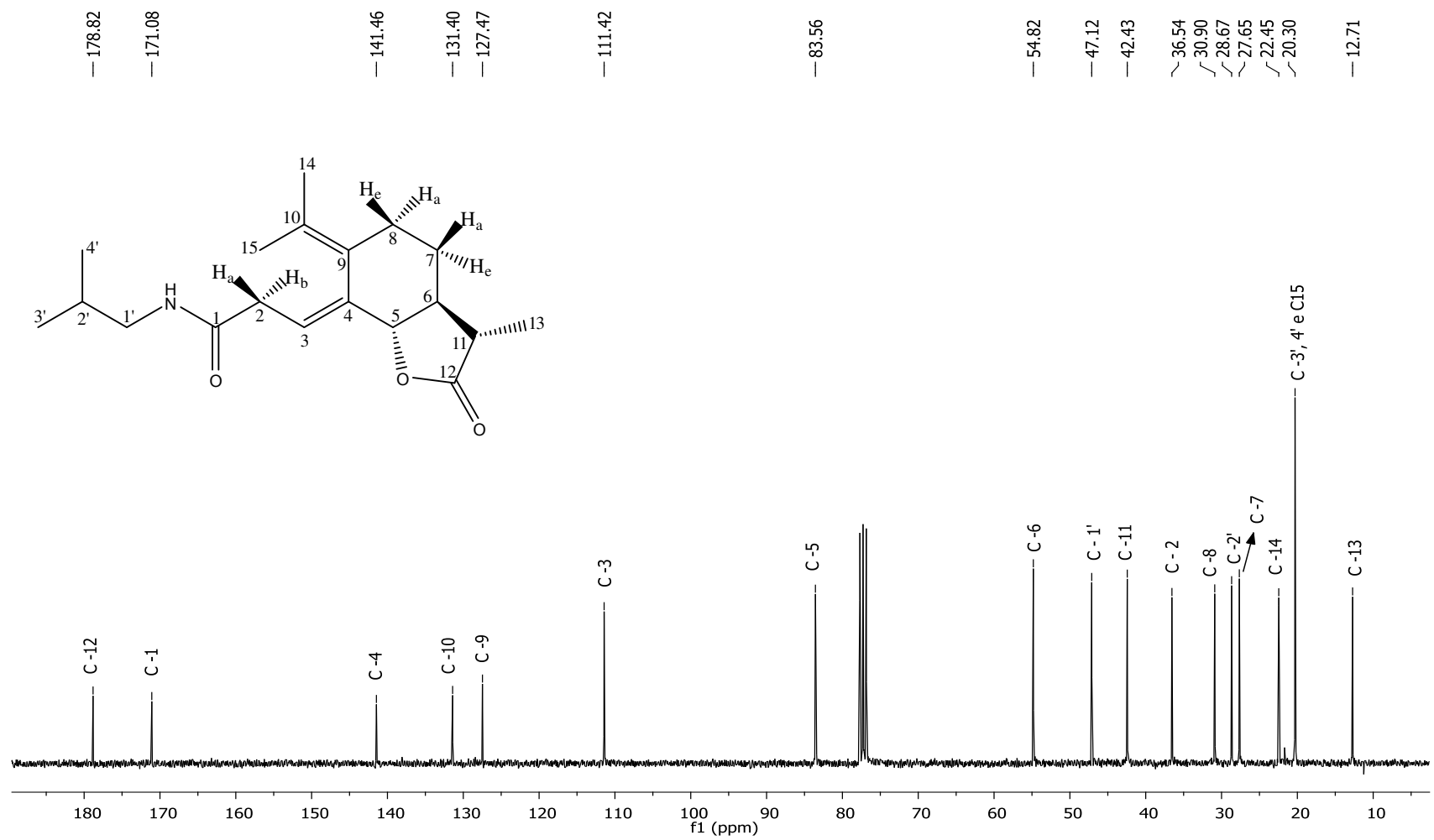


Figura 59: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [25].

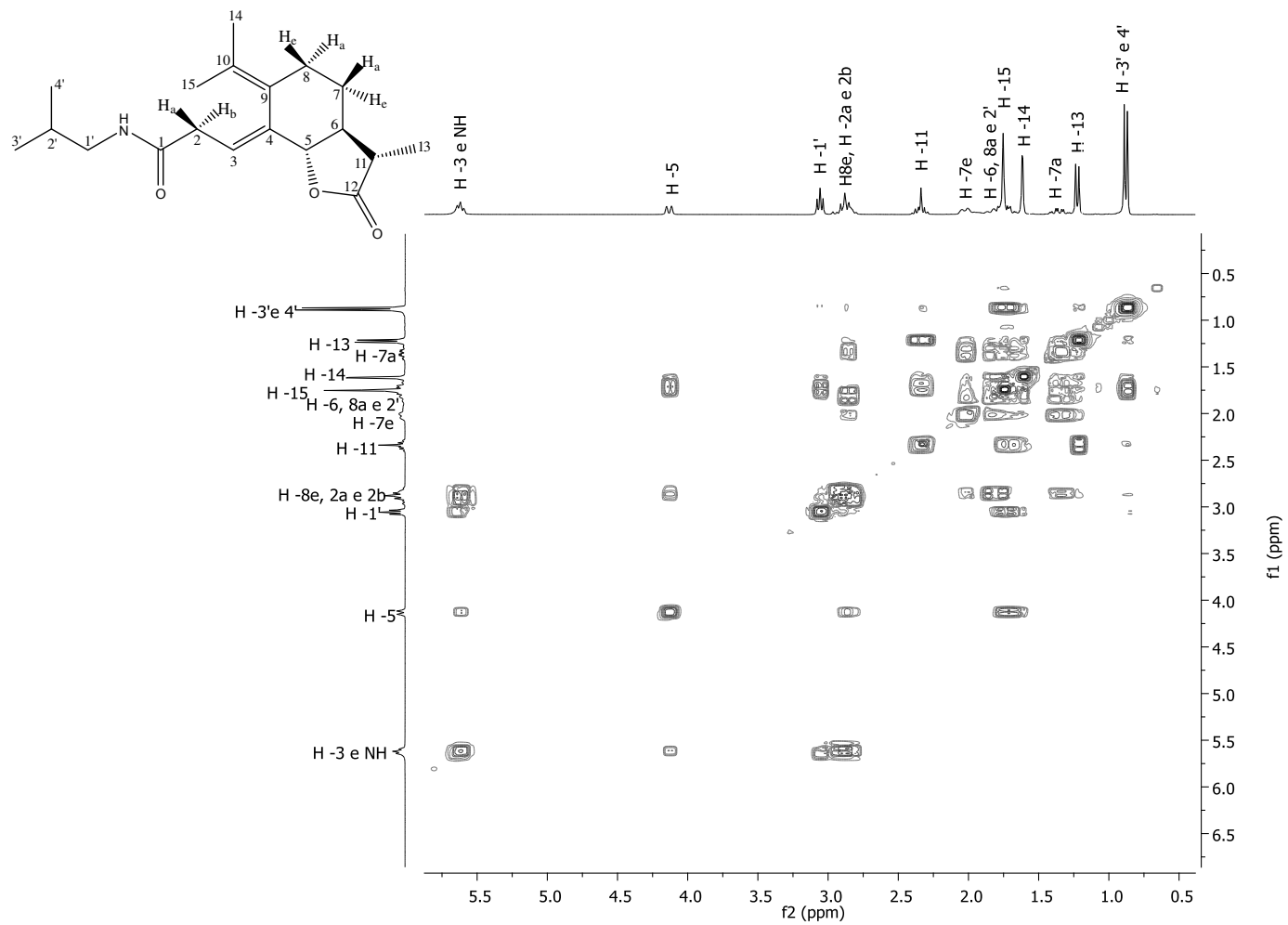


Figura 60: Mapa de contornos COSY do composto [25].

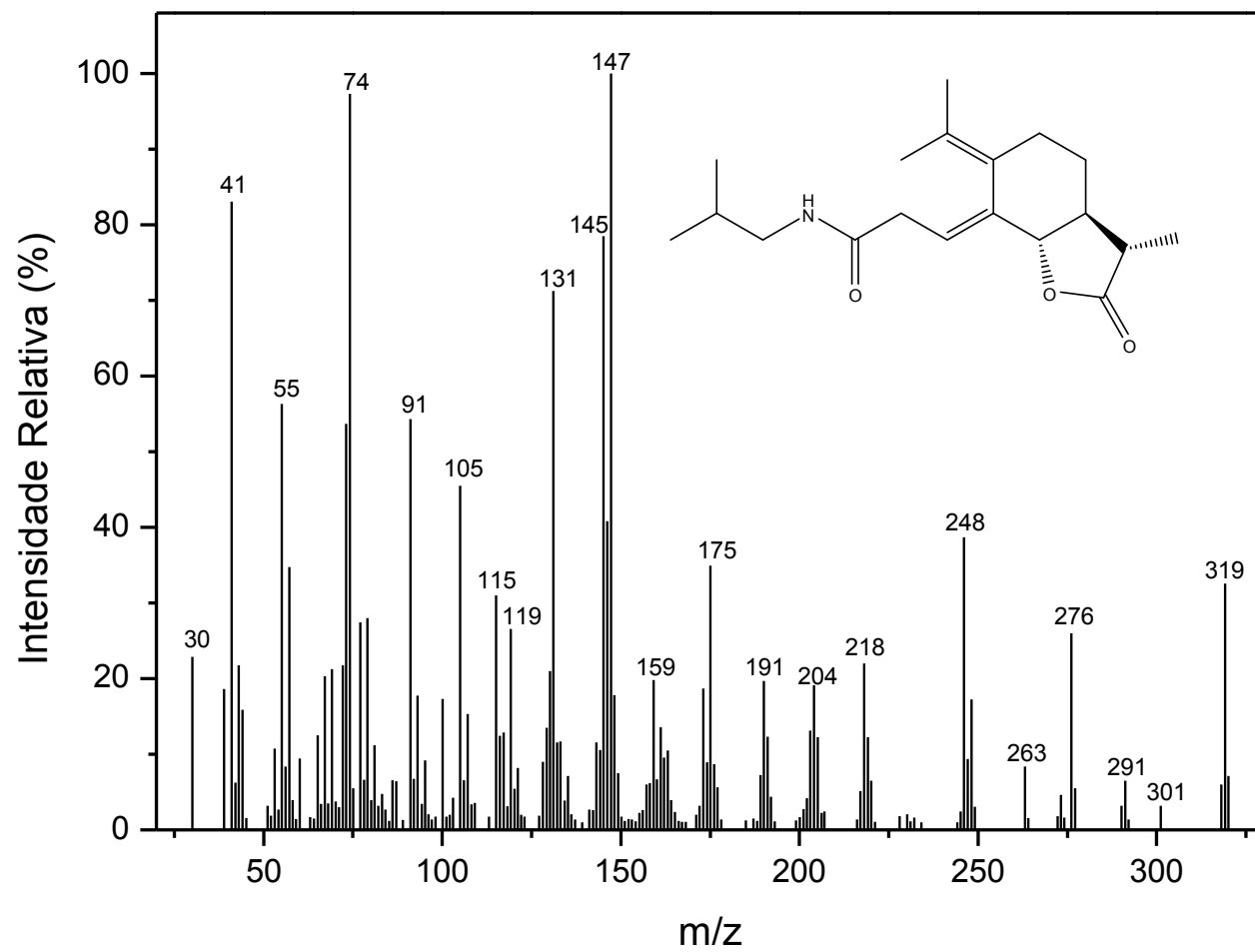


Figura 61: Espectro de massas do composto [25].

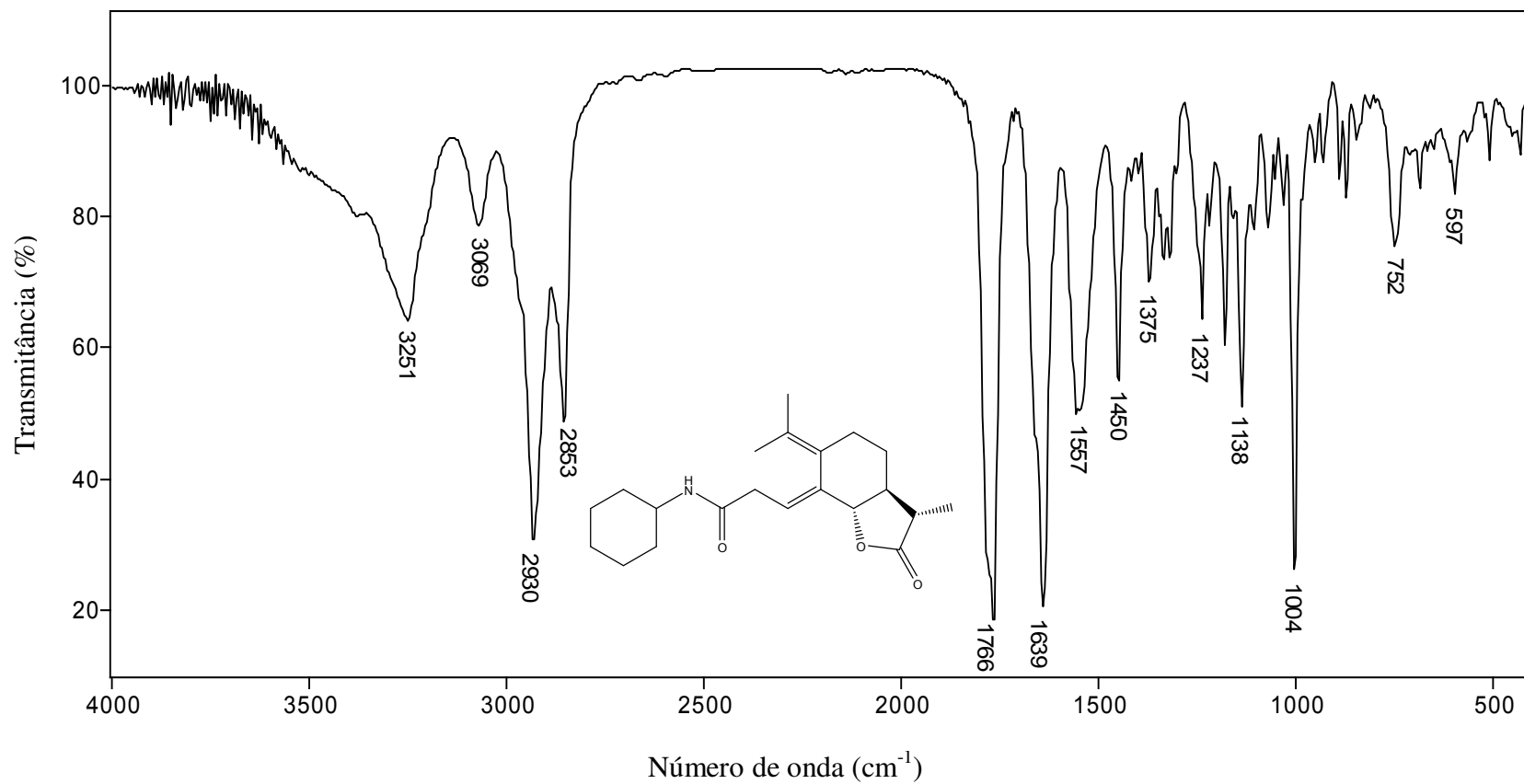


Figura 62: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [26].

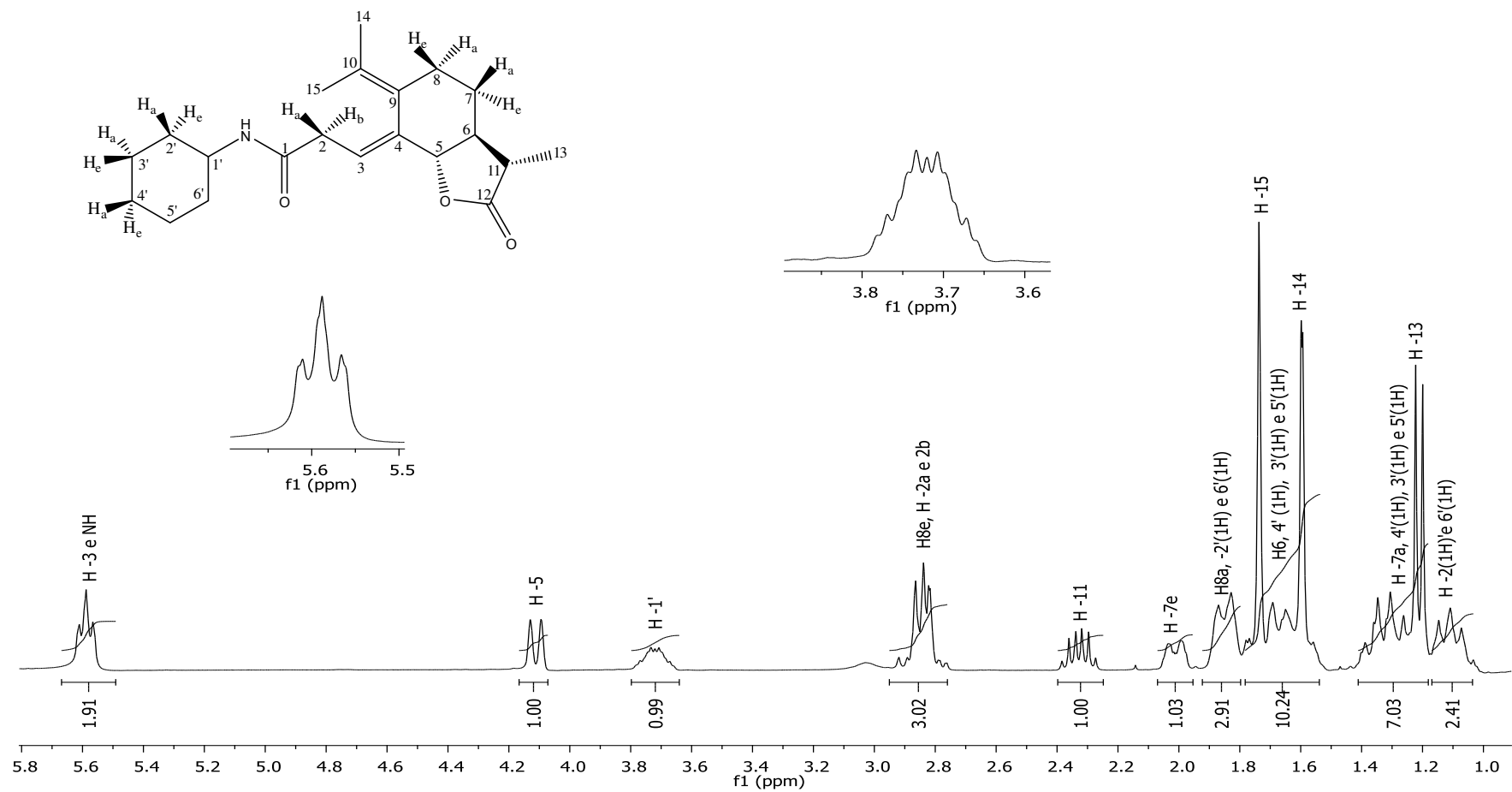


Figura 63: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [26].

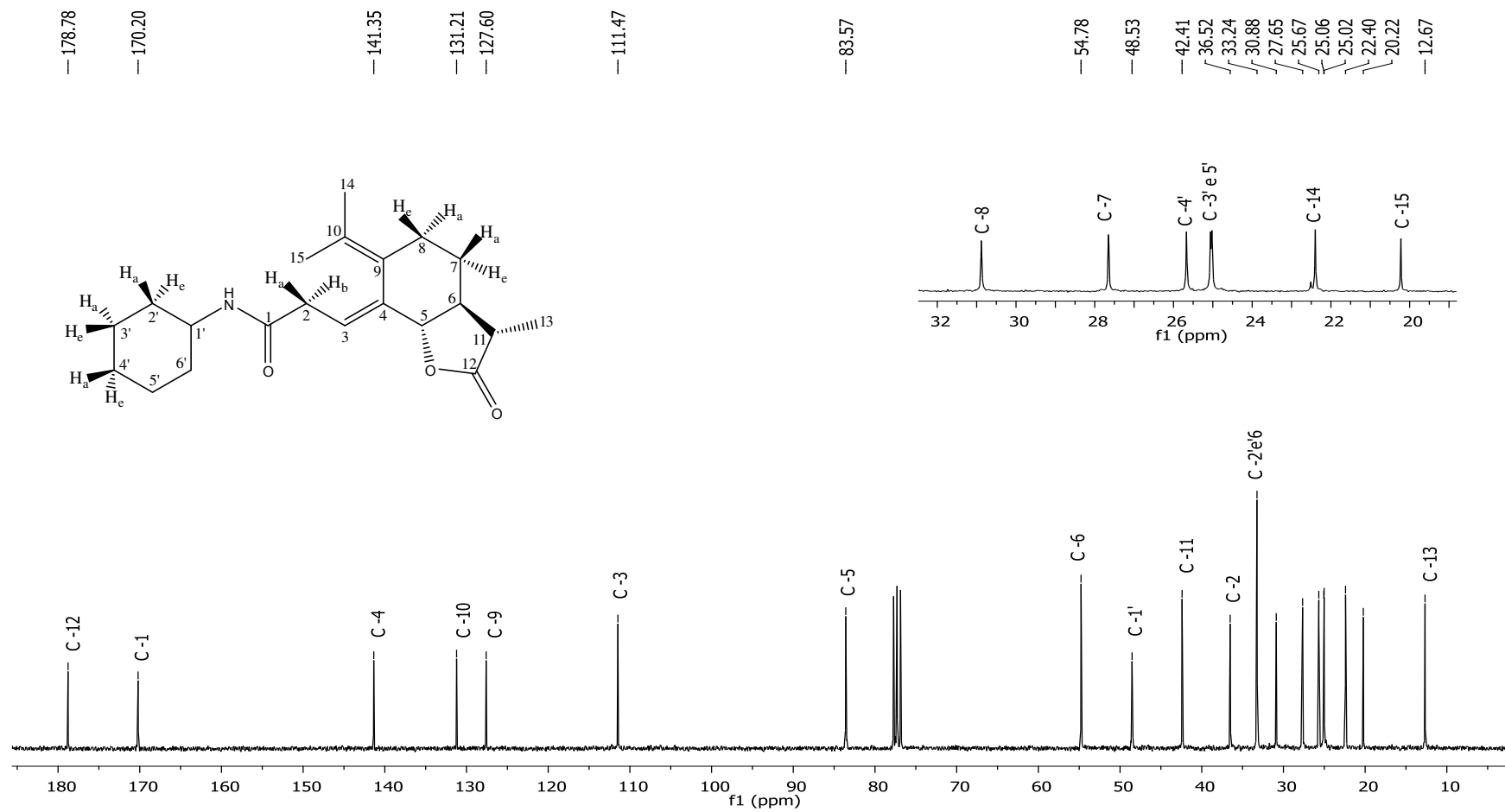


Figura 64: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [26].

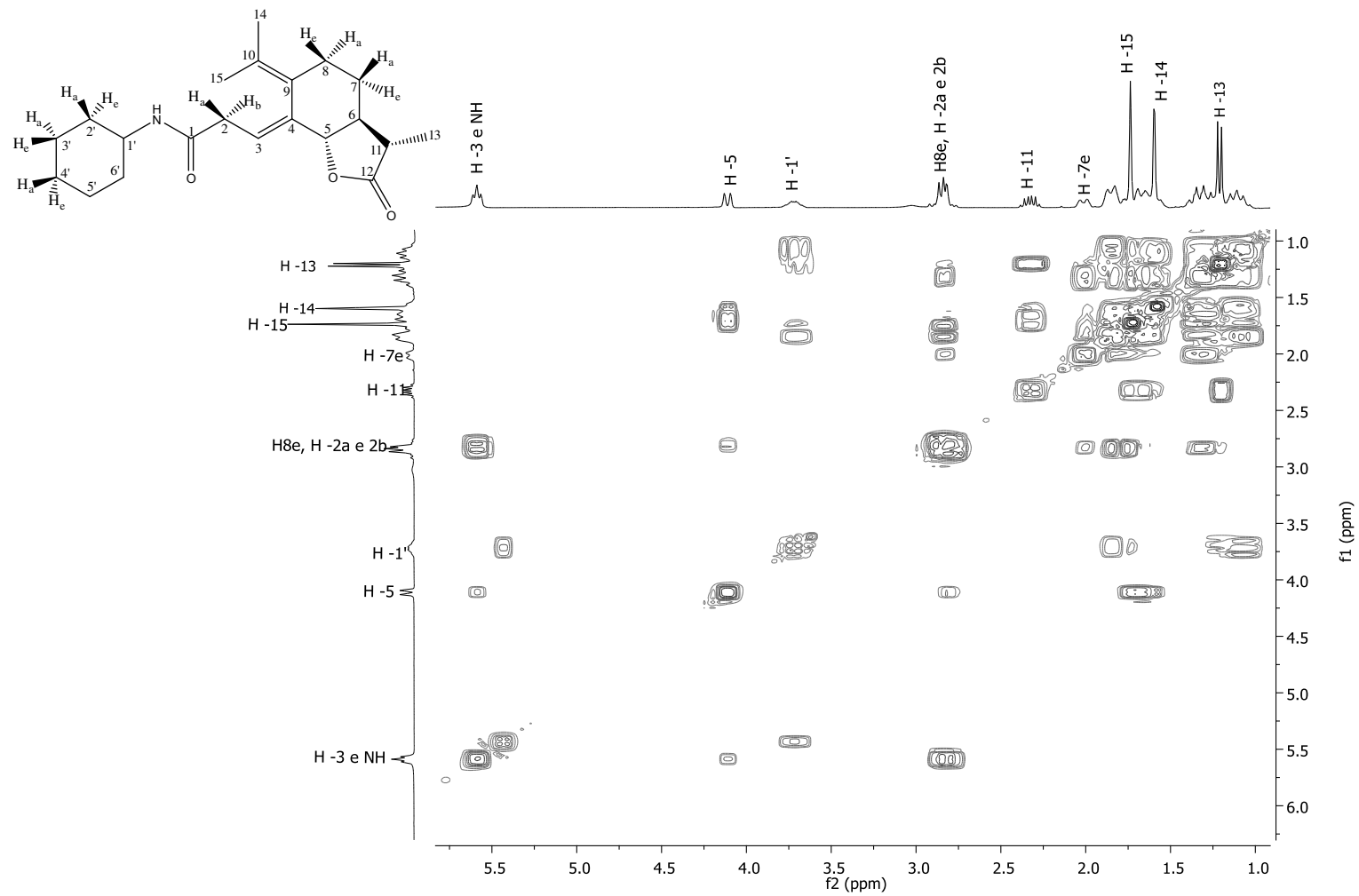


Figura 65: Mapa de contornos COSY do composto [26].

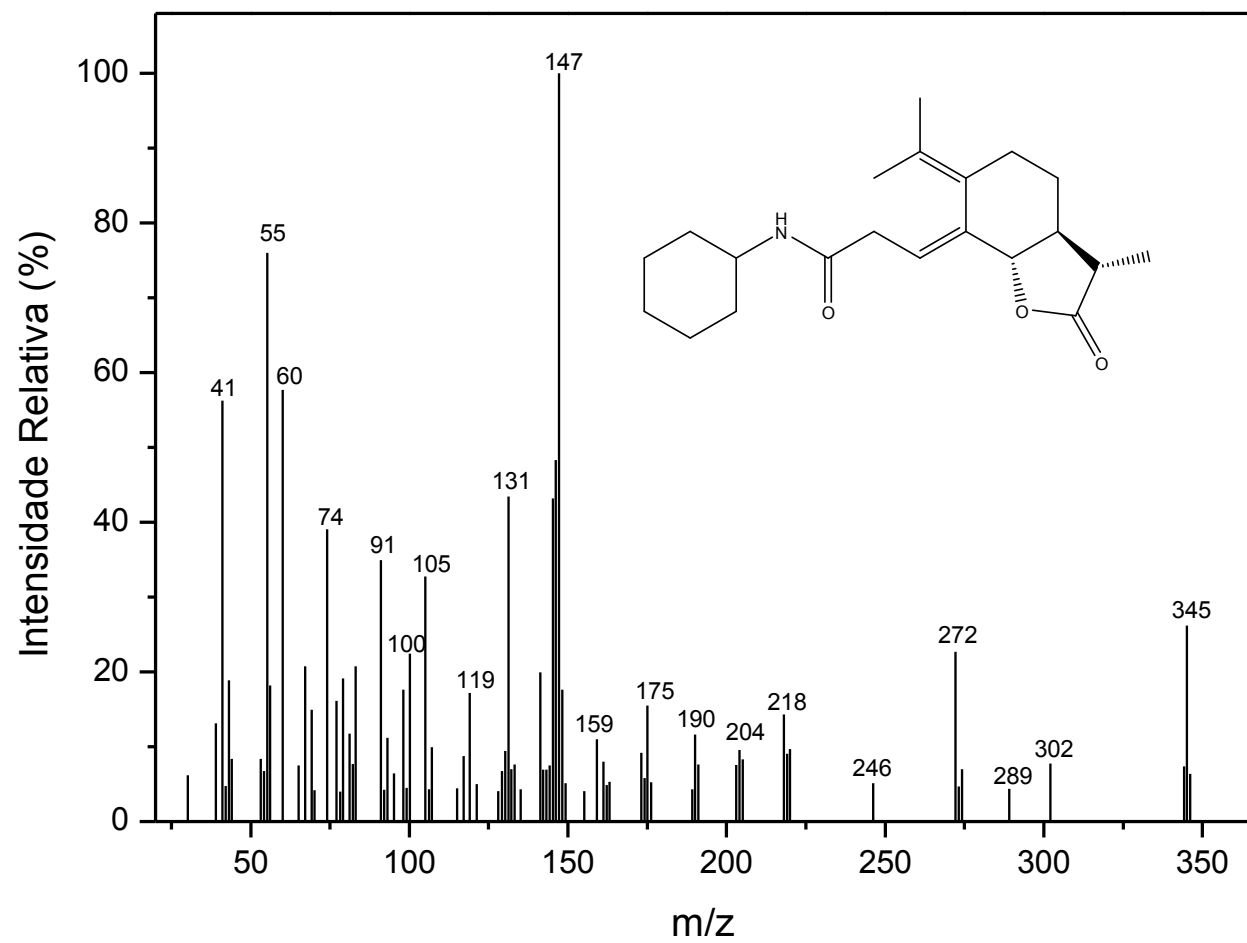


Figura 66: Espectro de massas do composto [26].

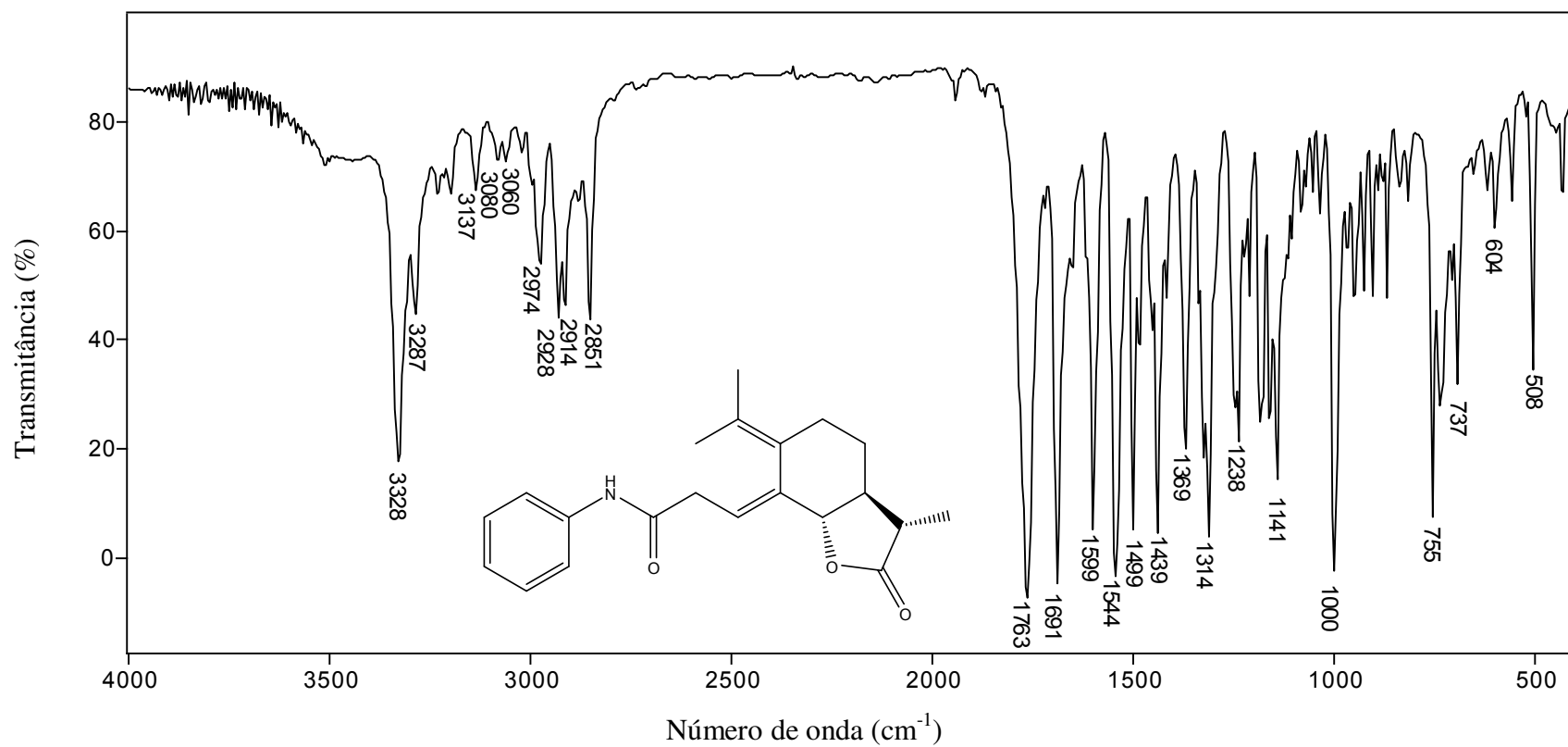


Figura 67: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [27].

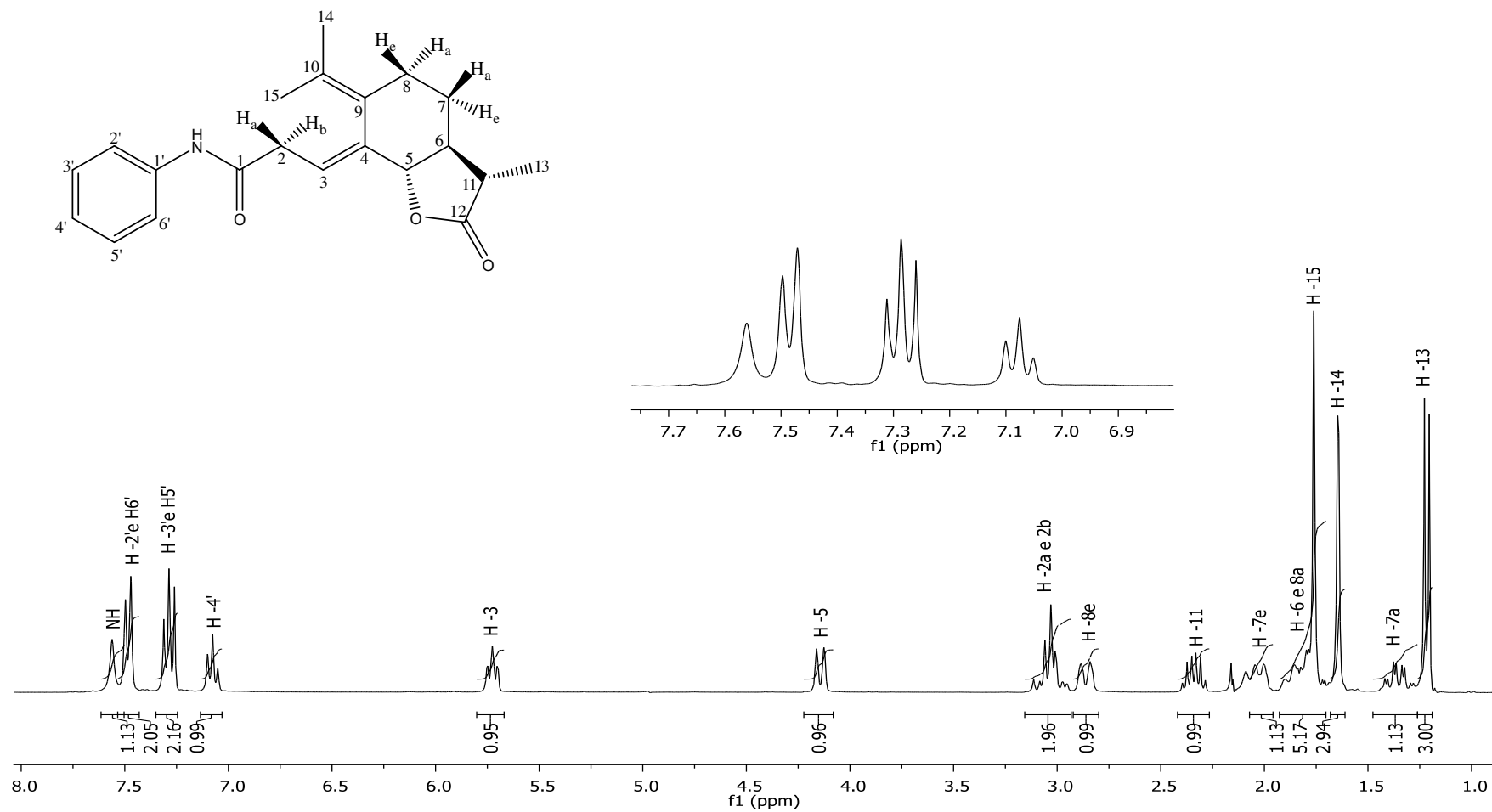


Figura 68: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [27].

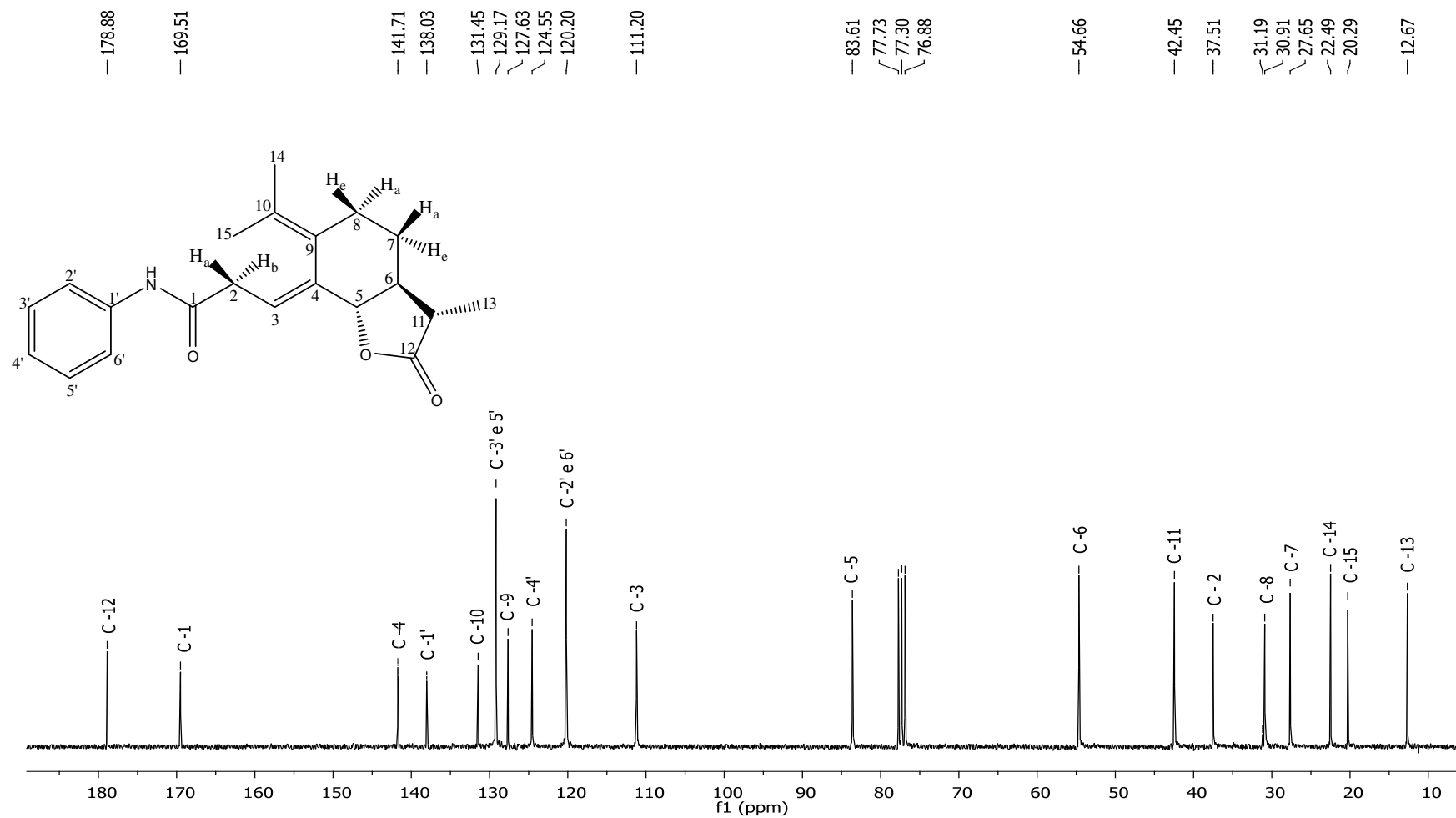


Figura 69: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para o composto [27].

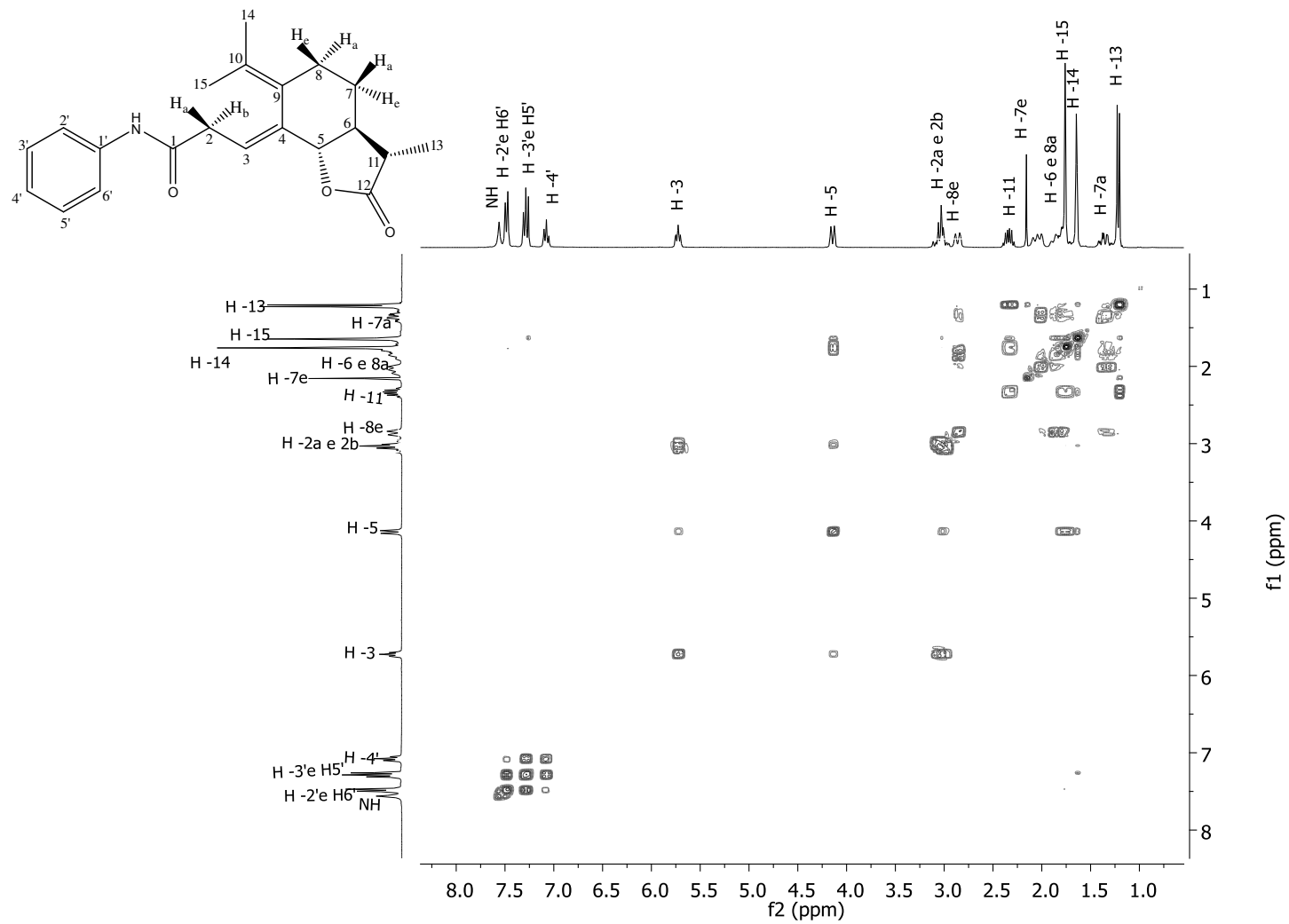


Figura 70: Mapa de contornos COSY do composto [27].

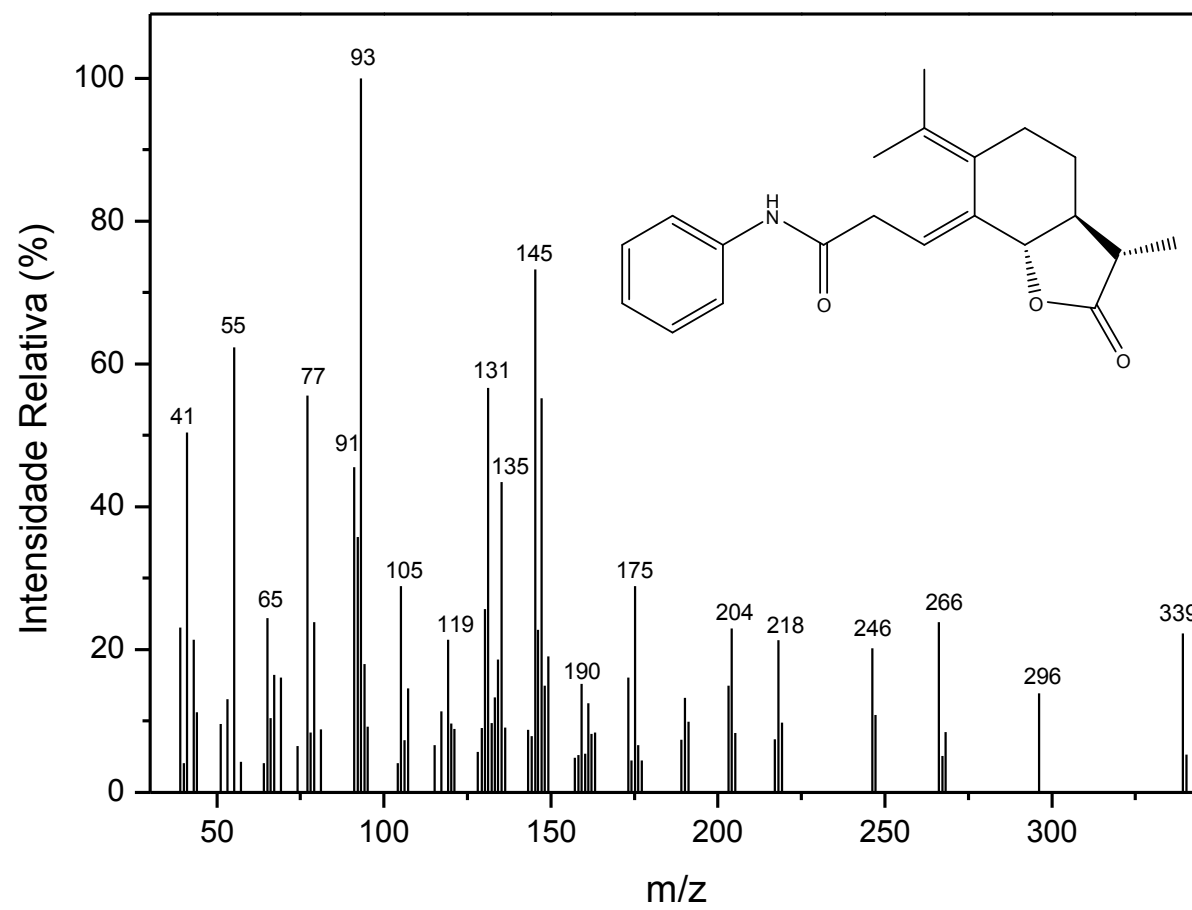


Figura 71: Espectro de massas do composto [27].

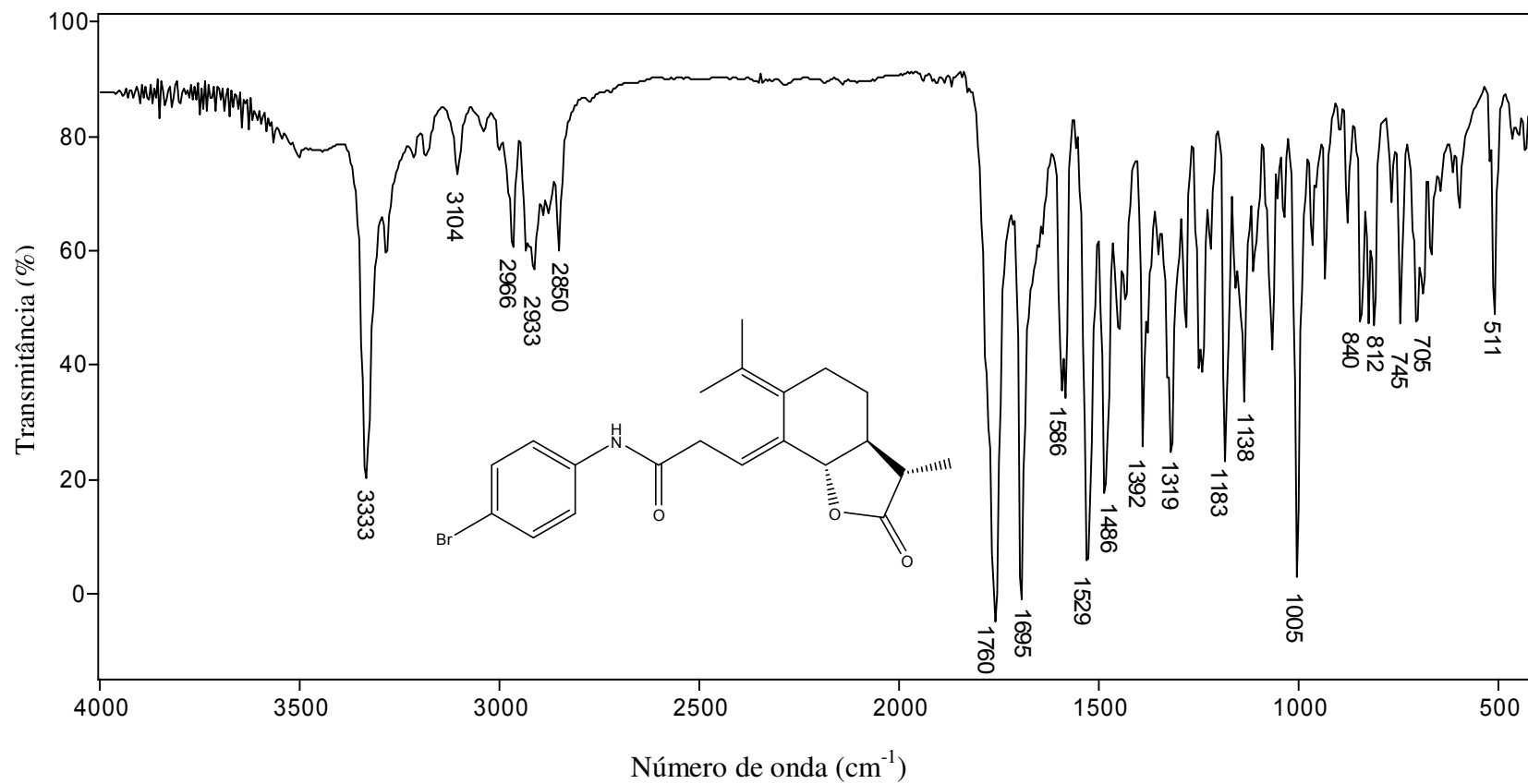


Figura 72: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [28].

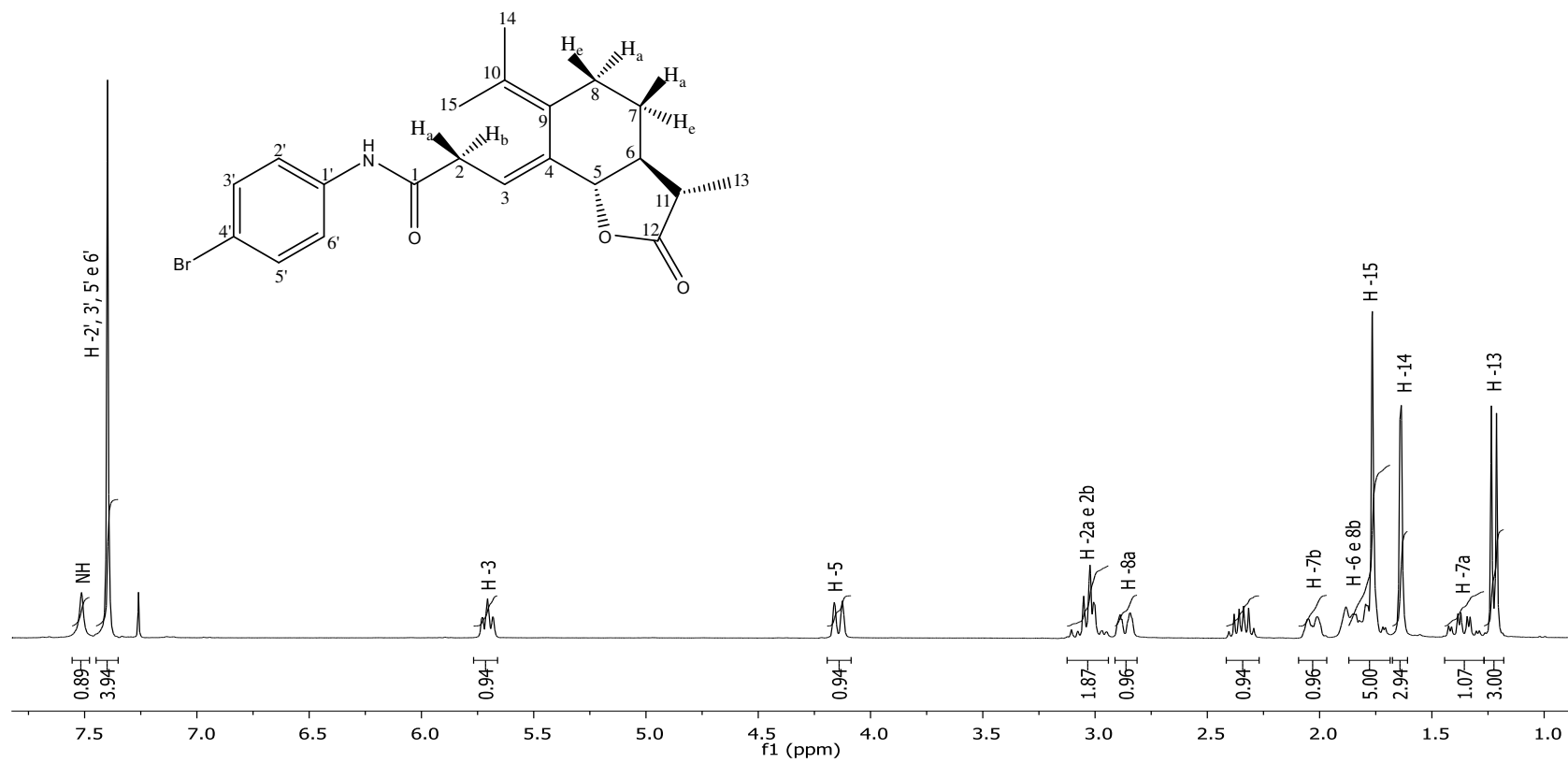


Figura 73: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [28].

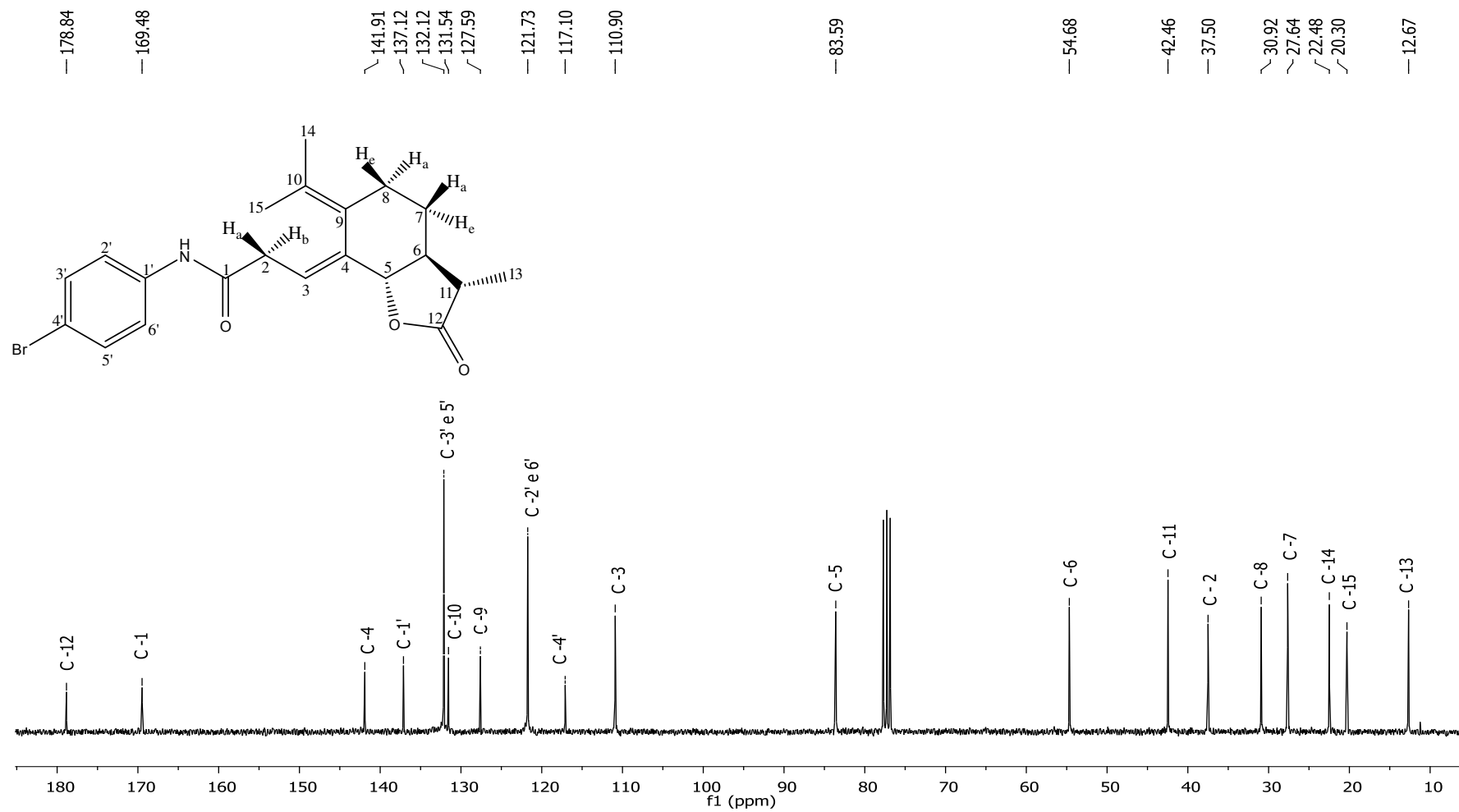


Figura 74: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [28].

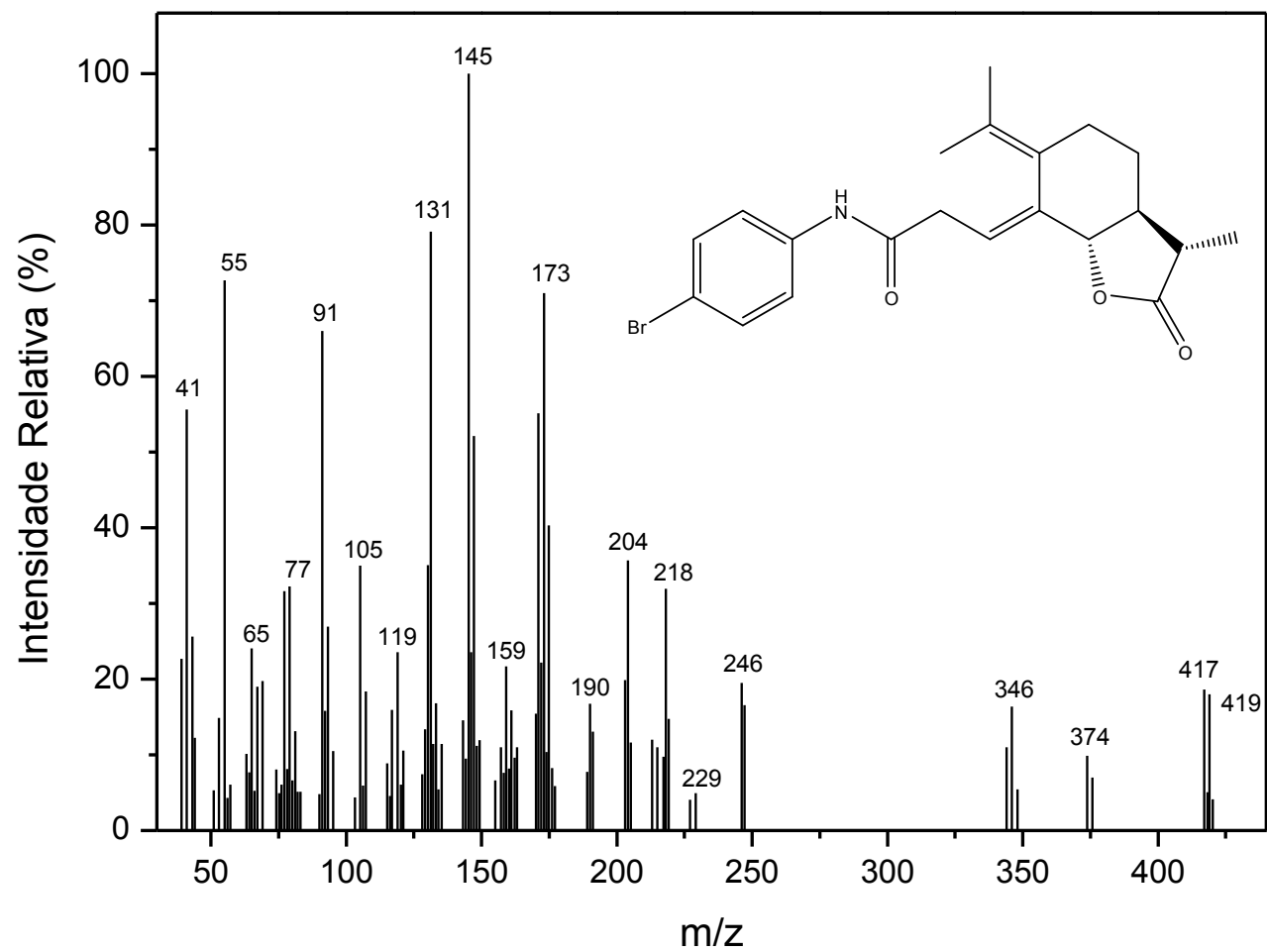


Figura 76: Espectro de massas do composto [28].

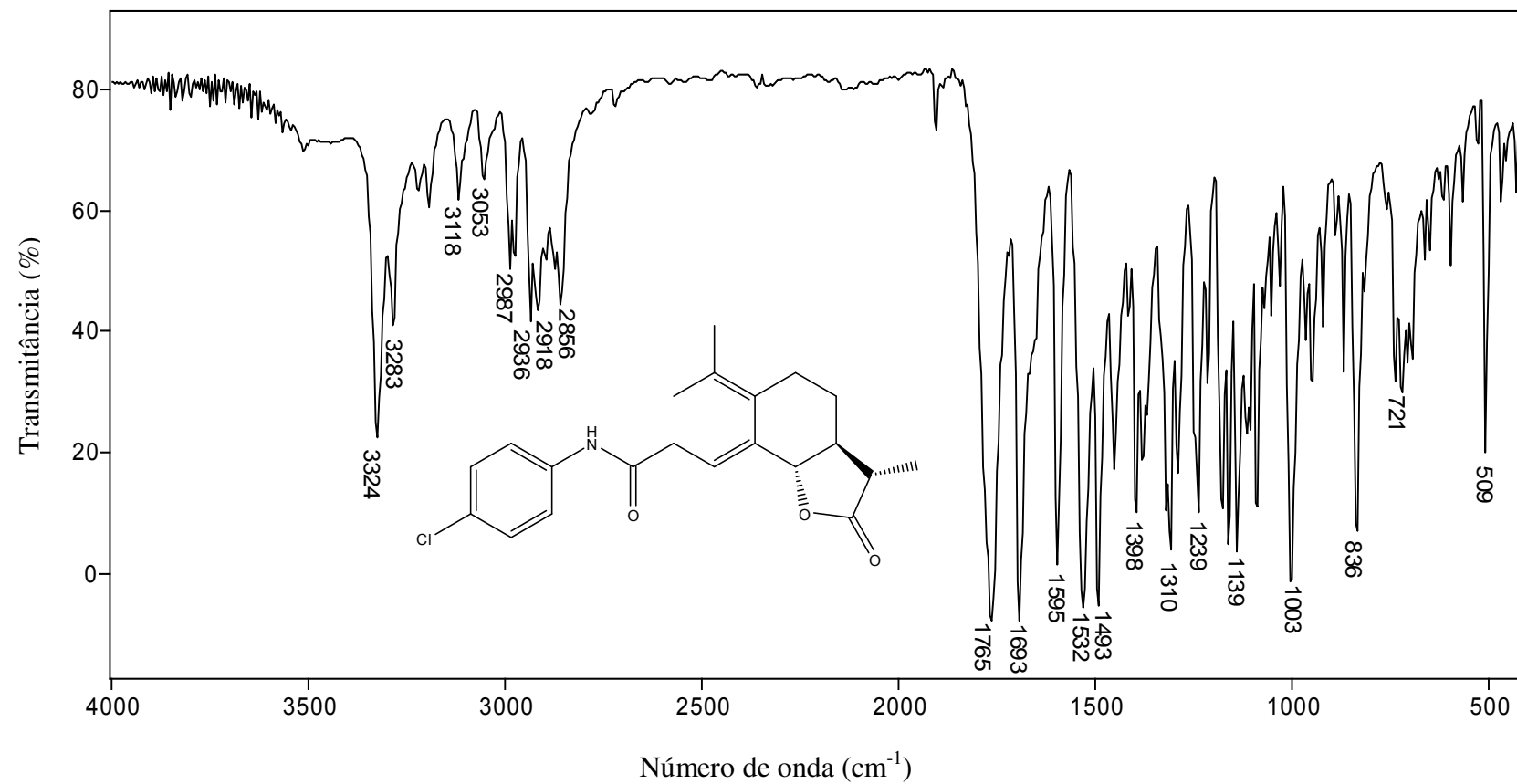


Figura 77: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [29].

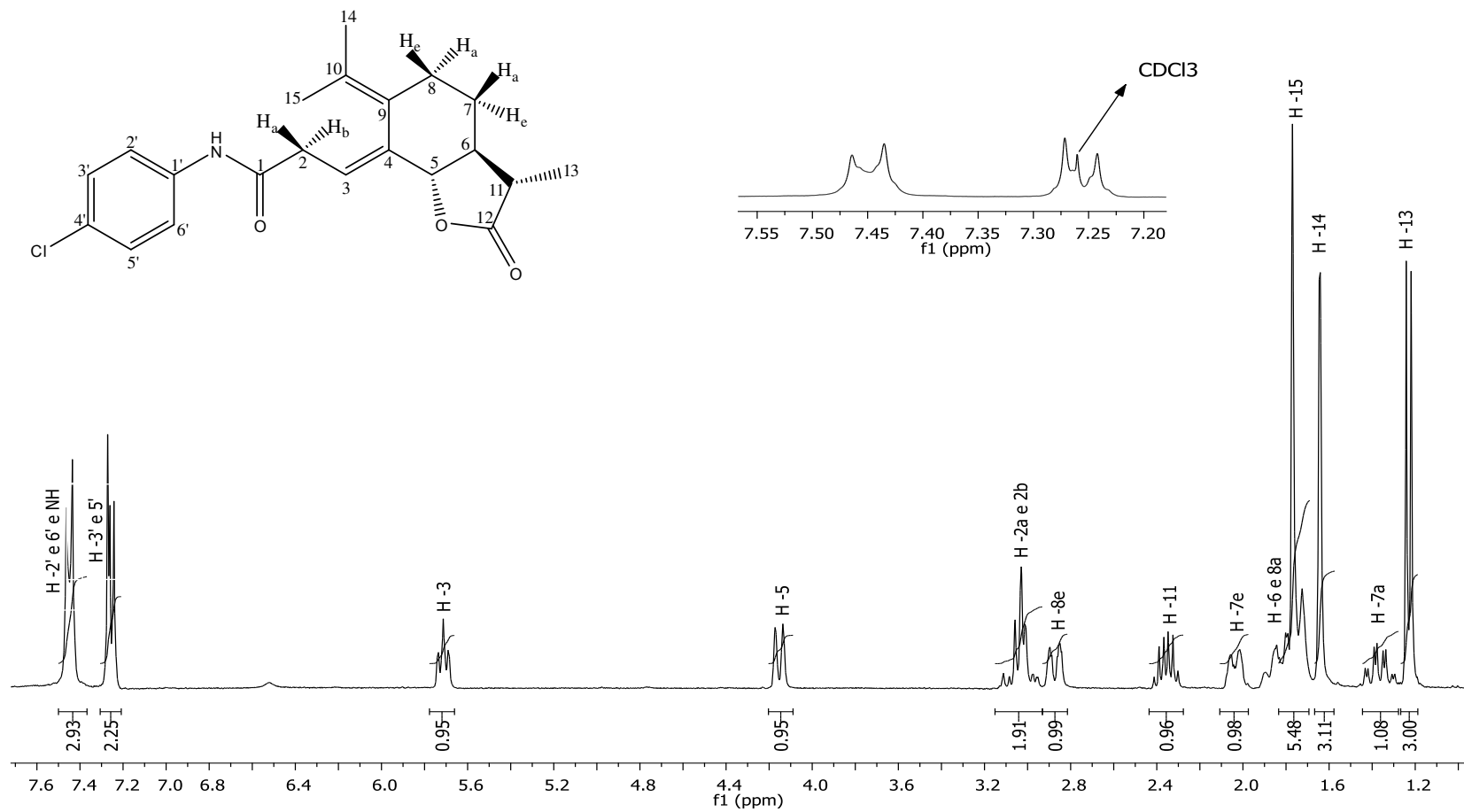


Figura 78: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [29].

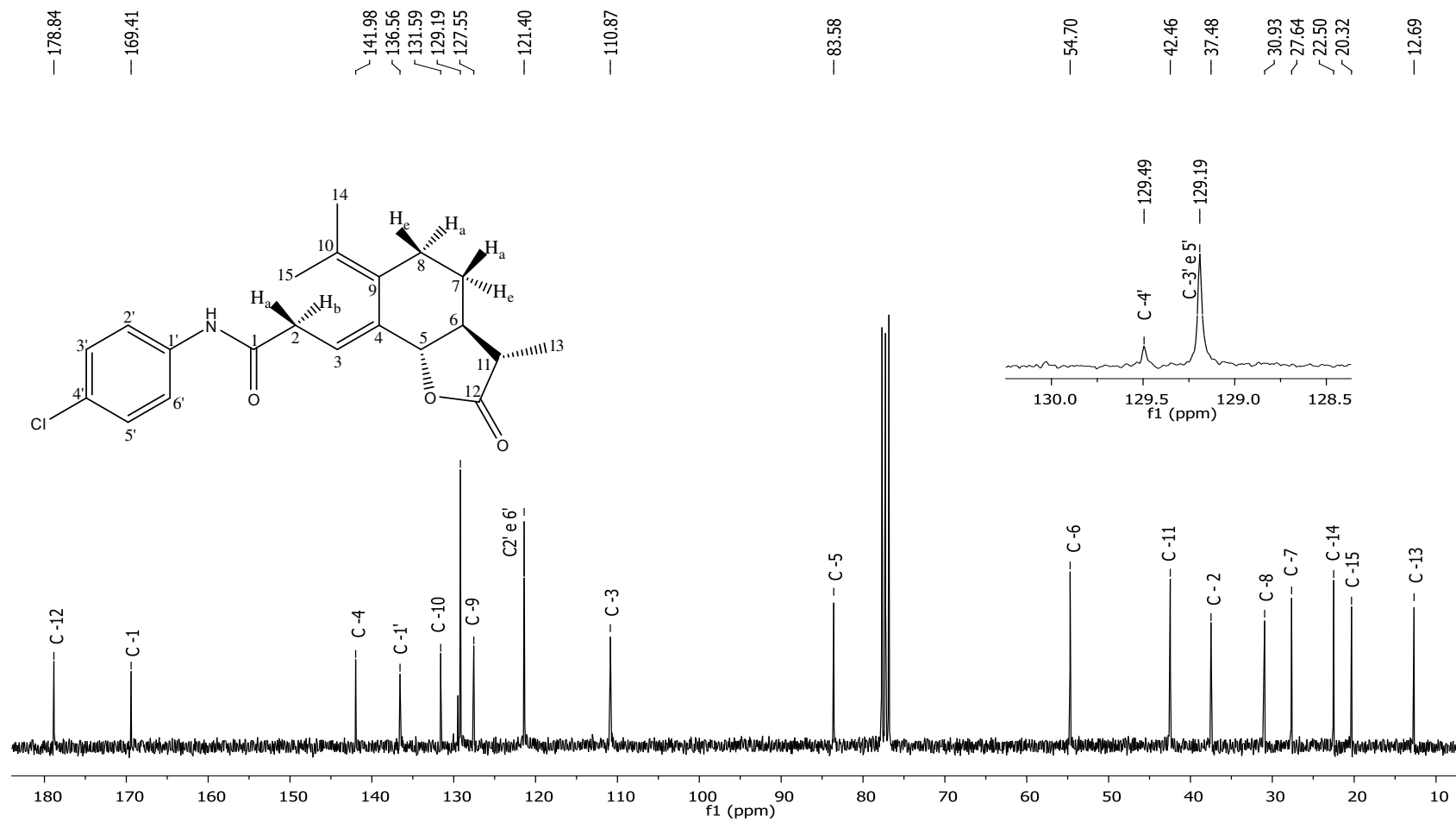


Figura 79: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [29].

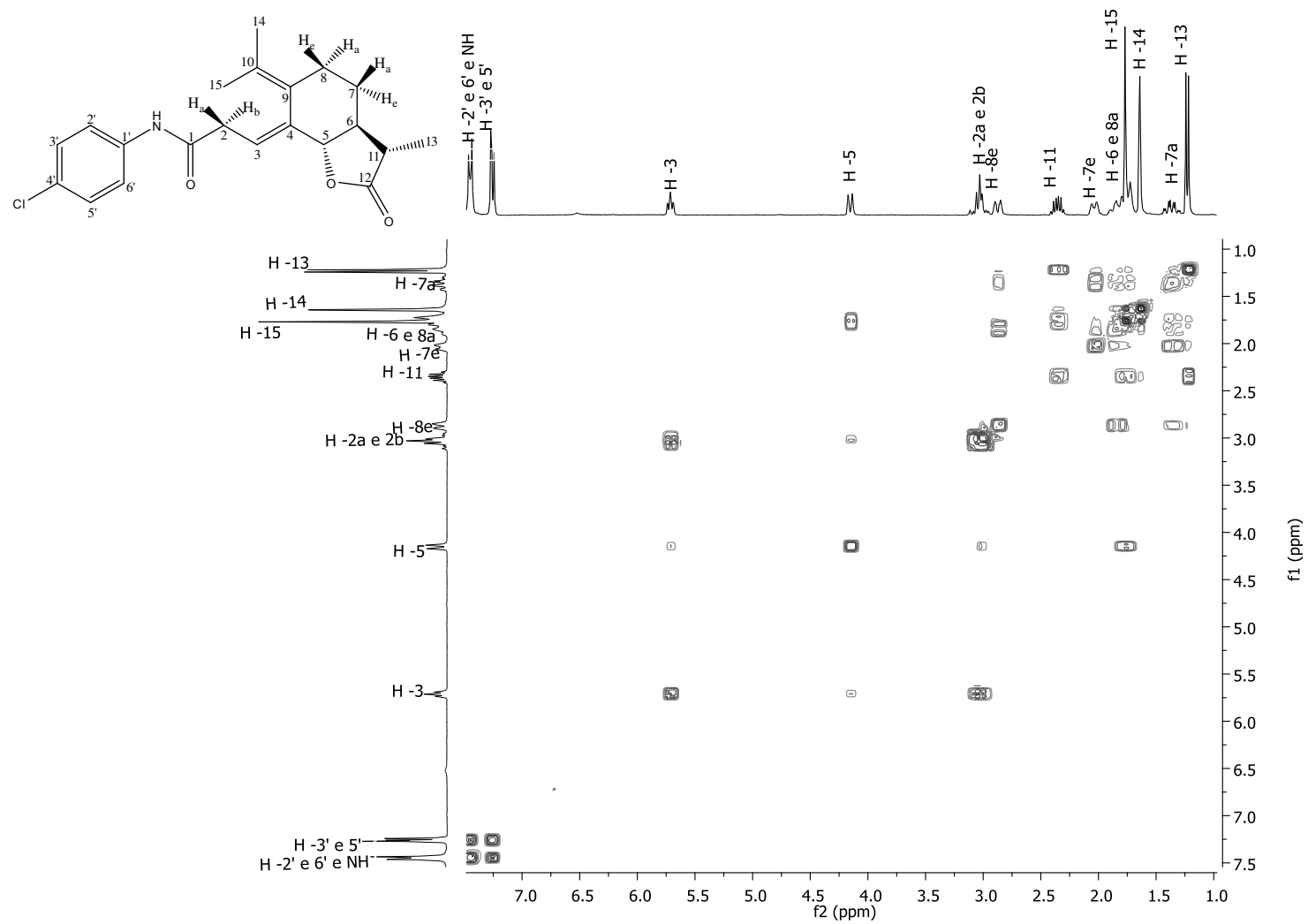


Figura 80: Mapa de contornos COSY do composto [29].

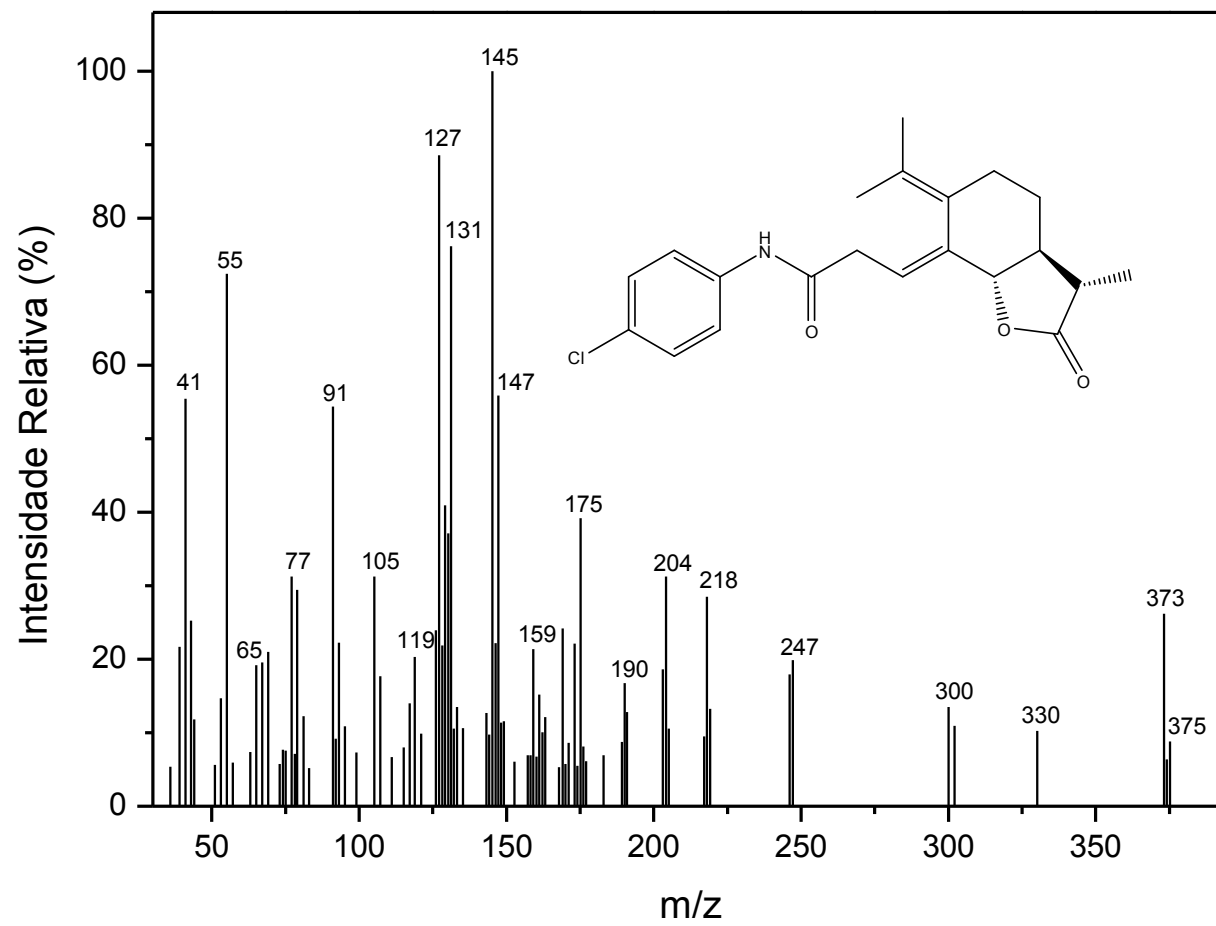


Figura 81: Espectro de massas do composto [29].

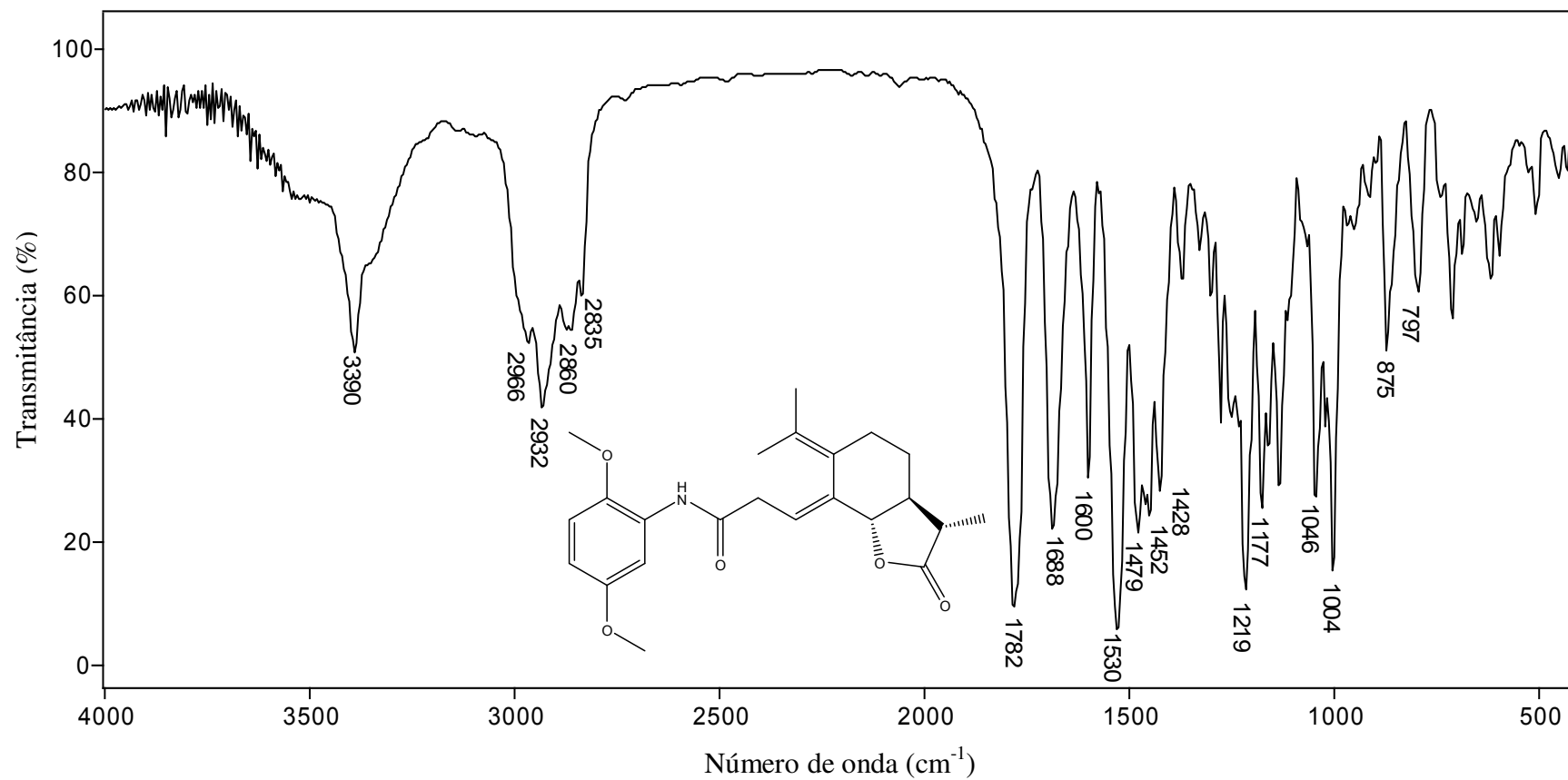


Figura 82: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [31].

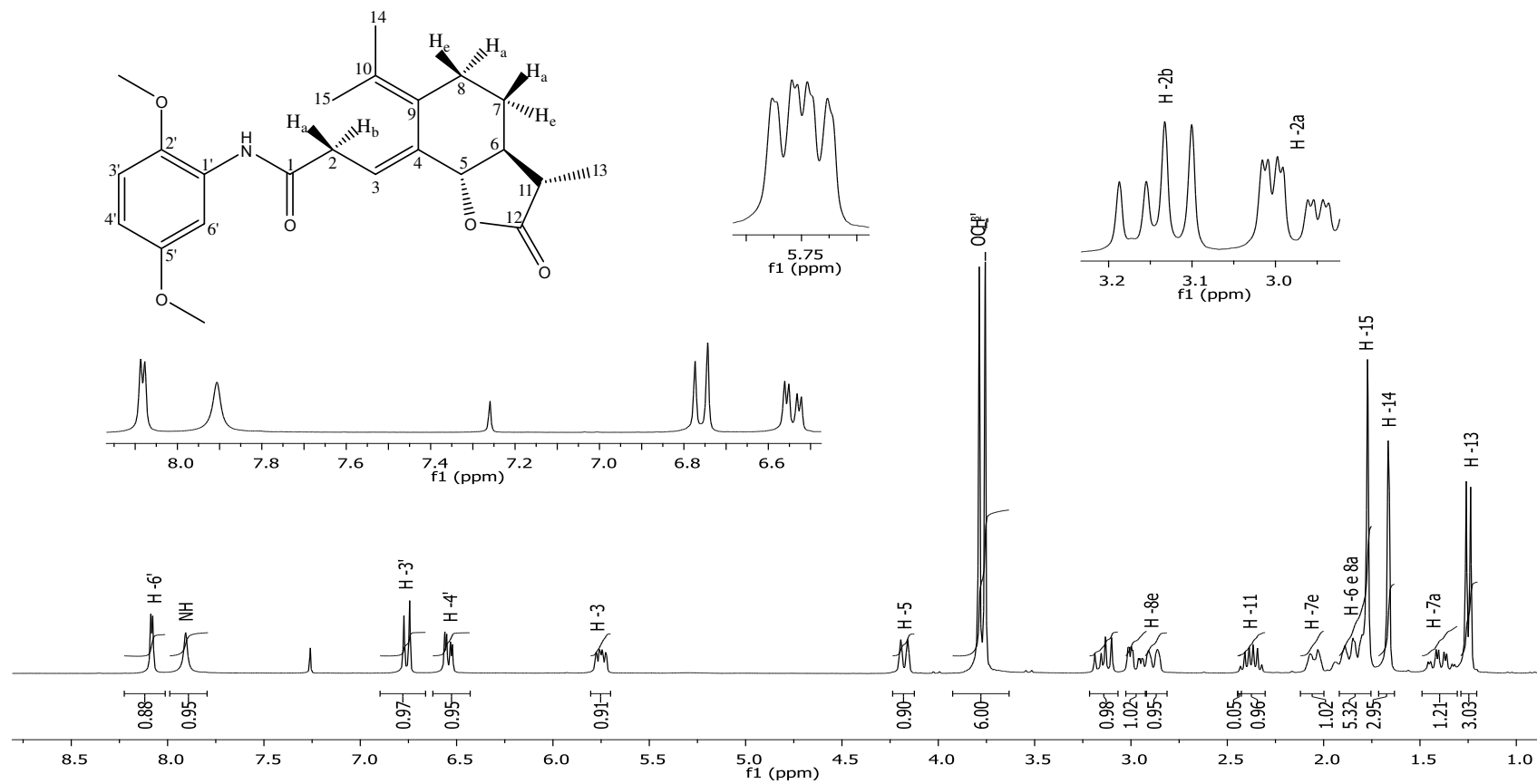


Figura 83: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [31].

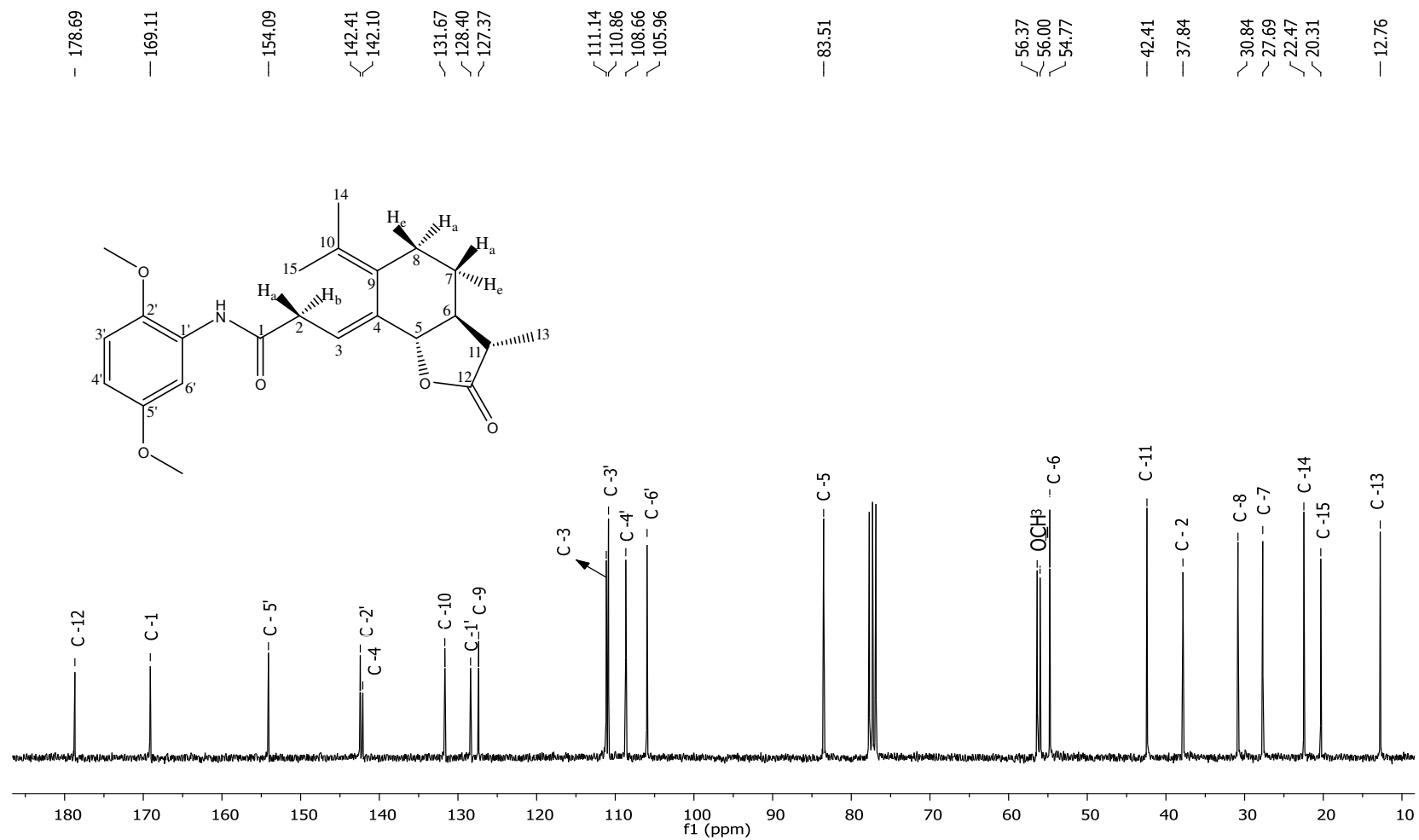


Figura 84: Espectro de RMN ¹³C (300 MHz, CDCl₃) do composto [31].

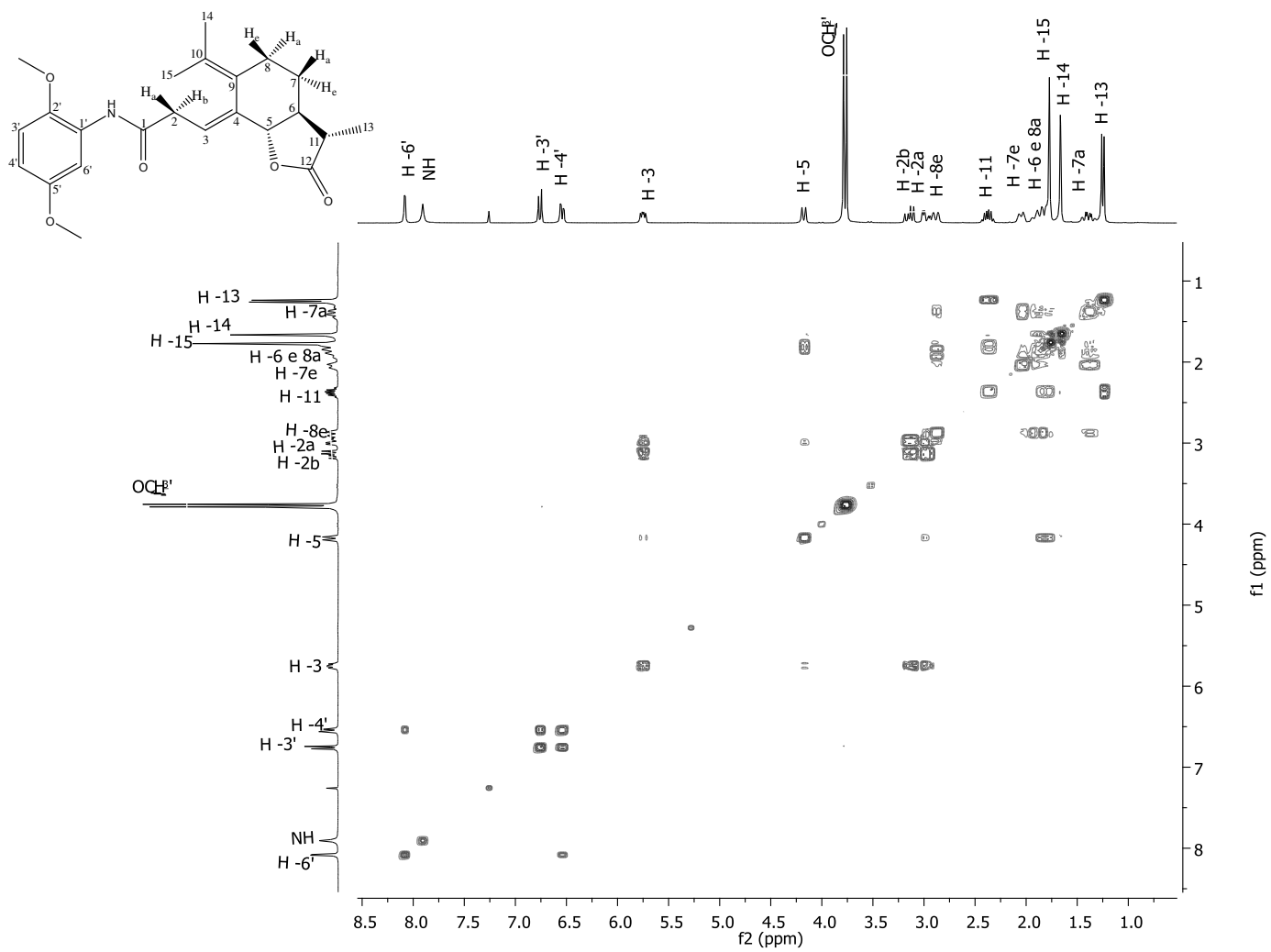


Figura 85: Mapa de contornos COSY do composto [31].

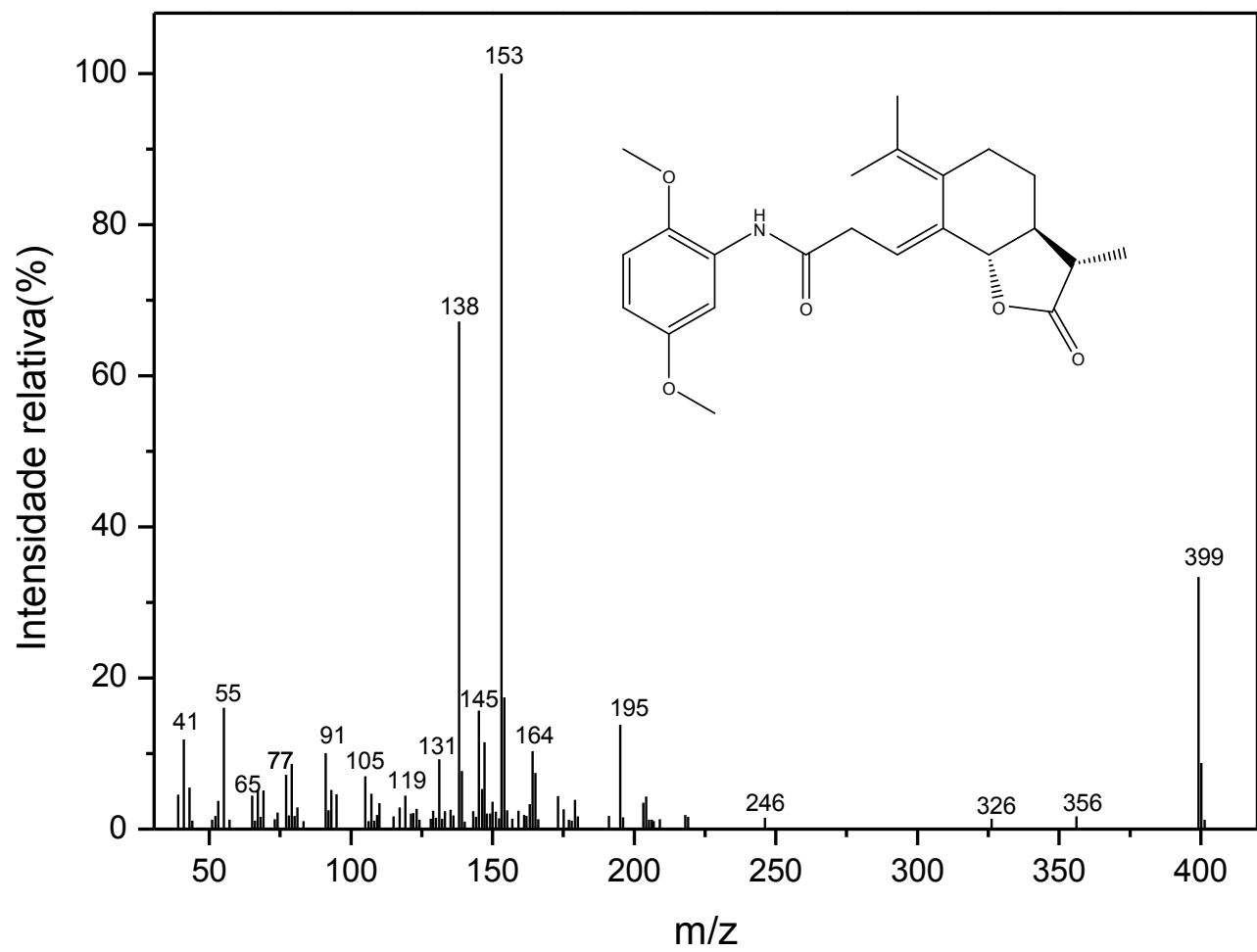


Figura 86: Espectro de massas do composto [31].

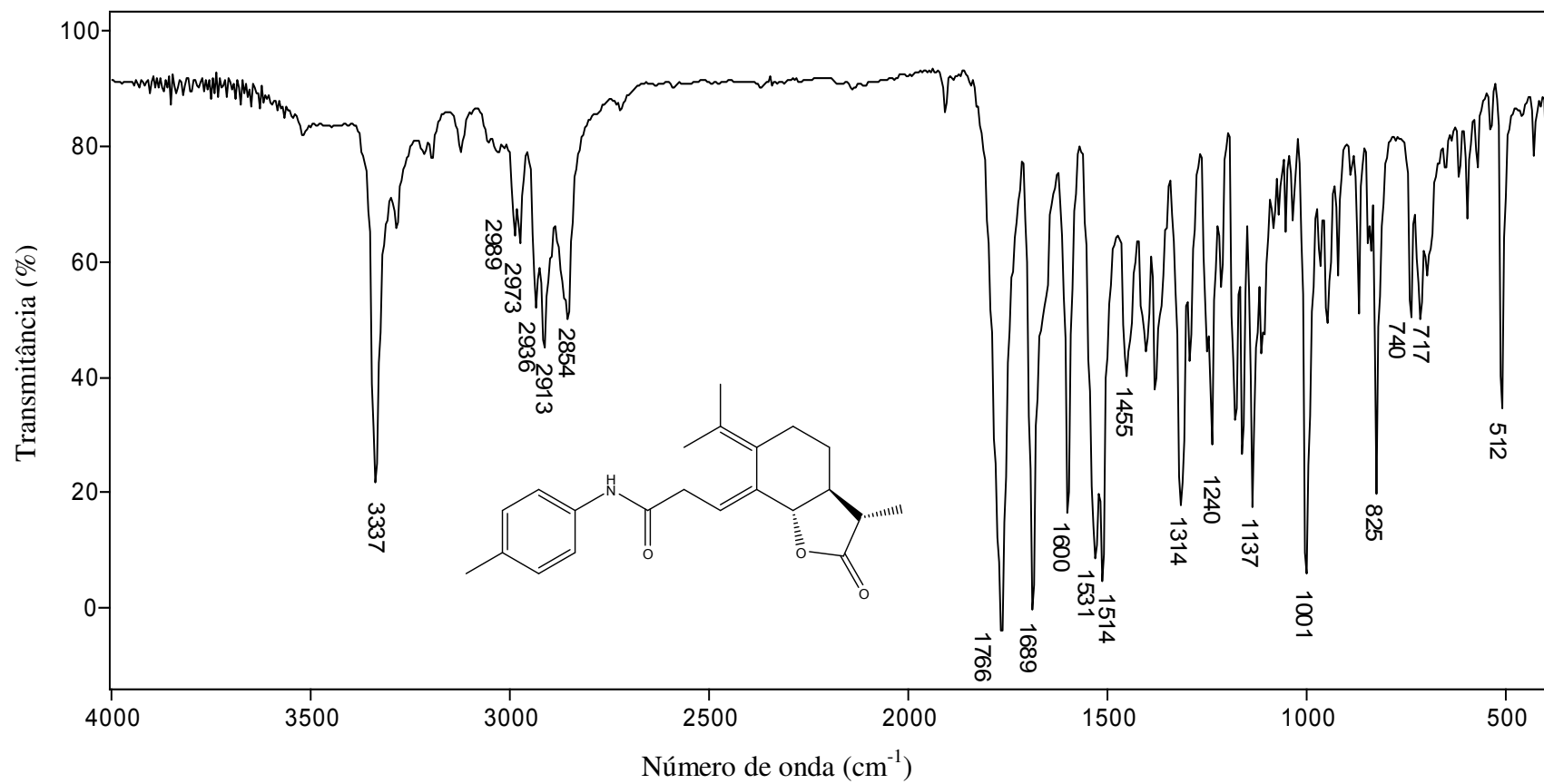


Figura 87: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [32].

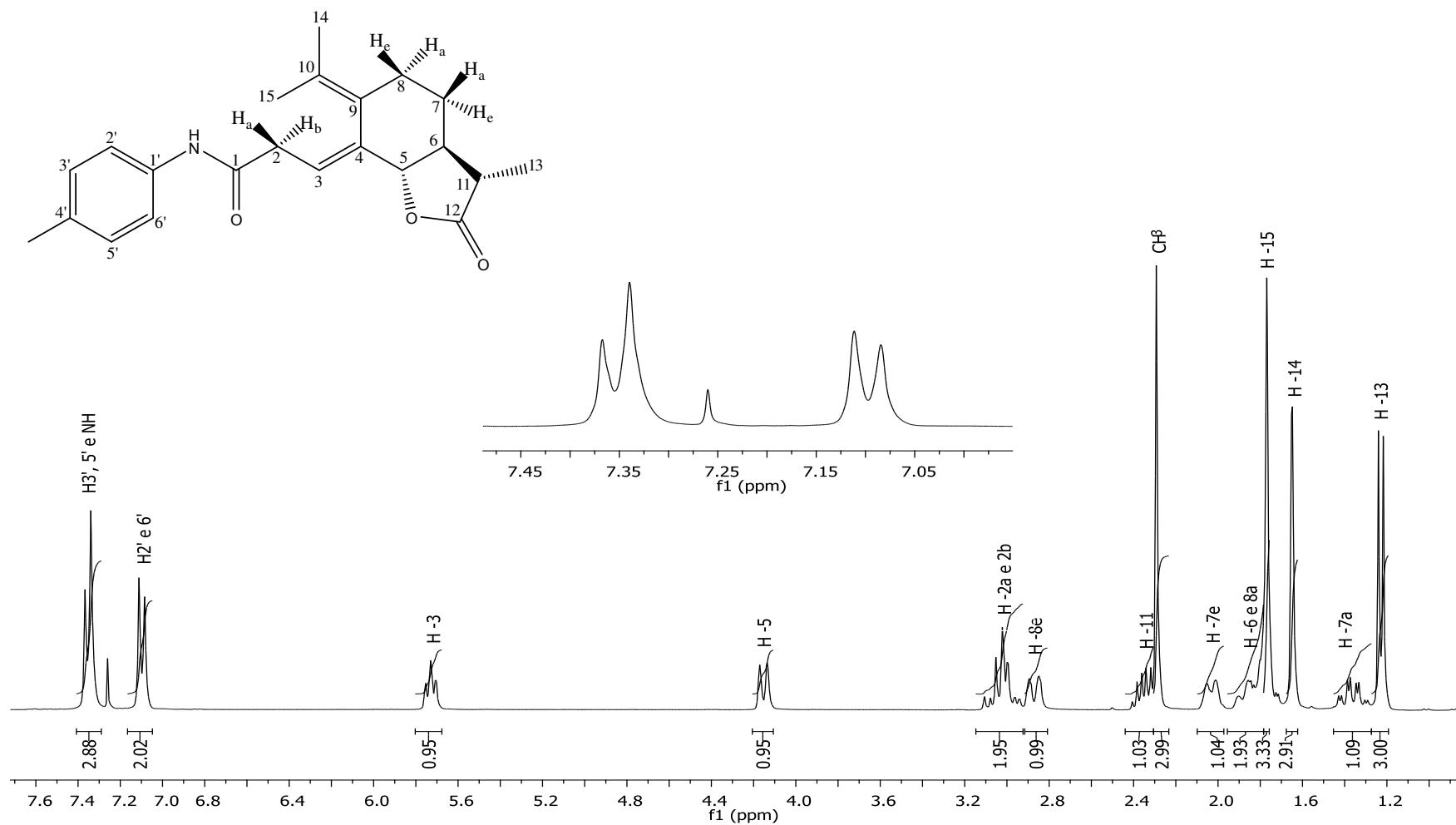


Figura 88: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [32].

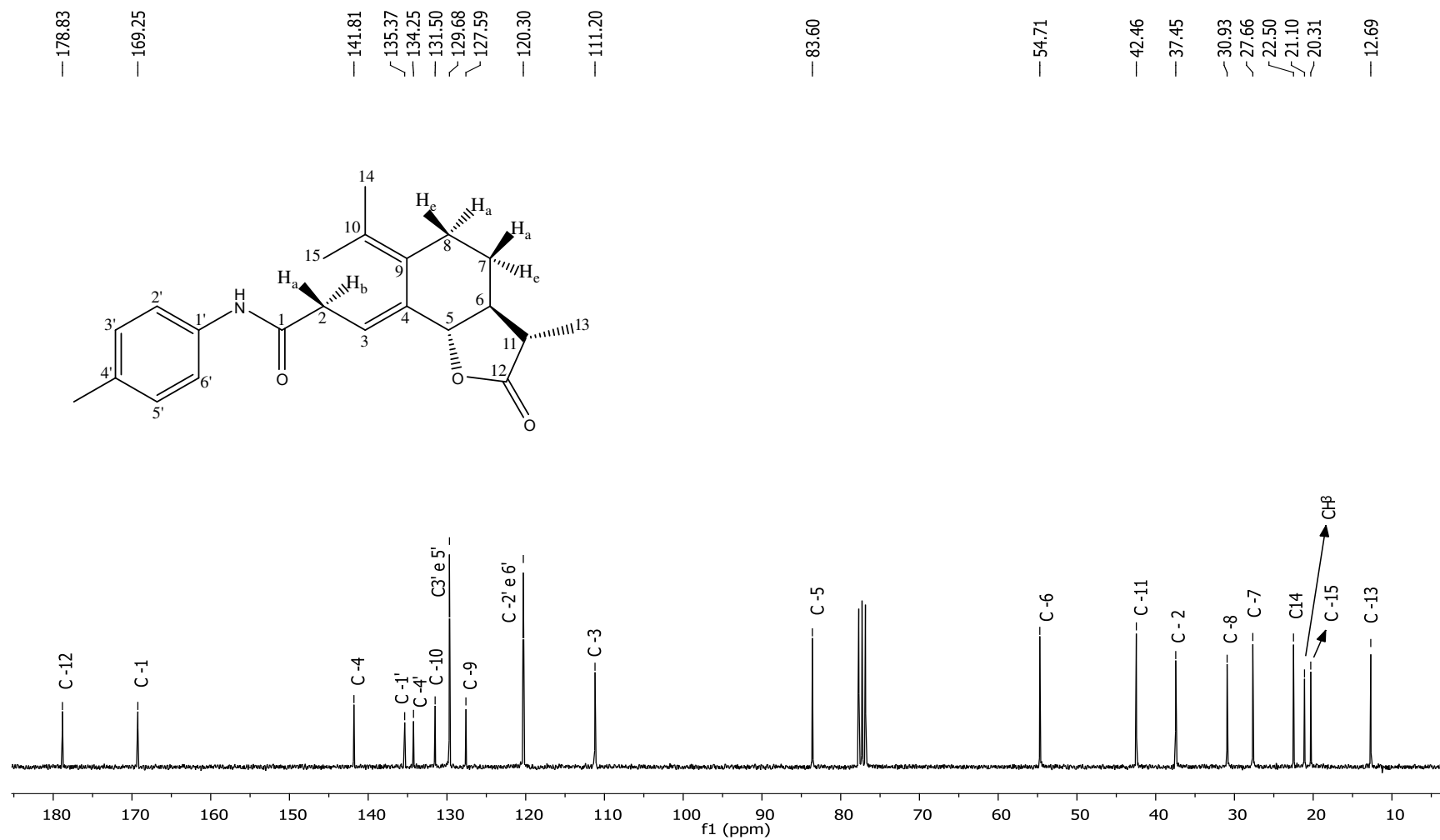


Figura 89: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto [32].

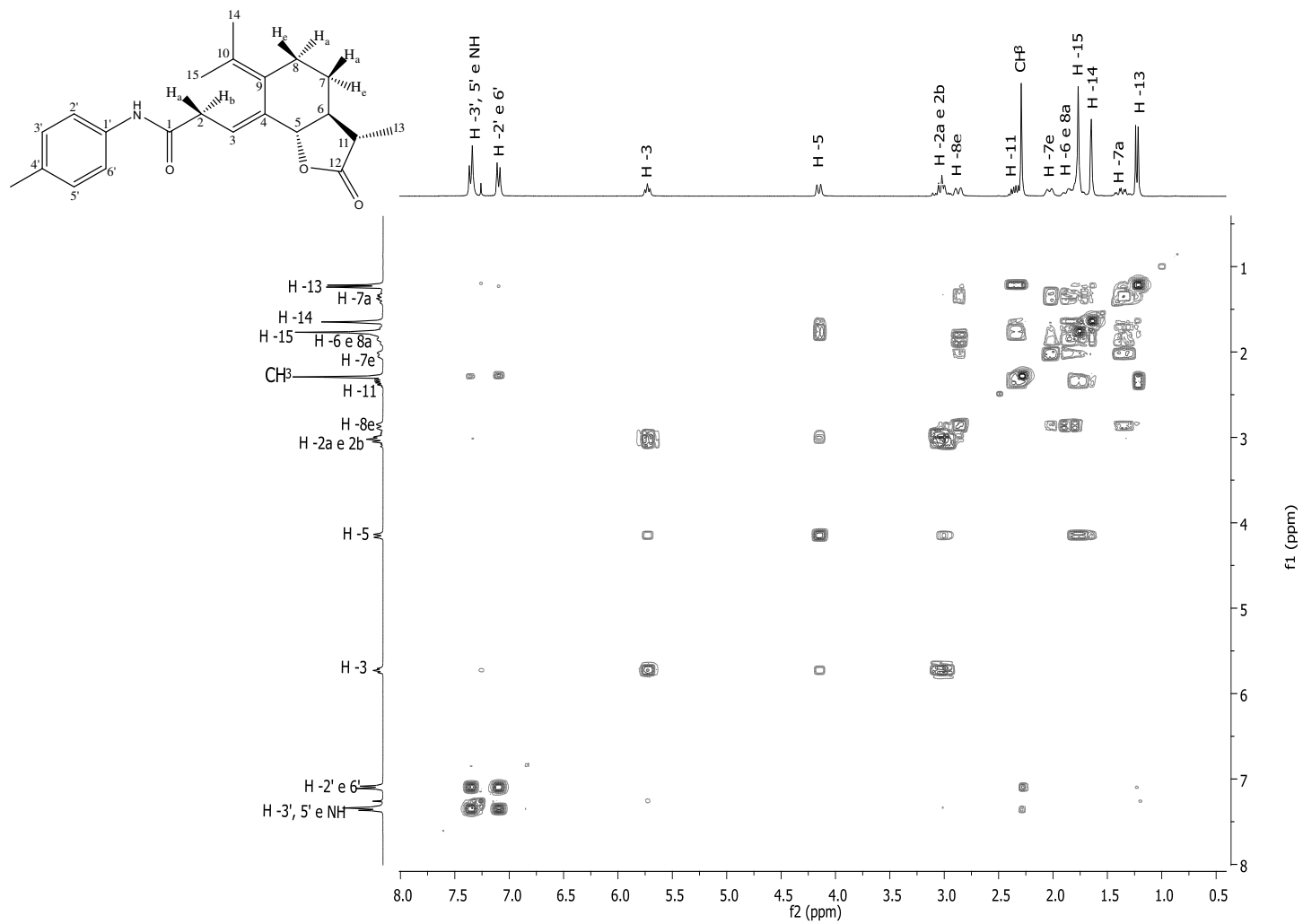


Figura 90: Mapa de contornos COSY do composto [32].

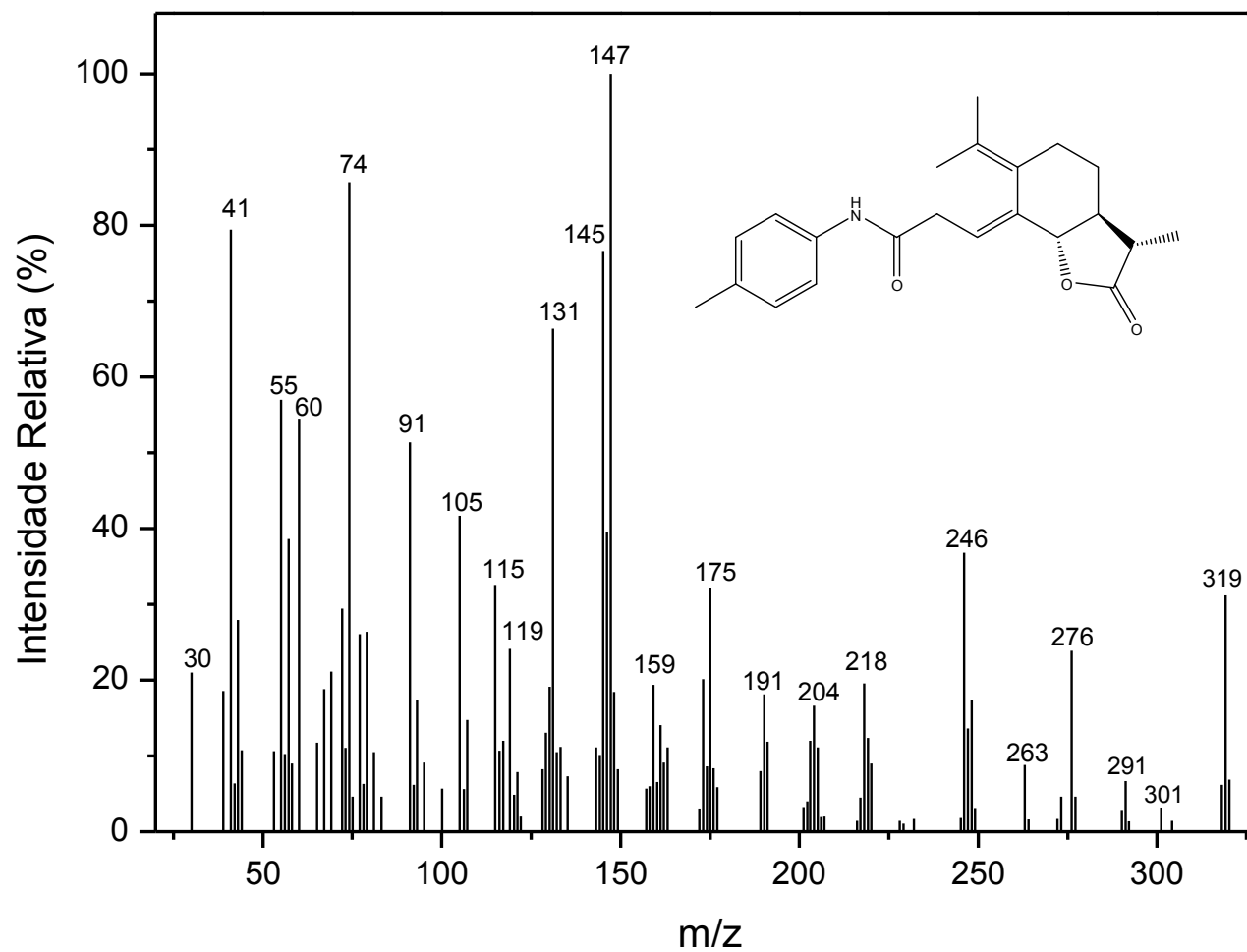


Figura 91: Espectro de massas do composto [32].

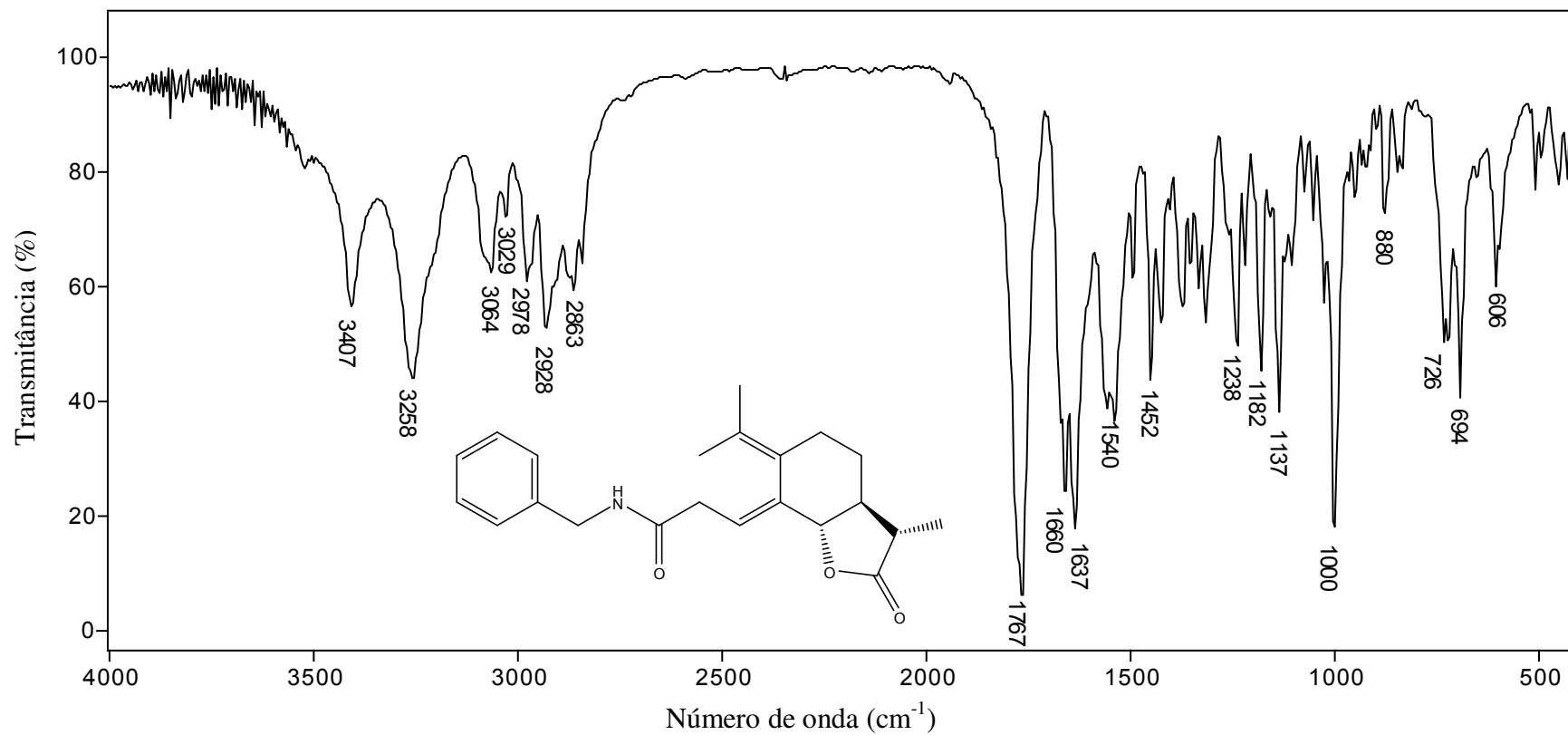


Figura 92: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [33].

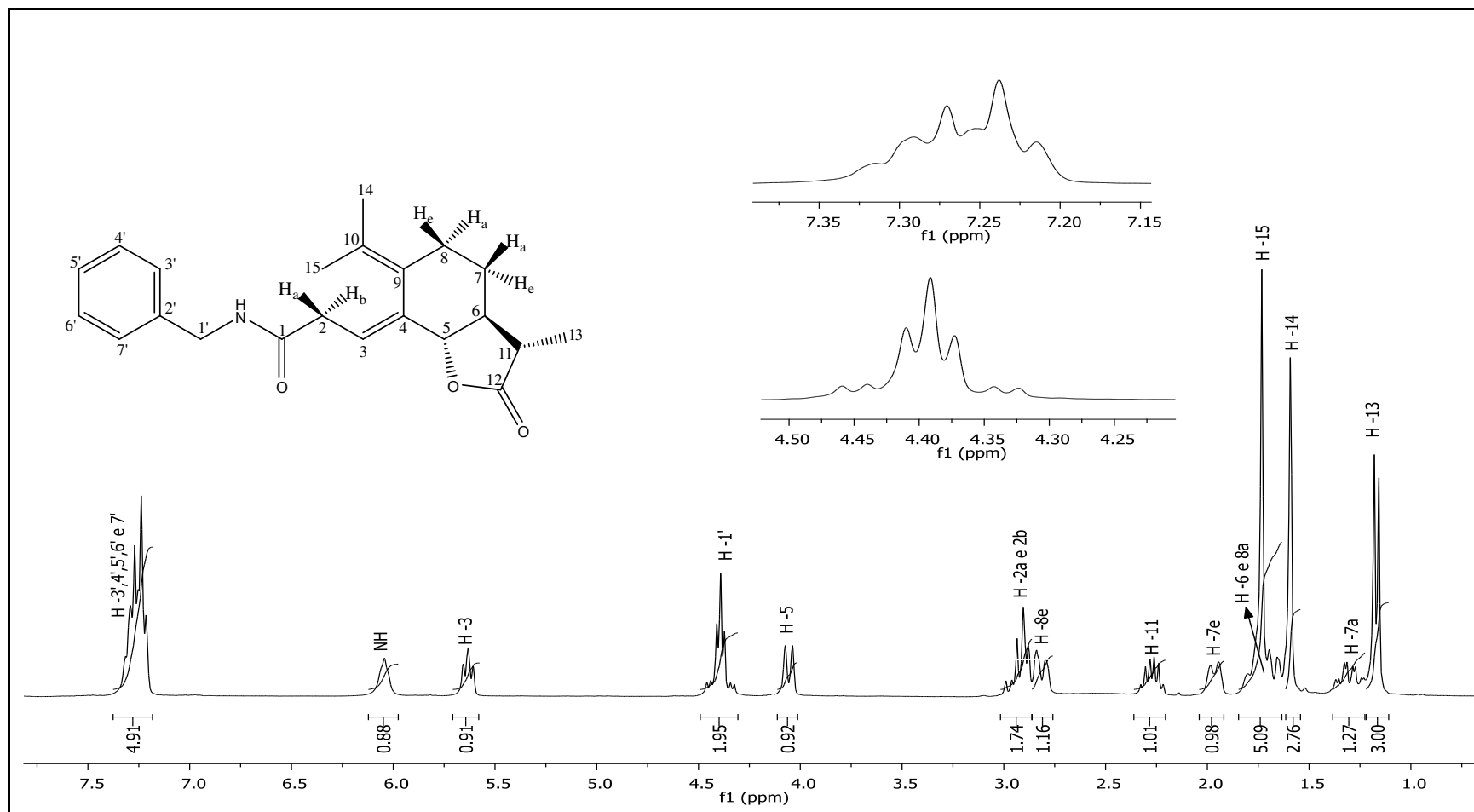


Figura 93: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [33].

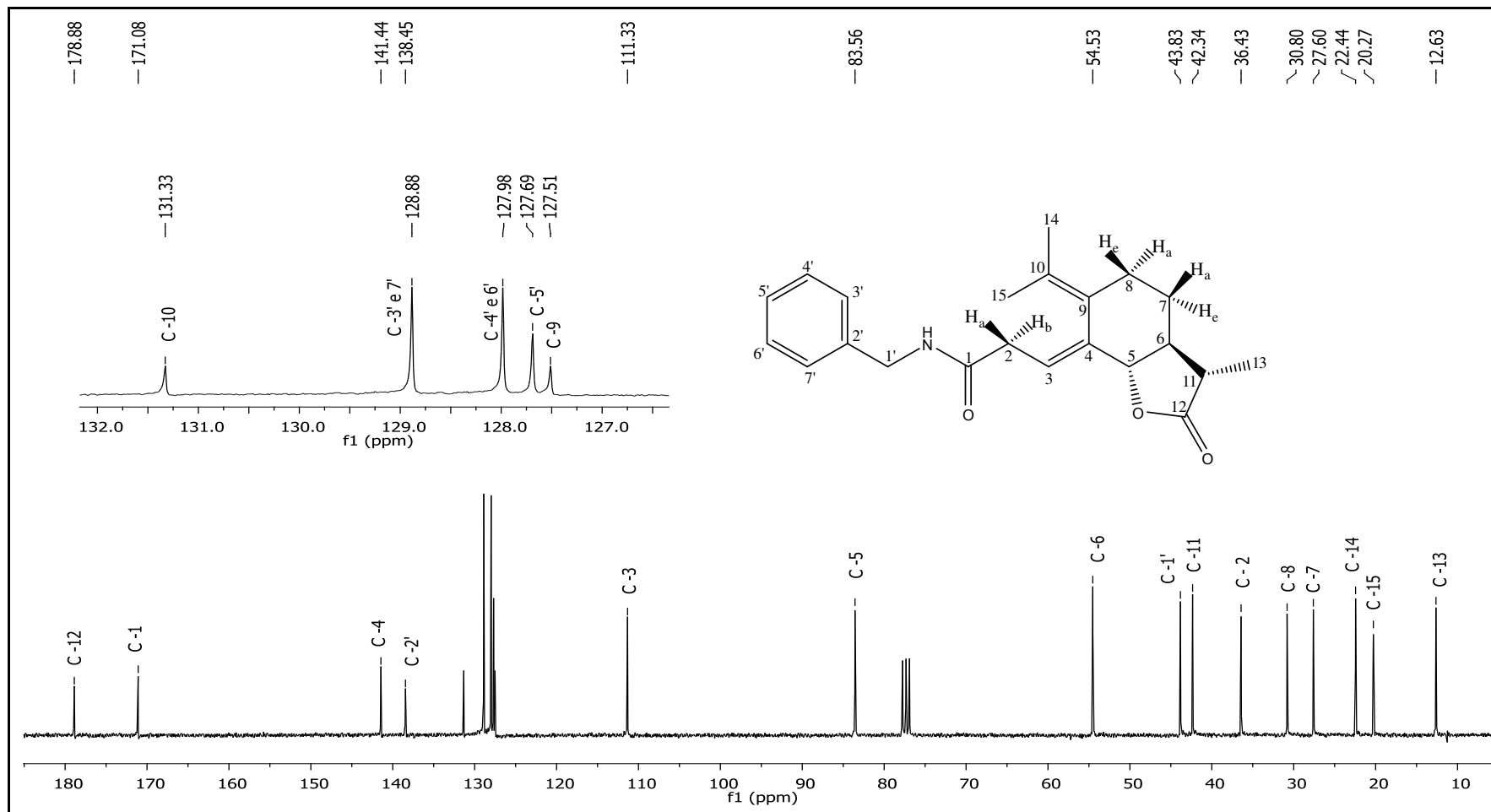


Figura 94: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [33].

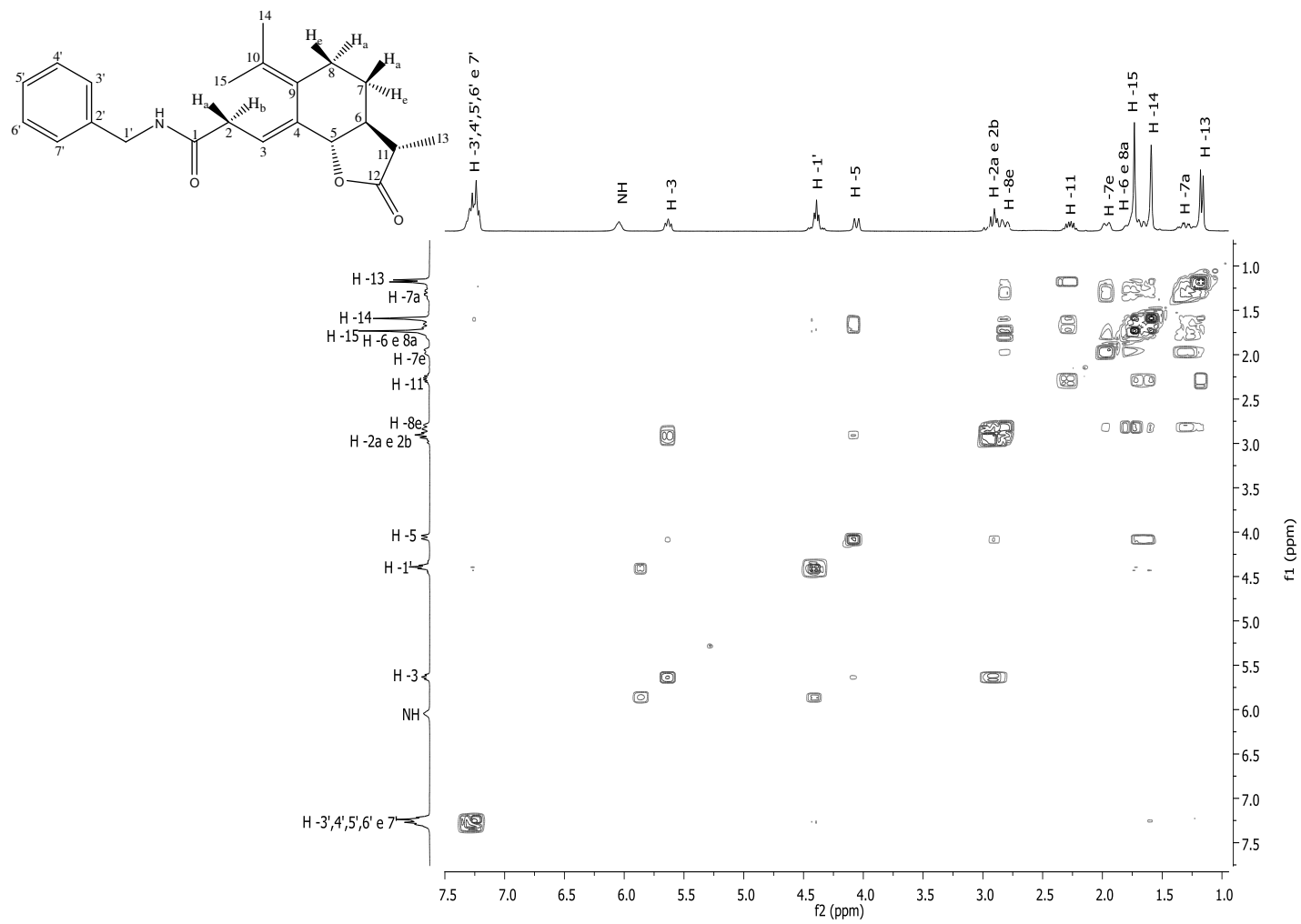


Figura 95: Mapa de contornos COSY do composto [33].

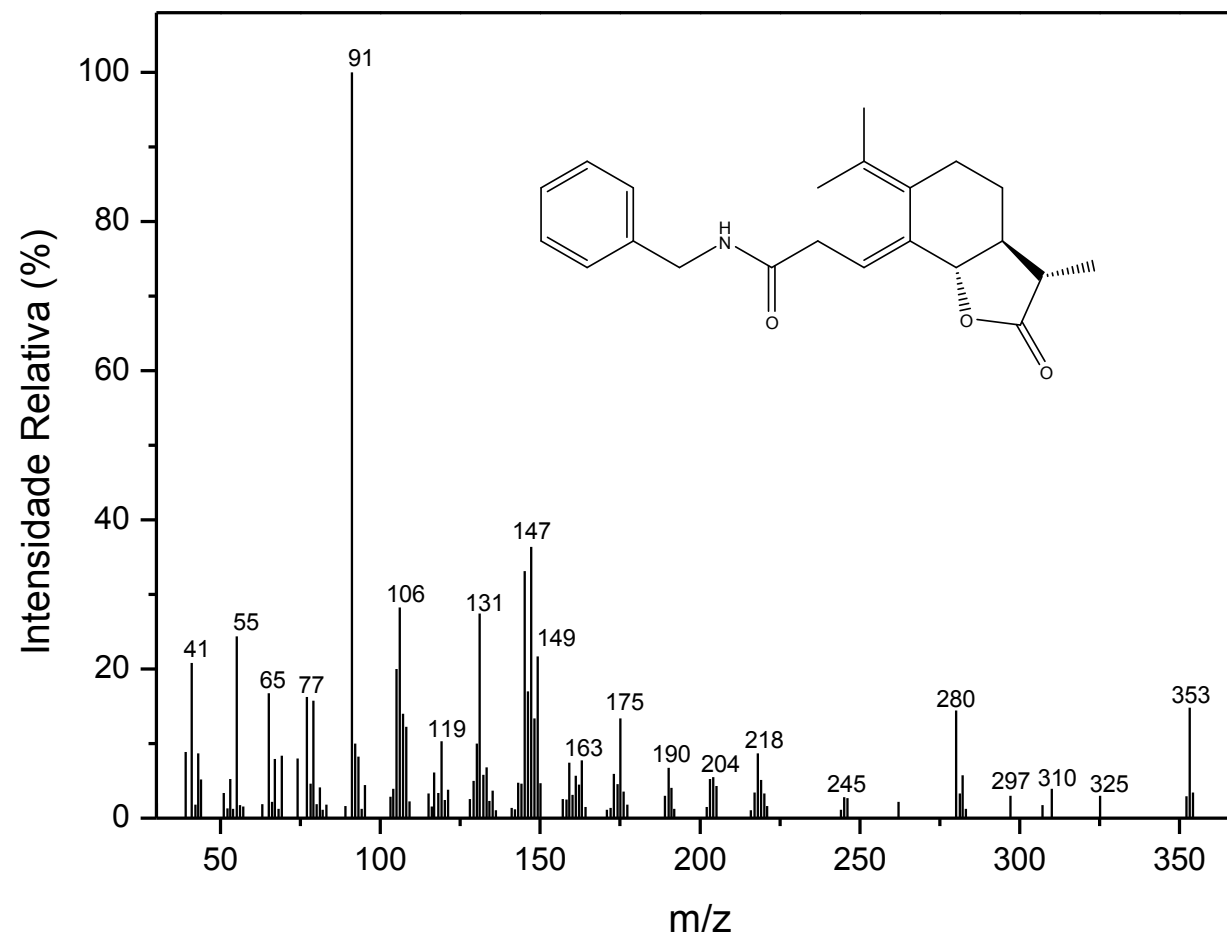


Figura 96: Espectro de massas do composto [33].

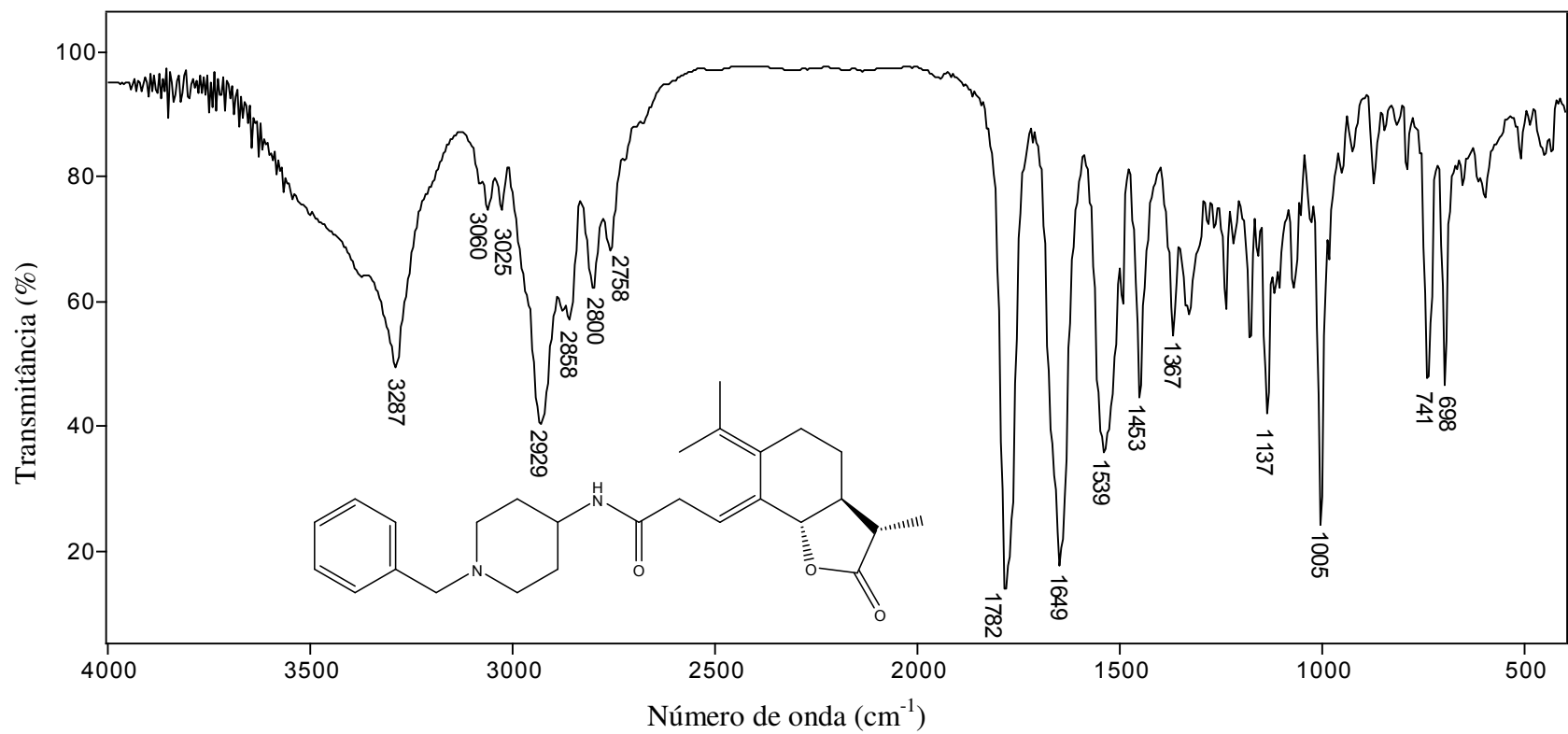


Figura 97: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [34].

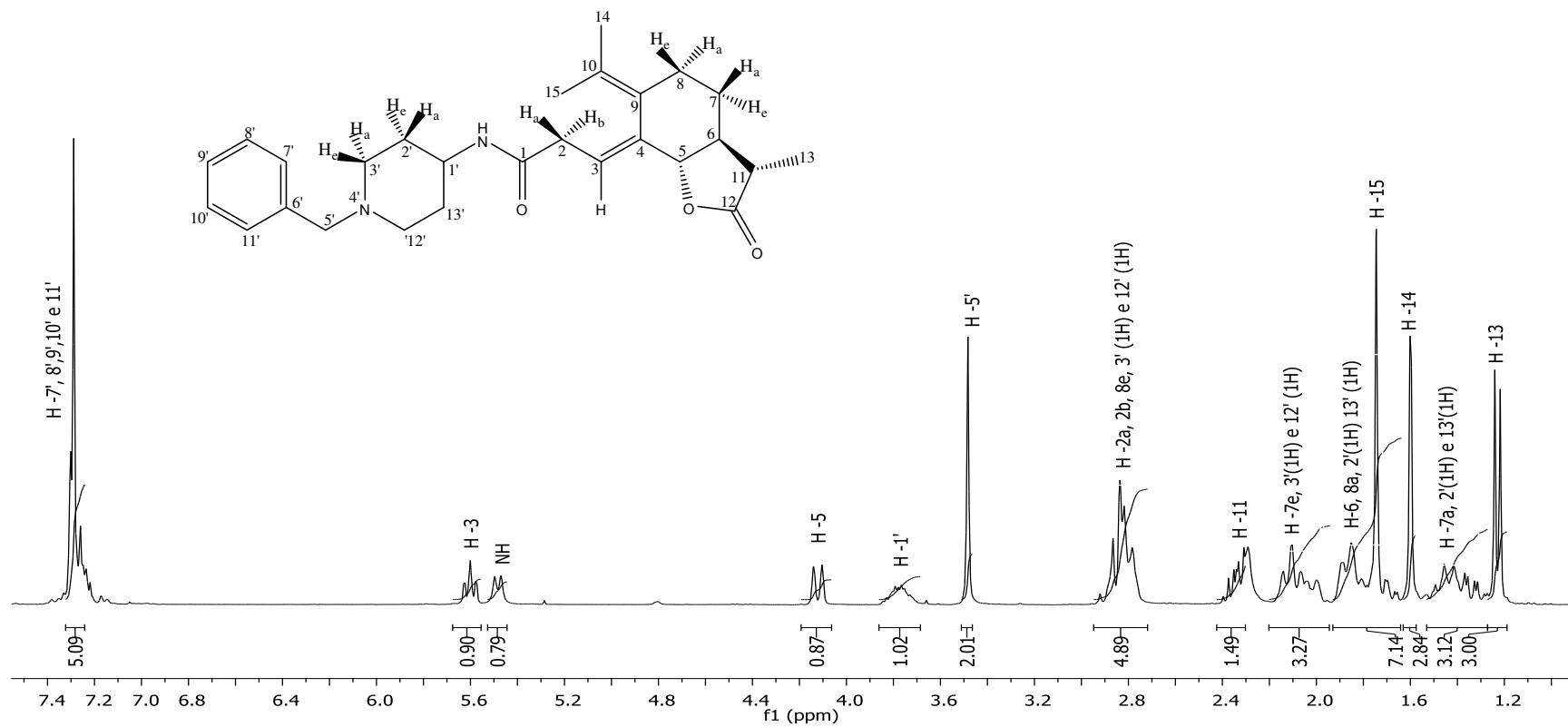


Figura 98: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto [34].

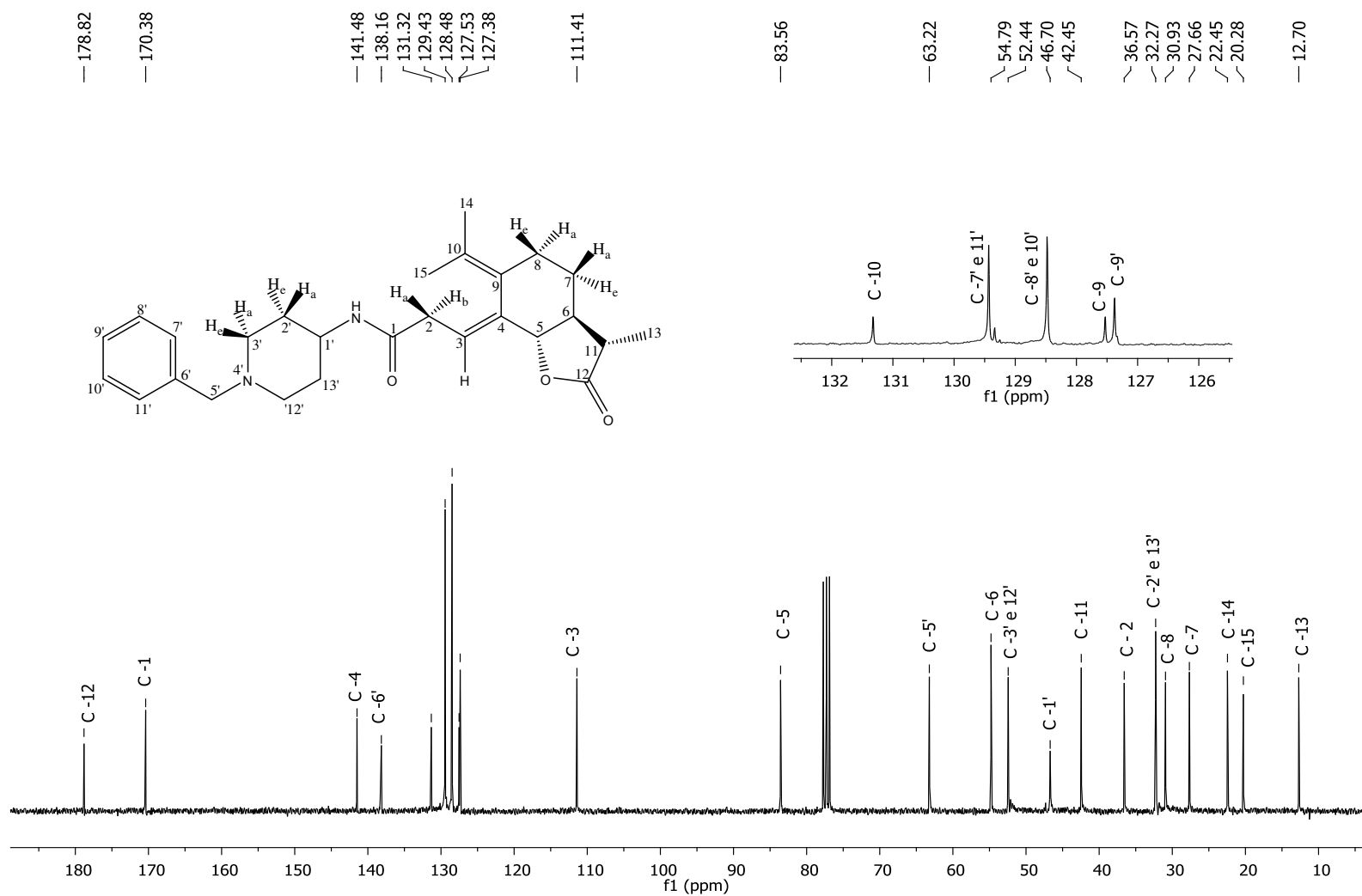


Figura 99: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [34].

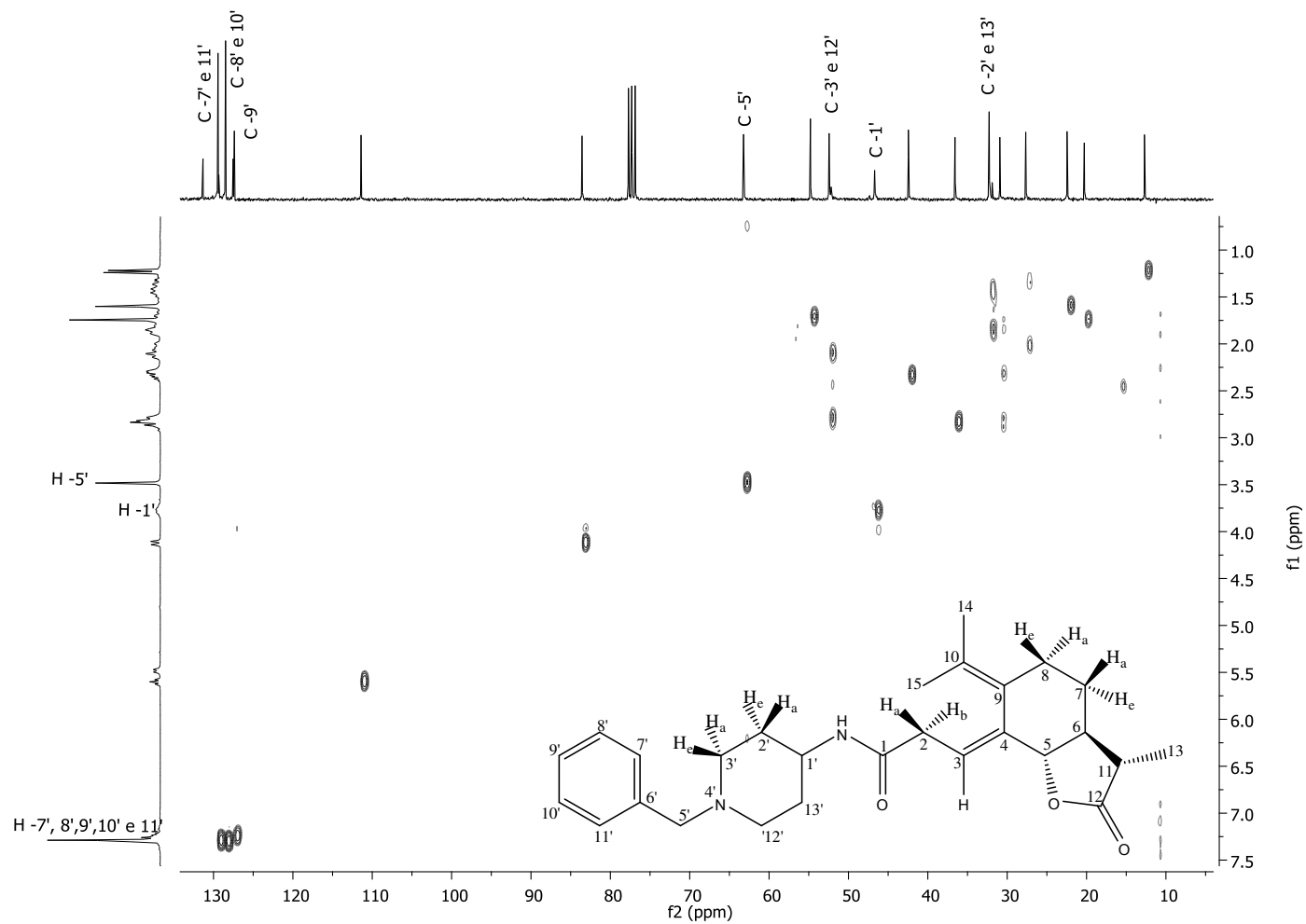


Figura 100: Mapa de contornos HETCOR do composto [34].

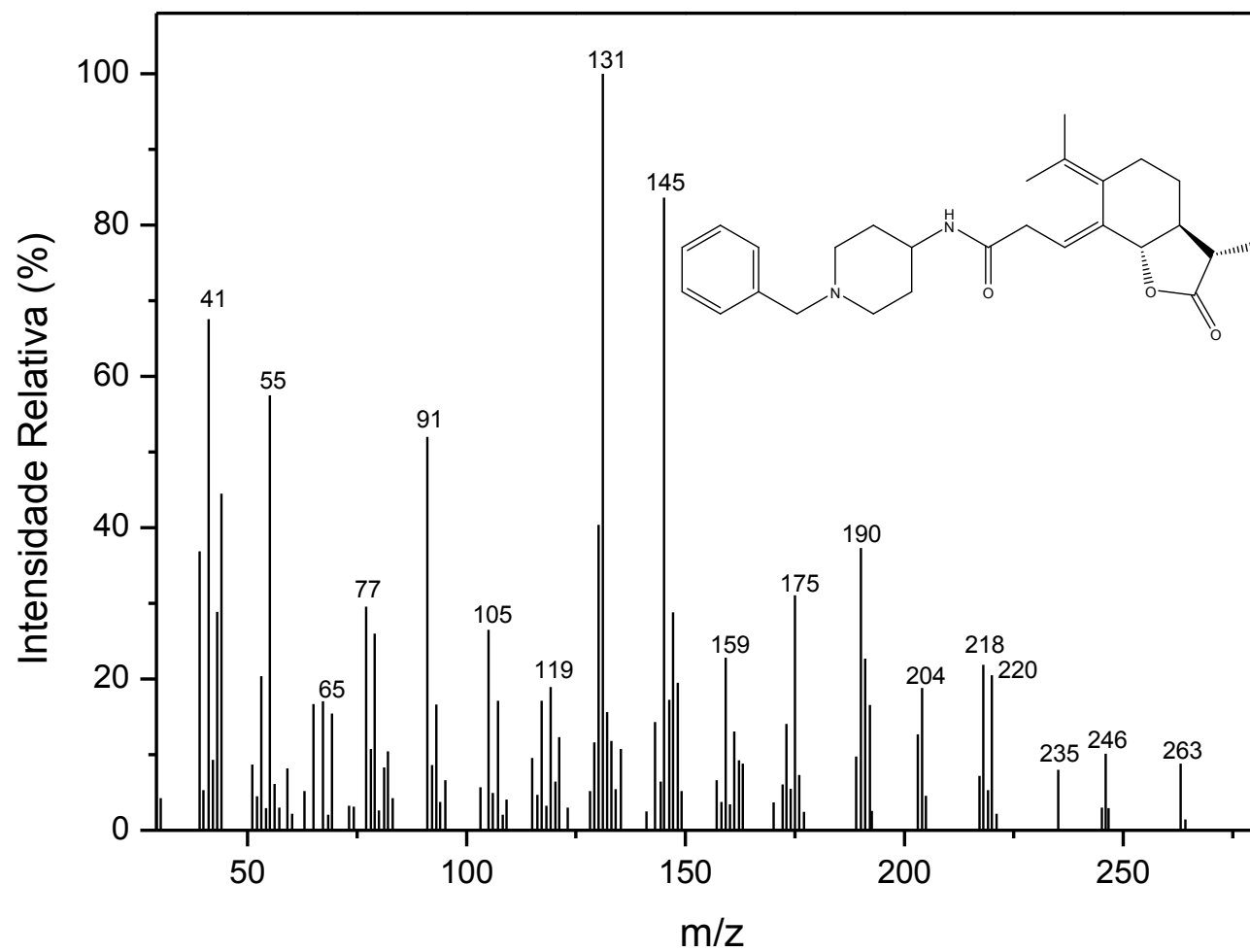


Figura 101: Espectro de massas do composto [34].

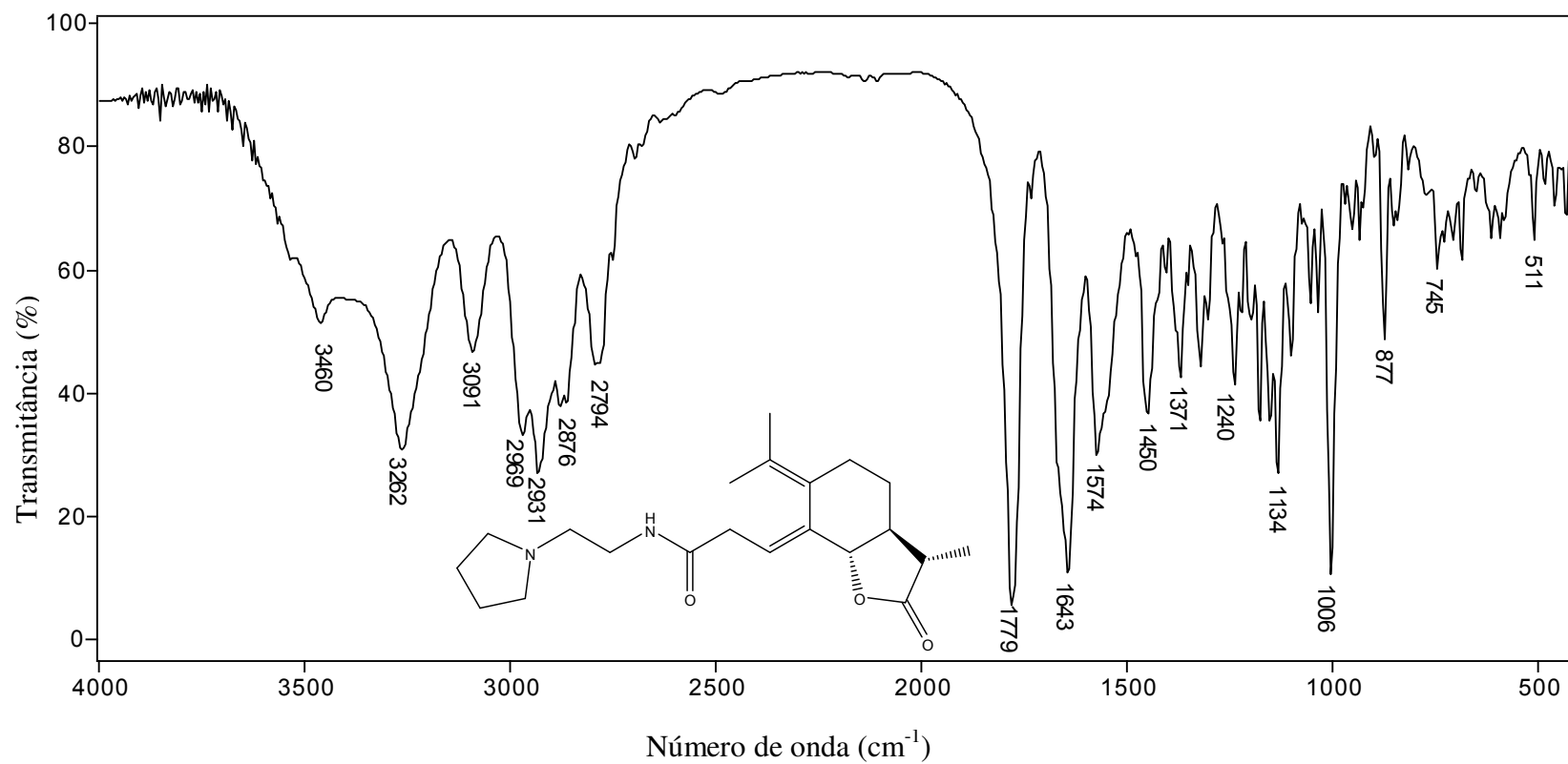


Figura 102: Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do composto [35].

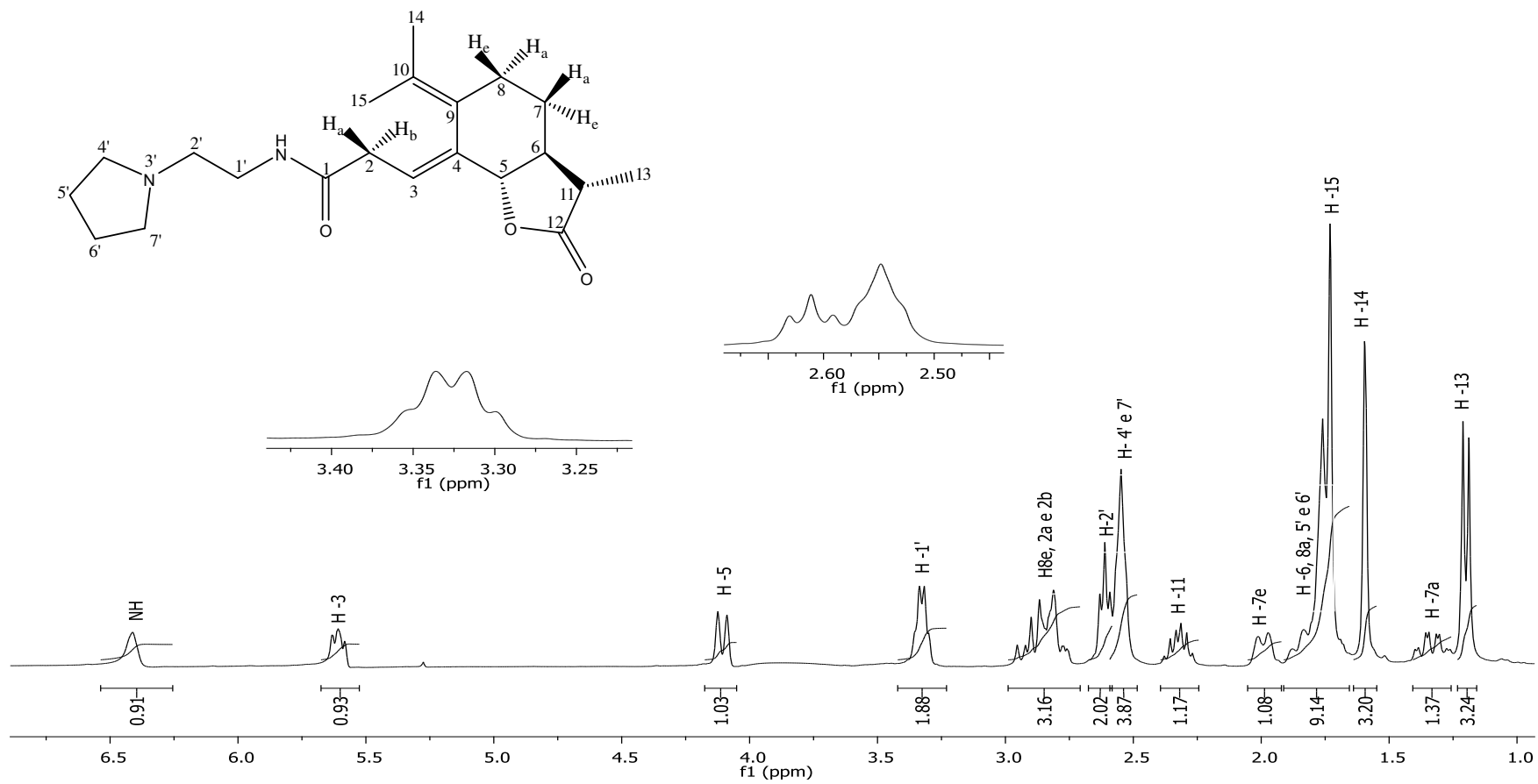


Figura 103: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [35].

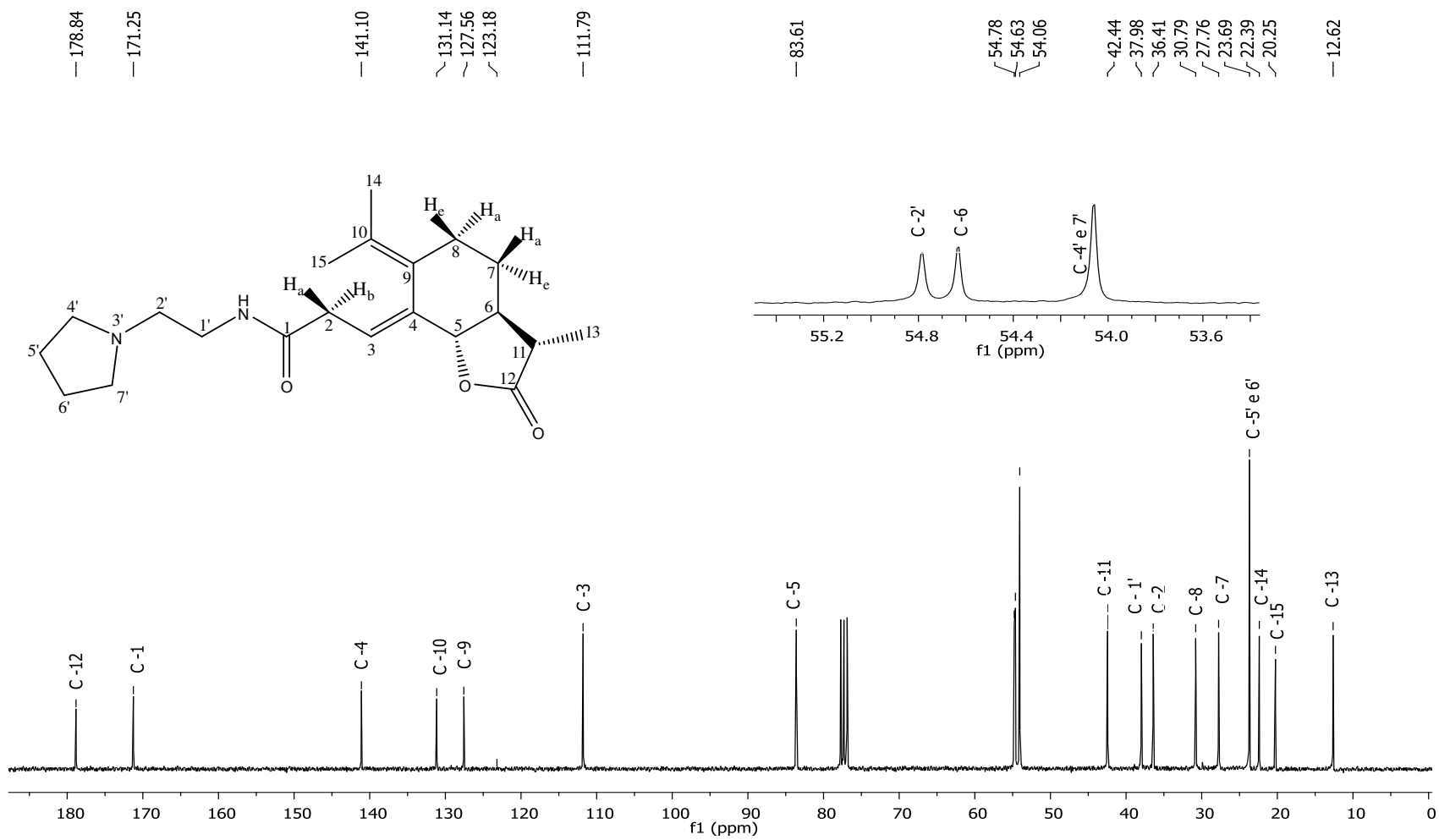


Figura 104: Espectro de RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto [35].

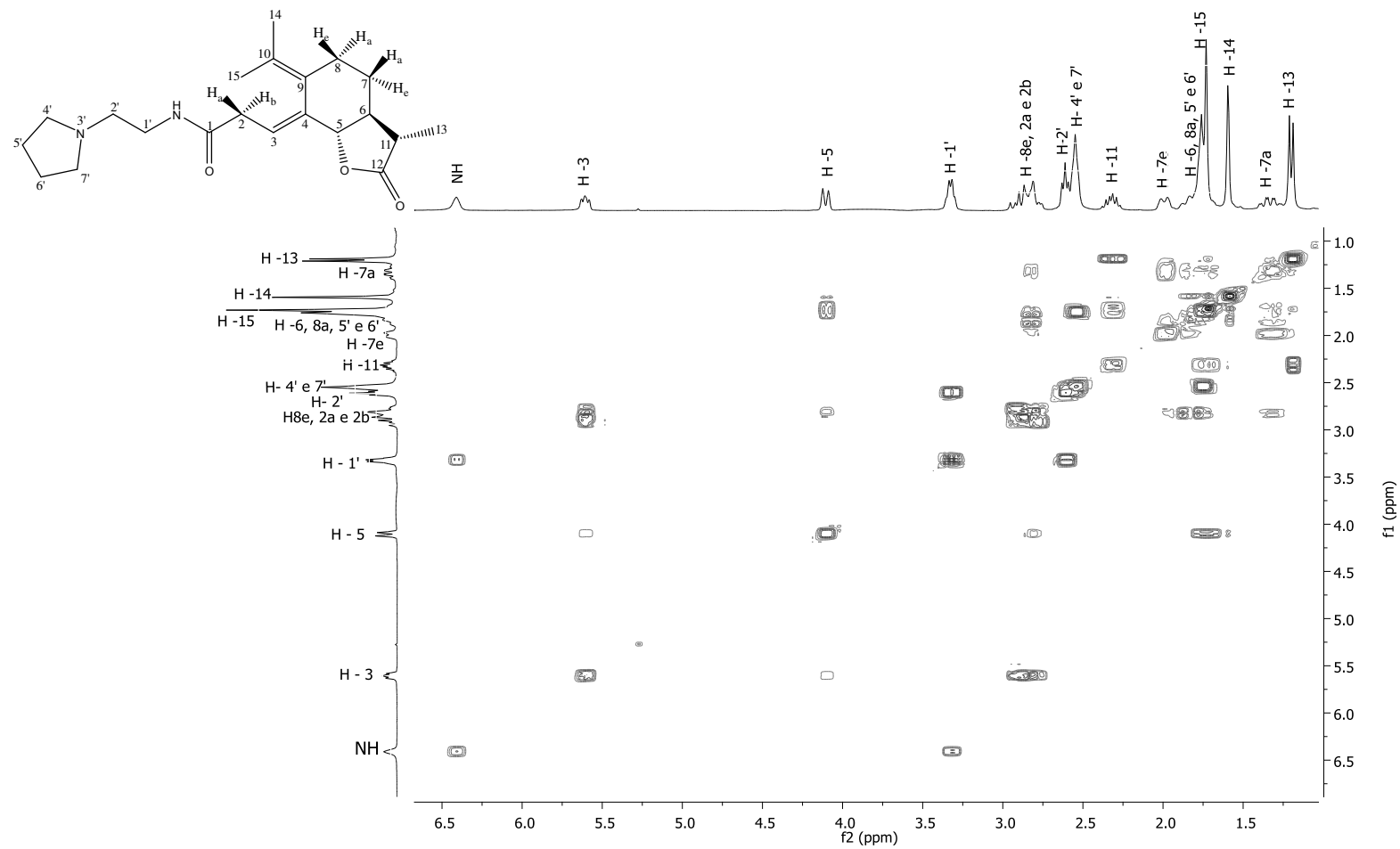


Figura 105: Mapa de contornos COSY do composto [35].

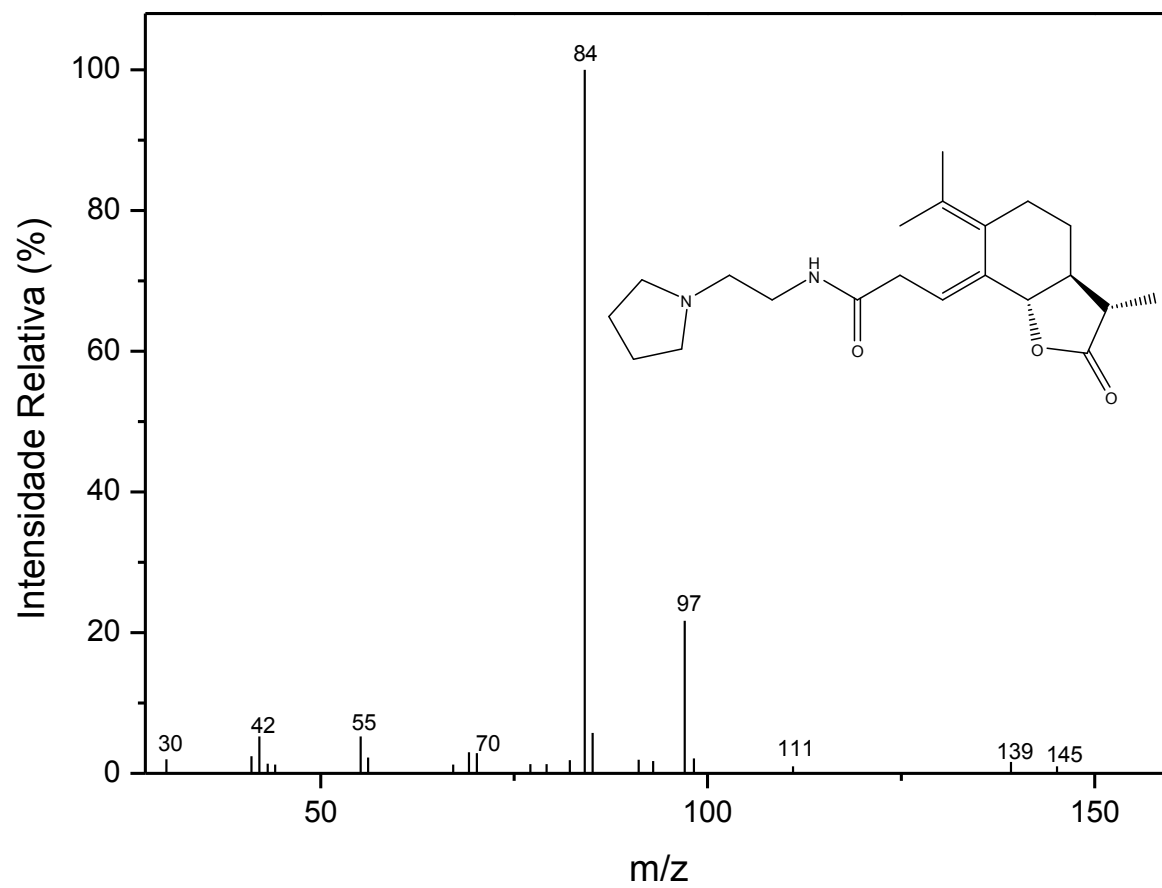


Figura 106: Espectro de massas do composto [35].