

SIMONE ZINATO MAIRINK

**SÍNTESE DE ALCALOIDES TROPÂNICOS INSETICIDAS E CADIOLÍDEOS
ANTIMICROBIANOS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

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

T

M228s
2018 Mairink, Simone Zinato, 1988-
Síntese de alcaloides tropânicos inseticidas e cadiolídeos
antimicrobianos / Simone Zinato Mairink. – Viçosa, MG, 2018.
xvii, 309f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Compostos heterocíclicos. 2. Síntese orgânica.
3. Alcaloides. 4. Cadiolídeos. 5. Inseticida. 6. Antimicrobiano.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-graduação em Agroquímica. II. Título.

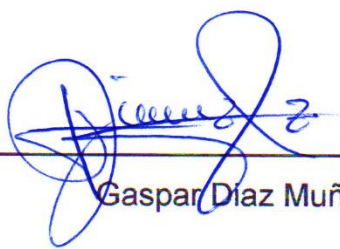
CDD 22. ed. 547.59

SIMONE ZINATO MAIRINK

**SÍNTESE DE ALCALOIDES TROPÂNICOS INSETICIDAS E CADIOLÍDEOS
ANTIMICROBIANOS**

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

APROVADA: 19 de fevereiro de 2018.



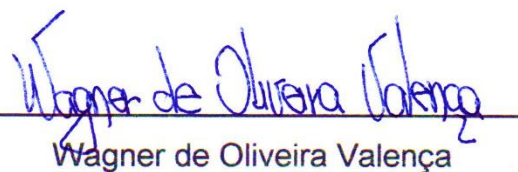
Gaspar Díaz Muñoz



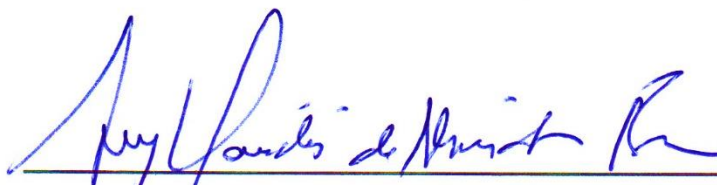
Vânia Maria Teixeira Carneiro



João Paulo Viana Leite



Wagner de Oliveira Valença



Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho é fruto de um processo que exigiu alguns sacrifícios, muita força de vontade e essencialmente perseverança. A sua concretização só foi possível com a ajuda de algumas pessoas e instituições a quem desejo apresentar os meus mais sinceros agradecimentos.

Agradeço a Deus pela força que me deu para lutar, pela esperança de alcançar e pela perseverança de continuar perseguindo este grande sonho. Por me guiar sempre pelos melhores caminhos, mesmo quando pensei estar dando tudo errado. Por me dar discernimento de lutar por minha vida profissional e por colocar em meu caminho pessoas tão especiais.

Aos meus pais Clovis e Solange, a minha irmã Mônica, aos meus sobrinhos Heitor e Cecília, por todo amor e carinho, e pela forma como me acompanharam e ajudaram para a conclusão de mais uma etapa da minha formação.

Ao meu namorado e melhor amigo, Paulo Ferreira, pelo carinho, compreensão, paciência e pelo amor demonstrado em todos os momentos, mesmo que distante em determinadas situações.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, que me acolheu com paciência e muita disposição, e com quem aprendi muito sobre a química e sobre a vida.

Aos professores Eduardo Vinícius Vieira Varejão e Célia Regina Álvares Maltha, pela orientação e atenção no desenvolvimento deste trabalho e aos professores Gaspar Diaz Munõz e Vânia Maria Teixeira Carneiro por toda ajuda e contribuição realizada na qualificação de doutorado.

Ao pessoal do Laboratório de Análises e Síntese de Agroquímicos (LASA-UFV), que estão e que passaram por lá. Ao José Luiz e Cristiane, sempre disponíveis como técnicos e amigos. À Jodieh e Fernanda, por me ouvirem sempre quando precisei, pelos conselhos e pelo incentivo nos momentos mais difíceis. Ao Júnio, Guilherme, Alex, Bryan, Ju Diniz, Sandra, Tássia, Bruna, Jaíne e Luísa pela amizade.

Aos colaboradores responsáveis pela realização dos ensaios biológicos. Ao pessoal do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas – Entomologia/UFV,

pela colaboração com os bioensaios inseticidas, em especial, ao doutorando Elizeu de Sá Farias e o professor Marcelo Coutinho Picanço. Ao pessoal do Laboratório de Microbiologia Oral e de Anaeróbios – Instituto de Ciências Biológicas/UFMG, pela colaboração com os bioensaios antibiofilmes, em especial, aos doutorandos Silvia Pietra, Priscila Costa e Rafael Bastos e aos professores Simone Gonçalves dos Santos e Luiz de Macêdo Farias. E ao pessoal do Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios – Departamento de Química/UFMG, pela colaboração com os bioensaios antimicrobianos, em especial a doutoranda Geane Pereira de Oliveira e a professora Jacqueline Aparecida Takahashi.

A todos os técnicos e funcionários do Departamento de Química, em especial, ao Gabriel, Shirley, Lucas e a Hamy.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química pela oportunidade, a Fapemig e CNPq pelo apoio financeiro e a Capes pela bolsa concedida.

A todos, o meu AGRADECIMENTO!

CONTEÚDO

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xi
RESUMO	xiv
ABSTRACT.....	xvi
CAPÍTULO 1 - SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DE ALCALOIDES TROPÂNICOS	1
1.1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1.1. Síntese de alcaloides tropânicos.....	2
1.1.2. Síntese de novos agroquímicos	5
1.1.3. Pragas Agrícolas.....	7
1.2. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO.....	10
1.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
1.3.1. Técnicas experimentais	11
1.3.2. Técnicas espectroscópicas	11
1.3.3. Purificação e secagem de solventes	12
1.3.3.1. Secagem de acetonitrila	12
1.3.3.2. Secagem do tolueno.....	12
1.3.3.3. Secagem do etanol	12
1.3.4. Procedimentos sintéticos	12
1.3.4.1. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (6a) e (\pm)-2 β ,4 β -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (6b)	12
1.3.4.2. (\pm)-3,4,7-trimetilhexaidro-2 <i>H</i> -2,5-metanofuro[3,2- <i>b</i>]pirrol-6-ol (8). 14	
1.3.4.3. (\pm)-2 α ,4 α -dimetil-6,7-epoxi-3-hidroxi-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8- carboxilato de metila (9)	15
1.3.4.4. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-hidróxi-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (10b)	16

1.3.4.5. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (12b)	17
1.3.4.6. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-hidróxi-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (13b)	17
1.3.4.7. (\pm)-3-acetil-2 α ,4 α -dietil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (14b)	18
1.3.5. Bioensaios	19
1.3.5.1. Toxicidade dos alcaloides sobre <i>A. monuste</i>	20
1.3.5.1.1. Seleção dos alcaloides com atividade inseticida sobre <i>A. monuste</i>	20
1.3.5.1.2. Determinação da curva dose-mortalidade dos alcaloides com alta atividade inseticida sobre <i>A. monuste</i>	20
1.3.5.1.3. Determinação da curva de sobrevivência dos alcaloides mais tóxicos sobre <i>A. monuste</i>	21
1.3.5.2. Seletividade dos alcaloides em favor da formiga predadora <i>S. saevissima</i> e da abelha polinizadora <i>T. angustula</i>	21
1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
1.4.1. Síntese	22
1.4.1.1. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (6a) e (\pm)-2 β ,4 β -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (6b)	24
1.4.1.2. (\pm)-3,4,7-trimetilhexaidro-2 <i>H</i> -2,5-metanofuro[3,2- <i>b</i>]pirrol-6-ol (8) .	31
1.4.1.3. (\pm)-2 α ,4 α -dimetil-6,7-epoxi-3-hidroxi-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (9)	37
1.4.1.4. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-hidróxi-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (10b)	42
1.4.1.5. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (12b)	46

1.4.1.6. (±)-2 α ,4 α -dietil-3-hidróxi-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (13b)	50
1.4.1.7. (±)-3-acetil-2 α ,4 α -dietil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (14b)	55
1.4.2. Bioensaios	60
1.4.2.1. Toxicidade dos alcaloides sobre <i>A. monuste</i>	60
1.4.2.2. Seletividade dos alcaloides em favor da formiga predadora <i>S. saevissima</i> e da abelha polinizadora <i>T. angustula</i>	66
1.5. CONCLUSÕES	68
1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
CAPÍTULO 2 - SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS DE ANÁLOGOS AOS CADIOLÍDEOS.....	77
2.1. INTRODUÇÃO	78
2.1.1. Síntese de cadiolídeos naturais e análogos	81
2.2. JUSTIFICATIVA.....	87
2.3. MATERIAIS E MÉTODOS	89
2.3.1. Técnicas experimentais	89
2.3.2. Técnicas espectroscópicas	89
2.3.3. Purificação e preparo de reagentes e solventes	89
2.3.3.1. Secagem do metanol (MeOH)	89
2.3.3.2. Secagem do etanol (EtOH).....	90
2.3.3.3. Purificação do tetraidrofurano (THF).....	90
2.3.3.4. Secagem do diclorometano (DCM)	90
2.3.3.5. Purificação da <i>N,N</i> -diisopropiletilamina (DIPEA).....	90
2.3.3.6. Secagem do clorofórmio	91
2.3.4. Procedimentos sintéticos	91
2.3.4.1. 2-bromo-4-(2,2-dibromovinil)-1-metoxibenzeno (59)	91
2.3.4.2. 1-etinil-4-metoxibenzeno (61)	92

2.3.4.3. Bromoacetona (62)	92
2.3.4.4. Dimetil-2-oxopropilfosfonato (63)	93
2.3.4.5. Azida de <i>p</i> -acetamidobenzenossulfonila (64).....	93
2.3.4.6. Dimetil-1-diazo-2-oxopropilfosfonato (65)	94
2.3.4.7. 2-bromo-4-etinil-1-metoxibenzeno (60)	94
2.3.4.8. Ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzóico (66).....	95
2.3.4.9. Ácido 3,5-dibromo-4-metoxibenzóico (67).....	96
2.3.4.10. Síntese dos cloretos de ácidos 68a-c	97
2.3.4.11. Síntese de 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-in-1-ona (69a) pelo acoplamento de Sonogashira	97
2.3.4.11.1. Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(4- metoxifenil)prop-2-in-1-ona (69a)	98
2.3.4.11.2. Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1- (3,5-dibromo-4-metoxifenil)prop-2-in-1-ona (69c).....	99
2.3.4.11.3. Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1- fenilprop-2-in-1-ona (69d).....	100
2.3.4.11.4. Dados referentes ao composto 1,4-bis(3-bromo-4- metoxifenil)buta-1,3-diino (70).....	100
2.3.4.12. 1-(2,2-dibromovinil)-4-metoxibenzeno (71)	101
2.3.4.13. 1,3-bis(4-metoxifenil)prop-2-in-1-ol (72).....	102
2.3.4.14. 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(3,5-dibromo-4-metoxifenil)prop-2-in- 1-ona (69e).....	102
2.3.4.15. Cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (73).....	103
2.3.4.16. <i>N</i> -formil-2-aminopropanoato de etila (74).....	104
2.3.4.17. 5-etoxi-4-metiloxazol (75).....	104
2.3.4.18. Síntese de 3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (79a)	105
2.3.4.18.1. Dados referentes ao composto 4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4- metoxibenzoil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (79a).....	107

2.3.4.18.2. Dados referentes ao composto 4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(3,5-dibromo-4-metoxibenzoil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (79b)	107
2.3.4.18.3. Dados referentes ao composto 3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (79c)	108
2.3.4.18.4. Dados referentes ao composto 3-(4-metoxibenzoil)-4-(4-metoxifenil)-furan-2(5 <i>H</i>)-ona (79d)	108
2.3.4.18.5. Dados referentes ao composto 4-benzoil-3-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (80c)	109
2.3.4.19. Síntese da (Z)-5-(4-metoxibenzilideno)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (81a) pela reação de condensação de Knoevenagel	109
2.3.4.20. Síntese de (Z)-5-(4-metoxibenzilideno)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (81a) pela reação de adição aldólica, seguida por reação de β -eliminação	110
2.3.4.20.1. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(4-metoxibenzilideno)-furan-2(5 <i>H</i>)-ona (81a)	114
2.3.4.20.2. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-5-(3-bromo-4-metoxi-benzilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (81b)...114	
2.3.4.20.3. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-metoxibenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (81c)	115
2.3.4.20.4. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(2,5-dimetoxibenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (81d).....115	
2.3.4.20.5. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-metoxibenzoil)-5-(4-metoxibenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (81e)	116
2.3.4.20.6. Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-metoxi benzilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (81f).....117	
2.3.4.20.7. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-metoxibenzilideno)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (81g).....117	

2.3.4.20.8. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(2,5-dimetoxibenzilideno)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (81h)	118
2.3.4.20.9. Dados referentes ao composto (Z)-3-(4-metoxibenzoil)-5-(4-metoxibenzilideno)-4-(4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (81i)	118
2.3.4.20.10. Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-metoxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(3,5-dibromo-4-metoxiben-zoil)furan-2(5H)-ona (81j)	119
2.3.4.20.11. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(3,5-dibromo-4-metoxibenzoil)-5-(3,5-dibromo-4-metoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (81k)	120
2.3.4.21. Síntese de (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(4-hidroxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (82a) pela reação de desmetilação com BBr ₃	120
2.3.4.21.1. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(4-hidroxibenzilideno)-furan-2(5H)-ona (82a)	124
2.3.4.21.2. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-5-(3-bromo-4-hidroxi-benzilideno)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)furan-2(5H)-ona (82b)	124
2.3.4.21.3. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-hidroxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (82c)	125
2.3.4.21.4. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(2,5-dihidroxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (82d)	125
2.3.4.21.5. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxibenzoil)-5-(4-hidroxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (82e)	126
2.3.4.21.6. Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-hidroxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxibenzoil)furan-2(5H)-ona (82f)	127
2.3.4.21.7. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-hidroxibenzilideno)-3-(4-hidroxibenzoil)furan-2(5H)-ona (82g)	127

2.3.4.21.8. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-hidroxibenzilideno)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (82g')	128
2.3.4.21.9. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(2,5-dihidroxibenzilideno)-3-(4-hidroxibenzoil)furan-2(5H)-ona (82h)	129
2.3.4.21.10. Dados referentes ao composto (Z)-3-(4-hidroxibenzoil)-5-(4-hidroxibenzilideno)-4-(4-hidroxifenil)furan-2(5H)-ona (82i)	129
2.3.5. Bioensaios	130
2.3.5.1. Inibição do crescimento microbiano	130
2.3.5.2. Inibição de biofilme bacteriano	132
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	135
2.4.1. Síntese	135
2.4.1.1. Síntese de 1-etinil-4-metoxibenzeno	136
2.4.1.2. Síntese dos cloretos de ácidos	139
2.4.1.3. Síntese de inonas	140
2.4.1.4. Síntese de 5-etoxi-4-metiloxazol	151
2.4.1.5. Síntese de furanonas	152
2.4.1.6. Síntese dos análogos aos cadiolídeos naturais	161
2.4.2. Bioensaios	171
2.4.2.1. Efeito dos compostos sobre o crescimento de microrganismos	171
2.4.2.2. Efeito dos compostos sobre a formação de biofilme	178
2.4.2.2.1. Inibição da formação de biofilmes	182
2.5. CONCLUSÕES	188
2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	190
ANEXO 1 - ESPECTROS NO INFRAVERMELHO, RMN DE ¹ H, RMN DE ¹³ C E MASSAS	199
ANEXO 2 - INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO BACTERIANO E INIBIÇÃO DE FORMAÇÃO DE BIOFILME	303

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
aq.	Solução aquosa
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
BHT	<i>Butylated hydroxytoluene</i>
CC(+)	Controle de crescimento positivo
CC(-)	Controle de crescimento negativo
CCD	Cromatografia em camada delgada
COSY	<i>Correlated Spectroscopy</i>
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Dupleto duplo
δ	Deslocamento químico
DA	Diels-Alder
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
DIBAL-H	<i>Diisobutylaluminum hydride</i>
DIPEA	Diisopropiletilamina
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
DL ₅₀	Dose letal para 50% da população
DL ₉₀	Dose letal para 90% da população
DMP	<i>Dess-Martin Periodinane</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometria de massas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FTIR	<i>Fourier-transform infrared</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single-Quantum Correlation</i>
Hz	Hertz
IC ₅₀	Concentração inibitória para 50% da população

IE	Impacto de elétrons
<i>i</i> -Pr ₂ NEt	Diisopropiletilamina
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
λ	Comprimento de onda
LDA	<i>Lithium diisopropylamide</i>
logP	Coeficiente de partição
<i>m</i>	Multiplete
<i>m</i> -CPBA	Ácido meta-cloroperbenzóico
MHz	Megahertz
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
MM	Massa molecular ou Massa molar
m/v	Massa/volume
<i>m/z</i>	Relação massa/carga dos fragmentos na EM
<i>n</i> -Bu ₂ BOTf	Trifluorometanossulfonato de dibutilborilo
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Spectroscopy</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
<i>P</i>	Probabilidade
QS	<i>Quorum sensing</i>
R _f	Fator de retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
<i>s</i>	Simpleto
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilicina
SrtA	Sortase A
<i>t</i>	Triplete
t.a.	Temperatura ambiente
TBABr	Brometo de tetrabutilamônio
TBDMSOTf	<i>tert</i> -Butildimetilsililtrifluorometanossulfonato
T _f	Temperatura de fusão
THF	Tetraidrofurano
TL ₅₀	Tempo letal para 50% da população
TL ₉₀	Tempo letal para 90% da população

TMS	Tetrametilsilano
TPSA	<i>Total polar surface area</i>
UFC	Unidade formadora de colônia
v/v	Volume/volume

RESUMO

MAIRINK, Simone Zinato, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Síntese de alcaloides tropânicos inseticidas e cadiolídeos antimicrobianos.** Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Coorientadores: Eduardo Vinícius Vieira Varejão e Célia Regina Álvares Maltha.

Os alcaloides tropânicos estão entre as drogas mais antigas da medicina, com várias aplicações farmacêuticas. Outra grande relevância dos alcaloides está associada com uma importante classe de metabolitos secundários envolvidos na defesa de plantas, bloqueando os receptores de acetilcolina nos insetos. O objetivo do presente trabalho foi sintetizar uma série de derivados de alcaloides tropânicos contendo o grupo carbamato em sua estrutura, e avaliar os efeitos de tais moléculas híbridas contra as larvas de *Ascia monuste*, que predam plantas da família Brassicaceae. Os compostos mais ativos foram selecionados e seus efeitos foram avaliados em favor do predador de *A. monuste*, a formiga *Solenopsis saevissima* e a abelha polinizadora *Tetragonisca angustula*. A síntese dos alcaloides tropânicos com um grupo carbamato foi realizada a partir de cetonas comercialmente disponíveis. Os resultados dos bioensaios mostraram que os compostos **6a**, **10a** e **14a** apresentaram maiores atividades contra larvas de *A. monuste*, com DL₉₀ de 2,06, 21,72 e 4,90 µg de substância por mg de inseto e TL₅₀ de 7, 15 e 5 horas, respectivamente. Estes compostos foram também testados quanto à sua seletividade em favor de *S. saevissima* e *T. angustula*. O composto **6a**, que mostrou a maior atividade contra *A. monuste*, mostrou também uma menor toxicidade contra *S. saevissima*. Desta forma, os derivados de alcaloides tropânicos com um grupo carbamato mostraram potencial para o desenvolvimento de novos inseticidas contra *A. monuste*. Além dos alcaloides tropânicos, muitos outros compostos são encontrados e isolados da natureza, como é o caso dos rubrolídeos e os cadiolídeos, isolados de organismos marinhos. Estes compostos, pertencentes a família dos butenolídeos, apresentam diversas atividades biológicas como antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, dentre outras. Estudos mostram que o número de biotipos de microrganismos resistentes está aumentando e a busca por novas substâncias com novos mecanismos de ação ou que causem uma menor

pressão seletiva torna-se uma necessidade. Neste contexto, os cadiolídeos merecem destaque, pois apresentam potente atividade antibacteriana e baixa citotoxicidade. Nesse sentido, no presente trabalho, também foram sintetizados análogos aos cadiolídeos, utilizando como etapa chave uma reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder. Os compostos sintetizados foram submetidos a ensaios biológicos para avaliar suas propriedades inibitórias contra o crescimento de microrganismos e inibição de crescimento de biofilme bacteriano. Os resultados dos bioensaios sobre o crescimento microbiano de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* e *Candida albicans* mostraram que os compostos avaliados são mais ativos para as bactérias Gram-positivas do que para as bactérias Gram-negativas e apresentam baixa atividade para o fungo *C. albicans*. Os compostos mais ativos e promissores antibacterianos foram **79c**, **81a**, **81b** e **82d**, que apresentaram melhor inibição para *S. aureus*. Os resultados indicaram também que os efeitos dos compostos sobre os microrganismos podem ser modulados pela alteração dos grupos substituintes, bem como suas posições, nas três unidades aromáticas estruturais dos cadiolídeos. Já no bioensaio de biofilme bacteriano, os compostos testados mostraram-se capazes de modular a formação de biofilmes em uma variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (*Acinetobacter baumannii*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *S. aureus*) com pouca ou nenhuma inibição do crescimento planctônico para a maioria dos compostos testados. Os resultados mostraram que esses compostos são também mais ativos contra bactérias Gram-positivas, *E. faecalis* e *S. aureus*, sendo **82d** o composto mais ativo, apresentando IC₅₀ de 0,5 e 0,3 µg mL⁻¹, respectivamente. Assim, os análogos aos cadiolídeos mostraram potencial para o desenvolvimento de novos agentes anti-infecciosos, para atenuar a virulência expressa por agentes patogênicos oportunistas.

ABSTRACT

MAIRINK, Simone Zinato, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Synthesis of insecticidal tropane alkaloids and antimicrobial cadiolides**. Advisor: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Co-advisers: Eduardo Vinícius Vieira Varejão and Célia Regina Álvares Maltha.

Tropane alkaloids are among the oldest drugs in medicine, with wide pharmaceutical applications. Another great relevance of alkaloid is associated with an important class of secondary metabolites involved in plant defense, blocking acetylcholine receptors in insects. The objective of the present work was to synthesize a series of tropane alkaloid derivatives bearing a carbamate group, and to evaluate the effects of such hybrid molecules against larvae of the relevant agricultural insect pest *Ascia monuste*, which predates plants of the Brassicaceae family. The most active compounds were selected and their effects on the *A. monuste* predator, the ant *Solenopsis saevissima* and the pollinating bee *Tetragonisca angustula* were valuated. The synthesis of tropane alkaloids bearing a carbamate group was accomplished starting from commercially available ketones. Results from bioassays showed that compounds **6a**, **10a**, and **14a** presented higher activities against second-instar larvae of *A. monuste*, with LD₉₀ of 2.06, 21.72 and 4.90 µg of substance per mg of insect, and LT₅₀ of 7.0, 15.0 and 5.0 hours, respectively. These compounds were also tested for their selectivity in favor of *S. saevissima* and *T. angustula*. Compound **6a**, which showed the highest activity against *A. monuste*, also showed lower toxicity against *S. saevissima*. Thus, the tropane alkaloids derivatives bearing a carbamate group show potential for the development of novel insecticides against *A. monuste*. In addition to tropane alkaloids, many other compounds are found and isolated from nature, such as rubrolides and cadiolides, isolated from marine organisms. These compounds, belong to the family of butenolides, present diverse biological activity as antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, among others. Studies show that the number of biotypes of resistant microorganisms is increasing and the search for new substances with new mechanisms of action or that cause less selective pressure becomes a necessity. In this context, the cadiolides deserve attention, as they present potent antibacterial activity and low

cytotoxicity. In this sense, in the present work, were also synthesized analogues to the cadiolides using as a key step a Diels–Alder cycloaddition–cycloreversion reaction. The synthesized compounds were submitted to biological assays to evaluate their inhibitory properties against growth of microorganisms and inhibition of bacterial biofilm growth. The results of the bioassays on the microbial growth of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* and *Candida albicans* showed that the compounds evaluated are more active for Gram-positive bacteria than for Gram-negative and have low activity for the fungus *C. albicans*. The most active and promising antibacterial compounds were **79c**, **81a**, **81b** and **82d**, which showed better inhibition for *S. aureus*. The results also indicated that the effects of the compounds on the microorganisms can be modulated by the alteration of the substituent groups, and their positions, in the three structural aromatic units of the cadiolides. In the bacterial biofilm bioassay, the tested compounds could modulate the formation of biofilms in a variety of Gram-positive and Gram-negative bacteria (*Acinetobacter baumannii*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *S. aureus*) with little or no inhibition of planktonic growth for most of the compounds tested. The results showed that these compounds are also more active against Gram-positive bacteria, *E. faecalis* and *S. aureus*, with **82d** being the most active compound, presenting IC₅₀ of 0.5 and 0.3 µg mL⁻¹, respectively. Thus, analogues to the cadiolides have shown potential for the development of novel anti-infective agents to attenuate the virulence expressed by opportunistic pathogens.

CAPÍTULO 1

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DE ALCALOIDES TROPÂNICOS

1.1. INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos, a humanidade se depara com dificuldades na produção e no armazenamento de alimentos para a sua subsistência. A redução da produtividade de plantas cultivadas ocorre normalmente pela ação de pragas, doenças e competição com plantas daninhas. Com o passar do tempo, estes problemas adquiriram dimensões devastadoras, comprometendo as lavouras e tornando necessária a utilização de tecnologias para evitar os prejuízos à agricultura (Barbosa *et al.*, 2004).

As técnicas de manejo de pragas evoluíram vigorosamente durante o século XX, sobretudo nos últimos 60 anos. Antes da década de 1950, apenas alguns produtos químicos sintéticos, incluindo sais de chumbo, cobre e arsênio, eram utilizados na proteção das lavouras (Wheeler, 2002). Porém, com o surgimento de novas substâncias orgânicas, a utilização de defensivos agrícolas para controle de pragas passou a ser a técnica mais comumente utilizada, por ser um controle químico rápido, eficiente e de custo atrativo. Embora alguns problemas ambientais e também à saúde dos seres vivos estejam atrelados ao uso destes compostos químicos, estes são responsáveis por um aumento significativo na produtividade mundial de alimentos (Barbosa *et al.*, 2004). Neste sentido, é necessária a busca por produtos eficazes em pequenas doses e seguros para o homem e o ambiente, que sejam mais seletivos e com diferentes modos de ação.

1.1.1. Síntese de alcaloides tropânicos

Atualmente, medicamentos contendo alcaloides tropânicos são utilizados para diminuir cólicas renais, espasmos brônquicos, espasmos do trato gastrointestinal e, também, como anestésicos locais e antídotos em envenenamentos por inseticidas das classes dos organofosforados e dos carbamatos (Martinez *et al.*, 2009).

Em 1831, K. Mein foi o primeiro a isolar a atropina (mistura racêmica da hiosciamina). Em 1833, P. L. Geiger isolou a hiosciamina e F. Gaedcke, em 1855, foi o primeiro a isolar a cocaína. Albert Ladenburg isolou em 1881 a escopolamina e descobriu também o processo de esterificação da porção

tropânica (Humphrey e O'Hagan, 2001). Na Figura 1 encontram-se as estruturas químicas dos primeiros alcaloides tropânicos isolados.

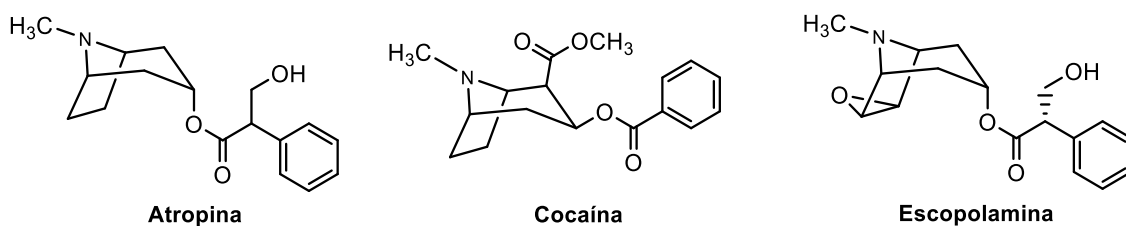
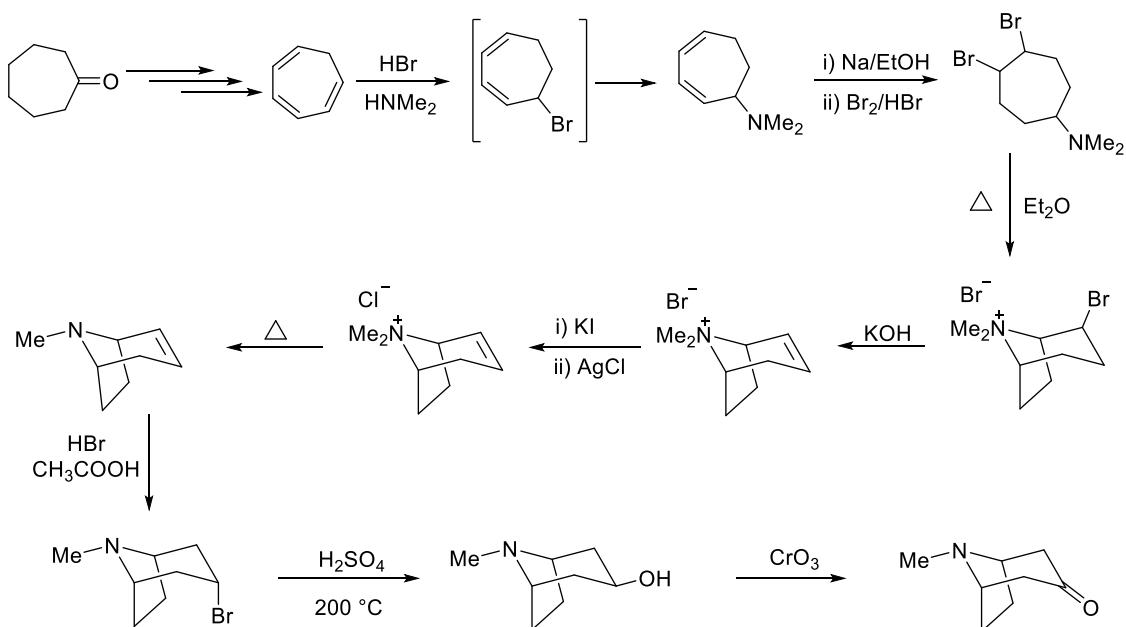


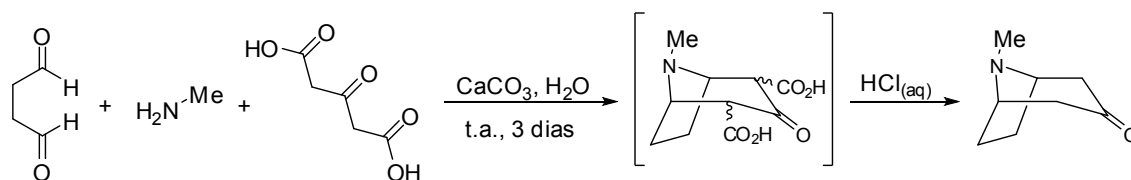
Figura 1 – Primeiros alcaloides tropânicos isolados.

Richard Martin Willstätter, em 1903, elucidou as estruturas dos alcaloides tropânicos e da cocaína. A síntese da tropinona foi um marco notável na história da química orgânica (Esquema 1) (Humphrey e O'Hagan, 2001).



Esquema 1 – Síntese da tropinona por Willstätter (Humphrey e O'Hagan, 2001).

Em 1917, R. Robinson também sintetizou a tropinona por meio de uma elegante síntese biomimética do sistema de anéis tropânicos (Esquema 2). A tropinona é um alvo sintético pivotal para a obtenção de numerosos alcaloides tropânicos como, por exemplo, da cocaína, um dos alcaloides com esqueleto tropânico mais conhecidos, tanto pelo seu efeito anestésico como pelo seu uso ilícito (Martinez *et al.*, 2009).



Esquema 2 – Síntese da tropinona por Robinson (Martinez *et al.*, 2009).

Os alcaloides tropânicos são de grande importância comercial devido ao fato de seus derivados estarem entre os produtos farmacêuticos mais comercializados mundialmente. Nas indústrias farmacêuticas são fabricadas mais de 20 substâncias ativas com o núcleo tropânico em suas estruturas, sendo aplicados como midríaticos, antieméticos, antiespasmódicos, anestésicos e broncodilatadores (Gryniewicz e Gadzikowska, 2002) (Figura 2).

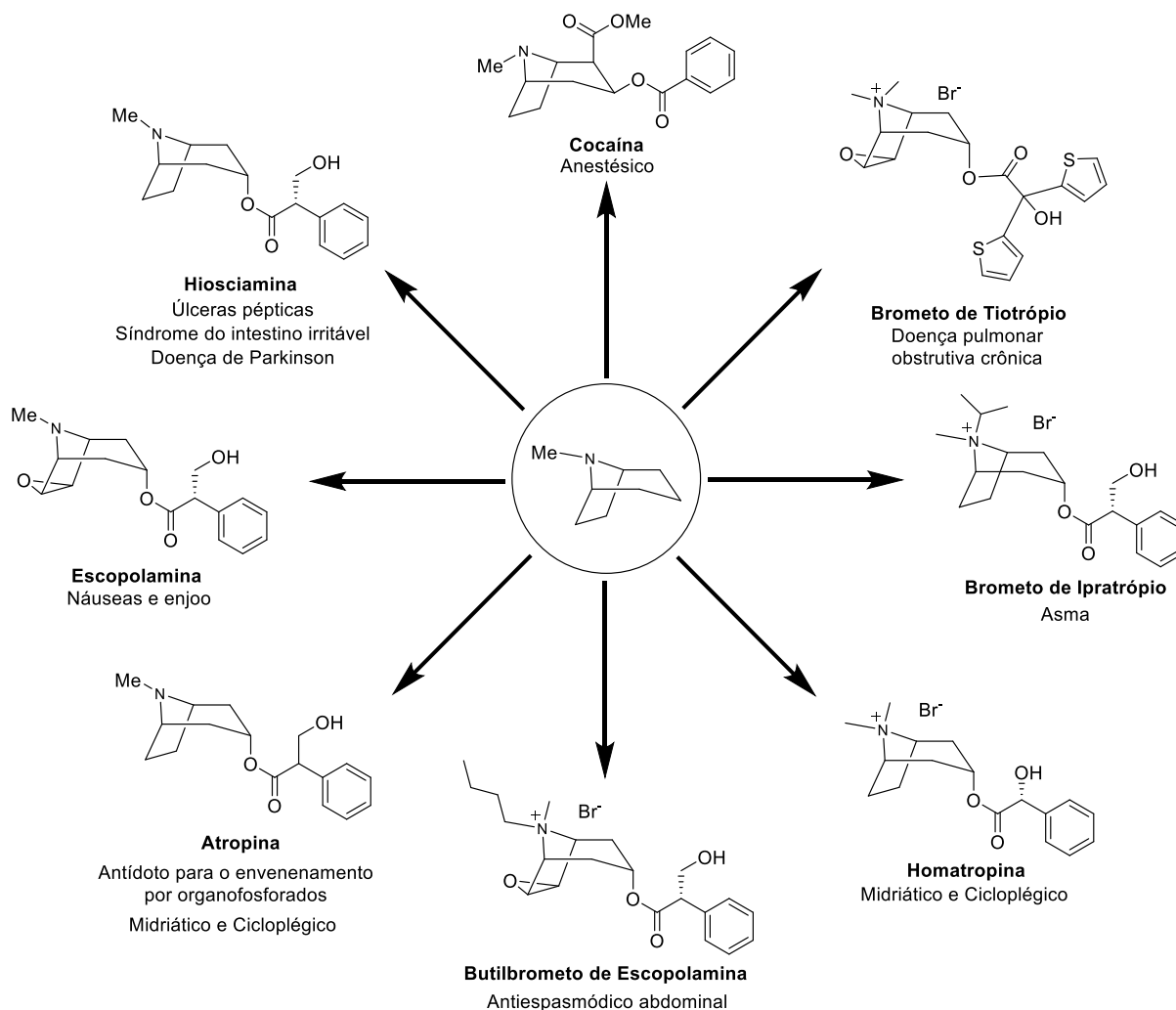


Figura 2 – Alcaloides tropânicos e suas principais aplicações farmacológicas.

Alcaloides constituem uma importante classe de metabólitos secundários envolvidos na defesa das plantas, particularmente contra insetos herbívoros. De modo mais específico, muitas plantas desenvolveram substâncias que são verdadeiros inseticidas naturais (Howe e Jander, 2008). Essa capacidade natural das plantas foi bastante explorada na agricultura antes da Segunda Guerra Mundial, quando então foram, gradualmente, substituídas por produtos sintéticos (Dayan *et al.*, 2009).

A cocaína, escopolamina e atropina são exemplos de alcaloides tropânicos que exibem atividade inseticida (Nathanson *et al.*, 1993; Schule, 1996; Shields *et al.*, 2008) (Figura 1). Estas substâncias agem como inibidora da acetilcolinesterase, o que leva o inseto à morte por convulsão (Dayan *et al.*, 2009; Mithöfer e Boland, 2012). É interessante notar que, com exceção dos rotenoides que atuam na respiração, todos os outros compostos naturais com ação inseticida têm seu efeito no sistema nervoso ou no sistema endócrino, ambos ausentes em plantas. Tal estratégia permite às plantas acumularem grandes quantidades desses metabólitos sem que elas próprias sejam prejudicadas (Rattan, 2010).

1.1.2. Síntese de novos agroquímicos

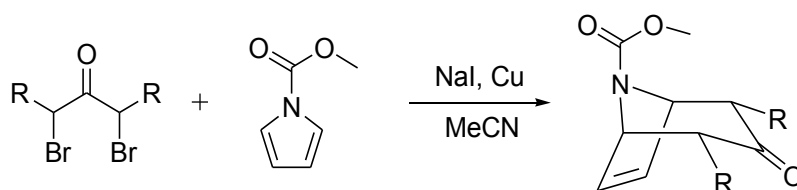
Os defensivos agrícolas, conhecidos como agroquímicos, têm sido aplicados em grande escala no mundo inteiro, principalmente no Brasil, onde a agricultura desempenha um papel econômico fundamental para o país. Essas substâncias aumentam a produtividade agrícola, porém podem ser altamente prejudiciais à saúde dos seres vivos (Barbosa *et al.*, 2003). Procurando obter produtos eficazes em pequenas doses e seguros para o homem e o ambiente, estudos são realizados para obtenção de novos compostos com atividades agroquímicas.

Uma das etapas iniciais na descoberta de novos fármacos e agroquímicos é a identificação de compostos protótipos que apresentem atividade biológica desejável. A descoberta de novas moléculas e a possibilidade de realizar triagem simultânea de elevado número de compostos em curto intervalo de tempo está aumentando a quantidade de moléculas potencialmente ativas (Filho e Yunes, 1998).

Uma vez obtido o composto biologicamente ativo, iniciam-se os estudos envolvendo modificação molecular, que se constitui, certamente, no método mais usado e recompensador para aperfeiçoar essa atividade. Diferentes transformações químicas podem ser realizadas em uma molécula, dependendo da natureza de seus grupos funcionais (Barbosa, 2011; Carruthers e Coldham, 2004).

A busca por produtos naturais que possam ser usados como pesticidas naturais ou como modelos para o desenvolvimento de novas moléculas sintéticas tem sido considerada como uma estratégia promissora (Cantrell *et al.*, 2012; Isman, 2015; Farooq *et al.*, 2011, Sparks, 2013). Nesse sentido, produtos naturais têm sido utilizados como modelo para o desenvolvimento de novos compostos sintéticos como potenciais herbicidas (Barbosa *et al.*, 2003; Teixeira *et al.*, 2010) ou inseticidas (Paula *et al.*, 2000; Paula *et al.*, 2008).

Através da reação de cicloadição (4+3) entre uma cetona dibromada e um composto derivado do pirrol (Esquema 3) é obtida uma substância com esqueleto de alcaloide tropânico (substância nitrogenada) e um grupo carbamato em sua estrutura (Demuner *et al.*, 1997). Em função das inúmeras atividades biológicas já conhecidas dos alcaloides, é esperado que tais substâncias também apresentem atividade agroquímica, devido ao esqueleto tropânico e a presença do grupo carbamato.



Esquema 3 – Cicloadição (4+3) entre α,α -dibromocetona e N-carboximetilpirrol (Demuner *et al.*, 1997).

Os carbamatos são usados, principalmente na agricultura, como inseticidas (Zhang *et al.*, 2012), fungicidas (Veerappan *et al.*, 2012), herbicidas (Özcana *et al.*, 2008), ou nematocidas (Rosa *et al.*, 2003). Esses compostos químicos são parte do grande grupo de defensivos agrícolas sintéticos que têm sido desenvolvidos, produzidos e usados em grande escala. Compostos como carbaril, metomil, carbofuran e metiocarbe (Figura 3) são alguns dos inseticidas

contendo carbamatos comercialmente registrados e amplamente utilizados (Nithyakalyani *et al.*, 2016; Baek *et al.*, 2016; Mayakaduwa *et al.*, 2016; Inam e Bilgin, 2013).

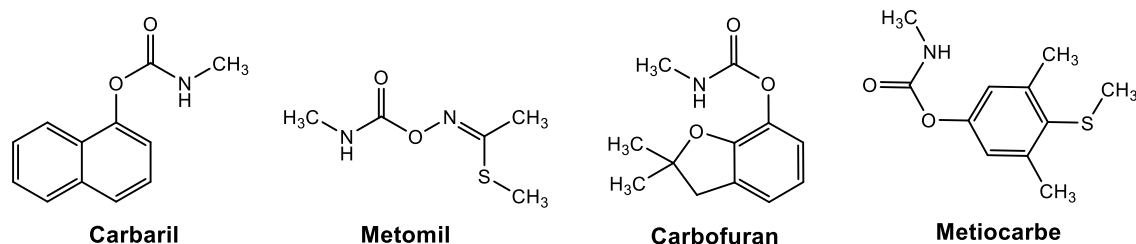


Figura 3 – Inseticidas comerciais contendo o grupo carbamato.

Assim como os alcaloides tropânicos, os carbamatos atuam como inibidores da enzima acetilcolinesterase, que catalisa a hidrólise da acetilcolina (Martin, *et al.*, 2013). Os carbamatos usados como inseticidas comerciais apresentam elevada toxicidade para os seres humanos e o meio ambiente, desta forma, é desejável a descoberta de novos inseticidas com ação seletiva, capazes de controlar pragas alvo, mas com a menor toxicidade possível contra espécies não-alvo, incluindo inimigos naturais (Fernandes *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2013).

1.1.3. Pragas Agrícolas

Atualmente estão catalogadas inúmeras espécies de insetos considerados pragas para o ser humano, pois atacam as lavouras ou acarretam doenças ao homem. Os danos causados pelos insetos às plantas são variados e podem ser observados em todos os órgãos vegetais (EMBRAPA, 2013). Um inseto só pode ser considerado praga quando atinge um determinado índice de dano econômico para a cultura plantada. Dependendo da espécie, do tamanho populacional da praga, da fase de desenvolvimento, estrutura vegetal atacada e da duração do ataque, pode haver maior ou menor prejuízo, em quantidade e em qualidade.

Entre os principais grupos de pragas agrícolas encontram-se as lagartas, dentre as quais se inclui a *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera: Pieridae) (Figura 4). Esta praga é nativa da Região Neotropical, cuja espécie ocorre do sul dos Estados Unidos até o sul da América do Sul, atacando plantas da família

Brassicaceae como brócolis, couve-flor, couve, mostarda, canola, agrião, rabanete e rúcula (Liu, 2005). As lagartas de *A. monuste* podem ocasionar perdas de até 100% na produção das culturas devido à desfolha que é causada nas plantações (Picanço *et al.*, 2010).



Figura 4 – Lagartas da espécie *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera: Pieridae).

Os insetos-praga constituem um dos grandes problemas enfrentados pelo homem, tanto no ambiente urbano como no ambiente rural. O uso de inseticidas sintéticos é a principal ferramenta utilizada no controle destes organismos (Matthews, 2008). O controle de *A. monuste orseis* é executado, principalmente pela aplicação periódica de inseticidas como carbaril, malationa, deltametrina, paratiom metílico, permetrina e triclorfom (Figura 5), registrados para uso em seu controle em brássicas (Crespo *et al.*, 2002).

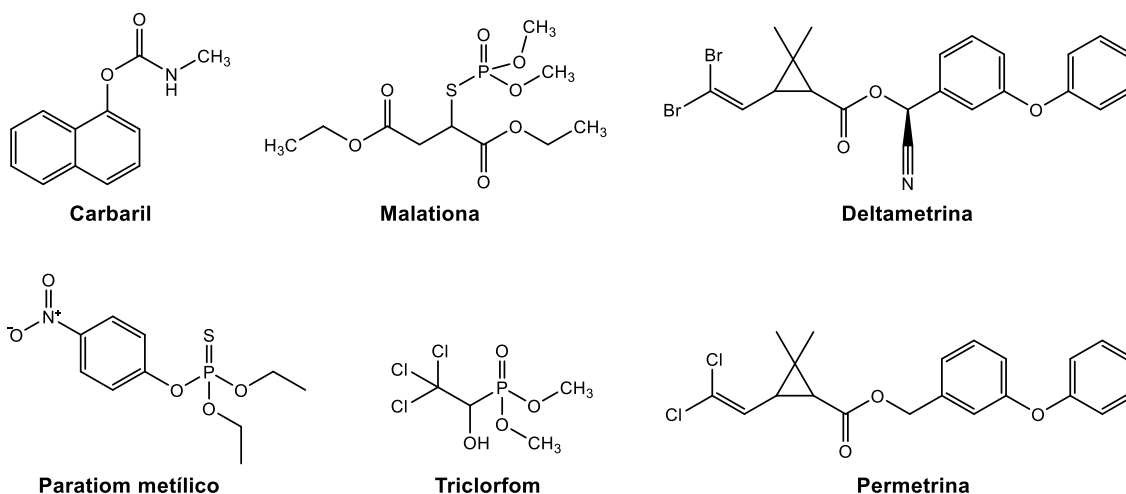


Figura 5 – Inseticidas utilizados para o controle de *Ascia monuste*.

Entre os inimigos naturais de *A. monuste* está a formiga *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) (Figura 6), que preda larvas e pupas desta praga (Ramos *et al.*, 2012). Outro importante grupo de insetos benéficos associados aos ecossistemas são as abelhas (Hymenoptera: Apidae). As abelhas são importantes polinizadoras das plantas. A polinização realizada por abelhas é extremamente importante em culturas agrícolas e elas são responsáveis por 90% do sucesso reprodutivo das plantas floríferas (Shipp, 1994).

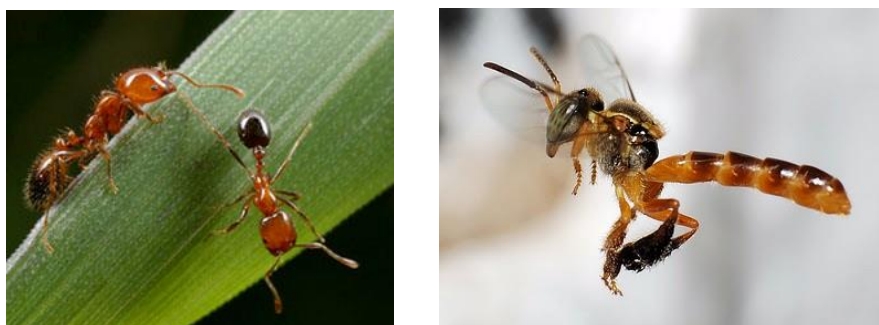


Figura 6 – Formiga da espécie *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) (esquerda) e abelha da espécie *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Meliponinae) (direita).

Atualmente é registrado declínio das populações de abelhas em diversas regiões do planeta (Bernal *et al.*, 2010; Neumann e Carreck, 2010). Uma hipótese para o desaparecimento de populações de abelhas é o uso dos inseticidas neonicotinoides (Goulson, 2013). Entre as espécies de abelhas está a *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Meliponinae) (Figura 6), conhecida popularmente como jataí, sendo uma das espécies de abelhas sem ferrão mais importantes na região Neotropical (Moure, 1961).

Neste contexto, é importante a descoberta de novas moléculas inseticidas, já que, devido à seleção de populações de insetos resistentes aos inseticidas, os produtos existentes no mercado tornam-se ineficientes no controle das pragas (Whalon *et al.*, 2008). Também é importante que os novos inseticidas tenham baixa toxicidade ao homem e baixo impacto sobre organismos não-alvos como os inimigos naturais (Gradish *et al.*, 2011).

1.2. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

A necessidade de substâncias de amplo espectro de ação para o controle de insetos-praga, juntamente com a resistência observada em algumas dessas espécies, tem aumentado os esforços dos químicos orgânicos sintéticos e demais pesquisadores, na busca por produtos eficazes em pequenas doses e seguros para o homem e o meio ambiente.

Considerando as atividades farmacológicas e inseticidas dos alcaloides tropânicos e as atividades agroquímicas dos carbamatos, vislumbrou-se nesse trabalho a síntese de alcaloides tropânicos pela reação de cicloadição (4+3) entre α, α -dibromocetonas e *N*-carboximetilpirrol. A partir desses intermediários, derivados de alcaloide tropânico seriam obtidos por meio de transformações químicas, com intuito de se obter compostos com potenciais atividades inseticidas. Estes seriam avaliados contra larvas de *Ascia monuste*, sendo que a seletividade destas substâncias em favor do predador *Solenopsis saevissima* e do polinizador *Tetragonisca angustula* também seriam estudada.

1.3. MATERIAL E MÉTODOS

1.3.1. Técnicas experimentais

Os solventes utilizados apresentavam grau de pureza analítica e os solventes anidros empregados foram secados de acordo com Perrin e Armarego (1994).

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas empregando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio (Polygram-UV₂₅₄ 0,20 mm Macherey – Nagel).

As placas de CCD, após serem observadas sob luz ultravioleta ($\lambda = 254$ nm), foram reveladas com solução alcoólica de ácido fosfomolibdico ou solução aquosa de permanganato de potássio.

As separações cromatográficas em coluna foram feitas utilizando-se sílica-gel 60 (70-230 mesh ou 230-400 mesh) como fase estacionária. As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302 e não foram corrigidas.

1.3.2. Técnicas espectroscópicas

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro VARIAN 660-IR equipado com acessório PIKE Gladi ATR (Departamento de Química - UFV).

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em aparelho Varian Mercury 300 (300 MHz). Utilizou-se clorofórmio deuterado (CDCl_3) ou acetona deuterada [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] como solventes e os espectros foram referenciados pelo sinal do padrão de referência interna tetrametilsilano (TMS) ($\delta = 0,00$). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

Os espectros de massas foram obtidos em equipamento SHIMADZU GCMS-QP5050A utilizando método por impacto de elétrons (70 eV).

1.3.3. Purificação e secagem de solventes

1.3.3.1. Secagem de acetonitrila

Em um béquer de 500 mL, 300 mL de acetonitrila foram misturados com aproximadamente 10 g de sílica gel. A seguir, a mistura foi filtrada e a acetonitrila recolhida em um balão de 500 mL, onde posteriormente foram adicionados aproximadamente 3 g de hidreto de cálcio. O sistema foi refluxado por três horas. Em seguida, a acetonitrila anidra foi destilada e armazenada sobre peneira molecular 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de nitrogênio (Perrin e Armarego, 1994).

1.3.3.2. Secagem do tolueno

Em um béquer de 500 mL foram adicionados 300 mL de tolueno com 5 g de sulfato de magnésio. Em seguida, a mistura foi filtrada e o tolueno recolhido em um balão de 500 mL, onde posteriormente foram adicionados 3 g de hidreto de cálcio. O sistema foi refluxado por cinco horas. Em seguida, o tolueno foi destilado e armazenado sobre peneira molecular 4 Å em um frasco de vidro âmbar, sob atmosfera de nitrogênio (Perrin e Armarego, 1994).

1.3.3.3. Secagem do etanol

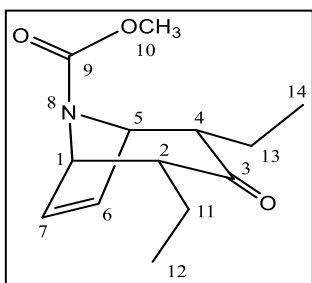
A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de etanol 95% (v/v) e 80 g de óxido de cálcio. O sistema foi refluxado durante 6 horas. Em seguida, o etanol absoluto foi destilado e devidamente armazenado sobre peneira molecular 4 Å em um frasco de vidro âmbar devidamente vedado, sob atmosfera de nitrogênio (Perrin e Armarego, 1994).

1.3.4. Procedimentos sintéticos

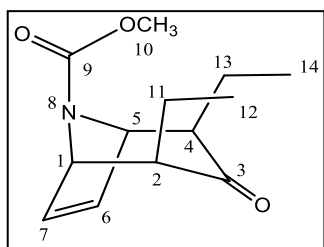
1.3.4.1. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (6a) e (\pm)-2 β ,4 β -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (6b)

Em um balão bitubulado de fundo redondo, sob atmosfera de nitrogênio, foi adicionado iodeto de sódio (28,8 g, 192 mol), cobre metálico (8,13 g, 128 mol), acetonitrila anidra (200 mL) e *N*-carboximetilpirrol (**4**) (4,00 g, 32,0 mol). A essa

mistura, sob agitação magnética e a 0 °C, foi adicionado lentamente, por um período de trinta minutos, 3,5-dibromoeptan-4-ona (**2b**) (17,4 g, 64,0 mol) solubilizada em 100 mL de acetonitrila anidra. A mistura resultante foi agitada a 50 °C durante 24 horas. Após esse tempo, a mistura foi transferida para um erlenmeyer contendo diclorometano (150 mL) e água gelada (300 mL). A solução foi filtrada a vácuo sob celite e extraída com diclorometano (2 x 75 mL). À fase orgânica foi adicionada solução de NH₄OH 28% (100 mL) e filtrada novamente a vácuo sob celite. Em seguida, a fase orgânica foi lavada com solução de NH₄OH 28% até que esta não apresentasse coloração azul. Posteriormente, a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (100 mL), secada com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida, resultando em óleo laranja como material bruto da reação. Esse óleo foi submetido à purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:éter dietílico; 2:1 v/v).

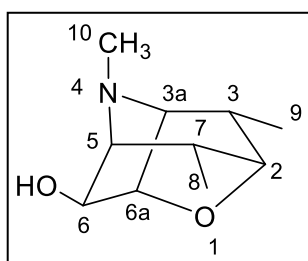


O produto **6a** foi obtido como um óleo amarelo em 41% de rendimento (3,11 g, 13,1 mmol). **CCD**: 0,36 (hexano:éter dietílico, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2965, 2936, 2874, 2597, 2362, 2225, 2187, 1943, 1691, 1448, 1395, 1296, 1199, 1112, 962, 848, 781, 763, 540. **RMN de ¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ : 0,85-1,15 (m, 10H, CH₃ e CH₂), 2,30-2,45-2,70 (m, 2H, 2 e 4), 3,75 (s, 3H, OCH₃), 4,68-4,84 (m, 2H, 1 e 5), 6,14-6,24 (m, 2H, 6 e 7). **RMN de ¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ : 11,9 (12 e 14), 19,5 (11 e 13), 52,6 (10), 56,1 (4), 56,7 (2), 59,6 (1 e 5), 133,2 (6), 133,5 (7), 152,9 (9), 208,3 (3). **EM, m/z (%)**: 237 ([M⁺], C₁₃H₁₉NO₃, 37), 238 ([M+1], 6), 209 (8), 208 (61), 204 (20), 194 (6), 190 (6), 178 (12), 176 (5), 167 (30), 166 (100), 161 (5), 153 (5), 152 (58), 138 (48), 134 (11), 132 (9), 125 (14), 120 (6), 108 (9), 107 (9), 106 (10), 97 (9), 94 (21), 93 (16), 92 (5), 91 (7), 81 (11), 80 (34), 79 (18), 78 (9), 77 (15), 71 (5), 70 (6), 69 (33), 68 (6), 67 (16), 66 (7), 65 (11), 59 (24), 57 (6), 55 (30).



O produto **6b** foi obtido como um óleo amarelo claro em 8% de rendimento (0,600 g, 2,56 mmol). **CCD:** 0,22 (hexano:éter dietílico, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 2965, 2934, 2876, 1696, 1644, 1454, 1403, 1302, 1190, 1107, 981, 928, 780, 715, 464. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 0,99-1,03 (m, 6H, CH_3), 1,55-1,68 (m, 4H, CH_2), 2,13-2,20 (m, 2H, 2 e 4), 3,74 (s, 3H, OCH_3), 4,76-4,95 (m, 2H, 1 e 5), 6,17-6,27 (m, 2H, 6 e 7). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 12,2 (12 e 14), 24,8 (11 e 13), 52,7 (10), 57,7 (4), 57,8 (2), 58,7 (5), 58,8 (1), 134,1 (7), 134,9 (6), 155,2 (9), 212,1 (3). **EM, m/z (%)**: 237 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_3$, 15), 238 ($[\text{M}+1]$, 2), 219 (5), 209 (7), 208 (52), 204 (17), 194 (6), 190 (5), 178 (10), 176 (5), 167 (22), 166 (100), 161 (5), 152 (41), 139 (6), 138 (50), 135 (5), 134 (13), 132 (9), 125 (15), 120 (9), 115 (6), 108 (10), 107 (12), 106 (13), 97 (7), 94 (25), 93 (16), 92 (5), 91 (7), 81 (8), 80 (21), 79 (13), 78 (6), 77 (7), 69 (27), 67 (11) 65 (6), 59 (18), 57 (7), 55 (23).

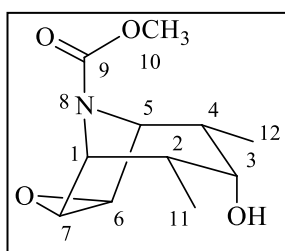
1.3.4.2. (\pm)-3,4,7-trimetilhexaidro-2H-2,5-metanofuro[3,2-b]pirrol-6-ol (**8**)



Em um balão bitubulado de fundo redondo sob atmosfera de nitrogênio, uma solução de 2 α ,4 α -dimetil-6,7-epóxi-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**7**) (0,20 g, 0,89 mmol) em tolueno anidro (8 mL) foi arrefecida para -78 °C e a esta, uma solução de 1 mol/L de DIBAL-H em tolueno (8,8 mL, 8,8 mmol) foi adicionada. A mistura foi agitada à mesma temperatura durante 2 horas e à temperatura ambiente durante 22 horas. Após esse tempo, foi adicionado água (3 mL) e o sistema foi agitado durante 2 horas. O gel resultante foi extraído várias vezes com acetato de etila (8 x 30 mL) e as fases orgânicas combinadas foram secadas com sulfato de magnésio e concentradas, resultando em óleo amarelo. Esse óleo foi submetido à purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (éter dietílico: NH_4OH , 95:5 v/v) para se obter **8** (83 mg, 0,45 mmol, 51%) como um óleo amarelo pálido, que solidifica em temperaturas próximas de -4 °C. **CCD:** 0,39 (éter dietílico: NH_4OH , 95:5 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3426, 2955, 2917, 2849, 2360, 2159, 2038, 2016, 1967, 1734, 1461, 1376, 1261, 1119, 1003, 902, 720. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 0,80 (d, $J_{11,4} = 6,9$ Hz, 3H, CH_3), 0,95 (d, $J_{10,2} = 7,4$ Hz, 3H, CH_3), 2,00 (dq, $J_{2,10}$

= 6,9 Hz e $J_{2,1} = 3,0$ Hz, 1H, 7), 2,39 (q, $J_{4,11} = 7,4$ Hz, 1H, 8), 2,55 (s, 3H, NCH₃), 2,73-2,79 (m, 1H, 5), 3,25 (d, $J_{5,6} = 3,6$ Hz, 1H, 3a5), 3,56 (s, 1H, 2), 3,99 (s, 1H, 6), 4,32-4,37 (m, 1H, 6a). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 14,6 (8), 15,5 (9), 31,6 (7), 34,2 (8), 34,3 (10), 66,3 (3a), 68,5 (5), 71,6 (6), 82,8 (6a), 83,5 (2). **EM, m/z (%)**: 183 ([M⁺], C₁₀H₁₇NO₂, 27), 184 ([M+1], 3), 153 (10), 126 (16), 125 (11), 124 (67), 122 (16), 110 (13), 109(6), 107 (21), 100 (5), 98 (6), 97 (11), 96 (13), 95 (14), 94 (11), 84 (15), 83 (7), 82 (8), 72 (13), 71 (13), 70 (11), 69 (6), 68 (11), 58 (11), 57 (13), 56 (17), 55 (29), 54 (6), 53 (14), 51 (7).

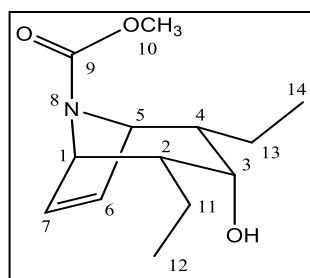
1.3.4.3. (\pm)-2 α ,4 α -dimetil-6,7-epoxi-3-hidroxi-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**9**)



Em um balão bitubulado de fundo redondo, sob agitação magnética, atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente, NaBH₄ (189 mg, 5,00 mmol) foi adicionado a uma solução de 2 α ,4 α -dietil-6,7-epóxi-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**7**) (225 mg, 1,00 mmol) em etanol (10 mL). A mistura resultante foi colocada sob refluxo durante 1 hora. Após arrefecimento, a reação foi interrompida pela adição de água gelada (20 mL). A mistura foi extraída com diclorometano (3 x 20 mL) e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (1 x 20 mL), secada com sulfato de magnésio e concentrada, resultando em um óleo amarelo. Esse óleo foi purificado por coluna cromatografia de sílica gel (éter dietílico:NH₄OH, 95:5 v/v) para dar **9** (166 mg, 0,730 mmol, 73%) como um sólido amarelo pálido. **T_f**: 125,6-126,4 °C. **CCD**: 0,39 (éter dietílico:NH₄OH, 95:5 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3466, 2960, 2926, 2902, 2880, 2558, 2361, 2250, 2195, 2157, 1975, 1677, 1450, 1395, 1352, 1277, 1250, 1191, 1123, 986, 888, 849, 771, 548. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 1,07(d, $J_{12,4} = 2,3$ Hz, 3H, CH₃), 1,09 (d, $J_{11,2} = 2,3$ Hz, 3H, CH₃), 1,94-2,08 (m, 2H, 2 e 4), 3,41-3,46 (m, 2H, 6 e 7), 3,57 (s, 3H, OCH₃), 3,66-3,73 (m, 1H, 3), 3,95 (d, $J_{OH,3} = 5,5$ Hz, 1H, OH), 4,01(d, $J_{5,4} = 2,9$ Hz, 1H, 5), 4,07(d, $J_{1,2} = 2,9$ Hz, 3H, 1). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 12,8 (11), 12,8 (12), 38,3 (2), 38,7 (4), 51,4 (7), 51,5 (10), 51,8 (6), 57,7 (1), 58,3 (5), 69,9 (3), 156,5 (9). **EM, m/z (%)**: 227 ([M⁺], C₁₁H₁₇NO₄, 26), 228 ([M+1], 3), 169 (14), 168 (100), 166 (7), 158 (7), 154 (8), 153 (6), 152 (26), 141 (7), 140 (7), 137 (8), 136 (16), 130 (7),

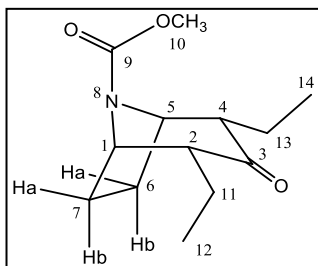
128 (6), 124 (8), 123 (5), 122 (6), 118 (9), 117 (6), 116 (10), 115 (9), 112 (5), 111 (27), 110 (9), 109 (15), 108 (16), 107 (5), 100 (8), 97 (5), 96 (13), 95 (29), 94 (12), 93 (16), 91 (5), 86 (7), 85 (6), 84 (15), 83 (23), 82 (26), 81 (14) 80 (7), 79 (10), 77 (8), 76 (9), 71 (11), 70 (17), 69 (20), 68 (15), 67 (21), 65 (7), 59 (24), 58 (7), 57 (14), 56 (19), 55 (33), 54 (8), 53 (13).

1.3.4.4. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-hidróxi-8-azabicciclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (**10b**)



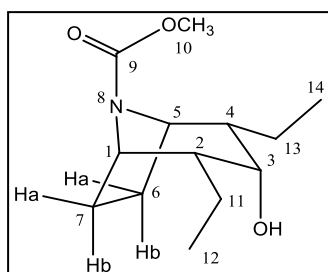
Em um balão bitubulado de fundo redondo, sob agitação magnética, atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente, NaBH₄ (189 mg, 5,00 mmol) foi adicionado a uma solução de 2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicciclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (**6a**) (237 mg, 1,00 mmol) em etanol (10 mL). A mistura resultante foi colocada sob refluxo durante 1 hora. Após arrefecimento, a reação foi interrompida pela adição de água gelada (20 mL). A mistura foi extraída com diclorometano (3 x 20 mL) e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (1 x 20 mL), secada com sulfato de magnésio e concentrado, resultando em um óleo amarelo. Esse óleo foi purificado por coluna cromatografia de sílica gel (hexano:éter dietílico, 1:2 v/v) para dar **10b** (213 mg, 0,900 mmol, 90%) como um óleo amarelo pálido. **CCD**: 0,31 (hexano:éter dietílico, 1:2 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3445, 2960, 2875, 1678, 1455, 1395, 1301, 1189, 1114, 1056, 970, 853, 764, 682, 547. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 0,98 (t, $J_{12,11} = J_{14,13} = 7,2$ Hz, 6H, CH₃), 1,17-1,28 (m, 1H, OH), 1,35-1,62 (m, 4H, CH₂), 1,73-2,01 (m, 2H, 2 e 4), 3,71 (s, 3H, OCH₃), 3,79-3,93 (m, 1H, 3), 4,33-4,52 (m, 2H, 1 e 5), 6,30-6,49 (m, 2H, 6 e 7). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 11,6 (12 e 14), 21,8 (11 e 13), 44,5 (2), 45,4 (4), 52,3 (1), 52,3 (5), 60,9 (10), 69,2 (3), 135,8 (6), 136,2 (7), 152,8 (9). **EM, m/z (%)**: 239 ([M⁺], C₁₃H₂₁NO₃, 4), 240 ([M+1], 1), 192 (22), 180 (5), 167 (15), 166 (19), 164 (13), 152 (47), 151 (18), 142 (25), 139 (12), 138 (100), 134 (6), 127 (6), 126 (65), 125 (20), 123 (14), 120 (7), 117 (6), 114 (8), 110 (29), 109 (9), 108 (11), 107 (10), 106 (8), 99 (5), 96 (6), 95 (7), 94 (29), 93 (15), 91 (6), 85 (6), 82 (18), 81 (15), 80 (25), 79 (10), 78 (5), 77 (7), 71 (9), 68 (6), 67 (22), 65 (7), 59 (21), 57 (17), 55 (27).

1.3.4.5. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**12b**)



Em um balão de fundo redondo bitubulado (25 mL), sob atmosfera saturada de hidrogênio foi adicionado **6a** (237 mg, 1,00 mmol), Pd/C a 10% (30 mg) e acetato de etila (3 mL). A mistura reacional permaneceu à temperatura ambiente e agitação magnética por 2 horas. Após esse tempo, a reação foi finalizada e o catalisador foi removido por filtração sob celite e o solvente foi removido em um evaporador rotatório sob pressão reduzida, resultando no composto **12b**, como óleo amarelo claro em 95% de rendimento (227 mg, 0,950 mmol). **CCD**: 0,31 (hexano:éter dietílico, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 2961, 2877, 1698, 1641, 1445, 1380, 1318, 1210, 1110, 972, 879, 770, 539. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 0,92 (t, $J_{12,11} = J_{14,13} = 7,3$ Hz, 6H, CH_3), 1,01-1,20 (m, 4H, CH_2), 1,45-1,58 (m, 2H, 6b e 7b), 1,76-1,91 (m, 2H, 6a e 7a), 2,30-2,54 (m, 2H, 2 e 4), 3,76 (s, 3H, OCH_3), 4,24-4,55 (m, 2H, 1 e 5). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 11,8 (12 e 14), 18,6 (11 e 13), 24,0 (6), 24,9 (7), 52,6 (4), 52,7 (2), 56,7 (5), 57,3 (10), 57,6 (1), 154,1 (9), 209,7 (3). **EM, m/z (%)**: 239 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_3$, 1,0), 240 ($[\text{M}+1]$, 0,2), 127 (9), 126 (100), 114 (26), 94 (6), 82 (5), 71 (7), 67 (7), 55 (7).

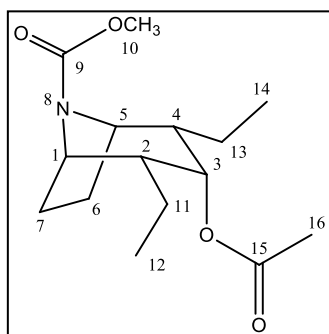
1.3.4.6. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-hidróxi-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**13b**)



Em um balão bitubulado de fundo redondo, sob agitação magnética, atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente, NaBH_4 (189 mg, 5,00 mmol) foi adicionado a uma solução de 2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**12b**) (239 mg, 1,00 mmol) em etanol (10 mL). A mistura resultante foi colocada sob refluxo durante 1 hora. Após arrefecimento, a reação foi interrompida pela adição de água gelada (20 mL). A mistura foi extraída com diclorometano (3 x 20 mL) e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (1 x 20 mL), secada com sulfato de magnésio e concentrada, resultando em um óleo amarelo. Esse óleo foi purificado por coluna cromatografia de sílica gel (hexano:éter dietílico,

1:2 v/v) para dar **13b** (149 mg, 0,620 mmol, 62%) como um sólido amarelo pálido. **T_f**: 80,6-81,4 °C. **CCD**: 0,41 (hexano:éter dietílico, 1:2 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3466, 2958, 2874, 1671, 1455, 1401, 1324, 1219, 1111, 1012, 956, 896, 766, 573, 540. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 0,96 (t, 6H, $J_{12,11} = J_{14,13} = 7,3$ Hz, CH₃), 1,24 (s, 1H, OH), 1,32-1,80 (m, 8H, CH₂, 2, 4, 6a e 7a), 1,95-2,10 (m, 2H, 6b e 7b), 3,67 (s, 3H, OCH₃), 3,82-4,15 (m, 3H, 1, 3 e 5). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 11,4 (12 e 14), 21,2 (11 e 13), 24,0 (6), 24,8 (7), 45,7 (2), 46,5 (4), 52,1 (1), 52,2 (5), 56,3 (10), 68,4 (3), 153,9 (9). **EM, m/z (%)**: 241 ([M⁺], C₁₃H₂₃NO₃, 2), 242 ([M+1], 1), 182 (13), 145 (7), 144 (100), 140 (8), 128 (24), 127 (15), 126 (47), 125 (21), 112 (45), 101 (13), 100 (9), 94 (9), 93 (5), 82 (9), 81 (6), 80 (5), 79 (7), 76 (13), 69 (9), 68 (14), 69 (10), 59 (10), 57 (6), 56 (5), 55 (12).

1.3.4.7. (\pm)-3-acetil-2 α ,4 α -dietil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**14b**)



Em um balão de fundo redondo bitubulado (25 mL), foi adicionado **13b** (241 mg, 1,00 mmol) em diclorometano (10 mL), anidrido acético (1,10 g, 10,6 mmol) e 0,4 mL de solução de BF₃.MeOH 14% m/v. A mistura permaneceu sob agitação e temperatura ambiente por 19 horas, sendo monitorada por CCD. Após a conclusão da reação, uma solução de bicarbonato de sódio a 10% (20 mL) foi adicionado. A mistura foi transferida para um funil de separação e extraída com diclorometano (2 x 20 mL), a fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotatório.

Após purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:éter etílico, 1:1 v/v), foi obtido o produto **14b** como um sólido branco em 88% de rendimento (249 mg, 0,880 mmol). **T_f**: 71,8-72,6 °C. **CCD**: 0,38 (hexano:éter dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 2960, 2878, 1736, 1697, 1338, 1395, 1312, 1232, 1174, 1106, 1017, 961, 869, 805, 766, 619, 538. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 0,90 (t, 6H, $J_{12,11} = J_{14,13} = 7,4$ Hz, CH₃), 1,12-1,31 (m, 4H, CH₂), 1,65-1,92 (m, 4H, 2, 4, 6a e 7a), 1,94-2,05 (m, 6b e 7b), 2,05 (s, 3H, C(O)CH₃), 3,68 (s, 3H, OCH₃), 3,98-4,19 (m, 2H, 1 e 5), 5,36-5,23 (m, 1H, 3). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 11,3 (12 e 14), 20,8 (16), 21,1 (11 e 13), 23,7 (6), 24,5 (7), 45,1 (2),

45,9 (4), 52,3 (1 e 5), 55,7 (10), 71,2 (3), 153,8 (9), 170,6 (15). **EM, m/z (%):** 283 ([M⁺], C₁₃H₂₃NO₃, 1,2), 284 ([M+1], 0,4), 225 (5), 224 (31), 223 (10), 196 (5), 194 (7), 168 (6), 166 (6), 149 (6), 128 (13), 127 (20), 126 (100), 125 (75), 107 (8), 95 (6), 94 (6), 93 (8), 88 (6), 82 (8), 81 (15), 79(7), 76 (5), 69 (6), 68 (7), 67 (10), 59 (7), 55 (12).

1.3.5. Bioensaios

Os alcaloides **5a**, **5b**, **7**, **10a**, **11**, **12a**, **13a**, **14a** e **15** sintetizados em Mairink (2013) e **6a**, **6b**, **8**, **9**, **10b**, **12b**, **13b** e **14b** sintetizados neste trabalho foram testados quanto às suas atividades inseticidas contra larvas de segundo ínstar de *Ascia monuste*. Esta população foi coletada em um campo comercial de repolho do município de Viçosa (20°44'52.5"S, 42°50'29.8"W, Minas Gerais, Brasil) e foi criada em laboratório por pelo menos cinco gerações antes do início do experimento. Além disso, a seletividade dos compostos foi avaliada por testes em adultos de *Solenopsis saevissima*, um inimigo natural de *A. monuste* e de *Tetragonisca angustula*, um polinizador importante em ecossistemas agrícolas. Adultos das espécies não-alvo foram coletados em torno do campus da Universidade Federal de Viçosa. Em todos os ensaios, malationa (Malathion 500 EC – Cheminova, São Paulo, Brasil) foi utilizada como controle positivo. A malationa é um inseticida de contato e de ingestão amplamente utilizado e está registrado para o controle de *A. monuste* em culturas de Brassicaceae.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições. Cada unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri de vidro (9,5 X 2,0 cm) contendo dez insetos. O peso médio de cada espécie de insetos foi obtido medindo-se, em uma balança analítica, a massa de dez grupos, contendo dez insetos cada. Em todos os casos, as placas de Petri foram colocadas numa sala climatizada à temperatura de 27 ± 2 °C, umidade relativa do ar 75 ± 5% e fotofase de 12 horas.

Os bioensaios foram realizados por aplicação tópica com auxílio de uma microseringa de 10 µL (Hamilton modelo 701N). Utilizou-se aplicação de 0,5 µL de uma solução do composto teste, em acetona, para cada inseto. Também, 0,5 µL de acetona foram aplicadas como controle negativo.

Após a aplicação, os insetos foram mantidos em placas de Petri individuais e *A. monuste orseis*, *S. saevissima* e *T. angustula* foram alimentados da seguinte forma: discos de couve para *A. monuste* e algodão umedecido e um recipiente plástico (1,5 cm de diâmetro x 1 cm de altura) com cãndi (85% de açúcar e 15% de mel) para *S. saevissima* e *T. angustula*.

1.3.5.1. Toxicidade dos alcaloides sobre *A. monuste*

Três bioensaios foram realizados: inicialmente foram selecionados os alcaloides tropânicos com atividade inseticida contra *A. monuste*. No segundo bioensaio foram determinadas as curvas de dose-mortalidade destes alcaloides selecionados e no terceiro bioensaio foram estimadas as curvas tempo-mortalidade dos alcaloides selecionados no primeiro bioensaio.

1.3.5.1.1. Seleção dos alcaloides com atividade inseticida sobre *A. monuste*

A dose utilizada foi de 10 µg de substância por miligrama de massa corporal do inseto. Neste bioensaio, três repetições foram feitas para cada tratamento. Os tratamentos foram feitos com os dezessete alcaloides (**5a**, **5b**, **6a**, **6b**, **7**, **8**, **9**, **10a**, **10b**, **11**, **12a**, **12b**, **13a**, **13b**, **14a**, **14b** e **15**), malationa (inseticida usado como padrão de eficiência, controle positivo) e o controle negativo (acetona).

A avaliação de mortalidade foi realizada 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Foram considerados mortos os insetos que se apresentaram imóveis ao estímulo de um pincel. Os dados de mortalidade foram analisados utilizando o teste de Scott-Knott, a um nível de 0,05 de probabilidade. Foram selecionadas para os próximos bioensaios os alcaloides que causaram mortalidades a *A. monuste* ≥ 80%.

1.3.5.1.2. Determinação da curva dose-mortalidade dos alcaloides com alta atividade inseticida sobre *A. monuste*

O delineamento experimental, unidade experimental, a conduta e as avaliações foram semelhantes aos do bioensaio anterior, porém utilizando-se seis repetições. Os tratamentos utilizados neste bioensaio foram: os três alcaloides (**6a**, **10a** e **14a**) selecionados com atividade inseticida sobre *A.*

monuste, malationa e o controle negativo (acetona). A mortalidade dos insetos foi determinada 48 horas após a aplicação dos tratamentos.

Os dados de mortalidade foram corrigidos em relação à mortalidade do controle usando-se a fórmula de Abbott (1925). As mortalidades corrigidas foram submetidas à análise de Probit (Finney, 1971) usando o procedimento PROC PROBIT do SAS (SAS, 2013). Foram aceitas curvas que apresentaram probabilidade maior que 0,05 pelo teste χ^2 (Young e Young, 1998). A partir destas curvas foi determinada, para cada composto, as doses letais para 50 e 90% (DL₅₀ e DL₉₀) da população de *A. monuste* e os intervalos de confiança para estas doses a 95% de probabilidade.

1.3.5.1.3. Determinação da curva de sobrevivência dos alcaloides mais tóxicos sobre *A. monuste*

Os tratamentos utilizados para a determinação da curva de sobrevivência foram concentrações correspondentes à dose letal para 90% da população de *A. monuste* (DL₉₀) dos alcaloides selecionados (**6a**, **10a** e **14a**) e o controle (acetona). Em cada tratamento foram usados 60 insetos e a mortalidade dos insetos foi monitorada durante o período de 0 a 48 horas.

Os dados de mortalidade de *A. monuste* em função do tempo após a aplicação dos tratamentos foram submetidos à análise de sobrevivência, pelo método do produto-limite de Kaplan–Meier (SAS, 2013). Por meio dessas curvas, foram estimados os tempos letais para 50% da população (TL₅₀). Os TL₅₀ das substâncias foram considerados diferentes quando suas médias não se inseriram no intervalo de confiança a 95% de probabilidade da outra substância.

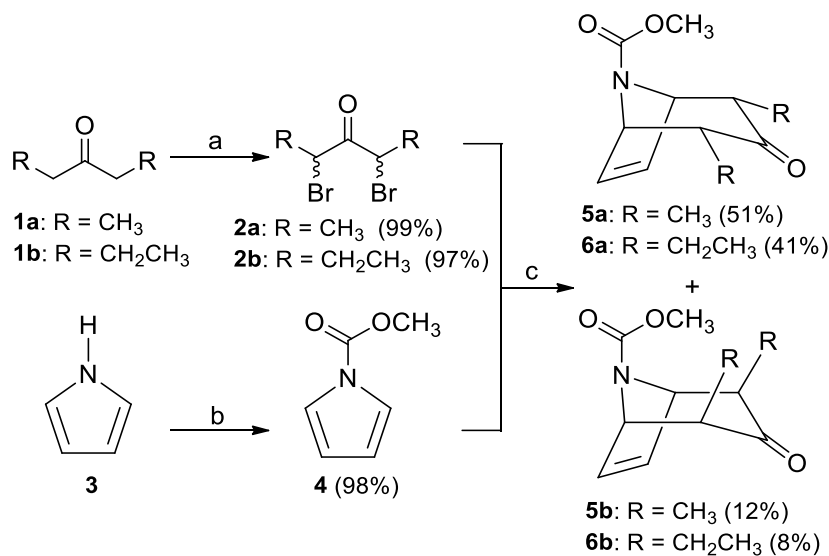
1.3.5.2. Seletividade dos alcaloides em favor da formiga predadora *S. saevissima* e da abelha polinizadora *T. angustula*

Os tratamentos foram a DL₉₀ dos alcaloides selecionados (**6a**, **10a** e **14a**) e o controle (acetona). Antes da aplicação dos tratamentos, os insetos adultos de *T. angustula* foram mantidos sob refrigeração (-4 °C) durante um minuto, para anestesiá-los e facilitar a aplicação tópica. A mortalidade dos insetos foi determinada 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Para cada tratamento foram utilizadas seis repetições e a mortalidade de *S. saevissima* e *T. angustula* foram comparados com a mortalidade de *A. monuste* pelo teste t em P < 0,05.

1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1. Síntese

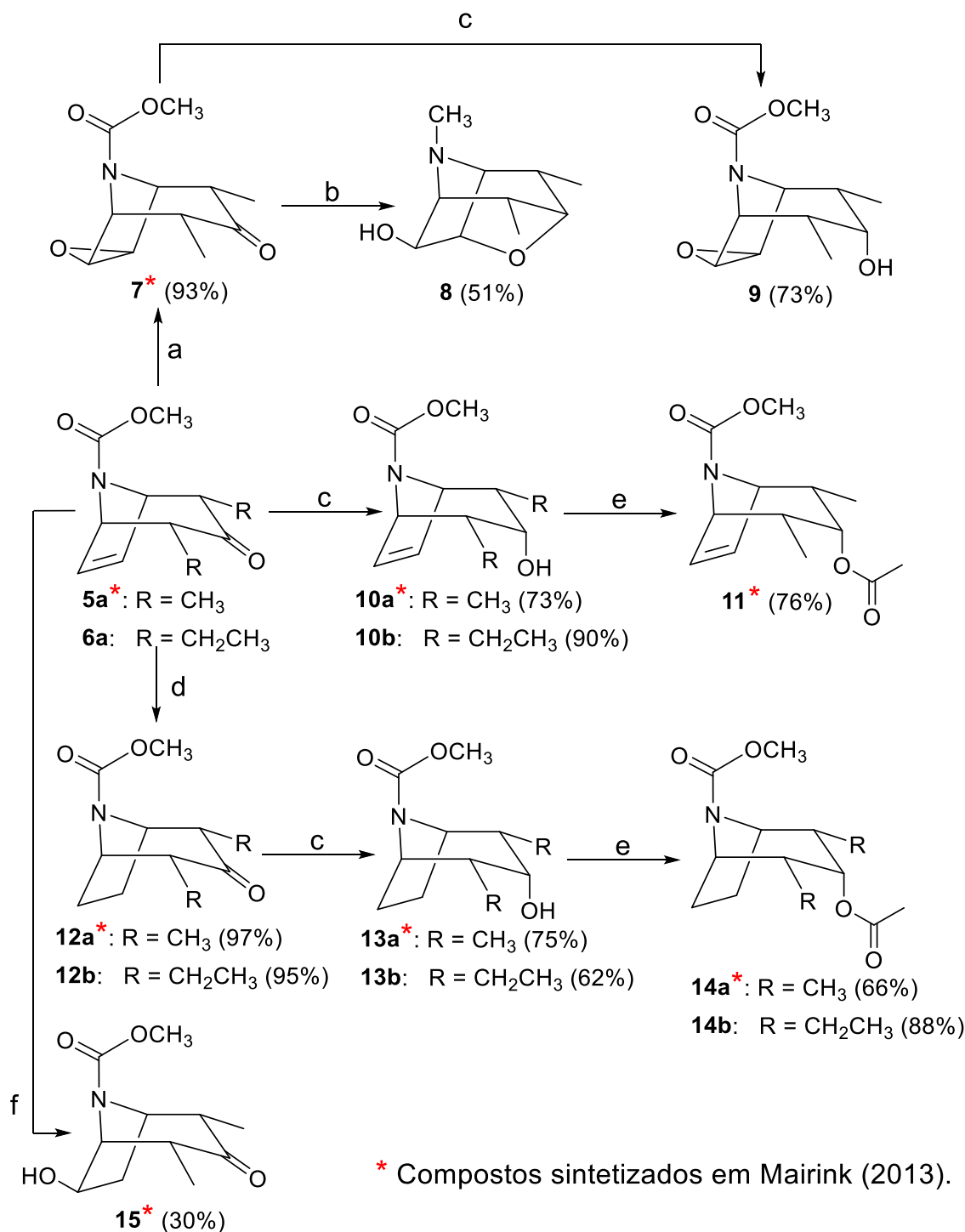
A estratégia utilizada para a preparação dos alcaloides tropânicos com o grupo carbamato em sua estrutura está representada no Esquema 3.



Esquema 3 - Rota sintética de obtenção dos alcaloides tropânicos. Reagentes e condições: (a) Br₂, HBr 48% v/v, 25 °C, 1,5 h; (b) NaH, clorofornato de metila, THF, 50 °C, 24 h; (c) Cu, NaI, CH₃CN, 50 °C, 24 h.

O primeiro passo consistiu na síntese da α,α -dibromocetona e do *N*-carboximetilpirrol. As dibromocetonas foram obtidas pela halogenação de compostos carbonílicos, utilizando bromo elementar em meio ácido, para dar **2a** e **2b** em 99% e 97% de rendimento, respectivamente. A síntese de *N*-carboximetilpirrol envolveu a reação entre o ânion pirrol e clorofornato de metila, obtendo **4** em 98% de rendimento. O segundo passo consistiu-se na reação de cicloadição (4+3) entre **2** e **4**, na presença de iodeto de sódio, cobre metálico e acetonitrila anidra para gerar os alcaloides tropânicos **5a**, **5b**, **6a** e **6b**, em rendimentos de 51%, 12%, 41% e 8%, respectivamente.

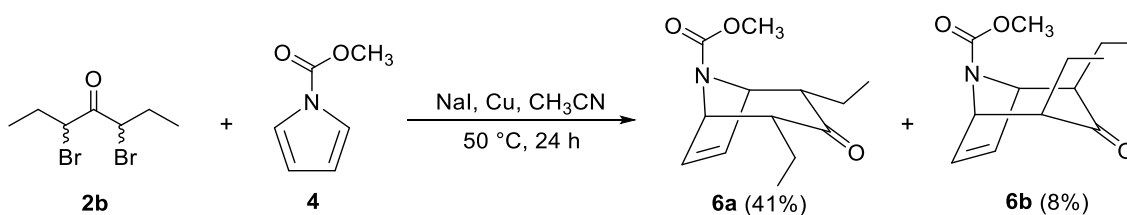
Os derivados de carbamatos bicíclicos foram sintetizados conforme descrito no Esquema 4, a partir de transformações químicas de **5a** e **6a**, que são os cicloadutos obtidos em maior rendimento.



Esquema 4 - Rota sintética dos derivados de carbamatos bicíclicos. Reagentes e condições: (a) *m*-CPBA, DCM, 25 °C, 14 h; refluxo, 7 h; (b) DIBAL-H (10 equiv.), tolueno, -78 °C, 2 h; 25 °C, 22 h; (c) NaBH₄, etanol, refluxo, 1 h; (d) H₂, cat. Pd/C, acetato de etila, 25 °C, 2h; (e) anidrido acético, BF₃.MeOH, DCM, 25 °C, 19 h; (f) i) BH₃, THF, 0 °C, 30 min; 25 °C, 3 h; ii) H₂O₂, NaOH, etanol, refluxo, 1 h.

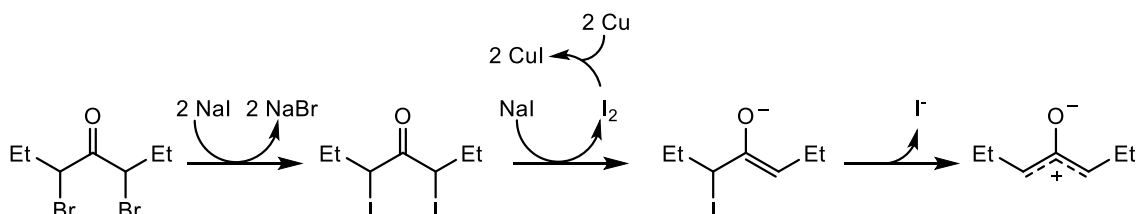
1.4.1.1. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (6a) e (\pm)-2 β ,4 β -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (6b)

Os cicloadutos **6a** e **6b** foram obtidos pela reação de cicloadição (4+3) entre 3,5-dibromoeptan-4-ona (**2b**) e *N*-carboximetilpirrol (**4**), na presença de iodeto de sódio, cobre metálico e acetonitrila anidra (Esquema 5). Após purificação por coluna cromatográfica, obteve-se como produto um óleo amarelo em 41% de rendimento identificado como **6a** e um óleo amarelo claro em 8% de rendimento identificado como **6b**.



Esquema 5 - Reação de cicloadição (4+3) entre 3,5-dibromoeptan-4-ona (**2b**) e o *N*-carboximetilpirrol (**4**), utilizando NaI e cobre, em acetonitrila

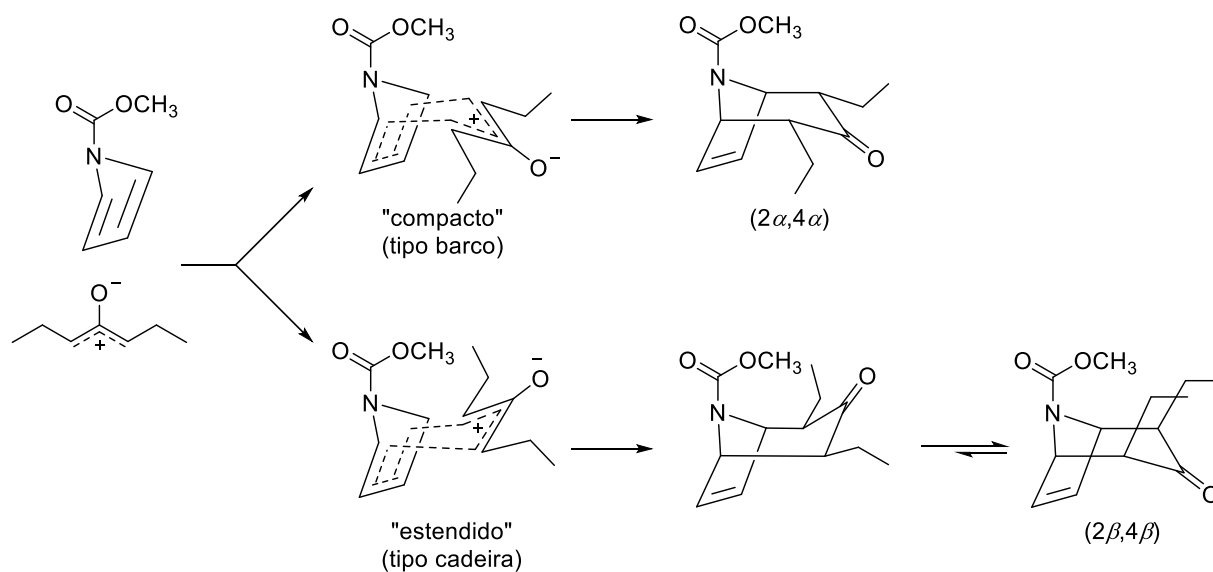
No Esquema 6 é mostrado a formação do cátion oxialílico. A reação se inicia pelo deslocamento do brometo pelo iodeto. A próxima etapa envolve a remoção redutiva de um átomo de iodo pelo iodeto, formando iodo molecular, o qual é capturado pelo cobre. Subsequentemente, ocorre a eliminação de um íon iodeto, resultando na formação do cátion oxialílico (Demuner *et al.*, 1997).



Esquema 6 – Mecanismo para formação do cátion oxialílico.

A cicloadição entre o cátion oxialílico na conformação em W e o furano resulta num cicloaduto que poderá ter estereoquímica $\alpha\alpha$ ou $\beta\beta$ (Esquema 7). A razão entre as quantidades formadas dos estereoisômeros $\alpha\alpha$ ou $\beta\beta$ é reflexo

da contribuição de cada estado de transição (compacto ou estendido) para o mecanismo da cicloadição (Demuner *et al.*, 1997).



Esquema 7 – Mecanismo para formação dos cicloadutos **6a** e **6b**.

No estado de transição estendido, a conformação inicial contendo um barco de seis membros é termodinamicamente desfavorável e ocorre uma inversão no anel para uma conformação mais estável (RAWSON *et al.*, 1979). O isolamento dos cicloadutos estereoisoméricos **6a** e **6b** em rendimentos de 41% e 8%, respectivamente, comprova a menor estabilização do estado de transição estendido, que leva o produto com as etilas em posição $\beta\beta$ (**6b**) apresentar um menor rendimento (MONTAÑA *et al.*, 1997).

A confirmação das estruturas de **6a** e **6b** foram feitas pela análise dos espectros no IV, RMN de ¹H e de ¹³C e EM. No espectro no IV de **6a** (Figura 7) é observado uma banda de absorção intensa em 1692 cm⁻¹, referente ao estiramento da carbonila da cetona e da carbonila do carbamato, e outras três bandas fortes em 1448, 1395, e 1297 cm⁻¹, referentes ao estiramento das ligações C=C e C-N (carbamato) (BARBOSA, 2007).

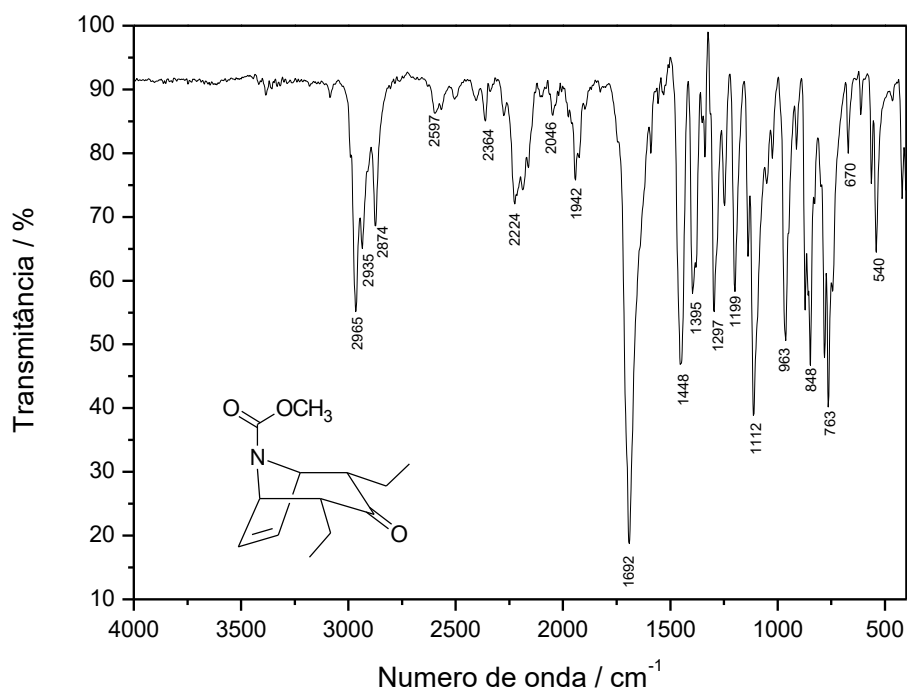


Figura 7 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **6a**.

A estereoquímica relativa dos isômeros **6a** e **6b** foram determinadas por analogia aos espectros de RMN de ¹H e ¹³C dos compostos **5a** e **5b** elucidados por Mairink (2013).

Devido a simetria apresentada pelos cicloadultos **6a** e **6b**, esperava-se equivalência para ambos os grupos ligados ao nitrogênio, em função da rotação livre ao redor da ligação C–N com o grupo carbonila do carbamato. Entretanto, a velocidade de rotação ao redor dessa ligação é diminuída pela interação de ressonância entre o par isolado de elétrons no nitrogênio e o grupo carbonila. A deslocalização da ressonância exige que a molécula adote uma geometria plana, conforme apresentado na Figura 8, o que interfere na rotação livre. Se a velocidade da rotação livre é diminuída a ponto de levar mais tempo do que a transição RMN, no espectrômetro RMN é observado dois grupos diferentes, um no mesmo lado do grupo carbonila, e o outro no lado oposto, do mesmo lado que o grupo metoxila do carbamato. Assim, os grupos estão em ambientes químicos magneticamente diferentes e têm deslocamentos químicos levemente diferentes, como apresentado pelos hidrogênios H1 e H5 e os hidrogênios H2 e H4 no espectro de RMN de ¹H de **6a** (Figura 8) (PAVIA, *et al.*, 2010).

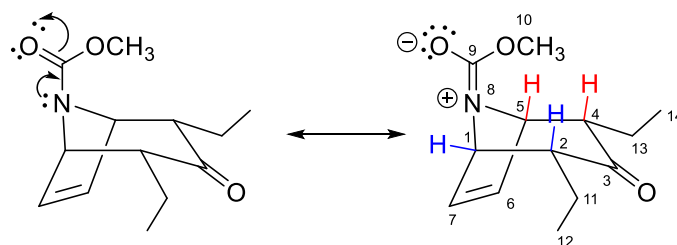


Figura 8 – Contribuintes de ressonância do composto **6a**.

No espectro de RMN de ^1H de **6a** (Figura 9), observa-se um multipletto em δ 0,85-1,15 integrado para 10 hidrogênios, referente às duas etilas na posição 2 e 4. Dois sinais alargados em δ 2,30-2,45 e δ 2,45-2,70, definidos como multipletos, referente aos hidrogênios H4 e H2, respectivamente. Um simpleto em δ 3,75 é referente ao sinal da metoxila do carbamato e, dois multipletos δ 4,68-4,76 e δ 4,76-4,84 são referentes aos hidrogênios H5 e H1. Os sinais dos hidrogênios H6 e H7 encontram-se numa região do espectro mais desblindado por serem hidrogênios ligados a carbono sp^2 , sendo representados como um multipletto em δ 6,14-6,24.

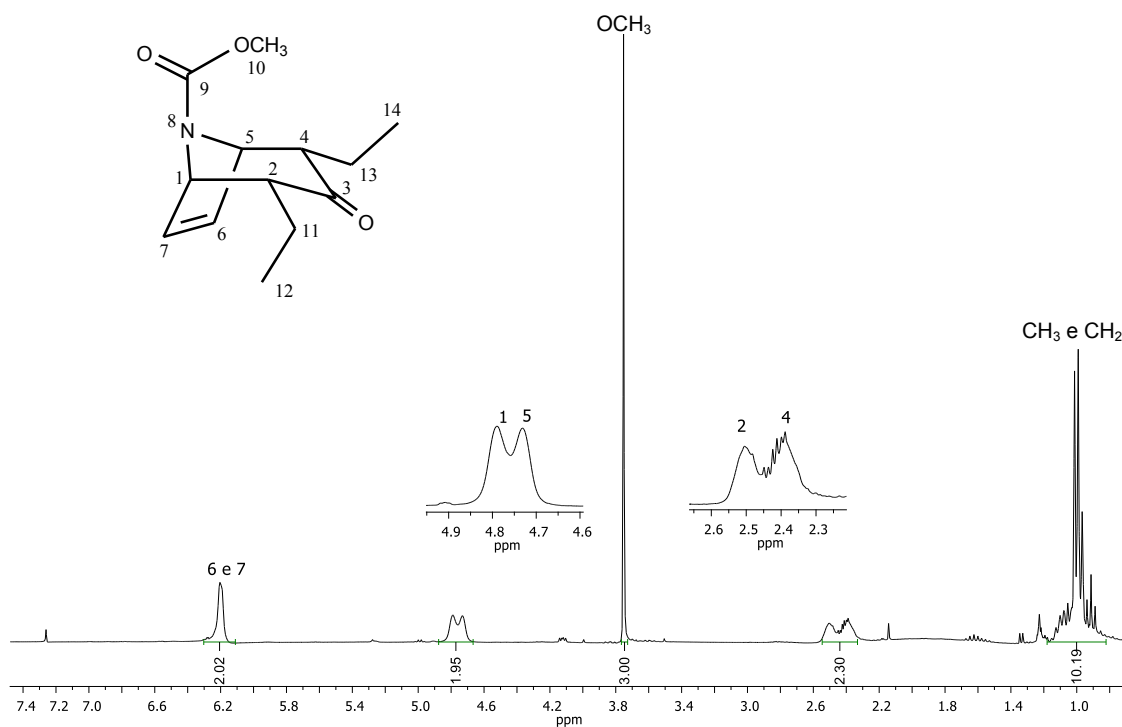


Figura 9 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **6a**.

No espectro de RMN de ^{13}C de **6a** (Figura 10), o sinal em δ 11,9 refere-se aos dois átomos de carbono C12 e C14 e o sinal em δ 19,5 refere-se aos dois átomos de carbono metilênicos (C11 e C13). O sinal do carbono do grupo metoxila do carbamato é observado em δ 52,6, o sinal em δ 56,1 é referente ao carbono C4 e o sinal em δ 56,7, refere-se ao carbono C2. Os sinais dos carbonos C1 e C5 são observados em δ 59,6, sendo mais desblindados por estarem ligados ao átomo de nitrogênio. Os sinais para os carbonos sp^2 , C6 e C7, apresentam-se em δ 133,2 e δ 133,5, e os sinais das carbonilas, do carbamato e da cetona, apresentam deslocamentos em δ 152,9 e δ 208,3, respectivamente.

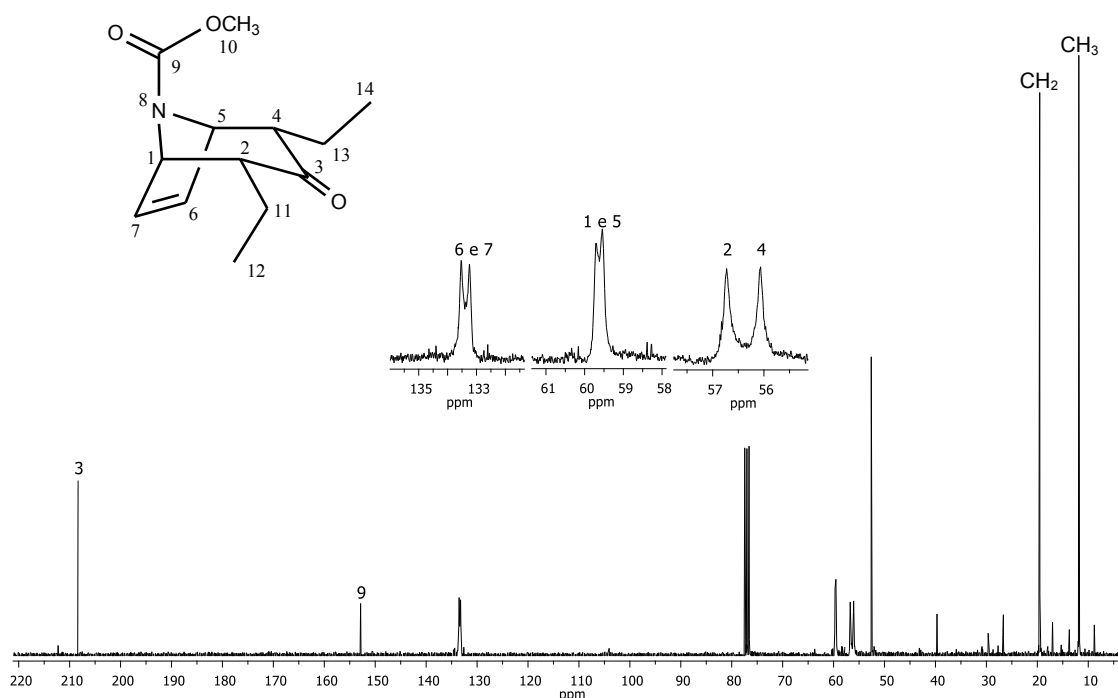


Figura 10 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6a**.

No espectro de RMN de ^1H de **6b** (Figura 11), observa-se um multipletto em δ 0,99-1,03 integrado para 6 hidrogênios e outro multipletto em δ 1,55-1,68 integrado para 4 hidrogênios. Esses sinais são referentes às duas etilas na posição 2 e 4. Dois sinais alargados em δ 2,13-2,20 refere-se aos hidrogênios H4 e H2. O simpleto em δ 3,75 refere-se ao sinal da metoxila do carbamato e o multipletto em δ 4,76-4,95 aos hidrogênios H5 e H1. Os sinais dos hidrogênios de carbono sp^2 , H6 e H7, são mostrados como um multipletto em δ 6,17-6,27.

No espectro de RMN de ^{13}C de **6b**, os sinais em δ 12,2 e δ 24,8, referem-se aos carbonos das metilas e dos metilenos, respectivamente, e o sinal da metoxila do carbamato é observado em δ 52,7. O sinal em δ 57,7 é referente ao carbono C4 e o sinal em δ 57,8, refere-se ao carbono C2. Já os sinais para os carbonos C1 e C5, por estarem ligados ao átomo de nitrogênio apresentam-se numa região mais desblindada, δ 58,7 (C5) e δ 58,8 (C1). Os sinais para os carbonos sp^2 , C6 e C7, apresentam-se em δ 134,9 e δ 134,1, respectivamente, e os sinais para as carbonilas apresentam deslocamentos em δ 155,2 (C9) e δ 212,1 (C3).

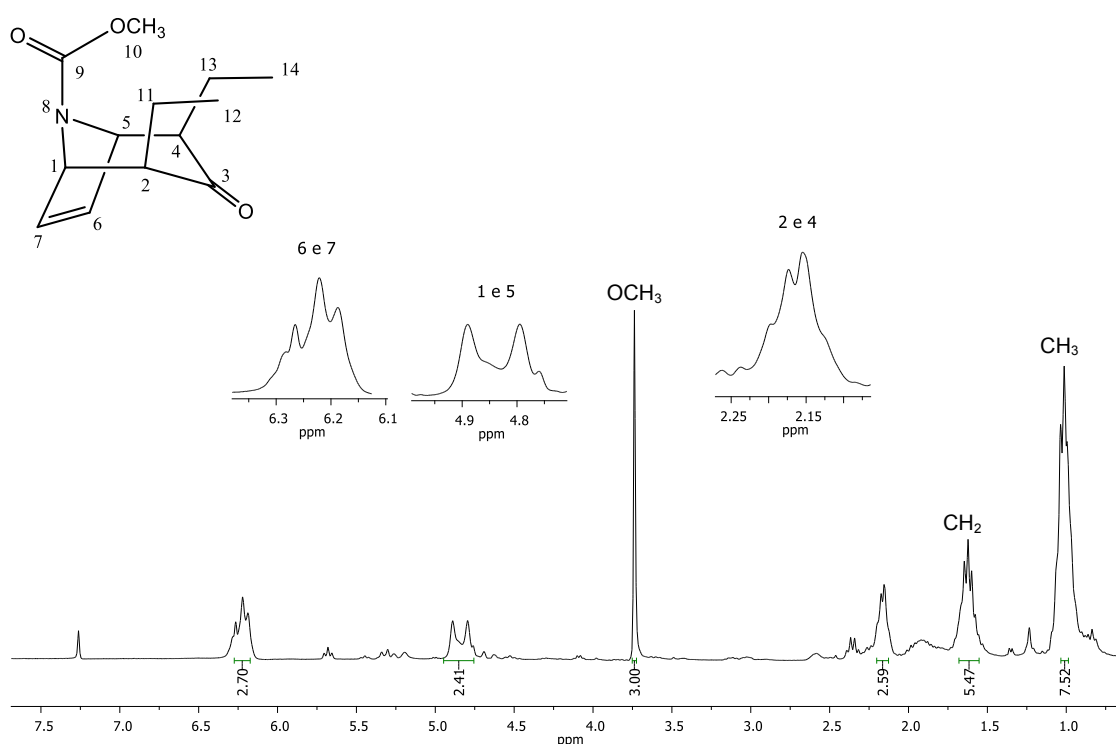


Figura 11 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **6b**.

No espectro de massas de **6a** (Figura 12), foram observados os picos referentes ao íon molecular em $m/z = 237$, o pico base em $m/z = 166$, atribuído a um cátion alílico e, portanto, altamente estável e o pico $m/z = 138$ intenso (48%), também atribuído a um cátion alílico. Fragmentações similares são apresentadas para o cicloaduto **6b**. As propostas mecanística para as fragmentações dos íons anteriormente citados, assim como a proposta para a formação de outros fragmentos razoavelmente estáveis em $m/z = 208$ e 178, são apresentados no Esquema 8.

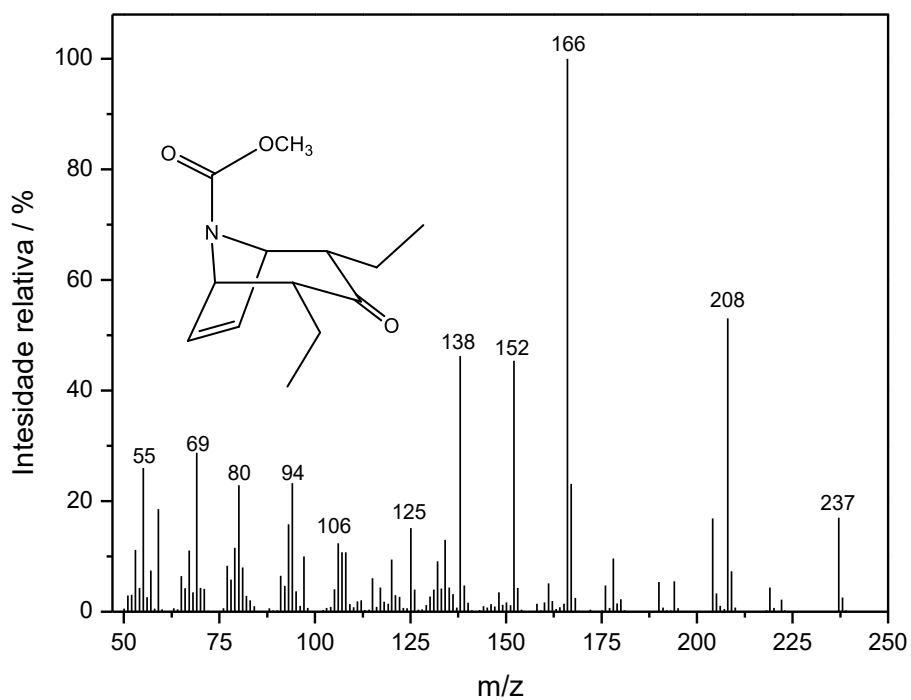
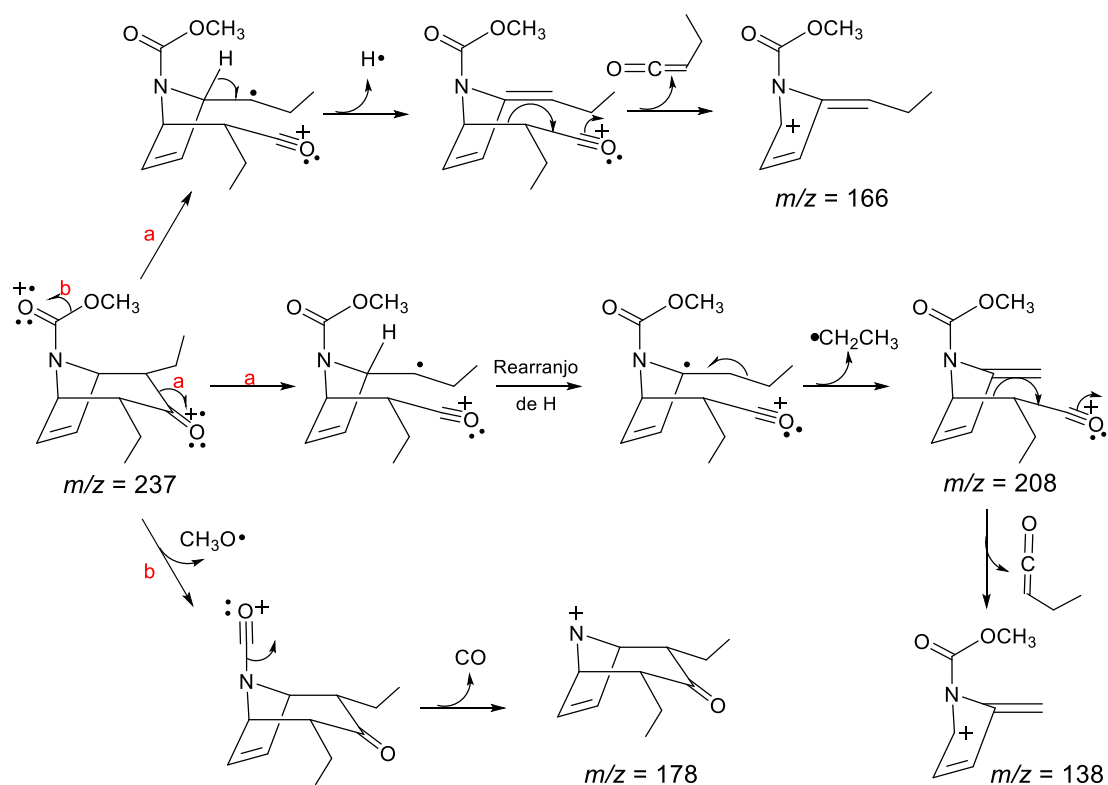


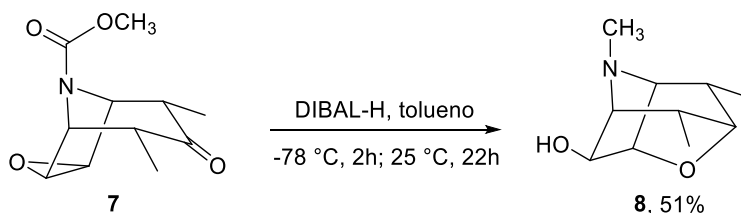
Figura 12 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 6a.



Esquema 8 – Proposta mecânica de fragmentação para 6a.

1.4.1.2. (\pm)-3,4,7-trimetilhexaidro-2H-2,5-metanofuro[3,2-b]pirrol-6-ol (**8**)

No Esquema 9 é apresentado a redução de **7**. O interesse em realizar a redução de **7** utilizando hidreto de diisobutilalumínio (DIBAL-H) é a obtenção de um composto análogo à escopolina (Figura 13), conforme metodologia descrita por Mann e Barbosa (1992).



Esquema 9 – Redução de **7** com DIBAL-H.

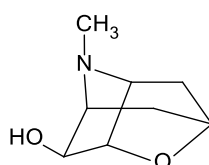
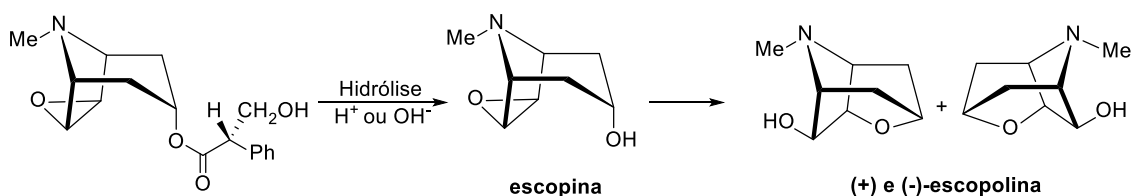


Figura 13 – Estrutura da Escopolina.

A escopolina, isolada a partir de *Datura spp.*, é um alcaloide tropânico tricíclico que ocorre em pequenas quantidades na natureza, formado a partir da escopolamina (hioscina), um forte sedativo (Esquema 10). Estudos farmacológicos de derivados de escopolina indicaram atividade analgésica, atividade anestésica superficial e antiespasmódico, antissecretória, anti-Parkinson e efeitos tranquilizante (enjoo em viagem) (PASCUAL *et al.*, 2004).



Esquema 10 – Rota biossintética para escopolina.

Na Figura 14 é apresentado o espectro no infravermelho de **8**, onde pode-se observar uma banda larga, característica de estiramento de OH de álcoois, em 3454 cm^{-1} . Quatro bandas fortes são observadas em 2955, 2927, 2873 e

2850 cm^{-1} , referentes aos estiramentos simétricos e assimétricos de $\text{Csp}^3\text{-H}$ e duas bandas fortes em 1453 e 1401 cm^{-1} , referentes as deformações angulares da ligação de $\text{Csp}^3\text{-H}$. As bandas referentes ao estiramento simétricos e assimétricos de C-O-C encontram-se em 1067 e 997 cm^{-1} (BARBOSA, 2007).

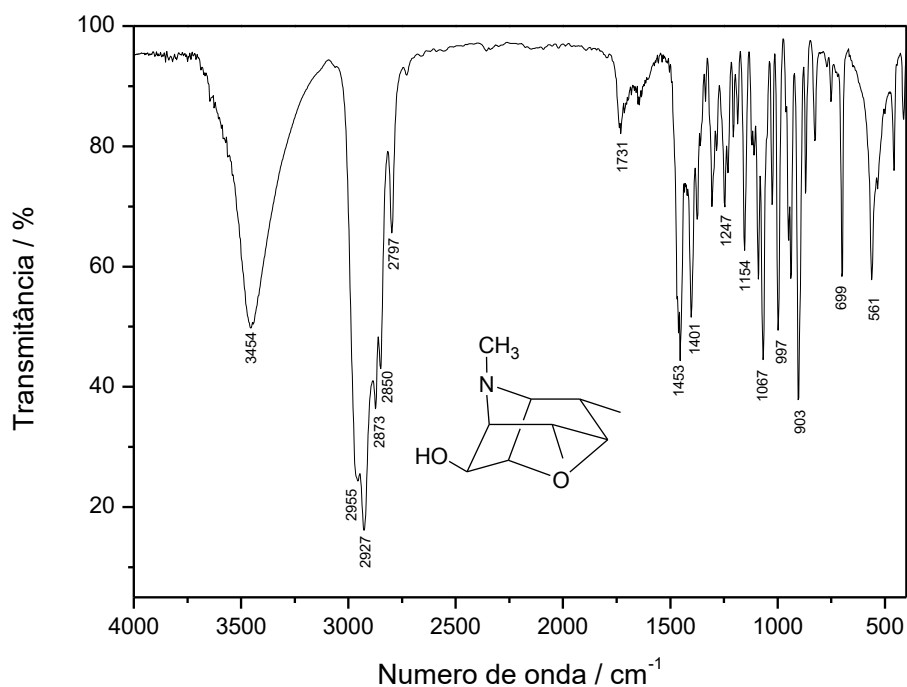


Figura 14 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **8**.

A massa molecular de **8** foi confirmada no espectro de massas (Figura 15), que apresenta o pico do íon molecular $[\text{M}^+]$ em $m/z = 183$. O pico em $m/z = 154$ foi atribuído ao fragmento oriundo da perda do grupo $-\text{NCH}_3$ $[\text{M} - \text{NCH}_3]$.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 16), é possível observar dois dupletos em $\delta 0,80$ ($J_{11,4} = 6,9$ Hz) e $\delta 0,95$ ($J_{10,2} = 7,4$ Hz), referente às duas metilas nas posições 8 e 9, respectivamente. Um duplo quarteto em $\delta 2,00$ ($J_{7,8} = 6,9$ e $J_{7,5} = 3,0$ Hz) integrado para um hidrogênio, referente ao hidrogênio H7 e um quarteto em $\delta 2,39$ ($J_{3,9} = 7,4$ Hz), também integrado para um hidrogênio, referente ao hidrogênio H3. O sinal referente a metila, NCH_3 , encontrar-se em $\delta 2,55$ como um simpleto. Um multipletto em $\delta 2,73\text{-}2,79$, integrado para um hidrogênio, refere-se ao hidrogênio H5 e um dupletto em $\delta 3,25$ ($J_{3a,6a} = 3,6$ Hz) é referente ao H3a. Os simpletos em $\delta 3,56$ e $3,99$ correspondem aos hidrogênios H2 e H6, respectivamente e o multipletto $\delta 4,32\text{-}4,37$, integrado para um hidrogênio, refere-

se ao hidrogênio H6a. Através da interpretação do mapa de contornos COSY (Figura 17) e NOESY (Figura 18) as atribuições foram realizadas com segurança.

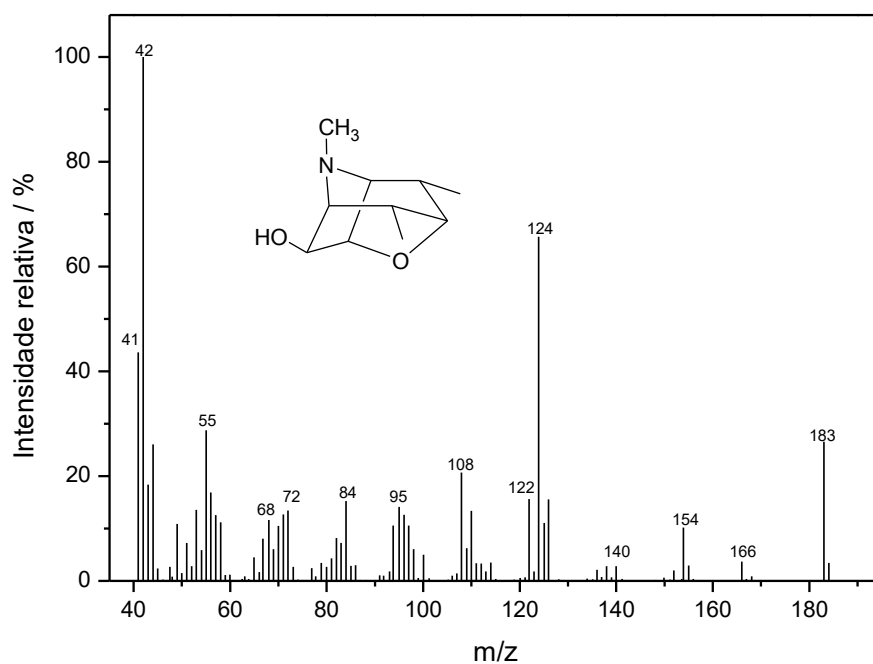


Figura 15 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 8.

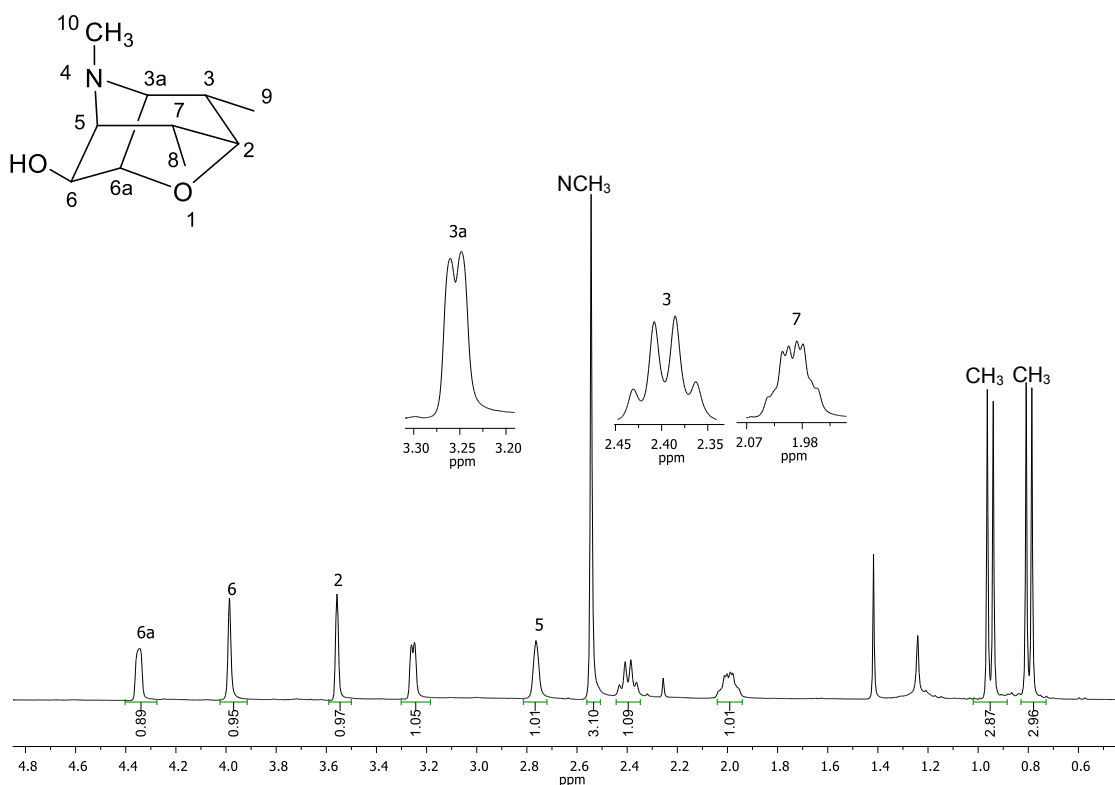


Figura 16 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto 8.

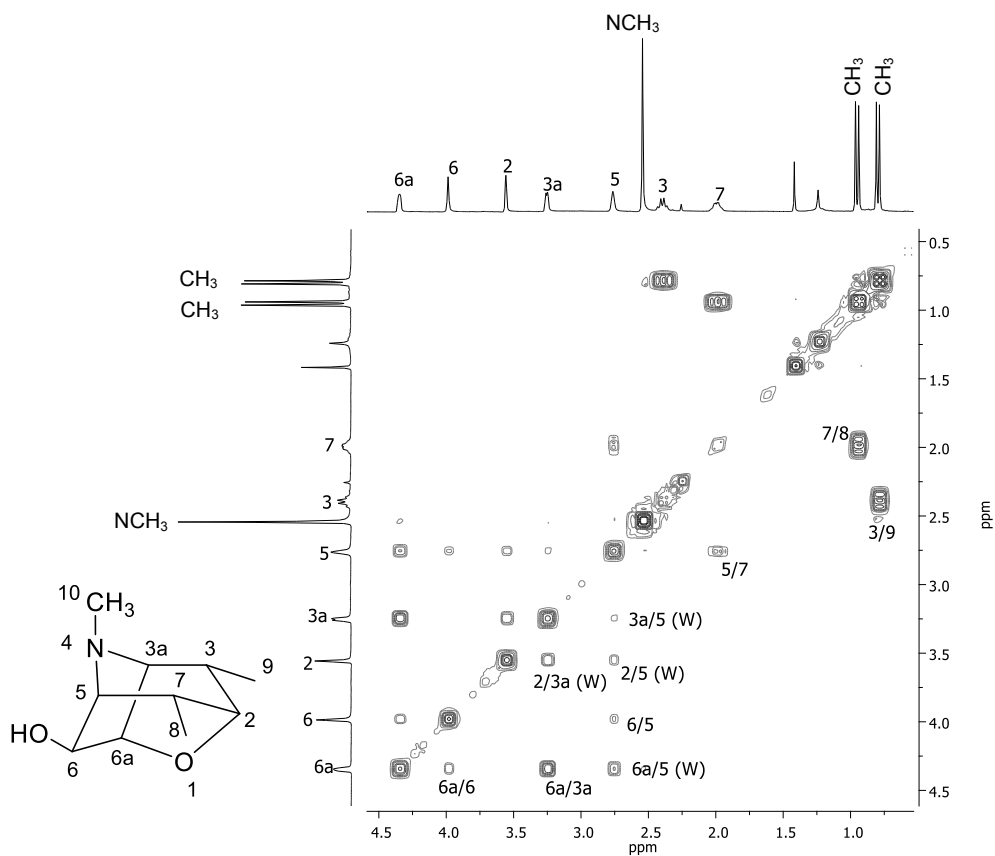


Figura 17 – Mapa de contornos COSY do composto 8.

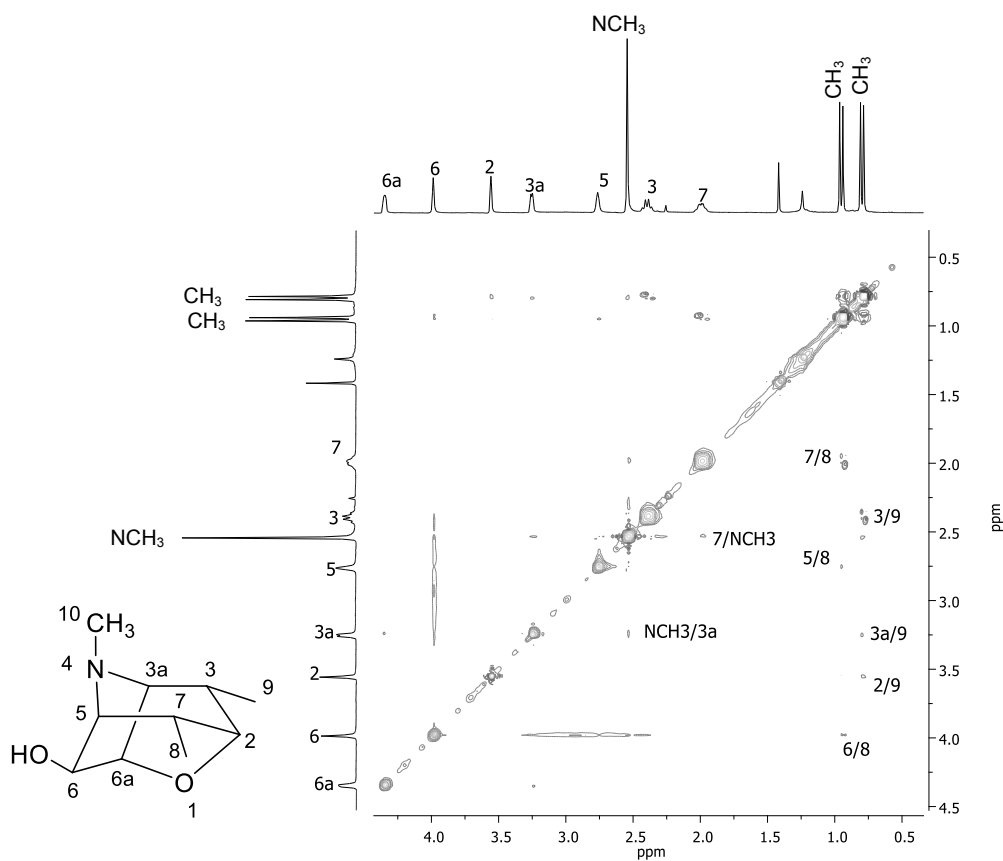


Figura 18 – Mapa de contornos NOESY do composto 8.

No mapa de contornos COSY é possível observar que não existe acoplamento entre H7 e H2, H2 e H3 e entre H3 e H3a, apesar da proximidade desses hidrogênios. Isso pode ser explicado pelos ângulos diedros entre H-7, C-7, C-2, H-2 ($\alpha = 64,14^\circ$), H-2, C-2, C-3, H-3 ($\alpha = 68,12^\circ$) e H-3, C-3, C-3a, H-3a ($\alpha = 85,50^\circ$), na qual possuem um acoplamento (3J) pequeno ou próximo de zero, como pode ser observado pela curva de Karplus (Figura 19), justificando o não aparecimento de tais acoplamentos vicinais. Pode-se também observar o acoplamento a longa distância para sistema saturado (geometria em W), onde observa-se pelo mapa de contornos COSY o acoplamento entre H2 e H3a, H2 e H5 e entre H6a e H5.

No espectro de RMN de ^{13}C de **8** (Figura 20), os sinais em $\delta 14,6$ e $\delta 15,5$, referem-se aos dois átomos de carbono da metila C8 e C9, respectivamente. O sinal em $\delta 31,6$ é referente ao carbono C7 e em $\delta 34,2$, refere-se ao carbono C3. O sinal da metila NCH_3 é observado em $\delta 34,3$ e os sinais para os carbonos C3a e C5 são observados em $\delta 66,3$ e $\delta 68,5$, respectivamente. O sinal do carbono hidroxilado é observado em $\delta 71,6$ e os sinais para os carbonos C6a e C2 são observados em 82,8 e 83,5, sendo mais desblindados por estarem próximos ao átomo eletronegativo, o oxigênio. Foram observados sinais muito próximos, o que podia tornar a atribuição um pouco imprecisa. Dessa forma, os sinais a esses pares foram atribuídos de forma segura com a interpretação do mapa de contornos HSQC dessa molécula, como é mostrado na Figura 21.

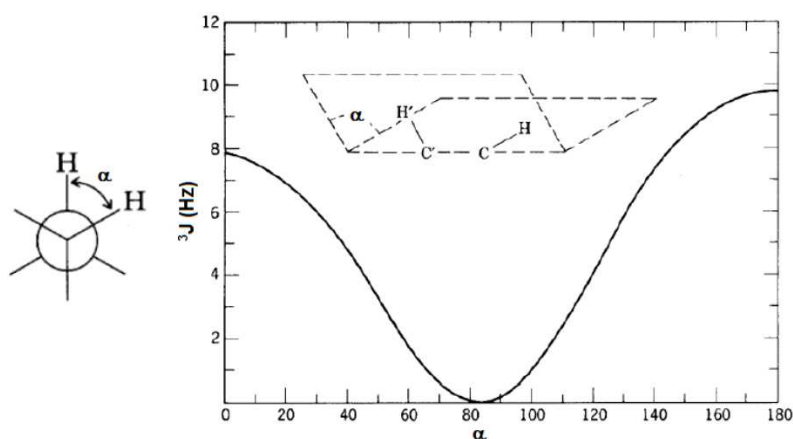


Figura 19 – Curva de Karplus. Relação entre ângulo diedro e constante de acoplamento para prótons vicinais.

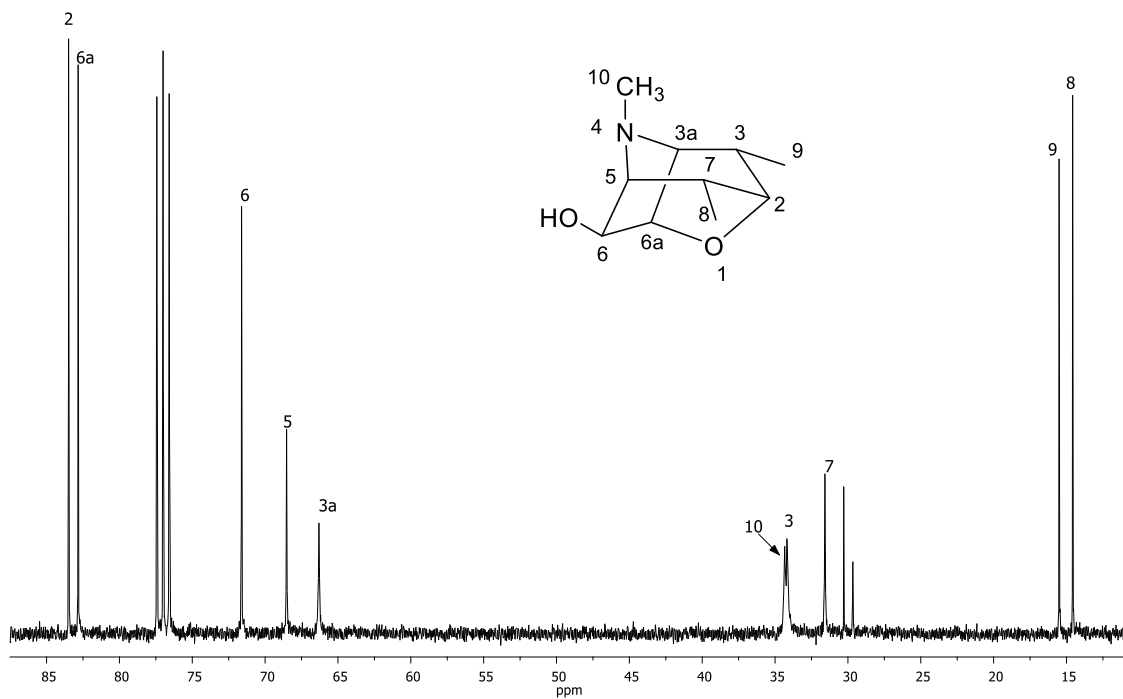


Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **8**.

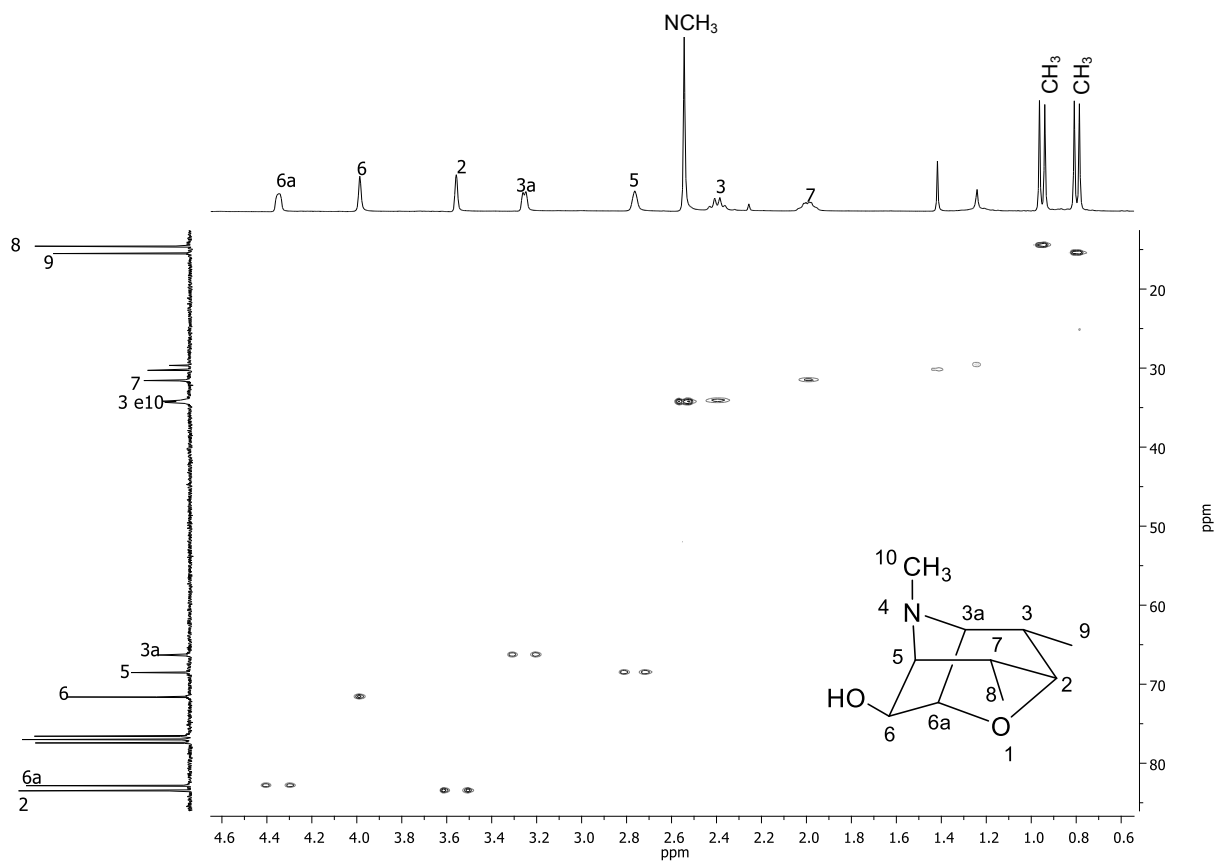
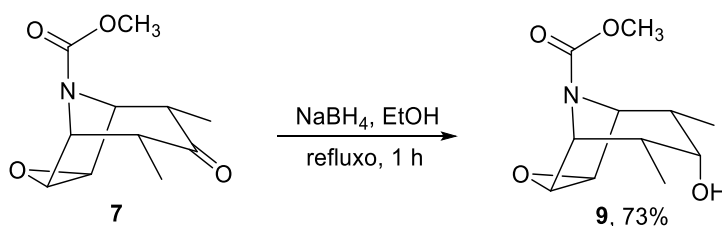


Figura 21 – Mapa de contornos *HSQC* do composto **8**.

1.4.1.3. (\pm)-2 α ,4 α -dimetil-6,7-epoxi-3-hidroxi-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**9**)

Outro derivado do alcaloide tropânico é formado a partir da redução de **7** com NaBH₄, formando um álcool pela redução da carbonila da cetona na posição 3, conforme apresentado no Esquema 11. Esperava-se que ao reduzir a carbonila utilizando um redutor mais brando que DIBAL-H, houvesse o fechamento do anel e o produto da reação tivesse um grupo carbamato e uma estrutura carbônica similar a escopolina (Figura 13), porém o que foi observado foi a formação de um produto com estrutura carbônica similar a escopina (Esquema 10).



Esquema 11 – Redução de **7** com NaBH₄.

No espectro no IV de **9** (Figura 22) foi observado uma banda de absorção intensa e larga em 3467 cm⁻¹, referente ao estiramento de OH do álcool. A banda referente ao estiramento carbonila do carbamato é observada em 1677 cm⁻¹, e outras duas bandas fortes em 1450 e 1395 cm⁻¹, referem-se ao estiramento das ligação C-N (carbamato). As bandas referentes ao estiramento do anel do epóxido (C-O-C) encontram-se em 1277 e 849 cm⁻¹ (BARBOSA, 2007).

A massa molecular de **9** foi confirmada no espectro de massas (Figura 23), que apresenta o pico do íon molecular [M⁺] em $m/z = 227$. O pico em $m/z = 168$ foi atribuído ao fragmento oriundo da perda do grupo ligado ao nitrogênio [M – C(O)OCH₃].

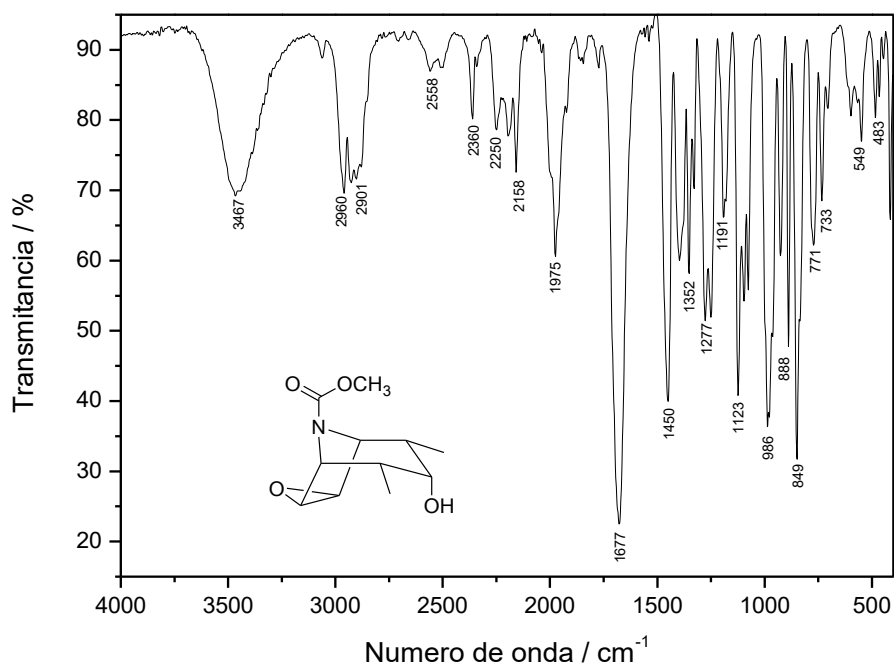


Figura 22 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **9**.

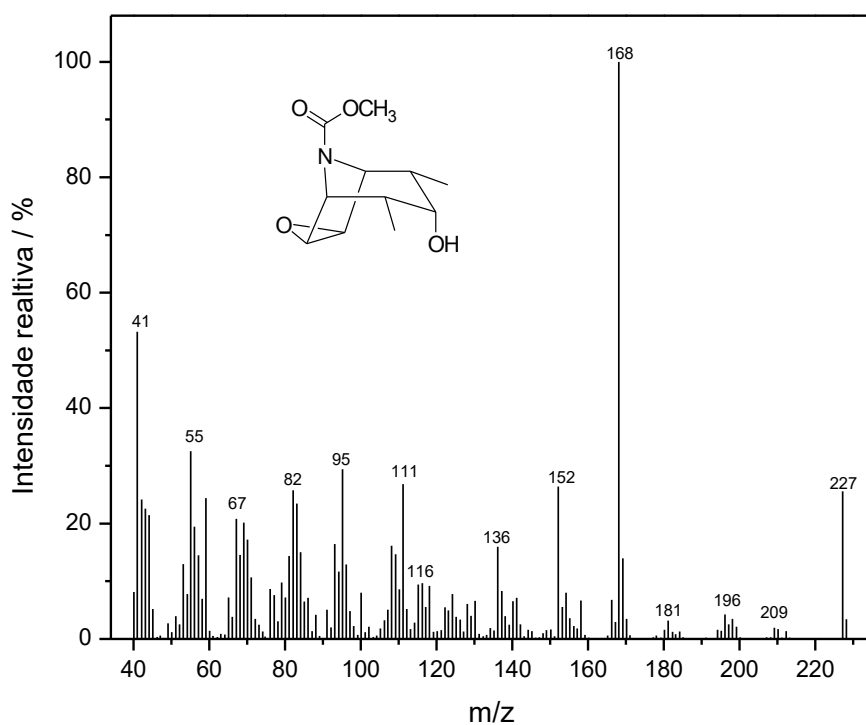


Figura 23 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **9**

É observado no espectro RMN de ^1H dois dupletos em δ 1,07 ($J_{12,4} = 2,3$ Hz) e δ 1,09 ($J_{11,2} = 2,3$ Hz) referente aos hidrogênios metílicos H13 e H11, respectivamente. Um multipletto em δ 1,94-2,08, integrado para dois hidrogênios, é referente aos hidrogênios H2 e H4 e o multipletto em δ 3,41-3,46, integrado

também para dois hidrogênios, refere-se aos hidrogênios H6 e H7. Um simpleto em δ 3,57, refere-se à metoxila do carbamato e em δ 3,66-3,73, multipletto integrado para um hidrogênio, refere-se ao hidrogênio H3. Um dupletto alargado em δ 3,95 ($J_{OH,3} = 5,5$ Hz), refere-se ao OH e dois dupletos em δ 4,01 ($J_{5,4} = 2,9$ Hz) e δ 4,07 ($J_{1,2} = 2,9$ Hz) referente aos hidrogênios H5 e H1, respectivamente. Através da interpretação do mapa de contornos COSY (Figura 25) as atribuições foram realizadas com segurança.

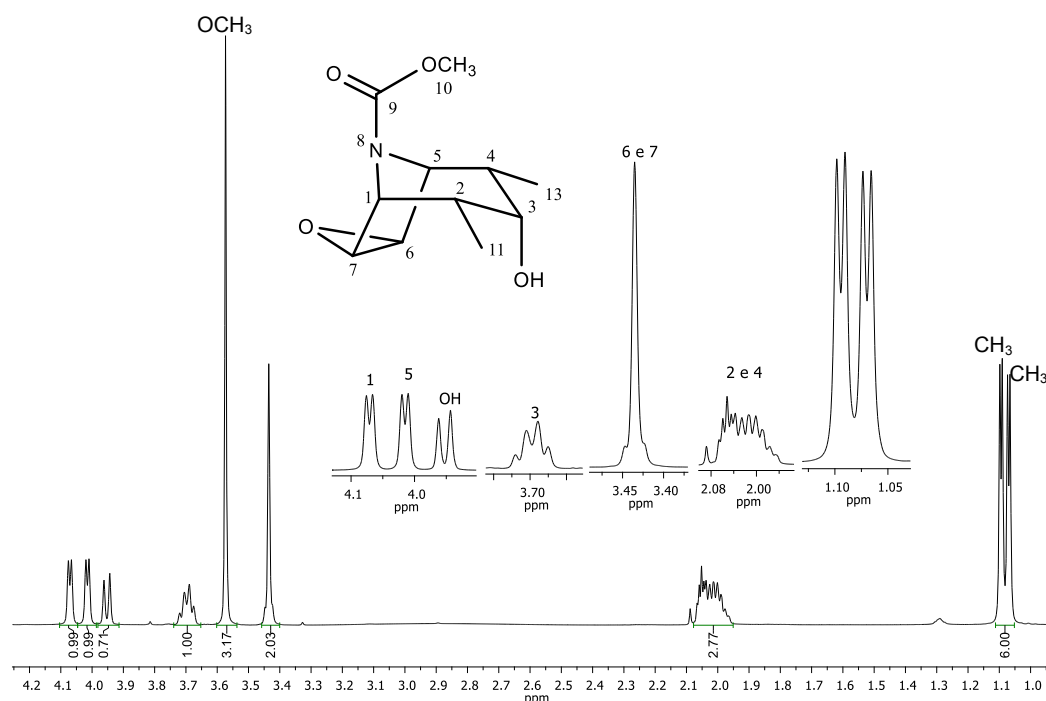


Figura 24 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

A orientação da hidroxila do carbono C3 é *endo* em relação ao esqueleto tropânico, sendo identificada pela interação no espaço entre os hidrogênios H2, H3 e H4 observado no mapa de contornos NOESY (Figura 26). Tal interação espacial somente é possível quando os respectivos hidrogênios encontram-se do mesmo lado, confirmando assim a configuração *endo* da hidroxila.

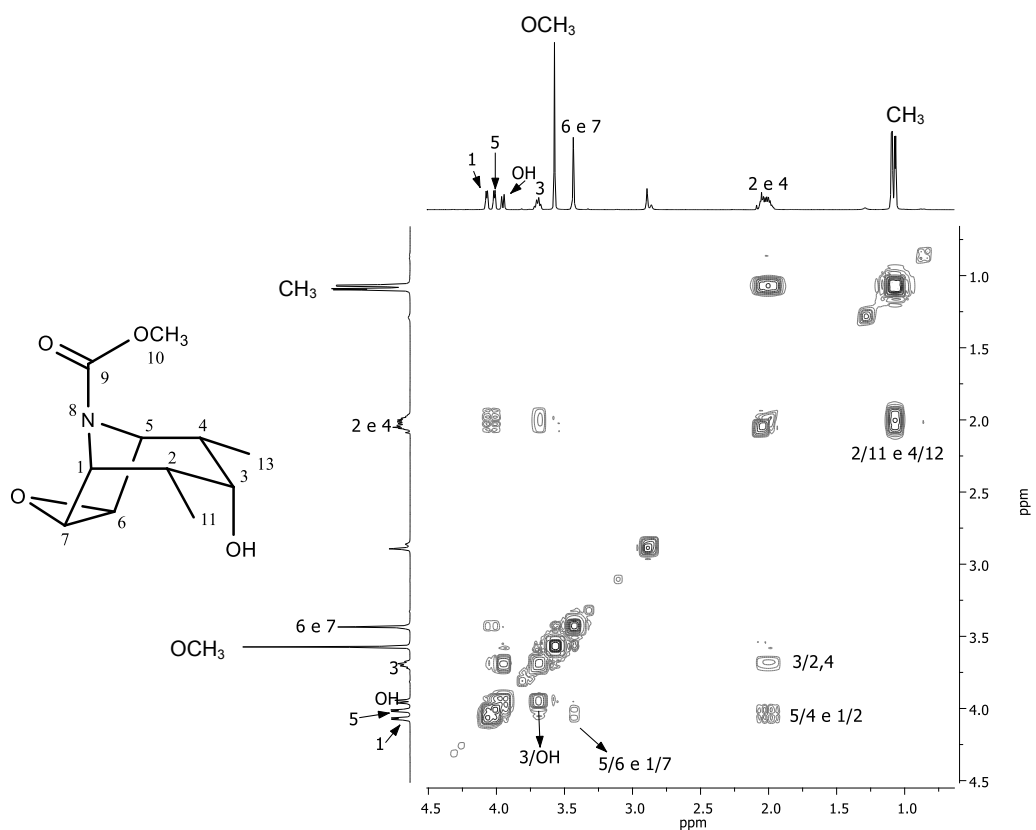


Figura 25 – Mapa de contornos COSY do composto 9.

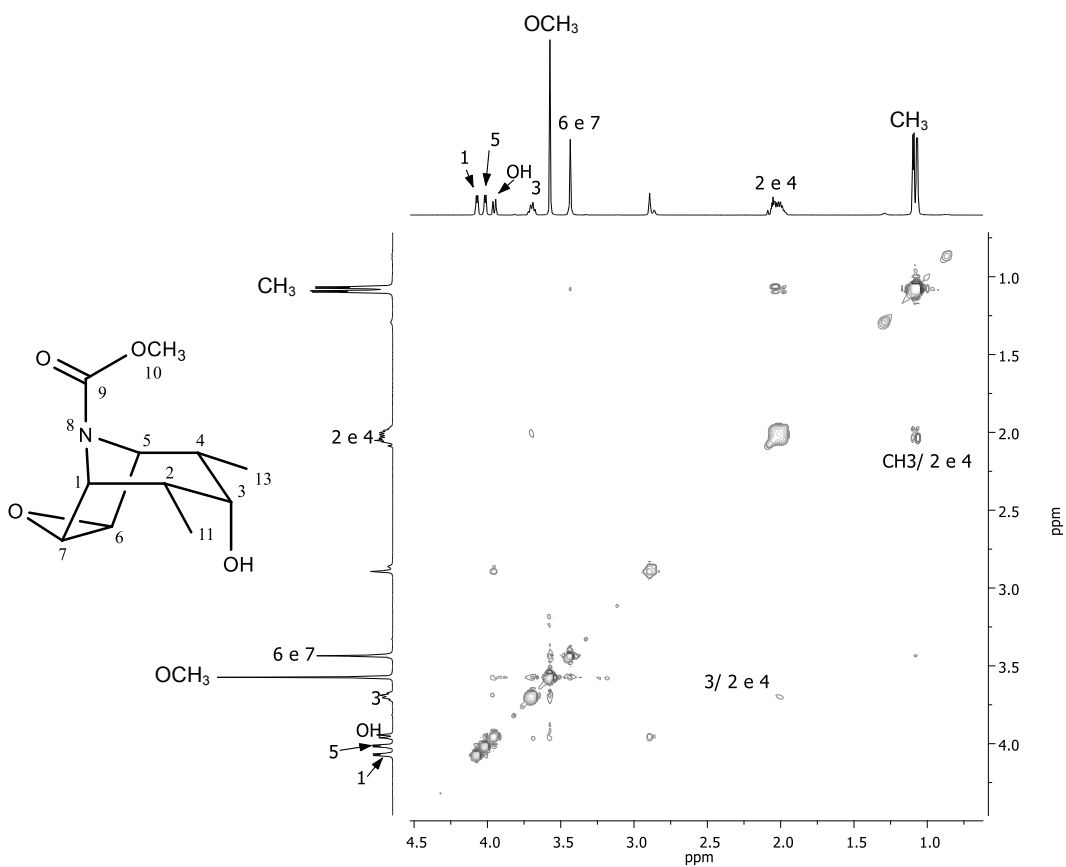


Figura 26 – Mapa de contornos NOESY do composto 9.

No espectro de RMN de ^{13}C de **9** (Figura 27), os sinais em δ 12,82 e δ 12,84, refere-se dois átomos de carbono metílicos C11 e C13. Os sinais em δ 38,32 e δ 38,65, são referentes aos carbonos C2 e C4, respectivamente. O sinal do carbono C7 é observado em δ 51,39, o sinal referente a metoxila do carbamato é observado em δ 51,47 e sinal para o carbono C6 em δ 51,83. Os sinais para os carbonos observados em δ 57,73 (C1) e δ 58,28 (C5) referem-se aos carbonos do esqueleto tropânico mais próximos do átomo de nitrogênio. O sinal do carbono C3 é observado com δ 69,90, sendo mais desblindados por estar ligado à hidroxila do álcool. O sinal para a carbonila do carbamato é observado em δ 156,54 (C9). Ainda assim, foram observados sinais muito próximos, o que poderia tornar a atribuição um pouco imprecisa. Dessa forma, os sinais a esses pares foram atribuídos de forma segura com a interpretação do mapa de contornos *HSQC* para essa molécula, como é mostrado na Figura 28.

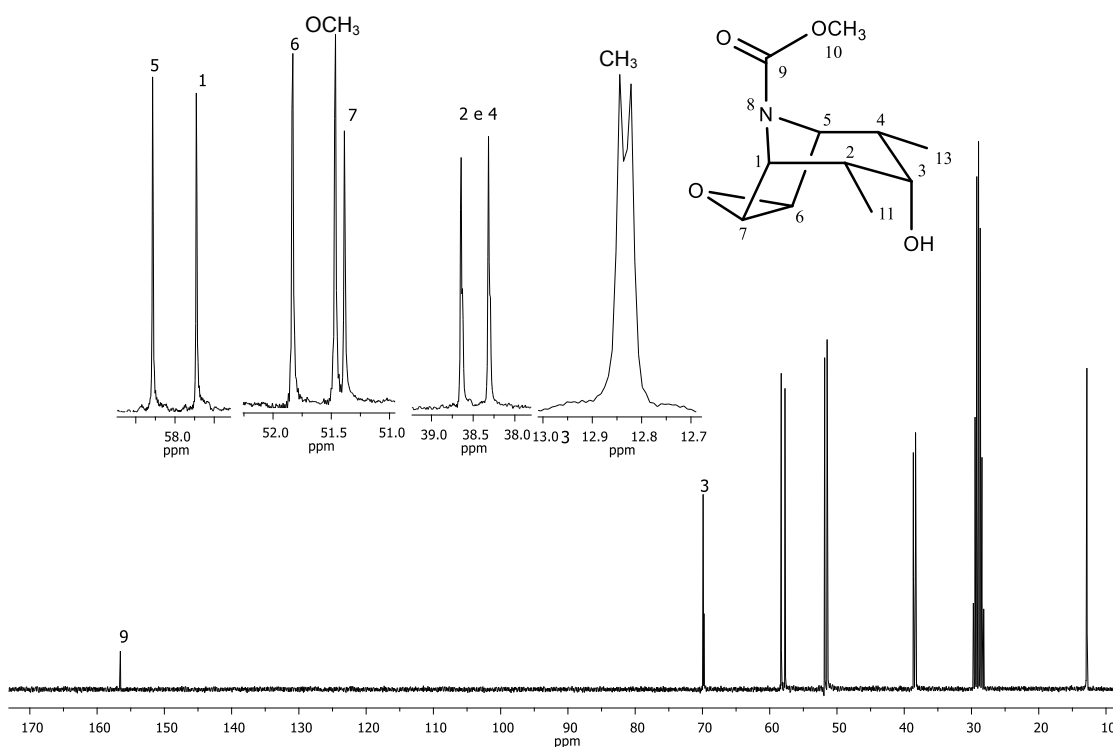


Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

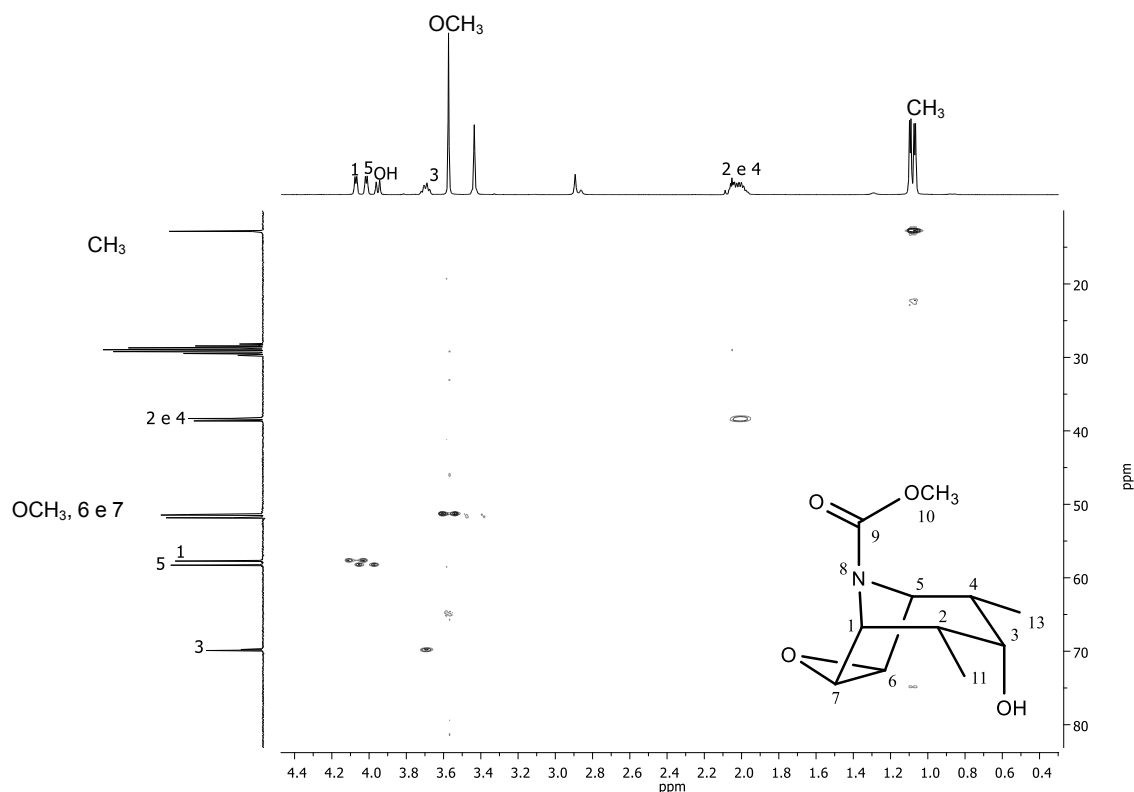
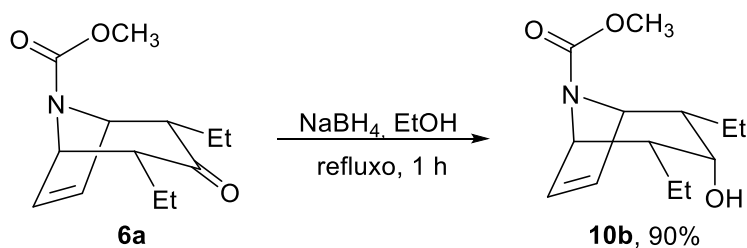


Figura 28 – Mapa de contornos *HSQC* do composto **9**.

1.4.1.4. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-hidr3xi-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-en-8-carboxilato de metila (**10b**)

A reduç3o da carbonila da cetona de **6a** com NaBH_4 , formando um 3lcool, 3 apresentado no Esquema 12.



Esquema 12 – Reduç3o de **6a** com NaBH_4 .

Ap3s purificaç3o por coluna cromatogr3fica de s3lica gel (hexano:3ter diet3lico, 1:2 v/v), o 3lcool resultante da reduç3o de **6a** foi obtido na forma de 3leo amarelo em 90% de rendimento.

No espectro no IV de **10b** (Figura 29) 3 observado uma banda de absorç3o intensa e larga em 3445 cm^{-1} , referente ao estiramento de OH do

álcool. A banda referente ao estiramento da carbonila do carbamato é apresentada em 1678 cm^{-1} , e outras duas bandas fortes em 1455 e 1395 cm^{-1} , referem-se ao estiramento das ligações C=C e C-N (carbamato).

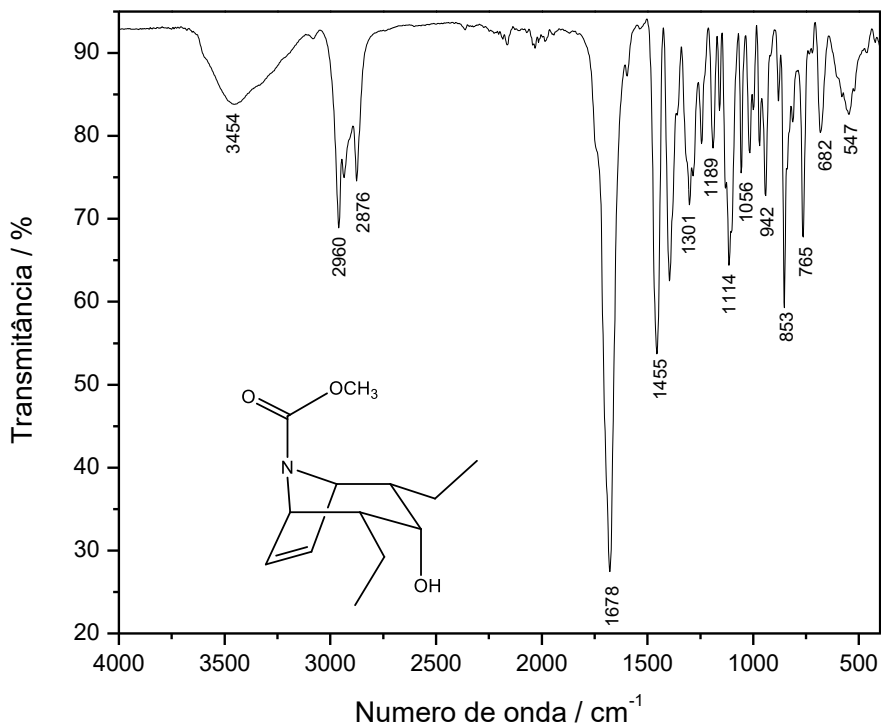


Figura 29 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **10b**.

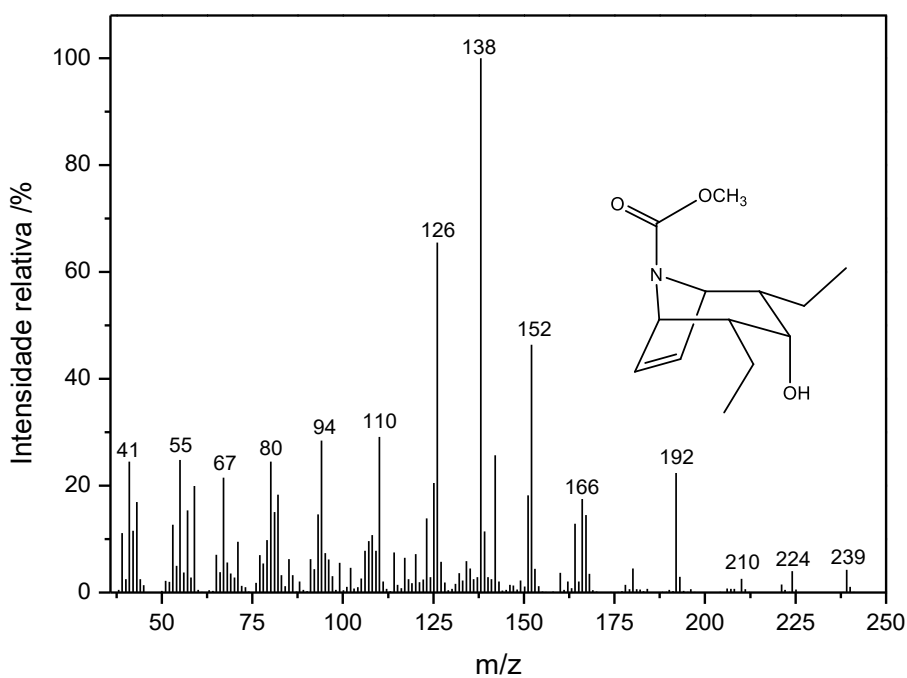


Figura 30 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **10b**.

A massa molecular de **10b** foi confirmada no espectro de massas (Figura 30), que apresenta o pico do íon molecular $[M^+]$ em $m/z = 239$. O pico em $m/z = 166$ e pico base em $m/z = 138$ são atribuídos à cátions alílicos, conforme demonstrado na proposta mecanística das fragmentações de **6a** (Esquema 8, página 32).

No espectro de RMN de ^1H (Figura 31) é observado um tripleto em $\delta 0,98$ ($J_{12,11} = J_{14,13} = 7,2$ Hz), referente aos hidrogênios metílicos H12 e H14 e um multipletto em $\delta 1,35-1,62$ referente aos hidrogênios metilênicos H11 e H13. O multipletto em $\delta 1,17-1,28$ refere-se a hidroxila da posição 3 e o multipletto em $\delta 1,73-2,01$ aos hidrogênios H2 e H4. O sinal para a metoxila do carbamato é observado em $\delta 3,71$, como um simpleto e o multipletto em $\delta 3,79-3,93$, integrado para um hidrogênio, refere-se ao hidrogênio H3. O multipletto em $\delta 4,33-4,52$ corresponde aos sinais dos hidrogênios H1 e H5 e os sinais para os carbonos sp^2 , apresentam deslocamentos em $\delta 6,30-6,49$ (H6 e H7).

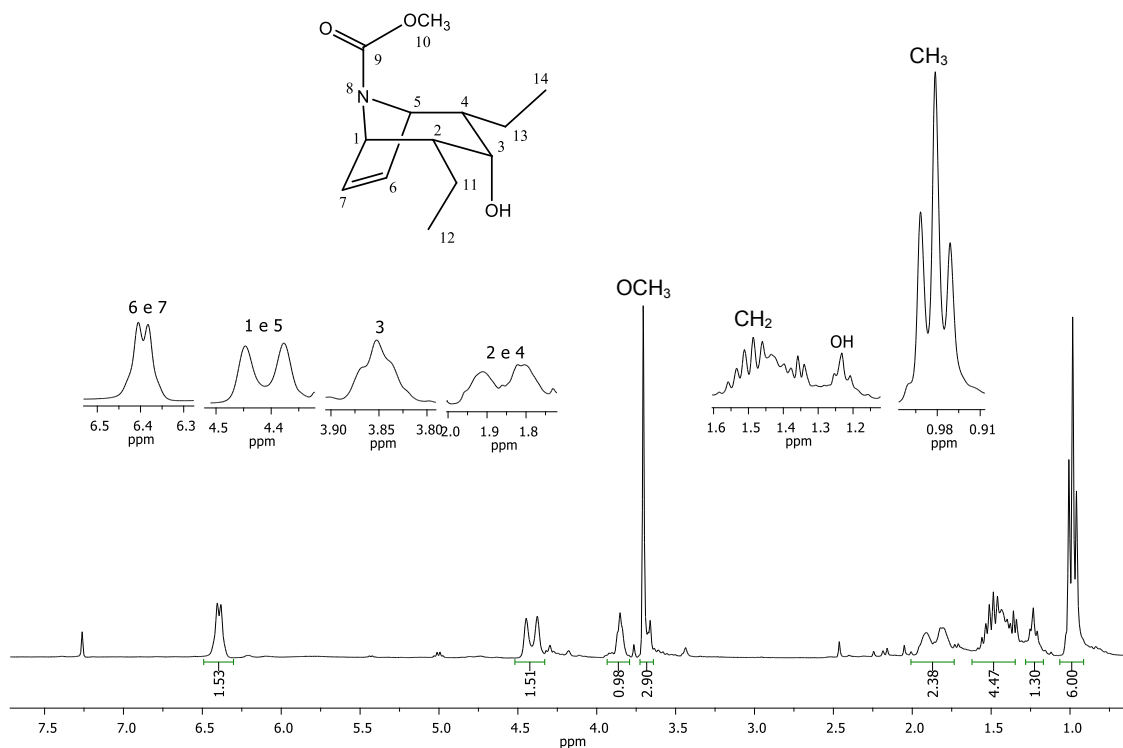


Figura 31 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **10b**.

A orientação da hidroxila do carbono 3 é *endo* em relação ao esqueleto tropânico, sendo confirmado pelo acoplamento entre os hidrogênios H2, H3 e H4

observado no mapa de contorno *NOESY* (Figura 32), ambos hidrogênios estão *exo* em relação ao esqueleto tropânico.

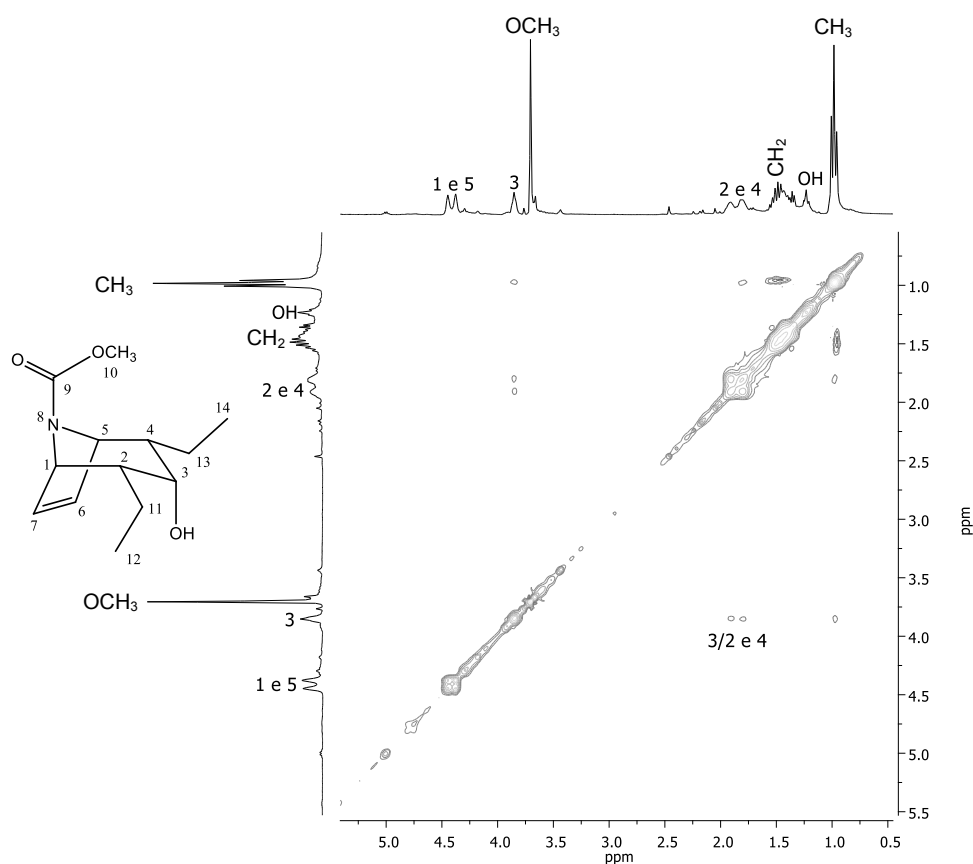


Figura 32 – Mapa de contornos *NOESY* do composto **10b**.

No espectro de RMN de ^{13}C de **10b** (Figura 33), o sinal em δ 11,62 refere-se aos carbonos metílicos e em δ 21,77 aos carbonos metilênicos das posições 2 e 4. Os sinais em δ 44,46 e δ 45,41, são referentes aos carbonos C2 e C4, respectivamente. Os sinais observados em δ 52,26 (C1) e δ 52,34 (C5) referem-se aos carbonos do esqueleto tropânico mais próximos do átomo de nitrogênio e o sinal para a metoxila do carbamato é observado em δ 60,90. O sinal para o carbono C3 é observado com δ 69,15, sendo mais desblindado por estar ligado à hidroxila do álcool. Os sinais para os carbonos sp^2 apresentam deslocamentos em δ 135,76 (C6) e δ 136,17 (C7) e o sinal para a carbonila do carbamato é observado em δ 152,77.

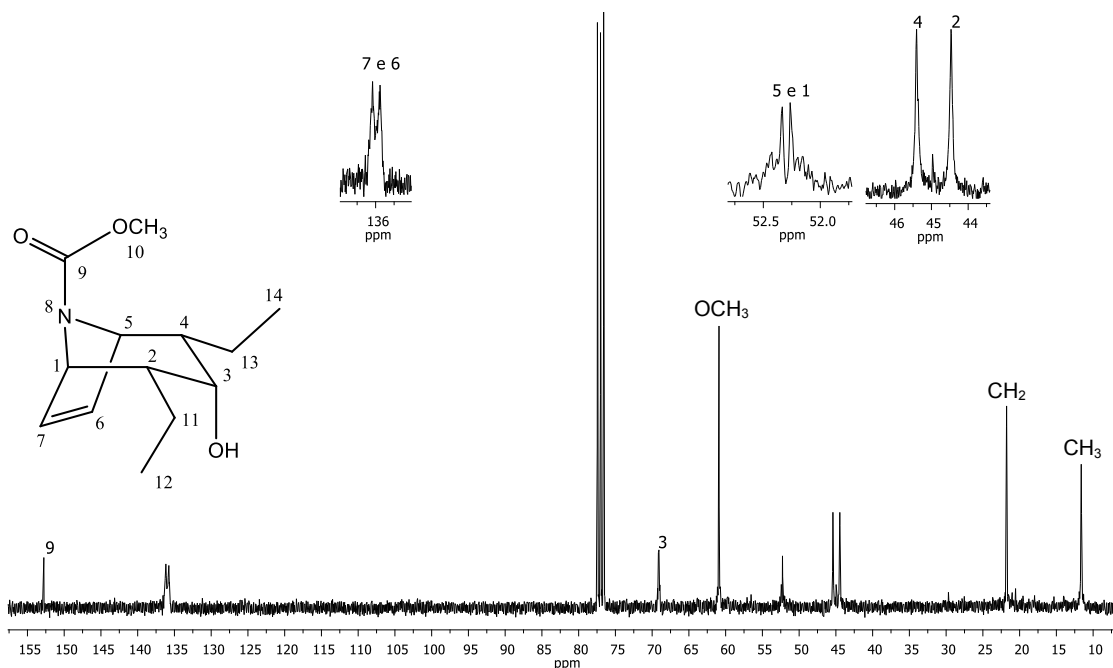
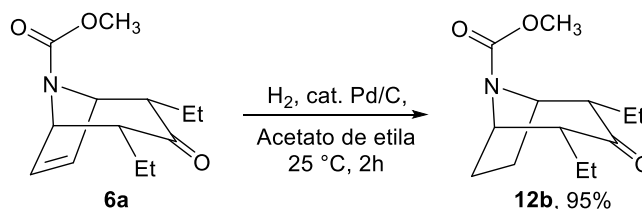


Figura 33 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **10b**.

1.4.1.5. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**12b**)

A partir da hidrogenação de **6a**, apresentado no Esquema 13, foi obtido outro derivado tropânico. Tal modificação foi planejada com intuito de avaliar a influência da ligação dupla na possível atividade inseticida.



Esquema 13 – Hidrogenação de **6a**.

A reação de hidrogenação foi eficiente, resultando na obtenção do produto **12b** como um óleo amarelo claro em 95% de rendimento.

A confirmação da estrutura de **12b** foi feita através da análise dos espectros no IV, EM, RMN de ^1H e de ^{13}C . No espectro no IV de **12b** (Figura 34) foi

observado uma banda de absorção intensa em 1698 cm^{-1} , referente ao estiramento da carbonila da cetona e da carbonila do carbamato, e outras três bandas fortes em 1445 , 1380 e 1318 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação C-N (carbamato).

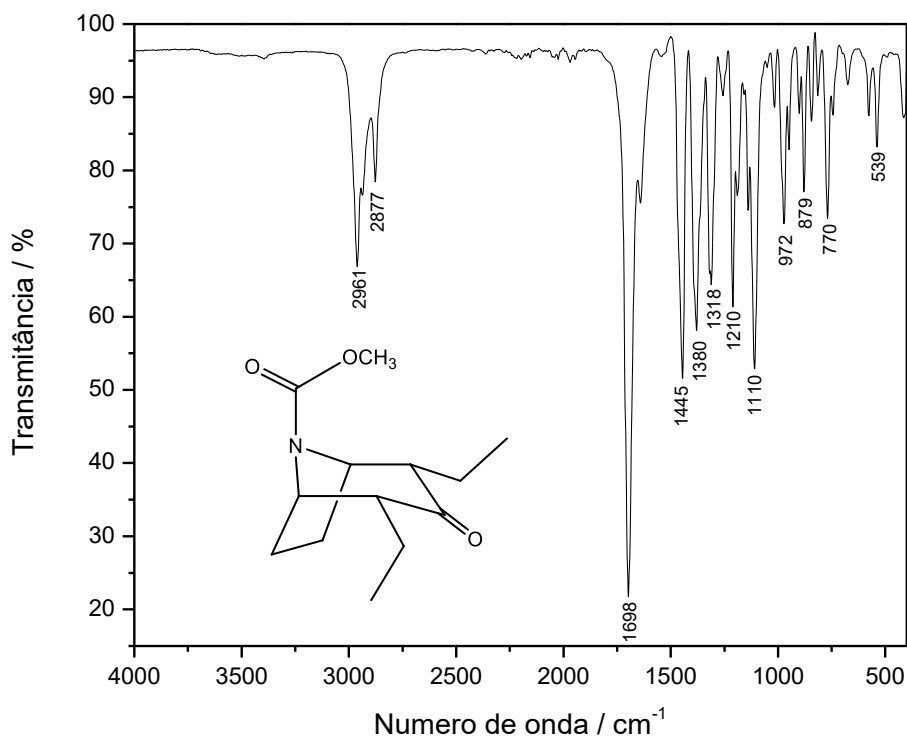


Figura 34 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **12b**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 35), é possível observar um triplete em $\delta 0,92$ ($J_{12,11} = J_{14,13} = 7,3\text{ Hz}$), referente aos hidrogênios metílicos H12 e H14 e um multipletto em $\delta 1,01$ - $1,20$, referentes hidrogênios metilênicos H11 e H13, respectivamente. Os multipletos em $\delta 1,45$ - $1,58$ e $\delta 1,76$ - $1,91$, cada sinal integrado para dois hidrogênios, referem-se aos hidrogênios H6 e H7. Os sinais alargados em $\delta 2,30$ - $2,54$ são referentes aos hidrogênios H2 e H4 e um simpleto com $\delta 3,76$, refere-se à metoxila do carbamato. Os sinais alargados em $\delta 4,24$ - $4,55$, referem-se aos hidrogênios H1 e H5. As atribuições foram realizadas com segurança através da interpretação do mapa de contornos COSY (Figura 36).

Os sinais no espectro de RMN de ^1H encontram-se alargados devido à rotação livre que existe na ligação entre o nitrogênio e a carbonila do carbamato, que leva os sinais de H1, H2, H4 e H5 serem uma média de todos os confôrmeros existentes desse composto, e por isso se apresentam alargados.

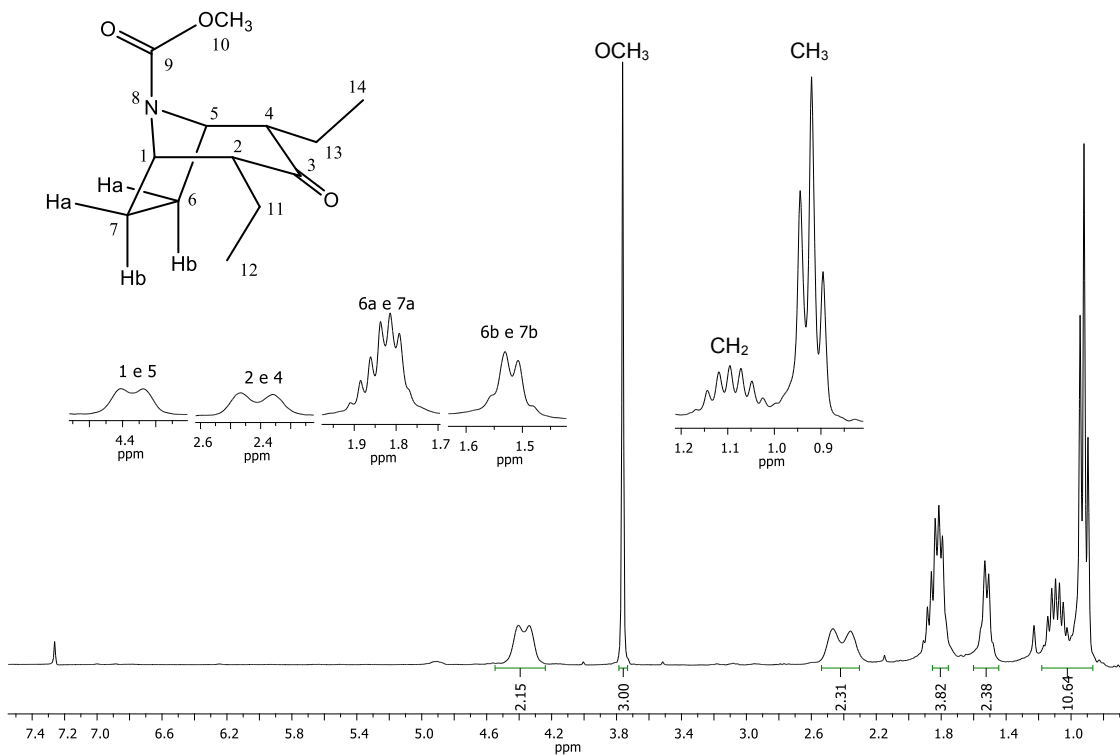


Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **12b**.

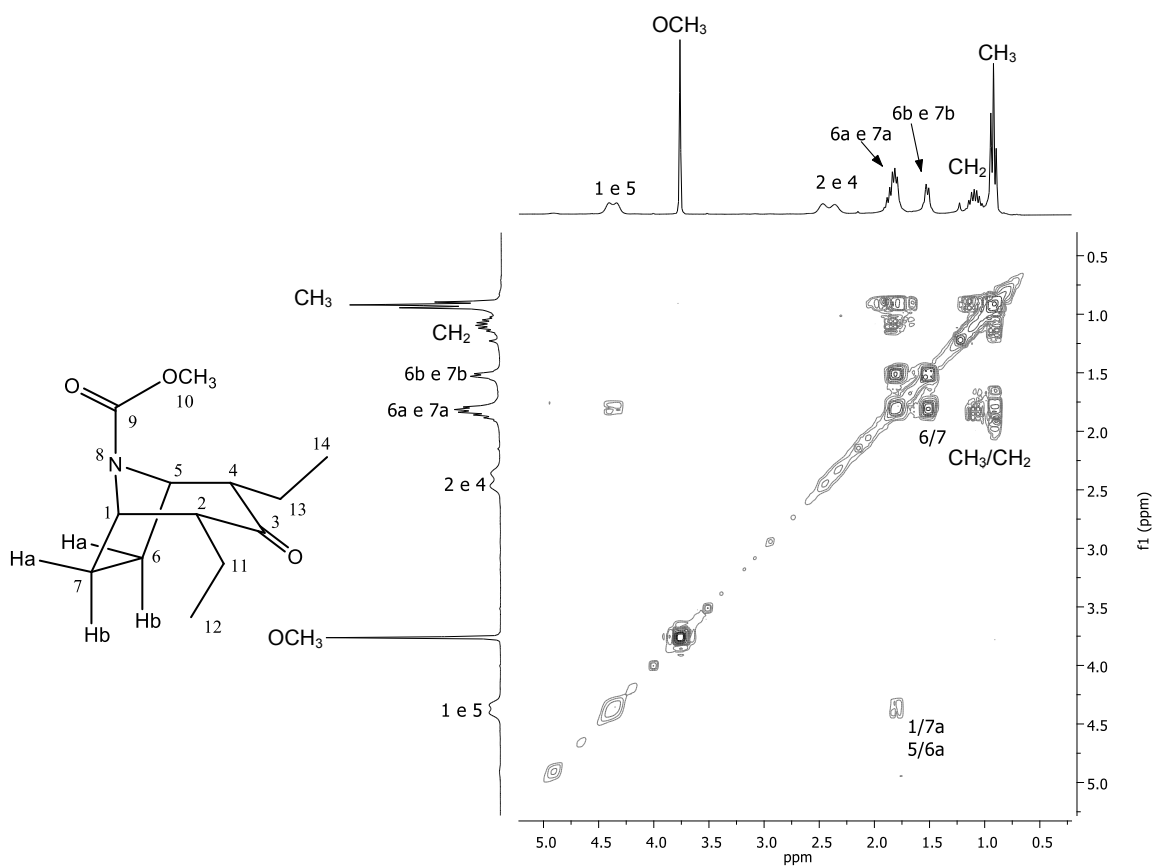


Figura 36 – Mapa de contornos COSY do composto **12b**.

No espectro de RMN de ^{13}C de **12b** (Figura 37), o sinal em δ 11,81 e o sinal δ 18,64, referem-se aos carbonos metílicos (C12 e C14) e metilênicos (C11 e C13), respectivamente. O sinal em δ 24,01 é referente ao carbono C6 e em δ 24,85, refere-se ao C7. O sinal em δ 52,61, refere-se ao carbono C4 e em δ 52,69, refere-se ao C2. O sinal para a metoxila do carbamato é observado em δ 57,30 e os sinais para os carbonos C5 e C1 são observados em δ 56,66 e δ 57,61, respectivamente. Os sinais para as carbonilas, do carbamato e da cetona, são observados com deslocamentos em δ 154,05 (9) e δ 209,67 (3).

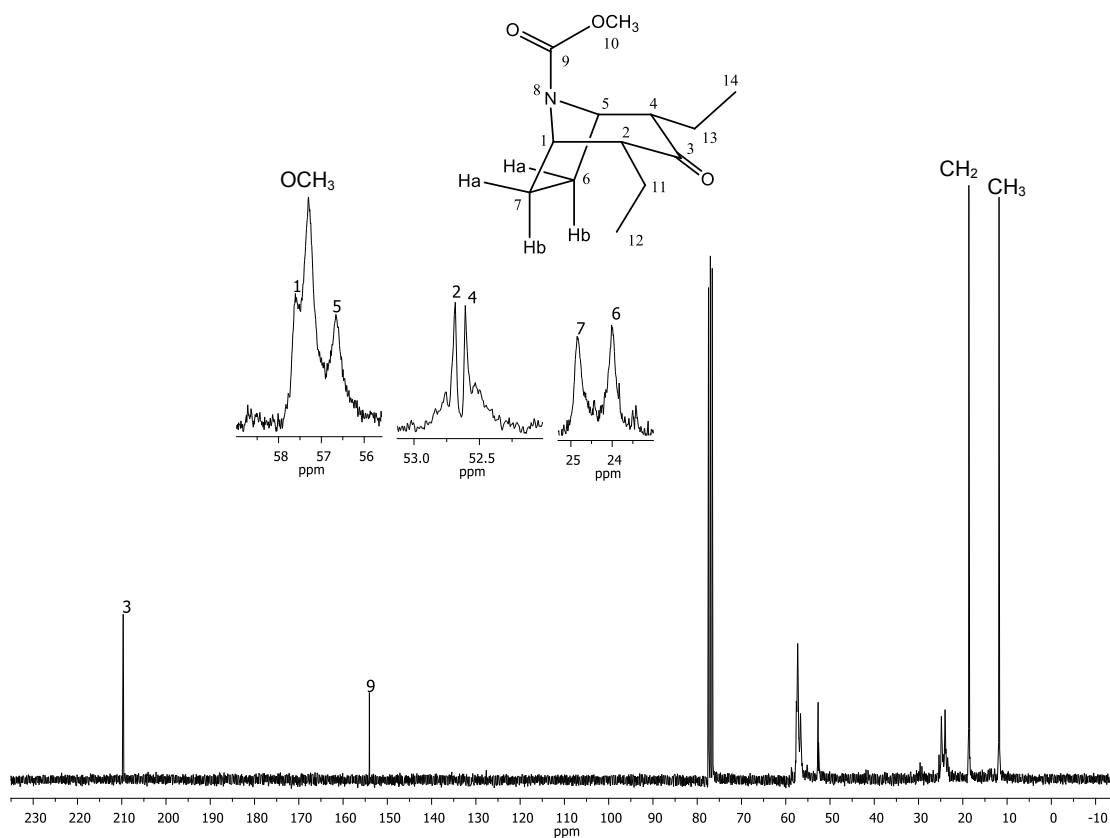
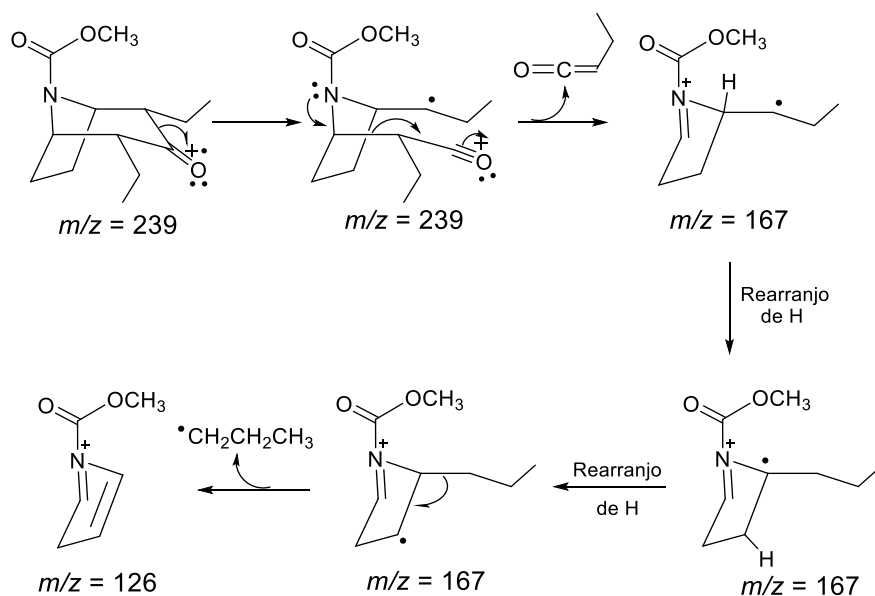


Figura 37 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **12b**.

A massa molecular de **12b** foi confirmada no espectro de massas (Figura 38), que apresenta o pico do íon molecular em $m/z = 239$. O pico base em $m/z = 126$ foi atribuído ao cátion conforme mostrado na proposta mecanística no Esquema 14.



Esquema 14 – Proposta mecanística de fragmentação para **12b**.

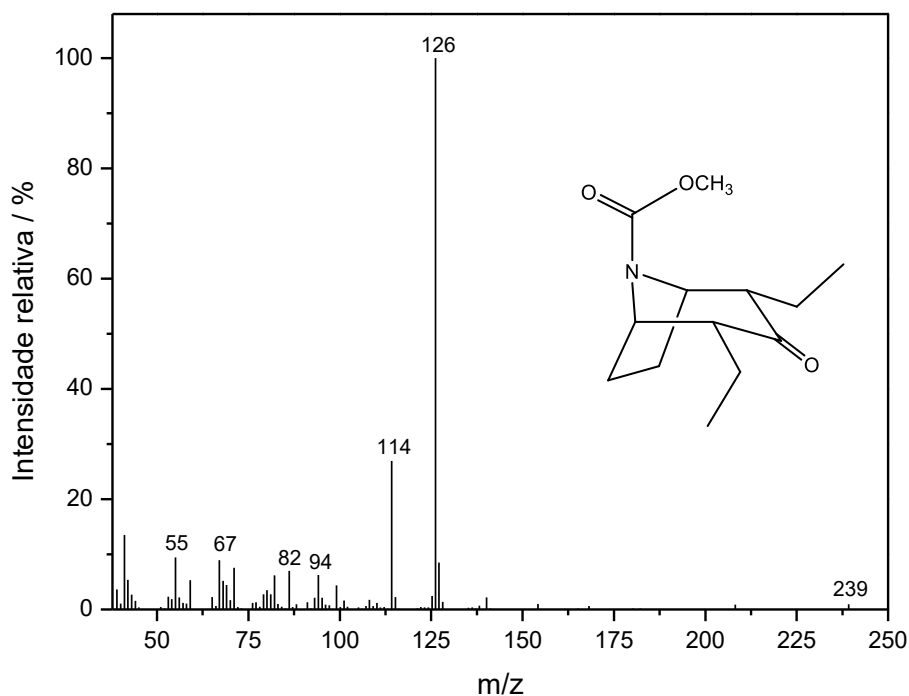
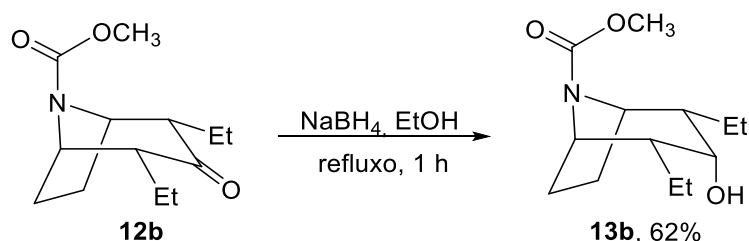


Figura 38 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **12b**.

1.4.1.6. (\pm)-2 α ,4 α -dietil-3-hidróxi-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**13b**)

O composto reduzido **13b** foi obtido pela redução de **12b** utilizando NaBH_4 , conforme descrito no Esquema 15.



Esquema 15 – Redução de **12b** com NaBH₄.

O composto reduzido **13b** foi obtido na forma de um sólido amarelo em 62% de rendimento, após purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano: éter dietílico; 1:2 v/v).

A confirmação da estrutura de **13b** foi feita através da análise dos espectros no IV, EM, RMN de ¹H e de ¹³C. No espectro no IV de **13b** (Figura 39) foi observado uma banda larga em 3472 cm⁻¹, referente ao estiramento do OH de álcool. A banda referente ao estiramento da carbonila do carbamato é observada em 1671 cm⁻¹, e outras duas bandas fortes em 1455 e 1401 cm⁻¹, referem-se ao estiramento da ligação C-N (carbamato).

A massa molecular de **13b** foi confirmada no espectro de massas (Figura 40), que apresenta o pico do íon molecular [M⁺] em *m/z* = 241. O pico em *m/z* = 182 foi atribuído ao fragmento oriundo da perda do grupo ligado ao nitrogênio [M - C(O)OCH₃].

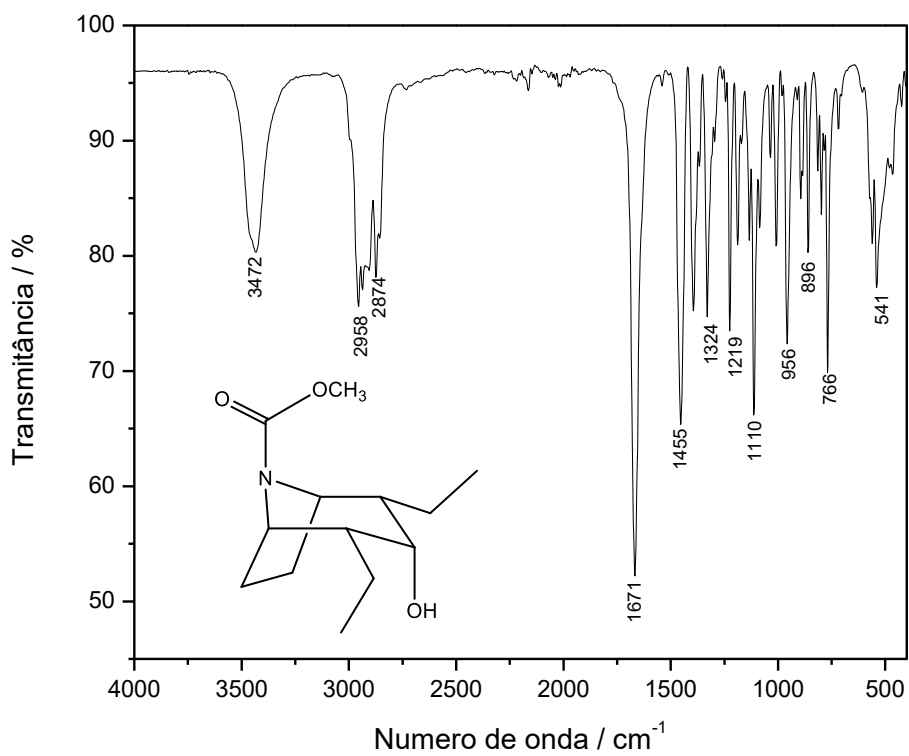


Figura 39 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **13b**.

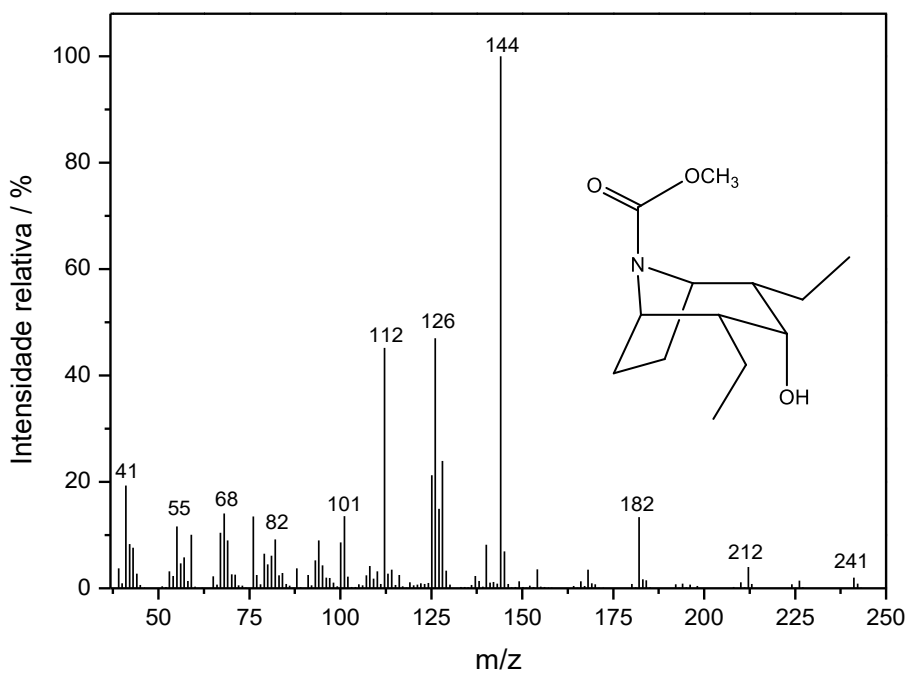


Figura 40 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **13b**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 41), é possível observar um tripleto integrado para seis hidrogênios em $\delta 0,96$ ($J_{12,11} = J_{14,13} = 7,3$ Hz), referente aos hidrogênios metílicos H12 e H14. Um simpleto largo em $\delta 1,24$, refere-se ao OH e um multipletto em $\delta 1,32$ - $1,80$, refere-se aos hidrogênios metilênicos H11 e H13, dos hidrogênios da posição *exo*, H6a e H7a e os hidrogênios H2 e H4. Um multipletto em $\delta 1,95$ - $2,10$, integrado para dois hidrogênios, representa o sinal para o hidrogênio H6b e o H7b. Um simpleto, integrado para três hidrogênios, em $\delta 3,67$, refere-se à metoxila do carbamato. Em $\delta 3,82$ - $4,15$, é observado um multipletto, integrado para três hidrogênios, representando os sinais dos hidrogênios H1, H3 e H5, apresentando deslocamento alto devido à proximidade com o nitrogênio (H1 e H5) e o oxigênio (H3). As atribuições foram realizadas com segurança através da interpretação dos mapas de contornos COSY e NOESY (Figura 42 e 43).

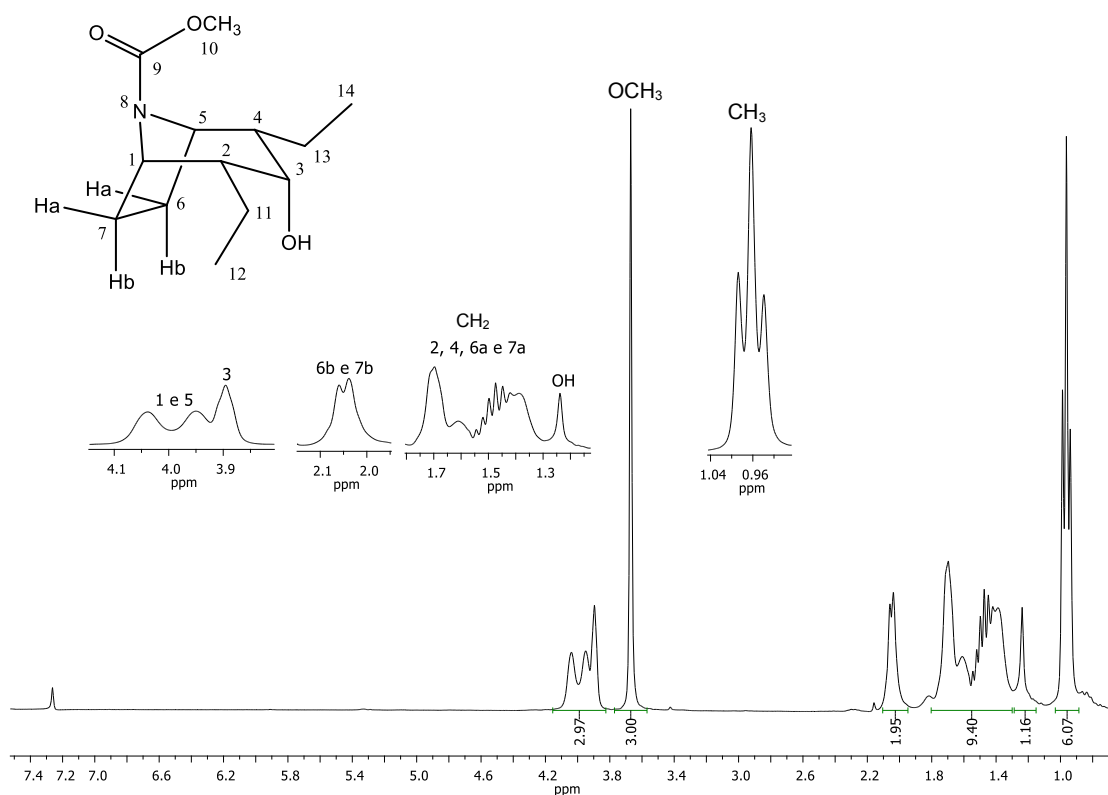


Figura 41 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **13b**.

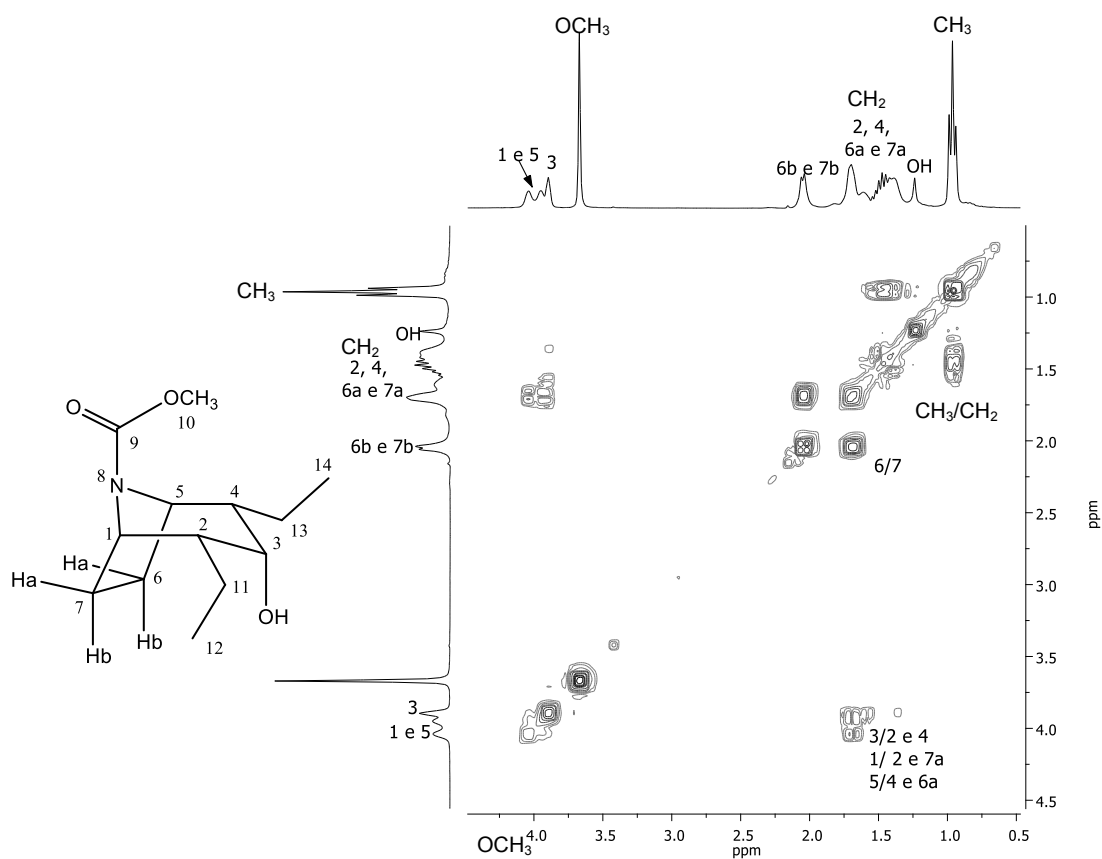


Figura 42 – Mapa de contornos COSY do composto **13b**.

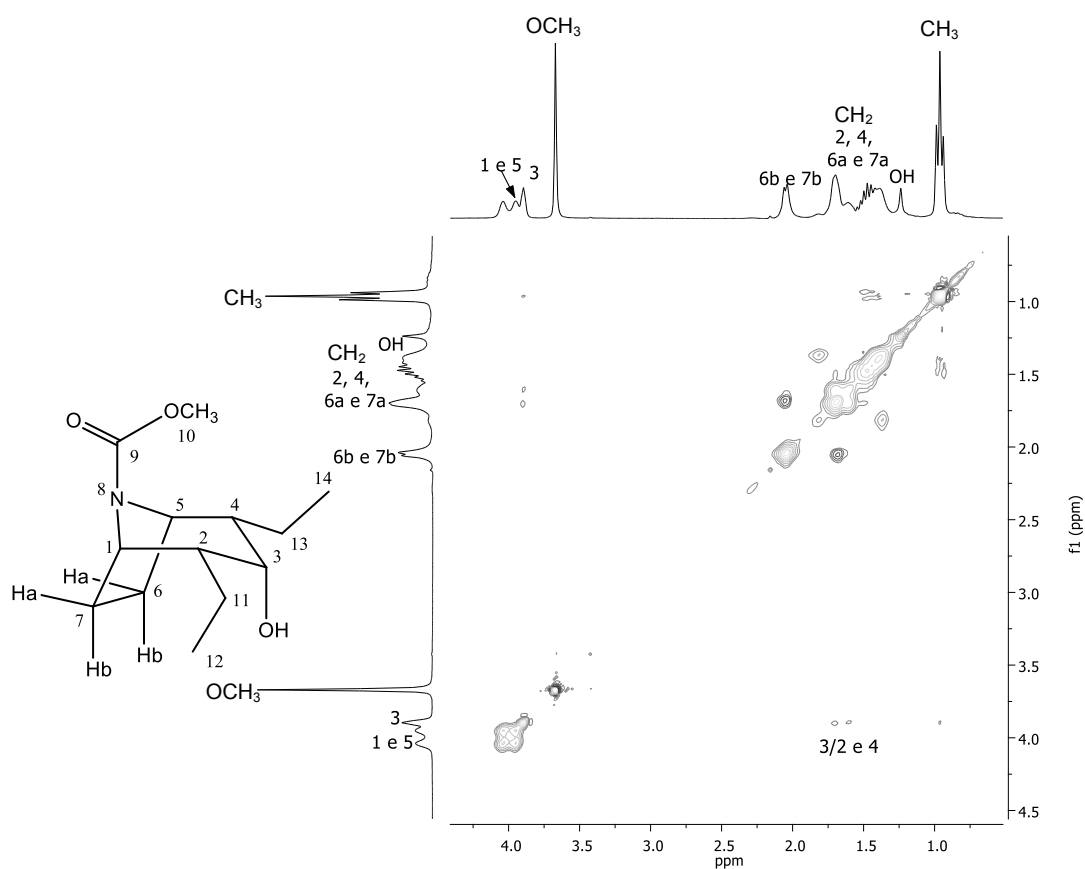


Figura 43 – Mapa de contornos NOESY do composto **13b**.

No espectro de RMN de ^{13}C de **13b** (Figura 44), o sinal em δ 11,36, refere-se aos dois átomos de carbonos metílicos C12 e C14 e o pico em δ 21,24, refere-se aos dois átomos de carbono dos metilenos C11 e C13. Os carbonos metilênicos C6 e C7 são observados em δ 24,02 e δ 24,80, respectivamente. O sinal em δ 45,65 é referente ao carbono C2 e em δ 46,52 ao carbono C4. Os carbonos que apresentam deslocamento igual a δ 52,10 (1) e δ 52,17 (5) referem-se aos carbonos do esqueleto tropânico mais próximos do átomo de nitrogênio e o sinal referente a metoxila do carbamato é observado em δ 56,25. O sinal do carbono C3 é observado com δ 68,35, sendo mais desblindado por ser o carbono hidroxilado. A carbonila do carbamato apresenta deslocamentos em δ 153,89.

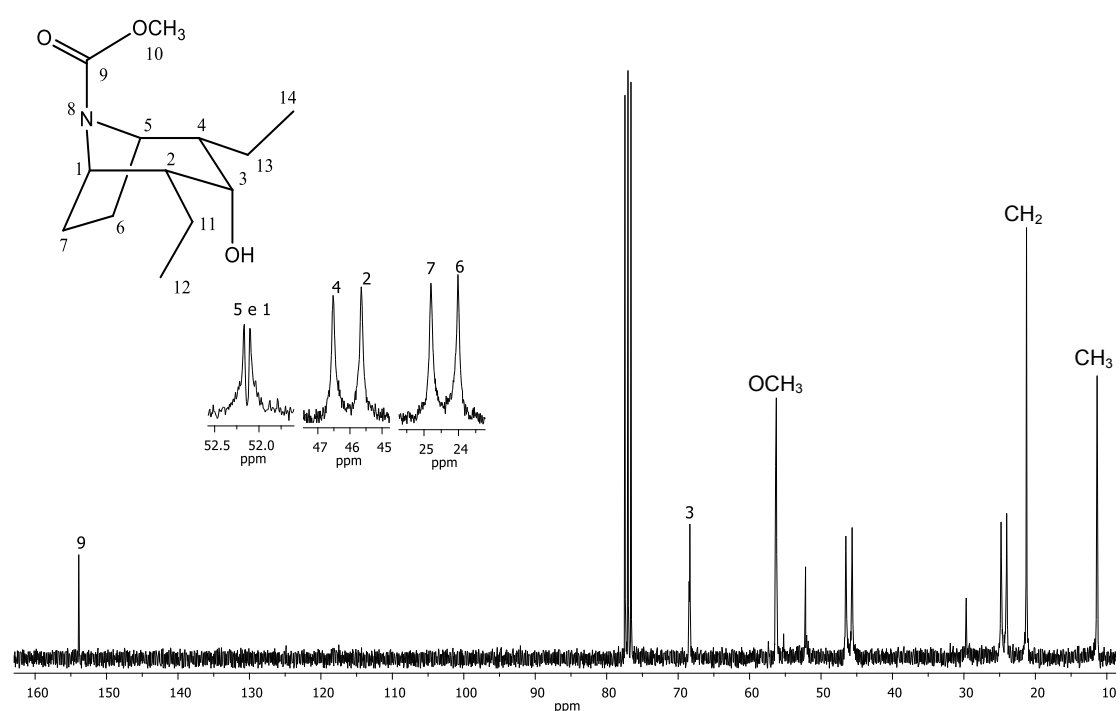
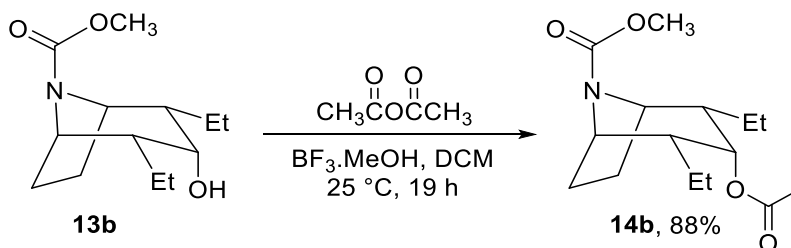


Figura 44 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **13b**.

1.4.1.7. (\pm)-3-acetil-2 α ,4 α -dietil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-carboxilato de metila (**14b**)

Outro derivado tropânico foi obtido a partir da acetilação do composto reduzido **13b**, conforme apresentado no Esquema 16. O interesse em realizar a

acetilação é o fato de muitos compostos que apresentam atividades biológicas possuem o grupo éster em sua estrutura, sendo a cocaína um exemplo (COWLING e MANN, 1978).



Esquema 16 – Acetilação de **13b**.

Após purificação por coluna cromatográfica de sílica gel resultou-se no composto **14b** como um sólido branco em 88% de rendimento.

O espectro no IV de **14b** (Figura 45) apresentou duas bandas de absorção intensa na região de carbonilas, uma banda em 1736 cm^{-1} , referente ao estiramento da carbonila do éster e outra banda em 1697 cm^{-1} , referente ao estiramento da carbonila do carbamato (BARBOSA, 2007).

Pelo espectro de massas a massa molecular de **14b** foi confirmada (Figura 46), apresentando o pico do íon molecular $[\text{M}^+]$ em $m/z = 283$. O pico em $m/z = 224$ foi atribuído ao fragmento oriundo da perda do grupo ligado ao nitrogênio $[\text{M} - \text{C}(\text{O})\text{OCH}_3]$ ou podendo ser também, atribuído ao fragmento pela perda do grupo éster $[\text{M} - \text{OC}(\text{O})\text{CH}_3]$.

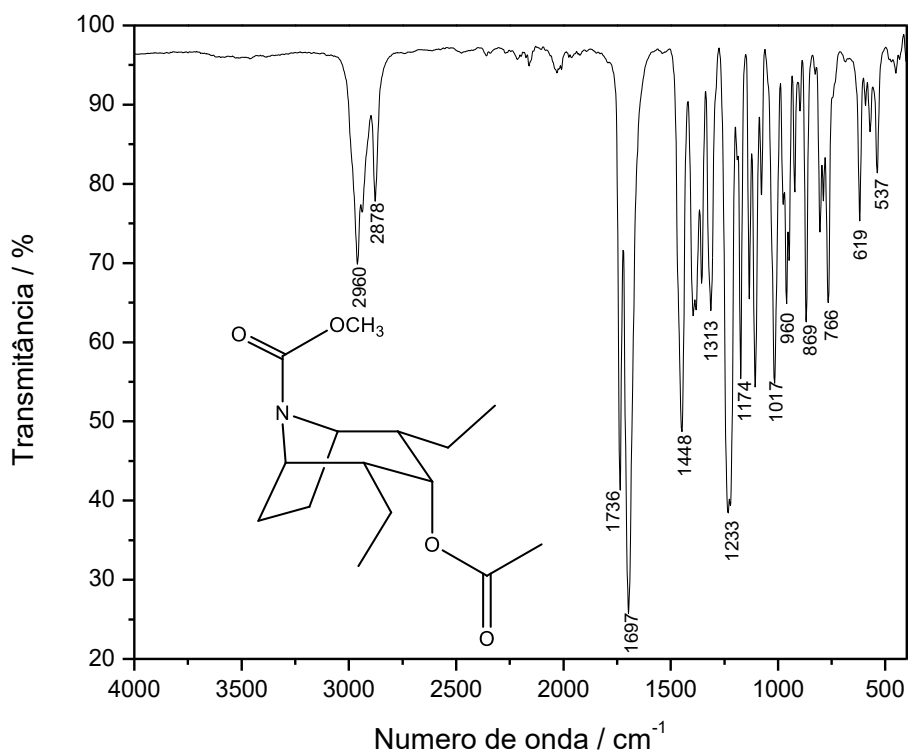


Figura 45 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **14b**.

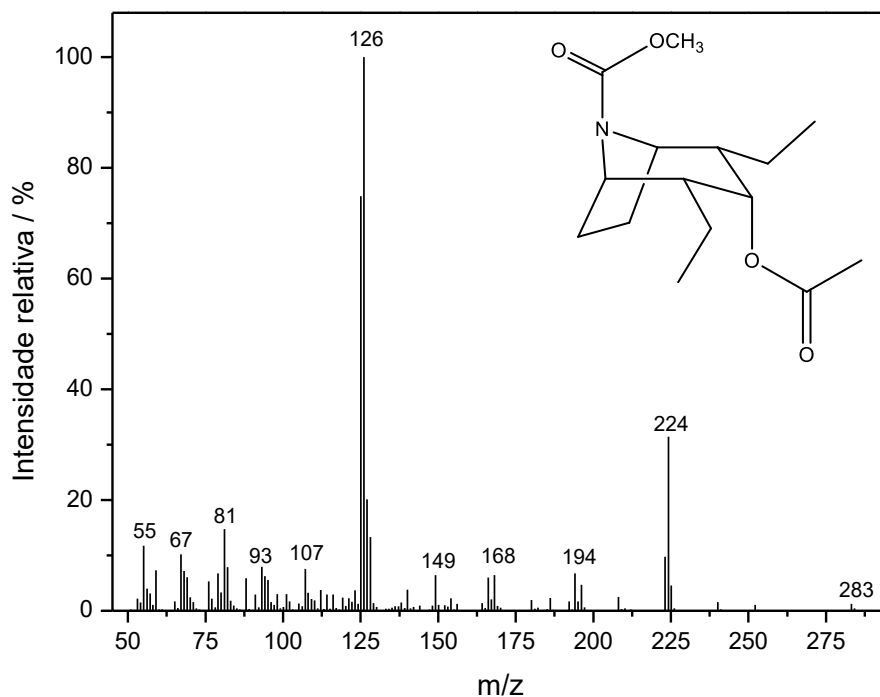


Figura 46 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **14b**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 47), é possível observar um tripleto em $\delta 0,90$ ($J_{12,11} = J_{14,13} = 7,4$ Hz), referente aos hidrogênios metílicos H12 e H14 e um multipletto em $\delta 1,12-1,31$, referente aos hidrogênios metilênicos H11 e H13. Os sinais para os hidrogênios metilênicos H6 e H7 são apresentados como dois multipletos, os com deslocamento igual a $\delta 1,65-1,92$, referem-se aos hidrogênios da posição *exo* (H6a e H7a) e em $\delta 1,94-2,05$ é referente aos hidrogênios *endo* (H6b e H7b). Os sinais referentes aos hidrogênios H2 e H4 se sobrepõem com os sinais dos hidrogênios H6a e H7a e não são observados no espectro do RMN de ^1H . O grupo metila C16 foi identificado pela presença do simpleto em $\delta 2,05$ e o simpleto em $\delta 3,68$ é referente ao sinal da metoxila do carbamato. Dois sinais alargados com deslocamentos iguais a $\delta 3,98-4,19$, referem-se aos hidrogênios H5 e H1, apresentando um maior valor de deslocamento por estarem próximos do elemento eletronegativo, nitrogênio. O multipletto em $\delta 5,36-5,23$ refere-se ao hidrogênio H3.

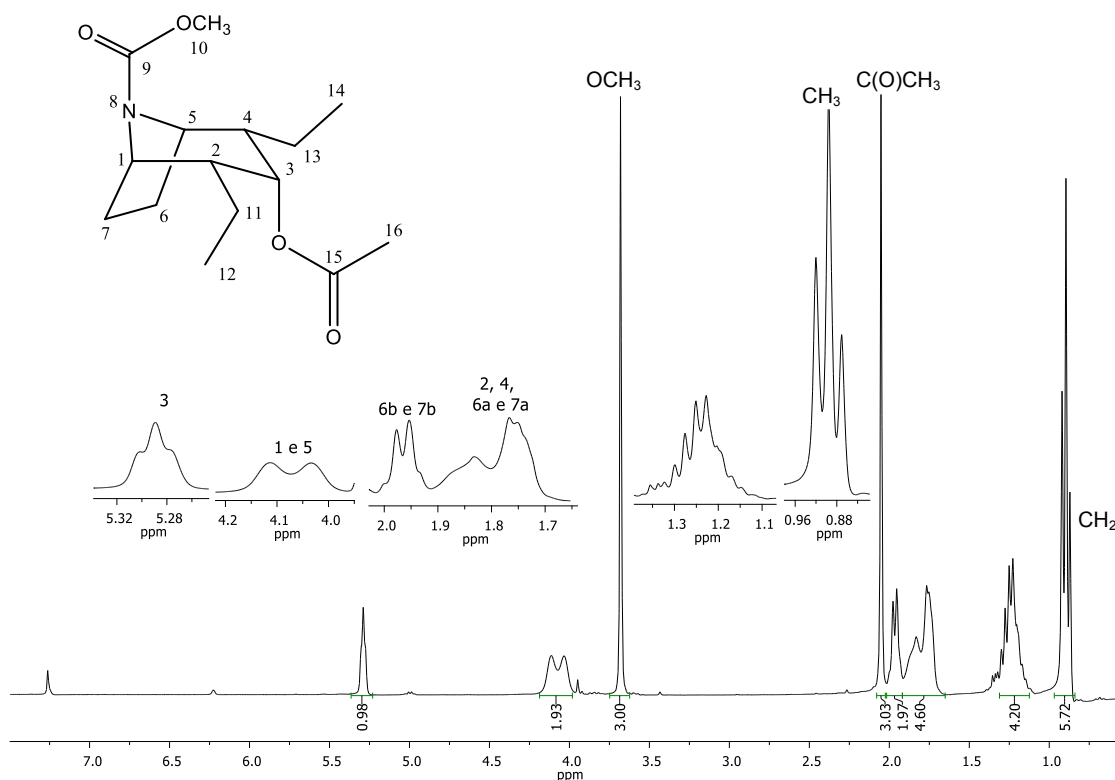


Figura 47 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **14b**.

No espectro de RMN de ^{13}C de **14b** (Figura 48), os sinais em δ 11,34, δ 20,83 e δ 21,05, referem-se aos carbonos metílicos C12 e C14, à metoxila do éster (C16) e os carbonos metilênicos C11 e C13. Os sinais com deslocamento em δ 23,71 e δ 24,49, correspondem aos carbonos metilênicos C6 e C7, respectivamente. O sinal em δ 45,07 refere-se ao carbono C4, em δ 45,92, refere-se ao carbono C2 e os sinais para os carbonos C5 e C1, próximos ao nitrogênio, são observados em δ 52,30. O sinal para a metoxila do carbamato é observado em δ 55,67, já o sinal em δ 71,24 é referente ao carbono C3, sendo desblindado por ser o carbono ligado diretamente ao oxigênio do éster. Os sinais para as carbonilas, do carbamato e do éster, apresentam deslocamentos em δ 153,78 (C9) e δ 170,56 (C15).

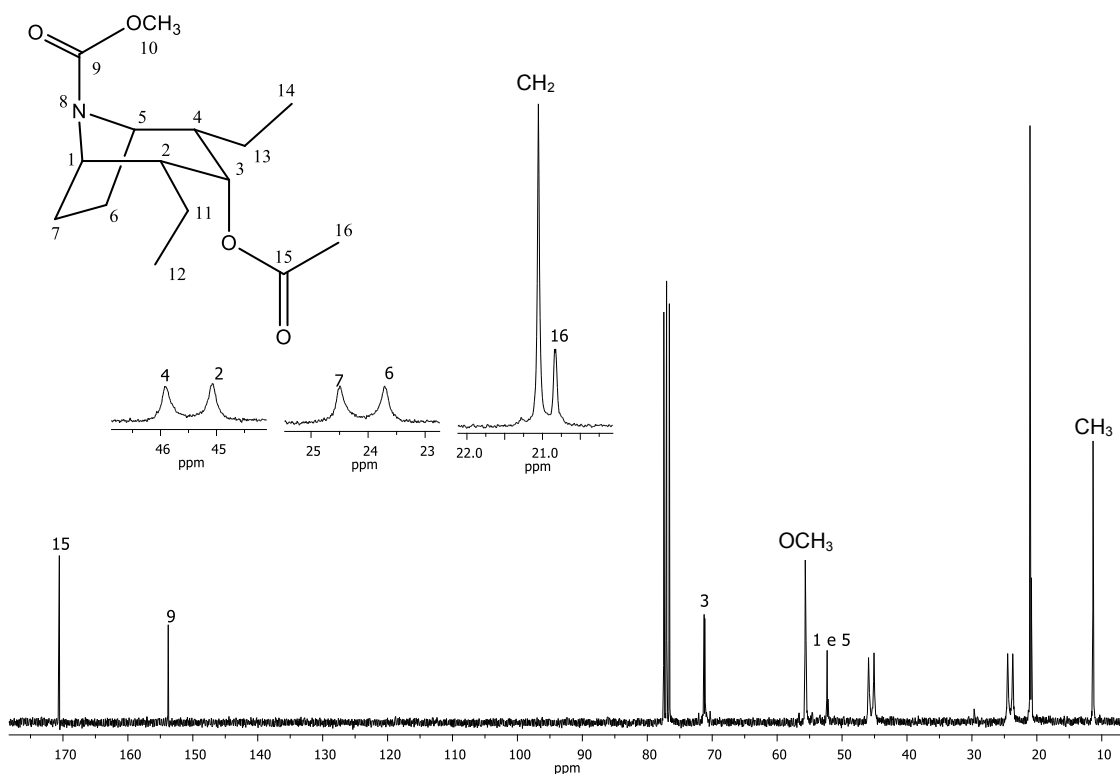


Figura 48 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **14b**.

1.4.2. Bioensaios

1.4.2.1. Toxicidade dos alcaloides sobre *A. monuste*

Os compostos submetidos ao bioensaio para avaliar a toxicidade dos alcaloides sobre *A. monuste* foram alcaloides **5a**, **5b**, **6a**, **6b**, **7**, **8**, **9**, **10a**, **10b**, **11**, **12a**, **12b**, **13a**, **13b**, **14a**, **14b** e **15**, conforme representados na Figura 49.

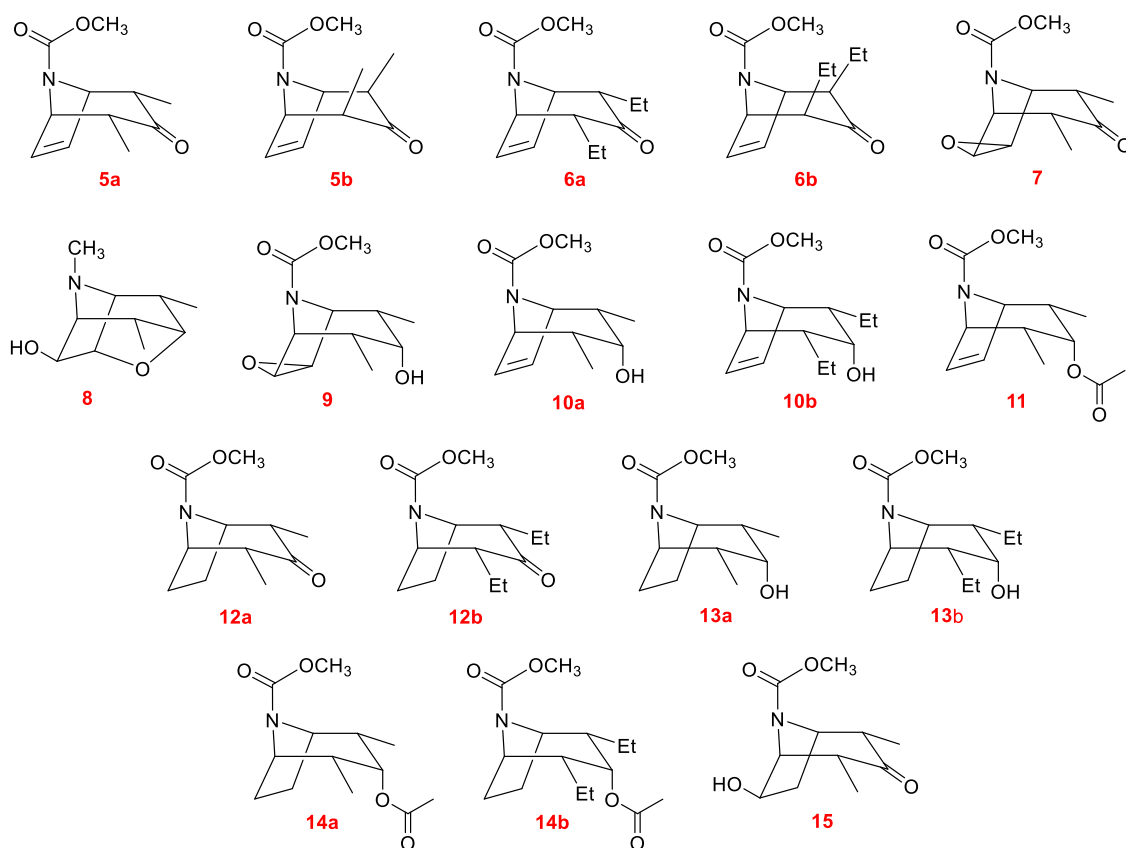


Figura 49 – Estrutura dos compostos submetidos ao bioensaio para avaliar a toxicidade dos alcaloides sobre *A. monuste*.

Inicialmente, foram selecionados os alcaloides tropânicos com atividade inseticida contra *A. monuste*. Houve diferença significativa na mortalidade das larvas de *A. monuste* em função dos tratamentos ($F_{18; 28} = 162,20$; $P < 0,001$). De acordo com a mortalidade causada às larvas de *A. monuste* (dose de 10 μg de substância por mg de inseto) as substâncias estudadas podem ser divididas em cinco grupos. No primeiro e segundo grupo estão a malationa e os alcaloides **6a**, **10a** e **14a** que foram as substâncias que causaram as maiores mortalidades

(86,7 a 100%) às larvas de *A. monuste*. No terceiro e quarto grupo estão os alcaloides **6b**, **8**, **11**, **12b** **13a** e **14b** que causaram mortalidades intermediárias (23,3 a 56,7%) às larvas de *A. monuste*. Já no quinto grupo estão os alcaloides **5a**, **5b**, **7**, **9**, **10b**, **12a** e **13b** que foram as substâncias que causaram as menores (0 a 10%) mortalidades as larvas de *A. monuste*, sendo que estas mortalidades foram semelhantes à ocorrida no controle (Figura 50).

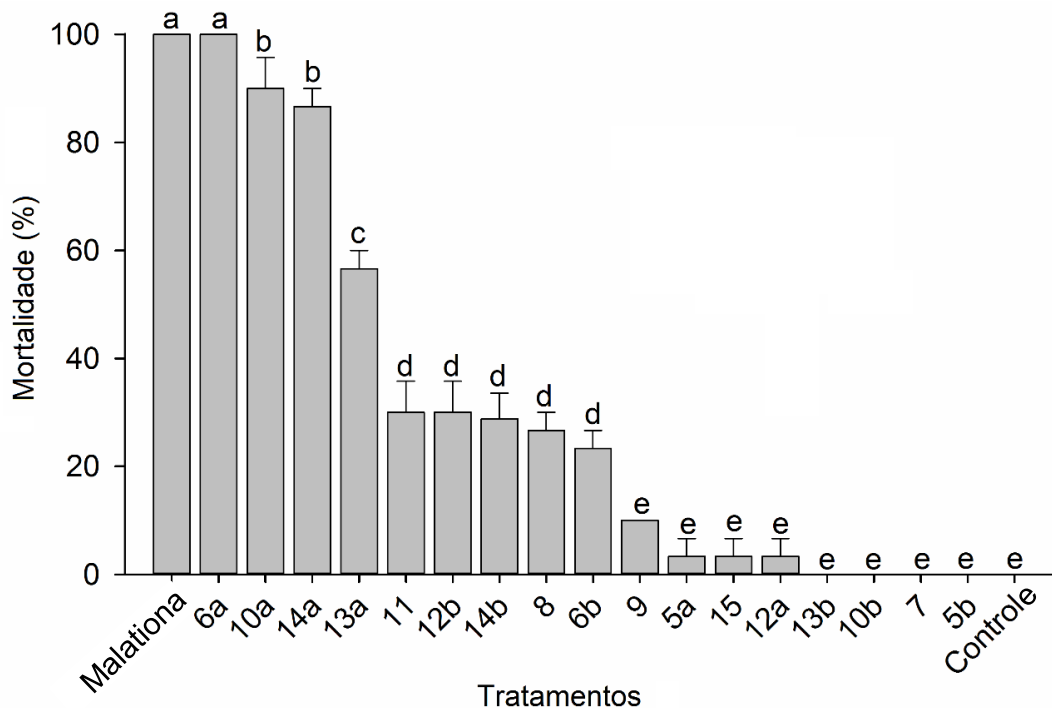


Figura 50 – Mortalidade (média \pm erro padrão) de larvas de *Ascia monuste* em função da aplicação da dose de 10 μ g/mg de inseto de dezessete substâncias, do controle (acetona) e da malationa (controle positivo). Histogramas seguidos pela mesma letra possuem médias que não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a $P < 0,05$.

De acordo com as recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária para testes de eficácia em produtos de controle de pragas (ANVISA, 2004), somente substâncias que apresentem mortalidade de insetos em $90 \pm 10\%$ são selecionados como potenciais inseticidas. Assim, os altos valores de mortalidade observados para os compostos **6a** (100%), **10a** (90,0%) e **14a** (86,7%) os tornam candidatos para o desenvolvimento futuro de novos

agroquímicos para o controle da praga *A. monuste*. Portanto, os alcaloides **6a**, **10a** e **14a** foram selecionados para serem submetidos aos ensaios posteriores.

A partir dos dados obtidos, uma análise preliminar da estrutura-bioatividade revelou que a estereoquímica dos substituintes em posição alfa à carbonila, são relevantes para a atividade, uma vez que o isômero **6a** foi ativo e o isômero **6b** apresentou uma baixa atividade. A mesma tendência foi observada para os compostos **5a/5b**, embora ambos tenham apresentado pouca atividade. Por outro lado, o tamanho dos grupos alfa à carbonila (metila versus etila) tem uma influência dramática na atividade, uma vez que o isômero **6a** foi o composto mais ativo.

A redução da carbonila causou um grande efeito de diminuição na toxicidade do inseto, uma vez que o composto **10a** foi 27 vezes mais ativo em relação ao composto **5a**. Por outro lado, o álcool **10b** apresentou-se 100 vezes menos ativo do que a cetona de partida correspondente (**6a**). A redução da ligação dupla de **10a**, produzindo **13a**, provocou uma diminuição da atividade em 1,6 vezes, enquanto que a redução da ligação dupla de **10b**, produzindo **13b**, não influenciou a atividade (Figura 50).

A remoção da ligação dupla do composto **6a** reduziu consideravelmente a atividade, uma vez que **12b** foi 3,3 vezes menos ativo do que **6a**. O efeito da acetilação na atividade inseticida foi negativo no caso de **10a** (**11** foi 3,0 vezes menos ativo do que **10a**) e positivo nos casos de **13a** (**14a** foi 1,5 vezes mais ativo do que **13a**) e **13b** (**14b** foi 28,7 vezes mais ativo do que **13b**). A remoção da ligação dupla a partir de **5a** (produção de **12a**) e introdução de um grupo OH na posição 6 (composto **15**) não alterou a atividade. Em geral, os epóxidos não são ativos. De fato, o composto **9**, o epóxido correspondente de **10a**, foi 9,2 vezes menos ativo. O mesmo efeito foi observado na epoxidação de **5a**.

O análogo da escopolamina, composto **8**, sem o grupo carbamato, possui uma atividade inseticida baixa. Conforme observado, a associação dos grupos tropânico e carbamato parece ter um efeito positivo na atividade inseticida. O nível de toxicidade dos compostos é muito sensível às funcionalidades presentes no esqueleto tropânico, embora não tenha sido observada correlação com as suas polaridades. O logP foi calculado para todos os compostos e variou entre 0,18 a 2,08. Para os dois compostos mais ativos, os compostos **6a** e **10a** logP são 2,08 e 1,26, respectivamente. Enquanto que para o composto **14a**, este valor

é 1,98. Apesar desta falta de correlação, sabe-se que o nível de toxicidade de um inseticida depende de fatores como a taxa de penetração no exoesqueleto do inseto, decomposição e excreção, que são influenciados pelas propriedades físico-químicas do inseticida, incluindo a lipofilicidade (Wright e Verkerk, 1995; Rao *et al.*, 2015; Gerolt, 1983).

Com base nos resultados obtidos, os compostos mais ativos **6a**, **10a** e **14a** foram selecionados para outros ensaios complementares. No segundo bioensaio foram avaliadas diferentes concentrações dos alcaloides selecionados contra as larvas de *A. monuste*. Foram construídas curvas de dose-mortalidade (Figura 51), permitindo calcular as correspondentes DL₅₀ e DL₉₀ (Tabela 1) para **6a**, **10a** e **14a**. Conforme indicado nos testes preliminares, o derivado **6a** foi o alcaloide tropânico-carbamato com a maior toxicidade, apresentando DL₉₀ de 2,06 µg/mg de inseto. As DL₉₀ para **10a** e **14a** foram 21,72 e 4,90 µg/mg de inseto, respectivamente.

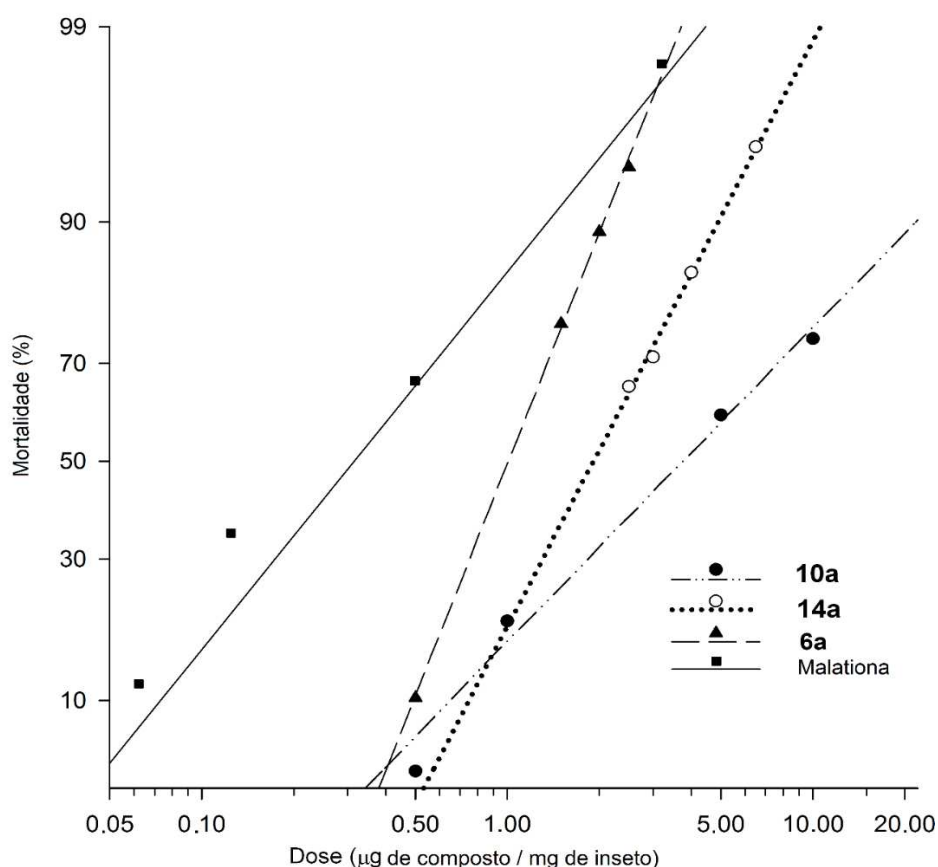


Figura 51 – Curvas dose-mortalidade para as substâncias **6a**, **10a** e **14a** para larvas de segundo ínstar de *Ascia monuste*.

Tabela 1 – Resultados da análise probit sobre a mortalidade de *Ascia monuste* após 48 h de exposição aos compostos **6a**, **10a** e **14a** e Malationa^a.

Compostos	Y	χ^2	df	P	DL ₅₀ (µg/mg)	DL ₉₀ (µg/mg)
6a	4,98 + 4,11x	0,10	2	0,95	1,01 (0,90 – 1,11)	2,06 (1,86 – 2,34)
10a	4,03 + 1,68x	1,63	2	0,55	3,76 (3,09 – 4,64)	21,72 (15,33 – 34,92)
14a	4,11 + 3,14x	0,26	2	0,88	1,92 (1,38 – 2,27)	4,90 (4,27 – 6,28)
Malationa	1,02 + 2,02x	2,54	2	0,28	0,32 (0,24 – 0,42)	1,35 (0,92 – 2,43)

^a Y = Equação da curva; χ^2 = Teste qui-quadrado; df = graus de liberdade; P = probabilidade; DL = dose letal com 95% de limite de confiança.

Pode-se observar que as curvas dose-mortalidade tiveram uma inclinação mais elevada para os compostos **6a** (4,11) e **14a** (3,14) em comparação com o composto **10a** (1,68), indicando uma resposta mais homogênea da população de *A. monuste* exposta aos compostos **6a** e **14a**.

A Malationa, inseticida comercial utilizado como controle positivo, mostrou uma DL₅₀ 1,5 vezes menor que a de **6a**. No entanto, vale a pena mencionar que a Malationa consiste numa formulação comercial contendo aditivos que facilitam a penetração do fármaco na cutícula do inseto. Por outro lado, todos os compostos sintetizados e testados neste trabalho foram administrados utilizando apenas acetona como solvente e sem qualquer aditivo, o que pode restringir a sua penetração na cutícula e assim diminuir a sua toxicidade para o inseto. Assim, podemos considerar que os híbridos de alcaloide tropânico-carbamato podem constituir um modelo promissor para o desenvolvimento de novos inseticidas.

Houve diferença significativa na rapidez de ação das larvas de *A. monuste* pelos alcaloides **6a**, **10a** e **14a** (teste de log-rank, $\chi^2= 6,621$, graus de liberdade = 2, P = 0,036). Após 48 horas 100% das larvas de *A. monuste* no controle permaneceram vivas enquanto que 88%, 75% e 83% das larvas tratadas com os alcaloides **6a**, **10a** e **14a**, respectivamente, morreram (Figura 52). Os tempos letais dos alcaloides **6a** e **14a** para a metade da população de larvas de *A. monuste* (TL₅₀) foram semelhantes, 7,0 e 5,0 horas, respectivamente. Já para o alcaloide **10a**, a TL₅₀ foi significativamente maior (15,0 horas), implicado que as substâncias **6a** e **14a** apresentam uma maior toxicidade sobre as larvas de *A. monuste* (Figura 53).

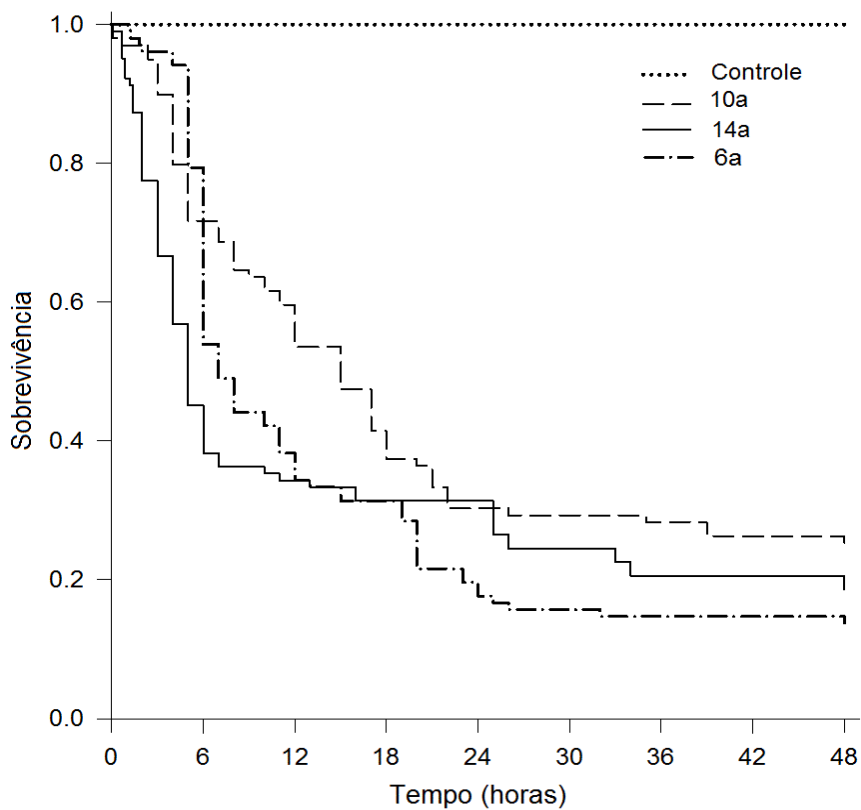


Figura 52 – Curvas de sobrevivência de larvas de segundo ínstar de *Ascia monuste* submetidas à DL₉₀ das substâncias **6a**, **10a** e **14a** e ao controle. Apenas acetona foi utilizada no controle.

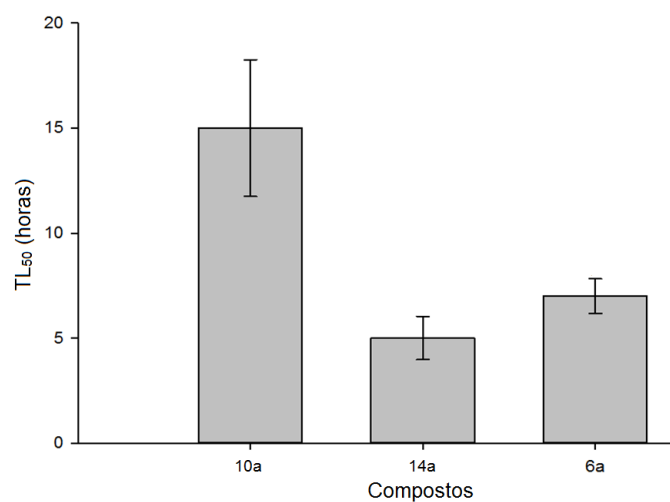


Figura 53 – Tempos letais de metade da população (TL₅₀) de larvas de *Ascia monuste* em função da aplicação das DL₉₀ dos alcaloides **6a**, **10a** e **14a**. Os segmentos de reta verticais indicam os intervalos de confiança das TL₅₀ a 95% de probabilidade.

1.4.2.2. Seletividade dos alcaloides em favor da formiga predadora *S. saevissima* e da abelha polinizadora *T. angustula*

Os inimigos naturais desempenham um papel fundamental no controle das pragas de insetos nos ecossistemas agrícolas. Assim, é altamente desejável que novos inseticidas apresentem ação seletiva, capazes de controlar pragas alvo, mas com a menor toxicidade possível contra espécies não-alvo, incluindo inimigos naturais (Fernandes *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2013).

Em função disso, investigou-se a seletividade dos compostos **6a**, **10a** e **14a** em favor da formiga predadora *S. saevissima* e da abelha polinizadora *T. angustula*. Os resultados são apresentados na Figura 54 e Figura 55. O composto **6a** causou 86,7% de mortalidade contra as larvas de *A. monuste* e 54,2% e 76,7% de mortalidade de *S. saevissima* e *T. angustula*, respectivamente. O composto **10a** causou 76% de mortalidade de *A. monuste* e 93,2 e 63,4% de mortalidade de *S. saevissima* e *T. angustula*, respectivamente. As mortalidades produzidas pelo composto **10a** em larvas de *A. monuste* e *T. angustula* não diferiram estatisticamente. O composto **14a** causou 84,4% de mortalidade das larvas de *A. monuste* e 83% e 100% de mortalidade de *S. saevissima* e *T. angustula*, respectivamente. Por conseguinte, apenas o composto **6a** mostra seletividade em favor da formiga *S. saevissima* e nenhum dos compostos testados mostrou seletividade em favor do polinizador *T. angustula*.

A seletividade dos inseticidas em relação ao seu inimigo natural pode ser fisiológica ou ecológica (Wright e Verkerk, 1995). Se o inseticida for mais tóxico para a praga do que para um organismo não-alvo, ele é considerado fisiologicamente seletivo, já a seletividade ecológica é caracterizada por minimizar o contato entre o pesticida e os organismos não-alvo. Apenas o composto **6a** foi fisiologicamente seletivo a favor do predador *S. saevissima* e não seletivo ao polinizador *T. angustula*. Já os compostos **10a** e **14a** não foram seletivos, nem para o predador *S. saevissima* e nem para o polinizador *T. angustula*.

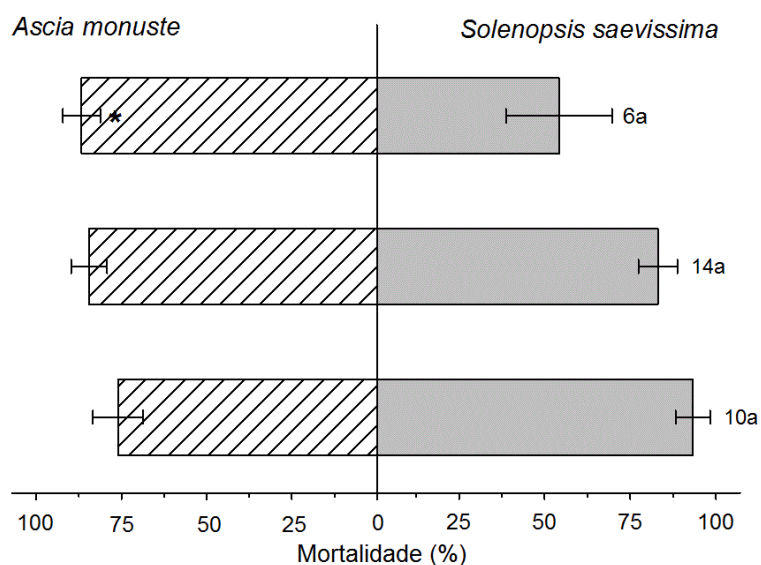


Figura 54 – Comparação das mortalidades (média \pm erro padrão) causadas pelas substâncias **6a**, **10a** e **14a** às larvas de *Ascia monuste* e a formiga *Solenopsis saevissima*. * A mortalidade causada pelo tratamento foi maior para aquele histograma pelo teste t a $P < 0,05$. A dose usada dos carbamatos foi a DL_{90} para as larvas de *A. monuste*. Apenas acetona foi utilizada no controle.

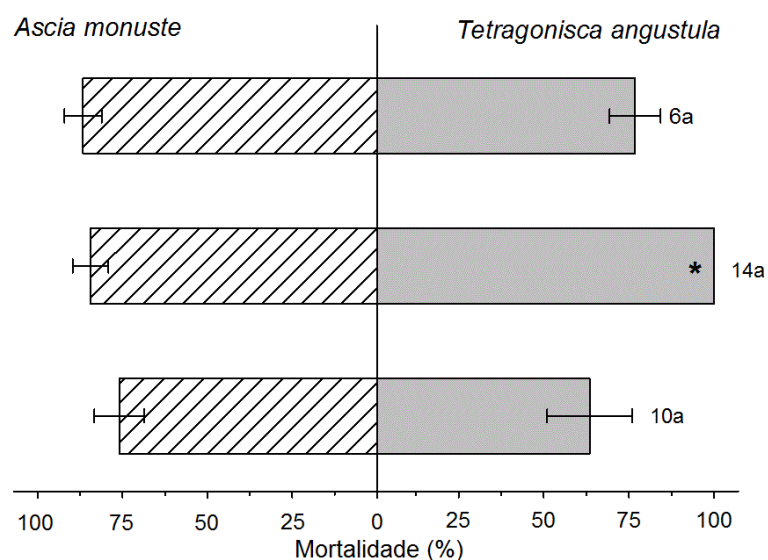


Figura 55 – Comparação das mortalidades (média \pm erro padrão) causadas pelas substâncias **6a**, **10a** e **14a** às larvas de *Ascia monuste* e a abelha *Tetragonisca angustula*. * A mortalidade causada pelo tratamento foi maior para aquele histograma pelo teste t a $P < 0,05$. A dose usada dos carbamatos foi a DL_{90} para as larvas de *A. monuste*. Apenas acetona foi utilizada no controle.

1.5. CONCLUSÕES

Este trabalho contribuiu para a obtenção de dezessete novos alcaloides tropânicos, sendo quatro obtidos pela reação de cicloadição (4+3) e os demais pela modificação química dos cicloadutos **5a** e **6a** obtidos em maiores rendimentos.

As transformações transcorreram eficientemente com rendimentos de até 97%, como foi o caso da reação de hidrogenação. Pequenas modificações foram obtidas na estrutura do alcaloide tropânico com o grupo carbamato, a fim de determinar a influência destas na atividade inseticida desses compostos.

Os resultados dos bioensaios mostraram que os compostos **6a**, **10a**, e **14a** apresentaram atividades elevadas contra larvas de segundo ínstar de *A. monuste*, com DL₉₀ de 2,06, 21,72, e 4,90 µg de substância por mg de inseto, e TL₅₀ de 7,0, 15,0 e 5,0 horas, respectivamente. Estes compostos mais ativos também foram testados quanto à sua toxicidade contra *S. saevissima*, inimigo natural de *A. monuste*, e contra *T. angustula*, um polinizador importante em sistemas agrícolas. O composto **6a** foi fisiologicamente seletivo em favor do predador *S. saevissima*, mas nenhum dos compostos testados foi seletivo ao polinizador *T. angustula*. Assim, no caso de desenvolvimento adicional de tal composto, se não for encontrada seletividade em relação ao polinizador, a aplicação em áreas agrícolas só deverá ocorrer durante o período sem atividade de tais insetos.

Em resumo, os resultados demonstram que os alcaloides tropânicos possuindo um grupo carbamato na estrutura são promissores para o desenvolvimento de novos inseticidas.

1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-266, 1925.

ANVISA. **Manual de protocolo para testes de eficácia de produtos desinfestantes**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, Brazil, 2004.

BAEK, S. H., KANG, J. H., HWANG, Y. H., OK, K. M., KWAK, K., CHUN, H. S. Detection of methomyl, a carbamate insecticide, in food matrices using terahertz time-domain spectroscopy. **Journal of Infrared, Millimeter and Terahertz Waves**, v. 37, p. 486–497, 2016.

BARBOSA L. C. A., ALVARENGA E. S., DEMUNER A. J., FIGUEIREDO R., SILVA A. A. Synthesis of new aliphatic and aromatic phytotoxic derivatives of 2 α ,4 α -dimethyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one. **Pest Management Science**, v. 59, p. 1043-1051, 2003.

BARBOSA, L. C. A., MALTHA, C. R. A., DEMUNER, A. J., FILOMENO, C. A.; SILVA, A. A. Síntese de novos herbicidas derivados do 1,2 α ,4 α ,5-tetrametil-8oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 241-246, 2004.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 189 p.

BARBOSA, L. C. A. **Introdução à Química Orgânica**, Editora Pearson Prentice Hall, 2 ed., São Paulo, Brasil, 2011. 331 p.

BERNAL, J., GARRIDO-BAILÓN, E., DEL-NOZAL, M. J., GONZÁLEZ-PORTO, A. V., MARTÍN-HERNÁNDEZ, R., DIEGO, J. C., JIMÉNEZ, J. J., BERNAL, J. L., HIGES, M. Overview of pesticide residues in stored pollen and their potential effect on bee colony (*Apis mellifera*) losses in Spain. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, p. 1964-1971, 2010.

CANTRELL, C. L., DAYAN, F. E., DUKE S. O. Natural products as sources for new pesticides. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 1231-1242, 2012.

CARRUTHERS, W., COLDHAM, I. **Modern methods of organic synthesis**. 4.ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2004. 506 p.

CRESPO, A. L. B., PICANÇO, M. C., BACCI, L., PEREIRA, E. J. G., GONRING, A. H. R. Seletividade fisiológica de inseticidas a *Vespidae* predadores de *Ascia monuste orseis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 237-242, 2002.

COWLING, A. P., MANN, J.; The Oxyallyl Cation in Synthesis: Preparation of Analogues of Cocaine. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, p. 1564-1568, 1978.

DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; PILÓ-VELOSO, D. Cicloadições [3+4] via cátions oxialílicos: aplicações em sínteses orgânicas. **Química Nova**, v. 20, n. 1, p. 18-29, 1997.

DAYAN, F. E., CANTRELL, C. L., DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 4022-4034, 2009.

EMBRAPA. **Guia para o reconhecimento de inimigos naturais de pragas agrícolas**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 47 p.

FAROOQ M., JABRAN K., CHEEMA Z. A., WAHID A., SIDDIQUE K. H. M. The role of allelopathy in agricultural pest management. **Pest Management Science**, v. 67, p. 493-506, 2011.

FERNANDES, F. L., BACCI, L., FERNANDES, M. S. Impact and selectivity of insecticides to predators and parasitoids. **EntomoBrasilis**, v. 3, p. 1-10, 2010.

FILHO, V. C., YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre

modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

FINNEY, D. J. **Probit analysis**. Cambridge: Cambridge University Press, 1971. 333 p.

GEROLT, P. Insecticides: their route of entry, mechanism of transport and mode of action. **Biological Reviews**, v. 58, p. 233–274, 1983.

GOULSON, D. Review: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology**, v. 50, p. 977-987, 2013.

GRADISH, A. E., SCOTT-DUPREE, C. D., SHIPP, L., HARRIS, C. R., FERGUSON, G. **Effect of reduced risk pesticides on greenhouse vegetable arthropod biological control agents**. *Pest Management Science* v.67, p. 82-86, 2011.

GRYNKIEWICZ, G., GADZIKOWSKA, M. Tropane alkaloids as medicinally useful natural products and their synthetic derivatives as new drugs. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 60, p. 439-463, 2008.

HOWE, G. A., JANDER, G. Plant immunity to insect herbivores. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 41-66, 2008.

HUMPHREY, A. J., O'HAGAN, D. Tropane alkaloid biosynthesis. A century old problem unresolved. **Natural Product Reports**, v. 18, p. 494–502, 2001.

INAM, R., BILGIN, C. Square wave voltammetric determination of methiocarb insecticide based on multiwall carbon nanotube paste electrode. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 43, p. 425-432, 2013.

ISMAN M. B. A renaissance for botanical insecticides? **Pest Management Science**, v. 71, p. 1587-1590, 2015.

LIU, T. X. Biology and life history of *Ascia monuste* (Lepidoptera: Pieridae), a potential pest of cruciferous vegetables. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 98, p. 726-731, 2005.

MAIRINK, S. M. Síntese de novos alcaloides tropânicos utilizando reações de cicloadição [4+3]. 2013. 142 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 2013.

MANN, J., BARBOSA, L. C. A. An Efficient Route to the Tropane Alkaloids. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, p. 787-790, 1992.

MARTIN, E. A., REINEKINGB, B., SEOC, B., STEFFAN-DEWENTERA, I. Natural enemy interactions constrain pest control in complex agricultural landscapes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, p. 5534-5539, 2013.

MARTINEZ, S. T., ALMEIRDA, M. R., PINTO, A. C. Alucinógenos naturais: um voo da Europa medieval ao Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2501-2507, 2009.

MATTHEWS, G. A. Attitudes and behaviours regarding use of crop protection products - A survey of more than 8500 smallholders in 26 countries. **Crop Protection**, v. 27, p. 834-846, 2008.

MAYAKADUWA, S. S., VITHANAGE, M., KARUNARATHNA, A., MOHAN, D., OK, Y. S. Interface interactions between insecticide carbofuran and tea waste biochars produced at different pyrolysis temperatures. **Chemical Speciation and Bioavailability**, v. 28, p. 110-118, 2016.

MITHÖFER, A., BOLAND, W. Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 431-450, 2012.

MONTAÑA, A. M.; RIBES, S.; GRIMA, P. M.; GRACÍA, F.; SOLANS, X.; FONT-BARDIA, M. 2-Functionalized furans as precursors of versatile cycloheptane synthons. **Tetrahedron**, v. 53, n. 34, p.11669-11684, 1997.

MOURE, J. S. A preliminary supra-specific classification of the Old World Meliponine bees (Hymenoptera, Apoidae). **Studia Entomologica**, v. 4, p. 181-242, 1961.

NATHANSON, J. A., HUNNICUTT, E. J., KANTHAM, L., SCAVONE, C. Cocaine as a naturally occurring insecticide. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, p. 9645-9648, 1993.

NEUMANN, P., CARRECK, N. L. Honey bee colony losses. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, p. 1-6, 2010.

NITHYAKALYANI, V., KANNAN, M., ANANDAN, R. Insecticide and salt tolerance of plant growth promoting root nodule bacteria. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, p. 942-956, 2016.

ÖZCANA, A., SAHIN, Y., OTURAN, M. A. Removal of protham from water by using electro-Fenton technology: Kinetics and mechanism. **Chemosphere**, v. 73, p. 737-744, 2008.

PASCUAL, M. V., PROEMMEL, S., BEIL, W., WARTCHOW, R., HOFFMANN, H. M. R. Oxazatricyclic Noradamantanes: Stereocontrolled Synthesis of Functionalized Scopolines, Related Cage Molecules, and Drug Leads. **Organic Letters**, v. 6, n. 23, p. 4155-4158, 2004.

PAULA V. F., BARBOSA L. C. A., DEMUNER A. J., PILÓ-VELOSO D., PICANÇO M. C. Synthesis and insecticidal activity of new amide derivatives of piperine. **Pest Management Science**, v. 56, p. 168-174, 2000.

PAULA V. F., BARBOSA L. C. A., TEIXEIRA R. R., PICANÇO M. C., SILVA G. A. Synthesis and insecticidal activity of new 3-benzylfuran-2-yl *N,N,N',N'*-

tetraethyldiamidophosphate derivatives. **Pest Management Science**, v. 64. p. 863-872, 2008.

PAVIA, D.L., LAMPMAN, G.M., KRIZ, G.S., VYVYAN, J.R., **Introdução à Espectroscopia**, 4.ed. Washington: Cengage Learning, 2010. 700 p.

PICANÇO, M. C., OLIVEIRA, I. R., ROSADO, J. F., SILVA, F. M., GONTIJO, P. C., SILVA, R. S. Natural biological control of *Ascia monuste* by the social wasp *Polybia ignobilis* (Hymenoptera: Vespidae). **Sociobiology**, v. 55, p. 1-10, 2010.

PERRIN, D. D., ARMAREGO, W.L.F. Purification of laboratory chemicals. 3.ed. Londres: Butterworth-Heinemann Ltd.,1994. 340p.

RAMOS, R. S., PICANCO, M. C., SANTANA, JR P. A., SILVA, E. M., BACCI, L., GONRING, A. H. R., SILVA, G. A. Natural biological control of lepidopteran pests by ants. **Sociobiology**, v. 59, p. 1389-1399, 2012.

RAO, H., HUANGFU, C., WANG, Y., WANG, X., TANG, T., ZENG, X., LI, Z., CHEN, Y. Physicochemical profiles of the marketed agrochemicals and clues for agrochemical lead discovery and screening library development. **Molecular Informatics**, v. 34, p. 331-338, 2015.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, p. 913-920, 2010.

RAWSON, D. I.; CARPENTER, B. K.; HOFFMANN, H. M. R. Loss of Allyl Cation Configuration in Cycloadditions to Electron-Rich Conjugated Dienes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 101, n. 7, p. 1786-1793, 1979.

ROSA, R. C. T., MOURA, R. M., PEDROSA, E. M. R. Efeitos do uso de *Crotalaria juncea* e carbofuran observados na colheita de cana planta. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 167-171, 2003.

SAS Institute. **SAS user's manual, version 9.4**. SAS Institute, Cary, 2013.

SCHULE, M. A. The role of cytochrome P450 monooxygenases in plant-insect Interactions. **Plant Physiology**, v. 112, p. 1411-1419, 1996.

SHIELDS, V. D. C., SMITH, K. P., ARNOLD, N. S., GORDON, I. M., SHAW, T. E., WARANCH, D. The effect of varying alkaloid concentrations on the feeding behavior of gypsy moth larvae, *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae). **Arthropod-Plant Interactions**, v. 2, p. 101–107, 2008.

SHIPP, J. L., WHITFIELD, G. H., PAPADOPOULOS, A. P. Effectiveness of the bumblebee, *Bombus impatiens* Cr. (Hymenoptera: Apidae), as a pollinator of greenhouse sweet pepper. **Scientia Horticulturae**, v. 57, p. 29-39, 1994.

SPARKS T. C. Insecticide discovery: An evaluation and analysis. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 107, p. 8-17, 2013.

TEIXEIRA R. R., PINHEIRO P. F., BARBOSA L. C. A., CARNEIRO J. W. M., FORLANI G. QSAR modeling of photosynthesis-inhibiting nostoclide derivatives. **Pest Management Science**, v. 66, p. 196-202, 2010.

VEERAPPAN, M., HWANG, I., PANDURANGAN, M. Effect of cypermethrin, carbendazim and their combination on male albino rat serum. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 93, p. 361-369, 2012.

WHALON, M. E., MOTA-SANCHEZ, D., HOLLINGWORTH, R. M. **Global pesticide resistance in arthropods**. Oxfordshire: CABI. 2008.

WHEELER, W. B. Role of research and regulation in 50 years of pest management in agriculture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4151-4155, 2002.

WRIGHT, D. J., VERKERK, R. H. J. Integration of chemical and biological control systems for arthropods: evaluation in a multitrophic context. **Pesticide Science**, v. 44, p. 207–218, 1995.

YOUNG, L. J., YOUNG, J. H. **Statistical ecology - A population perspective.**
Boston: Kluwer, 1998. 565p.

ZHANG, C., YANG, W., BAI, J., ZHAO, Y., GONG, C., SUN, X., ZHANG, Q.,
WANG, W. Mechanism and kinetic study on the gas-phase reactions of OH
radical with carbamate insecticide isoprocarb. **Atmospheric Environment**, v. 60,
p. 460-466, 2012.

CAPÍTULO 2

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS DE ANÁLOGOS AOS CADIOLÍDEOS

2.1. INTRODUÇÃO

Atualmente, 74% das substâncias utilizadas na medicina são produtos naturais ou preparadas empregando essas substâncias como modelo (Cragg e Newman, 2013; Bauer e Brönstrup, 2014). Dentre as diversas classes de produtos naturais encontram-se os butenolídeos. Na Figura 1 são apresentados alguns compostos contendo um anel butenolídeo, que foram isolados de organismos marinhos e apresentam atividade biológica. Os compostos **1** e **2** foram isolados do fungo endofítico marinho *Paecilomyces variotti* e possuem potente atividade antioxidante, sendo que **2** apresenta menor valor de IC₅₀ que o controle positivo hidroxitolueno butilado (BHT) (11,6 e 117,7 μM, respectivamente) (Zhang *et al.*, 2015). Os compostos **3**, **4** e **5** também foram isolados de um fungo marinho da espécie *Aspergillus terreus*. Estes compostos apresentam atividade expressiva contra o vírus H1N1 com valores de IC₅₀ de 29,2, 56,9 e 32,3 μM, respectivamente (Gao *et al.*, 2013).

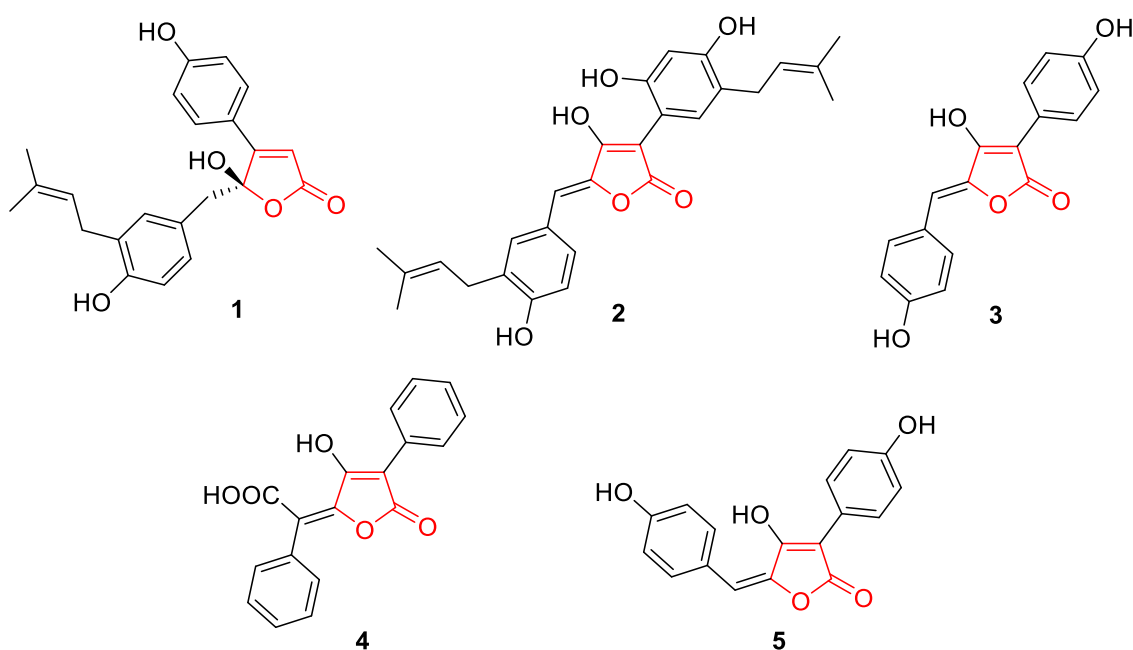
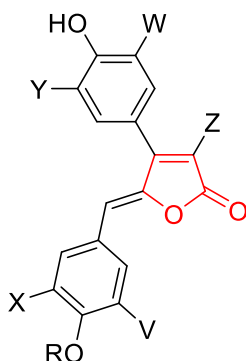


Figura 1 – Butenolídeos isolados de organismos marinhos.

Na Figura 2 são apresentados outros exemplos de butenolídeos comumente isolados de fontes marinhas, encontrados principalmente em ascídias, conhecidos como rubrolídeos. Estes compostos possuem diversas

atividades biológicas, tais como, antimicrobiana (Miao e Andersen, 1991; Sikorska *et al.*, 2012), citotóxica (Ortega *et al.*, 2000; Bellina *et al.*, 2001; Bellina *et al.*, 2002), anti-inflamatória (Pearce *et al.*, 2007), antioxidante, anti-influenza A (H1N1) (Zhu *et al.*, 2014) e inibidores das proteínas fosfatases (Miao e Andersen, 1991) e da aldose redutase humana (Manzanaro *et al.*, 2006).



Rubrolídeo A: R=Z=H; V=X=Y=W=Br

Rubrolídeo B: R=H; V=X=Y=W=Br; Z=Cl

Rubrolídeo C: R=W=Y=H; V=X=Br

Rubrolídeo D: R=Z=V=X=H; W=Y=Br

Rubrolídeo E: R=Z=V=X=Y=W=H

Rubrolídeo F: R=Me; Z=V=X=Y=W=H

Rubrolídeo I: R=H; V=X=Y=Br; Z=Cl

Rubrolídeo J: R=H; Z=H; V=X=Y=Br

Rubrolídeo K: R=H; X=H; V=Y=Br; Z=Cl

Rubrolídeo L: R=H; Y=H; V=X=Br; Z=Cl

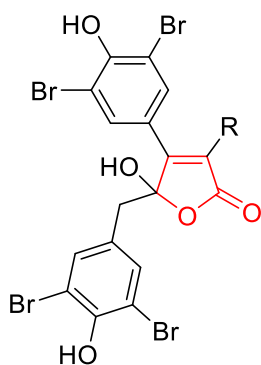
Rubrolídeo M: R=H; V=Br; Y=X=H; Z=Cl

Rubrolídeo N: R=Z=W=H; V=Z=Br; Y=Cl

Rubrolídeo O: R=X=H; Y=W=V=Br; X=Cl

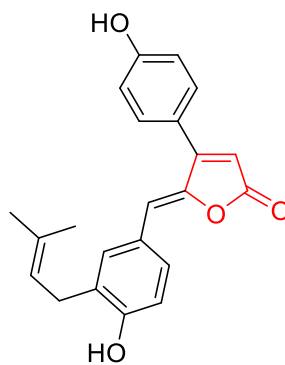
Rubrolídeo P: R=Me; Z=X=V=H; Y=W=Br

Rubrolídeo Q: R=Me; Z=X=V=Y=H; W=Br

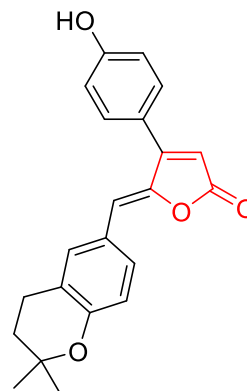


Rubrolídeo G: R=H

Rubrolídeo H: R=Cl



Rubrolídeo R



Rubrolídeo S

Figura 2 – Rubrolídeos isolados de organismos marinhos.

Os cadiolídeos são outra classe de butenolídeos, também provenientes de ascídias marinhas. Assim como os rubrolídeos, os cadiolídeos também possuem a unidade 4-aryl-5-arylmetilenofuran-2(5H)-ona. Na Figura 3 são apresentadas as estruturas dos cadiolídeos A-I.

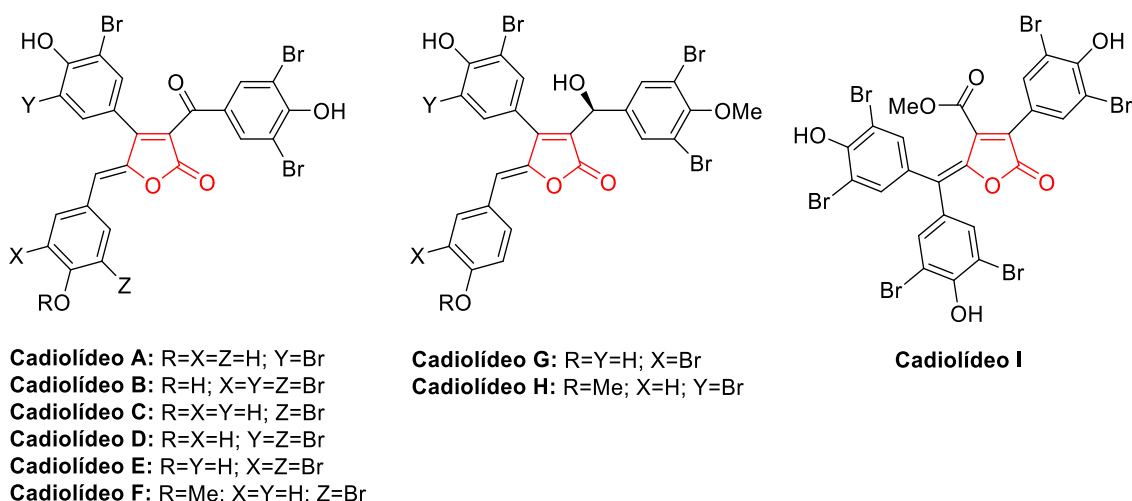


Figura 3 – Cadiolídeos isolados de organismos marinhos.

Os cadiolídeos A e B foram os primeiros a serem isolados, juntamente com o rubrolídeo A. Estes compostos foram encontrados em ascídias do gênero *Botryllus*, coletadas em Barrang Caddi na Indonésia (Smith *et al.*, 1998). Os cadiolídeos B-I foram isolados de ascídias *Pseudodistoma antinboja* (cadiolídeos C-F) (Wang *et al.*, 2012) e do gênero *Synoicum* (cadiolídeos B, E, G-I) (Won *et al.*, 2012; Smitha *et al.*, 2014). O cadiolídeo F foi obtido como uma mistura de isômeros *Z/E* com predomínio da forma *Z*.

Os cadiolídeos B-F apresentam atividade expressiva contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM), com faixas de concentração inibitória mínima de 0,5-1, 0,13-0,5, 0,25-1, 0,5-2 e 1-2 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Estes valores foram comparáveis ou melhores que os medicamentos comercializados, como a vancomicina (0,5-1 $\mu\text{g mL}^{-1}$), linezolida (2-4 $\mu\text{g mL}^{-1}$), daptomicina (<32 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e platensimicina (8 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Wang *et al.*, 2012). SARM é uma séria ameaça para a saúde humana, não somente para pacientes hospitalizados, mas também para indivíduos saudáveis, podendo levar à morte (Hede, 2014).

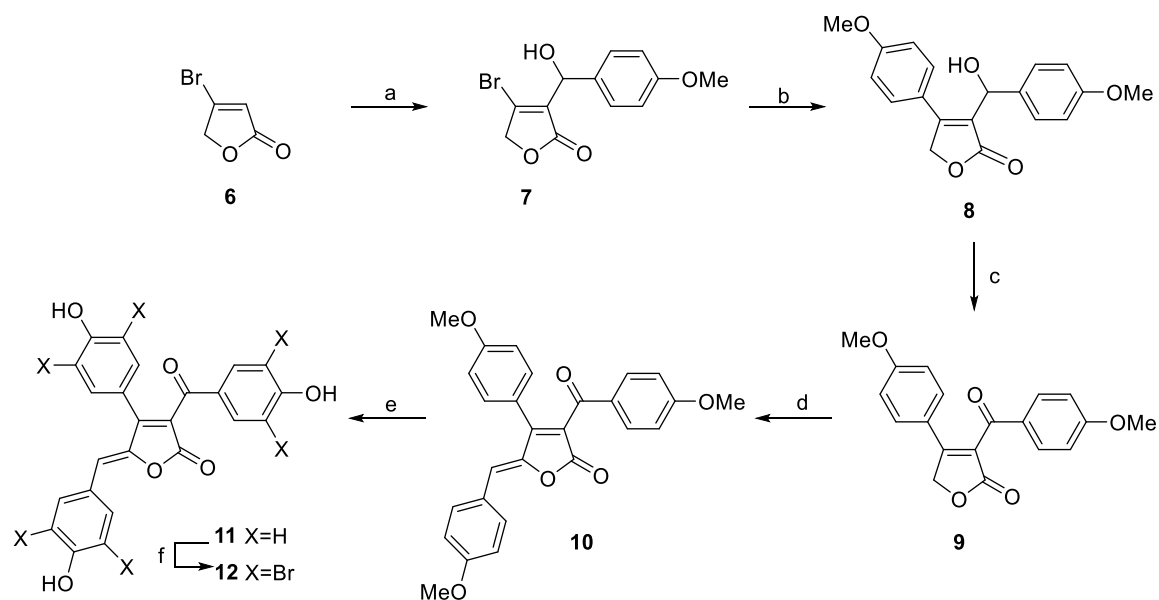
Além da atividade antibacteriana, outra recente publicação revela que o cadiolídeo E inibe fortemente a enzima isocitrato liase de *Candida albicans*, com IC_{50} de 7,62 μM , sugerindo que o mesmo possui atividade antifúngica (Ahn *et al.*, 2013). O antifúngico utilizado como controle positivo, 3-nitropropinato, inibe a mesma enzima com IC_{50} de 13,91 μM . Os cadiolídeos H e I também apresentaram atividade inibitória com IC_{50} de 17,16 e 10,36 μM ,

respectivamente. Também foi reportado que o cadiolídeo B inibe, na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, o vírus *Japanese encephalitis* (Smitha *et al.*, 2014).

Todos os estudos realizados até o momento envolvem a avaliação da citotoxicidade dos cadiolídeos e os resultados mostraram que tais compostos não apresentam atividade citotóxica (Won *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012; Boulangé *et al.*, 2015).

2.1.1. Síntese de cadiolídeos naturais e análogos

A primeira síntese de um cadiolídeo foi reportada em 2005 por Boukouvalas e Pouliot. Neste trabalho, o cadiolídeo B (**12**) foi sintetizado a partir da lactona 4-bromofuran-2(5H)-ona (**6**), em 6 etapas e 42% de rendimento global (Esquema 1).

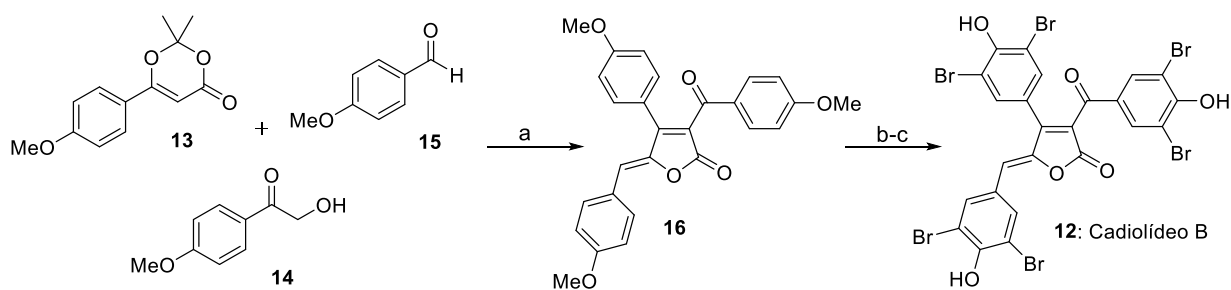


Esquema 1- Reagentes e condições: (a) 2,6-luditina, $n\text{-Bu}_2\text{BOTf}$, *p*-anisaldeído, THF, -78 à -20 °C, 45 min, 64%; (b) ácido *p*-metoxifenilborônico, AsPh_3 , Ag_2O , $\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2$, THF, H_2O , 23 °C, 20 h, 86%; (c) DMP, CH_2Cl_2 , 23 °C, 15 h, 89%; (d) TBDMSOTf, *p*-anisaldeído, $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 23 °C, 1 h; DBU, 23 °C, 2 h, 94%; (e) BBr_3 , CH_2Cl_2 , -78 °C à 23 °C, 20 h, 93%; (f) Br_2 , KBr, dioxano, H_2O , 23 °C, 1 h, 98% (Boukouvalas e Pouliot, 2005).

A primeira reação constituiu na formação do 2-furanolato de dibutilboro a partir de **6**, seguido por reação aldólica com *p*-anisaldeído (64% de rendimento)

(Esquema 1). Na etapa seguinte, foi feita a inserção do grupo aril na posição 4 do anel butenolídeo, utilizando a reação de acoplamento cruzado de Suzuki (86% de rendimento). Em seguida, a cetolactona **9** foi obtida após reação de oxidação, utilizando periodinana de Dess-Martin (DMP), com 89% de rendimento. A introdução do grupo arilmetileno na posição 5 do anel butenolídeo foi realizada com 94% de rendimento, sendo realizada uma reação aldólica com *p*-anisaldeído, TBDMSOTf e *i*-Pr₂NEt seguida por reação de β -eliminação na presença de DBU. As etapas seguintes para formação do cadiolídeo B consistiram na remoção dos grupos metila com BBr₃ (93% de rendimento) e bromação com Br₂/KBr (98%).

A síntese do cadiolídeo B e análogos foi reportada pelo grupo de pesquisa de Franck e Leleu (Peixoto *et al.*, 2013) em apenas 3 etapas, com 48% de rendimento global a partir do composto **13** (Esquema 2). Entretanto, vale ressaltar que **13** foi obtido após 4 etapas partindo do ácido *p*-metoxibenzóico com 76% de rendimento, o que daria um total de 7 etapas com 36% de rendimento global. Apesar disso, estes autores reportaram a construção do esqueleto dos cadiolídeos utilizando uma nova metodologia.



Esquema 2 – Reagentes e condições: (a) Et₃N, tolueno, 300 W, 150 °C, 5 min, 77%; (b) BBr₃, CH₂Cl₂, -78 °C à 20 °C, 20 h, 94%; (c) Br₂, KBr, H₂O, dioxano, t.a., 24 h, 67%. (Peixoto *et al.*, 2013).

Inicialmente foi feita uma reação multicomponente em microondas (300 W), utilizando os reagentes **13-15**, trietilamina e tolueno. O butenolídeo **16** foi obtido com 77% de rendimento. As etapas seguintes para obtenção do cadiolídeo B foram a reação de desmetilação com BBr₃ (94% de rendimento) e a bromação com Br₂/KBr (67% de rendimento) (Esquema 2).

No trabalho Peixoto *et al.* (2013) também foram sintetizados os análogos **17-23** (Figura 4), utilizando reação multicomponente similar à apresentada no Esquema 2.

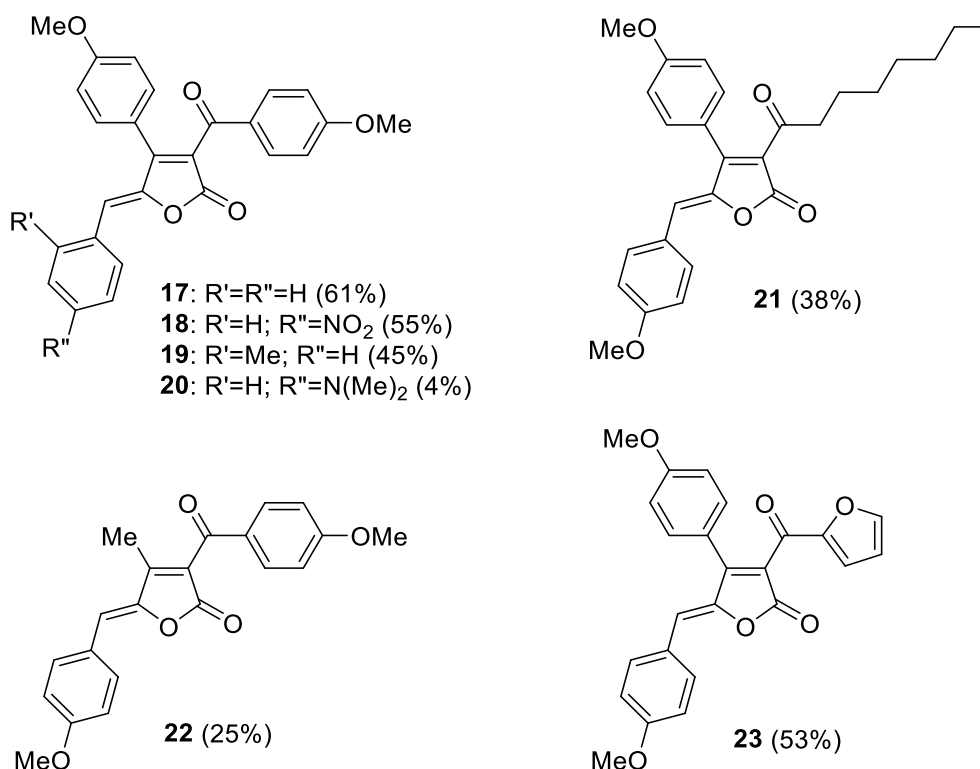


Figura 4 – Análogos de cadiolídeos obtidos por reação multicomponente (Peixoto *et al.*, 2013).

Utilizando da mesma estratégia da reação multicomponente, o grupo de pesquisa de Franck e Leleu reportou, recentemente, a síntese dos cadiolídeos A (**35**), B (**36**) e C (**31**) e de 27 análogos, representados da Figura 5 (Boulangé *et al.*, 2015).

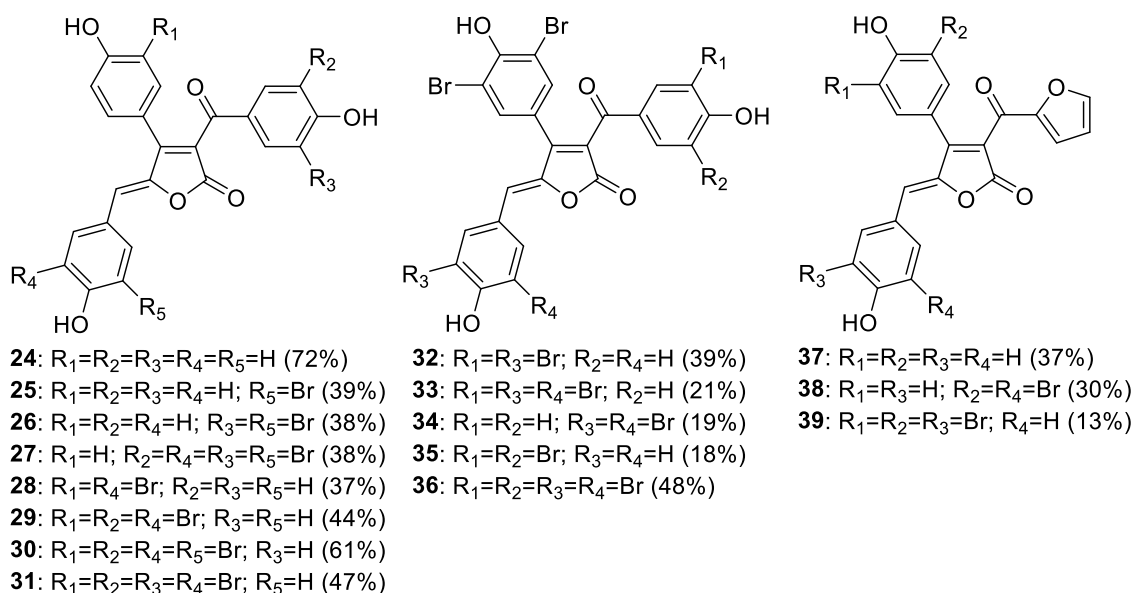


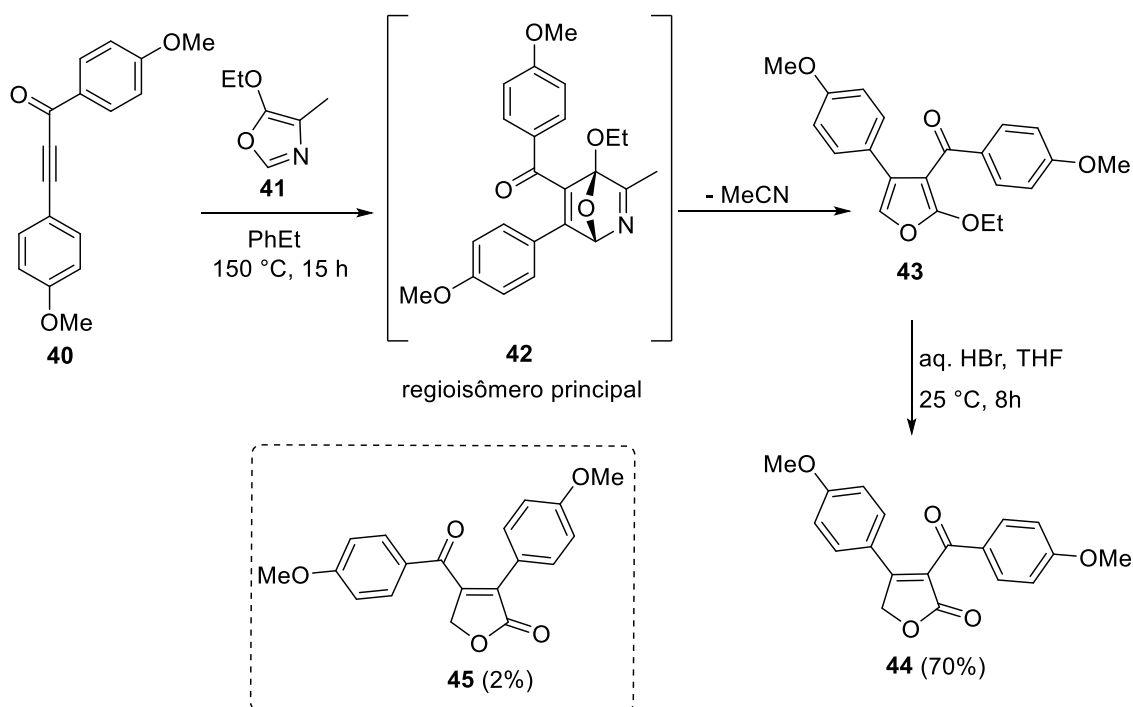
Figura 5 – Análogos de cadiolídeos obtidos por reação multicomponente (Boulangé *et al.*, 2015).

As atividades antibacterianas dos compostos **24-39**, bem como dos respectivos precursores metoxilados, foram avaliadas contra cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Os compostos metoxilados foram inativos nas concentrações testadas ($125 \mu\text{g mL}^{-1}$), enquanto os compostos hidroxilados apresentaram atividade moderada ou significativa. A presença de átomos de bromo e a posição dos mesmos influenciaram na atividade e, a presença do anel furânico mostrou um aumento significativo na atividade antibacteriana (Boulangé *et al.*, 2015).

Os compostos mais ativos foram **29**, **32** e **38**, com MIC de $1,95 \mu\text{g mL}^{-1}$ contra *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi* e *Escherichia coli* 405, enquanto o antibiótico padrão tetraciclina apresenta MIC de 3,90, 0,24, 0,48, 7,81 e $7,81 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Dentre os cadiolídeos naturais, o cadiolídeo C foi o mais ativo, com MIC de $3,90 \mu\text{g mL}^{-1}$ para as bactérias mencionadas (Boulangé *et al.*, 2015).

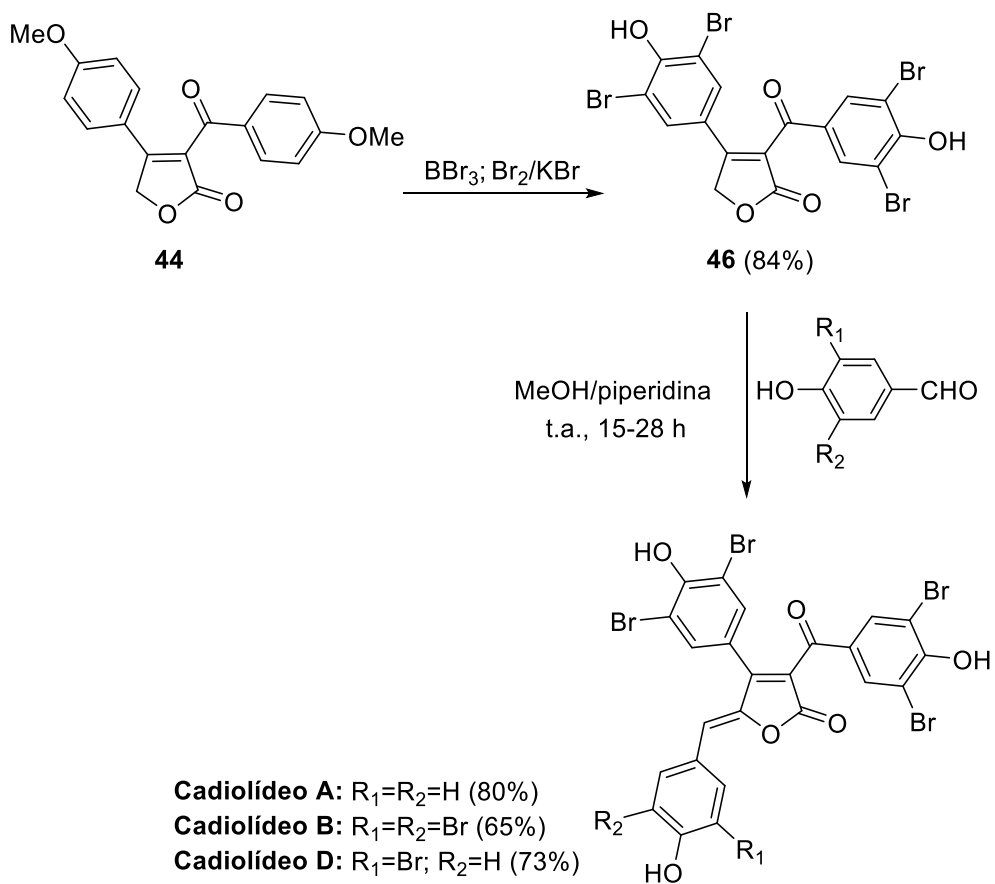
Recentemente, Boukouvalas e Thibault descreveram a síntese total dos cadiolídeos A, B e D utilizando uma metodologia diferente das descritas anteriormente (Boukouvalas e Thibault, 2015). Nesta, destacam-se duas etapas: a primeira envolve uma reação “one-pot” de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder, utilizando o cetoalquino **40** e o oxazol **41**, seguida por reação de hidrólise

para gerar o butenolídeo precursor **44** (Esquema 3). A segunda envolve a reação de condensação de Knoevenagel para obtenção dos cadiolídeos A, B e D (Esquema 4).



Esquema 3- Síntese do butenolídeo **44** por cicloadição/cicloversão de Diels-Alder (Boukouvalas e Thibault, 2015).

Na primeira etapa, o cetoalquino **40**, obtido pela reação de acoplamento de Sonogashira entre cloreto de 4-metoxibenzoíla e 1-etinil-4-metoxibenzeno, reage com o oxazol **41**, levando à formação do intermediário **42** (composto não isolado). Logo em seguida, ocorre a reação de cicloversão com perda de acetonitrila, formando o composto **43**, que foi obtido e submetido diretamente à hidrólise utilizando ácido bromídrico. A lactona **44** foi obtida em 70% de rendimento e seu isômero **45** em 2% de rendimento (Esquema 3). Foram realizadas as reações de desmetilação e bromação de **44**, obtendo **46** com 84% de rendimento. Finalmente, a reação de condensação de Knoevenagel permitiu a obtenção dos cadiolídeos A, B e D com rendimentos de 80%, 65% e 73%, respectivamente (Esquema 4).



Esquema 4- Síntese dos cadiolídeos A, B e D (Boukouvalas e Thibault, 2015).

2.2. JUSTIFICATIVA

O cenário atual é marcado pelo aumento do número de biotipos de microrganismos resistentes e pela redução nas pesquisas e desenvolvimento de novos fármacos, o que é preocupante, principalmente com relação às infecções causadas por bactérias (Hede, 2014; May, 2014). Sendo assim, a busca por novas substâncias, com novos mecanismos de ação ou que causem uma menor pressão seletiva torna-se uma necessidade. Neste contexto, os cadiolídeos merecem destaque, pois apresentam potente atividade antibacteriana e baixa citotoxicidade.

Para a síntese dos cadiolídeos, algumas estratégias vêm sendo desenvolvidas, como, por exemplo a estratégia reportada por Boukouvalas e Thibault (2015), que utiliza como etapa chave uma reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder.

Com o intuito de se obter análogos aos cadiolídeos variando os substituintes nos anéis A, B e C, conforme mostrado na Figura 6, e avaliar a atividade antibacteriana desses compostos sintetizados, foi escolhida a metodologia proposta por Boukouvalas e Thibault (2015). Tal metodologia, além de apresentar um bom rendimento global (38 a 47% a partir do cetoalquino **40**), foi pouco explorada para a síntese de análogos.

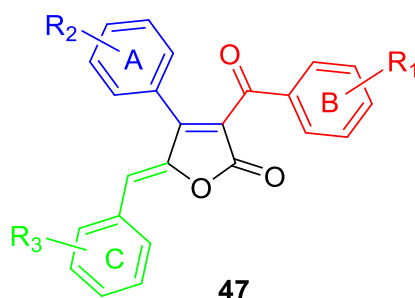
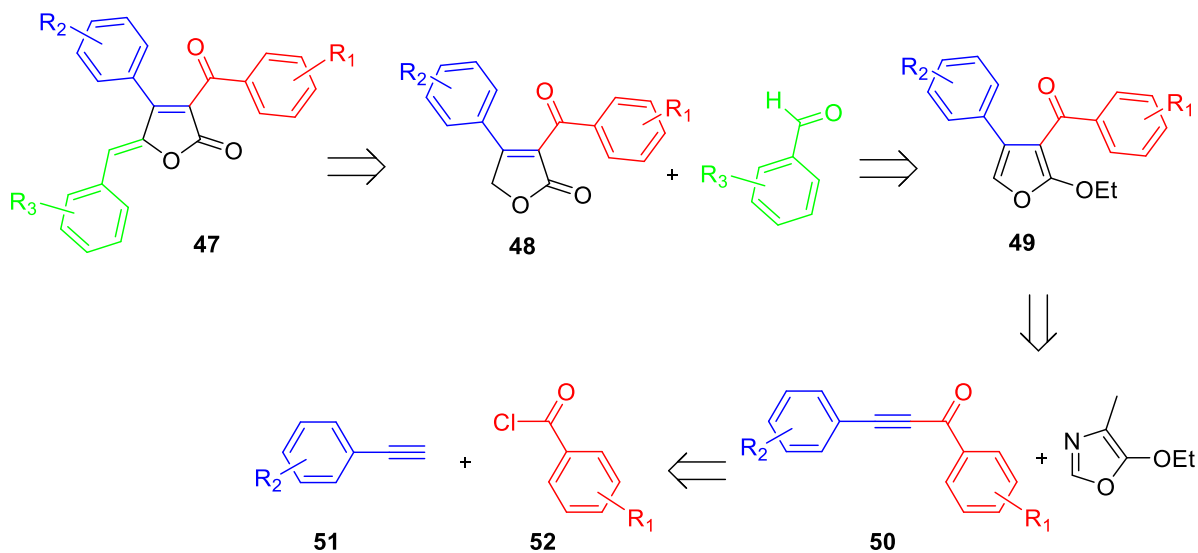


Figura 6 – Estrutura genérica dos cadiolídeos.

Empregando a metodologia escolhida, os análogos aos cadiolídeos seriam obtidos conforme proposta retrosintética apresentada no Esquema 5. Estes análogos correspondentes à estrutura **47** seriam obtidos pela reação de alquilidenação entre a lactona **48** e aldeídos com diferentes substituintes. As lactonas, correspondente à estrutura **48**, seriam obtidas pela reação de

cicloadição/cicloversão de Diels-Alder, utilizando a inona **50** e 5-etoxi-4-metiloxazol, seguida por reação de hidrólise de **49**. As inonas **50** seriam obtidas pela reação de acoplamento de Sonogashira entre etinilbenzeno **51** e cloreto de ácidos **52** com diferentes substituições nos anéis aromáticos.



Esquema 5 – Análise retrossintética para obtenção dos análogos aos cadiolídeos.

As substituições observadas nos anéis aromáticos dos cadiolídeos naturais (Cadiolídeos A-I) são: metoxila, hidroxila e bromo. Em função disso, os substituintes aromáticos escolhidos para os análogos sintetizados seriam estes mesmos grupos. Obtidos os análogos aos cadiolídeos, estes seriam submetidos a ensaios biológicos para avaliar suas propriedades inibitórias contra o crescimento de microrganismos e inibição de crescimento de biofilme bacteriano, sendo também avaliado como o padrão de substituição dos anéis aromáticos interfeririam nas atividades biológicas.

2.3. MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1. Técnicas experimentais

Para a cromatografia em camada delgada (CCD), foram usadas placas Polygram-UV₂₅₄, Macherey - Nagel (0,20 mm, 20 x 20 cm). Após eluição e após visualização em câmara de luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm, as placas de CCD foram reveladas com solução de permanganato de potássio, vanilina ou ácido fosfomolibdico.

As separações foram realizadas utilizando-se sílica gel 60 (70-230 mesh) ou sílica gel 60 (230-400 mesh), como fases estacionárias.

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

2.3.2. Técnicas espectroscópicas

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos empregando-se a técnica reflectância total atenuada (ATR) em equipamento Varian 660-IR com acessório GladiATR.

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em aparelho Varian Mercury 300 (300 MHz). Utilizou-se água deuterada, clorofórmio deuterado, dimetilsulfóxido deuterado ou acetona deuterada como solvente. Os espectros foram referenciados pelo sinal do tetrametilsilano (TMS) ($\delta = 0,00$). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

Os espectros de massas foram obtidos em um equipamento Shimadzu GC/MS-QP5050A.

2.3.3. Purificação e preparo de reagentes e solventes

2.3.3.1. Secagem do metanol (MeOH)

A um balão de 500 mL foram adicionados 2,5 g de magnésio, 0,25 g de iodo molecular e 50 mL de metanol. O sistema foi refluxado durante uma hora. Após esse tempo, 250 mL de metanol foi adicionado ao balão, onde foi mantido sob refluxo por mais 2 horas. Posteriormente, o metanol anidro foi destilado e

devidamente armazenado sobre peneira molecular 4 Å em um frasco de vidro âmbar devidamente vedado, sob atmosfera de nitrogênio (Perrin e Armarego, 1994).

2.3.3.2. Secagem do etanol (EtOH)

A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de etanol 95% e 80 g de óxido de cálcio. O sistema foi refluxado durante 6 horas. Em seguida, o etanol absoluto foi destilado e devidamente armazenado sobre peneira molecular 4 Å em um frasco de vidro âmbar devidamente vedado, sob atmosfera de nitrogênio (Perrin e Armarego, 1994).

2.3.3.3. Purificação do tetraidrofurano (THF)

A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de THF e 12 g de hidreto de cálcio. O sistema foi refluxado durante 20 horas. Em seguida, o THF foi destilado e transferido para outro balão de 500 mL, contendo sódio metálico. O sistema foi refluxado durante uma hora. A seguir, benzofenona foi adicionada ao balão contendo o THF, deixando o sistema sob refluxo até que a mistura reacional adquirisse a coloração azul. Após a mudança na coloração, THF anidro foi destilado e armazenado sobre peneira molecular 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de nitrogênio (Perrin e Armarego, 1994).

2.3.3.4. Secagem do diclorometano (DCM)

A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de diclorometano e 3 g de hidreto de cálcio. O sistema foi refluxado durante três horas. Em seguida, o diclorometano anidro foi destilado e armazenado sobre peneira molecular 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de nitrogênio (Perrin e Armarego, 1994).

2.3.3.5. Purificação da *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA)

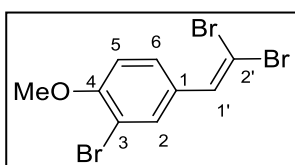
A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de *N,N*-diisopropiletilamina sobre lentilhas de hidróxido de potássio. A mistura foi refluxada por duas horas. Após este período, a *N,N*-diisopropiletilamina foi destilada e armazenada sobre lentilhas de hidróxido de potássio (Perrin e Armarego, 1994).

2.3.3.6. Secagem do clorofórmio

A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de clorofórmio e 3 g de carbonato de potássio previamente seco em mufla por 5 horas a 300 °C. O sistema foi deixado sob refluxo durante cinco horas. Em seguida, o clorofórmio anidro foi destilado e armazenado sobre peneira molecular 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de nitrogênio (Perrin e Armarego, 1994).

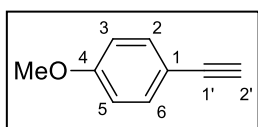
2.3.4. Procedimentos sintéticos

2.3.4.1. 2-bromo-4-(2,2-dibromovinil)-1-metoxibenzeno (59)



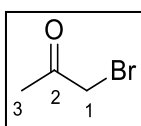
Em um balão bitubulado (25 mL), sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética foi adicionado PPh₃ (2,44 g, 9,30 mmol), CBr₄ (1,54 g, 4,65 mmol) e diclorometano anidro (5 mL). O sistema reacional foi resfriado a 0 °C e uma solução de 3-bromo-4-metoxibenzaldeído (0,500 g, 2,33 mmol) em diclorometano anidro (5 mL) foi adicionada lentamente. A mistura foi aquecida até temperatura ambiente, permanecendo sob agitação por 4 horas. A purificação foi realizada por filtração da mistura reacional através de uma camada de sílica gel (CH₂Cl₂). A evaporação do solvente forneceu **59** como um sólido amarelo claro em 94% de rendimento (804 mg, 2,19 mmol) em estado puro analiticamente, confirmado por CCD e pelas técnicas espectroscópicas. **T_f**: 51,1-51,9 °C. **CCD**: 0,58 (hexano: éter dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3011, 2936, 2836, 2019, 1592, 1491, 1254, 1050, 1013, 882, 800, 710, 601, 435. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 3,91 (s, 3H, OMe), 6,88 (d, $J_{5,6} = 8,6$ Hz, 1H, 5), 7,35 (s, 1H, 1'), 7,48 (dd, $J_{6,5} = 8,6$ Hz e $J_{6,3} = 2,1$ Hz, 1H, 6), 7,77 (d, $J_{3,6} = 2,1$ Hz, 1H, 3). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 56,3 (OMe), 89,0 (2'), 111,4 (6), 111,5 (2), 128,8 (5), 129,1 (4), 133,2 (3), 134,9 (1'), 155,8 (1). **EM, m/z (%)**: 368 ([M⁺], C₉H₇Br₃O, 32), 370 ([M+2], 97), 372 ([M+4], 100), 374 ([M+6], 30), 359 (14), 357 (50), 355 (48), 353 (16), 329 (9), 327 (9), 276 (6), 250 (6), 248 (11), 246 (6), 212 (15), 210 (16), 197 (17), 195 (17), 169 (24), 167 (24), 116 (12), 101 (6), 100 (5), 99 (5), 98 (5), 88 (29), 87 (13), 86 (6), 75 (7), 74 (9), 63 (14), 62 (28), 61 (12), 53 (5), 51 (8), 50 (21).

2.3.4.2. 1-etinil-4-metoxibenzeno (61)



Em um balão bitubulado (25 mL) foi adicionado 2-bromo-4-(2,2-dibromovinil)-1-metoxibenzeno (**59**) (0,20 g, 0,54 mmol) solubilizado em éter dietílico anidro (10 mL). O sistema foi resfriado a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ e *n*-BuLi (1,6 M em hexano, 1 mL, 1,6 mmol) diluído em éter dietílico anidro (2 mL) foi adicionado lentamente. Após agitação durante 1 hora a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, a mistura foi aquecida até a temperatura ambiente e a agitação mantida por mais 1 hora. A mistura reacional foi vertida em água destilada e extraída com éter dietílico (3 x 10 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO_4 anidro. Na remoção do solvente, um óleo castanho foi obtido e submetido à purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:éter dietílico; 4:1 v/v), o composto **61** foi obtido como um líquido amarelo claro em 14% de rendimento (10 mg, 0,076 mmol). **CCD**: 0,33 (hexano). **IV** ($\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3284, 2956, 2925, 2838, 1605, 1505, 1463, 1290, 1246, 1170, 1029, 831, 640, 537. **EM**, *m/z* (%): 132 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}$, 98), 133 ($[\text{M}+1]$, 9), 117 (40), 102 (9), 90 (8), 89 (100), 75 (13), 74 (13), 63 (53), 62 (33), 61 (10), 51 (20), 50 (19).

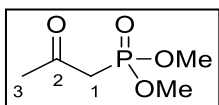
2.3.4.3. Bromoacetona (62)



Em um balão bitubulado de fundo redondo (100 mL), contendo acetona (34,1 g, 587 mmol) e HBr 48% (8 mL), sob agitação magnética e a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, foi adicionado bromo (9,33 g, 3 mL, 58,7 mmol) com auxílio de um funil de adição, por um período de 30 minutos. A reação foi mantida sob agitação magnética e temperatura ambiente por uma hora. Em seguida, o excesso de HBr foi removido pela passagem de nitrogênio gasoso na mistura reacional. Na etapa seguinte, foram adicionados 20 mL de água destilada no meio reacional e feita a extração com diclorometano (3 x 60 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaHCO_3 (1 x 30 mL) e NaCl (1 x 30 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro e concentrada sob pressão reduzida à temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, produzindo um líquido amarelo claro lacrimejante que se tornou castanho escuro (14,4 g, 105 mmol, 89%), identificado como o produto **62**. O produto resultante da monobromação foi utilizado sem qualquer tipo de purificação adicional. **CCD**: 0,61 (hexano: éter dietílico, 1:1 v/v). **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 2,36 (s,

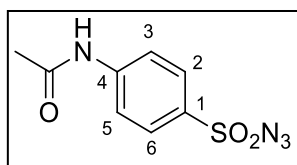
3H, 3), 3,88 (s, 2H, 1). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 27,1 (3), 34,8 (1), 199,8 (2).

2.3.4.4. Dimetil-2-oxopropilfosfonato (**63**)



Em um balão bitubulado (50 mL), foi adicionado bromoacetona (**62**) (6,8 g, 50 mmol) a uma suspensão de KI (8,3 g, 50 mmol) em acetona (10 mL) e MeCN (12,5 mL) sob agitação. A agitação foi continuada durante 1 h à temperatura ambiente. Trimetilfosfito (5,9 ml, 50 mmol) foi adicionado lentamente. Após 12 horas à temperatura ambiente, a mistura foi aquecida a 50 °C por um período de 1 hora, para assegurar a conversão completa. A filtração através de uma camada de celite e a evaporação dos dissolventes sob pressão reduzida forneceu o produto em bruto. A purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (acetato de etila: metanol, 97:3 v/v) proporcionou o fosfonato **63** (5,2 g, 31 mmol, 63%) como um líquido amarelo. **CCD**: 0,33 (acetato de etila: metanol, 97:3 v/v). **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 2,30 (s, 3H, 3), 3,08 (d, $J_{1,P} = 22,8$ Hz, 2H, 1), 3,77 (d, $J_{\text{OMe},P} = 11,2$ Hz, 6H, OMe). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 31,4 (s, 3), 42,2 (d, $J_{1,P} = 127,9$ Hz, 1), 53,0 (d, $J_{\text{OMe},P} = 6,4$ Hz, OMe), 199,6 (s, 2). **EM, m/z (%)**: 166 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_4\text{P}$, 12), 167 ($[\text{M}+1]$, 2), 151 (27), 124 (90), 119 (16), 109 (84), 95 (8), 94 (100), 79 (53), 63 (8), 62 (7), 59 (6).

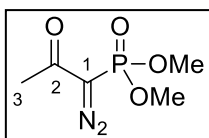
2.3.4.5. Azida de *p*-acetamidobenzenossulfonila (**64**)



Em um balão de 50 mL, sob agitação magnética, foi adicionado cloreto de 4-acetamidobenzenossulfonila (1,50 g, 6,42 mmol) e diclorometano (12 mL). A essa suspensão foi adicionado brometo de tetrabutilamônio (10,0 mg, 0,03 mmol), seguido por uma solução de NaN_3 (630 mg, 9,63 mmol) em H_2O (30 mL). A agitação foi mantida à temperatura ambiente por 12 horas, sendo formadas duas fases límpidas. A fase orgânica foi lavada com H_2O (2 \times 5 mL), secada com MgSO_4 e o solvente removido sob pressão reduzida. Um sólido branco, identificado como **64** (1,38 g, 5,71 mmol, 89%) foi utilizado diretamente sem qualquer purificação adicional. **CCD**: 0,48 (acetato de etila). **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 2,24 (s, 3H, CH_3), 7,78 (d, $J_{2,3} = J_{6,5} = 8,9$ Hz, 2H, 2 e 6),

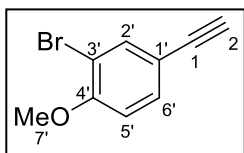
7,83 (s, 1H, NH), 7,89 (d, $J_{3,2} = J_{5,6} = 8,9$ Hz, 2H, 3 e 5). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 24,8 (CH_3), 119,5 (2 e 6), 129,0 (3 e 5), 132,6 (1), 144,0 (4), 168,9 ($\text{C}(\text{O})$).

2.3.4.6. Dimetil-1-diazo-2-oxopropilfosfonato (65)



Em um balão bitubulado (25 mL), sob agitação magnética, foi adicionado uma solução de dimetil-2-oxopropilfosfonato (**63**) (500 mg, 3,01 mmol) em tolueno anidro (3 mL). O sistema foi resfriado à 0 °C e NaH (132 mg de 60% em óleo mineral; 3,30 mmol) foi adicionado em porções. Após a evolução de gás ter cessado, uma solução de azida de *p*-acetamidobenzenossulfonila (**64**) (795 mg, 3,30 mmol) em THF anidro (2 mL) foi adicionada gota a gota. A suspensão leitosa, que antes era altamente viscosa e de difícil agitação, foi convertida em uma solução de coloração amarelo-marrom menos viscosa. Após 16 h, a mistura foi diluída com éter de petróleo, filtrada através de uma camada de celite e lavada com Et₂O. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um resíduo viscoso de coloração marrom. A purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (acetato de etila: éter de petróleo, 3:1 v/v) proporcionou **65** (260 mg, 1,35 mmol, 45%) como um líquido amarelo. **CCD**: 0,20 (acetato de etila: éter de petróleo, 3:1 v/v). **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 2,26 (s, 3H, 3), 3,84 (d, $J_{\text{OMe,P}} = 11,9$ Hz, 6H, OMe). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 27,1 (3), 53,6 (d, $J_{\text{OMe,P}} = 5,5$ Hz, OMe), 112,9 (1), 189,9 (d, $J_{2,\text{P}} = 13,0$ Hz, 2). **EM, m/z (%)**: 164 ($[\text{M}-\text{N}_2]$, 4), 138 (19), 137 (22), 136 (4), 127 (78), 110 (100), 109 (78), 108 (6), 106 (9), 105 (26), 95 (32), 93 (7), 80 (23), 79 (81), 78 (5), 77 (4), 65 (9), 63 (5), 62 (4), 56 (42), 55 (19).

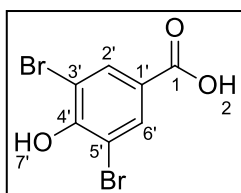
2.3.4.7. 2-bromo-4-etinil-1-metoxibenzeno (60)



Em um balão bitubulado (25 mL) adicionou-se 3-bromo-4-metoxibenzaldeído (876 mg, 4,07 mmol) e K₂CO₃ anidro (1,12 g, 8,10 mmol). Sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética foi adicionado MeOH anidro (10 mL) seguido do reagente de Bestmann-Ohira (**65**) (938 mg, 4,88 mmol) e a agitação foi continuada por 8 horas. A mistura reacional foi diluída em Et₂O (50 mL), lavada como solução aquosa de NaHCO₃ 5% m/v (50 mL) e secada com MgSO₄. O solvente foi

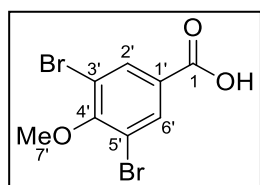
removido sob pressão reduzida, fornecendo um resíduo viscoso de coloração laranja. A purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:éter dietílico, 1:1 v/v) proporcionou o alquino **60** (789 mg, 3,76 mmol, 93%) como um sólido amarelo palha. **T_f**: 91,4-92,0 °C. **CCD**: 0,53 (hexano:éter dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3302, 3266, 3007, 2942, 2640, 2538, 2028, 1887, 1782, 1593, 1491, 1465, 1284, 1251, 1194, 1142, 1052, 1015, 892, 818, 667, 662, 584, 491. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 3,02 (s, 1H, 2), 3,90 (s, 3H, 7'), 6,83 (d, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, 1H, 5'), 7,41 (dd, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz e $J_{6',2'} = 2,0$ Hz, 1H, 6'), 7,68 (d, $J_{2',6'} = 2,0$ Hz, 1H, 2'). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 56,3 (7'), 76,9 (2), 82,06 (1), 111,3 (3'), 111,4 (5'), 115,6 (1'), 132,6 (6'), 136,8 (2'), 156,4 (4'). **EM, m/z (%)**: 210 ([M⁺], C₉H₇BrO, 100), 211 ([M+1], 13), 212 ([M+2], 95), 213 ([M+3], 10), 197 (44), 195 (51), 169 (44), 167 (41), 116 (27), 101 (26), 100 (9), 99 (11), 98 (19), 88 (63), 87 (36), 86 (17), 75 (25), 74 (26), 63 (24), 62 (97), 61 (51), 53 (18), 51 (3), 50 (63).

2.3.4.8. Ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzóico (**66**)



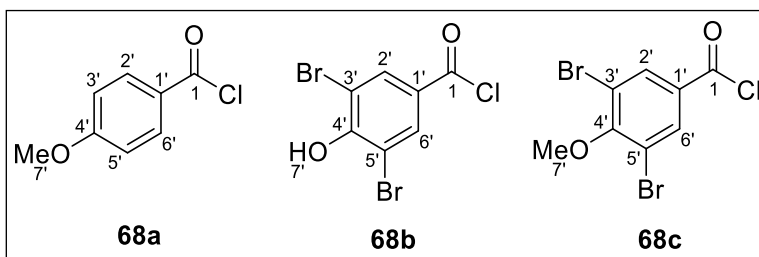
Em um balão de 25 mL, uma solução de Br₂ (0,420 mL, 8,20 mmol) em HOAc (2 mL) foi adicionada lentamente à 0 °C em uma solução de ácido 4-hidróxibenzóico (500 mg, 3,62 mmol), HOAc (2 mL) e H₂SO₄ (2 mL), permanecendo por 8 horas sob agitação magnética. Após esse tempo, a mistura reacional foi filtrada e lavada com água destilada. O sólido filtrado foi solubilizado em acetona, secado com MgSO₄ e o solvente removido sob pressão reduzida. Um sólido branco, identificado como **66** (851 mg, 2,90 mmol, 80%) foi utilizado diretamente sem qualquer purificação adicional. **T_f**: 160,7-161,3 °C. **CCD**: 0,38 (hexano:acetona, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3449, 3252, 3074, 2790, 2516, 1677, 1581, 1375, 1294, 1129, 898, 767, 666, 516. **RMN de ¹H (300 MHz, Acetona-d₆)** δ : 8,13 (s, 2H, 2' e 6'). **RMN de ¹³C (75 MHz, Acetona-d₆)** δ : 110,2 (3' e 5'), 124,7 (1'), 133,8 (2' e 6'), 154,6 (4'), 164,1 (1). **EM, m/z (%)**: 294 ([M⁺], C₇H₄Br₂O₃, 50), 296 ([M+2], 100), 297 ([M+3], 8), 298 ([M+4], 48), 281 (36), 280 (5), 279 (76), 276 (37), 253 (5), 251 (9), 248 (5), 171 (5), 170 (10), 169 (5), 143 (8), 141 (7), 134 (5), 133 (5), 91 (13), 90 (16), 80 (5), 79 (14), 74 (6), 64 (5), 63 (47), 62 (67), 61 (42), 59 (7), 53 (32), 52 (8), 51 (26) 50 (11).

2.3.4.9. Ácido 3,5-dibromo-4-metoxibenzóico (67)



A um balão bitubulado (500 mL), acoplado a um condensador e sob atmosfera de nitrogênio, foi adicionado **66** (10,3 g, 35,8 mmol), carbonato de potássio anidro (19,8 g, 143 mmol), iodeto de metila (20,0 mL, 358 mmol) e acetona anidra (300 mL). A mistura foi então colocada sob refluxo e agitação magnética por 6 horas. Após esse período, o excesso de acetona foi removido em um evaporador rotatório. A mistura concentrada foi transferida para um funil de separação com acetato de etila e lavada com solução saturada de cloreto de amônio (2 x 100 mL). A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram combinadas e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O sólido branco resultante foi transferido para um tudo selado e solubilizado em metanol (75 mL). Adicionou-se uma solução de 3 mol/L de LiOH (83 mL) e a mistura foi agitada a 80 °C por 2 horas. Após esse período o meio reacional foi diluído em água destilada (150 mL), acidificado para pH aproximadamente 3,5, utilizando solução de 2 mol/L de HCl. Após acidificação, a mistura reacional foi extraída com acetato de etila (3 x 100 mL). A fase orgânica foi lavada com água (1 x 100 mL), solução saturada de NaCl (1 x 100 mL) e secada com MgSO₄. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o ácido carboxílico **67** (789 mg, 3,76 mmol) foi obtido em estado puro analiticamente, confirmado por TLC e pelas técnicas espectroscópicas, em 100% de rendimento como um sólido branco (11,1 g, 35,8 mmol). **T_f**: 168,4-169,3 °C. **CCD**: 0,25 (hexano:éter dietílico, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3072, 2953, 2850, 2639, 2531, 1789, 1687, 1544, 1399, 1256, 1140, 1065, 977, 896, 736, 649, 511. **RMN de ¹H (300 MHz, DMSO)** δ : 3,84 (s, 3H, 7'), 8,08 (s, 2H, 2' e 6'). **RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO)** δ : 60,7 (7'), 120,6 (3' e 5'), 130,4 (1'), 134,5 (2' e 6'), 158,8 (4'), 167,5 (1). **EM, m/z (%)**: 308 ([M⁺], C₈H₆Br₂O₃, 26), 310 ([M+2], 77), 311 ([M+3], 21), 312 ([M+4], 21), 297 (11), 296 (5), 295 (31), 293 (21), 267 (6), 241 (11), 239 (24), 237 (13), 216 (6), 214 (6), 199 (12), 197 (12), 188 (5), 186 (5), 155 (5), 145 (7), 143 (21), 141 (15), 130 (5), 119 (7), 92 (8), 90 (10), 81 (5), 79 (18), 78 (8), 77 (14), 76 (10), 75 (38), 74 (56), 73 (17), 65 (8), 64 (9), 63 (46), 62 (100), 61 (57), 60 (8), 53 (38), 51 (5), 51 (38), 50 (33).

2.3.4.10. Síntese dos cloretos de ácidos 68a-c



Em um tubo selado de 10 mL, uma solução de ácido 4-metoxibenzoico, ácido 3,5-dibromo-4-

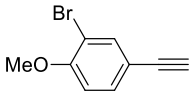
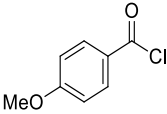
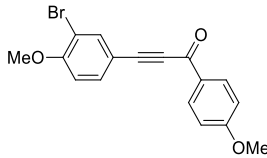

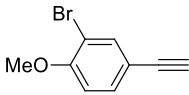
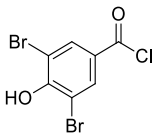
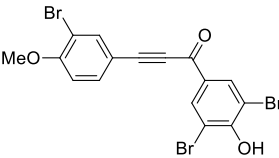
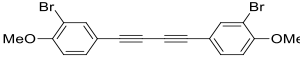
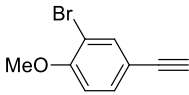
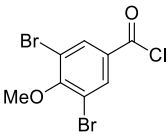
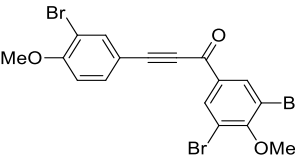
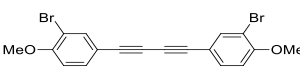
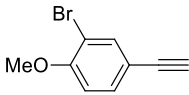
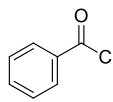
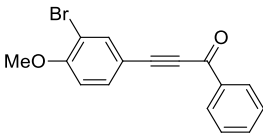
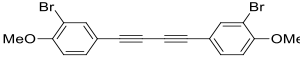
hidroxibenzoico ou ácido 3,5-dibromo-4-metoxibenzoico (10,3 mmol) em SOCl_2 (5,00 mL) foi colocado sob refluxo por um período de 6 horas. O excesso de SOCl_2 foi removido sob pressão reduzida, sendo obtido um sólido branco como produto. O composto **68a** foi obtido em rendimento quantitativo (1,76 g, 10,3 mmol), **68b** em 94 % de rendimento (3,04 g, 9,65 mmol) e **68c** também foi obtido em rendimento quantitativo (3,38 g, 10,3 mmol). Devido à sua grande reatividade não foi possível a obtenção das análises de IV, RMN e MS para os cloretos de ácidos obtidos e todos foram utilizados diretamente sem qualquer purificação adicional.

2.3.4.11. Síntese de 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-in-1-ona (69a) pelo acoplamento de Sonogashira

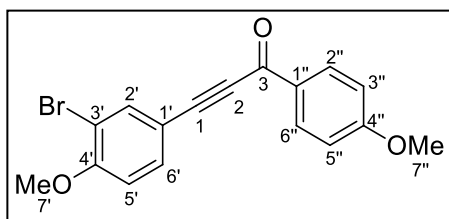
Em um balão bitubulado de fundo redondo (25 mL), sob atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente, uma mistura de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (19,0 mg, 0,0280 mmol), CuI (11,0 mg, 0,0560 mmol) e THF anidro (5 mL) foi mantida sob agitação magnética por um período de 30 minutos. Em seguida, Et_3N (240 μL , 1,70 mmol), cloreto de 4-metoxibenzoíla **68a** (427 mg, 2,50 mmol) e 2-bromo-4-etinil-1-metoxibenzeno (**60**) (347 mg, 1,70 mmol) foram adicionados e a agitação foi mantida por mais 3 horas. Os solventes foram evaporados e o produto bruto da reação foi purificado em cromatografia de coluna de sílica gel empregando-se a mistura de solvente hexano:éter dietílico (1:1 v/v) para obtenção de **69a** em 78% de rendimento (458 mg, 1,33 mmol) e 8% de rendimento do produto de homoacoplamento **70** (57,0 mg, 0,140 mmol).

Os compostos **69b-d** foram preparados utilizando o procedimento experimental similar ao descrito para a síntese do composto **69a**. As quantidades necessárias de alquino e cloreto de ácido e os rendimentos obtidos de cada reação são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Dados referentes ao preparo dos compostos **69a-d**.

Alquino (mg; mmol)	Cloreto de ácido (mg; mmol)	Produto de acoplamento (Rend.; mg; mmol)	Produto de homoacoplamento (Rend.; mg; mmol)
 60 (347; 1,70)	 68a (427; 2,50)	 69a (78%; 458; 1,33)	 70 (8%; 57,0; 0,140)
 60 (347; 1,70)	 68b (786; 2,50)	 69b (0%)	 70 (46%; 328; 0,780)
 60 (347; 1,70)	 68c (821; 2,50)	 69c (85%; 727; 1,45)	 70 (5%; 38,0; 0,0900)
 60 (347; 1,70)	 68d (352; 2,50)	 69d (97%; 518; 1,65)	 70 (0%)

2.3.4.11.1. Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-in-1-ona (69a)

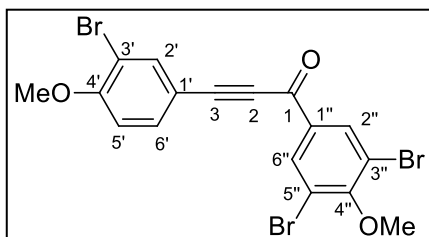


O composto **69a** foi obtido como um sólido amarelo claro em 78% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. T_f : 136,8-137,2 °C. **CCD**: $R_f = 0,25$ (hexano:éter dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹):

3070, 2962, 2840, 2194, 2027, 1629, 1592, 1493, 1439, 1287, 1251, 1160, 1017,

843, 806, 683, 597, 525. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 3,89 (s, 3H, 7''), 3,94 (s, 3H, 7'), 6,91 (d, $J_{5',6'} = 8,6$ Hz, 1H, 5'), 6,98 (d, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,9$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,61 (dd, $J_{6',5'} = 8,6$ Hz e $J_{6',2'} = 2,0$ Hz, 1H, 6'), 7,85 (d, $J_{2',6'} = 2,0$ Hz, 1H, 2'), 8,16 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,9$ Hz, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 55,6 (7''), 56,4 (7'), 87,1 (2), 91,2 (1), 111,7 (5'), 111,8 (3'), 113,6 (1'), 113,9 (3'' e 5''), 130,2 (1''), 131,9 (2'' e 6''), 134,0 (6'), 137,6 (2'), 157,9 (4'), 164,5 (4''), 176,4 (3). **EM, m/z (%)**: 344 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{BrO}_3$, 70), 345 ($[\text{M}+1]$, 10), 346 ($[\text{M}+2]$, 66), 347 ($[\text{M}+3]$, 11), 319 (11), 318 (63), 316 (64), 304 (14), 303 (90), 302 (15), 301 (93), 275 (15), 273 (15), 258 (10), 239 (32), 237 (34), 224 (11), 222 (21), 207 (13), 196 (7), 179 (13), 164 (18), 163 (29), 159 (32), 158 (29), 151 (35), 150 (27), 143 (20), 137 (12), 136 (10), 135 (47), 134 (10), 115 (13), 111 (12), 107 (21), 106 (13), 100 (15), 99 (14), 98 (14), 97 (10), 92 (57), 88 (14), 87 (60), 86 (20), 82 (11), 81 (22), 78 (10), 77 (100), 76 (25), 75 (37), 74 (28), 64 (58), 63 (76), 62 (32), 61 (15), 53 (20), 51 (28), 50 (35).

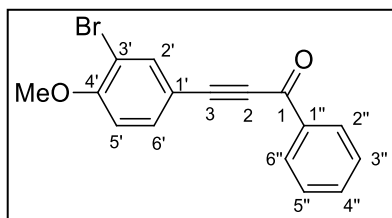
2.3.4.11.2. Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(3,5-dibromo-4-metoxifenil)prop-2-in-1-ona (69c)



O composto **69c** foi obtido como um sólido branco em 85% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 167,1-167,7 °C. **CCD**: 0,25 (hexano:diclorometano, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3074, 2947, 2843, 2556, 2178, 1977, 1690, 1632, 1589, 1493, 1377, 1260, 1184, 1049, 977, 880, 815, 732, 688, 580, 512. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 3,96 (s, 7H, 7' e 7''), 6,94 (d, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, 1H, 5'), 7,64 (dd, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz e $J_{6',2'} = 1,8$ Hz, 1H, 6'), 7,87 (d, $J_{2',6'} = 1,8$ Hz, 1H, 2'), 8,30 (s, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 56,5 (7'), 60,9 (7''), 86,4 (2), 93,6 (1), 111,8 (5'), 112,0 (3'), 112,7 (1'), 118,7 (3'' e 5''), 133,8 (2'' e 6''), 134,4 (6'), 134,8 (1''), 137,9 (2'), 158,4 (4'), 158,8 (4''), 174,1 (3). **EM, m/z (%)**: 500 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{Br}_3\text{O}_3$, 35), 501 ($[\text{M}+1]$, 14), 502 ($[\text{M}+2]$, 100), 503 ($[\text{M}+3]$, 25), 504 ($[\text{M}+4]$, 100), 505 ($[\text{M}+5]$, 20), 506 ($[\text{M}+6]$, 34), 478 (12), 477 (6), 476 (32), 475 (7), 474 (32), 472 (11), 463 (21), 462 (11), 461 (63), 460 (13), 459 (65), 458 (7), 457 (21), 423 (6), 418 (5), 416 (5), 465 (9), 271 (5), 240 (8), 239 (75),

238 (14), 237 (82), 230 (7), 228 (7), 224 (13), 222 (13), 194 (5), 149 (5), 143 (14), 115 (12), 114 (5), 87 (17), 75 (7), 74 (9), 62 (6).

2.3.4.11.3. Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-in-1-ona (69d)

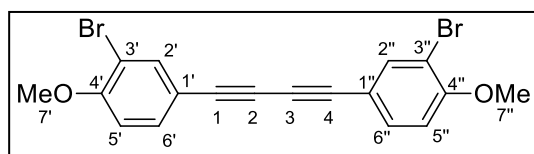


O composto **69d** foi obtido como um sólido amarelo claro em 97% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel.

T_f: 129,7-130,1°C. **CCD**: 0,38 (hexano:éter dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3098, 2923, 2847,

2665, 2192, 2034, 1631, 1592, 1494, 1442, 1291, 1253, 1204, 1051, 1017, 877, 818, 690, 611, 583. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 3,95 (s, 3H, 7'), 6,92 (d, $J_{5',6''} = 8,6$ Hz, 1H, 5'), 7,52 (t, $J_{3'',2''} = J_{3'',4''} = J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,5$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,58-7,67 (m, 2H, 6' e 4''), 7,88 (d, $J_{2',6'} = 2,0$ Hz, 1H, 2'), 8,20 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 7,5$ Hz, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 56,4 (7'), 87,2 (2), 92,0 (1), 111,7 (5'), 111,8 (3'), 113,3 (1'), 128,6 (3'' e 5''), 129,5 (2'' e 6''), 134,1 (6'), 134,2 (4''), 136,8 (1''), 137,8 (2'), 158,1 (4'), 177,8 (3). **EM, m/z (%)**: 314 ([M⁺], C₁₆H₁₁BrO₂, 100), 315 ([M+1], 20), 316 ([M+2], 92), 317 ([M+3], 15), 289 (7), 288 (44), 286 (46), 273 (63), 272 (11), 271 (64), 245 (20), 243 (20), 239 (60), 237 (62), 235 (13), 224 (12), 222 (13), 201 (15), 196 (10), 192 (16), 176 (20), 164 (30), 163 (45), 143 (22), 115 (10), 105 (18), 100 (14), 99 (10), 98 (15), 88 (14), 87 (53), 86 (15), 76 (84), 76 (10), 75 (15), 74 (24), 63 (13), 62 (13), 61 (11), 51 (93), 50 (52).

2.3.4.11.4. Dados referentes ao composto 1,4-bis(3-bromo-4-metoxifenil)buta-1,3-diino (70)



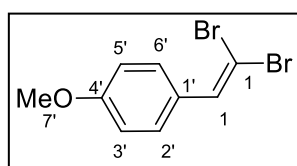
O composto **70** foi obtido como um sólido castanho após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**:

142,5-143,1 °C. **CCD**: 0,38 (hexano:éter

dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3063, 2926, 2844, 2143, 2024, 1716, 1591, 1491, 1389, 1284, 1257, 1183, 1050, 1101, 896, 813, 719, 583, 493. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 3,91 (s, 6H, 7' e 7''), 6,84 (d, $J_{5',6'} = J_{5'',6''} = 8,5$ Hz, 2H, 5' e 5''),

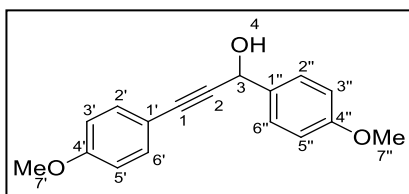
7,44 (dd, $J_{6',5'} = J_{6',5''} = 8,5$ e $J_{6',3'} = J_{6',3''} = 2,0$ Hz, 2H, 6' e 6''), 7,70 (d, $J_{3',6'} = J_{3'',6''} = 2,0$ Hz, 2H, 2' e 2''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 56,3 (7' e 7''), 73,6 (2 e 3), 80,1 (1 e 4), 111,5 (3' e 3''), 111,6 (5' e 5''), 115,2 (1' e 1''), 113,1 (6' e 6''), 137,0 (2' e 2''), 157,8 (4' e 4''). **EM, m/z (%)** 418 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{O}_2$, 47), 419 ($[\text{M}+1]$, 5), 420 ($[\text{M}+2]$, 100), 421 ($[\text{M}+3]$, 19), 422 ($[\text{M}+4]$, 49), 423 ($[\text{M}+5]$, 9), 408 (5), 407 (26), 406 (9), 405 (52), 403 (26), 377 (9), 375 (5), 364 (5), 362 (10), 360 (5), 311 (10), 309 (10), 215 (8), 211 (5), 210 (8), 189 (10), 188 (10), 187 (28), 186 (7), 175 (6), 174 (34), 167 (6), 148 (8), 136 (5), 135 (6), 134 (5), 124 (7), 123 (8), 122 (12), 111 (6), 110 (10), 98 (11), 93 (6), 74 (11), 53 (7), 50 (9).

2.3.4.12. 1-(2,2-dibromovinil)-4-metoxibenzeno (71)



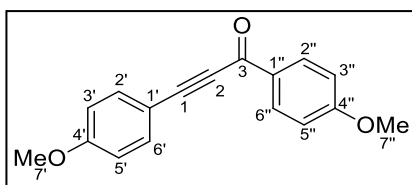
Em um balão bitubulado (25 mL), sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética foi adicionado PPh_3 (2,44 g, 9,30 mmol), CBr_4 (1,54 g, 4,65 mmol) e diclorometano anidro (5 mL). O sistema reacional foi resfriado a 0°C e uma solução de 4-metoxibenzaldeído (318 mg, 2,33 mmol) em diclorometano anidro (5 mL) foi adicionada lentamente. A mistura foi aquecida até à temperatura ambiente, permanecendo sob agitação por 4 horas. A purificação foi conseguida por filtração da mistura reacional através de uma camada de sílica gel (CH_2Cl_2). A evaporação do solvente forneceu **71** como um sólido marrom claro em 100% de rendimento (680 mg, 2,33 mmol) em estado puro analiticamente, confirmado por TLC e pelas técnicas espectroscópicas. **T_f**: $34,8\text{-}35,2^\circ\text{C}$. **CCD**: 0,70 (hexano: éter dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3004, 2954, 2929, 2554, 2053, 1890, 1640, 1560, 1459, 1305, 1245, 1176, 1113, 1029, 867, 801, 731, 578, 522, 440. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 3,82 (s, 3H, 7'), 6,89 (d, $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,8$ Hz, 2H, 3' e 5'), 7,41 (s, 1H, 1'), 7,51 (d, $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,8$ Hz, 2H, 2' e 6'). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 55,3 (7'), 87,3 (2), 113,8 (3' e 5'), 127,8 (1'), 129,9 (2' e 6'), 136,3 (1), 159,6 (4'). **EM, m/z (%)**: 290 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_9\text{H}_8\text{Br}_2\text{O}$, 11), 292 ($[\text{M}+2]$, 23), 294 ($[\text{M}+4]$, 12), 279 (7), 277 (12), 132 (23), 117 (19), 106 (7), 104 (9), 101 (7), 98 (12), 90 (7), 89 (100), 88 (13), 87 (19), 86 (13), 85 (7), 81 (22), 78 (22), 75 (17), 74 (34), 64 (9), 63 (87), 62 (66), 61 (32), 53 (10), 51 (23), 50 (48).

2.3.4.13. 1,3-bis(4-metoxifenil)prop-2-in-1-ol (72)



Em balão de 50 mL, sob agitação magnética e atmosfera de nitrogênio, foi adicionado *N,N*-diisopropilamina (0,780 mL; 5,52 mmol) e THF anidro (4 mL). A solução foi resfriada à -5 °C e adicionado *n*-BuLi (3,94 mL; 1,40 mol/L; 5,52 mmol). Após 1 h de agitação, a mistura resultante foi transferida, gota-a-gota e com o auxílio de uma seringa para uma solução a -78 °C de **71** (500 mg; 1,72 mmol) em THF (2 mL). O sistema reacional foi agitado a -78 °C por 1 h. Uma solução de *p*-metoxibenzaldeído (0,240 g; 1,76 mmol) em THF (3 mL) foi adicionada e o meio reacional foi aquecido até 25 °C. O término da reação foi acompanhado por CCD (3 h). Ao material resultante foi adicionada uma solução saturada de NH₄Cl (20 mL) e foi extraída com AcOEt (4 x 25 mL). A água residual foi removida com MgSO₄ e o solvente removido em um evaporador rotatório. Após cromatografia de coluna de sílica gel eluída com hexano/AcOEt (5:3 v/v) foi obtido o composto **72** como um óleo amarelo em 86% de rendimento. **CCD**: 0,25 (hexano: acetato de etila, 5:3 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3391, 3002, 2934, 2836, 2224, 2047, 1891, 1605, 1506, 1461, 1289, 1241, 1170, 1108, 1127, 959, 829, 800, 764, 687, 591, 564, 534. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 3,80 (s, 3H, 7'), 3,81 (s, 3H, 7''), 5,62 (s, 1H, 3), 6,84 (d, $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,8$ Hz, 2H, 3' e 5'), 6,92 (d, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,7$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,40 (d, $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,8$ Hz, 2H, 2' e 6'), 7,53 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,7$ Hz, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 55,3 (7'), 55,3 (7''), 64,7 (3), 86,4 (2), 87,6 (1), 113,9 (3'' e 5''), 114,0 (3' e 5'), 114,6 (1'), 128,2 (2'' e 6''), 133,2 (2' e 6'), 133,2 (1''), 159,3 (4'), 159,8 (4''). **EM, *m/z* (%)**: 268 ([M⁺], C₁₇H₁₆O₃, 100), 269 ([M+1], 19), 267 (28), 253 (37), 251 (27), 237 (42), 225 (38), 165 (52), 160 (42), 159 (39), 152 (21), 135 (59), 132 (54), 108 (44), 92 (28), 89 (39), 77 (59), 64 (25), 63 (43), 51 (23).

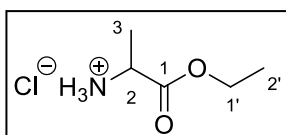
2.3.4.14. 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(3,5-dibromo-4-metoxifenil)prop-2-in-1-ona (69e)



Em um balão bitubulado (25 mL) foi adicionado MnO₂ (0,418 g; 4,32 mmol), **72** (0,145; 0,540 mmol) e diclorometano anidro (2 mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 17 h.

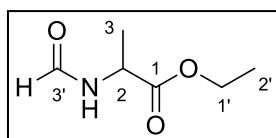
Após este período, a mistura reacional foi filtrada sob celite e o solvente foi removido no evaporador rotatório. O composto **69e** foi obtido como um sólido marrom claro em 100% de rendimento e em estado analiticamente puro, confirmado por TLC e pelas técnicas espectroscópicas. **T_f**: 72,7-73,6 °C. **CCD**: 0,56 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3197, 2933, 2840, 2188, 2041, 1629, 1593, 1506, 1459, 1251, 1157, 1110, 1019, 830, 754, 684, 595, 507. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 3,84 (s, 3H, 7'), 3,88 (s, 3H, 7''), 6,92 (d, $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 2H, 3' e 5'), 6,97 (d, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,5$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,62 (d, $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,4$ Hz, 2H, 2' e 6'), 8,18 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,5$ Hz, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 55,5 (7'), 55,6 (7''), 86,8 (2), 93,5 (1), 112,1 (1'), 113,8 (3'' e 5''), 114,4 (3' e 5'), 130,4 (1''), 131,9 (2'' e 6''), 135,0 (2' e 6'), 161,5 (4'), 164,3 (4''), 176,8 (3). **EM, m/z (%)**: 266 ([M⁺], C₁₇H₁₄O₃, 79), 267 ([M+1], 14), 239 (12), 238 (71), 224 (16), 223 (100), 195 (28), 180 (12), 163 (7), 160 (7), 159 (71), 152 (29), 151 (10), 144 (18), 135 (20), 131 (6), 126 (7), 119 (35), 116 (23), 107 (7), 92 (24), 88 (21), 87 (8), 77 (43), 76 (11), 75 (13), 74 (11), 64 (24), 63 (36), 62 (23), 51 (15), 50 (14).

2.3.4.15. Cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (**73**)



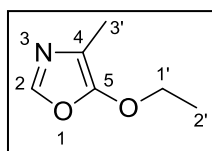
Em um balão bitubulado (250 mL) sob atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente foi adicionado uma solução de *L*-alanina (20,0 g, 225 mmol) em etanol absoluto (150 mL). O sistema foi resfriado a 0 °C e SOCl₂ (22,8 mL, 315 mmol) foi adicionado lentamente. A mistura foi submetida a refluxo durante 3 horas. O etanol e o excesso de SOCl₂ foram então removidos sob pressão reduzida em um evaporador rotatório e **73** foi obtido como um óleo viscoso amarelo palha (35,5 g) com um rendimento quantitativo e utilizado sem qualquer tipo de purificação adicional. **RMN de ¹H (300 MHz, D₂O)** δ : 1,17 (t, $J_{2',1'} = 7,2$ Hz, 3H, 2'), 1,44 (d, $J_{3,2} = 7,3$ Hz, 3H, 3), 4,06 (q, $J_{2,3} = 7,3$ Hz, 1H, 2), 4,18 (q, $J_{1',2'} = 7,2$ Hz, 2H, 1'). **RMN de ¹³C (75 MHz, D₂O)** δ : 13,1 (2'), 15,0 (3), 48,8 (2), 63,4 (1'), 170,7 (1).

2.3.4.16. *N*-formil-2-aminopropanoato de etila (**74**)



Em um balão bitubulado (100 mL), sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, foi adicionado cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (**73**) (8,63 g, 56,2 mmol) e ortoformiato de trietila (28,0 mL, 169 mmol). O sistema foi submetido a refluxo durante 2 horas. O etanol produzido como subproduto da reação e o excesso de ortoformiato de trietila foram então removidos sob pressão reduzida em um evaporador rotatório, obtendo um resíduo viscoso de coloração marrom. Após cromatografia de coluna de sílica gel eluída com hexano/éter dietílico (1:2 v/v) foi obtido o composto **74** como um óleo laranja em 93% de rendimento (7,58 g, 52,3 mmol). **CCD**: 0,10 (hexano: éter dietílico, 1:1 v/v). **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ 1,27 (t, $J_{2',1'} = 7,1$ Hz, 3H, 2'), 1,42 (d, $J_{3,2} = 7,2$ Hz, 3H, 3), 4,20 (q, $J_{1',2'} = 7,1$ Hz, 2H, 1'), 4,48-4,78 (m, 1H, 2), 6,43 (s, 1H, NH), 8,17 (s, 1H, 3'). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ 14,1 (2'), 18,5 (3), 46,9 (2), 61,7 (1'), 160,6 (3'), 172,6 (1).

2.3.4.17. 5-etoxi-4-metiloxazol (**75**)



Uma suspensão de P₂O₅ (20,0 g), celite (6,00 g) e MgO (6,00 g) foi vigorosamente agitada até se tornar homogênea, em um balão bitubulado de fundo redondo (500 mL), com 150 mL de CHCl₃ anidro sob atmosfera de nitrogênio e à temperatura ambiente. Uma solução de *N*-formil-2-aminopropanoato de etila (**74**) (4,00 g, 27,6 mmol) em 50 mL de CHCl₃ foi adicionada gota a gota e a agitação foi continuada durante 30 minutos. A mistura foi submetida a refluxo durante 20 h. A mistura reacional foi resfriada e uma solução saturada (300 mL) de NaHCO₃ foi adicionada lentamente e os sólidos foram removidos por filtração. O filtrado foi extraído com clorofórmio, a fase orgânica foi lavada com água, e secada com MgSO₄ anidro. Na remoção do solvente, um óleo laranja escuro foi obtido e submetido à purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:éter dietílico; 1:1 v/v), obtendo-se **75** como um líquido amarelo volátil em 25% de rendimento (876 mg, 6,89 mmol). **CCD**: 0,38 (hexano: éter dietílico, 1:1 v/v). **IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹)**: 3124, 2930, 2871, 2030, 1669, 1512, 1334, 1220, 1125, 1018, 930, 737, 652, 493. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 1,33 (t, $J_{2',1'} = 7,1$ Hz, 3H, 2'), 2,02 (s, 3H, 3'), 4,13 (q, $J_{1',2'} = 7,1$ Hz, 2H, 1'), 7,36 (s, 1H, 2). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 9,9 (3'), 14,9

(2'), 70,1 (1'), 112,2 (4), 142,1 (2), 154,2 (5). **EM, m/z (%):** 127 ([M⁺], C₆H₉NO₂, 9), 128 ([M+1], 1), 99 (15), 71 (35), 49 (9), 43 (15), 42 (100), 41 (13), 40 (11).

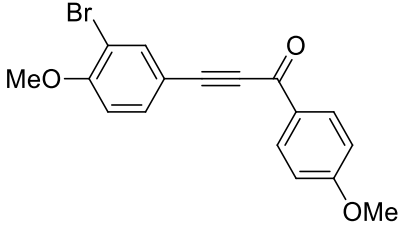
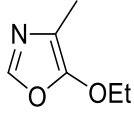
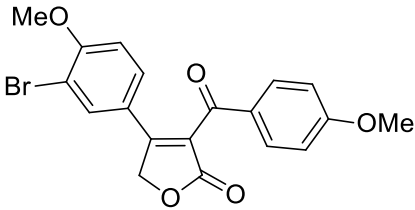
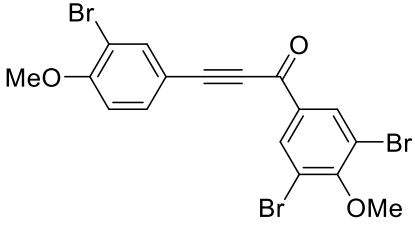
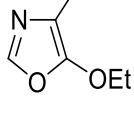
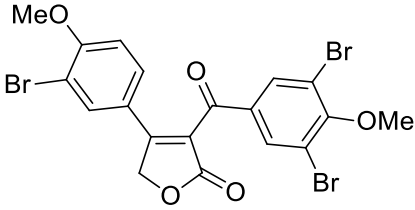
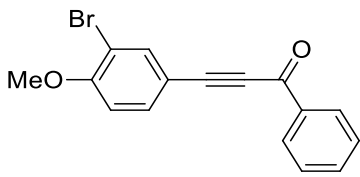
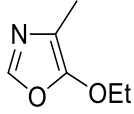
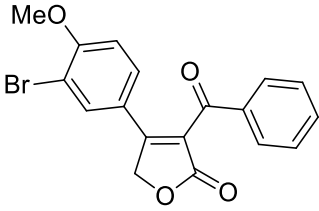
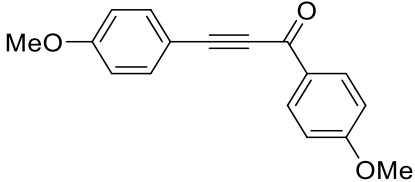
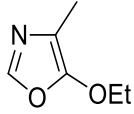
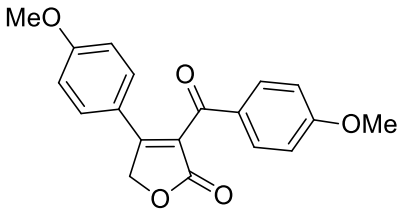
2.3.4.18. Síntese de 3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (79a)

Sob atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente foi adicionado em um tubo selado (13 x 100 mm) 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-in-1-ona (**69a**) (276 mg, 0,800 mmol), 5-etoxi-4-metiloxazol (**75**) (558 mg, 4,40 mmol) e xileno (4 mL). O tubo foi coberto com papel alumínio e o sistema foi agitado magneticamente e aquecido num banho de óleo à temperatura de 145-150 °C durante 24 horas. Após resfriamento, os produtos voláteis foram evaporados sob vácuo a 60 °C. O material bruto foi dissolvido em THF (10 mL) e uma solução aquosa 48% de HBr (45,0 µL, 0,400 mmol) foi adicionada lentamente e o sistema foi mantido sob agitação magnética e temperatura ambiente por 8 horas. Após este período, a mistura reacional foi vertida em um funil de separação, uma solução saturada de NaCl (20 mL) foi adicionada e foi extraído com acetato de etila (2 x 30 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄ e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida obtendo um óleo marrom escuro como material bruto da reação.

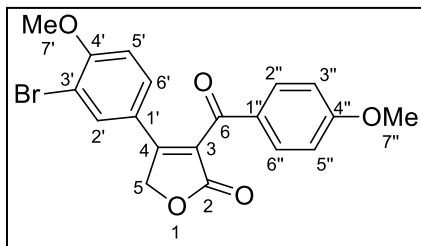
O material residual foi submetido à purificação por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:acetato de etila; 1:1 v/v), obtendo-se como produto um sólido amarelo claro em 79% de rendimento (254 mg, 0,630 mmol), identificado como o produto **79a**.

Os compostos **79b-d** foram preparados utilizando o procedimento experimental similar ao descrito para a síntese do composto **79a**. A Tabela 2 apresenta as quantidades necessárias de cetoalquino e oxazol e os rendimentos obtidos de cada reação.

Tabela 2 – Dados referentes ao preparo das furanonas **79a-d**.

Cetoalquino (mg; mmol)	Oxazol 75 (mg; mmol)	Regioisômero principal (Rendimento; mg; mmol)
 <p>69a (276; 0,800)</p>	 <p>(558; 4,40)</p>	 <p>79a (79%; 254; 0,630)</p>
 <p>69c (391; 0,800)</p>	 <p>(558; 4,40)</p>	 <p>79b (61%; 273; 0,490)</p>
 <p>69d (252; 0,800)</p>	 <p>(558; 4,40)</p>	 <p>79c (51%; 153; 0,410)</p>
 <p>69e (202; 0,800)</p>	 <p>(558; 4,40)</p>	 <p>79d (81%; 210; 0,650)</p>

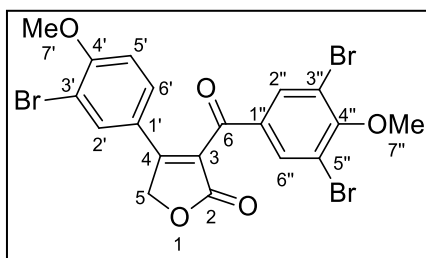
2.3.4.18.1. Dados referentes ao composto 4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (79a)



O composto **79a** foi obtido como um sólido amarelo em 79% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 155,8-156,7 °C. **CCD**: 0,34 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3484, 3057, 2932, 2843, 2574,

2029, 1744, 1650, 1592, 1499, 1422, 1332, 1247, 1164, 1015, 890, 844, 733, 680, 609, 576, 435. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 3,84 (s, 3H, 7''), 3,86 (s, 3H, 7'), 5,27 (s, 2H, 5), 6,81 (d, $J_{5',6'} = 8,7$ Hz, 1H, 5'), 6,90 (d, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,7$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,35 (dd, $J_{6',5'} = 8,7$ Hz e $J_{6',2'} = 1,9$ Hz, 1H, 6'), 7,56 (d, $J_{2',6'} = 1,9$ Hz, 1H, 2'), 7,87 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,7$ Hz, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 55,6 (7''), 56,4 (7'), 70,4 (5), 112,1 (5'), 112,5 (3'), 114,3 (3'' e 5''), 122,7 (1'), 124,7 (4), 128,6 (1''), 129,1 (6'), 132,1 (2'' e 6''), 132,4 (2'), 158,5 (3 e 4'), 164,8 (4''), 171,0 (2), 189,8 (6). **EM, m/z (%)**: 402 ([M⁺], C₁₉H₁₅Br₂O₅, 7), 404 ([M+2], 4), 148 (19), 147 (5), 136 (8), 135 (100), 133 (5), 107 (18), 101 (5), 92 (28), 90 (5), 87 (5), 79 (5), 78 (6), 77 (65), 76 (9), 75 (9), 74 (7), 64 (21), 63 (22), 62 (7), 53 (9), 51 (17), 50 (8).

2.3.4.18.2. Dados referentes ao composto 4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(3,5-dibromo-4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (79b)

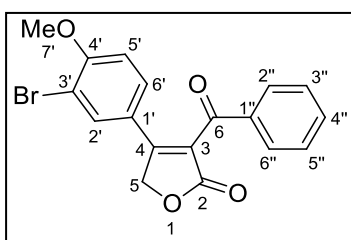


O composto **79b** foi obtido como um sólido amarelo em 61% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 173,4-173,9 °C. **CCD**: 0,33 (hexano: acetato de etila, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3457,

3082, 2918, 2849, 2361, 2030, 1740, 1663, 1585, 1502, 1440, 1334, 1259, 1158, 1039, 958, 874,826, 733, 659, 579, 514. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 3,92 (s, 3H, 7'), 3,94 (s, 3H, 7''), 5,32 (s, 2H, 5), 6,88 (d, $J_{5',6'} = 8,7$ Hz, 1H, 5'), 7,38 (dd $J_{6',5'} = 8,7$ Hz e $J_{6',2'} = 2,1$ Hz, 1H, 6'), 7,60 (d, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, 1H, 2'), 8,02 (s, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 56,5 (7'), 60,9 (7''), 70,6 (5), 112,2 (5'), 112,8 (3'), 119,0 (3'' e 5''), 122,3 (1'), 123,3 (4), 129,1 (6'), 132,6 (2'), 133,6 (1''), 133,9 (2'' e 6''), 159,1 (4'), 159,2 (4''), 161,0 (3), 170,4 (2), 188,1 (6). **EM, m/z (%)**: 558 ([M⁺], C₁₉H₁₃Br₃O₅, 35), 559 ([M+1], 30), 560 ([M+2], 100), 561

([M+3], 43), 562 ([M+4], 96), 563 ([M+5], 28), 564 ([M+6], 33), 565 ([M+7], 8), 533 (14), 532 (10), 531 (28), 529 (25), 503 (10), 483 (23), 482 (10), 481 (46), 479 (25), 453 (11), 384 (15), 382 (15), 358 (11), 356 (11), 297 (11), 296 (27), 294 (53), 293 (30), 292 (89), 290 (47), 239 (19), 237 (19), 215 (13), 213 (26), 211 (15), 201 (12), 200 (24), 148 (60), 105 (10), 77 (17), 75 (16), 74 (9), 62 (9).

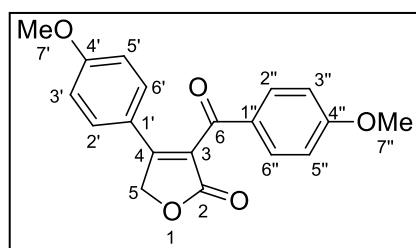
2.3.4.18.3. Dados referentes ao composto 3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (79c)



O composto **79c** foi obtido como um sólido amarelo claro em 51% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 151,4-152,0 °C. **CCD**: 0,20 (hexano: acetato de etila, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /**cm**⁻¹): 2970, 2840, 2361, 2026, 1749, 1655, 1594, 1495, 1436, 1333, 1264, 1185, 1040, 1011, 889, 820, 770, 678, 616, 533, 430.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,87 (s, 3H, 7'), 5,29 (s, 2H, 5), 6,81 (d, $J_{5',6'} = 8,7$ Hz, 1H, 5'), 7,35 (dd, $J_{6',5'} = 8,7$ Hz e $J_{6',2'} = 2,2$ Hz, 1H, 6'), 7,45 (t, $J_{3'',2''} = J_{3'',4''} = J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,6$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,53-7,65 (m, 2H, 2' e 4''), 7,84-7,97 (m, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 56,5 (7'), 70,4 (5), 112,1 (5'), 112,6 (3'), 122,6 (1'), 124,5 (4), 129,0 (3'' e 5''), 129,1 (6'), 129,5 (2'' e 6''), 132,5 (2'), 134,7 (4''), 135,5 (1''), 158,7 (4'), 159,4 (3), 170,8 (2), 191,5 (6). **EM, m/z (%)**: 372 ([M⁺], C₁₈H₁₃BrO₄, 13), 373 ([M+1], 7), 374 ([M+2], 13), 293 (7), 148 (18), 105 (49), 101 (7), 89 (6), 87 (9), 78 (13), 77 (100), 76 (5), 76 (8), 74 (7), 63 (9), 62 (5), 51 (54), 50 (18).

2.3.4.18.4. Dados referentes ao composto 3-(4-metoxibenzoil)-4-(4-metoxifenil)-furan-2(5H)-ona (79d)

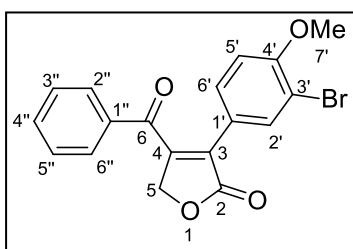


O composto **79d** foi obtido como um sólido marrom em 81% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 165,8-166,6 °C. **CCD**: 0,25 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /**cm**⁻¹): 3015,

2930, 2838, 2045, 1732, 1654, 1594, 1517, 1420, 1307, 1248, 1160, 1056, 1022, 919, 878, 829, 793, 725, 649, 556, 474. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ : 3,78 (s, 3H, 7'), 3,83 (s, 3H, 7''), 5,29 (s, 2H, 5), 6,83 (d, $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,7$ Hz, 2H, 3' e

5'), 6,90 (d, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,7$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,34 (d, $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,7$ Hz, 2H, 2' e 6'), 7,90 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,7$ Hz, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 55,5 (7'), 55,6 (7''), 70,4 (5), 114,2 (3'' e 5''), 114,7 (3' e 5'), 121,5 (1'), 123,4 (4), 128,7 (1''), 129,7 (2' e 6'), 132,1 (2'' e 6''), 159,9 (3), 162,5 (4'), 164,7 (4''), 171,4 (2), 190,3 (6). **EM, m/z (%):** 324 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_5$, 22), 325 ($[\text{M}+1]$, 5), 323 (23), 293 (17), 251 (6), 239 (6), 238 (7), 159 (10), 149 (13), 136 (9), 135 (100), 133 (25), 121 (24), 107 (21), 102 (6), 92 (32), 89 (8), 88 (8), 78 (9), 77 (69), 76 (12), 75 (6), 64 (34), 63 (23), 53 (7), 51 (12), 50 (10).

2.3.4.18.5. Dados referentes ao composto 4-benzoil-3-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (80c)



O composto **80c** foi obtido como um sólido amarelo em 6% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 201,7-202,3 °C. **CCD**: 0,39 (hexano: acetato de etila, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3067, 2923, 2849, 2022, 1754, 1649, 1596, 1493, 1452, 1373, 1262, 1185, 1106, 1012, 973, 829, 724, 615, 577, 440. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 3,82 (s, 3H, 7'), 5,15 (s, 2H, 5), 6,72 (d, $J_{5',6'} = 8,6$ Hz, 1H, 5'), 7,44-7,32 (m, 3H, 6', 3'' e 5''), 7,50-7,57 (m, 1H, 4'), 7,68 (d, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, 1H, 2'), 7,71-7,81 (m, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 56,2 (7'), 70,2 (5), 111,4 (5'), 111,7 (3'), 122,0 (1'), 129,0 (3'' e 5''), 129,3 (2'' e 6''), 129,4 (3), 129,7 (6'), 134,0 (2'), 134,2 (1''), 134,7 (4''), 152,5 (4), 156,9 (4'), 171,5 (2), 191,9 (6). **EM, m/z (%):** 372 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{BrO}_4$, 7), 374 ($[\text{M}+2]$, 8), 132 (5), 105 (100), 101 (10), 89 (5), 88 (5), 78 (10), 77 (79), 75 (9), 74 (5), 63 (5), 51 (41), 50 (12).

2.3.4.19. Síntese da (Z)-5-(4-metoxibenzilideno)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (81a) pela reação de condensação de Knoevenagel

A um balão bitubulado de fundo redondo (25 mL), sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e temperatura ambiente, foi adicionado a lactona **79c** (50,0 mg, 0,134 mmol) em metanol anidro (3 mL) e piperidina (0,660 μL , 0,670 mmol). Após 30 minutos, foi adicionado 2,5-dimetoxibenzaldeído (27,4 mg,

0,201 mmol) em metanol anidro e a reação permaneceu por 10 horas sob agitação.

A fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa de HCl 1M (5 mL) e solução saturada de NaCl (5 mL). Em seguida, a mesma foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida para obtenção do material bruto da reação, que foi purificado por cromatografia de coluna de sílica gel, obtendo **81a** como um sólido amarelo em 30% de rendimento (19,8 mg, 0,0400 mmol).

2.3.4.20. Síntese de (Z)-5-(4-metoxibenzilideno)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (81a) pela reação de adição aldólica, seguida por reação de β -eliminação

A um balão bitubulado de fundo redondo (25 mL), sob atmosfera de nitrogênio, foi adicionado a lactona **79c** (50,0 mg, 0,134 mmol), 4-metoxibenzaldeído (21,8 mg, 0,160 mmol), TBDMSOTf (40,0 μ L, 0,175 mmol), DIPEA (48,0 μ L, 0,269 mmol) e diclorometano anidro (5 mL). A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética e temperatura ambiente por um período de 1 hora. Decorrido esse período, a mistura reacional foi refluxada à 40 °C e posteriormente foi adicionado DBU (40,0 μ L, 0,269 mmol) mantendo-se o refluxo por 2 horas.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação empregando-se 10 mL de diclorometano. A fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa de HCl 1M (5 mL) e solução saturada de NaCl (5 mL). Em seguida, a mesma foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida para obtenção do material bruto da reação, que foi purificado por cromatografia de coluna de sílica gel empregando-se a mistura de solvente hexano:éter dietílico (1:1 v/v) para obtenção de **81a** em 79% de rendimento (52,0 mg, 0,106 mmol).

Os compostos **81b-k** foram preparados utilizando-se procedimento experimental similar ao descrito para a síntese do composto **81a**. A Tabela 3 apresenta as quantidades necessárias de lactona e aldeído e os rendimentos obtidos de cada reação.

Tabela 3 – Dados referentes ao preparo dos análogos aos cadiólídeos **81a-k**.

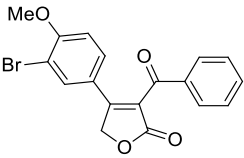
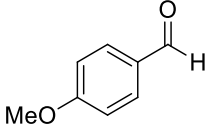
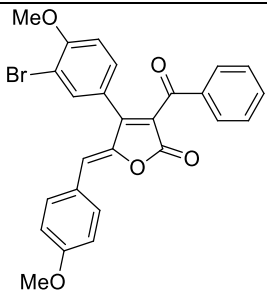
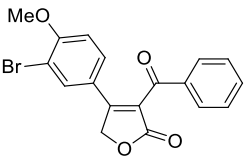
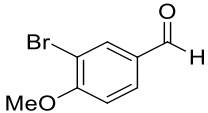
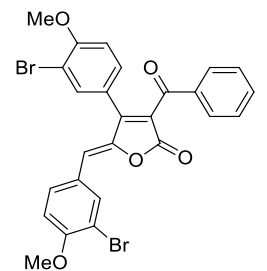
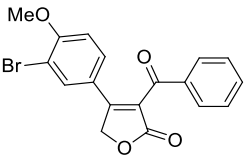
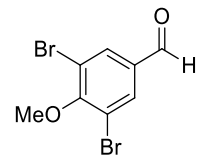
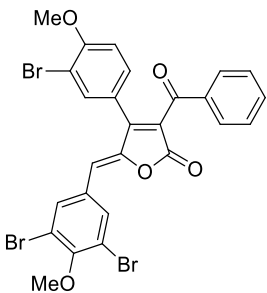
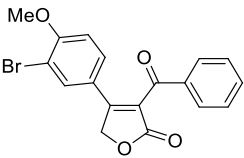
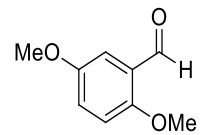
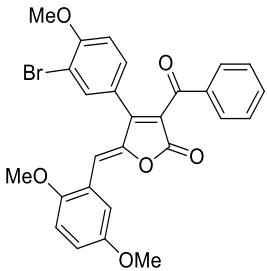
Lactona (mg; mmol)	Aldeído (mg; mmol)	Análogo aos cadiólídeos (Rendimento; mg; mmol)
 <p>79c (50,0; 0,134)</p>	 <p>(21,8; 0,160)</p>	 <p>81a (79%; 52,0; 0,106)</p>
 <p>79c (50,0; 0,134)</p>	 <p>(34,4; 0,160)</p>	 <p>81b (55%; 42,0; 0,0740)</p>
 <p>79c (50,0; 0,134)</p>	 <p>(47,0; 0,160)</p>	 <p>81c (45%; 39,1; 0,0600)</p>
 <p>79c</p>		 <p>81d</p>

Tabela 3 – Continuação...

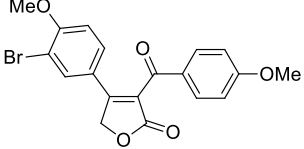
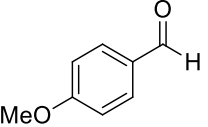
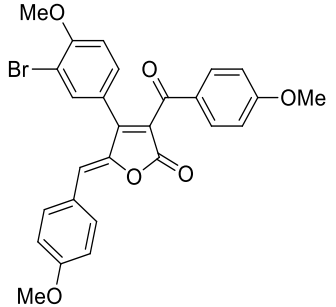
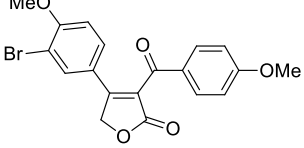
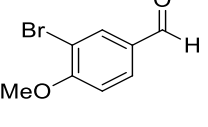
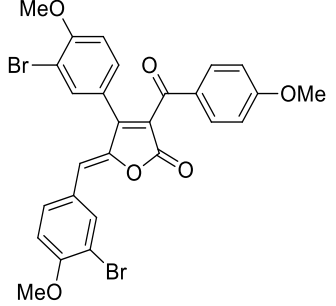
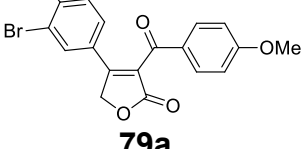
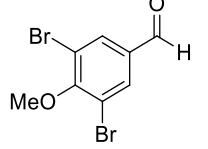
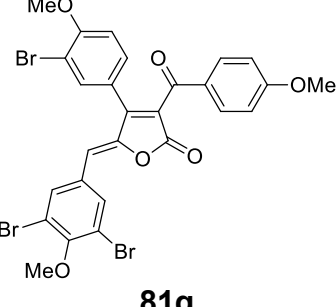
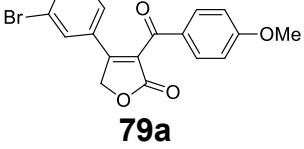
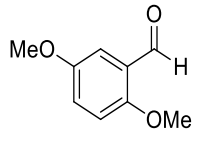
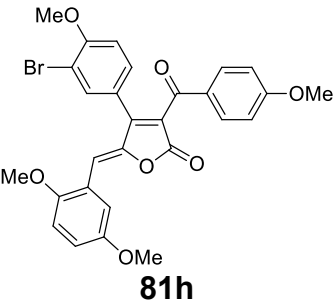
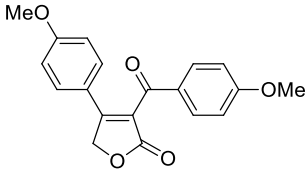
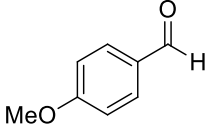
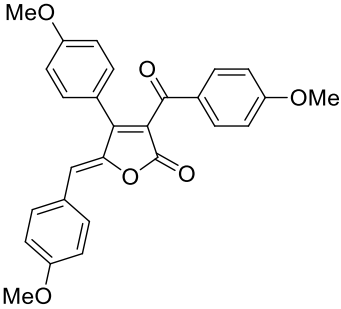
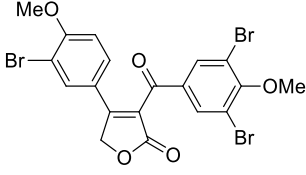
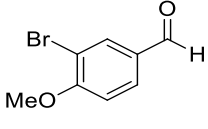
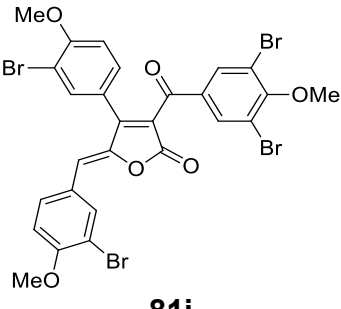
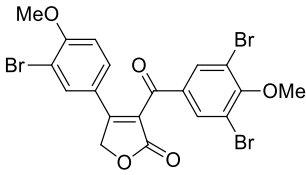
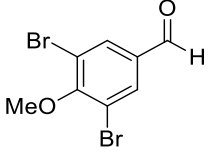
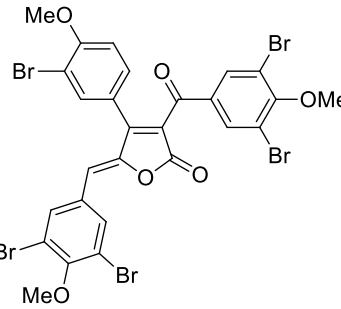
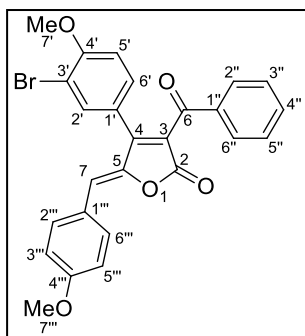
Lactona (mg; mmol)	Aldeído (mg; mmol)	Análogo aos cadiólídeos (Rendimento; mg; mmol)
 <p>79a (50,0; 0,124)</p>	 <p>(20,4; 0,150)</p>	 <p>81e (73%; 47,2; 0,0910)</p>
 <p>79a (50,0; 0,124)</p>	 <p>(32,3; 0,150)</p>	 <p>81f (76%; 56,6; 0,0940)</p>
 <p>79a (50,0; 0,124)</p>	 <p>(44,1; 0,150)</p>	 <p>81g (55%; 46,2; 0,0680)</p>
 <p>79a (50,0; 0,124)</p>	 <p>(24,9; 0,150)</p>	 <p>81h (83%; 56,7; 0,103)</p>

Tabela 3 – Continuação...

Lactona (mg; mmol)	Aldeído (mg; mmol)	Análogo aos cadiólídeos (Rendimento; mg; mmol)
 <p>79d (50,0; 0,154)</p>	 <p>(24,5; 0,180)</p>	 <p>81i (89%; 60,6; 0,137)</p>
 <p>79b (50,0; 0,0890)</p>	 <p>(23,7; 0,110)</p>	 <p>81j (53%; 35,8; 0,0470)</p>
 <p>79b (50,0; 0,0890)</p>	 <p>(32,3; 0,110)</p>	 <p>81k (48%; 35,8; 0,0430)</p>

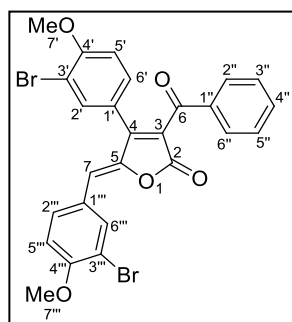
2.3.4.20.1. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(4-metoxibenzilideno)-furan-2(5H)-ona (81a)



O composto **81a** foi obtido como um sólido amarelo em 79% de rendimento após purificação por coluna cromatografia. T_f : 161,3-162,0 °C. **CCD**: 0,22 (hexano: éter dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3057, 2925, 2843, 2162, 2033, 1750, 1661, 1597, 1495, 1449, 1346, 1255, 1172, 1054, 974, 848, 735, 667, 614, 557. **RMN de ^1H** (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,86 (s, 3H, 7'''), 3,90 (s, 3H, 7'), 6,21

(s, 1H, 7), 6,89 (d, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, 1H, 5'), 6,94 (d, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,8$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,32-7,43 (m, 3H, 6', 3'' e 5''), 7,53 (t, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,4$ Hz, 1H, 4''), 7,62 (d, $J_{2',6'} = 2,0$ Hz, 1H, 2'), 7,77-7,85 (m, 4H, 2'', 6'', 2''' e 6'''). **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 55,4 (7'''), 56,4 (7'), 111,8 (5'), 112,1 (3'), 114,6 (3''' e 5'''), 117,7 (7), 122,4 (1'), 122,7 (5), 125,5 (1'''), 128,5 (3'' e 5''), 129,5 (2'' e 6''), 130,0 (6'), 133,3 (2''' e 6'''), 133,9 (4''), 134,0 (2'), 136,2 (1''), 145,5 (4), 156,4 (3), 157,5 (4'), 161,3 (4'''), 166,3 (2), 189,5 (6). **EM, m/z (%)**: 490 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{BrO}_5$, 67), 491 ($[\text{M}+1]$, 20), 492 ($[\text{M}+2]$, 65), 493 ($[\text{M}+3]$, 19), 411 (7), 383 (7), 381 (5), 331 (11), 329 (11), 148 (28), 135 (5), 121 (17), 120 (21), 106 (8), 105 (100), 91 (11), 77 (49), 51 (7).

2.3.4.20.2. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-5-(3-bromo-4-metoxi-benzilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (81b)

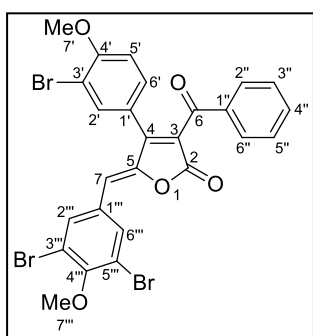


O composto **81b** foi obtido como um sólido amarelo em 55% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. T_f : 170,4-170,9 °C. **CCD**: 0,19 (hexano: éter dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3059, 2928, 2843, 2565, 2032, 1754, 1659, 1595, 1495, 1449, 1370, 1263, 1165, 1053, 1015, 977, 860, 736, 681, 576, 440.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,90 (s, 3H, 7'), 3,95 (s, 3H, 7'''), 6,12 (s, 1H, 7), 6,89 (d, $J_{5',6'} = 8,6$ Hz, 1H, 5'), 6,94 (d, $J_{5'',6''} = 8,7$ Hz, 1H, 5''), 7,31-7,45 (m, 3H, 6', 3'' e 5''), 7,54 (t, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,3$ Hz, 1H, 4''), 7,61 (d, $J_{2',6'} = 1,9$ Hz, 1H, 2'), 7,72-7,90 (m, 3H, 2'', 6'' e 6'''), 7,99 (d, $J_{2''',6'''} = 1,9$ Hz, 1H, 2'''). **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 56,4 (7'), 56,4 (7'''), 111,8 (5'), 112,0

(5'''), 112,2 (3'), 112,3 (3'''), 115,8 (7), 122,2 (1'), 123,6 (5), 126,7 (1'''), 128,6 (3'' e 5''), 129,5 (2'' e 6''), 130,0 (6'), 132,0 (6'''), 133,8 (2'), 134,1 (4''), 135,9 (2'''), 136,00 (1''), 146,2 (4), 156,1 (3), 157,3 (4'''), 157,7 (4'), 165,9 (2), 189,3 (6). **EM, *m/z* (%)**: 568 ([M⁺], C₂₆H₁₈Br₂O₅, 16), 569 ([M+1], 5), 570 ([M+2], 31), 571 ([M+3], 9), 572 ([M+4], 17), 573 ([M+5], 5), 228 (13), 226 (13), 213 (6), 201 (16), 199 (16), 119 (9), 106 (8), 105 (100), 77 (33).

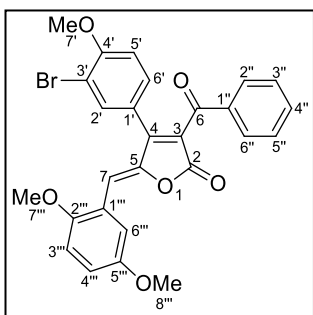
2.3.4.20.3. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-metoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (81c)



O composto **81c** foi obtido como um sólido amarelo em 45% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 191,8-192,4 °C. **CCD**: 0,38 (hexano: acetato de etila, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3518, 3060, 2928, 2844, 2551, 1976, 1762, 1652, 1595, 1494, 1367, 1260, 1218, 1162, 1052, 981, 861, 734, 666, 614, 462. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ :

3,90 (s, 3H, 7'), 3,92 (s, 3H, 7'''), 6,05 (s, 1H, 7), 6,89 (d, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, 1H, 5'), 7,31-7,47 (m, 3H, 6', 3'' e 5''), 7,51-7,66 (m, 2H, 2' e 4''), 7,80 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 7,4$ Hz, 2H, 2'' e 6''). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ : 56,4 (7'), 60,9 (7'''), 111,9 (5'), 112,3 (3'), 113,2 (7), 118,7 (3'' e 5'''), 121,7 (1'), 124,8 (5), 128,7 (3'' e 5''), 129,6 (2'' e 6''), 130,0 (6'), 131,2 (1'''), 133,8 (2'), 134,4 (4''), 134,8 (2''' e 6'''), 135,7 (1''), 147,8 (4), 155,2 (4'''), 155,6 (3), 157,8 (4'), 165,4 (2), 189,0 (6). **EM, *m/z* (%)**: 646 ([M⁺], C₂₆H₁₇Br₃O₅, 6), 648 ([M+2], 17), 649 ([M+3], 5), 650 ([M+4], 17), 651 ([M+5], 5), 652 ([M+6], 6), 306 (7), 291 (6), 106 (8), 105 (100), 77 (32).

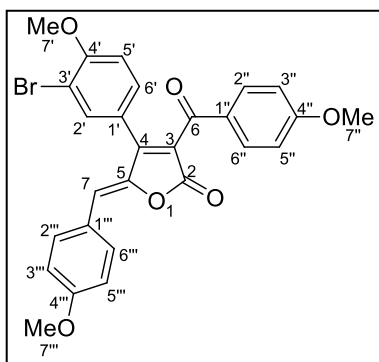
2.3.4.20.4. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(2,5-dimetoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (81d)



O composto **81d** foi obtido como um sólido vermelho em 82% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 189,6-190,1 °C. **CCD**: 0,19 (hexano: éter dietílico, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹):

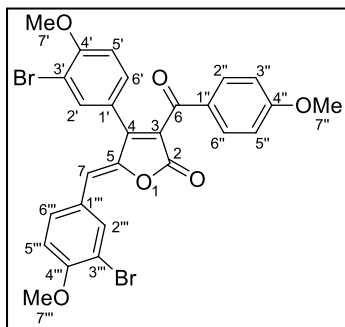
3061, 2925, 2839, 2032, 1968, 1754, 1650, 1600, 1492, 1369, 1258, 1227, 1181, 1048, 961, 865, 812, 697, 616, 445. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 3,79 (s, 3H, 7'''), 3,85 (s, 3H, 8'''), 3,90 (s, 3H, 7'), 6,82 (s, 1H, 7), 6,82-6,91 (m, 2H, 5' e 3'''), 6,94 (dd, $J_{4''',3''} = 9,0$ Hz e $J_{4''',6''} = 3,0$ Hz, 1H, 4'''), 7,34-7,44 (m, 3H, 6', 3'' e 5''), 7,54 (t, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,4$ Hz, 1H, 4''), 7,66 (d, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, 1H, 2'), 7,81 (d, $J_{2'',3''} = J_{2'',5''} = 7,2$ Hz, 2H, 2'' e 6''), 7,85 (d, $J_{6''',4''} = 3,0$ Hz, 1H, 6'''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 56,0 (8'''), 56,3 (7'''), 56,4 (7'), 111,4 (7), 111,8 (5'), 111,8 (3'''), 112,0 (3'), 115,8 (6'''), 118,2 (4'''), 122,2 (1'), 122,4 (1'''), 123,4 (5), 128,6 (3'' e 5''), 129,6 (2'' e 6''), 130,2 (6'), 134,0 (4''), 134,1 (2'), 136,1 (1''), 146,7 (4), 152,9 (5'''), 153,7 (2'''), 156,3 (3), 157,6 (4'), 166,1 (2), 189,6 (6). **EM, m/z (%)**: 520 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{BrO}_6$, 21), 521 ($[\text{M}+1]$, 7), 522 ($[\text{M}+2]$, 25), 523 ($[\text{M}+3]$, 7), 178 (5), 163 (12), 151 (40), 138 (5), 121 (15), 106 (8), 105 (100), 91 (7), 77 (31).

2.3.4.20.5. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-metoxibenzoil)-5-(4-metoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (81e)



O composto **81e** foi obtido como um sólido amarelo em 73% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_r**: 177,4-178,3 °C. **CCD**: 0,32 (hexano: acetato de etila, 3:1 v/v). **IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1})**: 3493, 3054, 2934, 2840, 2563, 2361, 2032, 1746, 1641, 1595, 1494, 1423, 1253, 1162, 1021, 974, 874, 734, 609, 555, 438. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 3,84 (s, 3H, 7''), 3,86 (s, 3H, 7'''), 3,90 (s, 3H, 7'), 6,19 (s, 1H, 7), 6,83-6,96 (m, 5H, 5', 3'', 5'', 3''' e 5'''), 7,36 (dd, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz e $J_{6',2'} = 1,4$ Hz, 1H, 6'), 7,63 (d, $J_{2',6'} = 1,4$ Hz, 1H, 2'), 7,81 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = J_{2''',3'''} = J_{6''',5'''} = 8,4$ Hz, 4H, 2'', 6'', 2''' e 6'''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 55,4 (7''), 55,6 (7'''), 56,4 (7'), 111,8 (5'), 112,0 (3'), 113,9 (3'' e 5''), 114,5 (3''' e 5'''), 117,2 (7), 122,6 (1'), 123,4 (5), 125,6 (1'''), 129,2 (1''), 130,0 (6'), 132,1 (2''' e 6'''), 133,2 (2'' e 6''), 133,8 (2'), 145,5 (4), 155,6 (3), 157,5 (4'), 161,2 (4'''), 164,3 (4''), 166,5 (2), 187,8 (6). **EM, m/z (%)**: 520 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{BrO}_6$, 48), 521 ($[\text{M}+1]$, 15), 522 ($[\text{M}+2]$, 47), 523 ($[\text{M}+3]$, 13), 441 (8), 331 (5), 329 (6), 227 (11), 148 (28), 136 (10), 135 (100), 120 (16), 107 (17), 92 (13), 91 (8), 77 (26).

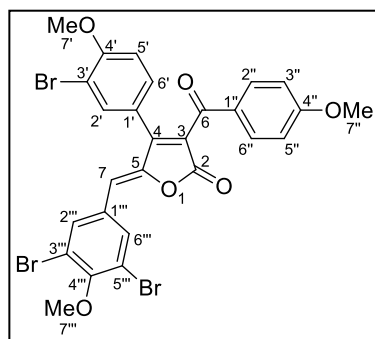
2.3.4.20.6. Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-metoxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (81f)



O composto **81f** foi obtido como um sólido amarelo em 76% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. T_f : 191,6-192,2 °C. **CCD**: 0,35 (hexano: acetato de etila, 3:1 v/v). $\bar{\nu}$ (cm^{-1}): 3505, 3057, 2929, 2842, 2566, 2030, 1748, 1646, 1592, 1493, 1459, 1360, 1255, 1162, 1052, 1015, 976, 863, 734, 673, 609, 576, 441. **RMN de ^1H**

(300 MHz, CDCl_3) δ : 3,84 (s, 3H, 7''), 3,90 (s, 3H, 7'), 3,95 (s, 3H, 7'''), 6,10 (s, 1H, 7), 6,80-7,00 (m, 4H, 5', 3'', 5'' e 5'''), 7,30-7,47 (m, 1H, 6'), 7,55-7,70 (m, 1H, 2'), 7,75-7,87 (m, 3H, 2'', 6'' e 6'''), 7,94-8,04 (m, 1H, 2'''). **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 55,6 (7''), 56,4 (7''' e 7'), 111,9 (5'''), 111,9 (5'), 112,2 (3'''), 112,2 (3'), 114,0 (3'' e 5''), 115,2 (7), 122,3 (1'), 124,1 (4), 126,8 (1'''), 129,0 (1''), 130,0 (6'), 131,9 (6'''), 132,1 (2'' e 6''), 133,7 (2'), 135,9 (2'''), 146,3 (4), 155,3 (3), 157,1 (4'''), 157,6 (4'), 164,4 (4''), 166,2 (2), 187,6 (6). **EM, m/z (%)**: 598 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{Br}_2\text{O}_6$, 12), 599 ($[\text{M}+1]$, 4), 600 ($[\text{M}+2]$, 24), 601 ($[\text{M}+3]$, 7), 602 ($[\text{M}+4]$, 13), 603 ($[\text{M}+5]$, 4), 522 (3), 521 (4), 520 (3), 519 (3), 307 (3), 305 (3), 228 (8), 226 (8), 148 (4), 136 (8), 135 (100), 119 (6), 107 (13), 92 (6), 77 (14).

2.3.4.20.7. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-metoxibenilideno)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (81g)

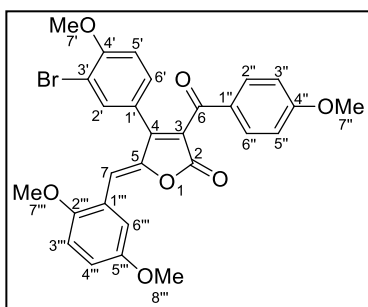


O composto **81g** foi obtido como um sólido amarelo em 55% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. T_f : 103,6-104,4 °C. **CCD**: 0,40 (hexano: acetato de etila, 3:1 v/v). $\bar{\nu}$ (cm^{-1}): 3058, 2929, 2842, 2566, 2036, 1759, 1650, 1594, 1495, 1421, 1367, 1259, 1164, 1053, 980, 865, 733, 608, 524. **RMN de ^1H** (300

MHz, CDCl_3) δ : 3,85 (s, 3H, 7''), 3,90 (s, 3H, 7'), 3,92 (s, 3H, 7'''), 6,03 (s, 1H, 7), 6,83-6,95 (m, 3H, 5', 3'' e 5''), 7,30-7,41 (m, 1H, 6'), 7,56-7,67 (m, 1H), 7,80 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, 2H, 2'' e 6''), 7,96 (s, 2H, 2'''' e 6'''). **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 55,6 (7''), 56,4 (7'), 60,9 (7'''), 111,9 (5'), 112,3 (3'), 112,8 (7), 114,1

(3'' e 5''), 118,7 (3''' e 5'''), 121,8 (1'), 125,4 (5), 128,8 (1'), 129,9 (6'), 131,2 (1'''), 132,1 (2'' e 6''), 133,7 (2'), 134,7 (2''' e 6'''), 147,8 (4), 154,8 (3), 155,1 (4'''), 157,8 (4'), 164,6 (4''), 165,6 (2), 187,3 (6). **EM, m/z (%)**: 676 ([M⁺], C₂₇H₁₉Br₃O₆, 5), 677 ([M+1], 2), 678 ([M+2], 15), 679 ([M+3], 5), 680 ([M+4], 15), 681 ([M+5], 5), 682 ([M+6], 5), 599 (4), 136 (9), 135 (100), 107(12), 92 (6), 77 (13).

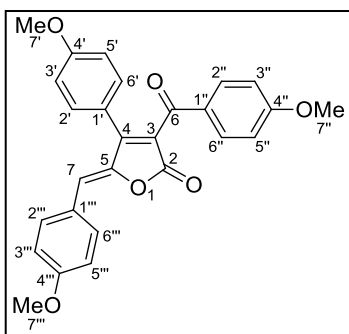
2.3.4.20.8. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(2,5-dimetoxibenzilideno)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (81h)



O composto **81h** foi obtido como um sólido laranja em 83% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 177,3-177,9 °C. **CCD**: 0,38 (hexano: acetato de etila, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3496, 3071, 2938, 2839, 2035, 1752, 1646, 1596, 1492, 1421, 1259, 1228, 1164, 1019,

957, 868, 794, 714, 610, 521, 443. **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ: 3,79 (s, 3H, 7'''), 3,84 (s, 6H, 7'' e 8'''), 3,90 (s, 3H, 7'), 6,77-6,94 (m, 6H, 7, 5', 3'', 5'', 3''' e 4'''), 7,39 (dd, *J*_{6',5'} = 7,4 Hz e *J*_{6',2'} = 2,1 Hz, 1H, 6'), 7,67 (d, *J*_{2',6'} = 2,1 Hz, 1H, 2'), 7,79-7,87 (m, 3H, 2'', 6'' e 6'''). **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ: 55,6 (7''), 55,9 (8'''), 56,2 (7'''), 56,3 (7'), 110,9 (7), 111,8 (3'''), 111,8 (5'), 112,0 (3'), 113,9 (3'' e 5''), 115,8 (6'''), 117,9 (4'''), 122,2 (1'), 122,5 (1''), 124,0 (5), 129,1 (1'''), 130,1 (6'), 132,1 (2'' e 6''), 134,0 (2'), 146,7 (4), 152,8 (2'''), 153,7 (5'''), 155,4 (3), 157,5 (4'), 164,4 (4''), 166,3 (2), 187,9 (6). **EM, m/z (%)**: 550 ([M⁺], C₂₈H₂₃BrO₇, 25), 551 ([M+1], 8), 552 ([M+2], 25), 553 ([M+3], 7), 472 (5), 178 (6), 163 (12), 136 (10), 135 (100), 121 (5), 107 (14), 92 (7), 77 (15).

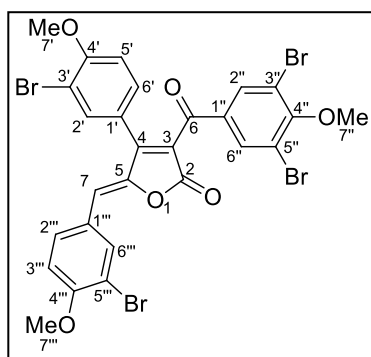
2.3.4.20.9. Dados referentes ao composto (Z)-3-(4-metoxibenzoil)-5-(4-metoxibenzilideno)-4-(4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (81i)



O composto **81i** foi obtido como um sólido amarelo em 89% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 189,1-189,7 °C. **CCD**: 0,25 (hexano: acetato de etila, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3486, 3053, 2929, 2849, 2560, 2361, 2039, 1747, 1651, 1594, 1507, 1374, 1251, 1164, 1114, 1025,

970, 834, 734, 620, 529, 430. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 3,80 (s, 3H, 7'), 3,82 (s, 3H, 7''), 3,85 (s, 3H, 7'''), 6,23 (s, 1H, 7), 6,79-6,98 (m, 6H, 3', 3'', 3''', 5', 5'' e 5'''), 7,36 (d, $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,6$ Hz, 2H, 2' e 6'), 7,81 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = J_{2''',3'''} = J_{6''',5'''} = 8,5$ Hz, 4H, 2'', 2''', 6'' e 6'''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 55,4 (7'), 55,4 (7''), 55,5 (7'''), 113,8 (3' e 5'), 114,3 (3' e 5'), 114,5 (3'' e 5'''), 117,0 (7), 121,4 (1'), 122,7 (5), 125,7 (1'''), 129,3 (1''), 130,8 (2' e 6'), 132,1 (2'' e 6''), 133,0 (2''' e 6'''), 145,8 (4), 157,0 (3), 161,0 (4'''), 161,3 (4'), 164,2 (4''), 166,8 (2), 188,3 (6). **EM, m/z (%)**: 442 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_6$, 57), 443 ($[\text{M}+1]$, 17), 334 (5), 333 (5), 303 (7), 251 (15), 227 (6), 148 (26), 136 (9), 135 (100), 121 (9), 120 (11), 107 (16), 92 (9), 91 (6), 77 (20), 57 (6).

2.3.4.20.10. Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-metoxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(3,5-dibromo-4-metoxiben-zoil)furan-2(5H)-ona (81j)

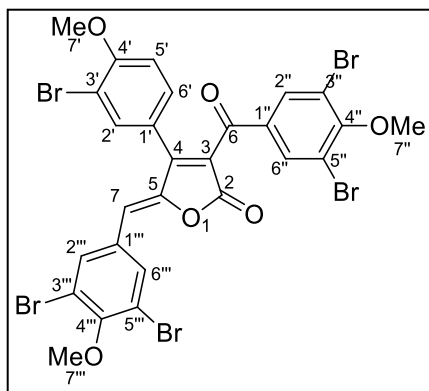


O composto **81j** foi obtido como um sólido amarelo em 53% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 163,1-163,8 °C. **CCD**: 0,17 (hexano: diclorometano, 3:5 v/v). **IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1})**: 3063, 2924, 2851, 2550, 2027, 1755, 1656, 1592, 1494, 1379, 1259, 1182, 1052, 983, 889,812, 735, 662, 576, 441. **RMN de ^1H (300**

MHz, CDCl_3) δ : 3,89 (s, 3H, 7''), 3,93 (s, 3H, 7'), 3,96 (s, 3H, 7'''), 6,17 (s, 1H, 7), 6,91-6,97 (m, 2H, 5' e 5'''), 7,33 (dd, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz e $J_{6',2'} = 1,7$ Hz, 1H, 6'), 7,56 (d, $J_{2',6'} = 1,8$ Hz, 1H, 2'), 7,83-7,89 (m, 3H, 2'', 6'' e 6'''), 7,98-8,02 (m, 1H, 2''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 56,5 (7' e 7'''), 60,8 (7''), 111,9 (5'), 112,0 (5'''), 112,4 (3'), 112,4 (3'''), 117,2 (7), 118,5 (3'' e 5''), 121,7 (5), 121,9 (1'), 126,6 (1'''), 130,0 (6'), 132,3 (6'''), 133,9 (1'', 2'' e 6''), 134,0 (2'), 136,2 (2'''), 145,9 (4), 157,5 (3), 157,6 (4''), 157,8 (4'''), 158,5 (4'), 165,6 (2), 185,7 (6). **EM, m/z (%)**: 754 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{27}\text{H}_{18}\text{Br}_4\text{O}_6$, 15), 755 ($[\text{M}+1]$, 5), 756 ($[\text{M}+2]$, 55), 757 ($[\text{M}+3]$, 16), 758 ($[\text{M}+4]$, 79), 759 ($[\text{M}+5]$, 23), 760 ($[\text{M}+6]$, 53), 761 ($[\text{M}+7]$, 15), 762 ($[\text{M}+8]$, 15), 679 (9), 677 (9), 465 (7), 463 (7), 461 (6), 411 (13), 410 (5), 409 (24), 407 (13), 394 (7), 295 (49), 294 (10), 293 (100), 292 (6), 291 (52), 265 (6), 252 (5), 250 (10), 248 (5), 239 (16), 237 (19), 235 (10), 233 (5), 229 (6), 228 (59), 227 (7), 226(60), 224 (6), 222 (6), 215 (29), 214 (5), 213 (47), 211 (20), 201 (8), 200 (11),

199 (10), 198 (10), 163 (5), 156 (5), 155 (5), 120 (5), 119 (54), 103 (11), 90 (5), 89 (15), 97 (6), 77 (8), 76 (9), 75 (10), 63 (5), 57 (6).

2.3.4.20.11. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(3,5-dibromo-4-metoxibenzoil)-5-(3,5-dibromo-4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (81k)



O composto **81k** foi obtido como um sólido amarelo em 48% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. T_f : 213,8-214,4 °C. **CCD**: 0,28 (hexano: diclorometano, 3:5 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3069, 2926, 2853, 2536, 2162, 1969, 1765, 1668, 1592, 1470, 1380, 1260, 1185, 1054, 983, 892, 812,

734, 661, 613, 437. **RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 3,90 (s, 3H, 7''), 3,93 (s, 6H, 7' e 7'''), 6,09 (s, 1H, 7), 6,94 (d, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, 1H, 5'), 7,33 (dd, $J_{6',5'} = 8,5$ e $J_{6',2'} = 2,1$ Hz, 1H, 6'), 7,57 (d, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, 1H, 2'), 7,88 (s, 2H, 2'' e 6''), 7,97 (s, 2H, 2''' e 6'''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)** δ : 56,5 (7'), 60,8 (7''), 60,9 (7'''), 112,0 (5'), 112,6 (3'), 114,5 (7), 118,6 (3'' e 5''), 118,8 (3''' e 5'''), 121,4 (1'), 123,2 (5), 130,0 (6'), 131,0 (1'''), 133,7 (1''), 133,9 (2'), 133,9 (2'' e 6''), 134,9 (2''' e 6'''), 147,5 (4), 155,5 (4'''), 157,0 (3), 158,1 (4'), 158,7 (4''), 165,0 (2), 185,4 (6). **EM, m/z (%)**: 832 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{27}\text{H}_{17}\text{Br}_5\text{O}_6$, 4), 834 ($[\text{M}+2]$, 17), 835 ($[\text{M}+3]$, 5), 836 ($[\text{M}+4]$, 33), 837 ($[\text{M}+5]$, 9), 838 ($[\text{M}+6]$, 31), 839 ($[\text{M}+7]$, 9), 840 ($[\text{M}+8]$, 16), 841 ($[\text{M}+9]$, 4), 757 (5), 504 (5), 502 (5), 489 (7), 487 (6), 308 (13), 306 (26), 304 (14), 295 (44), 294 (9), 293 (100), 292 (7), 291 (68), 289 (12), 265 (5), 250 (7), 239 (12), 127 (16), 235 (9), 233 (5), 222 (5), 199 (5), 197 (5), 103 (9), 87 (6).

2.3.4.21. Síntese de (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(4-hidroxibenzoil)furan-2(5H)-ona (82a) pela reação de desmetilação com BBr_3

A um balão bitubulado de fundo redondo (25 mL), sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, foi adicionado o composto **81a** (50,0 mg, 0,101 mmol) e 3 mL de diclorometano anidro. A solução foi resfriada a -78 °C e então foi adicionado uma solução de 1 mol/L de BBr_3 em diclorometano (606 μL , 606 mmol). A mistura foi aquecida à 25 °C permanecendo sob agitação magnética por 20 horas. A mistura reacional foi transferida para um funil de separação

empregando-se 10 mL de água e foi extraído com acetato de etila (4 x 10 mL). A fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl (20 mL), secada com MgSO₄ anidro e concentrada sob pressão reduzida para obtenção do material bruto da reação, que foi purificado por cromatografia de coluna de sílica gel empregando-se a mistura de solvente hexano:acetato de etila (1:2 v/v) para obtenção de **82a** em 86% de rendimento (40,5 mg, 0,0870 mmol).

Os compostos **82b-i** foram preparados utilizando-se procedimento experimental similar ao descrito para a síntese do composto **82a**. A Tabela 4 apresenta as quantidades necessárias de cada análogo metoxilados e os rendimentos obtidos de cada reação.

Tabela 4 – Dados referentes ao preparo dos análogos aos cadiólídeos **82a-i**.

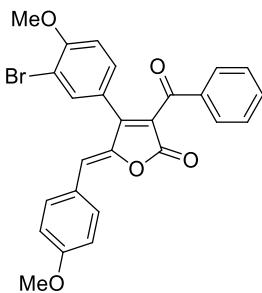
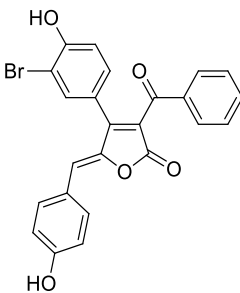
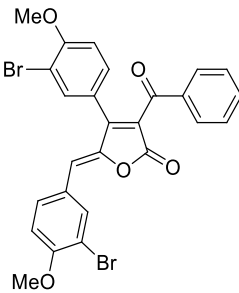
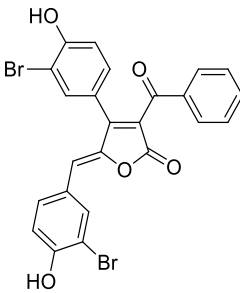
Análogo metoxilado (mg; mmol)	Análogo hidroxilado (Rendimento; mg; mmol)
 <p>81a (50,0; 0,101)</p>	 <p>82a (86%; 40,5; 0,0870)</p>
 <p>81b (50,0; 0,0880)</p>	 <p>82b (83%; 39,5; 0,0730)</p>

Tabela 4 – Continuação...

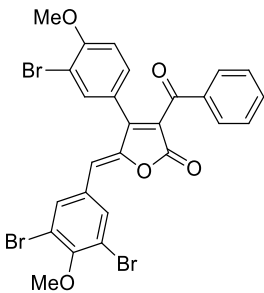
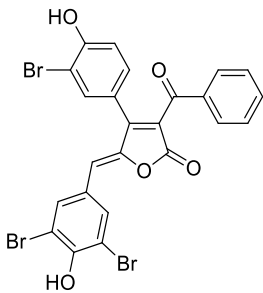
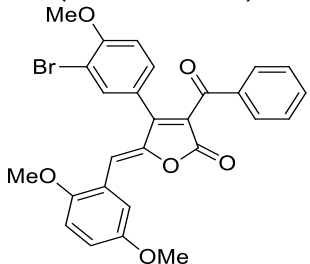
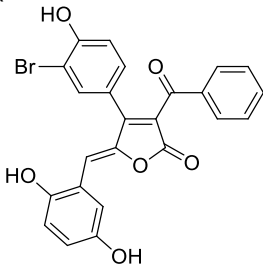
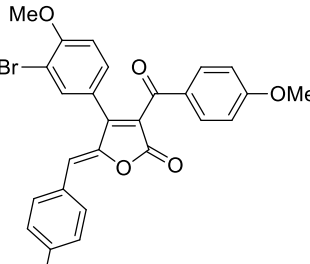
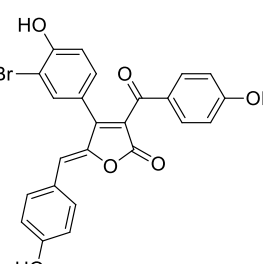
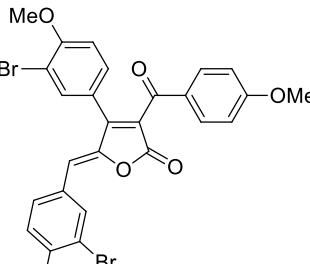
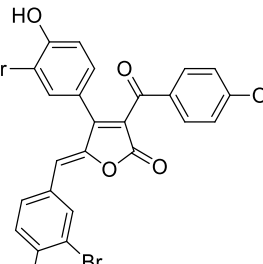
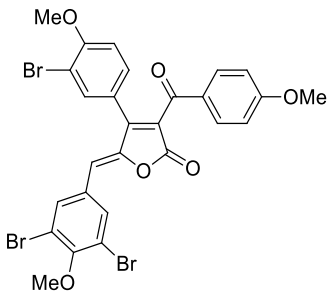
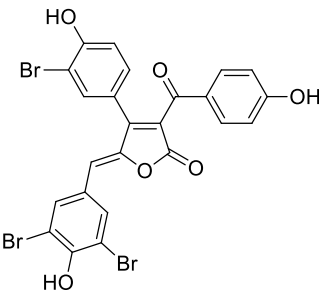
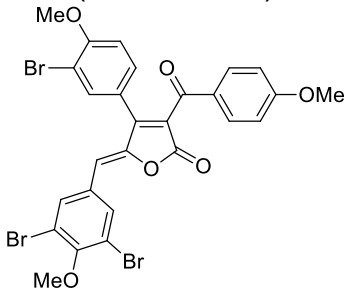
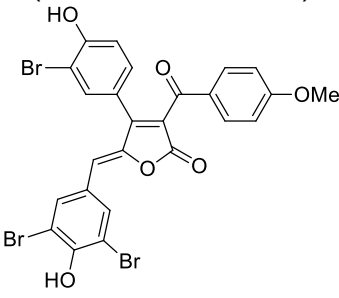
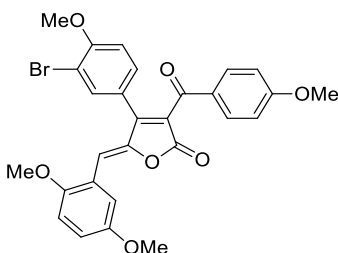
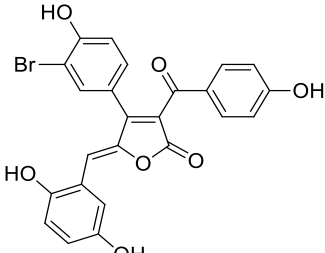
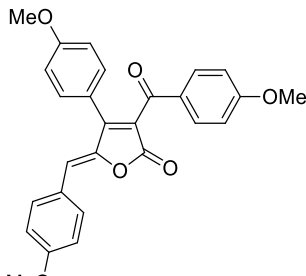
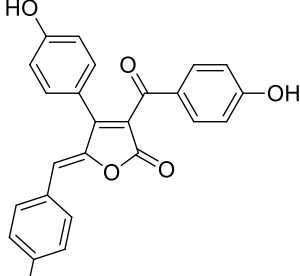
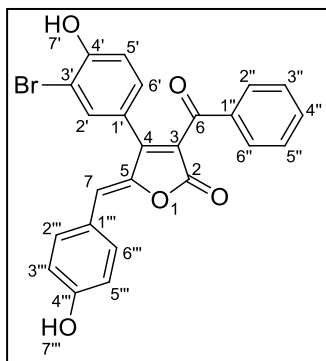
Análogo metoxilado (mg; mmol)	Análogo hidroxilado (Rendimento; mg; mmol)
 <p>81c (50,0; 0,0770)</p>	 <p>82c (45%; 21,7; 0,0350)</p>
 <p>81d (50,0; 0,0960)</p>	 <p>82d (78%; 35,9; 0,0750)</p>
 <p>81e (50,0; 0,0960)</p>	 <p>82e (64%; 29,4; 0,0610)</p>
 <p>81f (50,0; 0,0830)</p>	 <p>82f (71%; 33,0; 0,0590)</p>

Tabela 4 – Continuação...

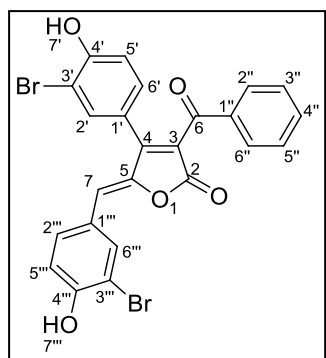
Análogo metoxilado (mg; mmol)	Análogo hidroxilado (Rendimento; mg; mmol)
 <p>81g (50,0; 0,0740)</p>	 <p>82g (41%; 19,2; 0,0300)</p>
 <p>81g (50,0; 0,0740)</p>	 <p>82g' (25%; 12,0; 0,0180)</p>
 <p>81h (50,0; 0,0910)</p>	 <p>82h (78%; 35,0; 0,0710)</p>
 <p>81k (50,0; 0,113)</p>	 <p>82i (82%; 37,1; 0,0930)</p>

2.3.4.21.1. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(4-hidroxibenzilideno)-furan-2(5H)-ona (82a)



O composto **82a** foi obtido como um sólido laranja em 86% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. T_f : 214,2-215,0 °C (dec). **CCD**: 0,48 (hexano: acetato de etila, 1:2 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3308, 3044, 2924, 2160, 1724, 1593, 1485, 1421, 1375, 1280, 1162, 1044, 977, 878, 768, 624, 541, 466. **RMN de ^1H (300 MHz, DMSO)** δ : 6,34 (s, 1H, 7), 6,87 (d, $J_{3''',2'''} = J_{5''',6'''} = 8,6$ Hz, 2H, 3''' e 5'''), 6,95 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1H, 5'), 7,25 (d, $J_{6',5'} = 8,4$ Hz, 1H, 6'), 7,42 (t, $J_{3'',2''} = J_{3'',4''} = J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,5$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,48 (m, 1H, 2'), 7,59 (t, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,5$ Hz, 1H, 4''), 7,72-7,84 (m, 4H, 2'', 6'', 2''' e 6'''), 10,26 (s, 1H, 7'''), 10,91 (s, 1H, 7'). **RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO)** δ : 109,9 (5'), 116,6 (3''' e 5'''), 116,8 (3'), 118,1 (7), 121,2 (1'), 121,6 (5), 124,5 (1'''), 129,1 (3'' e 5'''), 129,8 (2'' e 6'''), 130,5 (6'), 133,9 (2''' e 6'''), 134,1 (4''), 134,5 (2'), 136,4 (1''), 144,9 (4), 156,5 (3), 156,8 (4'), 160,1 (4'''), 166,2 (2), 190,2 (6). **EM, m/z (%)**: 462 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{BrO}_5$, 34), 463 ($[\text{M}+1]$, 10), 464 ($[\text{M}+2]$, 34), 303 (7), 301 (7), 134 (43), 121 (5), 106 (25), 105 (100), 78 (9), 77 (45), 51 (5).

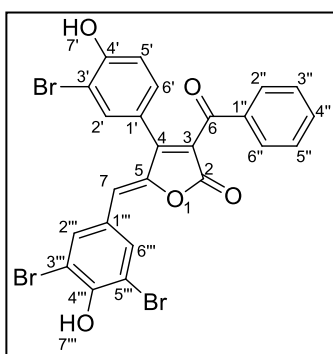
2.3.4.21.2. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-5-(3-bromo-4-hidroxi-benzilideno)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)furan-2(5H)-ona (82b)



O composto **82b** foi obtido como um sólido laranja em 83% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. T_f : 215,9-216,7 °C (dec). **CCD**: 0,42 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3554, 3489, 3061, 2922, 2589, 2162, 1744, 1637, 1590, 1490, 1352, 1295, 1167, 1042, 974, 862, 769, 641, 554, 471. **RMN de ^1H (300 MHz, Acetona)** δ : 6,43 (s, 1H, 7), 7,05 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1H, 5'), 7,13 (d, $J_{5''',6'''} = 8,5$ Hz, 1H, 5'''), 7,30-7,42 (m, 1H, 6'), 7,46 (t, $J_{3'',2''} = J_{3'',4''} = J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,6$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,56-7,71 (m, 2H, 2' e 4''), 7,78 – 7,87 (m, 1H, 6'''), 7,92 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 7,6$ Hz, 2H, 2'' e 6'''), 8,10-8,20 (m, 1H, 2'''), 9,59 (s, 1H, 7'''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, Acetona)** δ : 109,8 (3'), 110,0 (3'''), 115,0 (7), 116,5 (5'), 116,8 (5'''), 121,7 (1'),

123,2 (5), 126,7 (1'''), 128,6 (3'' e 5''), 129,4 (2'' e 6''), 130,2 (6'), 132,0 (6'''), 133,9 (2'), 134,0 (4''), 135,8 (2'''), 136,4 (1''), 146,2 (4), 155,6 (3), 155,8 (4'''), 156,0 (4'), 165,5 (2), 189,5 (6). **EM, m/z (%)**: 540 ([M⁺], C₂₄H₁₄Br₂O₅, 14), 541 ([M+1], 4), 542 ([M+2], 27), 543 ([M+3], 7), 544 ([M+4], 14), 464 (11), 462 (11), 214 (13), 212 (13), 134 (8), 106 (11), 105 (100), 77 (36).

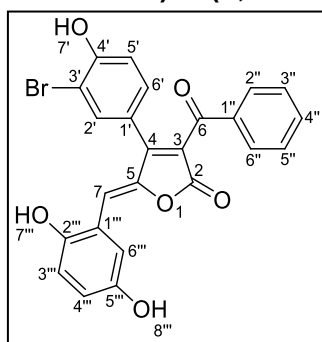
2.3.4.21.3. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-hidroxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (82c)



O composto **82c** foi obtido como um sólido marrom em 45% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 204,6-205,7 °C. **CCD**: 0,50 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3063, 2922, 2852, 2037, 1748, 1684, 1579, 1476, 1374, 1294, 1191, 1142, 1020, 970, 865, 826, 735, 655, 574. **RMN de ¹H (300 MHz, DMSO) δ**: 6,43

(s, 1H, 7), 6,95 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1H, 5'), 7,21-7,27 (m, 1H, 6'), 7,38-7,53 (m, 3H, 2', 3'' e 5''), 7,61 (t, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,3$ Hz, 1H, 4''), 7,83 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 7,6$ Hz, 2H, 2'' e 6''), 8,05 (s, 2H, 2''' e 6'''), 9,76 (s, 1H, 7'''), 10,95 (s, 1H, 7'). **RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO) δ**: 110,0 (5'), 112,4 e 112,5 (3''' e 5'''), 114,2 (3'), 116,8 (7), 120,7 (1'), 122,9 (5), 127,8 (6'), 129,2 (3'' e 5''), 129,8 (2'' e 6''), 130,6 (1'''), 134,1 (2''' e 6'''), 134,7 (4''), 135,1 (2'), 136,1 (1''), 146,7 (4), 152,5 (3), 156,4 (4'''), 156,7 (4'), 165,8 (2), 190,0 (6). **EM, m/z (%)**: 618 ([M⁺], C₂₄H₁₃Br₃O₅, 6), 620 ([M+2], 16), 621 ([M+3], 5), 622 ([M+4], 16), 623 ([M+6], 4), 624 ([M+6], 6), 542 (5), 294 (5), 292 (9), 290 (5), 105 (100), 77 (39).

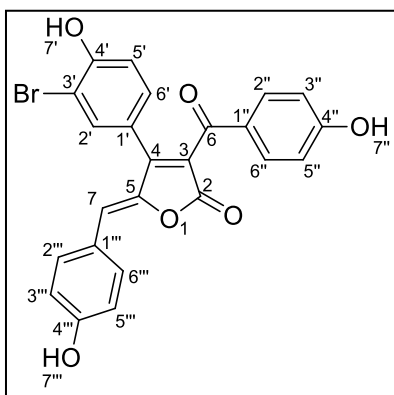
2.3.4.21.4. Dados referentes ao composto (Z)-3-benzoil-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(2,5-dihidroxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (82d)



O composto **82d** foi obtido como um sólido vermelho em 78% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 224,6-225,7 °C (dec). **CCD**: 0,42 (hexano: acetato de etila, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3308, 3077, 2160, 1979, 1719, 1596, 1553, 1496, 1354, 1290, 1206, 999, 867, 771, 664, 588, 449.

RMN de ^1H (300 MHz, Acetona) δ : 6,78-6,88 (m, 3H, 7, 3''' e 4'''), 7,06 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1H, 5'), 7,31-7,41 (m, 1H, 6'), 7,46 (t, $J_{3'',2''} = J_{3'',4''} = J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,4$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 7,61 (t, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,4$ Hz, 1H, 4''), 7,76-7,66 (m, 2H, 2' e 6'''), 7,93 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 7,4$ Hz, 2H, 2'' e 6''), 8,21 (s, 1H, 8'''), 8,63 (s, 1H, 7'''). **RMN de ^{13}C (75 MHz, Acetona) δ :** 109,7 (3'), 110,7 (7), 116,0 (5'), 116,4 (3'''), 116,5 (4'''), 119,3 (6'''), 120,5 (1'), 122,0 (1'''), 123,1 (5), 128,6 (3'' e 5''), 129,4 (2'' e 6''), 130,2 (6'), 133,9 (4''), 134,1 (2'), 136,5 (1'), 146,5 (4), 150,1 (5'''), 150,7 (2'''), 156,0 (3), 156,1 (4'), 165,8 (2), 189,6 (6). **EM, m/z (%):** 478 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{BrO}_6$, 8), 480 ($[\text{M}+2]$, 8), 436 (7), 434 (9), 400 (6), 355 (5), 223 (5), 122 (6), 106 (8), 105 (100), 94 (7), 77 (35).

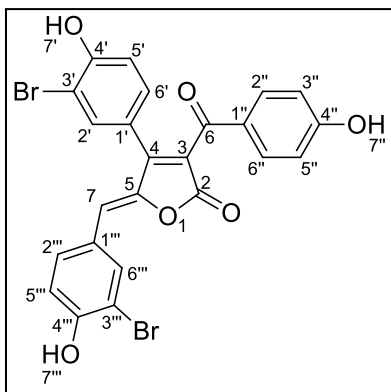
2.3.4.21.5. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxibenzoil)-5-(4-hidroxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (82e)



O composto **82e** foi obtido como um sólido amarelo em 64% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 250,0-251,0 °C (dec). **CCD**: 0,33 (hexano: acetato de etila, 1:3 v/v). **IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1})**: 3300, 3068, 2922, 2852, 2162, 1975, 1731, 1636, 1600, 1563, 1512, 1372, 1281, 1168, 984, 878, 826, 655, 609, 646.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ : 6,30 (s, 1H, 7), 6,76 (d, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,6$ Hz, 2H, 3'' e 5''), 6,86 (d, $J_{3''',2'''} = J_{5''',6'''} = 8,5$ Hz, 2H, 3''' e 5'''), 6,97 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1H, 5'), 7,24 (dd, $J_{6',5'} = 8,4$ Hz e $J_{6',2'} = 1,4$ Hz, 1H, 6'), 7,48 (d, $J_{2',6'} = 1,4$ Hz, 1H, 2'), 7,60-7,84 (m, 4H, 2'', 6'', 2''' e 6'''), 10,22 (s, 1H, 7''), 10,60 (s, 1H, 7'''), 10,92 (s, 1H, 7'). **RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ :** 110,0 (3'), 115,9 (3'' e 5''), 116,5 (3''' e 5'''), 116,9 (7), 117,1 (5'), 121,3 (1'), 122,6 (5), 124,5 (1'''), 127,9 (1''), 130,4 (6'), 132,7 (2''' e 6'''), 133,6 (2'' e 6''), 133,9 (2'), 144,9 (4), 155,2 (3), 156,5 (4'), 159,9 (4'''), 163,6 (4''), 166,4 (2), 188,1 (6). **EM, m/z (%):** 478 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{BrO}_6$, 30), 479 ($[\text{M}+1]$, 9), 480 ($[\text{M}+2]$, 30), 481 ($[\text{M}+3]$, 8), 400 (16), 360 (5), 358 (5), 223 (7), 199 (7), 134 (37), 122 (8), 121 (100), 106 (13), 93 (19), 65 (10).

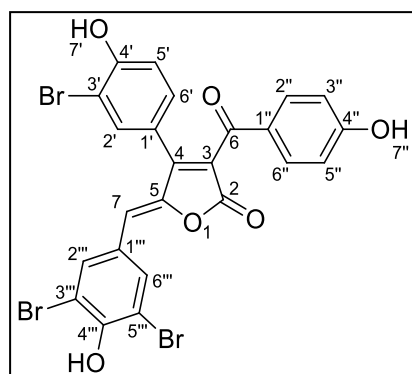
2.3.4.21.6. Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-hidroxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxibenzoil)furan-2(5H)-ona (82f)



O composto **82f** foi obtido como um sólido laranja em 71% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 151,8-151,5 °C. **CCD**: 0,39 (hexano: acetato de etila, 2:1 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3195, 2921, 1977, 1728, 1636, 1565, 1493, 1367, 1287, 1160, 1043, 867, 818, 655, 609, 567, 424. **RMN de ¹H (300 MHz, DMSO)** δ : 6,34 (s, 1H, 7), 6,76 (d, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,6$ Hz,

2H, 3'' e 5''), 6,97 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1H, 5'), 7,04 (d, $J_{5''',6'''} = 8,6$ Hz, 1H, 5'''), 7,17-7,30 (m, 1H, 6'), 7,43 – 7,51 (m, 1H, 2'), 7,65-7,85 (m, 3H, 2'', 6'' e 6'''), 7,99-8,14 (m, 1H, 2'''), 10,62 (s, 1H, 7''), 10,93 (s, 1H, 7'), 11,04 (s, 1H, 7'''). **RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO)** δ : 110,0 (3'), 110,3 (3'''), 115,3 (7), 115,9 (3'' e 5''), 116,9 (5'''), 117,2 (5'), 121,1 (1'), 123,3 (5), 126,1 (1'''), 127,8 (1''), 130,4 (6'), 132,4 (6'''), 132,7 (2'' e 6''), 133,9 (2'), 136,0 (2'''), 145,8 (4), 155,0 (3), 156,2 (4'), 156,5 (4'''), 163,7 (4''), 166,2 (2), 188,0 (6). **EM, m/z (%)**: 556 ([M⁺], C₂₄H₁₄Br₂O₆, 9), 557 ([M+1], 3), 558 ([M+2], 17), 559 ([M+3], 5), 560 ([M+4], 9), 480 (10), 479 (5), 478 (10), 437 (9), 214 (10), 212 (10), 134 (12), 122 (8), 121 (100), 113 (6), 105 (12), 93 (19), 82(7), 80 (7), 70 (7), 65 (11).

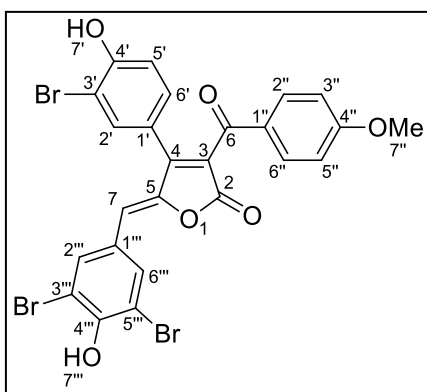
2.3.4.21.7. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-hidroxibenzilideno)-3-(4-hidroxibenzoil)furan-2(5H)-ona (82g)



O composto **82g** foi obtido como um sólido marrom em 41% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 158,5-159,2 °C. **CCD**: 0,28 (hexano: acetato de etila, 1:3 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3307, 2921, 2852, 2162, 1980, 1743, 1643, 1566, 1474, 1372, 1291, 1158, 983, 869, 808, 610, 424. **RMN de ¹H (300 MHz, DMSO)** δ : 6,39 (s, 1H, 7), 6,77 (d, $J_{3''',2'''} = J_{5''',6'''} = 8,5$ Hz, 2H, 3''' e 5'''), 6,97 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1H, 5'), 7,18-7,31 (m, 1H, 6'), 7,41-7,57 (m, 1H, 2'), 7,72 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,5$ Hz, 2H, 2'' e 6''), 8,11 (s, 2H, 2''' e

6'''), 10,64 (s, 1H, 7''), 10,95 (s, 1H, 7'). **RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ** : 110,1 (5'), 112,4 (7), 113,4 (3'), 116,0 (3'' e 5''), 116,9 (1''), 120,9 (3''' e 5'''), 123,9 (5), 127,7 (6'), 127,9 (1'), 130,5 (1'''), 132,8 (2'' e 6''), 134,0 (2'), 135,0 (2''' e 6'''), 146,7 (4), 152,4 (3), 154,8 (4'''), 156,6 (4'), 163,8 (4''), 166,0 (2), 187,9 (6). **EM, m/z (%)**: 634 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{24}\text{H}_{13}\text{Br}_3\text{O}_6$, 3), 636 ($[\text{M}+2]$, 9), 638 ($[\text{M}+4]$, 9), 640 ($[\text{M}+6]$, 3), 560 (6), 558 (13), 556 (6), 214 (5), 212 (5), 122 (8), 121 (100), 105 (7), 93 (19), 82 (7), 80 (6), 65 (10).

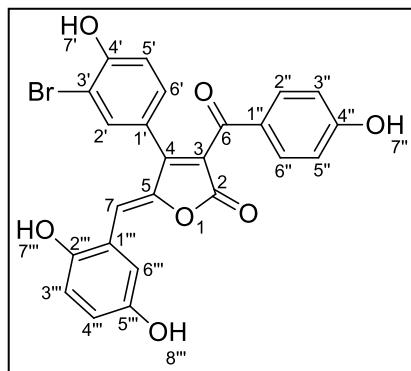
2.3.4.21.8. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(3,5-dibromo-4-hidroxibenzilideno)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (82g')



O composto **82g'** foi obtido como um sólido laranja em 25% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 106,1-106,8 °C. **CCD**: 0,36 (hexano: acetato de etila, 1:3 v/v). **IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹)**: 2921, 2851, 2163, 2035, 1750, 1648, 1596, 1477, 1362, 1295, 1254, 1162, 1021, 975, 868, 794, 699, 608, 520. **RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ** : 3,81 (s, 3H, 7''), 6,40 (s, 1H,

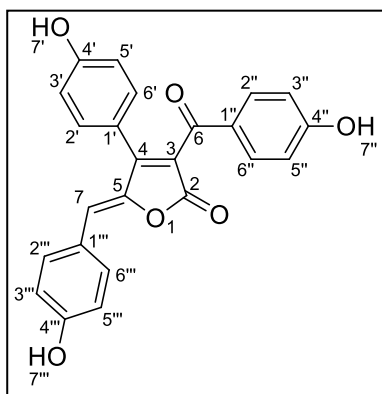
7), 6,97 (d, $J_{5',6'} = J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,6$ Hz, 3H, 5', 3'' e 5''), 7,14-7,35 (m, 1H, 6'), 7,37-7,54 (m, 1H, 2'), 7,84 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, 2H, 2'' e 6''), 8,12 (s, 2H, 2''' e 6'''), 10,95 (s, 1H, 7'). **RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ** : 56,2 (7''), 110,1 (5), 112,4 (7), 113,6 (3'), 114,6 (3'' e 5''), 116,9 (1''), 120,8 (3''' e 5'''), 123,7 (5), 127,9 (1'), 129,0 (6'), 130,5 (1'''), 132,5 (2'' e 6''), 134,0 (2'), 135,0 (2''' e 6'''), 146,8 (4), 152,4 (3), 155,3 (4'''), 156,7 (4'), 164,6 (4''), 166,0 (2), 188,2 (6). **EM, m/z (%)**: 648 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{25}\text{H}_{15}\text{Br}_3\text{O}_6$, 4), 649 ($[\text{M}+1]$, 2), 650 ($[\text{M}+2]$, 12), 651 ($[\text{M}+3]$, 4), 652 ($[\text{M}+4]$, 12), 653 ($[\text{M}+5]$, 4), 654 ($[\text{M}+6]$, 4), 573 (5), 572 (13), 570 (7), 136 (9), 135 (100), 107 (15), 92 (9), 77 (17).

2.3.4.21.9. Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-5-(2,5-dihidroxibenzilideno)-3-(4-hidroxibenzoil)furan-2(5H)-ona (82h)



O composto **82h** foi obtido como um sólido vermelho em 78% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 148,3-149,1 °C. **CCD**: 0,34 (hexano: acetato de etila, 1:3 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3627, 3282, 3061, 2926, 2167, 2011, 1710, 1631, 1560, 1503, 1454, 1352, 1229, 1166, 1069, 995, 873, 746, 647, 579, 435. **RMN de ¹H (300 MHz, Acetona)** δ : 6,74-6,93 (m, 5H, 7, 3'', 5'', 3''' e 4'''), 7,08 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1H, 5'), 7,29-7,44 (m, 1H, 6'), 7,70 (s, 2H, 2' e 6'''), 7,85 (d, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, 2H, 2'' e 6''), 8,21 (s, 1H, 8'''), 8,60 (s, 1H, 8'''), 9,51 (s, 1H, 7'). **RMN de ¹³C (75 MHz, Acetona)** δ : 109,7 (7), 109,9 (3'''), 115,4 (3'' e 5''), 116,0 (3'), 116,4 (5'), 116,5 (6'''), 119,0 (4'''), 120,6 (1'), 122,1 (1''), 124,0 (5), 128,6 (1'''), 130,1 (6'), 132,3 (2'' e 6''), 133,9 (2'), 146,6 (4), 149,9 (2'''), 150,7 (5'''), 154,7 (3), 155,9 (4'), 162,9 (4''), 165,9 (2), 187,7 (6). **EM, m/z (%)**: 494 ([M⁺], C₂₄H₁₅BrO₇, 2.09), 496 ([M+2], 2.06), 453 (5), 452 (19), 451 (8), 450 (19), 408 (7), 406 (7), 372 (14), 371 (7), 342 (5), 328 (5), 279 (8), 251 (6), 250 (8), 226 (5), 223 (6), 185 (5), 136 (6), 122 (11), 121 (100), 93 (24), 82 (9), 80 (9), 65 (17).

2.3.4.21.10. Dados referentes ao composto (Z)-3-(4-hidroxibenzoil)-5-(4-hidroxibenzilideno)-4-(4-hidroxifenil)furan-2(5H)-ona (82i)



O composto **82i** foi obtido como um sólido amarelo em 82% de rendimento após purificação por coluna cromatografia de sílica gel. **T_f**: 245,8-246,4 °C. **CCD**: 0,28 (hexano: acetato de etila, 1:3 v/v). **IV** ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3270, 2921, 2851, 2160, 2020, 1732, 1595, 1501, 1376, 1275, 1160, 990, 879, 836, 685, 626, 531, 495. **RMN de ¹H (300 MHz, DMSO)** δ : 6,32 (s, 1H, 7), 6,65-6,94 (m, 6H, 3', 3'', 3''', 5', 5'' e 5'''), 7,22 (d, $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,3$ Hz, 2H, 2' e 6'), 7,49-7,83 (m, 4H, 2'', 2''', 6'' e 6'''), 10,05 (s, 1H, 7'), 10,18 (s, 1H, 7''), 10,57 (s, 1H, 7'''). **RMN de ¹³C (75 MHz,**

DMSO) δ : 116,0 (3'' e 5''), 116,2 (3' e 5'), 116,5 (3''' e 5'''), 117,0 (7), 119,9 (1'), 121,8 (5), 124,5 (1'''), 127,9 (1''), 131,3 (2'' e 6''), 132,7 (2' e 6'), 133,5 (2''' e 6'''), 145,1 (4), 156,4 (3), 159,8 (4'), 160,0 (4'''), 163,5 (4''), 166,6 (2), 188,5 (6). **EM, m/z (%)**: 400 ([M⁺], C₂₄H₁₆O₆, 84), 401 ([M+1], 25), 383 (7), 306 (5), 305 (5), 280 (6), 252 (5), 239 (7), 223 (16), 199 (7), 145 (5), 135 (6), 134 (42), 122 (9), 121 (100), 107 (7), 106 (13), 93 (21), 65 (12).

2.3.5. Bioensaios

Para avaliar a inibição do crescimento de microrganismos pelos compostos sintetizados, foi utilizado o método da microdiluição em caldo, em placa de poliestireno de 96 poços, conforme proposto pelo documento M7-A9 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). Os compostos **79a-d**, **81a-k** e **82a-j** foram submetidos a ensaios para avaliar a inibição do crescimento microbiano e os compostos **79a**, **81a-d** e **82a-d** foram submetidos a ensaios para avaliar a inibição de biofilme.

2.3.5.1. Inibição do crescimento microbiano

Os microrganismos utilizados nesse estudo foram *Candida albicans* (ATCC18804), *Staphylococcus aureus* (ATCC29212), *Bacillus cereus* (ATCC11778) *Escherichia coli* (ATCC25922) e *Salmonella typhimurium* (ATCC14028), pertencentes à coleção de cultura de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

Inicialmente, foi preparado um pré-inóculo, no qual os microrganismos foram transferidos a partir do meio de cultura onde estavam conservados, para tubos de ensaios contendo 3,0 mL de meio de cultura (BHI para bactérias e Sabouraud para leveduras). Em seguida, os tubos foram incubados em estufa a 37 °C por 36 h. Com o auxílio de uma micropipeta, 500 µL deste pré-inóculo foram transferidos para tubos de ensaio contendo água destilada estéril. Os tubos foram homogeneizados e a concentração ajustada a 600 nm (bactérias) e 530 nm (levedura), até atingir uma transmitância entre 74-75% (bactérias) e 75-76% (levedura), correspondente à escala 0,5 de McFarland de turbidez padrão

(10^5 UFC mL⁻¹), foi obtido assim, as suspensões dos inóculos utilizados no bioensaio.

Para o preparo da solução-trabalho os compostos **79a-d**, **81a-k** e **82a-j** foram previamente solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 12,5 mg mL⁻¹. A partir desta solução, foi retida uma alíquota de 40 µL, a qual foi adicionada à 960 µL do meio de cultura utilizado no bioensaio, obtendo-se a solução de trabalho na concentração de 500 µg mL⁻¹ de cada composto e com porcentagem de 4% (v/v) de DMSO.

Os bioensaios foram realizados em placas de 96 micropoços, em duplicata. No primeiro poço foram adicionados 200 µL da solução de trabalho na concentração de 500 µg mL⁻¹. Nos poços seguintes, adicionou-se 100 µL de meio de cultura por poço, em seguida, foi realizada a microdiluição seriada (1:1) da solução da amostra, de forma que as concentrações variaram de 250 a 0,12 µg mL⁻¹. Em seguida, foram adicionados 100 µL do inóculo do microrganismo padronizado em cada poço.

Foram realizados quatro controles:

- Controle de crescimento do microrganismo, para verificar a viabilidade celular;
- Controle positivo, substituindo a solução-trabalho por um antibiótico comercial;
- Controle de esterilidade do meio de cultura, contendo 100 µL de meio de cultura e 100 µL de água destilada estéril;
- Branco, que consiste na solução da amostra nas mesmas concentrações avaliadas, substituindo o inóculo por água destilada estéril.

As microplacas foram incubadas em estufa a 37 °C e após 24 h a quantificação do crescimento microbiano foi avaliada medindo a absorvância a 490 nm usando um dispositivo de leitor de placas de microtitulação. Os dados foram transferidos para um programa de gráficos (OriginPro8), as curvas dose-resposta sigmoidal determinadas e os valores IC₅₀ calculados.

Os antibióticos utilizados para o controle positivo dos ensaios foram: ampicilina, para bactérias e miconazol, para levedura, cujas soluções de trabalho foram preparadas conforme descrito anteriormente para a os compostos testados.

2.3.5.2. Inibição de biofilme bacteriano

As espécies bacterianas utilizadas nesse estudo foram *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13882), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC33591), *Enterococcus faecalis* (ATCC19433) e *Acinetobacter baumannii* (ATCC19606) pertencentes à coleção de cultura de microrganismos do Laboratório de Microbiologia Oral e de Anaeróbios do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

O inóculo bacteriano foi preparado a partir do crescimento das amostras em BHI incubadas a 37 °C, por aproximadamente 24 horas. A concentração da suspensão bacteriana foi padronizada, comparando a turbidez do inóculo com o padrão 0,5 da escala de MacFarland em espectrofotômetro (625 nm). Essa turvação é semelhante à padronizada para o antibiograma e o resultado da absorbância deve estar entre 0,08 e 0,10, equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹.

A suspensão-padrão foi então homogeneizada em vórtex, diluída 1:50 e em seguida a 1:20 em caldo Mueller-Hinton para obtenção do inóculo utilizado no teste de 1×10^5 a 2×10^5 UFC mL⁻¹. A suspensão resultante foi diluída à concentração 1:1 quando os poços foram inoculados em microplaca de poliestireno de 96 poços, chegando-se à concentração final desejada de $0,5 \times 10^5$ a $1,0 \times 10^5$ UFC mL⁻¹ (CLSI, 2012).

Para o preparo da solução-trabalho os compostos **79a**, **81a-d** e **82a-d** foram previamente solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 5,12 mg mL⁻¹. A partir desta solução, retirou-se uma alíquota de 250 µL, a qual foi adicionada a 4,75 mL do meio de cultura utilizado no bioensaio, obtendo-se a solução de trabalho na concentração de 256 µg mL⁻¹ de cada composto e com porcentagem de 5% (v/v) de DMSO.

Os bioensaios foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços, em triplicata. No primeiro poço de cada série foram adicionados 200 µL da solução de trabalho na concentração de 256 µg mL⁻¹. Nos poços seguintes, foram adicionados 100 µL de meio de cultura por poço, sendo realizada a microdiluição seriada (1:1). As concentrações variaram de 128 a 0,25 µg mL⁻¹. Em cada série da microplaca de poliestireno (poços horizontais) foram

adicionados 100 μL de suspensão-padrão: série A - *A. baumannii*; série B - *E. coli*; série C - *E. faecalis*; série D - *K. pneumoniae*; série E - *P. aeruginosa*; série F - *S. aureus*. Nas duas últimas séries (série G e H) de cada microplaca foi adicionado apenas meio de cultura, sem suspensão bacteriana, sendo o controle negativo de crescimento (CC(-)) para cada composto avaliado. O controle de crescimento positivo (CC(+)), para verificar a viabilidade celular, foi realizado da mesma forma, mas sem a presença de composto, somente o caldo Mueller-Hinton e suspensão bacteriana. Como controle da toxicidade do solvente, utilizou-se o meio de cultura e DMSO diluído no caldo Mueller-Hinton, a concentração de DMSO avaliada foi igual à concentração deste solvente em cada uma das diluições (128 a 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Como controle positivo, substituiu-se a solução-trabalho por um antibiótico comercial, a ampicilina. A disposição das soluções na microplaca está representada na Figura 6.

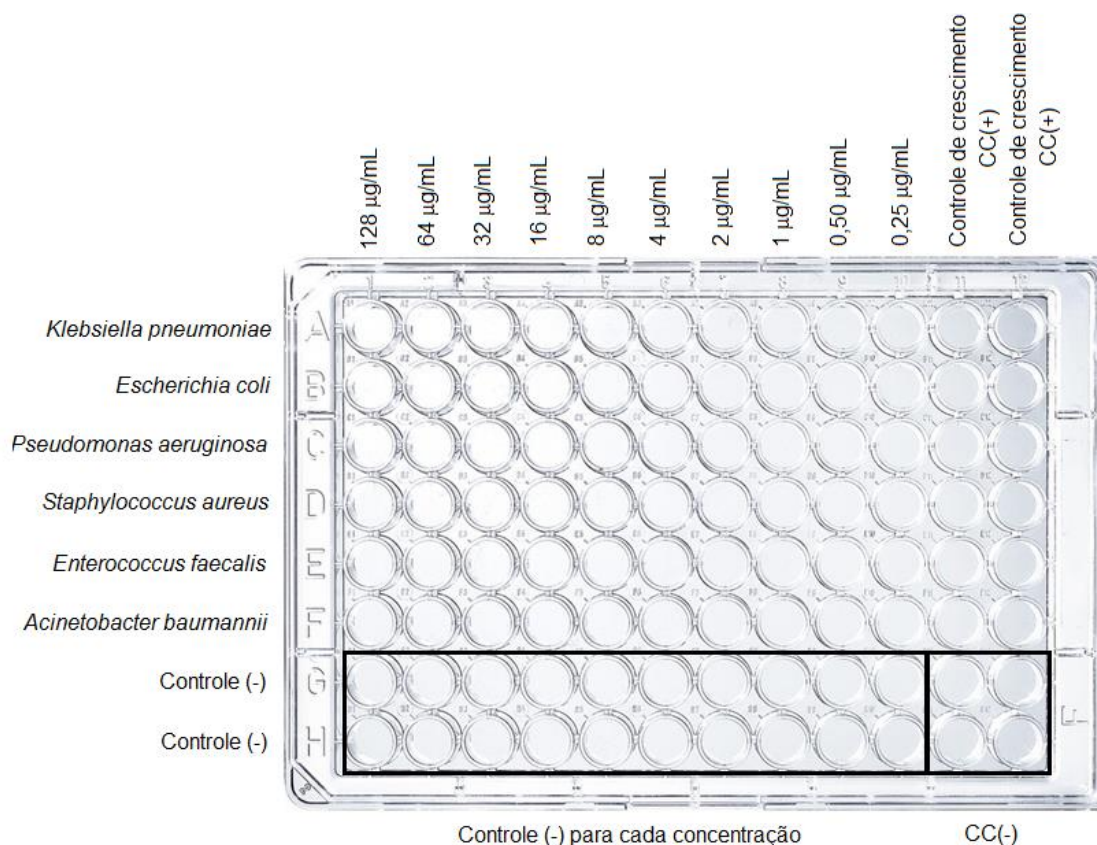


Figura 6 – Disposição das soluções na placa de Elisa.

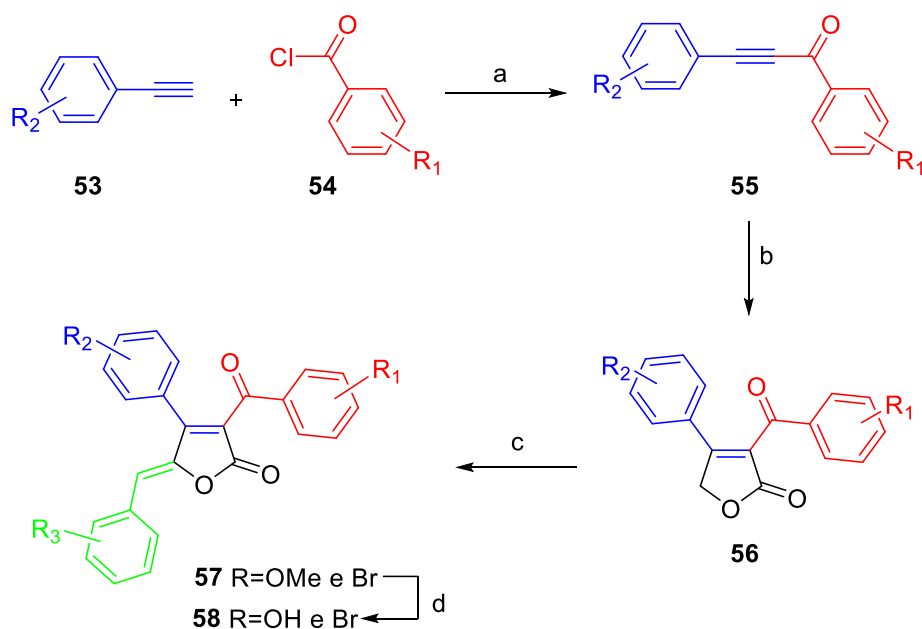
As placas de microtitulação foram incubadas durante 24 h a 37 °C numa câmara umidificada e o crescimento bacteriano foi quantificado por absorvância

a leitura de 625 nm usando um dispositivo leitor de placas de microtitulação, para avaliar os efeitos sobre o crescimento bacteriano antes das quantificações do biofilme. As suspensões bacterianas foram então descartadas e, após a lavagem, os biofilmes remanescentes foram corados com uma solução violeta de cristal a 0,1% (m/v), lavados e solubilizados em dodecilsulfato de sódio a 1% (m/v). A quantificação de biofilme foi avaliada medindo a absorvância a 595 nm usando um dispositivo de leitor de placas de microtitulação. Os dados foram transferidos para um programa de gráficos (OriginPro8), as curvas dose-resposta sigmoidal determinadas e os valores IC₅₀ calculados.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. Síntese

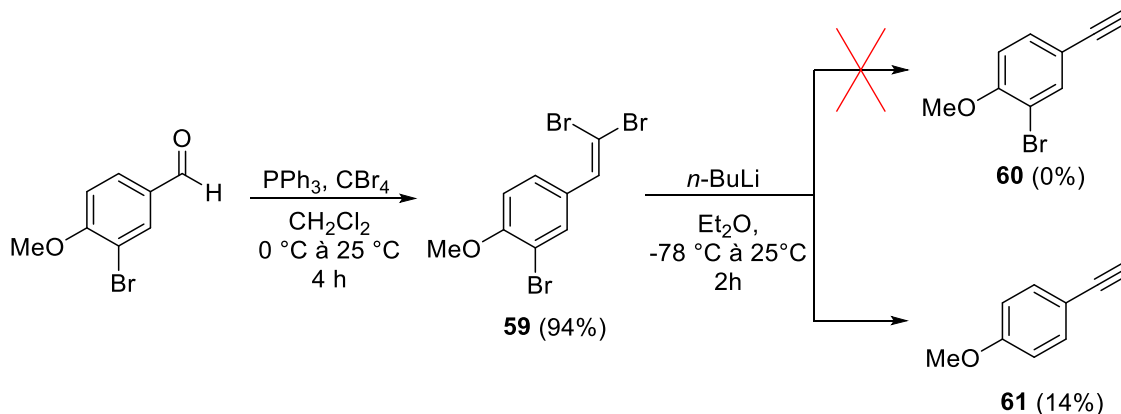
A estratégia utilizada para a obtenção dos análogos aos cadiolídeos está representada no Esquema 6. O primeiro passo consistiu na obtenção do etinilbenzeno **53** e do cloreto de ácido **54**, seguida da reação de acoplamento de Sonogashira para obtenção das inonas com diferentes substituições nos anéis aromáticos, representada pela estrutura **55**. O segundo passo consistiu na reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder, utilizando a inona **55** e 5-etoxi-4-metiloxazol, seguida por reação de hidrólise para obtenção das lactonas, representadas pela estrutura **56**. Por último, realizou-se a reação de alquilidação entre a lactona **56** e diferentes aldeídos, obtendo-se os análogos aos cadiolídeos metoxilados **57**, que foram submetidos à uma desmetilação com BBr_3 , finalizando a rota sintética e obtendo os análogos aos cadiolídeos hidroxilados **58**.



Esquema 6 – Estratégia para obtenção dos análogos aos cadiolídeos. Reagentes e condições: (a) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, CuI , Et_3N , THF, 25 °C, 3 h; (b) 5-etoxi-4-metiloxazol, xileno, 150 °C, 24 h, depois aq. HBr, THF, 25 °C, 8h; (c) aldeído, TBDMSOTf, DIPEA, CH_2Cl_2 , 25 °C, 2 h; depois DBU, 40°C, 2 h; (d) BBr_3 , CH_2Cl_2 , -78 °C para 25°C, 20 h.

2.4.1.1. Síntese de 1-etinil-4-metoxibenzeno

A primeira estratégia utilizada para a obtenção do etinilbenzeno **60** foi utilizando a reação de Corey-Fuchs (Corey e Fuchs, 1972; Rosiak *et al.*, 2006), conforme apresentado no Esquema 7.



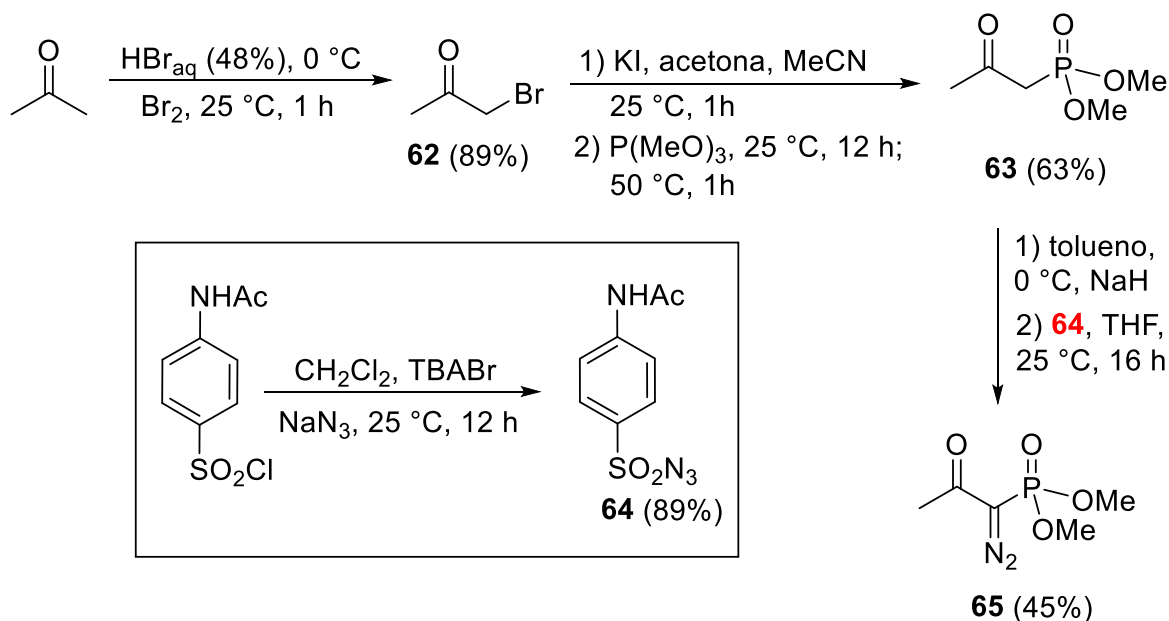
Esquema 7 – Reação de Corey-Fuchs.

A primeira etapa da reação de Corey-Fuchs consistiu na reação entre o 3-bromo-4-metoxibenzaldeído, trifetilfosfina e tetracloreto de carbono para obtenção do dibromovinilbenzeno **59** em 94% de rendimento. A obtenção do composto **59** foi confirmada pelo espectro de massas onde observa-se o pico do íon molecular em $m/z = 368$ (Anexo 1 – Figura A4) e pelo espectro de RMN de ^1H onde observa-se um simpleto em $\delta 7,35$, correspondente ao hidrogênio ligados ao Csp^2 do grupo dibromovinil (Anexo 1 – Figura A2).

A segunda etapa consistiu na desidro-halogenação pelo tratamento com $n\text{-BuLi}$ do grupo vinila. Entretanto, essa reação não forneceu o produto desejado **60**, e sim o produto **61** (Esquema 7). Este insucesso se deve principalmente pela eliminação do substituinte bromo na posição *meta* do anel aromático. De fato, a formação do alquino **61** foi observada em análise por CG-EM, na qual o espectro de massas exibiu o pico do íon molecular em $m/z 132$ (Anexo 1 – Figura A5).

Com intenção em obter o alquino **60**, a metodologia utilizada como segunda estratégia foi a proposta por Pietruszka e Witt (2006), onde inicialmente é preparado o reagente de Bestmann-Ohira (**65**) e depois adicionado ao aldeído, obtendo como produto o alquino terminal. Essa alternativa permite a adição

desse reagente ao aldeído sob condições suaves, evitando o uso de uma base forte em condições de baixa temperatura. O reagente de Bestmann-Ohira foi preparado conforme descrito no Esquema 8.



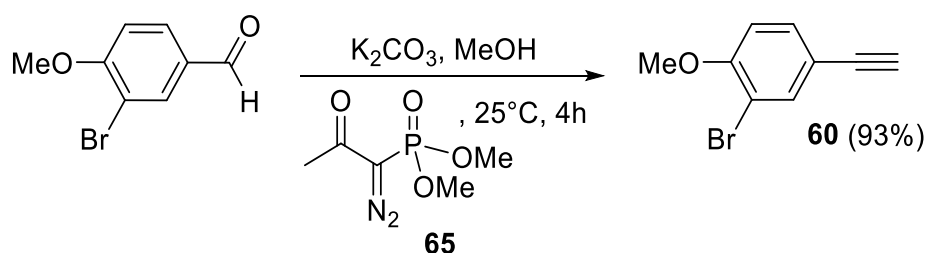
Esquema 8 – Síntese do reagente de Bestmann-Ohira (**65**)

O primeiro passo da síntese do reagente Bestmann-Ohira **65** foi o preparo da bromocetona **62**, por meio da monobromação da acetona, utilizando $\text{Br}_2/\text{HBr}_{\text{(aq)}}$. A bromoacetona foi obtida como um líquido lacrimojante em 89% de rendimento, sendo utilizada sem qualquer tipo de purificação adicional na próxima etapa. A estrutura da cetona **62** foi confirmada pela análise do espectro de RMN de ^1H , sendo observado um simpleto em δ 2,36, integrado para 3 hidrogênios, correspondendo a metila e um simpleto em δ 2,88 correspondendo ao metileno (Anexo 1 – Figura A6).

Para obtenção de dimetil-2-oxopropilfosfonato **63**, iodocetona foi preparada *in situ* por meio da reação entre bromocetona e iodeto de potássio e em seguida foi adicionado o trimetilfosfito. A estrutura do composto **63** foi confirmada pela análise do espectro de RMN de ^1H , observado um simpleto em δ 2,30, integrado para 3 hidrogênios, correspondendo a metila, um duplete em δ 3,08, com valor de $J = 22,8\text{ Hz}$, correspondendo ao sinal dos hidrogênios metilênicos acoplado com o fósforo e o sinal das metoxilas em δ 3,77, com acoplamento $J_{\text{OMe,P}} = 11,2\text{ Hz}$ (Anexo 1 – Figura A8) (Pietruszka e Witt, 2006).

A síntese do reagente de Bestmann-Ohira, consistiu na reação entre o fosfonato **63** e a azida **64**, obtida pela reação entre cloreto de 4-acetamidobenzenosulfonila e azida de sódio. O reagente de Bestmann-Ohira **65** foi obtido em 45% após purificação por cromatografia de sílica gel (acetato de etila:éter de petróleo, 3:1 v/v). Sua estrutura foi confirmada pela análise do espectro de RMN de ^1H , sendo observado um simpleto em δ 2,26 correspondendo a metila e um duplete em δ 3,84, com $J_{\text{OMe,P}} = 5,5$ Hz, correspondente as metoxilas.

De posse do reagente de Bestmann-Ohira, o alquino **60** foi obtido a partir de 3-bromo-4-metoxibenzaldeído em 93% de rendimento, conforme mostrado no Esquema 9 (Roth *et al.*, 2004).

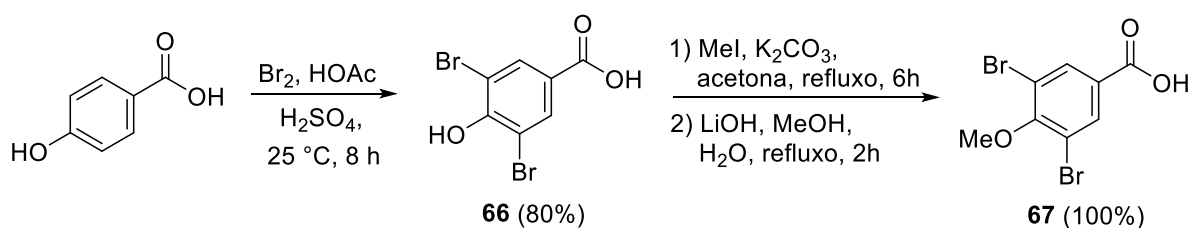


Esquema 10 – Síntese do alquino **60**.

A obtenção do composto **60** foi confirmada pela análise dos espectros no IV, RMN de ^1H e ^{13}C e massas (Anexo 1 – Figura 15-18). No espectro de infravermelho foi observado o estiramento característico da ligação $\text{C}_{\text{sp}}\text{-H}$ em 3266 cm^{-1} . No espectro de RMN de ^1H foi observado o simpleto referente ao hidrogênio acetilênico em δ 3,02 e em δ 3,90 o simpleto referente a metoxila. Os sinais dos hidrogênios aromáticos são observados como um duplete em δ 6,83 ($J_{\text{orto}} = 8,5$ Hz), um duplo duplete em δ 7,41 ($J_{\text{orto}} = 8,5$ Hz e $J_{\text{meta}} = 2,0$ Hz) e um duplete em δ 7,68 ($J_{\text{meta}} = 2,0$ Hz). A massa molecular de **60** foi confirmada no espectro de massas, que apresentou o pico do íon molecular em m/z 210 como o pico base e o pico em m/z 212, referente ao $[\text{M}+2]^+$, confirma o padrão isotópica característico de compostos contendo bromo.

2.4.1.2. Síntese dos cloretos de ácidos

Os cloretos de ácido foram obtidos a partir da reação entre ácidos benzóicos e cloreto de tionila. Os ácidos carboxílicos utilizados foram ácido 4-metoxibenzóico, ácido 2,5-dibromo-4-hidroxibenzóico e ácido 2,5-dibromo-4-metóxibenzóico. Apenas o ácido 4-metoxibenzóico estava disponível no laboratório, os demais foram sintetizados conforme descrito no Esquema 11.

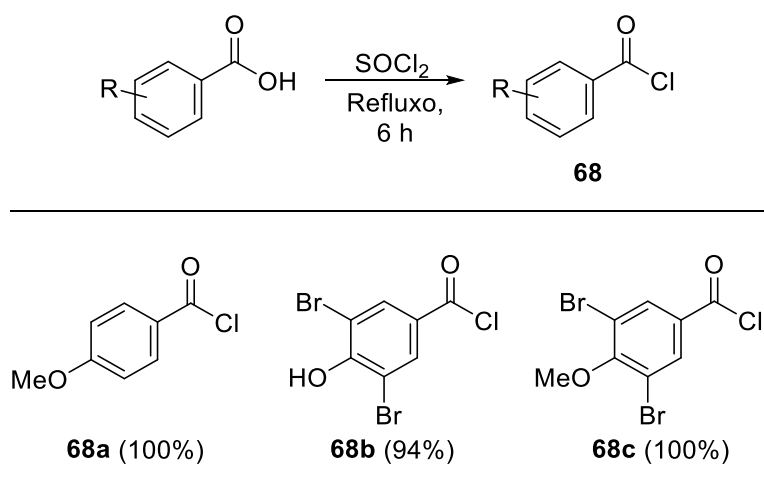


Esquema 11 – Síntese dos ácidos carboxílicos bromados **66** e **67**.

Para obtenção do ácido dibromado **66** foi realizado a bromação com Br₂ em meio ácido, resultando no composto **66** em 80% de rendimento. A estrutura do ácido **66** foi confirmada pela análise do espectro de massas (Anexo 1 – Figura A22), onde pico do íon molecular em m/z 294 ($[M]^+$) e o pico em m/z 298 ($[M+4]^+$) são observados com metade da intensidade do pico base em m/z 296, correspondente ao sinal $[M+2]^+$, sinais característicos de compostos que possuem dois átomos de bromo. No espectro de RMN de ¹H (Anexo 1 – Figura A20) foi apresentado apenas um simpleto em δ 8,13, correspondente ao sinal dos hidrogênios aromáticos.

Já para obtenção do ácido **67**, realizou-se a metilação de **66** com iodeto de metila, seguido de hidrólise do éster, obtendo o ácido **67** em rendimento quantitativo (100%) (Esquema 11). A estrutura de **67** foi confirmada pela análise do espectro de RMN de ¹H (Anexo 1 – Figura A23), que exibiu um simpleto em δ 8,08 correspondente ao sinal dos hidrogênios aromáticos e um simpleto correspondente à metoxila em δ 3,84.

Todos os cloretos de ácido utilizados no acoplamento de Sonogashira foram obtidos conforme descrito no Esquema 12, com exceção do cloreto de benzoíla **68d**, já disponível no laboratório.

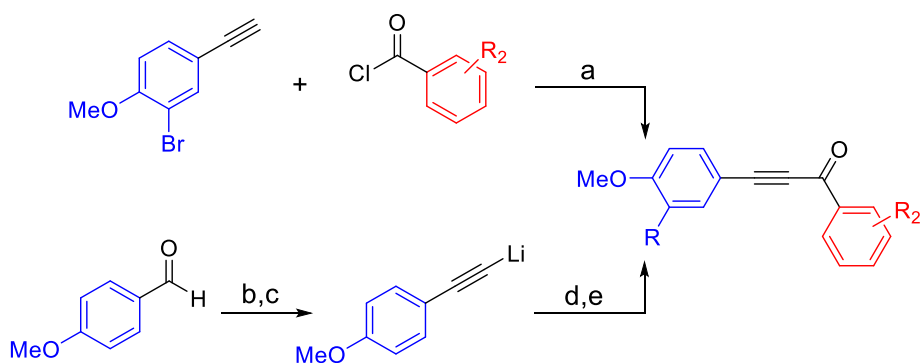


Esquema 12 – Síntese dos cloretos de ácido **68a-c**.

Os rendimentos para os cloretos de ácidos **68a** e **68c** foram quantitativos (100%) e para **68b** foi de 94%. Os cloretos foram utilizados sem qualquer tipo de purificação, uma vez que são compostos muito reativos e a purificação poderia ocasionar sua degradação.

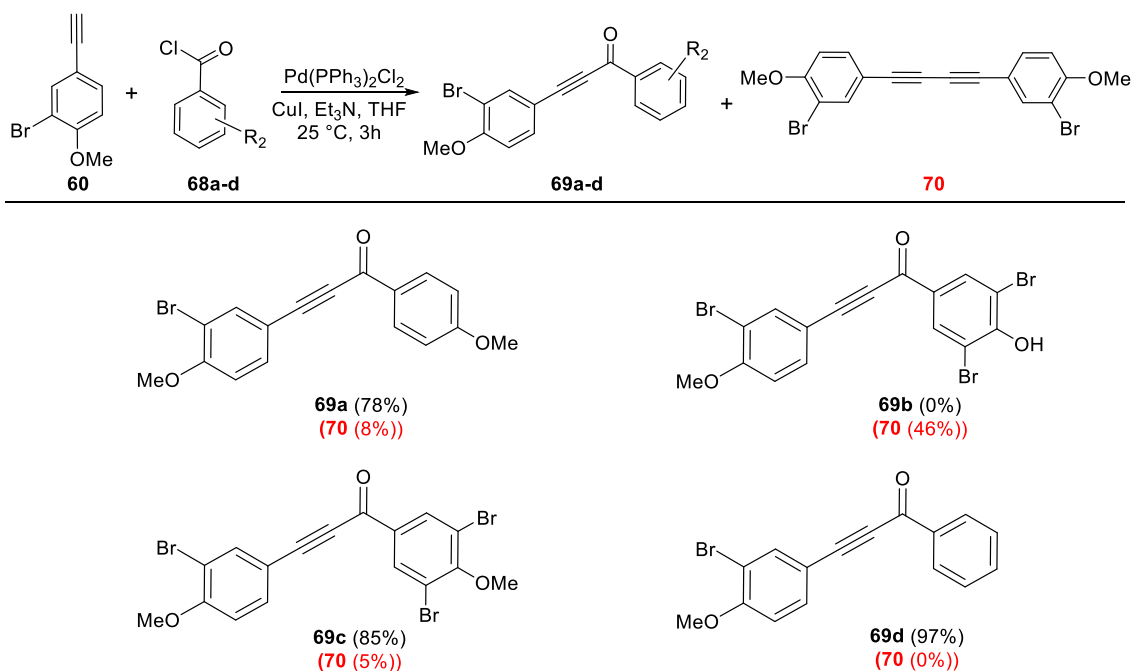
2.4.1.3. Síntese de inonas

Para a síntese das inonas foram utilizadas duas metodologias diferentes. A primeira estratégia de escolha foi o acoplamento cruzado de Sonogashira catalisado por paládio entre um acetileno terminal e um cloreto de ácido e a segunda estratégia utilizada foi a reação entre um acetileno de lítio e um aldeído, seguido por oxidação do álcool secundário resultante (Esquema 13). A escolha dessas estratégias se deve ao fato dos bons rendimentos reportados na literatura e à disponibilidade de reagentes em nosso laboratório (Roy *et al.*, 2011; Boukouvalas e Thibault, 2015; Lin *et al.*, 2003).



Esquema 13 – Estratégias utilizadas para a síntese das inonas. Condições e reagentes: (a) Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI, Et₃N, THF, 25 °C, 3 h; (b) PPh₃, CBr₄, CH₂Cl₂, 0 °C para 25 °C, 4 h; (c) LDA, -78 °C, 1 h; (d) *p*-metoxi-benzaldeído, THF, -78 °C para 25 °C, 3 h; (e) MnO₂, CH₂Cl₂, 25 °C, 17 h.

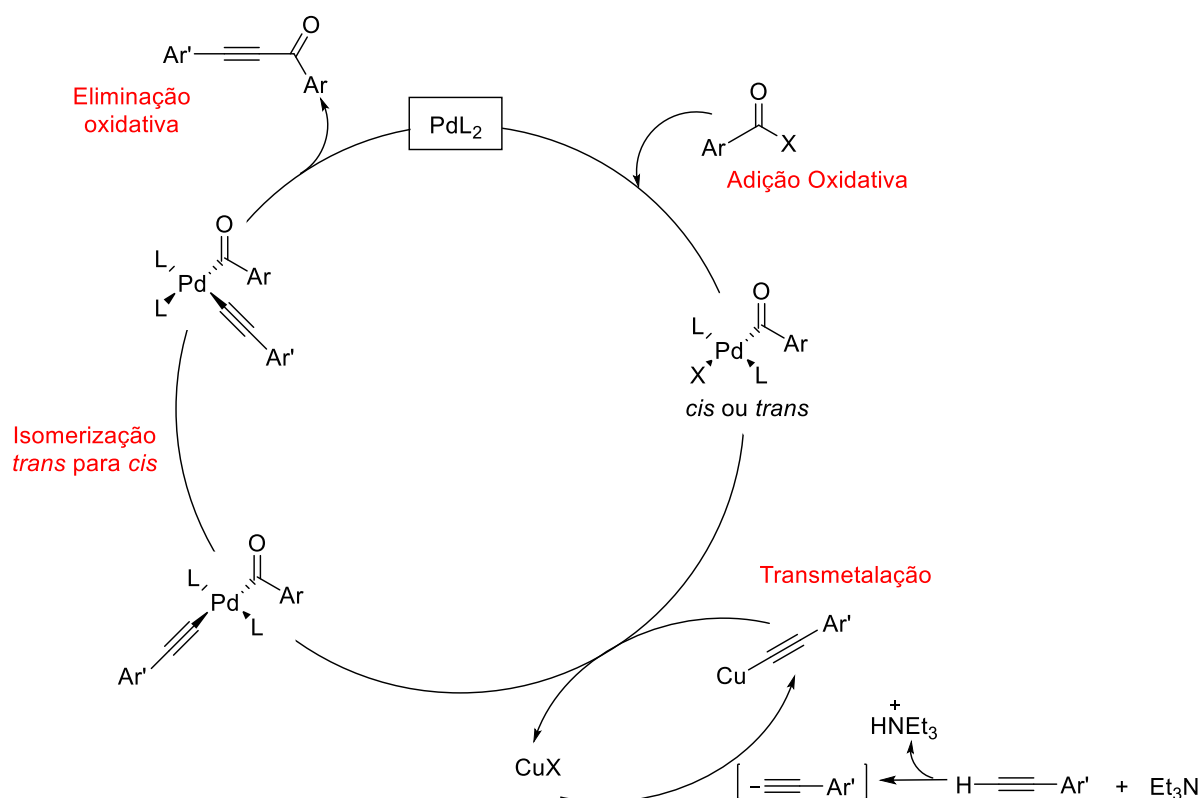
No esquema 14 são apresentadas as inonas obtidas pelo acoplamento de Sonogashira.



Esquema 14 – Síntese das inonas **69a-d** pelo acoplamento de Sonogashira.

Uma proposta para o ciclo catalítico da reação de Sonogashira encontra-se no Esquema 15 (Karak *et al.*, 2014), onde a presença de um sal de Cu (I) facilita a transferência do grupo alquínico para o catalisador Pd pela geração *in situ* de uma espécie Cu-acetileto e a posterior transmetalização deste grupo para Pd.

O ciclo é baseado em quatro etapas: (A) adição oxidativa (onde Pd é oxidado de Pd (0) a Pd (II)) (cis-trans); (B) transmetalção (Pd permanece como Pd (II)); (C) isomerização trans-cis (Pd permanece como Pd (II)); e (D) eliminação redutora (onde Pd é reduzido de Pd (II) para Pd (0)) Uma análise da etapa de adição oxidativa pode sugerir a provável causa para os resultados obtidos no presente trabalho (Esquemas 14). No ciclo catalítico, um complexo de paládio (0), rico em elétrons, reage com o haleto de arila gerando a espécie de paládio (II). Assim, quanto mais eletrofílico for o haleto de arila, mais favorável torna-se esta etapa.



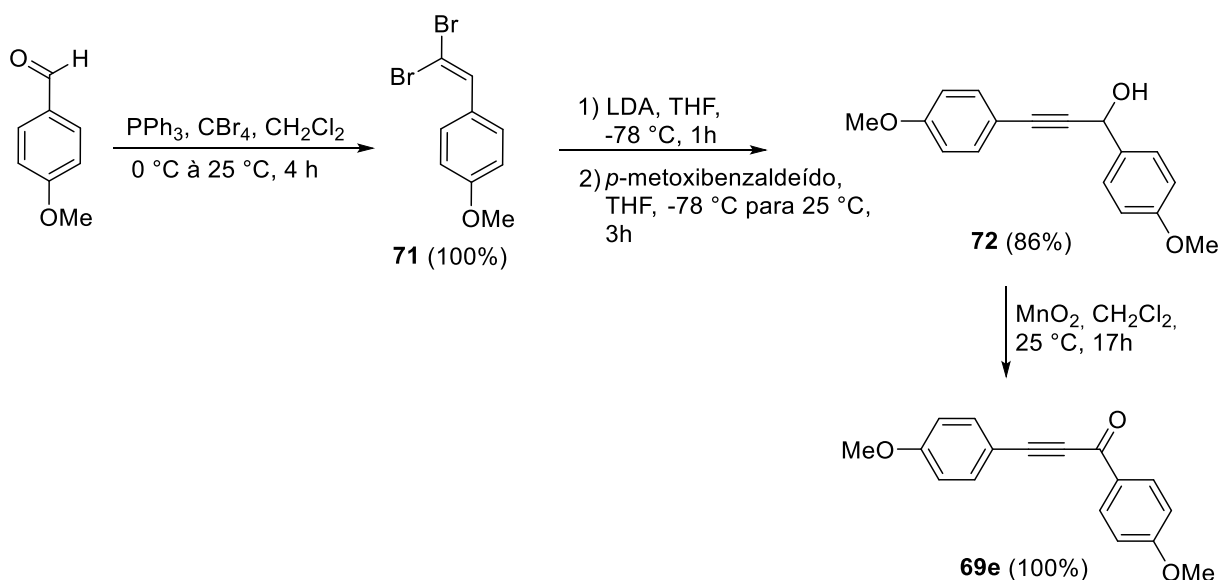
Esquema 15 – Ciclo catalítico do acoplamento de Sonogashira entre haleto de arila e arilalquino.

Ao observarmos os acoplamentos entre o alquino terminal **60** e os diferentes cloretos de ácido, podemos perceber que o maior rendimento obtido foi quando utilizado o cloreto de benzoíla **68d** (97% de rendimento). A inserção de uma metoxila (grupo doador de elétrons) no anel aromático (**68a**) levou a uma diminuição do rendimento reacional (78% de rendimento) e à formação do produto de homoacoplamento (8% de rendimento). Da mesma forma, a inserção de uma metoxila e dois átomos de bromo no anel aromático (**68c**) também

resultou num menor rendimento reacional (85% de rendimento) e à formação do produto de homoacoplamento (5% de rendimento).

O menor rendimento foi obtido utilizando o cloreto de ácido **68b**, fornecendo como produto da reação apenas o produto de homoacoplamento. Além de o grupo hidroxila ser melhor doador de elétrons que metoxila, o hidrogênio do grupo hidroxila pode ser removido no meio reacional (devido à presença de base e à acidez inerente de tal hidrogênio) aumentando ainda mais a densidade eletrônica na molécula. Assim, a reação de adição oxidativa com Pd(0) torna-se desfavorável e o produto do acoplamento de Sonogashira não foi formado.

A segunda estratégia para a síntese das inonas foi a reação entre um acetileno de lítio e o 4-metoxibenzaldeído, seguido por oxidação do álcool secundário resultante, conforme Esquema 16.



Esquema 16 – Síntese da inona **69e**.

A primeira etapa consistiu na síntese do dibromovinil **71** em rendimento quantitativo, o composto foi obtido pela primeira etapa da reação de Corey-Fuchs utilizando o 4-metoxibenzaldeído, trifenilfosfina e tetracloreto de carbono. A estrutura de **71** foi confirmada pela análise do espectro de massas que mostrou o pico do íon molecular em $m/z = 290$ (Anexo 1 – Figura A48) e pela análise do espectro de RMN de ^1H que exibiu um simpleto em $\delta 7,41$, correspondente ao hidrogênio vinílico (Anexo 1 – Figura A46).

O acetileno de lítio foi preparado *in situ* pela reação entre o bromovinil **71** e LDA e, em seguida, foi reagido com o 4-metoxibenzaldeído, para formar o álcool **72** em 86% de rendimento. A estrutura do álcool **72** foi confirmada pela análise dos espectros no IV, RMN de ^1H e ^{13}C e massas (Anexo 1 – Figuras 49-52). No espectro de infravermelho foi observado o estiramento característico da ligação O-H do álcool em 3391 cm^{-1} . No espectro de RMN de ^1H foram observados dois simpletos referente as metoxilas em δ 3,80 e δ 3,81 e um simpleto em δ 5,62 referente ao hidrogênio geminal ao grupo hidroxila. Os sinais para os hidrogênios aromáticos são todos integrados para dois hidrogênios e como dupletos em δ 6,84 ($J_{\text{orto}} = 8,8\text{ Hz}$, 3' e 5'), δ 6,92 ($J_{\text{orto}} = 8,7\text{ Hz}$, 2H, 3'' e 5''), δ 7,40 ($J_{\text{orto}} = 8,8\text{ Hz}$, 2H, 2' e 6') e δ 7,53 ($J_{\text{orto}} = 8,7\text{ Hz}$, 2H, 2'' e 6''). A massa molecular de **72** foi confirmada pela análise do espectro de massas, que apresentou o pico do íon molecular em m/z 268.

A última etapa para obtenção do inona **69e** foi a reação de oxidação de **72**. Para tal, optou-se por utilizar MnO_2 como agente oxidante e o rendimento obtido foi quantitativo.

Todas as inonas sintetizadas foram devidamente caracterizadas utilizando técnicas espectroscópicas e espectrométricas. Para a inona **69e**, a presença do grupo carbonila pôde ser confirmada pela análise do espectro no infravermelho (IV) (Figura 7), onde se observa a banda de estiramento do grupo carbonila em 1629 cm^{-1} . A banda referente ao estiramento $\text{C}\equiv\text{C}$ é observada em 2188 cm^{-1} e a banda aguda em 1593 cm^{-1} é referente ao estiramento $\text{C}=\text{C}$ de compostos aromáticos (BARBOSA, 2007).

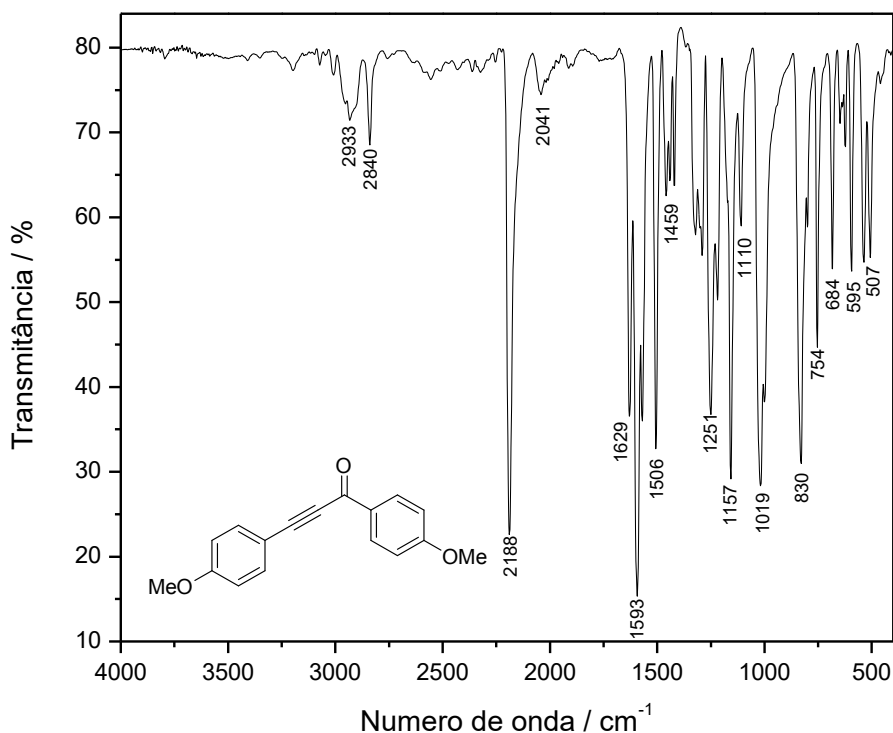


Figura 7 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **69e**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **69e** (Figura 8), observa-se dois simples com deslocamento químico em $\delta 3,84$ e $\delta 3,88$, referentes às metoxilas $7'$ e $7''$, respectivamente. As metoxilas puderam ser diferenciadas pela interpretação do mapa de contorno NOESY (Figura 10), sendo observado as correlações entre os hidrogênios da metoxila $7'$ com $\text{H}3'$ e $\text{H}5'$ e entre os hidrogênios da metoxila $7''$ com $\text{H}3''$ e $\text{H}5''$. O duplete referente aos hidrogênios $\text{H}3'$ e $\text{H}5'$ apresenta deslocamento em $\delta 6,92$ ($J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,4$ Hz). Já os sinais para os hidrogênios $\text{H}3''$ e $\text{H}5''$ são observados como um duplete em $\delta 6,97$ ($J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,5$ Hz). O sinal relativo aos hidrogênios $\text{H}2'$ e $\text{H}6'$ foram observados também como um duplete, em $\delta 7,62$ ($J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,4$ Hz), assim como os sinais de $\text{H}2''$ e $\text{H}6''$, apresentando deslocamento em $\delta 8,18$ ($J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,5$ Hz). As atribuições foram realizadas com segurança através da interpretação dos mapas de contornos COSY (Figura 9) e NOESY (Figura 10).

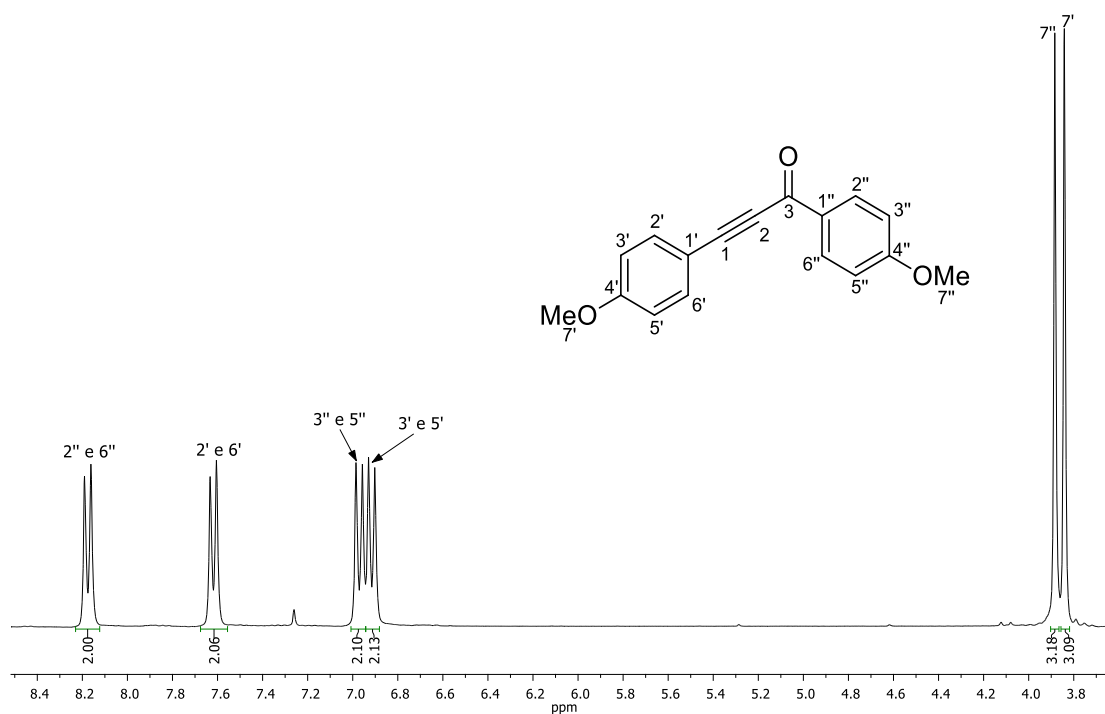


Figura 8 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **69e**.

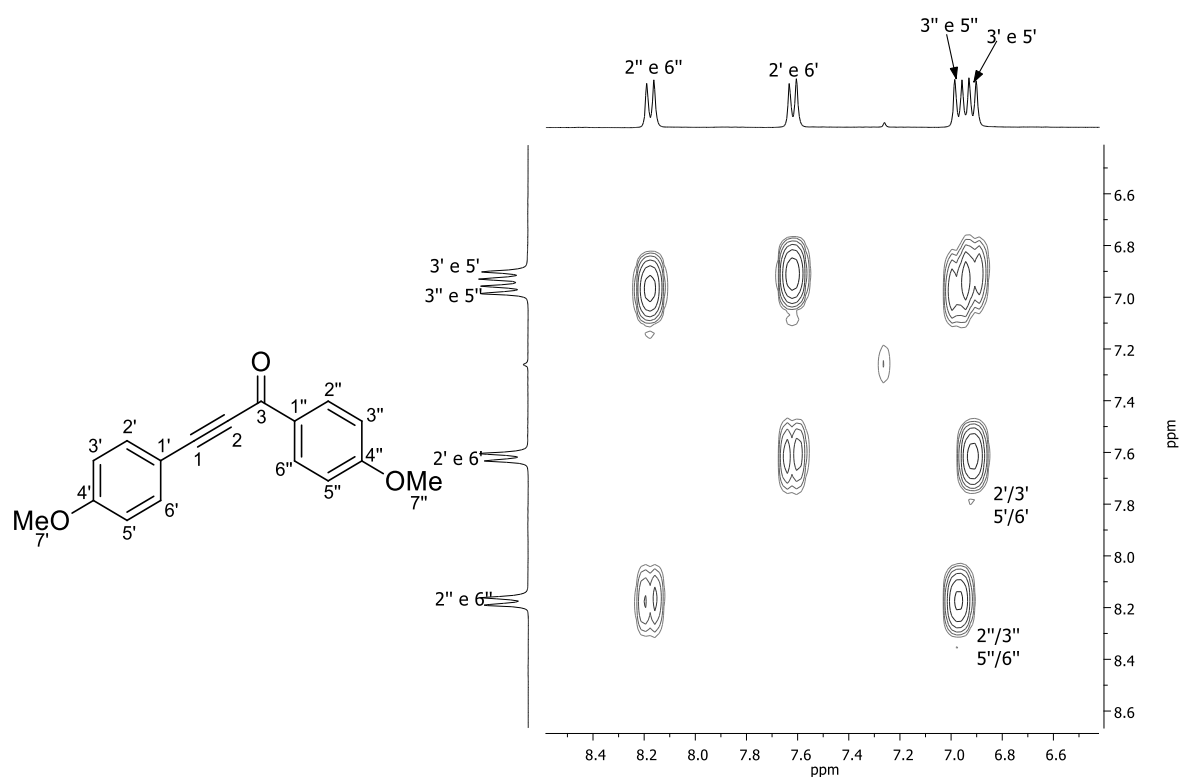


Figura 9 – Mapa de contorno COSY de **69e**.

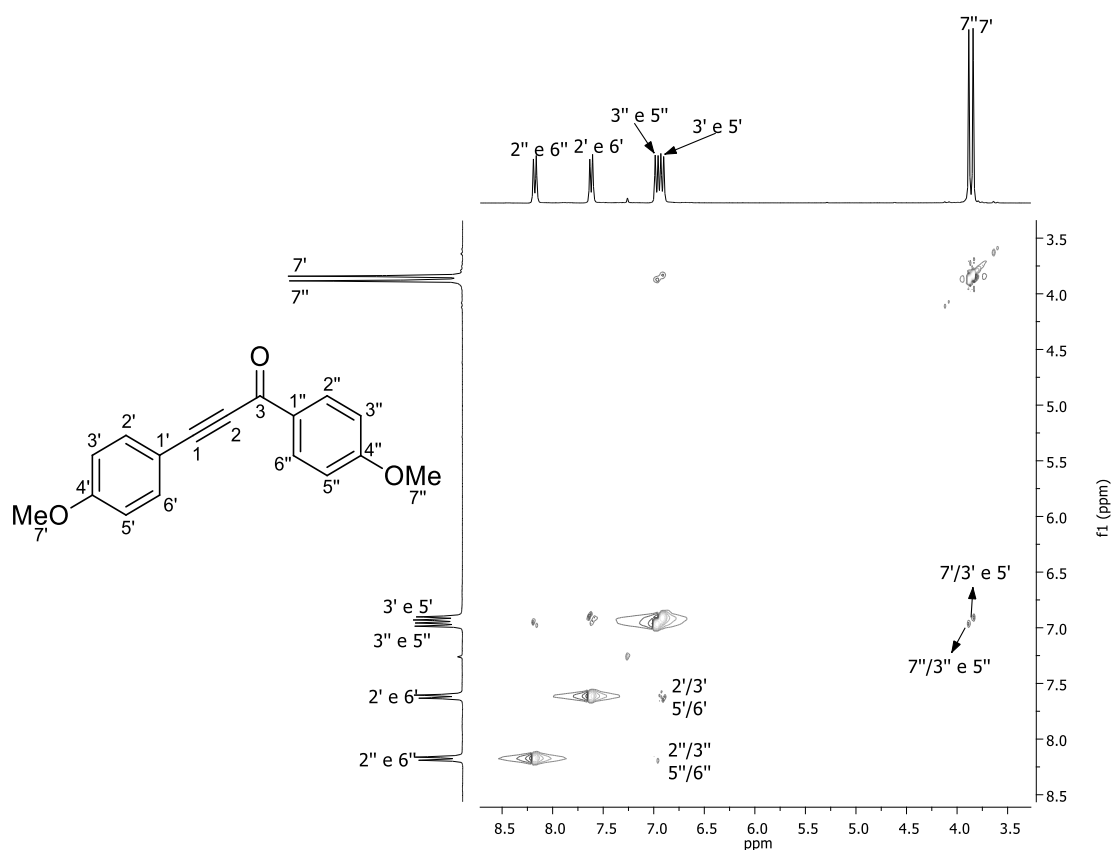


Figura 10 – Mapa de contorno *NOESY* de **69e**.

Os sinais no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 11) foram atribuídos com auxílio das técnicas bidimensionais HSQC (Figura 12) e HMBC (Figura 13). Os sinais em $\delta 55,5$ e $\delta 55,6$, referem-se as metilas $7'$ e $7''$, respectivamente. O sinal em $\delta 86,8$ é referente ao carbono C2 e em $\delta 93,5$, refere-se ao carbono C1. O sinal em $\delta 112,1$, refere-se ao carbono C1', em $\delta 113,8$ e $\delta 114,4$, refere-se aos carbonos C3''/C5'' e C3'/C5', respectivamente. O sinal do carbono C1'' é observado em $\delta 130,4$ e os sinais dos carbonos C2''/C6'' e C2'/C6' são observados em $\delta 131,9$ e $\delta 135,0$, respectivamente. Os sinais dos carbonos metoxilados, apresentam deslocamentos em $\delta 161,5$ (C4') e $\delta 164,3$ (C4''). O sinal em $\delta 176,8$ é referente ao carbono C3, condizente com o grupo carbonila de cetona em sistemas conjugados.

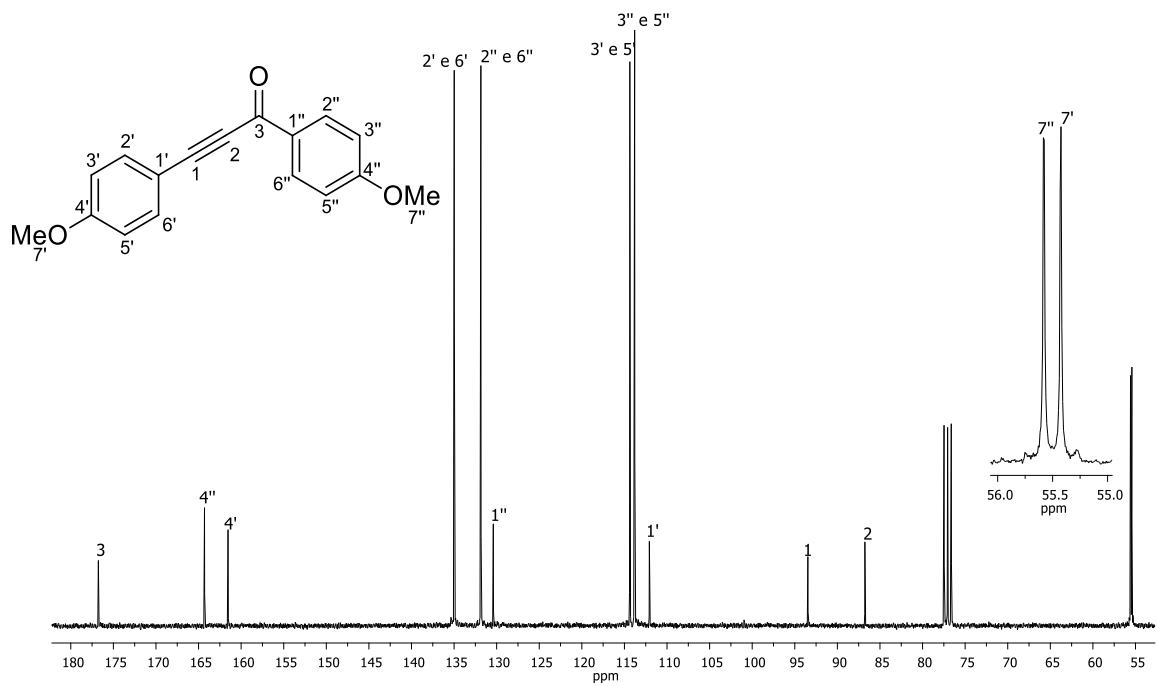


Figura 11 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **69e**.

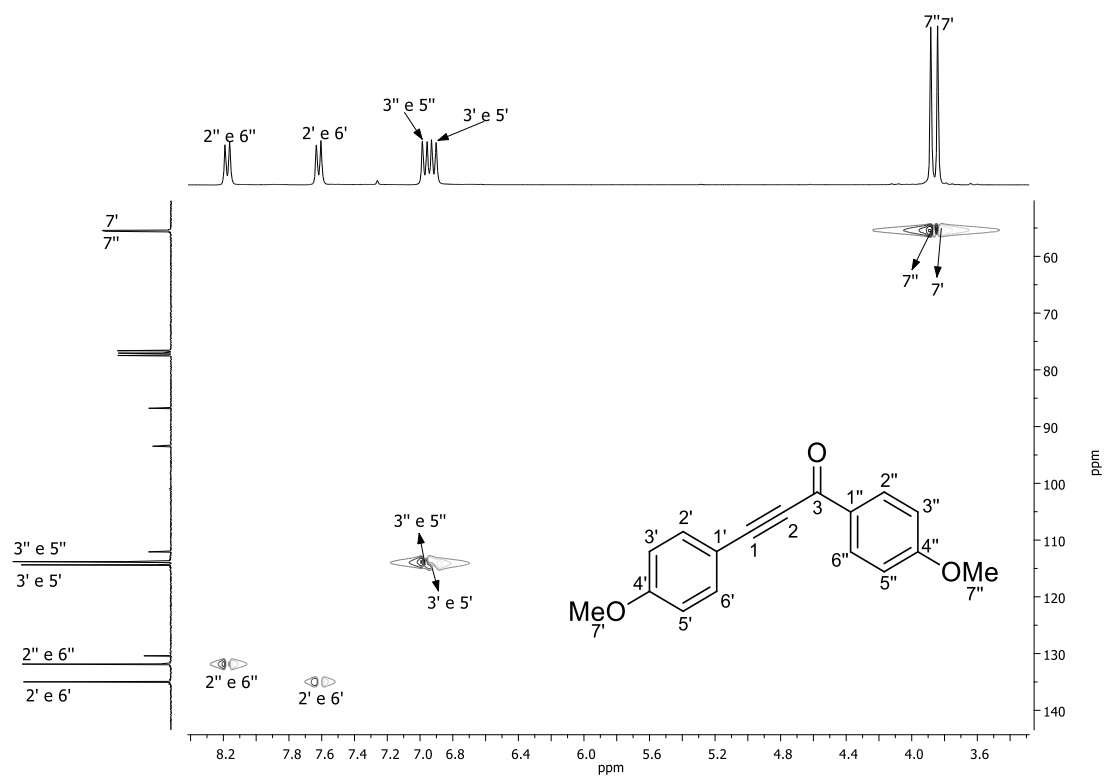


Figura 12 – Mapa de contorno HSQC de **69e**.

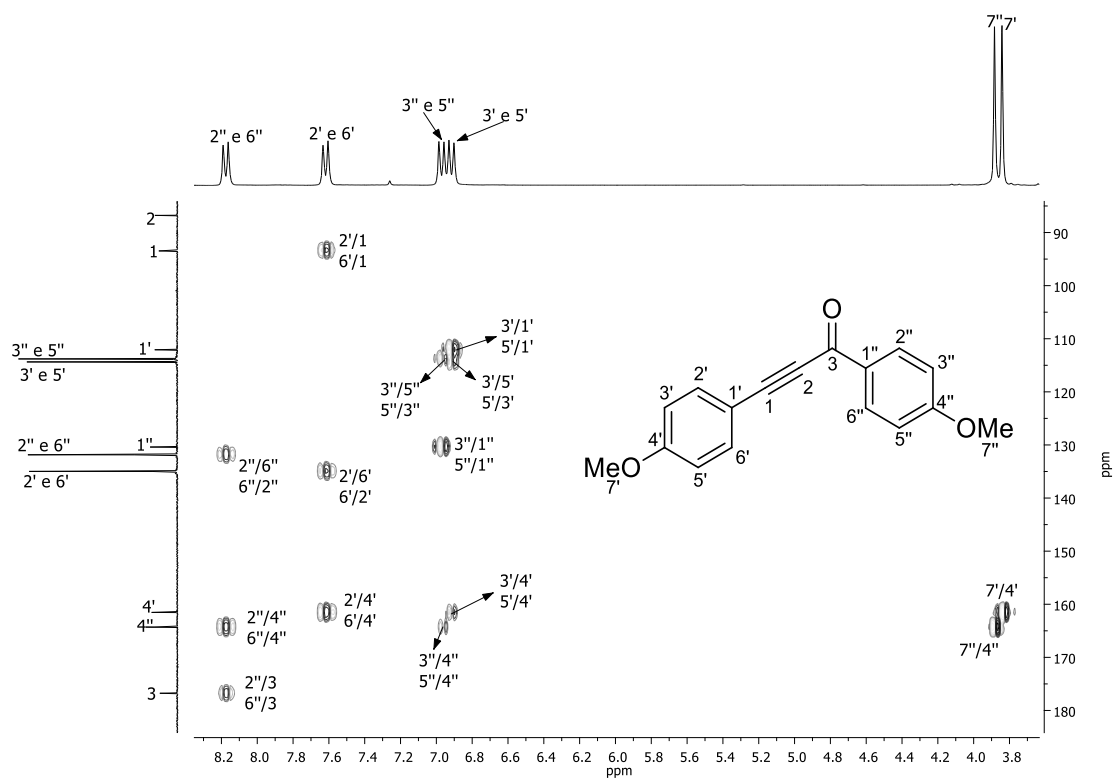


Figura 13 – Mapa de contorno *HMBC* de **69e**.

No espectro de massas de **103** (Figura 14), foram observados os picos referentes ao íon molecular em $m/z = 266$; o pico base em $m/z = 223$, atribuído à perda do fragmento de $(M - \text{COCH}_3)$ e $m/z = 159$, atribuído à perda do fragmento de $(M - \text{ArOCH}_3)$. As propostas mecanística para as fragmentações dos íons anteriormente citados, assim como a proposta para a formação de outros fragmentos razoavelmente estáveis em $m/z = 251$ e 135 , são apresentados no Esquema 17.

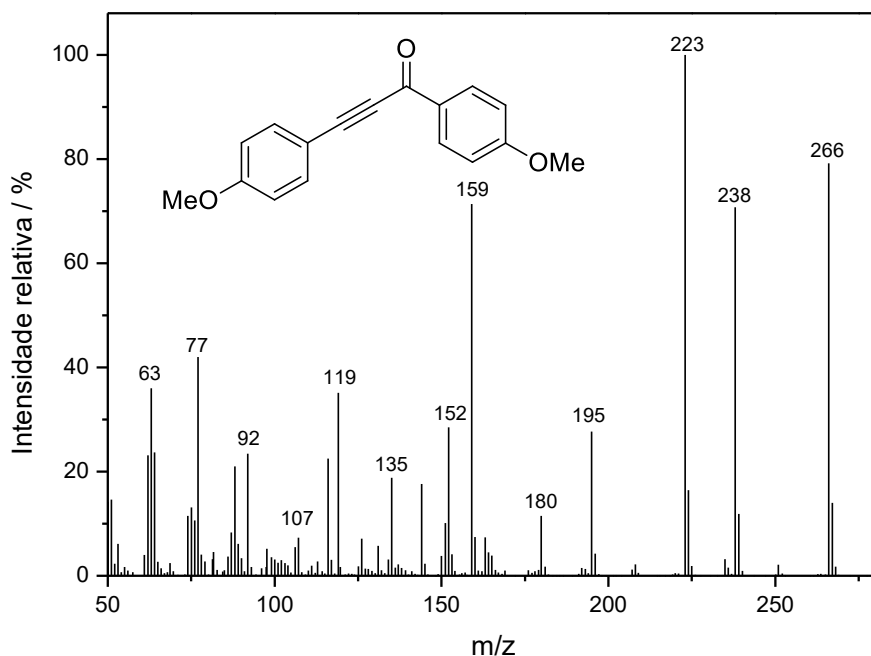
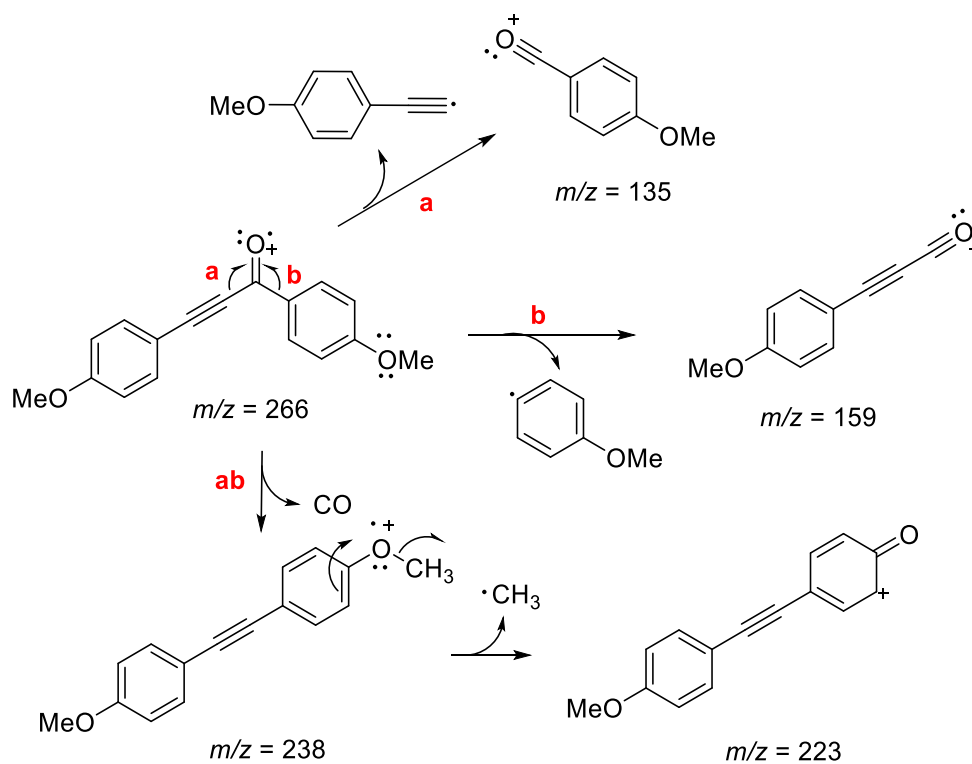


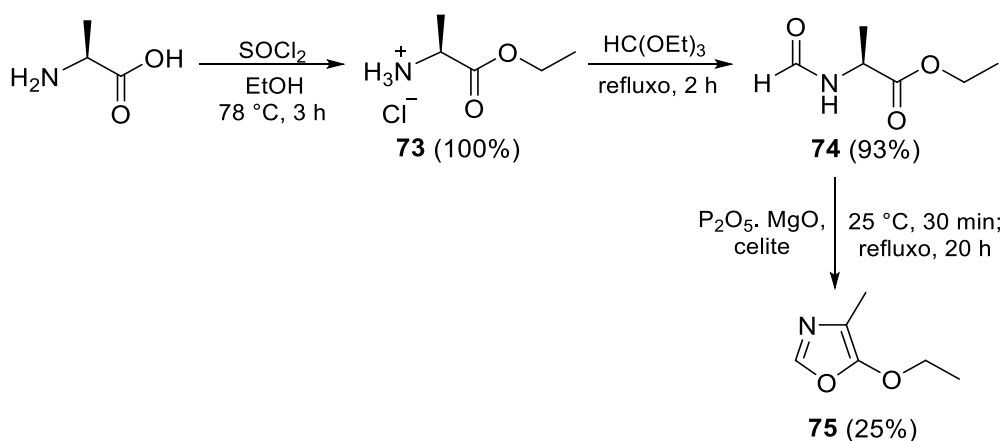
Figura 14 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **69e**.



Esquema 17 – Proposta mecanística de fragmentação para **69e**.

2.4.1.4. Síntese de 5-etoxi-4-metiloxazol

A metodologia utilizada para síntese de 5-etoxi-4-metiloxazol **75** foi baseada no trabalho de Dean *et al.*, 2008, conforme representada no Esquema 18.



Esquema 18 – Síntese do oxazol **75**.

O cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (**73**) foi inicialmente obtido pela reação entre *L*-alanina e SOCl_2 em etanol, em rendimento quantitativo. A estrutura de **73** foi confirmada pela análise do espectro de RMN de ^1H (Anexo 1 – Figura 53), sendo observado um tripleto em $\delta 1,17$ ($J = 7,2$ Hz) correspondente a metila e um quarteto em $\delta 4,06$ ($J = 7,2$ Hz) correspondente aos hidrogênios metilênicos, confirmando a esterificação do ácido carboxílico.

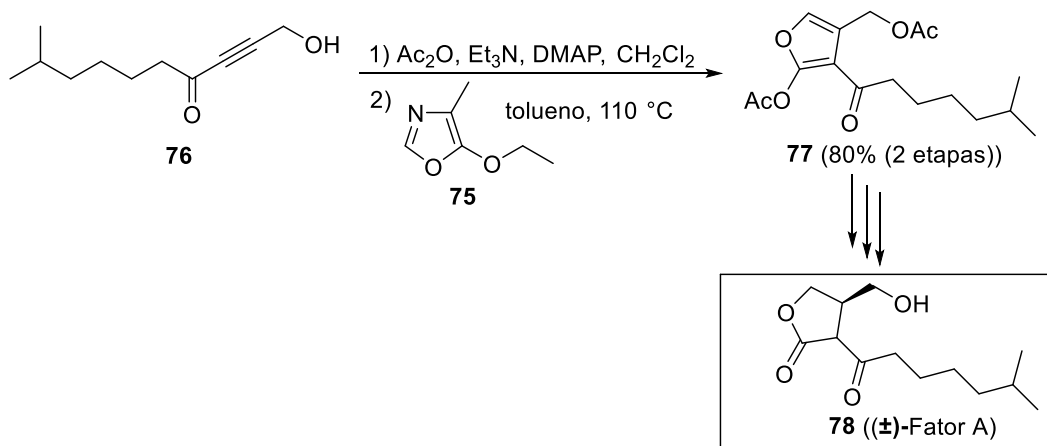
Posteriormente, **73** foi tratado com ortoformiato de trietila gerando o composto **74** em 93% de rendimento. Sua estrutura foi confirmada pela análise do espectro de RMN de ^1H (Anexo 1 – Figura 55), sendo observado um simpleto em $\delta 8,17$, que corresponde ao hidrogênio de aldeído.

A reação de **74** com pentóxido de fósforo em clorofórmio, na presença de óxido de magnésio, levou à formação do oxazol **75** com 25% de rendimento. Vale ressaltar que, de acordo com a literatura, a presença do ácido de Lewis MgO na etapa de ciclização é importante para o sucesso da mesma (Dean *et al.*, 2008; Brun *et al.*, 2013). O baixo rendimento obtido nesta reação foi atribuído, principalmente, às perdas causadas pela evaporação durante os processos de

purificação. O artigo de referência apresentou um rendimento de 50% na síntese de tal composto.

A estrutura do oxazol **75** foi confirmada pelas técnicas espectroscópicas e espectrométricas. No espectro de RMN de ^1H são observados 4 sinais, em δ 1,33 ($J = 7,1$ Hz) corresponde a metila do grupo etóxi, em δ 2,02 corresponde à metila ligada ao anel aromático, em δ 4,13 ($J = 7,1$ Hz) corresponde ao metileno, e em δ 7,36 corresponde ao hidrogênio do anel oxazólico.

O oxazol vêm sendo empregado em reações de cicloadição para obtenção de derivados de piridina (Jouanno *et al.*, 2014; Brun *et al.*, 2013; Chan-Huot *et al.*, 2010; Dean *et al.*, 2008; Sandford *et al.*, 2004; Dumond e Gum, 2003), pirrol (Johnsen e Undhein, 1983) e furano (Boukouvalas *et al.*, 2014; Boukouvalas e Loach 2013; Efremov e Paquette, 2000; Giles e Taylor, 2000; Yadav *et al.*, 1994; Liotta *et al.*, 1983). Yadav *et al.* (1994) reportaram a síntese total de (\pm)-Fator A (**78**), um indutor de estreptomicina em mutantes inativos de *Streptomyces griseus*, também utilizando reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder com 5-etoxi-4-metiloxazol (**75**) em uma das etapas (Esquema 19).

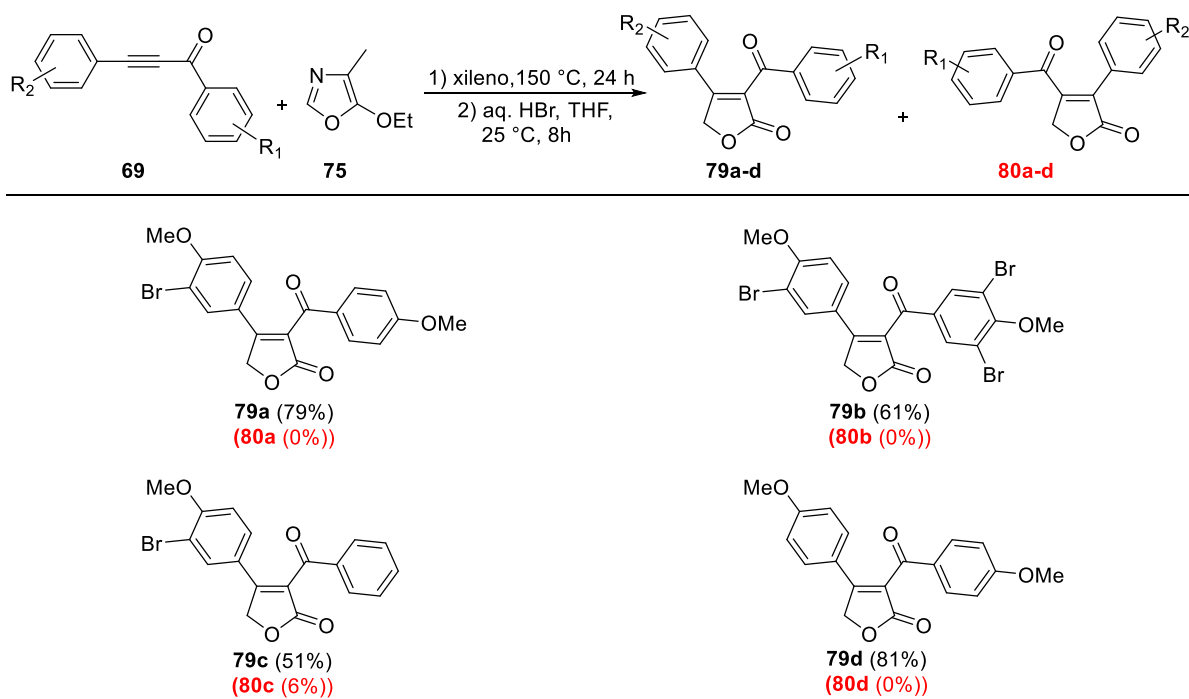


Esquema 19 – Síntese do furano **77** utilizando reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder (Yadav *et al.*, 1994).

2.4.1.5. Síntese de furanonas

A metodologia empregada para a obtenção das furanonas foi proposta por Boukouvalas e Thibault (2015), onde o oxazol **75** e as inonas foram submetidos

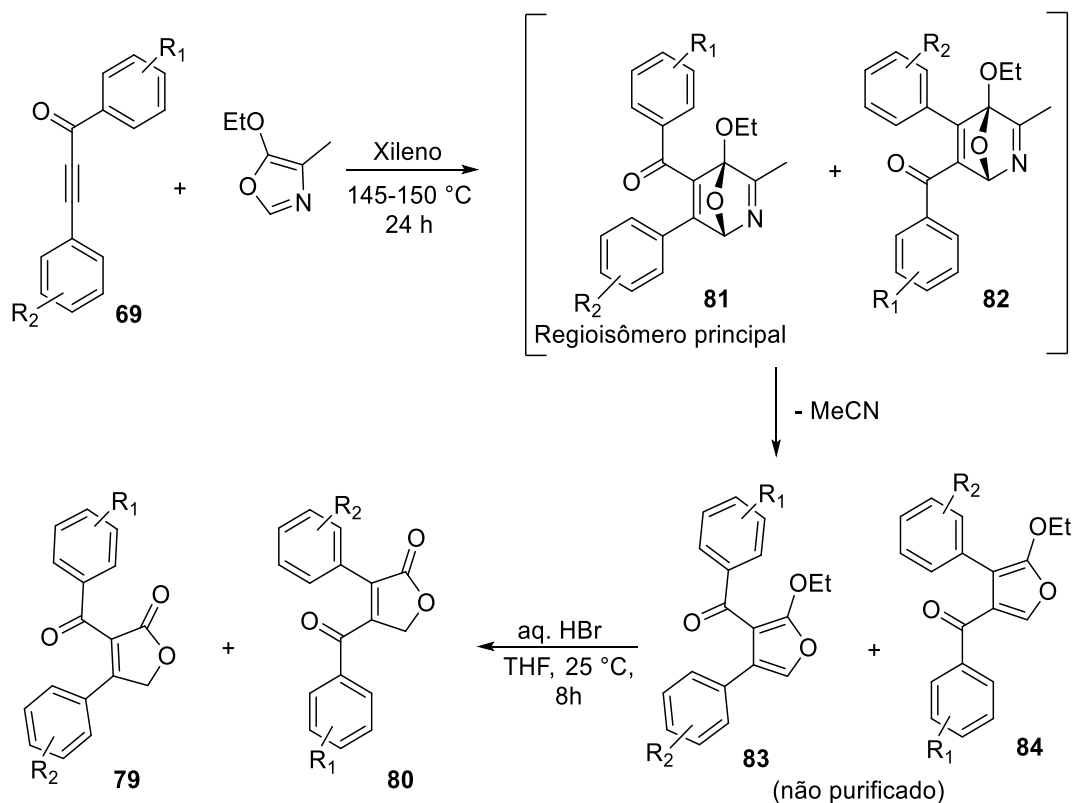
à reação Diels-Alder/retro Diels-Alder seguida de hidrólise, conforme representado no Esquema 20.



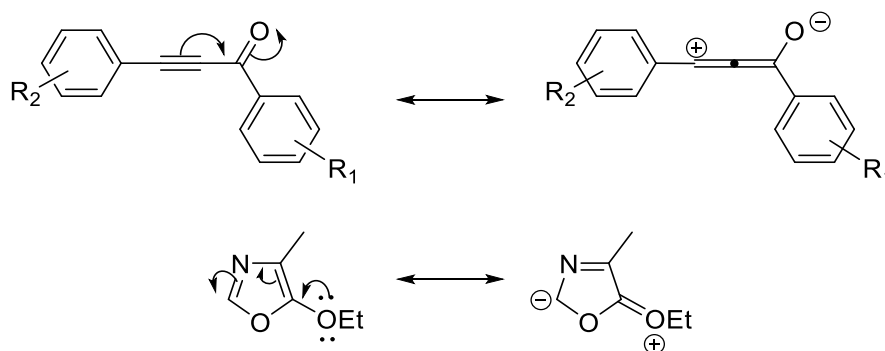
Esquema 20 – Síntese das furanonas **79a-d** e **80a-d**.

Nesta cicloadição são formados os adutos **81** e **82** (Esquema 21), que nas condições reacionais sofrem uma cicloversão com perda de uma molécula de acetonitrila e conseqüente formação dos intermediários furânicos **83** e **84**, que não foram purificados. Os intermediários **83** e **84** foram submetidos à hidrólise e as furanonas **79** e **80** foram obtidas.

Todas as reações de cicloadição foram altamente regioseletivas (Esquema 20). Para a reação entre a inona **69d** e o oxazol **75** foi obtido o regioisômero majoritário (**79c**) em 51 % de rendimento e o regioisômero minoritário (**80c**) em 6%, para as demais reações não foi possível isolar os regioisômeros minoritários. A obtenção majoritária dos regioisômeros **79a-d** já era esperada devido à polarização dos contribuintes de ressonância da inona e o oxazol **75**, conforme apresentado no Esquema 22. No trabalho de Boukouvalas e Thibault (2015), a lactona **79d** foi obtida com 70% de rendimento e seu regioisômero **80d** em 2% de rendimento, utilizando condições similares ao Esquema 20.

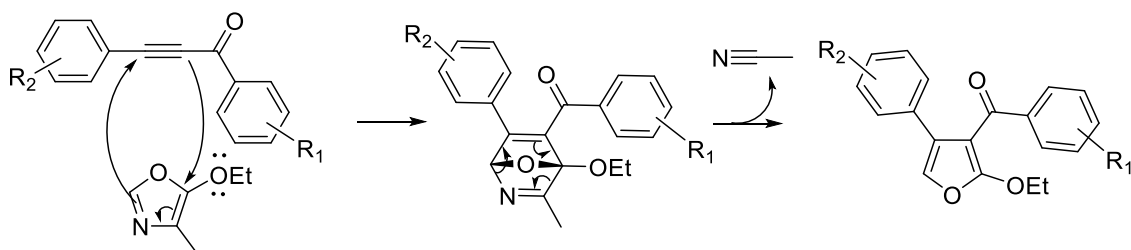


Esquema 21 - Reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder seguida por hidrólise.



Esquema 22 – Estruturas de ressonância para a inona e o oxazol 75.

Uma proposta mecanística para reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder é apresentada no Esquema 23 para o regioisômero majoritário. Inicialmente ocorre a cicloadição [4+2] entre o oxazol (dieno) e a inona (dienófilo) seguida da cicloversão, que sob as condições reacionais, perde uma molécula de acetonitrila, formando o furano correspondente.



Esquema 23 – Proposta mecanística da reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder utilizada na síntese das furanonas **79a-d**.

As reações de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder foram repetidas por mais de uma vez nas mesmas condições reacionais e os rendimentos e os desvios padrões são mostrados na Tabela 5. No Esquema 20, foi descrito o melhor rendimento obtido para cada reação.

Tabela 5 – Rendimentos das repetições das reações de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder.

Rendimentos (%)								
Inona	69a		69c		69d		69e	
Produtos	79a	80a	79b	80b	79c	80c	79d	80d
Repetição 1	78	0	60	0	51	6	81	0
Repetição 2	75	0	56	0	50	3	74	0
Repetição 3	79	0	61	0	50	0	-	-
Repetição 4	-#	-	58	0	50	0	-	-
Média ± DP*	77±2	0±0	59±2	0±0	50±1	2±3	78±5	0±0

*DP = desvio padrão. #Não houve repetição.

O maior rendimento, 78±5%, foi obtido quando empregada a inona **69e**, que apresenta um grupo metoxila em cada anel aromático. Foi observado menores rendimentos quando utilizadas inonas com grupos retiradores de elétrons nos anéis aromáticos (bromo), sendo o caso quando empregada as inonas **69a** e **69c**, levando aos produtos com rendimentos de 77±2% (presença de duas metoxilas e um bromo) e 59±2% (presença de duas metoxilas e três bromos), respectivamente. Já quando utilizado a inona **69d** foi obtido o menor rendimento (50±1%), além de isolar o regioisômero minoritário em 2±3% de rendimento.

Todas as furanonas sintetizadas foram devidamente caracterizadas utilizando técnicas espectroscópicas e espectrométricas. Para o composto **79c**, a presença dos grupos carbonila da lactona e da cetona puderam ser confirmadas por IV (Figura 15), observando-se as bandas de estiramento do grupo carbonila em 1749 e 1655 cm^{-1} , respectivamente (BARBOSA, 2007).

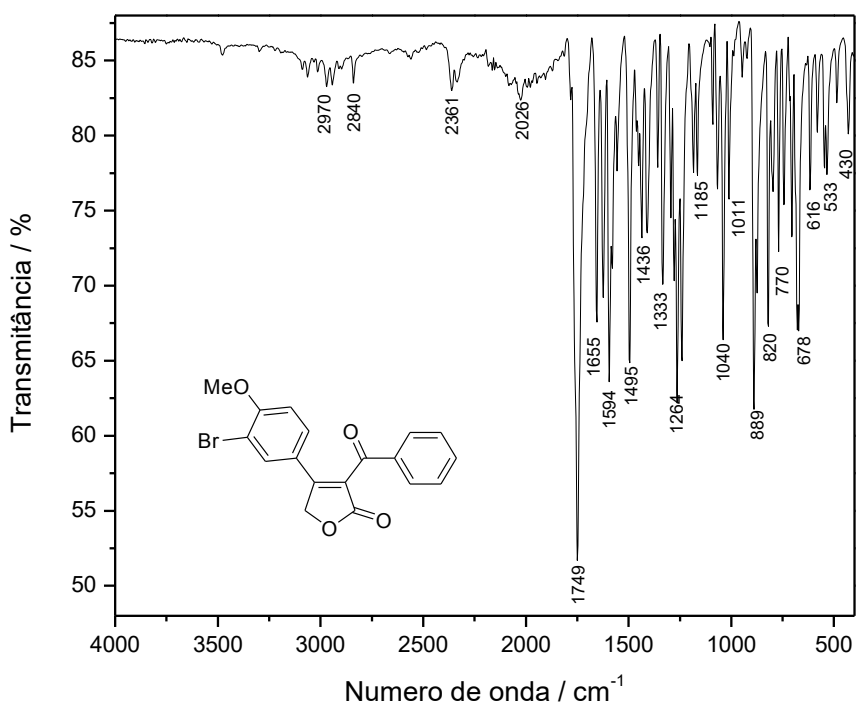


Figura 15 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **79c**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **79c** (Figura 16), o sinal da metoxila 7' foi observado como um simpleto em δ 3,87 e em δ 5,29, simpleto integrado para dois hidrogênios, identificado como sendo os hidrogênios metilênicos H5. O duplete em δ 6,81 foi atribuído à H5', com valor de $J_{\text{orto}} = 8,7$ Hz, e o duplo duplete em δ 7,35 atribuído a H6', com valor de $J_{\text{meta}} = 2,2$ Hz e $J_{\text{orto}} = 8,7$ Hz. O tripleto em δ 7,45 e os multipletos em δ 7,65-7,53 e δ 7,97-7,84 foram atribuídos a H3''/H5'', H2'/H4'' e H2''/H6'', respectivamente. Através da interpretação do mapa de contornos COSY (Figura 17) e NOESY (Figura 18) as atribuições foram realizadas com segurança.

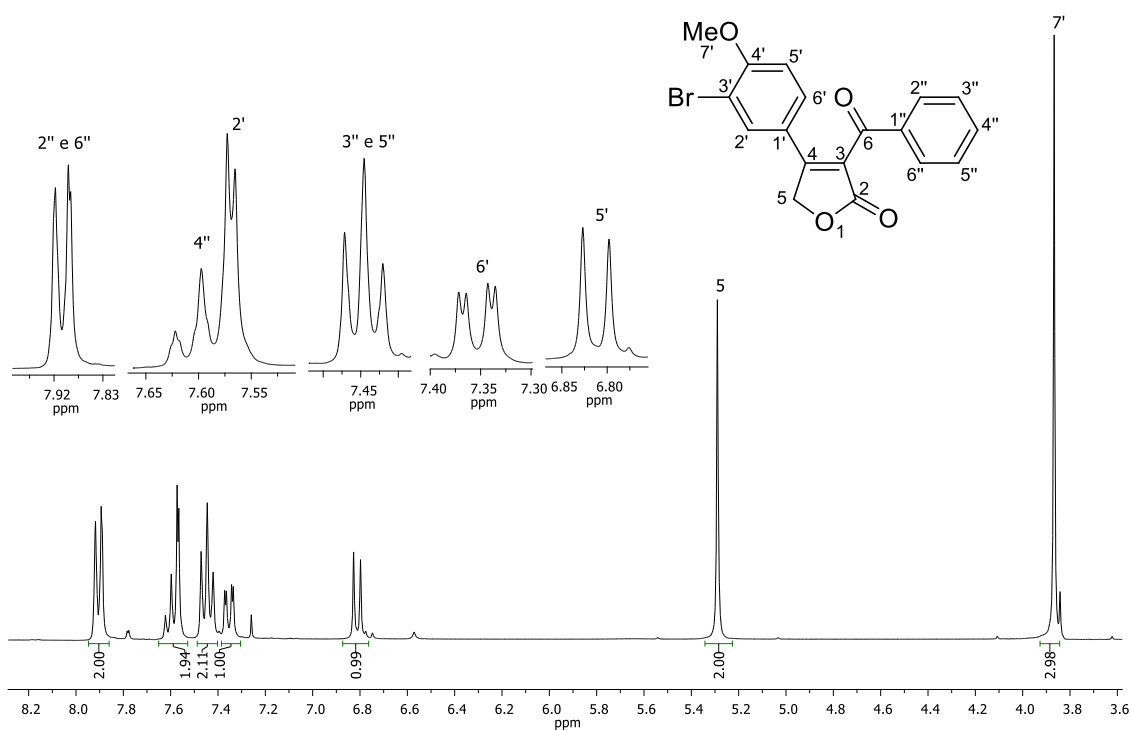


Figura 16 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **79c**.

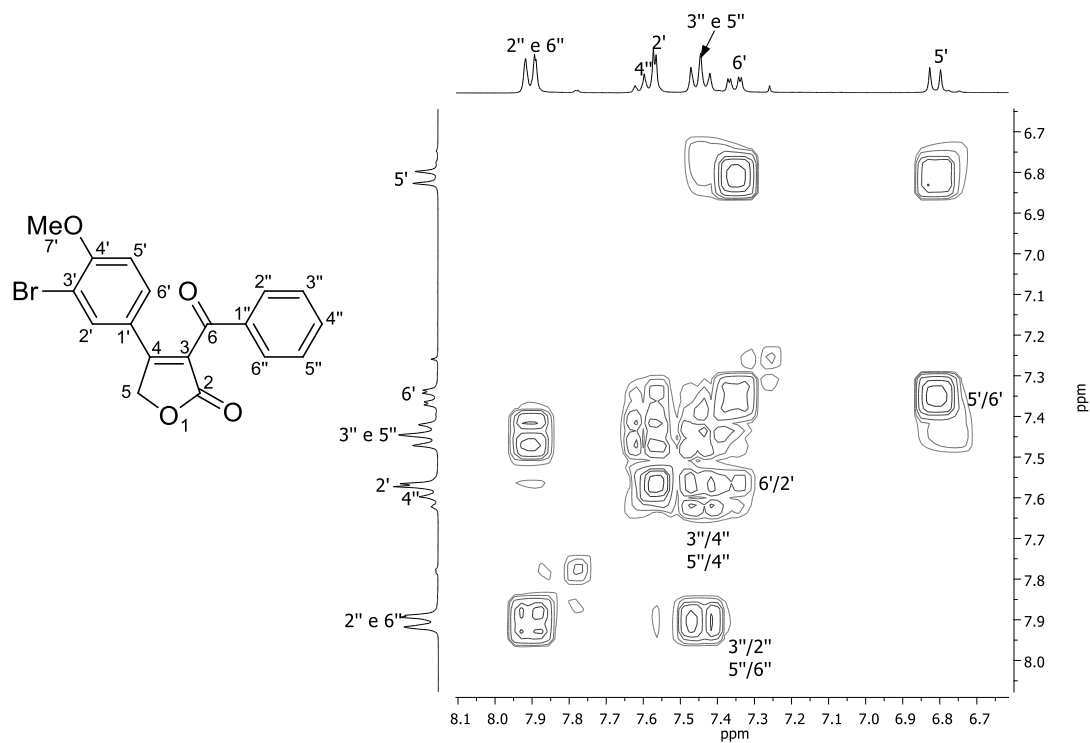


Figura 17 – Mapa de contorno COSY de **79c**.

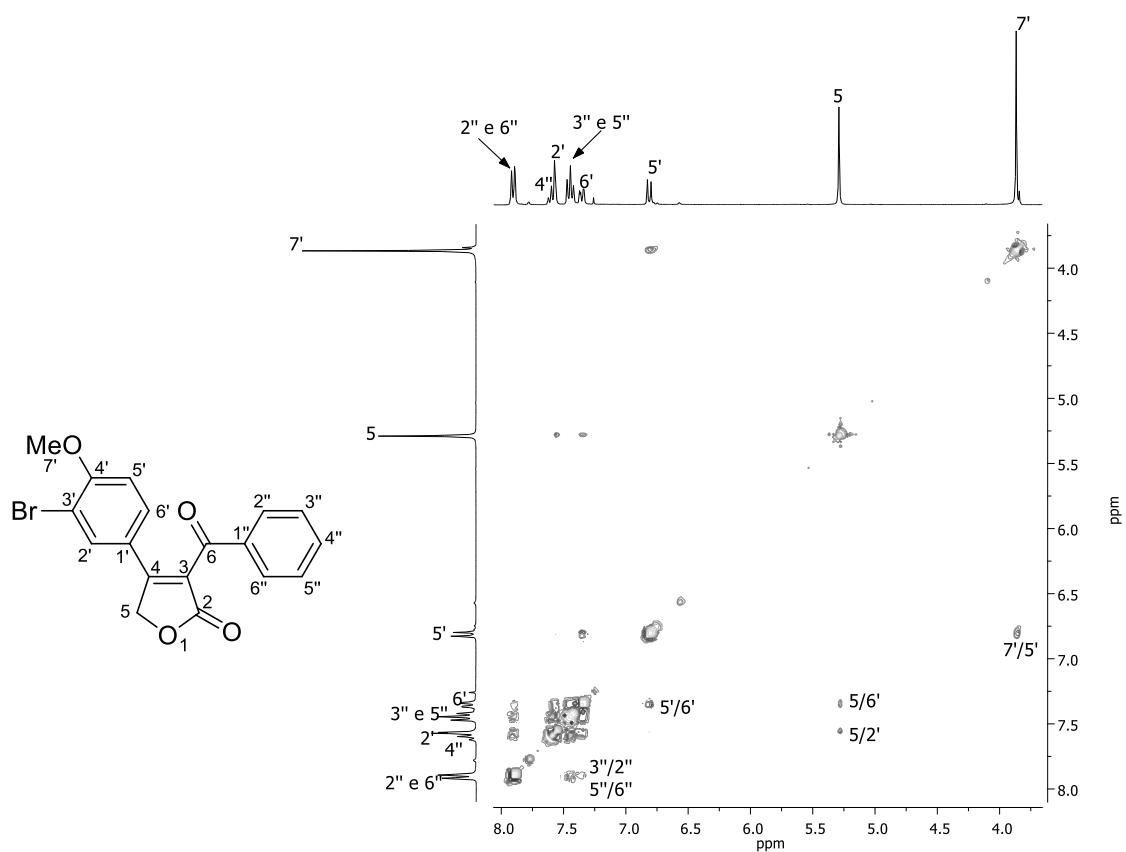


Figura 18 – Mapa de contorno *NOESY* de **79c**.

A interpretação do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 19) foi realizada com auxílio da técnica bidimensional HSQC (Figura 20) e HMBC (Figura 21). O sinal da metoxila 7' é observado em δ 56,5 e o sinal em δ 70,4, refere-se ao carbono C5. Os sinais em δ 112,1, δ 112,6, δ 122,6 e δ 124,5 referem-se aos carbonos C5', C3', C1' e C4, respectivamente. Os sinais referentes aos carbonos C3''/C5'', C6' e C2''/C6'' são observados em δ 129,0, δ 129,1 e δ 129,5 e os sinais referentes aos carbonos C2', C4'' e C1'' em δ 132,5, δ 134,7 e δ 135,5, respectivamente. Os sinais mais desblindados em δ 158,7 e δ 159,34, referem-se aos carbonos C4' e C3. Já o sinal da carbonila da lactona é observado em δ 170,8 e o sinal da carbonila da cetona em 191,5.

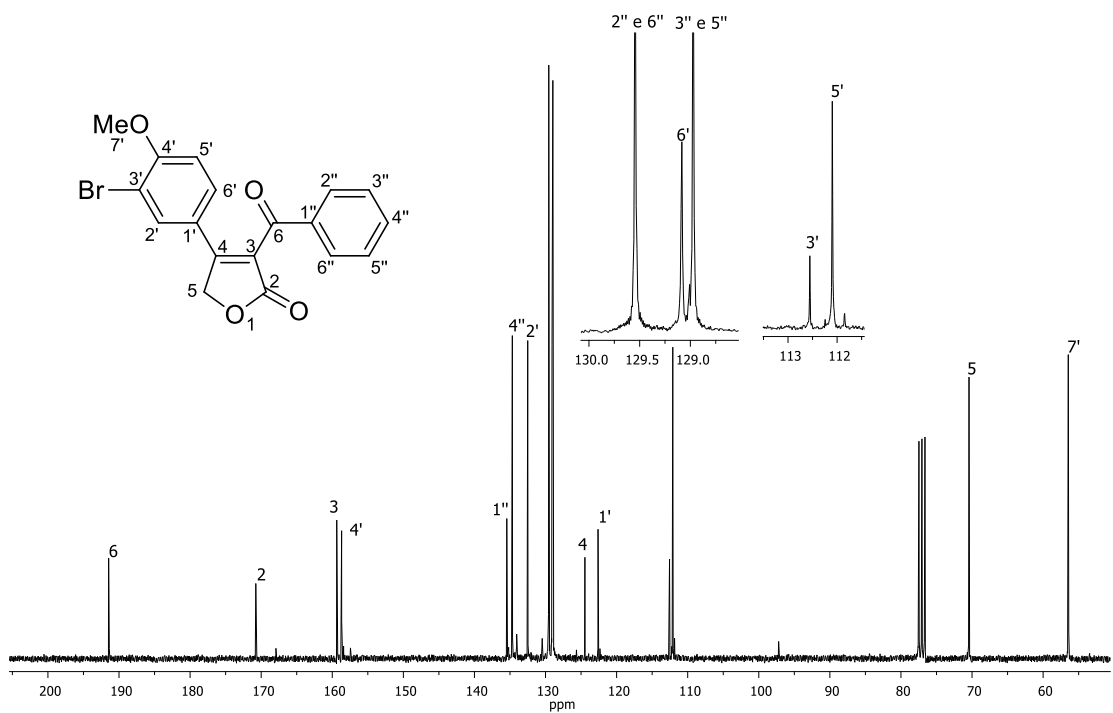


Figura 19 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **79c**.

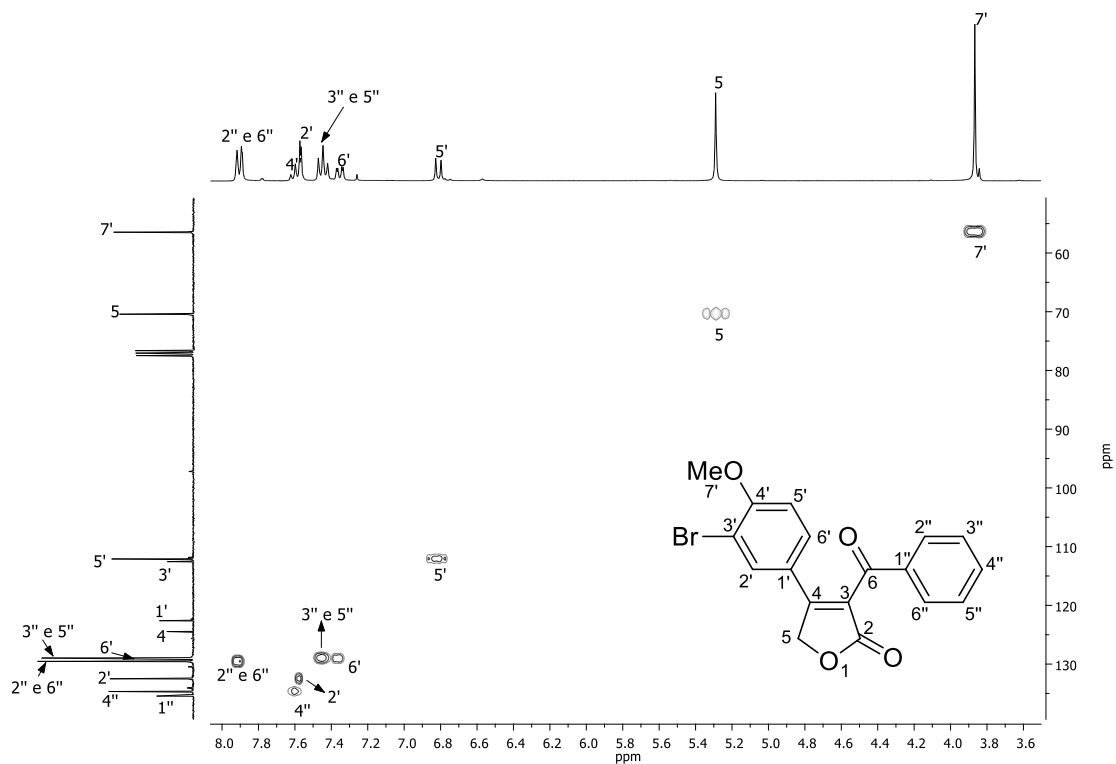


Figura 20 – Mapa de contorno *HSQC* de **79c**.

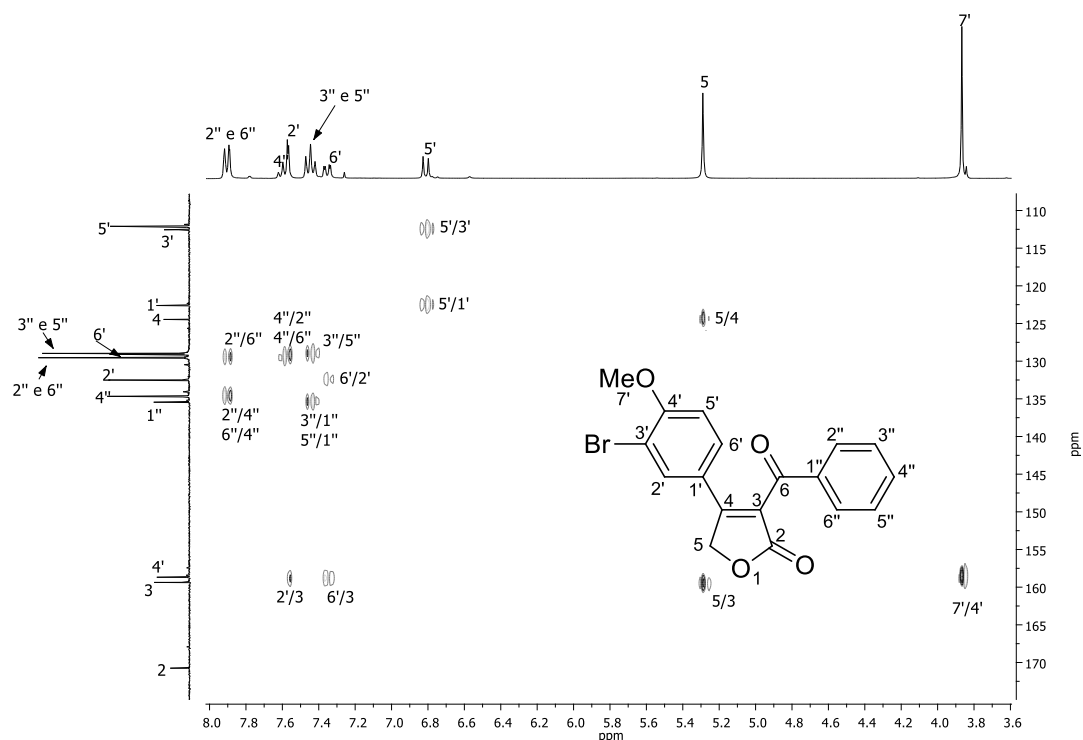


Figura 21 – Mapa de contorno *HMBC* de **79c**.

A massa molecular de **79c** foi confirmada no espectro de massas (Figura 22), que apresenta o pico do íon molecular em $m/z = 372$ e o $[M+2]^+$ em $m/z = 372$ de mesma intensidade, padrão característico devido a abundância isotópica do átomo de bromo. O pico base em $m/z = 77$ é atribuído ao cátion fenílico.

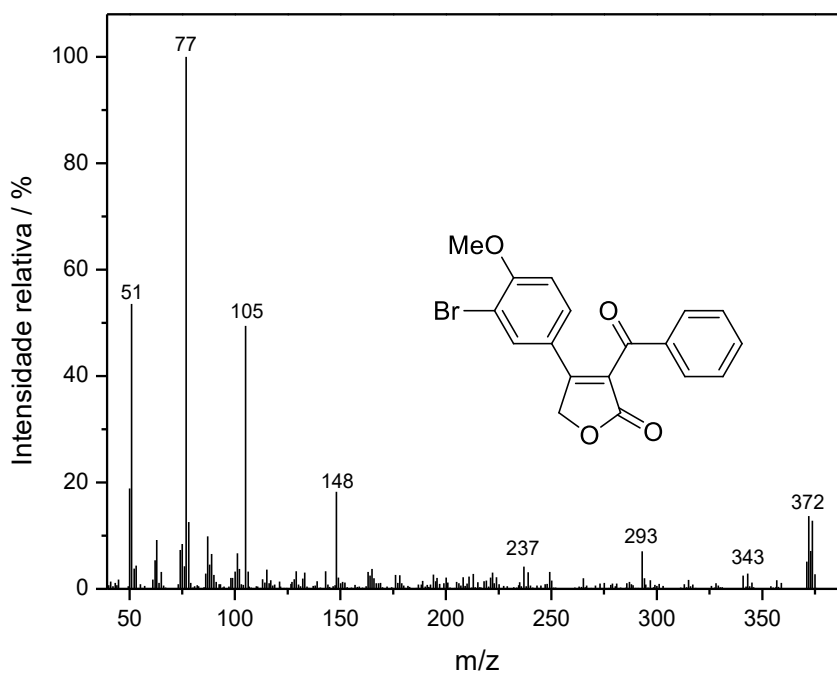
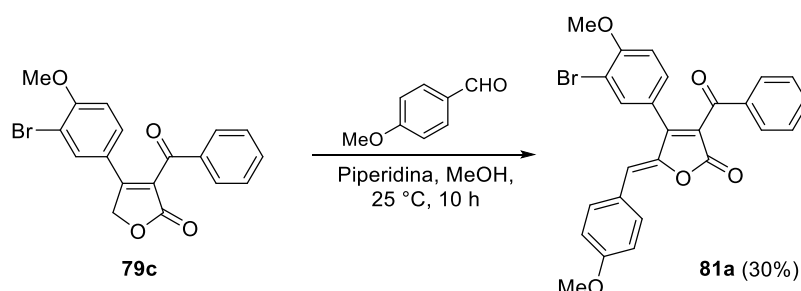


Figura 22 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **79c**.

2.4.1.6. Síntese dos análogos aos cadiolídeos naturais

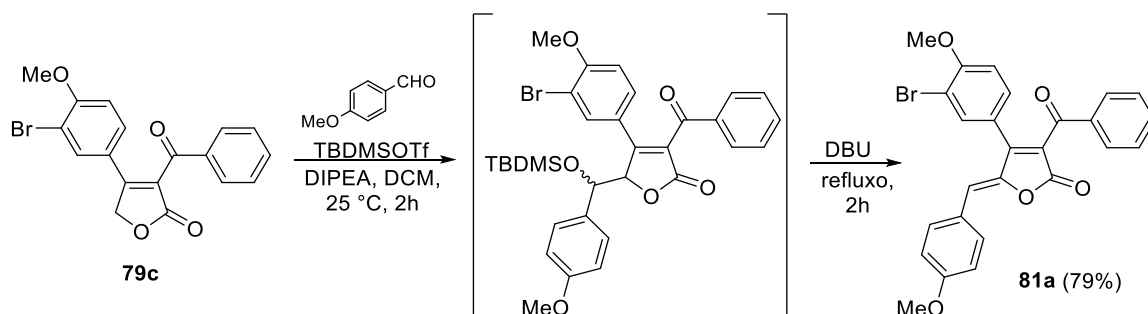
Para obtenção dos análogos aos cadiolídeos a partir das furanonas, a primeira metodologia avaliada foi a reação de condensação de Knoevenagel (Boukouvalas e Thibault, 2015). Esta reação é empregada para a obtenção de diversos γ -alquilidenobutenolídeos a partir de diferentes butenolídeos (Cacchi *et al.*, 2009; Tale *et al.*, 2012).

A reação entre a furanona **79c** e 4-metoxibenzaldeído, resultou no produto **81a** com apenas 30% de rendimento (Esquema 24). Essa reação foi repetida por mais de uma vez com pequenas alterações nas condições reacionais (temperatura, tempo, equivalentes molares da base), entretanto sem sucesso.



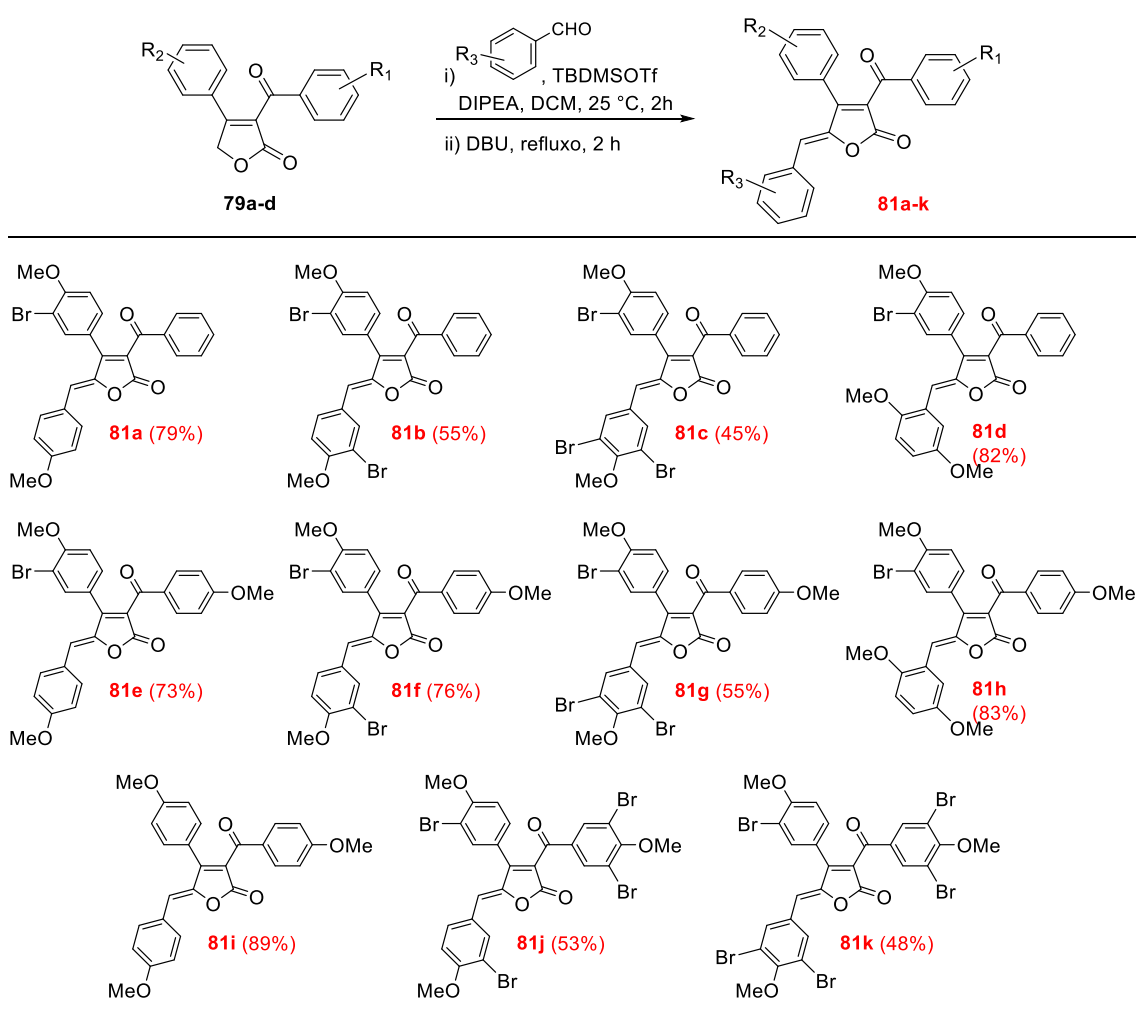
Esquema 24 – Síntese do composto **81a** utilizando reação de condensação de Knoevenagel.

Devido ao baixo rendimento obtido utilizando a reação de Knoevenagel, optou-se por avaliar a metodologia reportada por Boukouvalas *et al.*, 1994. Para esta metodologia, resultou no mesmo produto desejado, porém com um rendimento muito melhor (79% de rendimento). O composto **81a** foi formado após duas etapas, onde ocorre primeiramente uma reação de adição aldólica, seguida de uma eliminação, conforme mostrado no Esquema 25.



Esquema 25 – Reação de alquilidação para obtenção dos análogos aos cadiolídeos.

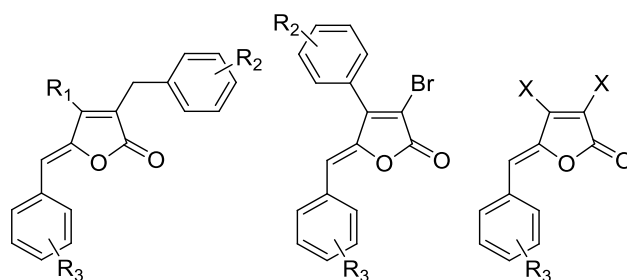
Devido ao melhor rendimento obtido utilizando a metodologia proposta por Boukouvalas *et al.*, 1994 (Esquema 25), tal proposta sintética foi aplicada para obtenção dos demais análogos aos cadiólídeos naturais, conforme apresentado no Esquema 26. Os aldeídos empregados na reação de alquilidenação foram: 4-metoxibenzaldeído, 3-bromo-4-metoxibenzaldeído, 3,5-dibromo-4-metoxibenzaldeído e 2,5-dimetoxibenzaldeído.



Esquema 26 – Síntese dos análogos aos cadiólídeos **81a-k**.

Vale destacar que para todas as reações apenas o isômero Z foi formado, mostrando a alta estereosseletividade da metodologia empregada. A estratégia apresentada no Esquema 25 vem sendo empregada por nosso grupo de pesquisa para síntese de vários alquilidenobutenolídeos (Figura 23), classe à qual pertence os cadiólídeos, com bons rendimentos e alta estereosseletividade

(sendo formado apenas o isômero Z na maioria das reações) (Teixeira *et al.*, 2008; Barbosa *et al.*, 2010; Varejão *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2014).

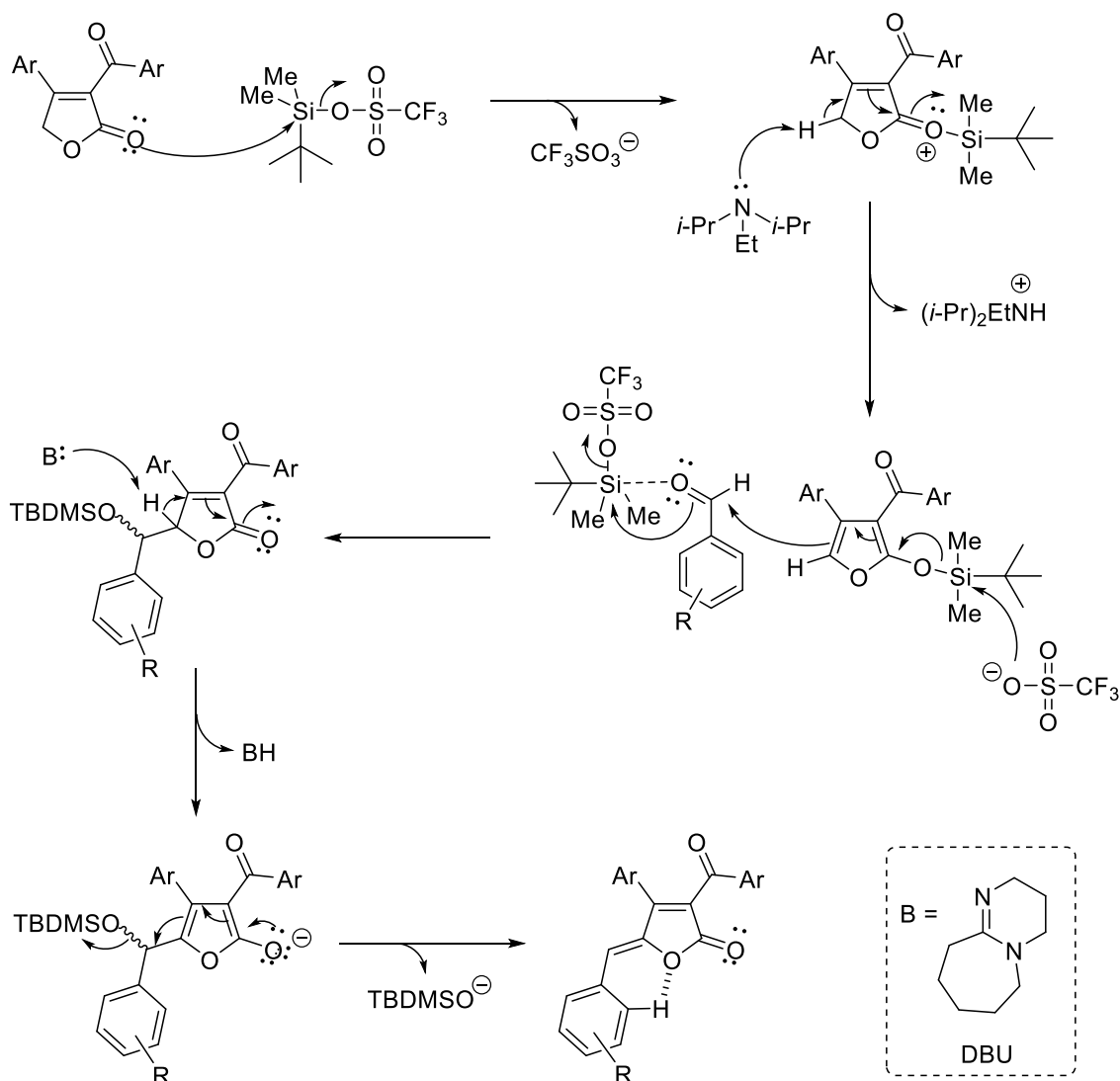


X = Cl ou Br; R₁ = H ou *i*-Pr; R₂ e R₃ = vários substituintes

Figura 23 – Estruturas gerais de γ -alquilidenobutenolídeos sintetizados por nosso grupo de pesquisa.

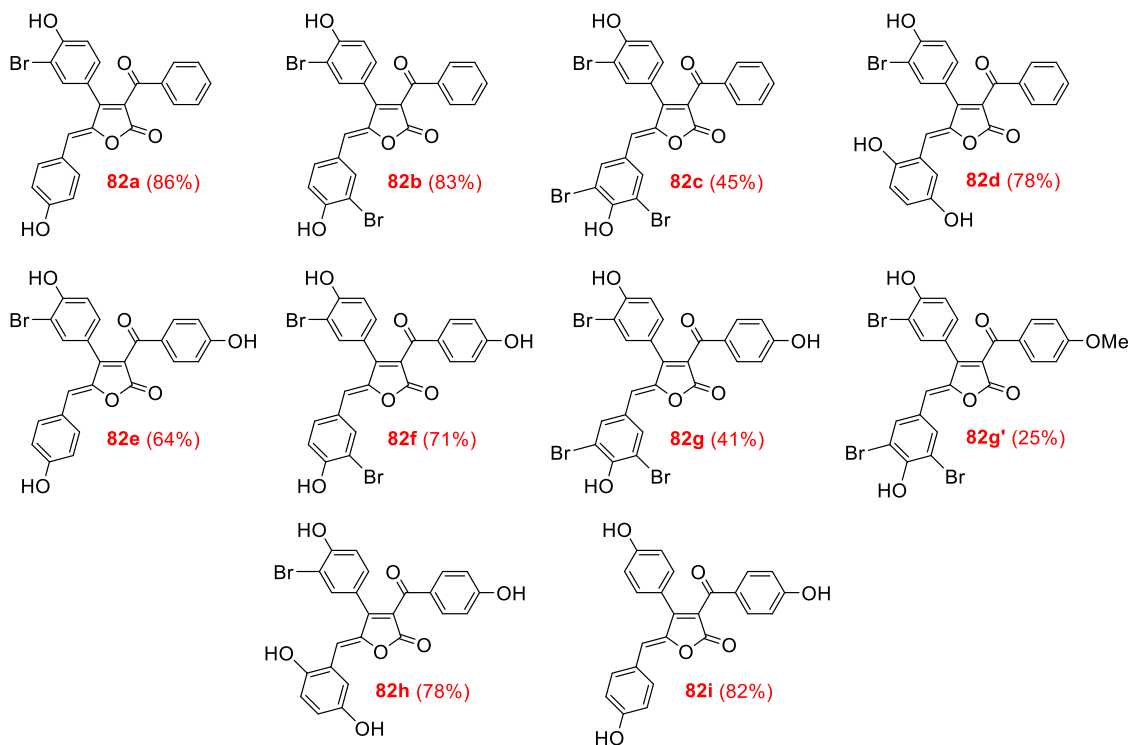
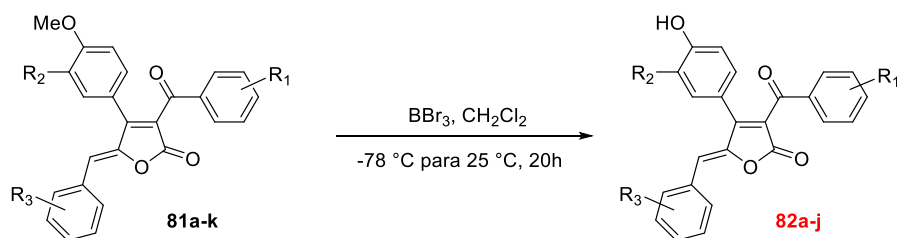
O mecanismo para a reação de alquilidação foi proposta por TEIXEIRA (2008), conforme demonstrado no Esquema 27. Inicialmente, ocorre um ataque do par de elétrons do oxigênio da carbonila da lactona ao TBDMSOTf, com eliminação do triflato. Em seguida, a DIPEA captura um dos hidrogênios ácido H-5 do intermediário anterior, levando à formação *in situ* do éter de silila, que, na próxima etapa, ataca a carbonila do aldeído, resultando na formação dos intermediários aldólicos correspondentes, não isolados. Essa etapa ocorre via regeneração do ácido de Lewis TBDMSOTf, já que o silício sofre ataque nucleofílico do íon triflato (Clayden *et al.*, 2001).

Na eliminação do grupo *tert*-butildimetilsililoxila, a base DBU captura o segundo hidrogênio ácido H-5 do anel lactônico com formação estereosseletiva da dupla exocíclica. Esta estereosseletividade pode ser explicada pela formação de ligações de hidrogênio não clássica entre os hidrogênios na posição *orto* do anel benzilidênico e o oxigênio do núcleo γ -lactônico, fatos esses que aumentam a estabilidade da configuração Z em relação à E (Boukouvalas *et al.*, 2007; Teixeira, 2008).



Esquema 27 – Proposta para o mecanismo da reação de alquilação utilizada na síntese das (*Z*)-5-benzilideno-4-aryl-3-benzofuran-2(*5H*)-onas.

Os análogos aos cadiolídeos metoxilados **81a-k** foram submetidos à reação de desmetilação com BBR_3 para obtenção dos compostos hidroxilados **82**, conforme apresentado no Esquema 28. De fato, todos os cadiolídeos naturais possuem pelo menos uma hidroxila em sua estrutura.



Esquema 28 – Reação de desmetilação com BBr_3 .

Os rendimentos das reações de desmetilação quando empregado os análogos metoxilados **81a-b**, **81d-f** e **81h-i** foram bons, apresentando valores entre 64 e 86%. Já quando empregados os análogos metoxilados **81c** e **81g** os rendimentos foram menores, 25 a 45%, sendo que para a reação de desmetilação de **81g** foi possível a obtenção do composto completamente desmetilado em 41% de rendimento, **82g**, e o composto **82g'**, com duas hidroxilas e uma metoxila, em 25% de rendimento. Já na desmetilação dos análogos **81j** e **81k**, não foi possível a obtenção dos produtos hidroxilados. Essas reações foram realizadas várias vezes com pequenas alterações nas condições reacionais (temperatura, variação dos equivalentes molares de BBr_3 , tempo reacional), entretanto sem sucesso. Desta forma, foi observado que a presença de mais de um bromo num mesmo anel aromático, dificulta a ocorrência da

desmetilação por BBr_3 , ocasionando rendimentos baixos e em algumas situações a não ocorrência da reação.

Todos os 21 análogos (**81a-k** e **82a-j**) aos cadiólídeos sintetizados foram devidamente caracterizados utilizando técnicas espectroscópicas e espectrométricas. Para o composto **81f**, a presença dos grupos carbonila da lactona e da cetona puderam ser confirmadas por IV (Figura 24), observando-se as bandas de estiramento do grupo carbonila em 1748 e 1646 cm^{-1} , respectivamente (Barbosa, 2007).

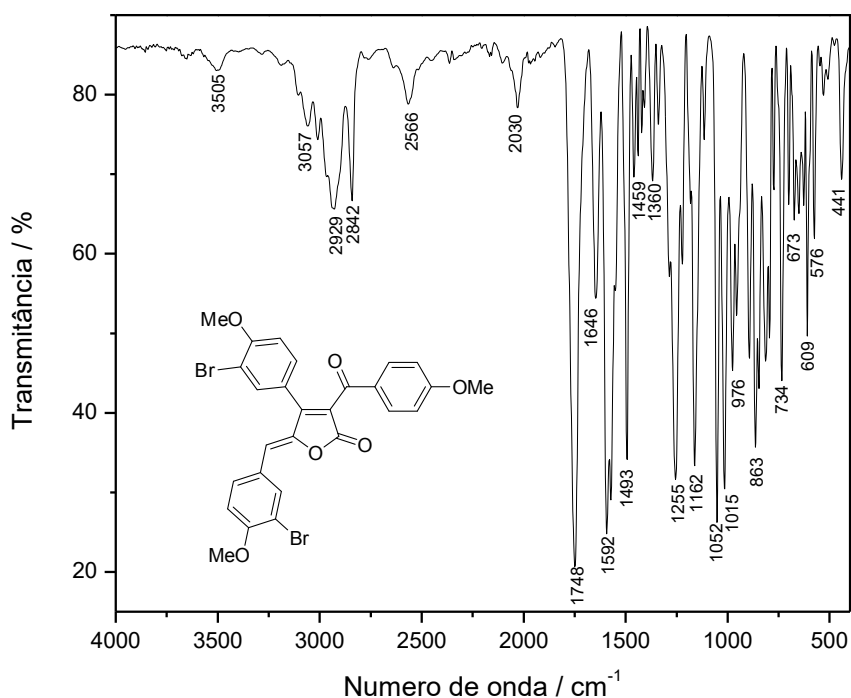


Figura 24 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **81f**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **81f** (Figura 25), os sinais da metoxilas 7'', 7' e 7''' foram observados como simpletos em δ 3,84, δ 3,90 e δ 3,95, respectivamente. O simpleto em δ 6,10 foi atribuído ao hidrogênio H7. Os multipletos em δ 7,00-6,80, δ 7,47-7,30, δ 7,70-7,55, δ 7,87-7,75 e δ 8,04-7,94 foram atribuídos aos hidrogênios H5'/H3''/H5''/H5''', H6', H2', H2''/H6''/H6''' e H2''', respectivamente. Através da interpretação do mapa de contornos COSY (Figura 26) e NOESY (Figura 27) as atribuições foram realizadas com segurança. A estereoquímica Z do composto **81f** é confirmada pelas correlações apresentadas pelos hidrogênios H7/H6' e H7/H2' no mapa de contornos NOESY.

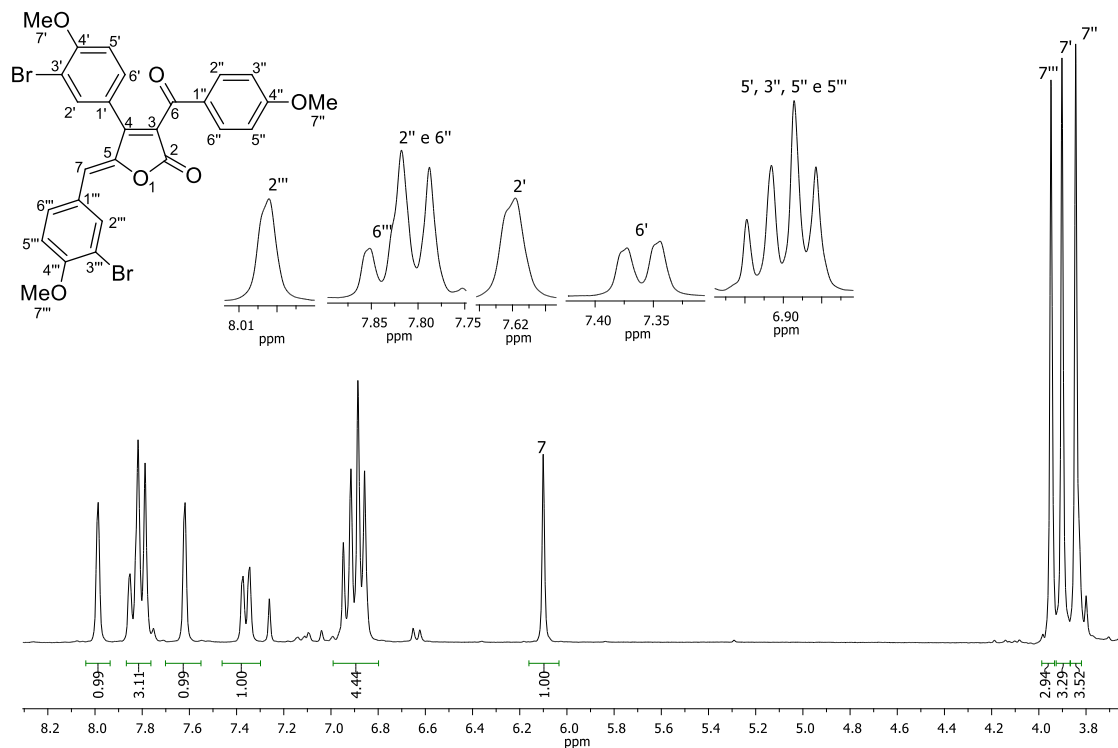


Figura 25 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81f**.

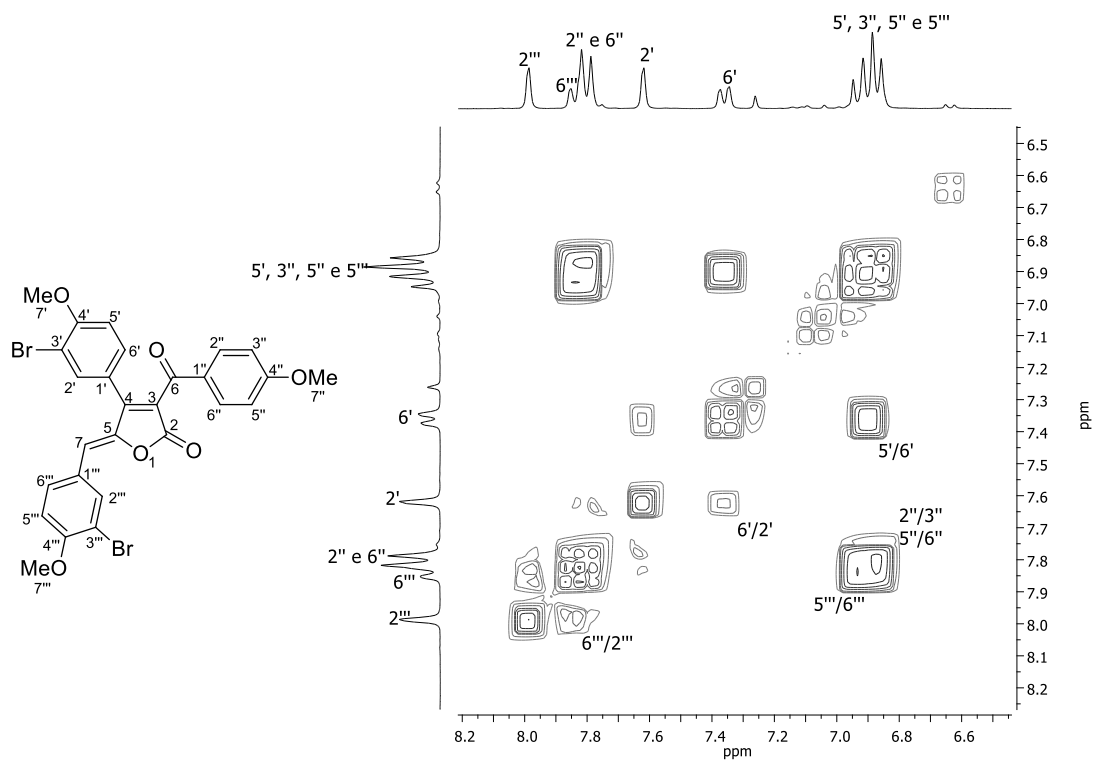


Figura 26 – Mapa de contorno COSY de **81f**.

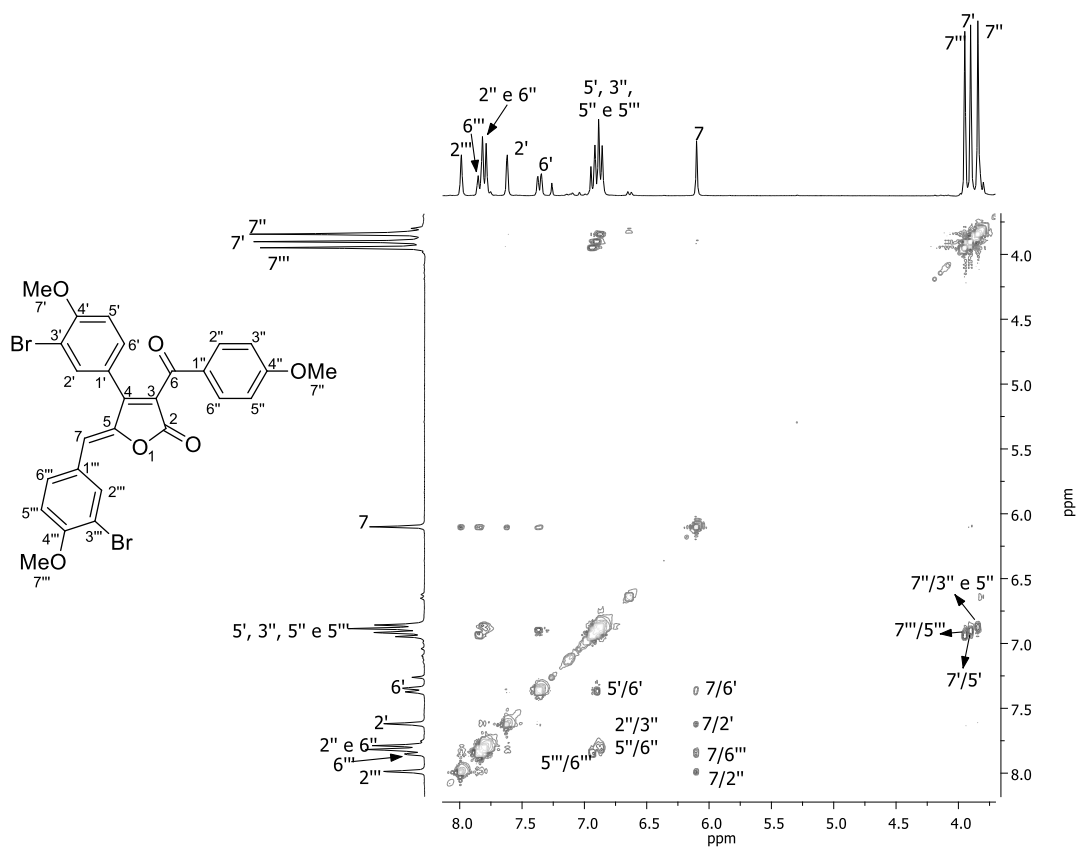


Figura 27 – Mapa de contorno NOESY de **81f**.

A interpretação do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 28) foi realizada com auxílio da técnica bidimensional HSQC (Figura 29) e HMBC (Figura 30). O sinal da metoxila $7''$ é observado em δ 55,6 e o sinal em δ 56,4, refere-se às metoxilas $7'''$ e $7'$. Os sinais em δ 111,9, δ 111,9, δ 112,2 e δ 112,2 referem-se aos carbonos $\text{C}5'''$, $\text{C}5'$, $\text{C}3'''$ e $\text{C}3'$, respectivamente. Os sinais referentes aos carbonos $\text{C}3''/\text{C}5''$, $\text{C}7$, $\text{C}1'$, $\text{C}4$, $\text{C}1'''$, $\text{C}1''$, $\text{C}6'$, $\text{C}6'''$ e $\text{C}2''/\text{C}6''$ são observados em δ 114,0, δ 115,2, δ 122,3, δ 124,1, δ 126,8, δ 129,0, δ 123,0, δ 131,9 e δ 132,1 e os sinais referentes aos carbonos $\text{C}2'$ e $\text{C}2'''$ em δ 133,7 e δ 135,9, respectivamente. Os sinais mais desblindados em δ 146,3, δ 155,3, δ 157,1, δ 157,6 e δ 164,4, referem-se aos carbonos $\text{C}4$, $\text{C}3$, $\text{C}4'''$, $\text{C}4'$ e $\text{C}4''$. Já o sinal para a carbonila da lactona é observado em δ 166,2 e a carbonila da cetona em 187,6.

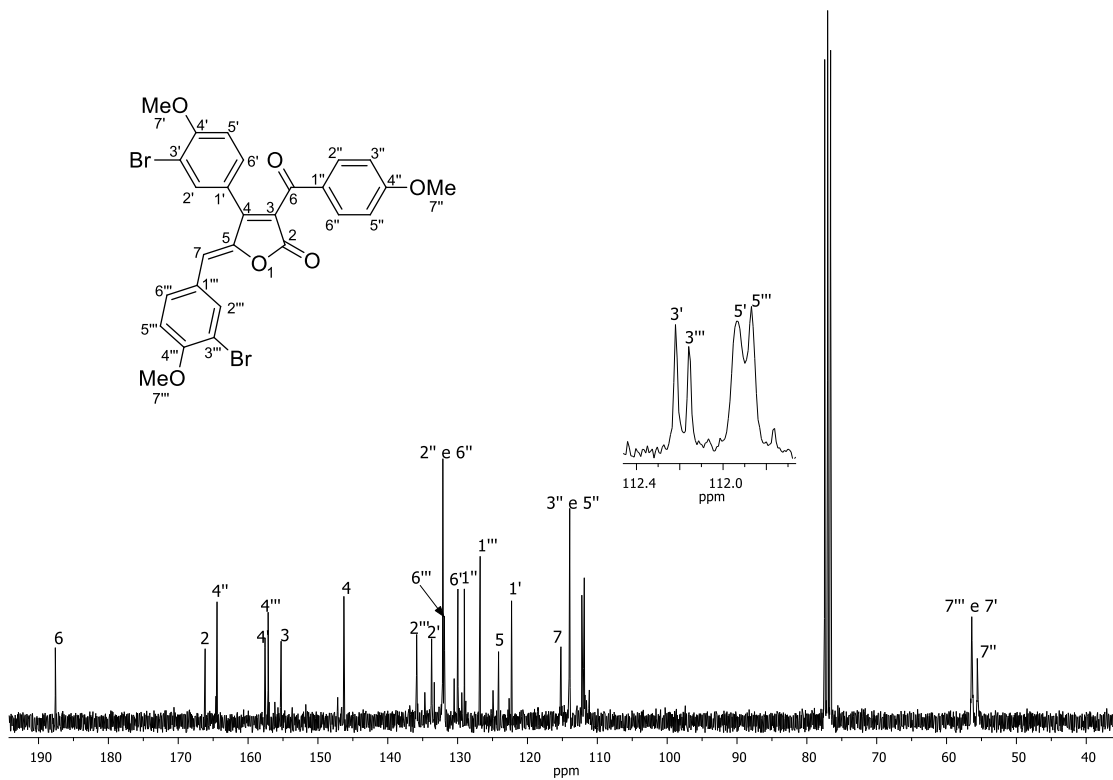


Figura 28 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **81f**.

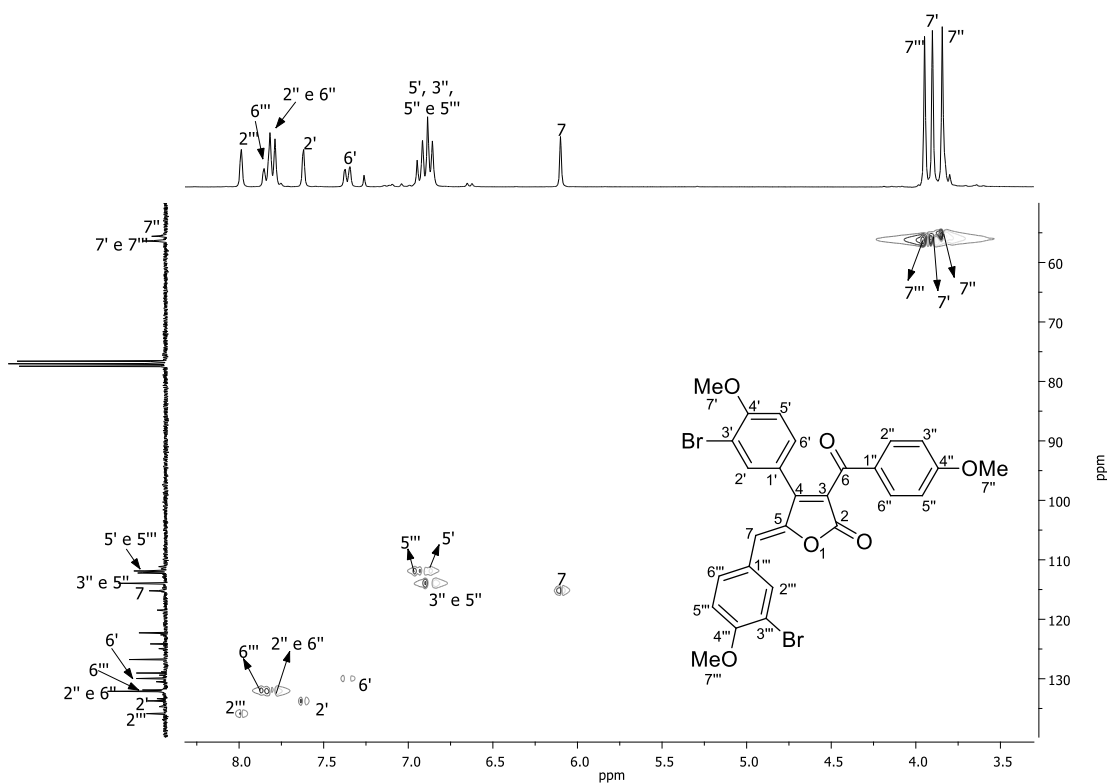


Figura 29 – Mapa de contorno *HSQC* de **81f**.

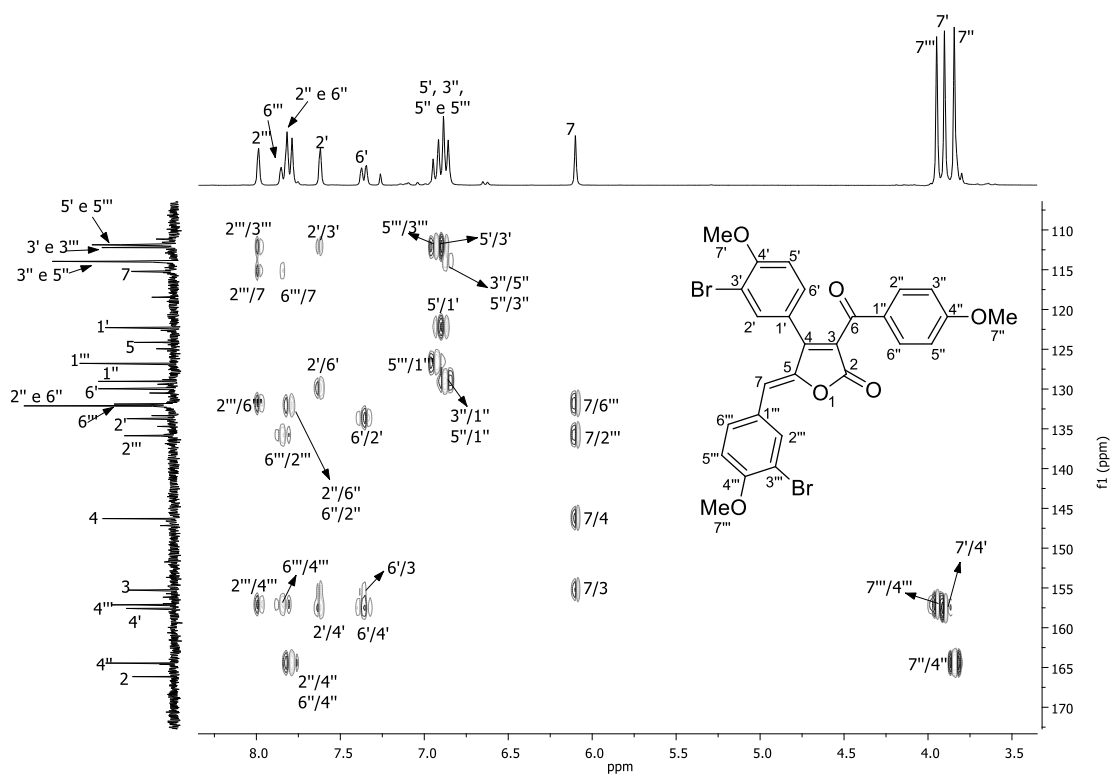
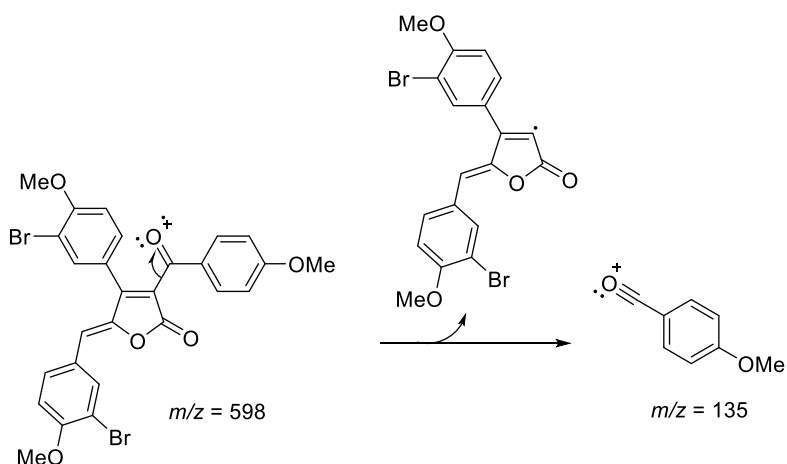


Figura 30 – Mapa de contorno *HMBC* de **81f**.

A massa molecular de **81f** foi confirmada no espectro de massas (Figura 31), que apresenta o pico do íon molecular em $m/z = 598$. O pico em $m/z = 600$ ($[M+2]^+$) e o pico em $m/z = 602$ ($[M+4]^+$) são característicos de compostos que apresentam dois átomos de bromo, devido a abundância isotópica. O pico base em $m/z = 135$ é atribuído ao cátion $[C(O)ArOCH_3]^+$. A proposta mecanística para as fragmentações do íon do pico base está apresentado no Esquema 29.



Esquema 29 – Proposta mecanística de fragmentação para **81f**.

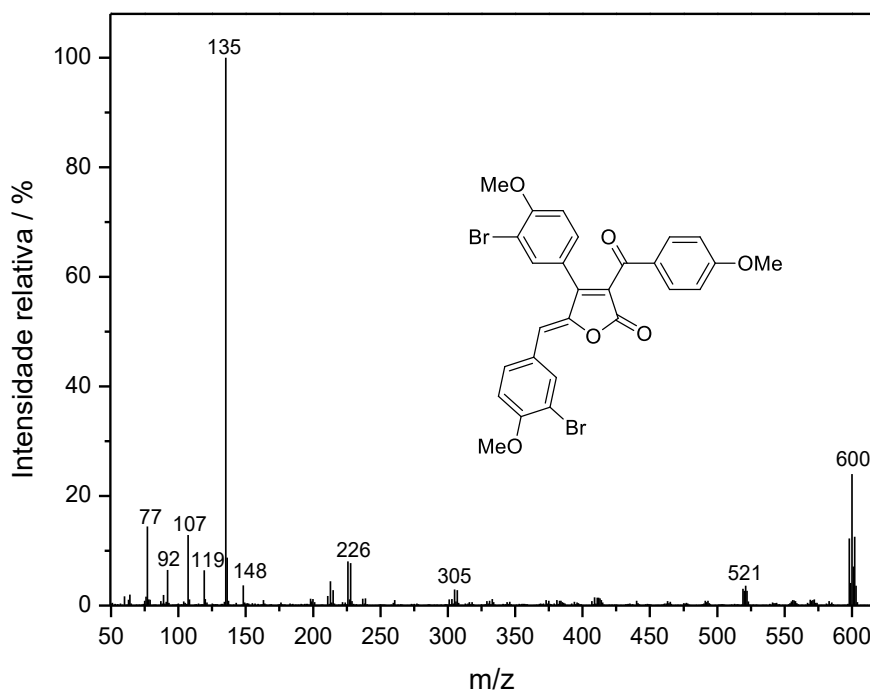


Figura 31 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **81f**.

2.4.2. Bioensaios

2.4.2.1. Efeito dos compostos sobre o crescimento de microrganismos

Os compostos submetidos ao bioensaio para avaliar o efeito sobre o crescimento dos microrganismos foram as furanonas **79a-d**, os análogos aos cadiólídeos metoxilados **81a-k** e os análogos hidroxilados **82a-j**. Todos os compostos avaliados apresentam em sua estrutura um anel butenolídeo e estão representados na Figura 32.

Os compostos foram submetidos a ensaios *in vitro* para avaliação da atividade contra *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium* e *B. cereus*, bactérias oportunistas de relevância clínica por acometer pacientes pós-cirúrgicos e imunocomprometidos (Petty *et al.*, 2014; Hiramatsu *et al.*, 2014). Também foi avaliada a atividade contra *C. albicans*, fungo patogênico frequentemente associado às infecções relatadas em unidades hematológicas e de tratamento intensivo (Scorzoni *et al.*, 2016). Inicialmente foi feita uma avaliação das atividades dos compostos na dose de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, conforme resultados apresentados na Tabela 6.

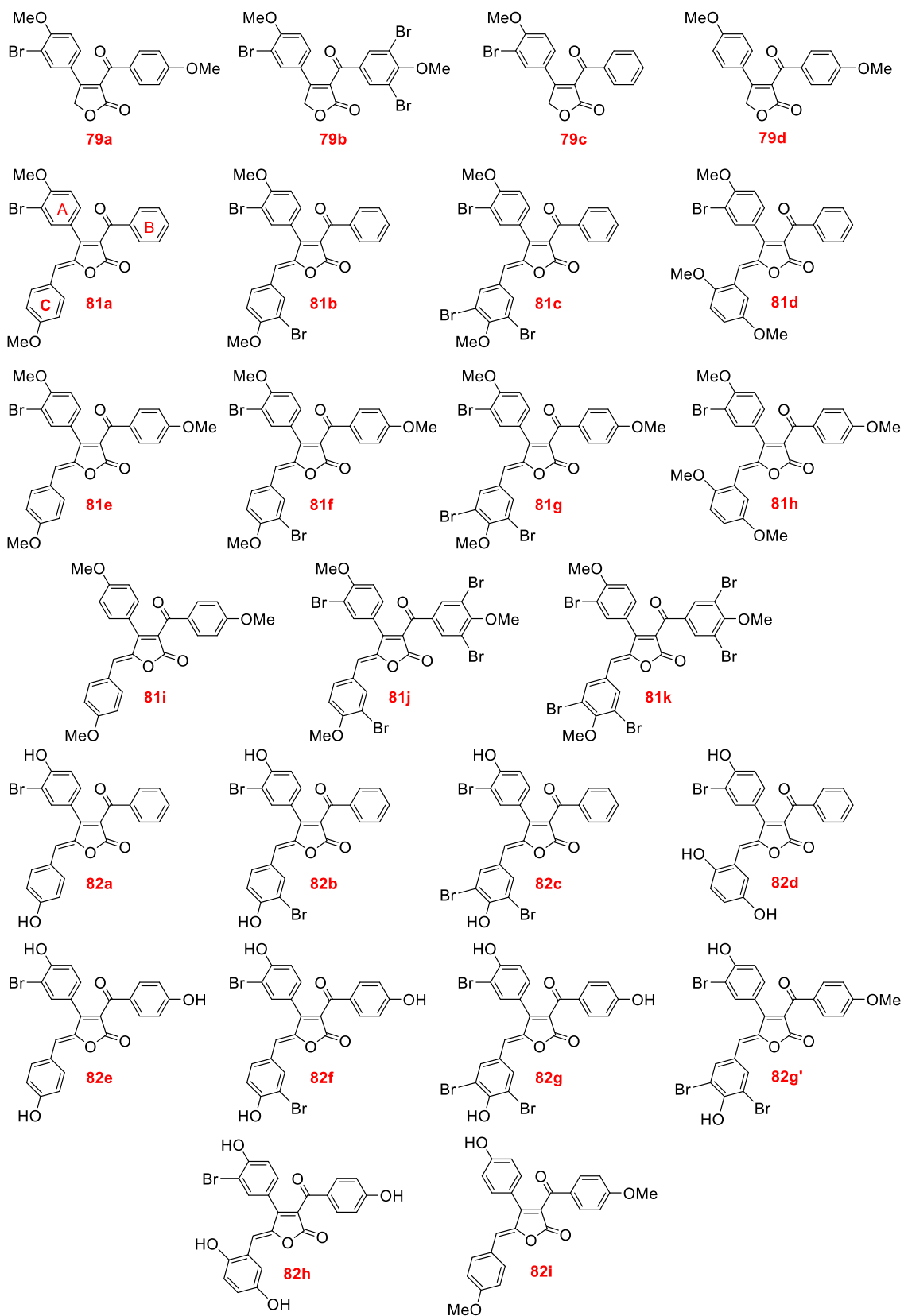


Figura 32 – Estrutura dos compostos submetidos ao bioensaio para avaliar o efeito sobre o crescimento dos microrganismos.

Tabela 6 – Porcentagem de inibição de crescimento de microrganismos causados pelas furanonas **79a-d**, análogos aos cadiólídeos **81a-k** e **82a-i** e controles na concentração de 250 µg mL⁻¹

Compostos	Microrganismos				
	<i>S. aureus</i> (ATCC29212)	<i>E. coli</i> (ATCC25922)	<i>S. typhimurium</i> (ATCC14028)	<i>B. cereus</i> (ATCC11778)	<i>C. albicans</i> (ATCC18804)
79a	73,8 ± 2,4	19,9 ± 1,2	2,1 ± 0,5	30,2 ± 1,3	14,2 ± 0,5
79b	74,7 ± 2,5	4,1 ± 0,6	0,0	48,0 ± 1,4	0,0
79c	80,3 ± 3,3	16,2 ± 3,4	0,0	30,8 ± 1,6	0,0
79d	89,5 ± 2,8	25,6 ± 2,1	0,0	0,0	0,0
81a	79,7 ± 0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
81b	85,3 ± 1,8	19,0 ± 0,3	0,0	0,0	4,7 ± 1,8
81c	83,2 ± 2,3	9,1 ± 1,2	2,2 ± 0,7	72,9 ± 2,2	37,8 ± 1,1
81d	89,0 ± 0,1	30,2 ± 2,9	0,0	30,3 ± 2,4	0,0
81e	67,2 ± 2,8	34,9 ± 2,5	0,0	62,7 ± 1,6	12,5 ± 2,8
81f	76,3 ± 2,7	19,9 ± 1,9	6,7 ± 2,5	44,1 ± 0,4	0,0
81g	79,4 ± 3,0	29,6 ± 1,1	19,7 ± 2,0	42,8 ± 1,9	0,0
81h	99,9 ± 0,1	27,2 ± 2,6	36,6 ± 2,7	57,5 ± 1,6	45,8 ± 2,1
81i	64,1 ± 2,6	4,8 ± 0,9	0,0	48,1 ± 1,3	0,0
81j	84,0 ± 0,1	23,8 ± 2,2	12,9 ± 0,9	0,0	0,0
81k	89,4 ± 1,9	7,3 ± 1,9	0,0	77,2 ± 2,9	16,5 ± 3,0
82a	88,6 ± 2,6	0,0	7,5 ± 6,3	0,0	22,8 ± 1,6
82b	85,7 ± 2,4	0,0	15,3 ± 2,6	0,0	0,0
82c	95,9 ± 2,0	61,4 ± 1,1	30,9 ± 1,5	84,2 ± 1,9	0,0
82d	77,4 ± 2,9	33,1 ± 2,1	0,0	0,0	27,9 ± 3,4
82e	56,9 ± 2,6	0,0	9,6 ± 1,1	68,5 ± 1,0	12,9 ± 0,4
82f	98,9 ± 2,9	0,0	38,0 ± 2,8	40,3 ± 3,2	17,2 ± 2,6
82g	88,4 ± 3,2	77,1 ± 2,0	44,6 ± 2,7	38,1 ± 2,4	0,0
82g'	97,7 ± 2,3	80,8 ± 1,9	17,0 ± 2,8	30,5 ± 2,3	0,0
82h	94,9 ± 1,0	4,5 ± 0,2	8,4 ± 1,6	52,5 ± 0,6	29,7 ± 2,8
82i	83,2 ± 2,3	0,0	7,7 ± 0,9	43,0 ± 2,8	13,3 ± 1,2
ampicilina	97,1 ± 0,1	95,3 ± 1,0	92,3 ± 0,8	92,9 ± 0,1	-
miconazol	- ^a	-	-	-	91,7 ± 1,4

^a -: Porcentagem de inibição não foi determinada.

Os produtos comerciais ampicilina e miconazol foram utilizados como controles positivos, na mesma concentração dos compostos avaliados. Pelos dados obtidos (Tabela 6), verificou-se que ampicilina e miconazol inibem o crescimento de todos os microrganismos acima de 90% e em pelo menos uma espécie de microrganismo todos os compostos avaliados causam mais de 50% de inibição. Embora esses resultados indiquem que o padrão e a natureza dos grupos substituintes nos análogos aos cadiólídeos sejam importantes para as atividades, a atividade das furanonas **79a-d** sugere que a presença do anel butenolídeo também seja necessária para a atividade biocida.

O efeito de substituintes nos anéis aromáticos foi avaliado comparando-se as atividades dos pares de compostos metoxilados e hidroxilados **81a/82a**, **81b/82b**, **81c/82c**, **81d/82d**, **81e/82e**, **81f/82f**, **81g/82g-g'**, **81h/82h** e **81i/82i** (Tabela 6). Não foi possível estabelecer correlação direta de efeito da metoxila/hidroxila sobre a atividade, uma vez que ocorreu aumento e diminuição da atividade quando se considera uma mesma cepa, mas pôde ser observado uma tendência no aumento da atividade para os análogos hidroxilados.

Outro parâmetro avaliado foi o padrão de substituintes dos três anéis aromáticos, anéis A, B e C (composto **81a**, Figura 32). No anel A observamos um aumento da atividade com presença do bromo para todos os microrganismos avaliados, tal efeito é observado quando comparamos **81a-h** e **81j-k/81i** e **82a-h/82i**, sendo que os compostos **81i** e **82i** apresentam apenas metoxila/hidroxila como substituinte no anel A e os compostos **81a-h**, **81j-k** e **82a-h** apresentam metoxila/hidroxila e um bromo como substituintes. Para o anel B, não foi possível estabelecer uma correlação direta do efeito do substituinte sobre a atividade, uma vez que os compostos **81a-d** e **81j-k**, que não apresentam substituintes e que possuem uma metoxila em *para* e bromos em *meta*, respectivamente, foram mais ativos que os compostos **81e-h** que apresentam uma metoxila como substituinte na posição *para* do anel aromático B. Já para o anel C, observamos que com o aumento do padrão de substituição, há uma tendência do aumento da atividade, como pode ser notado para **81a/81b-d**, **81e/81f-h**, **81j/81k**, **82a/82b-d** e **82e/82f-h** para *S. aureus*. Para as lactonas **79a-d**, também não foi possível estabelecer correlação direta entre a atividade biocida e o padrão de substituição dos anéis aromáticos.

Por outro lado, a análise em conjunto de atividade contra os microrganismos mostrou que os compostos avaliados são mais ativos para as bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *B. cereus*) do que para as bactérias Gram-negativas (*E. coli* e *S. typhimurium*) e apresentam baixa atividade para o fungo *C. albicans*. Os compostos mais ativos e promissores antibacterianos foram **81h** e **82f**, que apresentaram inibição superior a apresentada pela ampicilina, controle positivo, para *S. aureus*. As porcentagens de inibição causadas pelos compostos **82c**, **82g'** e **82h**, também podem ser equiparadas àquelas do antibiótico comercial para *S. aureus*. Estes resultados se mostraram bastante relevantes, considerando que atualmente a maioria dos casos relatados de infecções nosocomiais tem sido atribuída a *S. aureus* (Hiramatsu *et al.*, 2014).

Para os compostos que apresentaram inibição superior a 50% foram determinados os valores de IC₅₀ (concentração do composto necessário para inibir o crescimento bacteriano em 50%), e comparados com o controle positivo, ampicilina, conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 – Concentração inibitória IC₅₀ (μg mL⁻¹) das lactonas **79a-d**, análogos aos cadiolídeos **81a-k** e **82a-i** e controle contra o crescimento bacteriano

Compostos	IC ₅₀ (μg mL ⁻¹)		
	<i>S. aureus</i> (ATCC29212)	<i>B. cereus</i> (ATCC11778)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)
79a	28,1	- ^a	-
79b	30,3	-	-
79c	3,4	-	-
79d	23,8	-	-
81a	1,8	-	-
81b	6,0	-	-
81c	24,8	41,6	-
81d	36,1	-	-
81e	51,7	3,6	-
81f	36,7	-	-
81g	51,1	-	-
81h	86,1	31,0	-
81i	39,8	-	-
81j	14,9	-	-
81k	29,7	14,2	-
82a	23,8	-	-
82b	34,1	-	-
82c	29,2	53,8	82,8
82d	6,0	-	-
82e	23,0	61,8	-
82f	81,5	-	-
82g	92,4	-	50,7
82g'	11,5	-	47,0
82h	30,0	12,3	-
82i	14,0	-	-
ampicilina	3,3	1,1	2,3

^a -: IC₅₀ não foi determinado.

Como pode ser verificado na Tabela 7, não foi possível calcular os valores de IC₅₀ para todos os microrganismos, uma vez que em diversos casos não se observou uma boa correlação entre atividade-concentração. Para a bactéria *S. typhimurium* e o fungo *C. albicans*, nenhum dos compostos avaliados apresentaram inibições de crescimento superiores a 50%, impossibilitando, dessa forma, a obtenção da concentração inibitória para estes microrganismos.

No caso de *B. cereus* e *E. coli*, todos os compostos foram menos ativos que o produto comercial. O composto mais ativo para *B. cereus* foi o **81e**, com IC₅₀ = 3,6 µg mL⁻¹, correspondendo a 3,3 vezes o valor encontrado para a ampicilina. Para *E. coli* o composto que apresentou melhor atividade foi o **82g'**, com IC₅₀ = 47,0 µg mL⁻¹, correspondendo a 20,4 vezes o valor encontrado para o antibiótico utilizado como controle positivo.

Para *S. aureus* foi possível calcular os valores de IC₅₀ para todos os compostos avaliados. Para maioria dos compostos a atividade apresentada foi inferior ao produto comercial, com exceção do composto **81a** (IC₅₀ = 1,8 µg mL⁻¹), 1,8 vezes mais ativo que a ampicilina e a furanona **79c** (IC₅₀ = 3,4 µg mL⁻¹) que mostrou atividade próxima à apresentada pela ampicilina (IC₅₀ = 3,3 µg mL⁻¹). Os compostos **81b** e **82d** apresentaram uma boa atividade quando comparado com os demais compostos avaliados, ambos com IC₅₀ = 6,0 µg mL⁻¹, sendo 1,8 vezes o valor encontrado para a ampicilina. No caso dos compostos **81h**, **82c**, **82f**, **82g'** e **82h** que na concentração de 250 µg mL⁻¹ apresentaram atividade semelhante ao antibiótico comercial causando 99,9%, 95,9%, 98,9%, 97,7% e 94,9% de inibição, respectivamente, observou-se valores de IC₅₀ muito elevados.

Em termos de seletividade dos compostos em relação aos diversos microrganismos, verificou-se uma tendência de os compostos serem mais ativos para bactérias Gram-positivas, uma vez que foi possível calcular o valor de IC₅₀ para todos os compostos avaliados para *S. aureus* e alguns para *B. cereus*. Já para as bactérias Gram-negativas, *E. coli* e *S. typhimurium*, e para o fungo *C. albicans*, os compostos apresentaram uma baixa atividade, sendo possível a obtenção dos valores de IC₅₀ somente para os compostos **82c**, **82g'** e **82g** para *E. coli*.

Considerando que a diferença estrutural entre os compostos é bastante limitada, não é possível chegar a uma conclusão sobre a relação estrutura-

atividade. Entretanto, pelos resultados dos ensaios biológicos, para os compostos com boas atividades para *S. aureus* (lactona **79c** e análogos **81a**, **81b** e **82d**) fica evidente que ausência de substituinte no anel B e a presença de bromo no anel A influenciaram na atividade, indicando que as presenças de substituintes alteram e afetam a atividade biológica. Assim, os dados indicam que os efeitos dos compostos sobre os microrganismos podem ser modulados pela alteração dos grupos, e suas posições, nas três unidades aromáticas estruturais.

2.4.2.2. Efeito dos compostos sobre a formação de biofilme

Os compostos submetidos ao bioensaio para avaliar o efeito sobre a formação de biofilme foram a furanona **79c**, os análogos aos cadiolídeos metoxilados **81a-d** e os análogos hidroxilados **82a-d**, conforme representados na Figura 33.

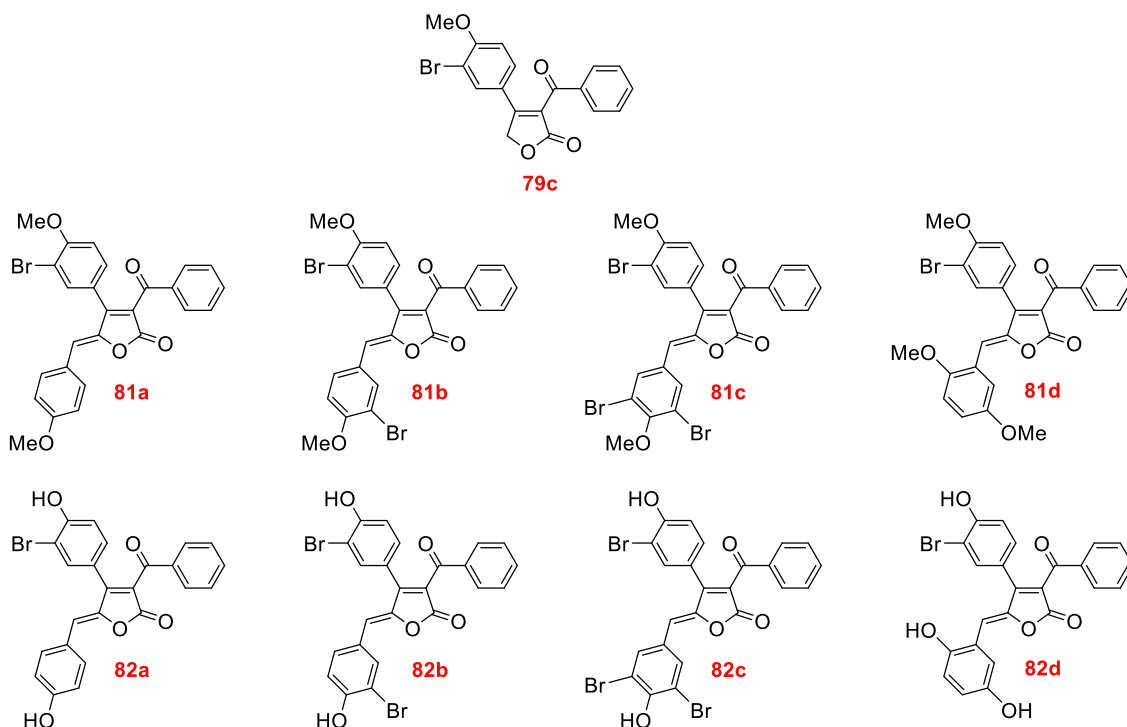
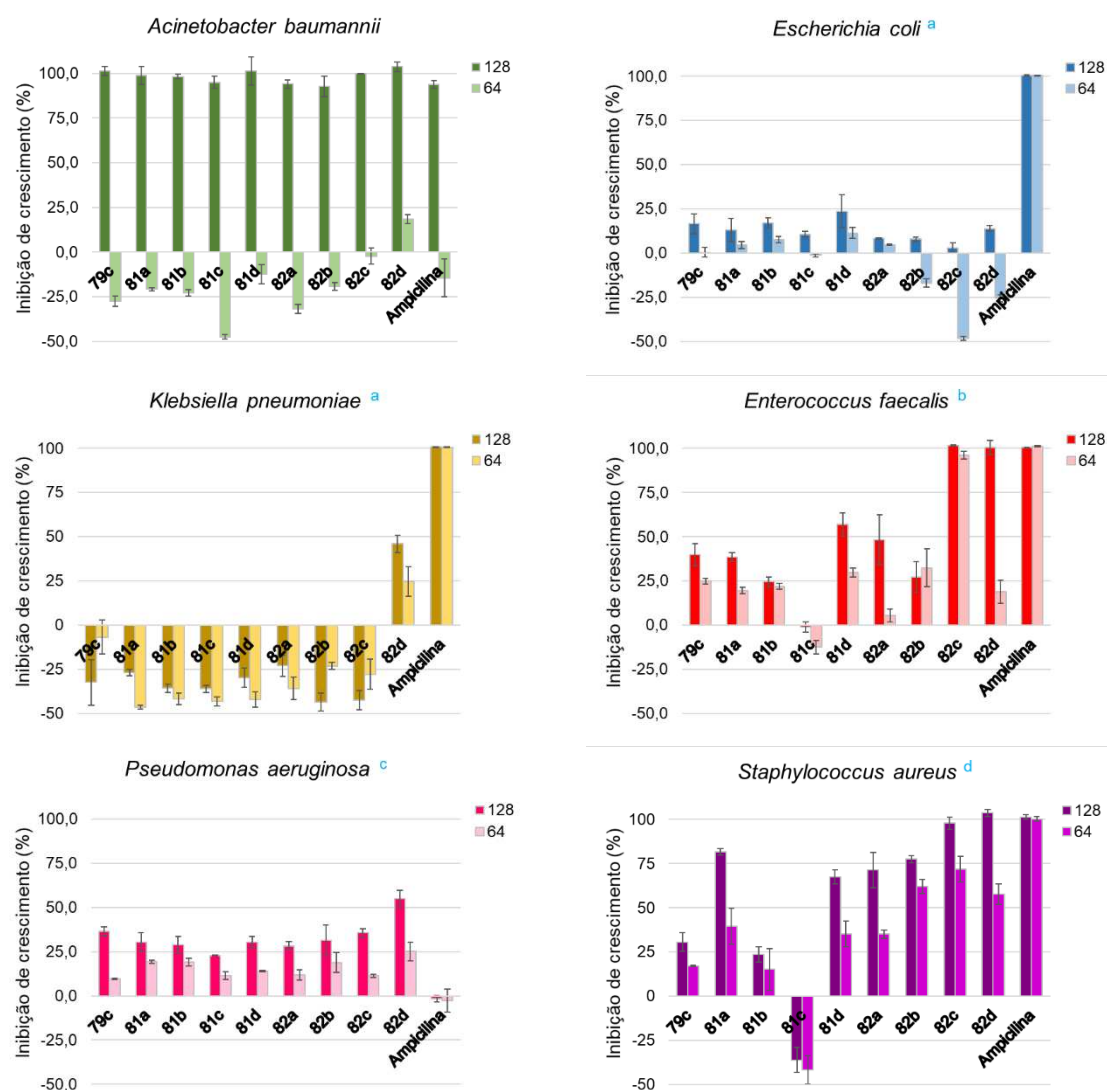


Figura 33 – Estrutura dos compostos submetidos ao bioensaio para avaliar o efeito sobre a formação de biofilme.

Inicialmente, foi avaliado o crescimento das bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* e das Gram-negativas *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, para posteriormente avaliar o efeito dos compostos na inibição do biofilme. Este ensaio preliminar é essencial para determinar se quaisquer possíveis efeitos causados pelos compostos na formação de biofilmes bacterianos sejam específicos da formação de biofilmes ou possam estar relacionados a um possível declínio na população de bactérias devido à atividade biocida.

O crescimento bacteriano foi quantificado por leituras de absorvância a 625 nm, utilizando um dispositivo leitor de placas de microtitulação, na presença de cada composto nas concentrações de 128,0 a 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O efeito dos compostos sobre o crescimento bacteriano nas concentrações de 128,0 e 64,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ é mostrado na Figura 34. O comportamento dos compostos em concentrações mais baixas não foi descrito porque apresentaram inibição semelhante à da concentração de 64,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.



^a Para *E. coli* e *K. pneumoniae* o valor de MIC para a ampicilina foi de 2,0 µg mL⁻¹.

^b Para *E. faecalis* o valor de IC₅₀ para **82c** e **82d** foram de 40,3 ± 6,0 e 98,6 ± 9,6 µg mL⁻¹, respectivamente, e o valor de MIC para a ampicilina foi de 0,5 µg mL⁻¹.

^c Para *P. aeruginosa* o valor de IC₅₀ para **82d** foi de 108,3 ± 6,9 µg mL⁻¹.

^d Para *S. aureus* o valor de IC₅₀ para **82b**, **82c** e **82d** foi de 6,6 ± 0,0, 11,7 ± 3,6 e 25,0 ± 1,4 µg mL⁻¹, respectivamente, e o valor de MIC para a ampicilina foi menor que 0,25 µg mL⁻¹.

Figura 34 – Efeito dos compostos **79c**, **81a-d**, **82a-d** e ampicilina (controle) a 128,0 e 64,0 µg mL⁻¹ no crescimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

O efeito dos compostos sobre o crescimento bacteriano de *A. baumannii* (Anexo 2 – Tabela A1) mostra alta inibição na concentração de 128,0 µg mL⁻¹. Com exceção do composto **82d** que mostra inibição de 18,4% na concentração de 64,0 µg mL⁻¹, os outros compostos não inibem o crescimento planctônico, apresentando valores de inibição negativos para essa concentração. O mesmo efeito foi observado para concentrações abaixo de 64,0 µg mL⁻¹. Essa resposta indica a indução de crescimento bacteriano quando em contato com os

compostos em concentrações iguais e/ou inferiores a 64,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, exibindo crescimento bacteriano superior ao apresentado pelo controle de crescimento realizado no ensaio.

Para os ensaios com *E. coli* (Anexo 2 – Tabela A2), os compostos **79c**, **81a-d** e **82a-d** apresentaram baixas inibições de crescimento bacteriano na concentração de 128,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com valores de 2,9-23,7%. Na concentração de 64,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, as inibições foram ainda menores e para alguns compostos, como **82b**, **82c** e **82d**, houve indução de crescimento. Para os demais compostos, também foi observada uma indução do crescimento em concentrações mais baixas.

No ensaio com a bactéria *K. pneumoniae* (Anexo 2 – Tabela A3), os compostos avaliados mostraram um efeito indutivo sobre o crescimento bacteriano, exceto o composto **82d**, que mostrou inibição do crescimento bacteriano variando de 45,9% a 7,1% em concentrações de 128,0 a 4,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

Os ensaios para bactérias Gram-positivas *E. faecalis* (Anexo 2 – Tabela A4) e *S. aureus* (Anexo 2 – Tabela A6) mostraram resultados semelhantes, onde foi possível observar uma maior inibição do crescimento bacteriano pelos compostos avaliados. Para alguns compostos, foi possível calcular os valores de IC_{50} . Para *E. faecalis*, os valores de IC_{50} para os compostos **82c** e **82d** foram $40,3 \pm 6,0$ e $98,6 \pm 9,6$ $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, e para *S. aureus*, os valores de IC_{50} para os compostos **82b**, **82c** e **82d** foram $6,6 \pm 0,0$, $11,7 \pm 3,6$ e $25,0 \pm 1,4$ $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

Os ensaios realizados com *P. aeruginosa* (Anexo 2 – Tabela A5) mostraram que os compostos avaliados apresentaram baixa inibição no crescimento bacteriano com valores entre 22,8-55,0% na concentração de 128,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e com a diminuição das concentrações avaliadas, as inibições também diminuíram. Para o composto **82d**, obteve-se uma IC_{50} de $108,3 \pm 6,9$ $\mu\text{g mL}^{-1}$.

De modo geral, os compostos **79c**, **81a-d** e **82a-d** em concentrações iguais ou inferiores a 64,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ revelaram baixas inibições sobre o crescimento bacteriano para bactérias Gram-negativas, *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*, avaliadas neste trabalho. Este resultado mostra um potencial na atividade seletiva para esses compostos, uma vez que não inibe

o crescimento das bactérias Gram-negativas, e dessa forma, podem apresentar uma pressão seletiva mínima para a resistência, o que é considerado um fator importante (Pan e Ren, 2009).

Como controle positivo, utilizou-se um antibiótico comercial, sendo a solução de trabalho (solução dos compostos **79c**, **81a-d** e **82a-d**) substituída pela ampicilina, nas mesmas concentrações de 128,0 a 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados mostraram que a ampicilina não teve efeito inibitório sobre *P. aeruginosa* e para *A. baumannii* teve inibição de 93,8% na concentração de 128,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para as outras bactérias, foi possível obter a concentração mínima inibitória de 100% da bactérias (*Minimum Inhibitory Concentration* - MIC). O MIC para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis* e *S. aureus* foi de 2,0, 2,0, 0,5 e inferior a 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

O dimetilsulfóxido (DMSO) foi utilizado para solubilizar os compostos **79c**, **81a-d** e **82a-d** no preparo das soluções de trabalho. Como controle da toxicidade deste solvente, utilizou-se o meio de cultura e o DMSO diluído no caldo Mueller-Hinton. A concentração de DMSO avaliada foi igual à concentração deste solvente em cada uma das diluições (128,0 a 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Os resultados (Anexo 2 – Tabela A1-A6) mostram que o DMSO não foi tóxico para as bactérias avaliadas, pois apresentou valores de porcentagem de inibição inferiores a 4% para todas as bactérias.

Em vista dos resultados obtidos para a inibição do crescimento planctônico, para este trabalho, a concentração máxima escolhida para a avaliação do efeito dos compostos na formação de biofilmes foi a que induziu menos de 20% de inibição no crescimento planctônico. Este limite arbitrário foi escolhido com base em nossas experiências anteriores, considerando que não há recomendação padrão para este tipo de estudo.

2.4.2.2.1. Inibição da formação de biofilmes

A inibição induzida pelos compostos **79c**, **5a-d** e **6a-d** sobre a formação de biofilmes de *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* foi avaliada utilizando o ensaio de coloração violeta de cristal (Pereira *et al.*, 2014). Para *E. coli* (Anexo 2 – Tabela A8), *K. pneumoniae* (Anexo 2 –

Tabela A9), *E. faecalis* (Anexo 2 – Tabela A10) e *S. aureus* (Anexo 2 – Tabela A12) houve uma boa correlação entre a inibição do biofilme e as concentrações testadas, portanto, os valores de IC₅₀ para a maioria dos compostos foram calculados como mostrado na Tabela 8. Por outro lado, para *A. baumannii* (Anexo 2 – Tabela A7) e *P. aeruginosa* (Anexo 2 – Tabela A11), a inibição da formação de biofilme foi inferior a 50% para todos os compostos avaliados, o que não permitiu a obtenção de IC₅₀.

Tabela 8 – Efeito antagonista dos compostos **79c**, **81a-d** e **82a-d** contra a formação de biofilme bacteriano^a

Compostos	IC ₅₀ ^b (µg mL ⁻¹)			
	<i>E. coli</i> (ATCC25922)	<i>K. pneumoniae</i> (ATCC13882)	<i>E. faecalis</i> (ATCC19433)	<i>S. aureus</i> (ATCC33591)
79c	>128,0	>128,0	1,1 ± 0,6	0,7 ± 0,3
81a	70,0 ± 18,6	25,7 ± 4,1	3,9 ± 0,4	0,4 ± 0,1
81b	>128,0	>128,0	5,0 ± 6,0	**
81c	52,9 ± 46,3	>128,0	5,4 ± 3,2	0,5 ± 0,3
81d	64,3 ± 50,6	27,0 ± 4,7	4,2 ± 2,4	0,8 ± 0,2
82a	28,7 ± 32,0	>128,0	2,9 ± 0,9	0,8 ± 0,1
82b	>128,0	>128,0	1,2 ± 1,0	**
82c	*	7,5 ± 2,6	3,6 ± 2,1	0,7 ± 0,4
82d	*	>128,0	0,5 ± 0,4	0,3 ± 0,1

^a A inibição de formação de biofilme não foi observada para *A. baumannii* e *P. aeruginosa*.

^b IC₅₀: concentração dos compostos necessária para inibição de 50% da formação de biofilme bacteriano.

* Foi observado indução de biofilme. Em 128,0 µg mL⁻¹ para *E. coli* **82c** e **82d** induziram 24,9 ± 12,2% e 31,5 ± 0,4%, respectivamente.

** Não foi possível a obtenção do valor de IC₅₀. Em 0,25 µg mL⁻¹ para *S. aureus* **81b** e **82b** inibiram 59,7 ± 8,5% e 67,0 ± 0,0%, respectivamente.

Como a atividade desses compostos ainda não foi estudada quanto ao efeito sobre bactérias, não se sabe se, além de afetar a formação de biofilmes, eles também interferem em outras vias metabólicas bacterianas não acessadas pelos ensaios realizados. Embora os efeitos dos compostos sobre a viabilidade bacteriana tenham sido controlados, o que é importante para a caracterização da especificidade de suas atividades anti-biofilme, não pode ser excluído que outras vias metabólicas possam também ser afetadas em diferentes concentrações do que aqueles em que exibem qualquer atividade anti-biofilme.

Então, acredita-se que a falta de uma correlação dose-resposta direta para a inibição do biofilme exibida por algumas das bactérias testadas aqui poderia ser devida a atividades sinérgicas/antagonistas dos compostos em caminhos metabólicos que poderiam, indiretamente, afetar a formação de biofilmes, ou mesmo a um efeito positivo desses compostos na formação de biofilmes em concentrações sub-inibitórias (Kuehl *et al.*, 2009).

Os ensaios de inibição da formação de biofilmes (Tabela 8) mostraram que os compostos **79c**, **81a-d** e **82a-d** foram menos ativos para bactérias Gram-negativas (*A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*) em comparação com os resultados obtidos para *E. faecalis* e *S. aureus* (bactéria Gram-positiva). A diferença básica entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas está em sua parede celular. As Gram-positivas possuem uma única camada espessa de peptidoglicanos, enquanto as Gram-negativas possuem uma parede celular mais fina e uma segunda membrana lipídica (Usacheva *et al.*, 2001). As bactérias Gram-positivas e Gram-negativas também utilizam o processo de comunicação que permite que modifiquem o seu comportamento coletivamente em resposta a mudanças na densidade celular e na composição da espécie da comunidade microbiana circundante. Este processo é conhecido como *Quorum sensing* (QS). Os sistemas QS das Gram-positivas usam oligopeptídios secretados e sistemas de dois componentes, um que consiste em receptores de quinase de sensor vinculados à membrana e outro que consiste em fatores de transcrição citoplasmáticos que alteram diretamente a expressão gênica (Bassler e Losick, 2006; Park *et al.*, 2017; Paczkowski *et al.*, 2017). Diferentemente, os sistemas QS das Gram-negativas, usam autoindutores, como lactonas acil-homoserina ou outras moléculas sintetizadas da S-adenosilmetionina. Eles são difusos livremente através da membrana bacteriana e ligados por receptores específicos que residem na membrana interna ou no citoplasma e altera dezenas de centenas de genes que sustentam vários processos biológicos (Papenfort e Bassler, 2016).

Os resultados indicam que os compostos avaliados afetam bactérias Gram-positivas em maior significância, indicando que a inibição do biofilme pode estar diretamente ligada à interação dos compostos com a parede celular da bactéria e/ou com o sistema QS usado. Para *E. faecalis*, **82d** foi o composto mais ativo ($IC_{50} = 0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$), seguido por **79c** ($IC_{50} = 1,1 \mu\text{g mL}^{-1}$) e **82b** ($IC_{50} = 1,2$

$\mu\text{g mL}^{-1}$). Os análogos hidroxilados **82a-d** apresentaram melhores resultados inibitórios para *E. faecalis* quando comparados aos análogos metoxilados **81a-d**, indicando que a atividade é maior na presença de grupos OH. Para *S. aureus*, **82d** foi também o composto mais ativo ($\text{IC}_{50} = 0,3 \mu\text{g mL}^{-1}$) e todos os compostos avaliados tiveram seus valores de IC_{50} abaixo de $0,8 \mu\text{g mL}^{-1}$, indicando alta inibição do biofilme de *S. aureus*. Para os compostos **81b** e **82b**, o valor IC_{50} não pôde ser obtido, pois na menor concentração avaliada, $0,25 \mu\text{g mL}^{-1}$, os compostos inibiram mais de 50%, $59,7 \pm 8,5\%$ e $67,0 \pm 0,0\%$, respectivamente.

Os resultados apresentados na Tabela 8 também indicam que os compostos **82c** e **82d** induziram a formação de biofilme de *E. coli* a $128,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ (**82c** e **82d** induziram $24,9 \pm 12,2\%$ e $31,5 \pm 0,4\%$, respectivamente). Estes resultados sugerem que as alterações nos grupos ligados aos anéis aromáticos dos compostos **81a-d** e **82a-d** promovem uma resposta diversificada na modulação do biofilme das bactérias (Kuehl *et al.*, 2009).

Para identificar quaisquer correlações entre atividade e propriedades físico-químicas, cálculos de milogP , da área total de superfície polar (*total polar surface area* - TPSA), de número de átomos (n_{atom}), de massa molecular (MM), de número de doadores e aceitadores de ligação de hidrogênio ($n_{\text{OH-NH}}$), do número de ligações rotativas (n_{rotb}) foram obtidas, e estão representados na Tabela 9 (Molinspiration, 2017). Os dados mostraram que para a furanona **79a** e para os análogos aos cadiolídeos **81a-d** e **82a-d**, o milogP foi de 2,38 e na faixa de 5,18-7,55, respectivamente, indicando que os compostos **81a-d** e **82a-d** são mais lipofílicos do que a furanona precursora **79c**. Os compostos hidroxilados **82a-d** são mais polares e com um maior TPSA em relação aos metoxilados **81a-d**.

Considerando todos os compostos, a regra dos cinco de Lipinski foi violada pelo menos uma vez pelos análogos aos cadiolídeos (Lipinski *et al.*, 1997). Esses dados sugerem que os compostos podem ter baixa biodisponibilidade oral (Veber *et al.*, 2002), e devem ser feitos outros testes para avaliar melhor essa hipótese. A área de superfície polar de todos os compostos sintetizados e testados foi inferior a 108 e apresentaram 3 grupos doador de ligação de hidrogênio ou menos. Essas características demonstraram que esses compostos podem ser drogas com potencial capacidade de penetrar a barreira

hematoencefálica, levando a efeitos colaterais prejudiciais (Kelder *et al.*, 1999). No geral, nenhuma tendência pode ser vista a partir de tais dados e, portanto, nenhuma conclusão definitiva pode ser feita.

Tabela 9 – Previsões de propriedades físico-químicas dos compostos **79c**, **81a-d** e **82a-d**

Composto	miLogP	TPSA	n _{atom}	MM	n _{ON}	n _{OH-NH}	n _{rotb}	n _{violações}	volume
79c	2,38	52,61	23	373,20	4	0	4	0	279,21
81a	6,08	65,75	32	491,34	5	0	6	1	386,78
81b	6,82	65,75	33	570,23	5	0	6	2	404,67
81c	7,55	65,75	34	649,13	5	0	6	2	422,55
81d	6,07	74,98	34	521,36	6	0	7	2	412,33
82a	5,27	87,74	30	463,28	5	2	4	1	351,73
82b	6,26	87,74	31	542,18	5	2	4	2	369,61
82c	7,00	87,74	32	621,08	5	2	4	2	387,50
82d	5,18	107,97	31	479,28	6	3	4	1	359,74

Até o momento, nenhum dos compostos sintetizados foram testados como antagonistas da formação de biofilmes regulada por QS em *E. faecalis* e *S. aureus*. No caso das bactérias Gram-positivas, há estudos relacionados com a inibição de Sortase A (SrtA), que é uma enzima associada à membrana responsável pela ancoragem covalente de muitos fatores virulentos na parede celular dessas bactérias. Em função disso, existem trabalhos com o objetivo de desenvolver fármacos que inibam a SrtA, com ação anti-virulência contra as bactérias Gram-positivas resistentes aos fármacos, desempenhando um papel fundamental nos processos patogênicos da infecção bacteriana, que se tornaram um importante problema de saúde mundial (Guo *et al.*, 2015).

Alguns produtos naturais estão entre os inibidores de SrtA já identificados, entre os quais podemos destacar o cadiolídeo E, que apresentou atividade inibitória de SrtA moderada, IC₅₀ = 78,3 µM (Won *et al.*, 2012). Embora os ensaios realizados neste trabalho não sejam contra à inibição de SrtA, as inibições obtidas para bactérias Gram-positivas podem estar associadas. Para os compostos mais ativos contra o biofilme de *E. faecalis*, **79c**, **82b** e **82d**, o IC₅₀ foi igual a 3,1, 2,2 e 1,1 µM, respectivamente, e para *S. aureus* os valores de

IC₅₀ para os compostos **81a**, **81c** e **81d** foram 0,8, 0,8 e 0,5 μ M, respectivamente, sendo inibições significativamente inferiores às relatadas para a cadiolídeo E na inibição contra StrA. Considerando a possibilidade de aumentar facilmente a diversidade molecular nesses análogos de cadiolídeos, acreditamos que tais compostos podem ser usados como um novo andaime para a descoberta de um antagonista ainda mais ativo da inibição de StrA.

2.5. CONCLUSÕES

No presente trabalho, foram avaliadas alternativas sintéticas para obtenção de análogos aos cadiolídeos, sendo sintetizados 21 compostos análogos. A estratégia utilizada teve como etapa-chave a reação de Diels-Alder/retro Diels-Alder entre um cetoalquino e 5-etoxi-4-metiloxazol.

Para obtenção de tais compostos, foi necessária, inicialmente, a síntese do alquino terminal, que foi possível após utilização do reagente de Bestmann-Ohira. A utilização da reação de Corey-Fuchs para tal propósito só levou a formação do alquino terminal quando se utilizou LDA como base ao invés de *n*-BuLi. Entretanto, a primeira etapa de tal reação, que gera um dibromovinil, foi obtida com sucesso em todas as reações efetuadas (rendimentos de 94 a 100%).

O alquino **60** foi submetido à reação de acoplamento cruzado de Sonogashira com diferentes cloretos de ácido, levando a formação de inonas com rendimentos que variaram entre 78% e 97%. O cetoalquino **69e** também pôde ser obtido pela reação de condensação com um aldeído, seguido de reação de oxidação. Esta última estratégia pode ser vantajosa quando não se têm disponíveis o alquino terminal ou o cloreto de ácido.

A reação de DA/retro DA foi regioseletiva, levando à formação do produto desejado, com rendimentos que variaram de 51% e 81%. A reação de alquilidenação gerou 11 análogos metoxilados aos cadiolídeos com rendimentos moderados (45 a 89%) e alta estereosseletividade (apenas o isômero *Z* foi obtido). Finalmente, outros 10 análogos foram obtidos pela reação de desmetilação dos análogos metoxilados em rendimentos que variaram entre 25% e 86%.

As furanonas **79a-d** e os análogos aos cadiolídeos **81a-k** e **82a-i** foram submetidos à bioensaios para avaliar seus efeitos sobre o crescimento planctônico de *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *B. cereus* e *C. albicans*. Os resultados demonstraram que os compostos avaliados são mais ativos para as bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *B. cereus*) do que para as bactérias Gram-negativas (*E. coli* e *S. typhimurium*) e apresentam baixa atividade para o fungo *C. albicans*. Os compostos mais ativos e promissores antibacterianos foram a furanona **79c** e os análogos **81a**, **81b** e **82d**, que apresentaram melhores inibições para *S. aureus*. Os resultados indicaram também que os efeitos dos

compostos sobre os microrganismos podem ser modulados pela alteração dos grupos substituintes e suas posições, nas três unidades aromáticas estruturais dos cadiólídeos.

Os compostos testados contra a formação de biofilme bacteriano, foram a furanona **79c**, os análogos aos cadiólídeos metoxilados **81a-d** e os análogos hidroxilados **82a-d**. Esses compostos mostraram-se capazes de modular a formação de biofilmes em uma variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, com pouca ou nenhuma inibição do crescimento planctônico para a maioria dos compostos testados. Os resultados mostraram que esses compostos são mais ativos contra bactérias Gram-positivas, *E. faecalis* e *S. aureus*, sendo **82d** o composto mais ativo, apresentando IC₅₀ de 0,5 e 0,3 µg mL⁻¹, respectivamente.

Considerando as inibições elevadas de biofilmes apresentadas pelos compostos preparados, estudos adicionais para a identificação dos elementos estruturais importantes para a toxicidade dessas substâncias contra *E. faecalis* e *S. aureus* podem resultar no desenvolvimento de novos agentes anti-infecciosos para atenuar a virulência expressa por esses agentes patogênicos oportunistas importantes.

2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, C-H., WON, T-H., KIM, H., SHIN, J., OH, K-B. Inhibition of *Candida albicans* isocitratelase activity by cadiolides and synoilides from the ascidian *Synoicum* sp. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, p. 4099-4101, 2013.

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

BASSLER, B.L., LOSICK, R. Bacterially speaking. **Cell**, v. 125 p. 237-246, 2006.

BAUER, A., BRÖNSTRUP, M. Industrial natural product chemistry for drugdiscovery and development. **Natural Product Reports**, v. 31, p. 35-60, 2014.

BELLINA, F., ANSELMINI, C., ROSSI, R. Total synthesis of rubrolide M and some of its unnatural congeners. **Tetrahedron Letters**, v. 43, p. 2023-2027, 2002.

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

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 189 p.

BOUKOUVALAS, J., MALTAIS, F., LANCHANCE, N. Furanolate-based strategy for sequential 2,3,4-trisubstitution of butenolide: total synthesis of nostoclides I and II. **Tetrahedron Letters**, v. 35, p. 7897-7900, 1994.

BOUKOUVALAS, J., POULIOT, M. Short and efficient synthesis of cadiolide B. **Synlett**, n. 2, p. 343-345, 2005.

BOUKOUVALAS, J., BELTRAN, P.P., LACHANCE, N., COTE, S., MALTAIS, F., POULIOT, M. A new highly stereoselective synthesis of β -unsustituted (Z)- γ -alkylideneutenolides using bromine as a removable stereocontrol element. **Synlett**, v. 2, p. 219-222, 2007.

BOUKOUVALAS, J., LOACH, R. P. Concise Total Synthesis of (-)-Auxofuran by a Click Diels-Alder Strategy. **Organic Letters**, v. 15, p. 4912-4914, 2013.

BOUKOUVALAS, J., THIBAUT, C., LOACH, R. P. Expedient assembly of bioactive maleic anhydrides using click Diels-Alder Chemistry. **Synlett**, v. 25, p. 2139-2142, 2014.

BOUKOUVALAS, J., THIBAUT, C. Step-economical synthesis of the marine ascidian antibiotics cadiolide A, B, and D. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 80, p. 681-684, 2015.

BOULANGÉ, A., PARRAGA, J., GALÁN, A., CABEDO, N., LELEU, S., SANZ, M. S., CORTES, D., FRANCK, X. Synthesis and antibacterial activities of cadiolides A, B and C and analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 3618-3628, 2015.

BRUN, P., DEAN, A., DI MARCO, V., SURAJIT, P., CASTAGLIUOLO, I., CARTA, D., FERLIN, M. G. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ mediates the anti-inflammatory effect of 3-hydroxy-4-pyridinecarboxylic acid derivatives: synthesis and biological evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, p. 486-497, 2013.

CACCHI, S., FABRIZI, G., GOGGIAMANI, A., STERRAZZA, A. Palladium-catalyzed reaction of arenediazonium tetrafluoroborates with methyl 4-hydroxy-2-butenolate: an approach to 4-aryl butenolides and an expeditious synthesis of rubrolide E. **Synlett**, v.8, p.1277-1280, 2009.

CHAN-HUOT, M., NIETHER, C., SHARIF, S., TOLSTOY, P. M., TONEY, M. D., LIMBACH, H-H. NMR studies of the protonation states of pyridoxal-5'-phosphate in water. **Journal of Molecular Structure**, v. 976, p. 282-289, 2010.

CLAYDEN, J., GREEVS, N., WARREN, S., WOTHERS, P. Organic chemistry, 1st ed, New York: Oxford University Press. 2001. 1512 p.

COREY, E. J., FUCHS, P. L. A synthetic method for formyl \rightarrow ethynyl conversion ($RCHO \rightarrow RC\equiv CH$ or $RC\equiv CR'$). **Tetrahedron Letters**, n. 36, p. 3769-3772, 1972.

CRAGG, G. M., NEWMAM, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1830, p. 3670-3695, 2013.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 9ed. M7-A9. v. 32, n. 2, 2012.

DEAN, A., FERLIN, M. G., BRUN, P., CASTAGLIUOLO, I., BADOCCO, D., PASTORE, P., VENZO, A., BOMBI, G. G., DI MARCO, V. B. Evaluation of 2-methyl-3-hydroxy-4-pyridinecarboxylic acid as a possible chelating agent for iron and aluminium. **Dalton Transactions**, p. 1689-1697, 2008.

DUMOND, Y. R., GUM, A. G. Silane reduction of 5-hydroxy-6-methyl-pyridine-3,4-dicarboxylic acid diethyl ester: synthesis of vitamin B6. **Molecules**, v. 8, p. 873-881, 2003.

EFREMOV, I., PAQUETTE, L. A. First synthesis of a rearranged *neo*-clerodane diterpenoid. Development of totally regioselective trisubstituted furan ring assembly and medium-ring alkylation tactics for efficient access to (-)-teubrevin G. **The Journal of the American Chemical Society**, v. 122, p. 9324-9325, 2000.

GAO, H., GUO, W., WANG, Q., ZHANG, L., ZHU, M., ZHU, T., GU, Q., WANG, W., LI, D. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, p. 1776-1778, 2013.

GILES, R. G. F., TAYLOR, C. P. Synthesis of a protected 2-ethoxy-3-hydroxyethylfuran and its regioselectivity as a Diels-Alder diene on reaction with 3,5-dimethoxydehydrobenzene. **Arkivoc**, v. iii, p. 149-165, 2002.

GUO, Y., CAI, S., GU, G., GUO, Z., LONG, Z. Recent progress in the development of sortase A inhibitors as novel anti-bacterial virulence agents. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 5, p. 49880-49889, 2015.

HEDE, K. An infectious arms race. **Nature**, v. 509, p. S2-S3, 2014.

HIRAMATSU, K., KATAYAMA, Y., MATSUO, M., SASAKI, T., MORIMOTO, Y., SEKIGUCHI, A., BABA, T. Multi-drug-resistant Staphylococcus aureus and future chemotherapy. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 20, p. 593-601, 2014.

JOHNSEN, B. A., UNDHEIM, K. Oxazoles in Diels-Alder reaction. Transformation of the adducts to either pyridines or pyrroles. **Acta Chemica Scandinavica B**, v. 37, p. 127-132, 1983.

JOUANNO, L-A., CHEVALIER, A., SEKKAT, N., PERZO, N., CASTEL, H., ROMIEU, A., LANGE, N., SABOT, C., RENARD, P-Y. Kondrat'eva ligation: Diels-Alder-based irreversible reaction for bioconjugation. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 79, p. 10353-10366, 2014.

KARAK, M., BARBOSA, L. C. A., HARGADEN, G. C. Recent mechanistic developments and next generation catalyst for the Sonogashira coupling reaction. **RSC Advances**, v. 4, p. 53442-53466, 2014.

KELDER, J., GROOTENHUIS, P.D.J., BAYADA, D.M., DELBRESSINE, L.P.C., PLOEMEN, J.-P. Polar molecular surface as a dominating determinant for oral

absorption and brain penetration of drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 16, p. 1514-1519, 1999.

KUEHL, R., AL-BATAINEH, S., GORDON, O., LUGINBUEHL, R., OTTO, M., TEXTOR, M., LANDMANN, R. Furanone at Subinhibitory Concentrations Enhances Staphylococcal Biofilm Formation by luxS Repression. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, p. 4159-4166, 2009.

LIN, C.-F., LU, W.-D., WANG, I.-W., WU, M.-J. Synthesis of 2-(Diarylmethylene)-3-benzofuranones Promoted via Palladium-catalyzed Reactions of Aryl iodides with 3-Aryl-1-(2- tert-butyl dimethylsilyloxy)phenyl-2-propyn-1-ones. **Synlett**, v. 13, p. 2057-2061, 2003

LIPINSKI, C.A., LOMBARDO, F., DOMINY, B.W., FEENEY, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, p. 3-25, 1997.

LIOTTA, D., SAINDANE, M., OTT, W. A simple, efficient synthesis of 3-substituted furans, **Tetrahedron Letters**, v. 24, p. 2473-2476, 1983.

MANZANARO, S., SALVÁ, J., DE LA FLUENTE, J. A., Phenolic marine natural products as aldose reductase inhibitors. **Journal of Natural Product**, v. 69, p.1485-1487, 2006.

MAY, M. Time for teamwork. **Nature**, v. 509, p. S4-S5, 2014.

MIAO, S., ANDERSEN, R. J. Rubrolides A-H, metabolites of the colonial tunicate *Ritterella rubra*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 56, p. 6275-6280, 1991.

MOLINSPIRATION, Cálculo de Propriedades Moleculares e Pontuação de Bioatividade. Acessado em: 17 julho, 2017. Disponível: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.

ORTEGA, M. J., ZUBÍA, E.; OCAÑA, J. M., NARANJO, S., SALVÁ, J. New rubrolides from the ascidian *Synoicum blochmanni*. **Tetrahedron**, v. 56, p. 3963-3967, 2000.

PACZKOWSKI, J.E., MUKHERJEE, S., MCCREADY, A.R., CONG, J-P., AQUINO, C.J., KIM, H., HENKE, B.R., SMITH, C.D., BASSLER, B.L. Flavonoids Suppress *Pseudomonas aeruginosa* Virulence through Allosteric Inhibition of Quorum-sensing Receptors. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 292, p. 4064-4076, 2017.

PAN, J., REN, D. Quorum sensing inhibitors: a patent overview. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v.19, p. 1581-1601, 2009.

PAPENFORT, K., BASSLER, B. Quorum-Sensing Signal-Response Systems in Gram-Negative Bacteria, **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, p. 576-588, 2016.

PARK, J.S., RYU, E-J., LI, L., CHOI, B-K., KIM, B.M. New bicyclic brominated furanones as potent autoinducer-2 quorum-sensing inhibitors against bacterial biofilm formation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 137, p. 76-87, 2017.

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

PEIXOTO, P. A., BOULANGÉ, A., LELEU, S., FRANCK, X. Versatile synthesis of acylfuranones by reaction of acylketenes with α -hydroxy ketones: application to the one-step multicomponent synthesis of cadiolide B and its analogues. **European Journal Organic Chemistry**, p. 3316-3327, 2013.

PEREIRA, U. A., BARBOSA, L. C. A., MALTHA, C. R. A., DEMUNER, A. J., MASOOD, M. A., PIMENTA, A. L. Inhibition of *Enterococcus faecalis* biofilm

formation by highly active lactones and lactams analogues of rubrolides. **European of Medicinal Chemistry**, v. 82, p. 127–138, 2014.

PERRIN, D. D., ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**. 3rd ed., Londres: Butterworth-Heinemann Ltd., 1994. 340p.

PETTY, N.K., ZAKOUR, N.L.B., STANTON-COOK, M., SKIPPINGTON, E., TOTSIKA, M., FORDE, B.M., PHAN, M., MORIEL, D.G., PETERS, K.M., DAVIES, M., ROGERS, B.A., DOUGAN, G., RODRIGUEZ-BAÑO, J., PASCUAL, A., PITOUT, J.D.D., UPTON, M., PATERSON, D.L., WALSH, T.R., SCHEMBRI, M.A., BEATSON, S.A. Global dissemination of a multidrug resistant *Escherichia coli* clone. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111 p. 5694-5699, 2014.

PIETRUSZKA, J., WITT, A. Synthesis of the Bestmann-Ohira reagent. **Synthesis**, n. 24, p. 4266-4268, 2006.

ROSIK, A., FREY, W., CHRISTOFFERS, J. Synthesis of tetrahydropyran-4-ones and thiopyran-4-ones from donor-substituted α -bromostyrene derivatives. **European Journal of Organic Chemistry**, p. 4044-4054, 2006.

ROTH, G. J., LIEPOLD, B., MÜLLER, S. G., BESTMANN, H. J. Further improvements of the synthesis of alkynes from aldehydes. **Synthesis**, n. 1, p. 0059-0062, 2004.

ROY, S., DAVYDOVA, M. P., PAL, R., GILMORE, K., TOLSTIKOV, G. A., VASILEVSKY, S. F., ALABUGIN, I. V. Dissecting alkynes: full cleavage of polarized $C\equiv C$ moiety via sequential bis-Michael addition/retro-Mannich cascade. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 76, p. 7482-7490, 2011.

SANDFORD, G., WILSON, I., TIMPERLEY, C. M. Diels-Alder reactions of trifluoromethyl alkenes with 5-ethoxyoxazoles: synthesis of trifluoromethylated pyridine derivatives. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 125, p. 1425-1430, 2004.

SCORZONI, L., SANGALLI-LEITE, F., SINGULANI, J. L., SILVA, A. C. A. P., COSTA-ORLANDI, C. B., FUSCO-ALMEIDA, A. M., MENDES-GIANNINI, M. J. S. Searching new antifungals: The use of in vitro and in vivo methods for evaluation of natural compounds. **Journal of Microbiological Methods**, v. 123, p. 68-78, 2016.

SMITH, C. J., HETTICH, R. L., JOMPA, J.; TAHIR, A., BUCHANAN, M. V., IRELAND, C. M. Cadiolides A and B, new metabolites from an ascidian of the genus *Botryllus*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 63, p. 4147-4150, 1998.

SMITHA, D., KUMAR, M. M. K., RAMANA, H., RAO, D. V. Rubrolide R: a new furanone metabolite from the ascidian *Synoicum* of the Indian ocean, **Natural Product Research**, v. 28, p. 12-17, 2014.

SIKORSKA, J., PARKER-NANCE, S., DAVIES-COLEMAN, M. T., VINING, O. B., SIKORA, A. E., MCPHAIL, K. L. Antimicrobial rubrolides from a south african species of *Synoicum* tunicate. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 1824-1827, 2012.

TALE, N. P., SHELKE, A. V., TIWARI, G. B., THORAT, P. B., KARADE, N. N. New concise and efficient synthesis of rubrolides C and E via intramolecular Wittig reaction. **Helvetica Chimica Acta**, v. 95, p. 852-857, 2012.

TEIXEIRA, R. R., BARBOSA, L. C. A., FORLANI, G., PILÓ-VELOSO, D., CARNEIRO, J. W. M. Synthesis of photosynthesis-inhibiting nostoclide analogues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 2321-2329, 2008.

TEIXEIRA, R. R. Síntese e avaliação das atividades fitotóxicas de compostos análogos aos nostoclídeos. Tese (Doutorado em Ciências - Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, p. 222, 2008.

USACHEVA, M.N., TEICHERT, M.C., BIEL, M.A. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and

gram-negative microorganisms. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 29, p. 165-173, 2001.

VAREJÃO, J. O. S., BARBOSA, L. C. A., MALTHA, C. R.A., LAGE, M. R., LANZMASTER, M., CARNEIRO, J. W. M., FORLANI, G. Voltammetric and theoretical study of the redox properties of rubrolides analogues. **Electrochimica Acta**, v. 120, p. 334-343, 2014.

VEBER, D. F., JOHNSON, S. R., CHENG, H.-Y., SMITH, B. R., WARD, K. W., KOPPLE, K. D. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2615-2623, 2002.

WANG, W., KIM, H., NAM, S-J., RHO, B. J., KANG H. Antibacterial butenolides from the Korean tunicate *Pseudodistoma antinboja*. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 2049-2054, 2012.

WON, T. H., JEON, J-E., KIM, S-H., LEE, S-H., RHO, B. J., OH, D-C., OH, K-B., SHIN, J. Brominated aromatic furanones and related esters from the ascidian *Synoicum* sp. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 2055-2061, 2012.

YADAV, J. S., VALLURI, M., RAMA RAO, A. V. Regioselective synthesis of hydroxyl butenolides: a convenient synthesis of A-factor. **Tetrahedron letters**, v. 35, p. 3609-3612, 1994.

ZHANG, P., LI, X-M., WANG, J-N., LI, X., WANG, B-G. **Phytochemistry Letters**, v. 11, p. 85-88, 2015.

ZHU, T., CHEN, Z., LIU, P., WANG, Y., XIN, Z., ZHU, W. New rubrolides from the marine-derived fungus *Aspergillus terreus* OUCMDZ-1925. **The Journal of Antibiotics**, v. 67, p. 315–318, 2014.

ANEXO 1

ESPECTROS NO INFRAVERMELHO, RMN DE 1H, RMN DE 13C E MASSAS

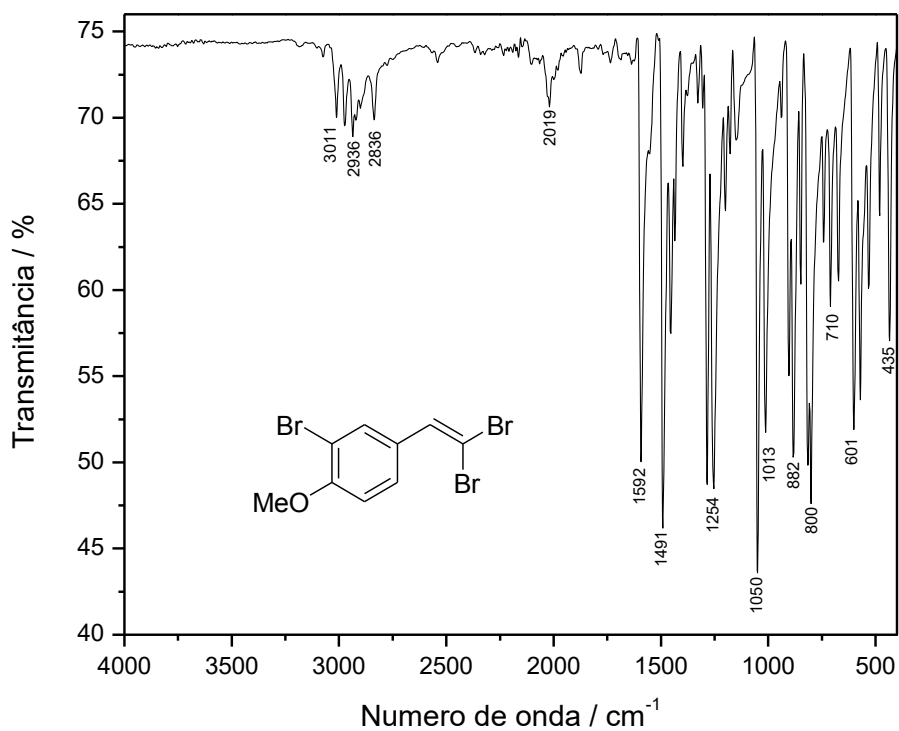


Figura A1 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **59**.

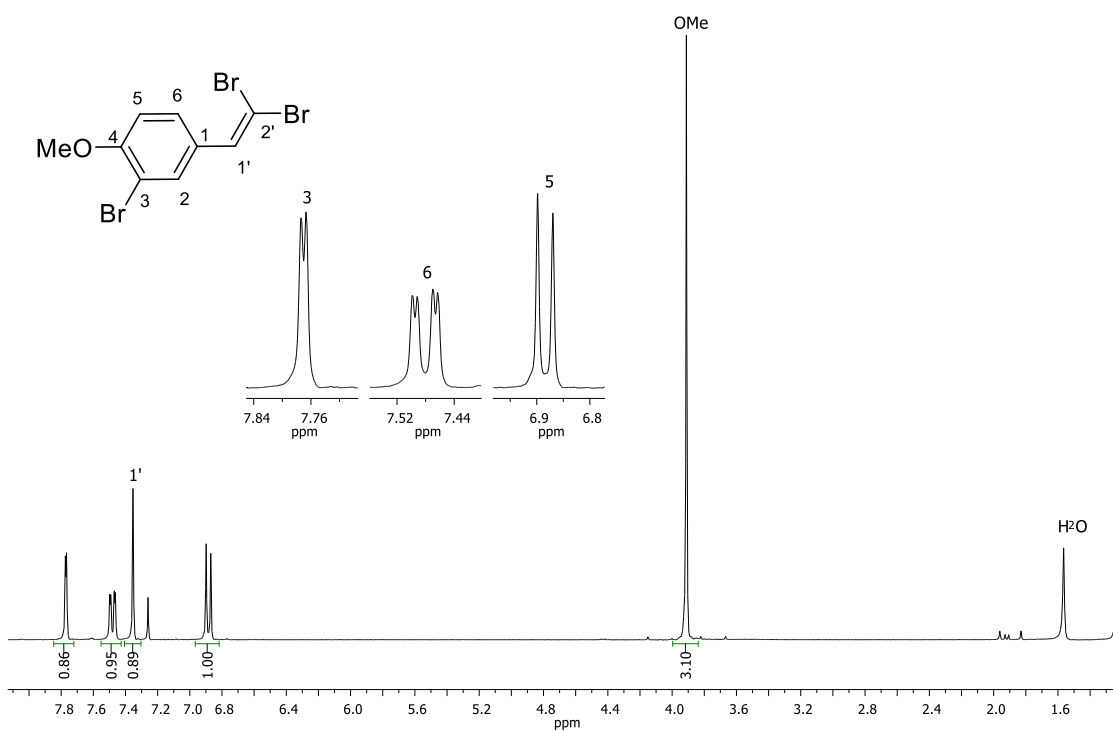


Figura A2 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **59**.

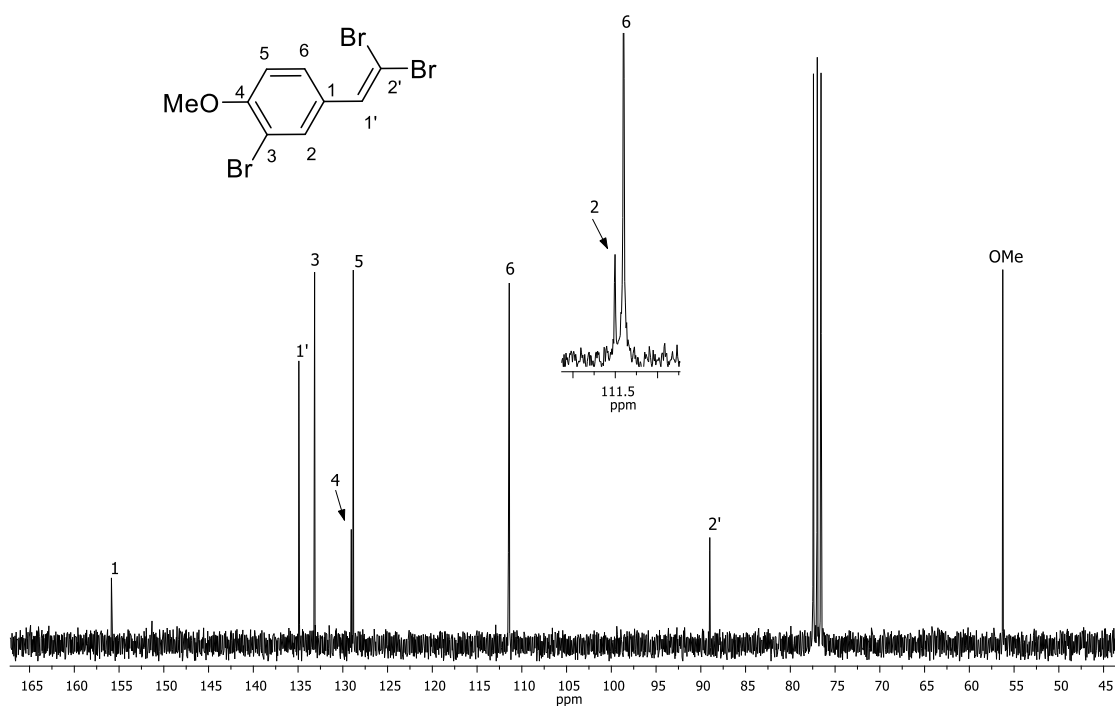


Figura A3 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de **59**.

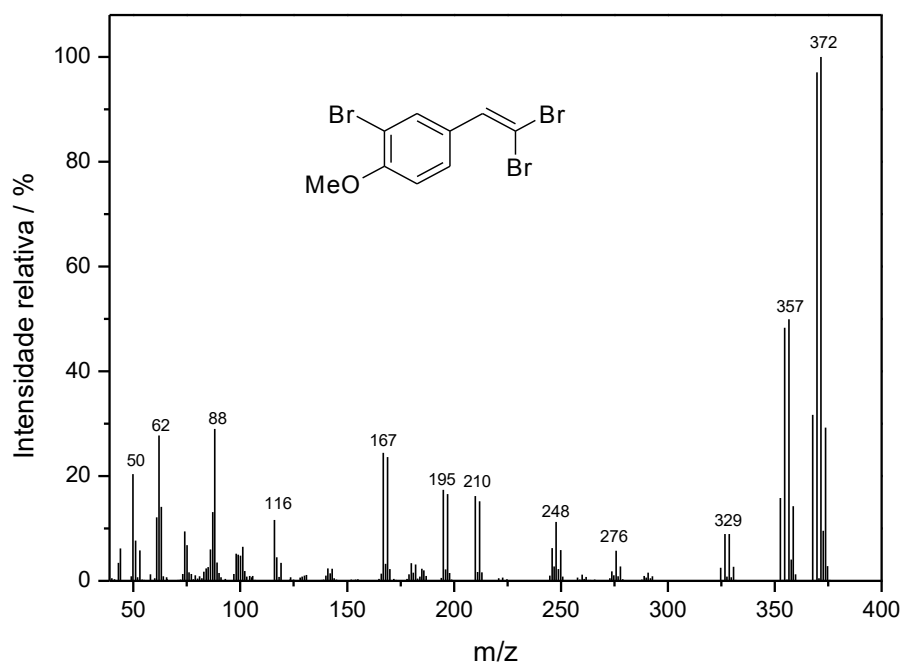


Figura A4 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **59**.

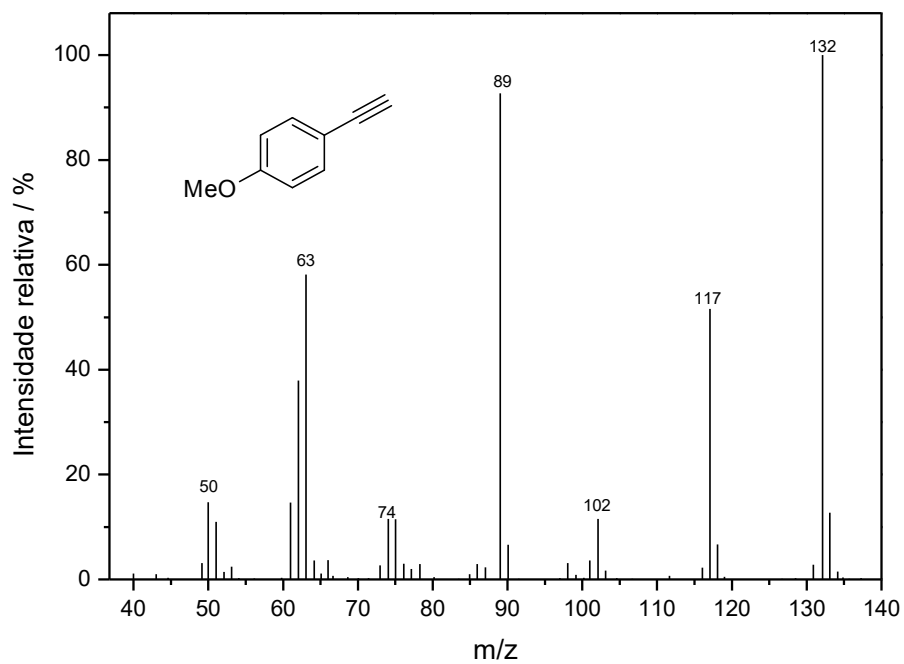


Figura A5 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **61**.

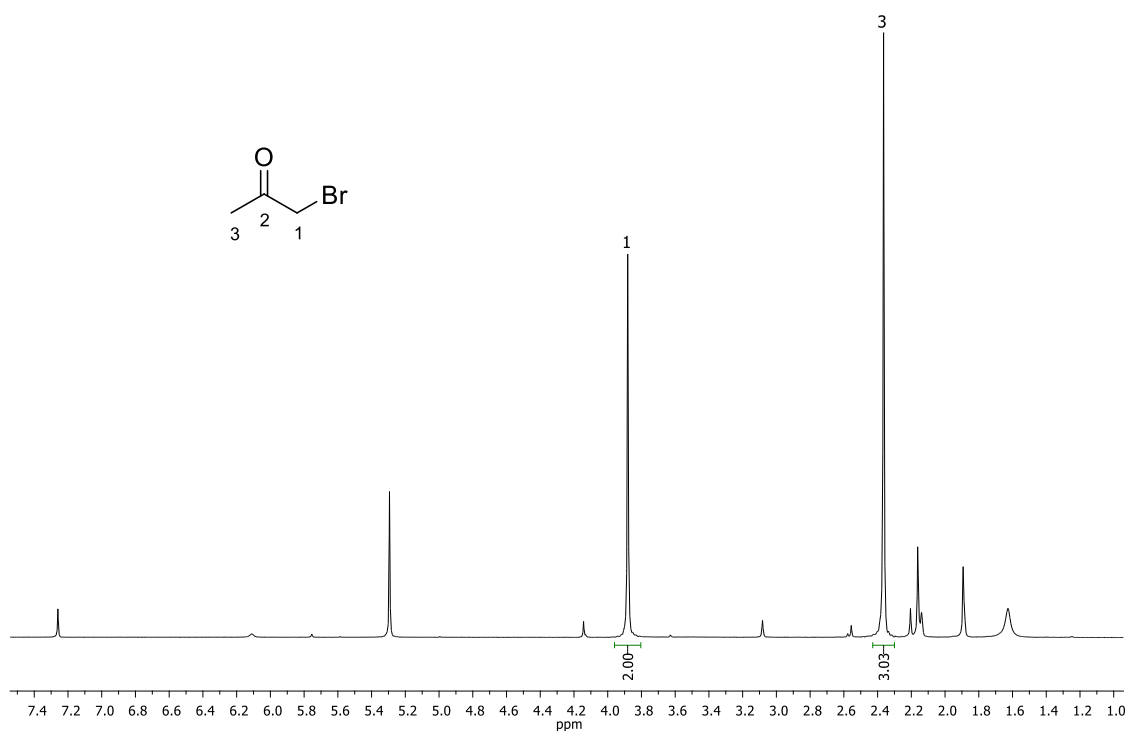


Figura A6 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) de **62**.

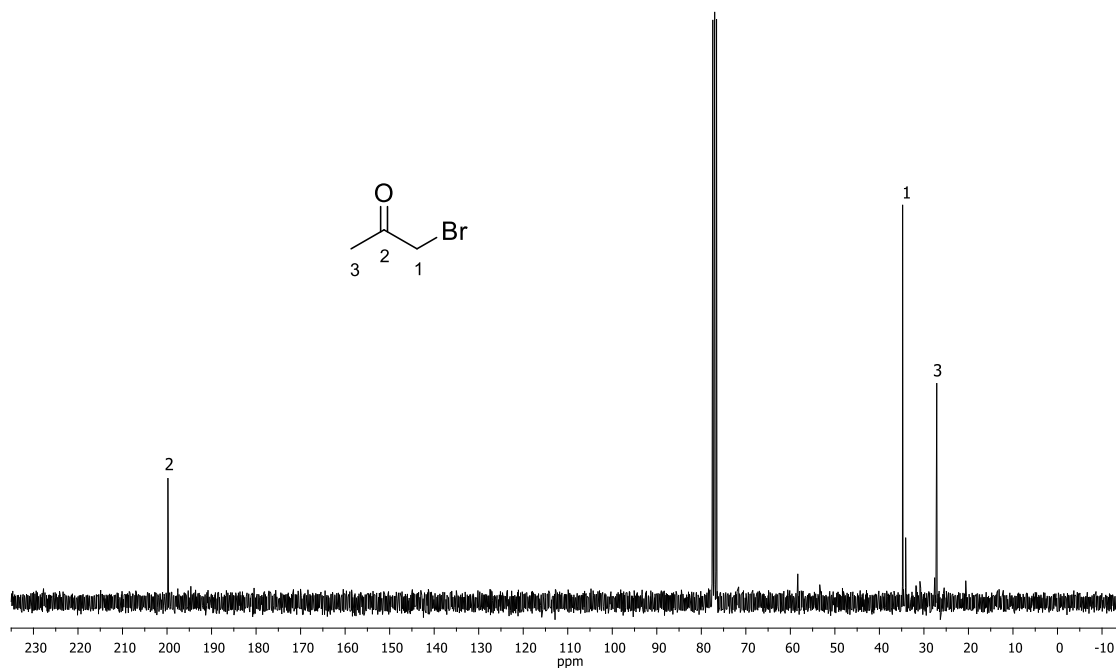


Figura A7 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **62**.

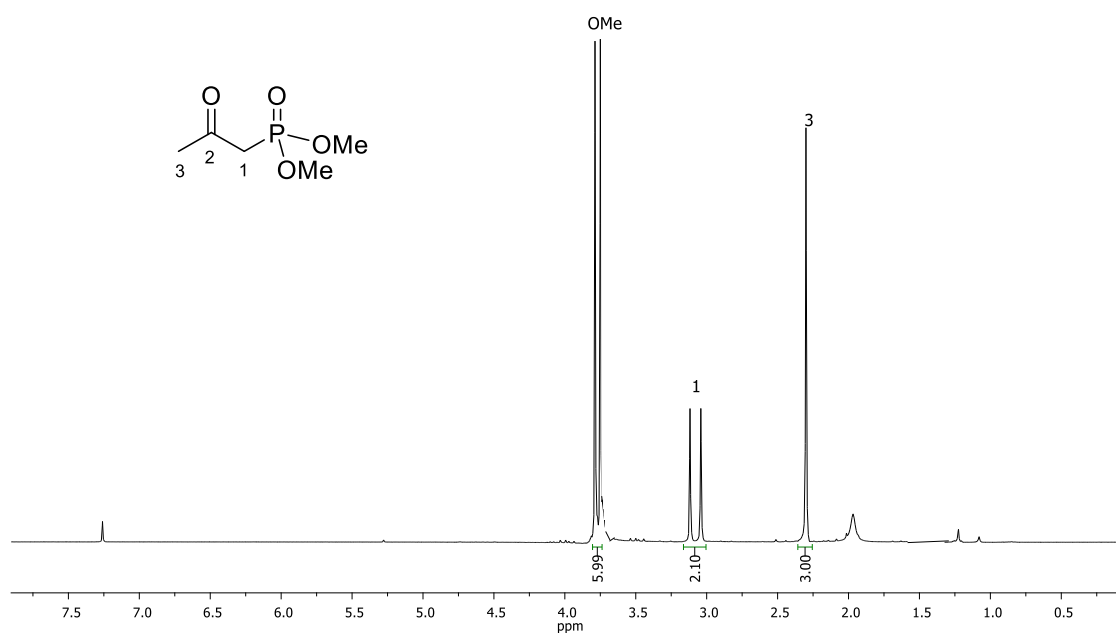


Figura A8 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **63**.

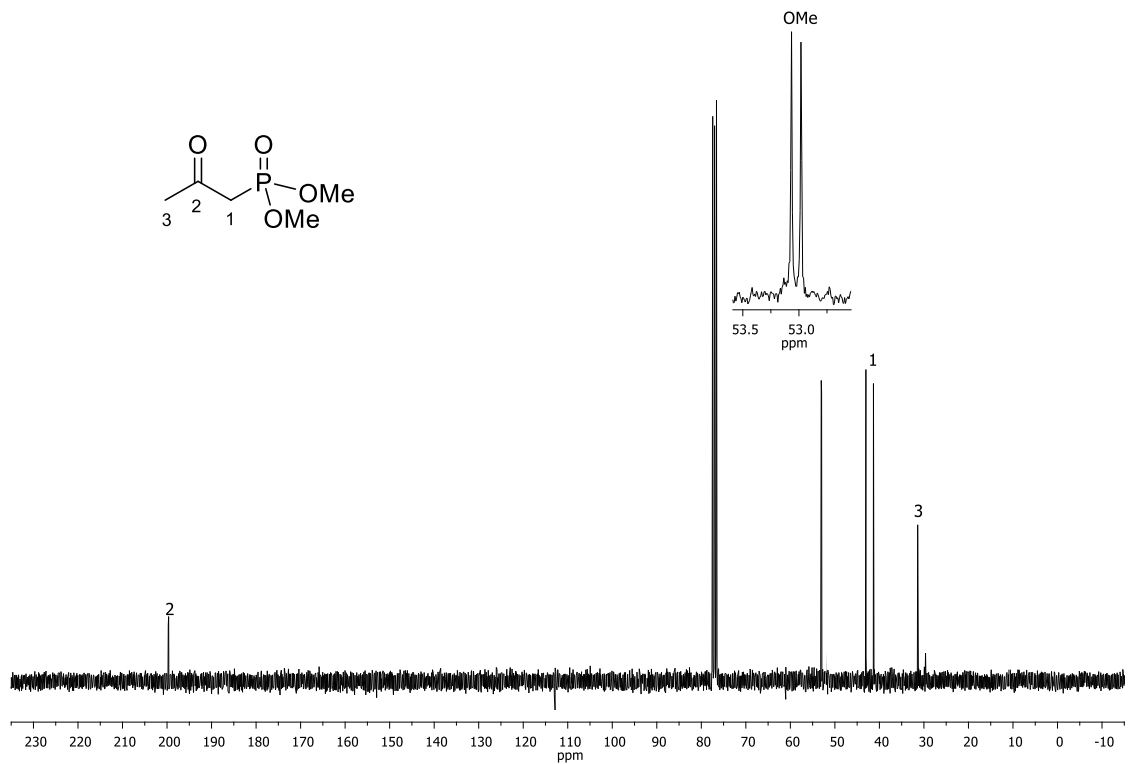


Figura A9 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de **63**.

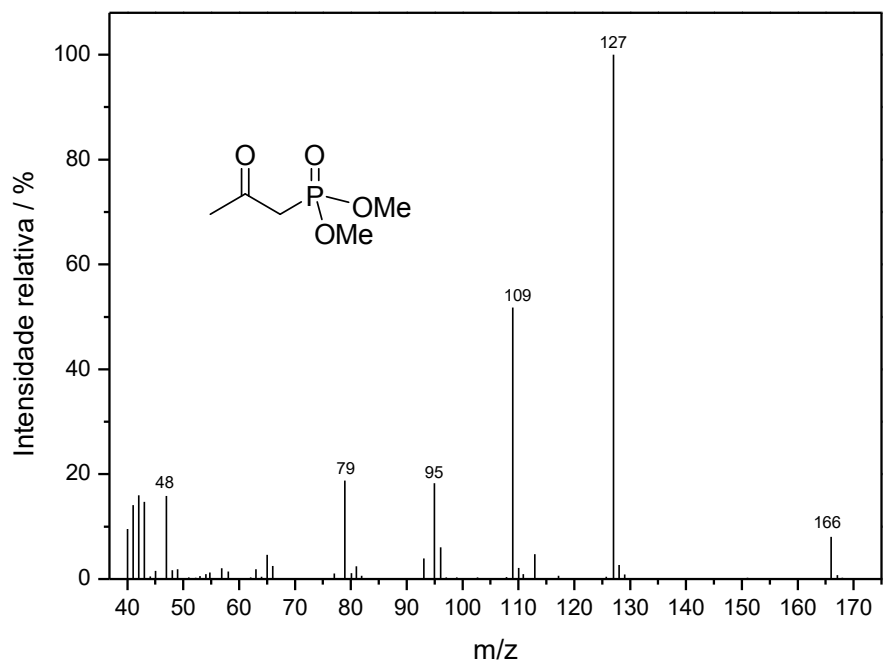


Figura A10 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **63**.

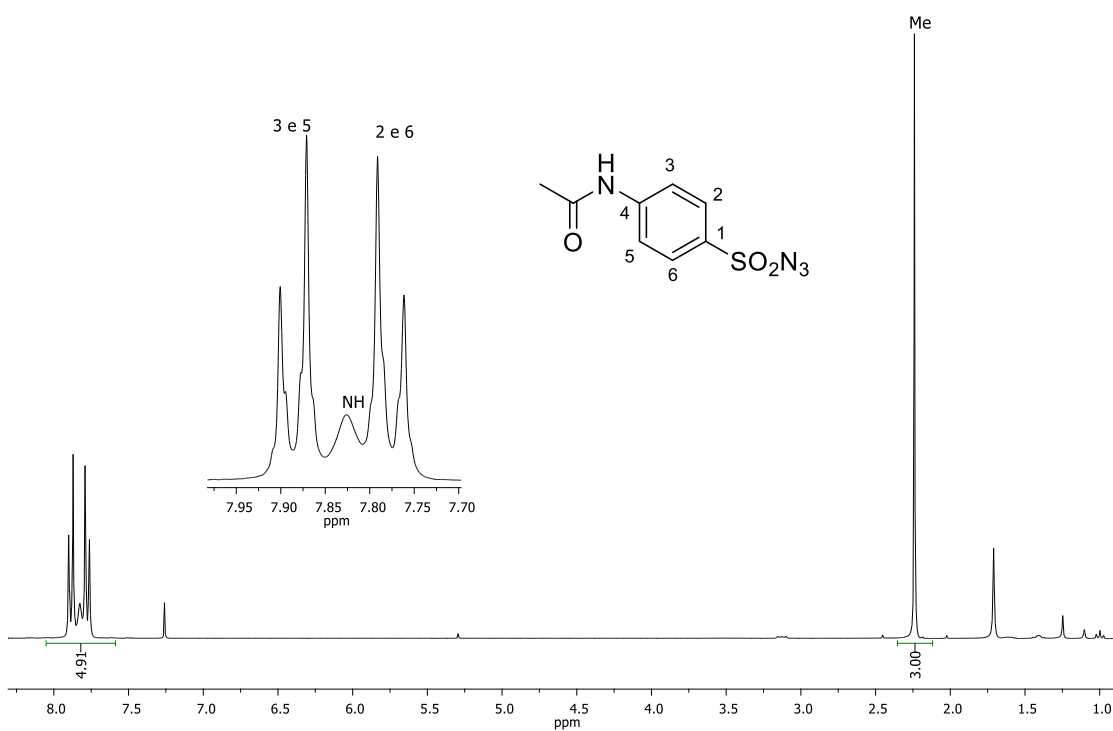


Figura A11 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **64**.

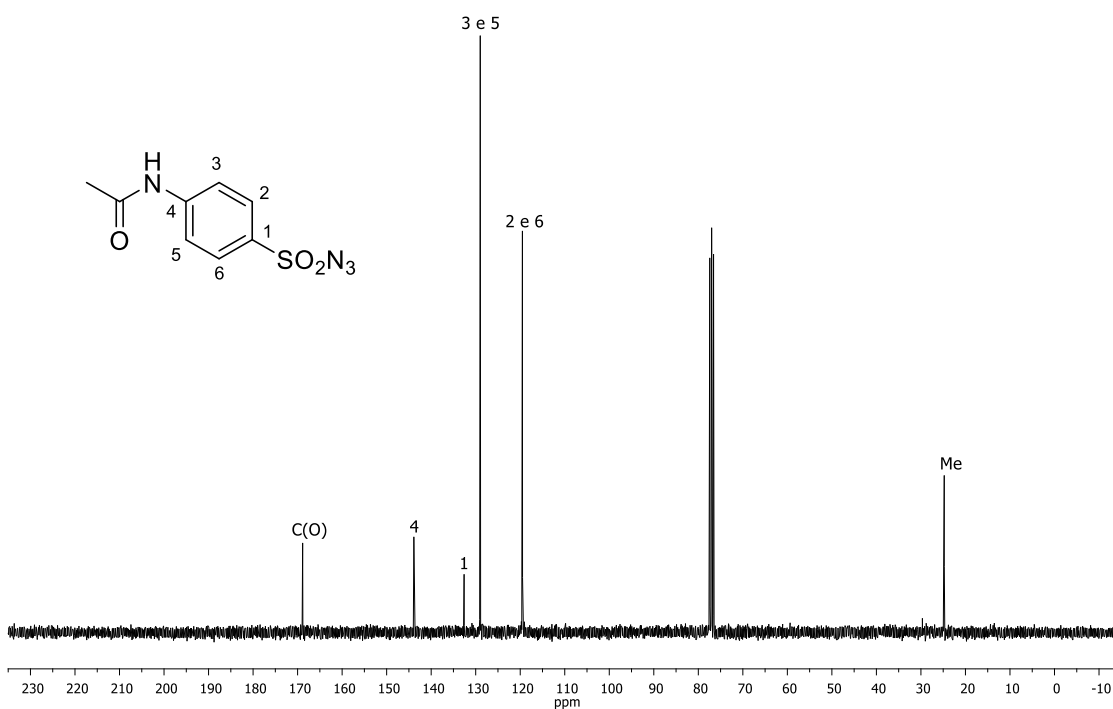


Figura A12 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **64**.

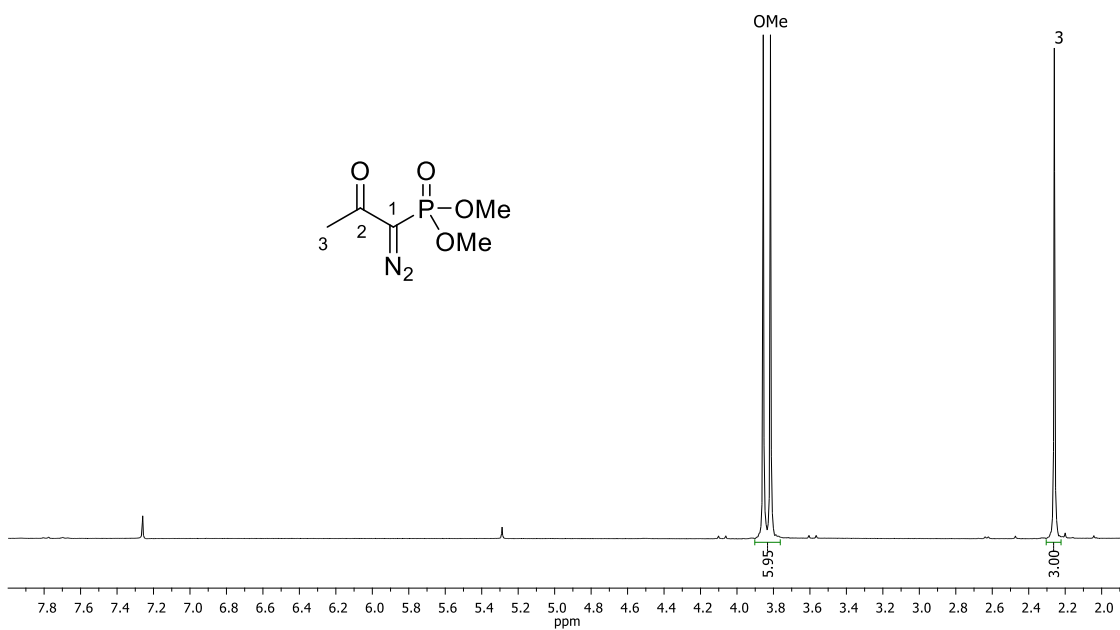


Figura A13 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **65**.

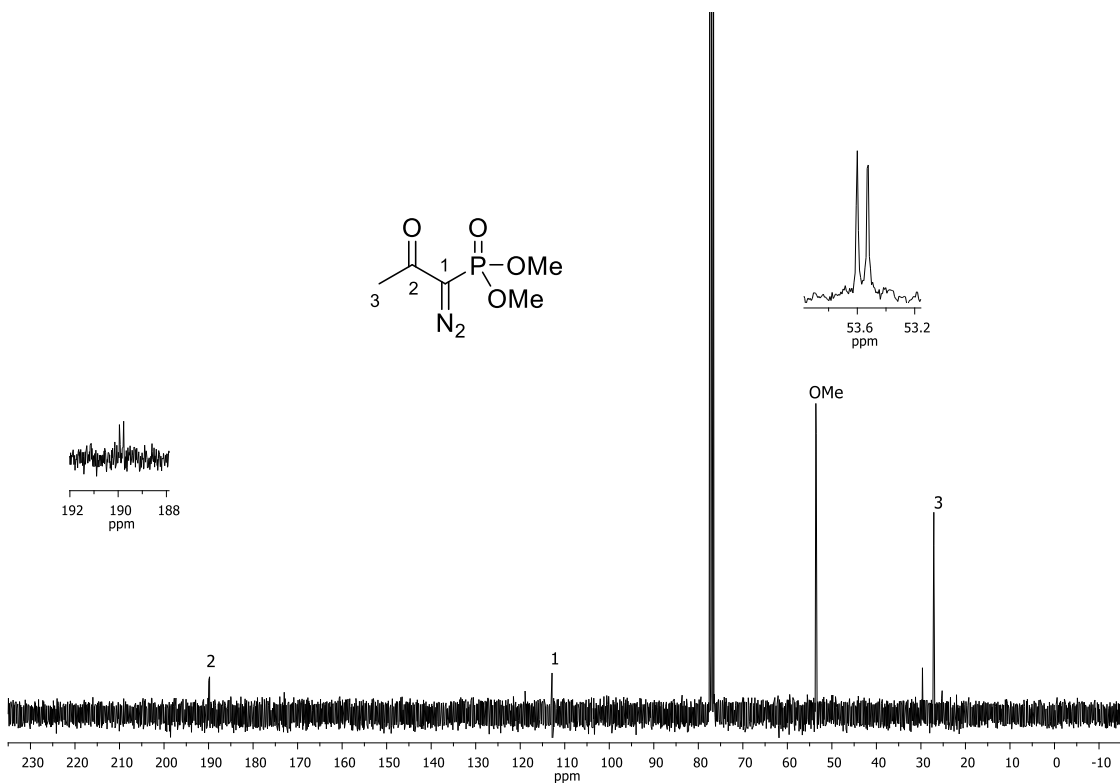


Figura A14 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **65**.

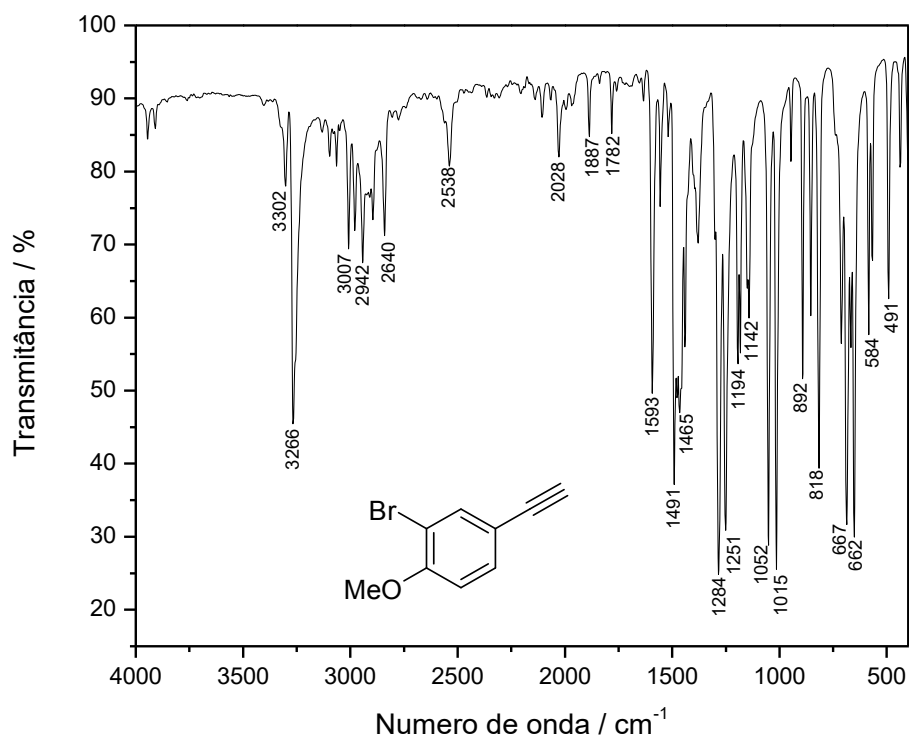


Figura A15 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **60**.

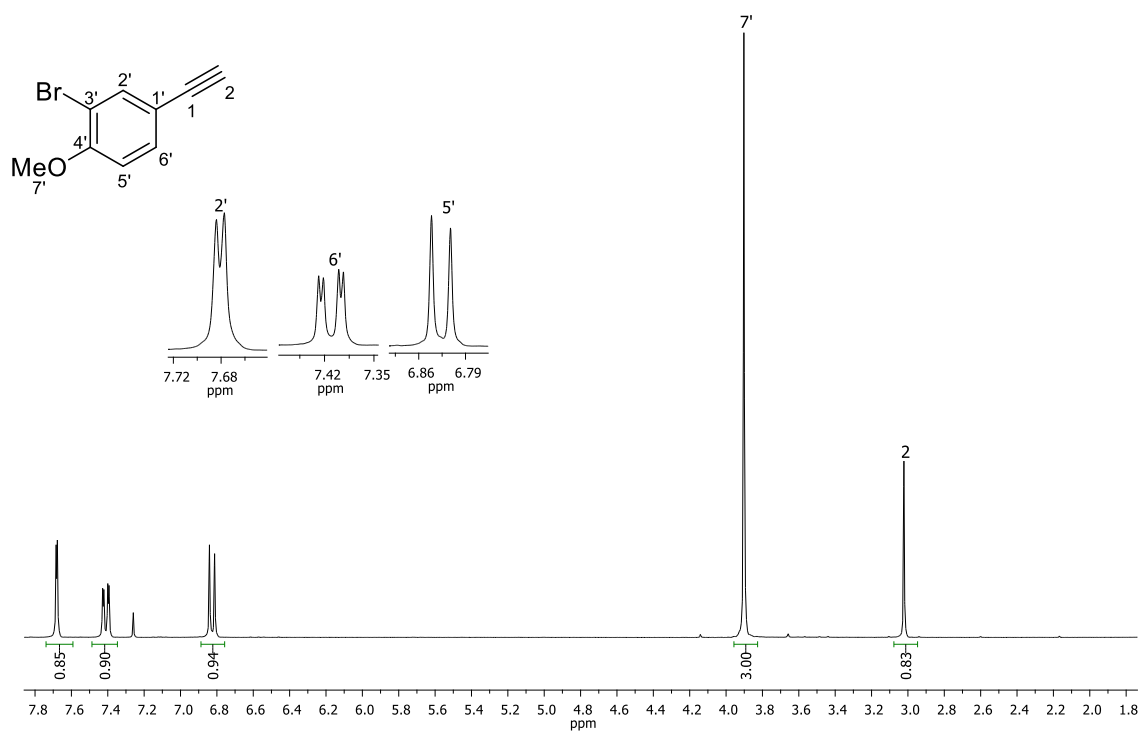


Figura A16 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **60**.

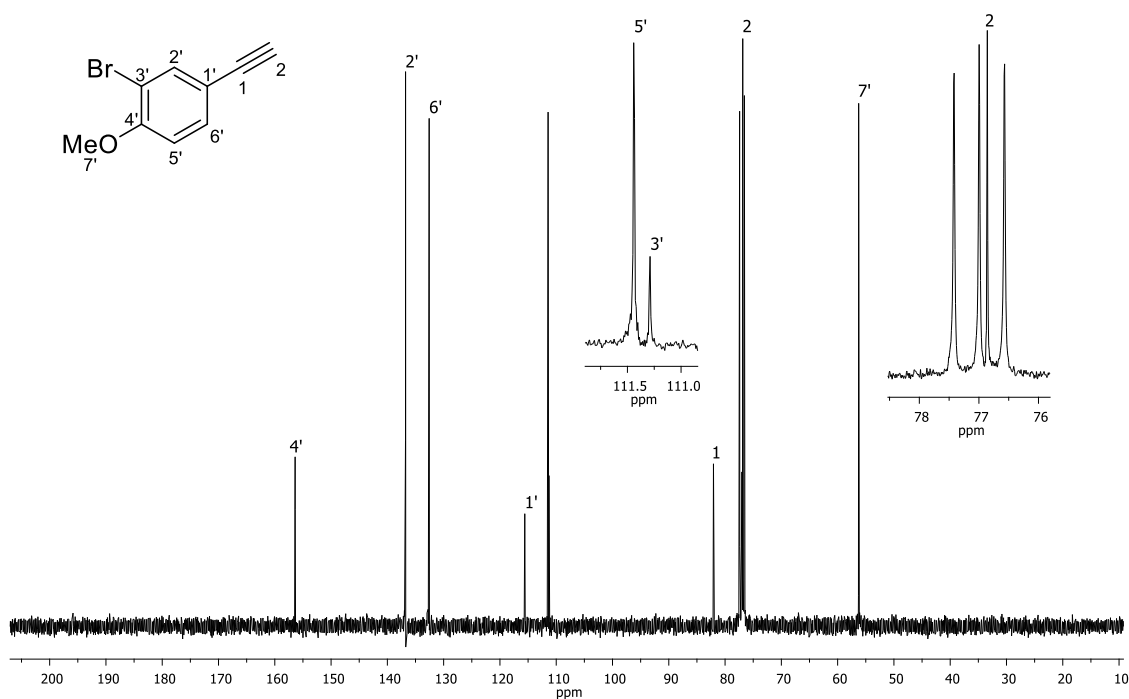


Figura A17 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **60**.

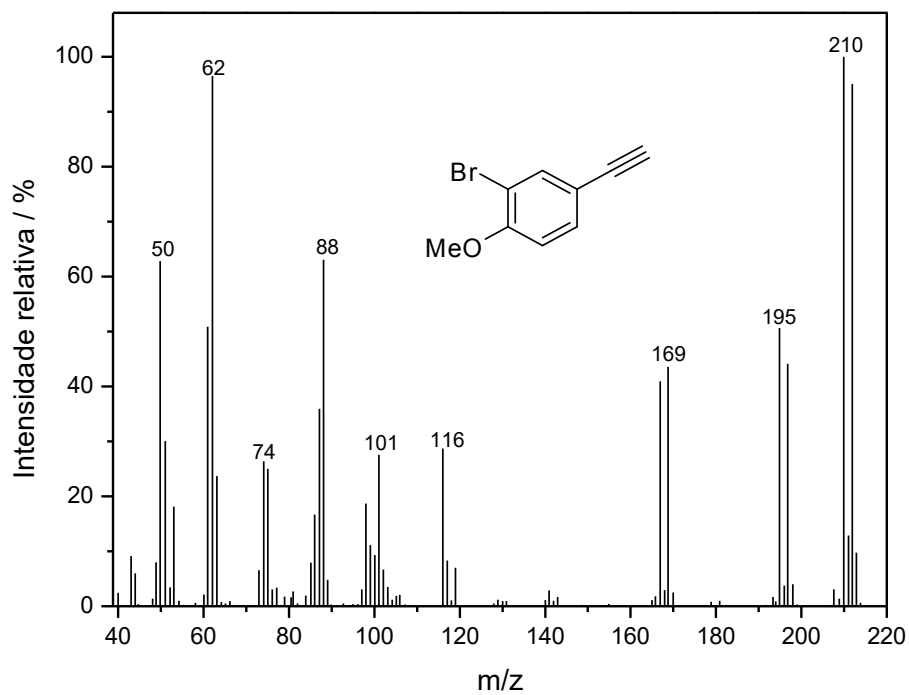


Figura A18 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **60**.

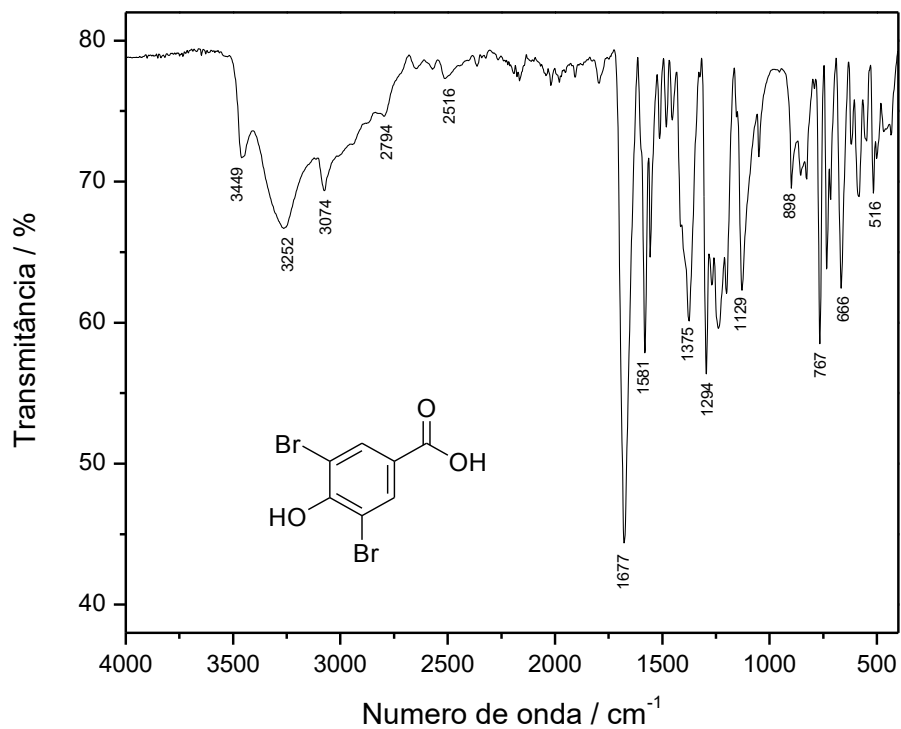


Figura A19 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **66**.

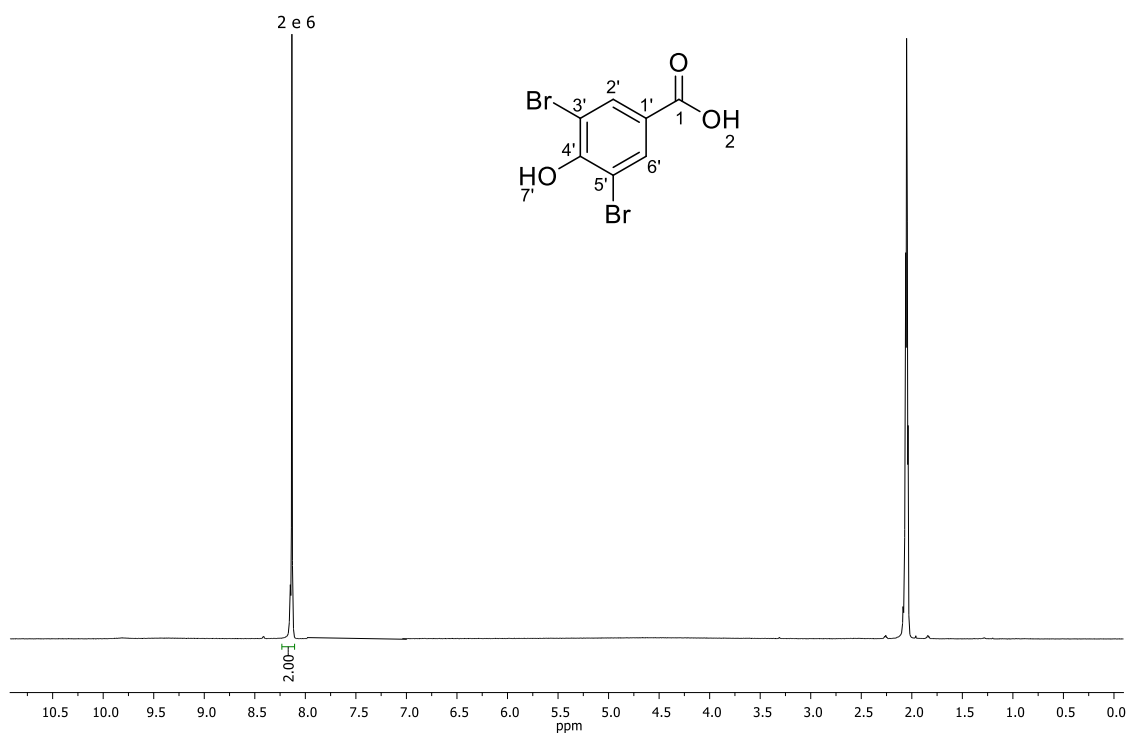


Figura A20 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, acetona- d_6) de **66**.

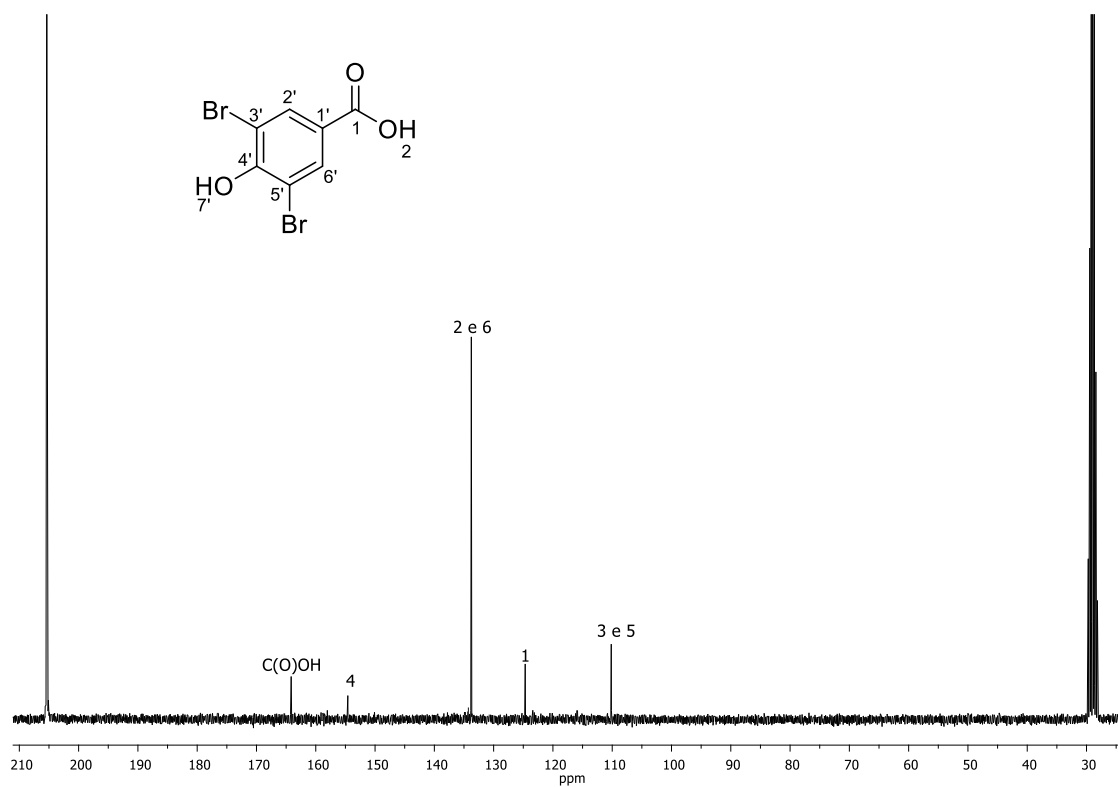


Figura A21 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, acetona- d_6) de **66**.

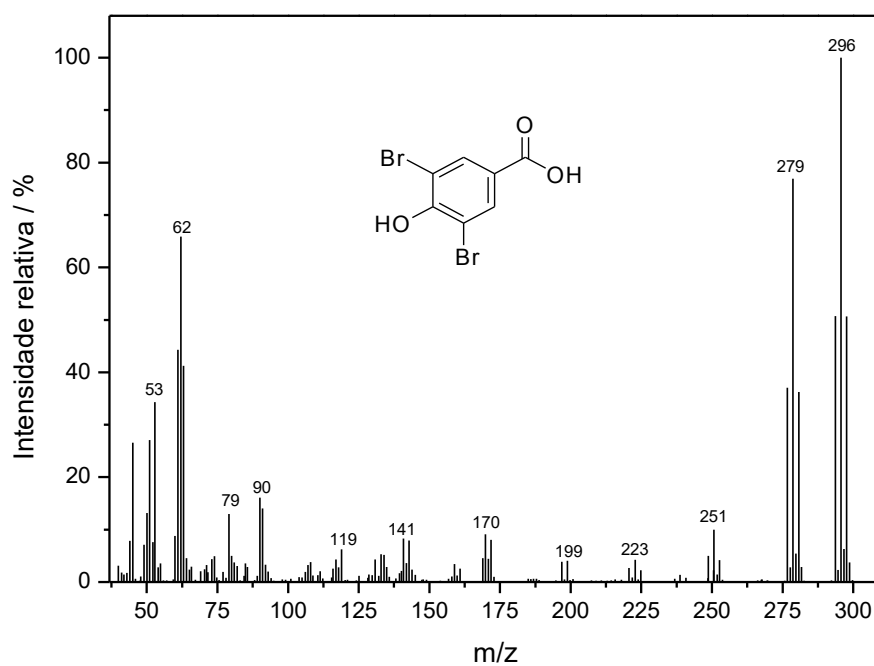


Figura A22 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **66**.

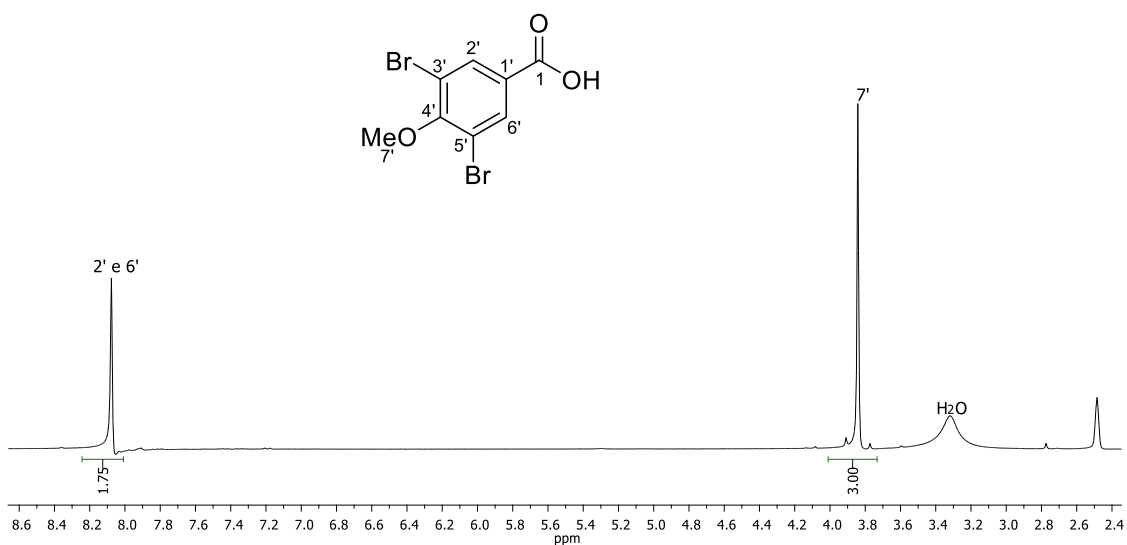


Figura A23 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) de **67**.

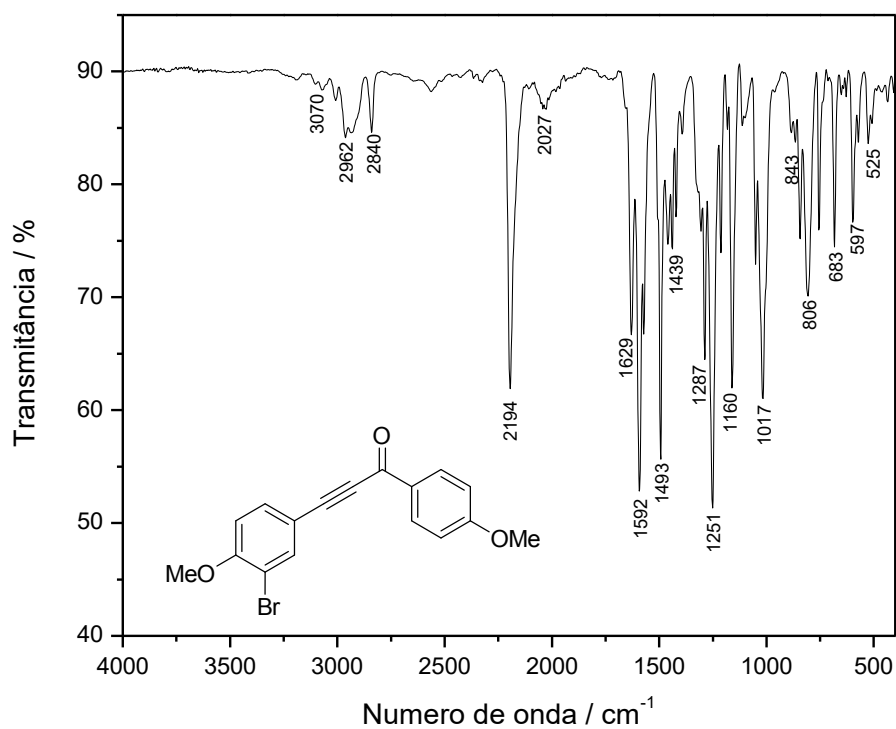


Figura A24 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **69a**.

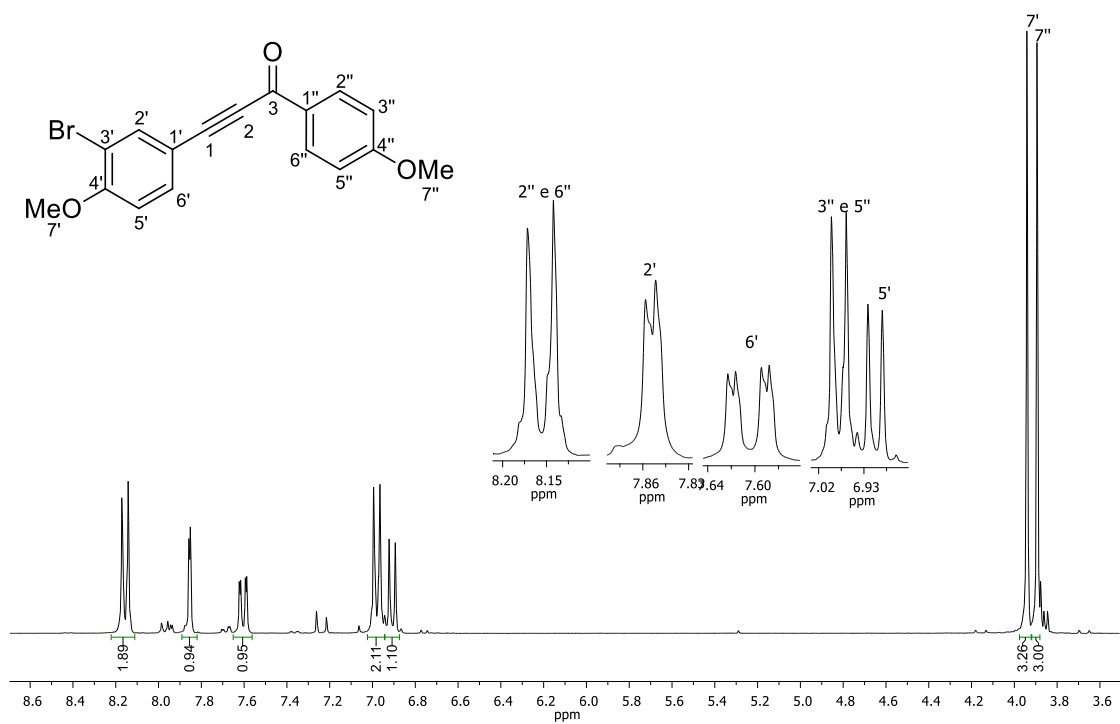


Figura A25 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **69a**.

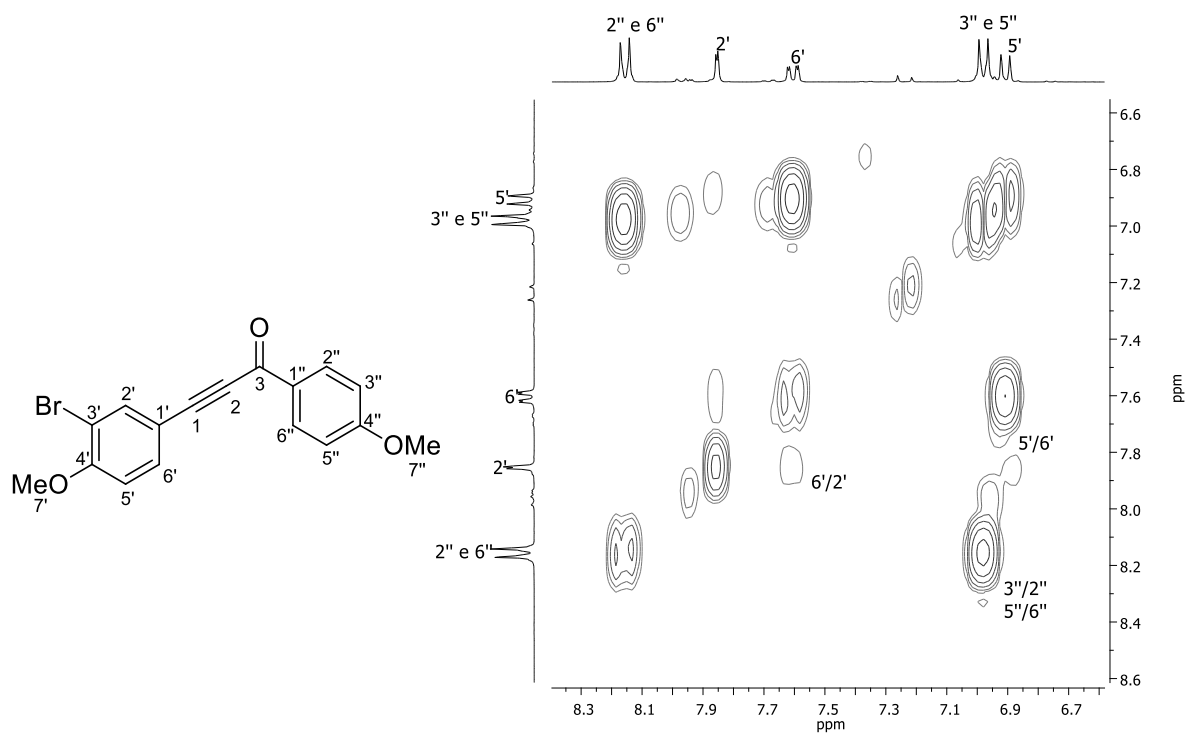


Figura A26 – Mapa de contorno COSY de **69a**.

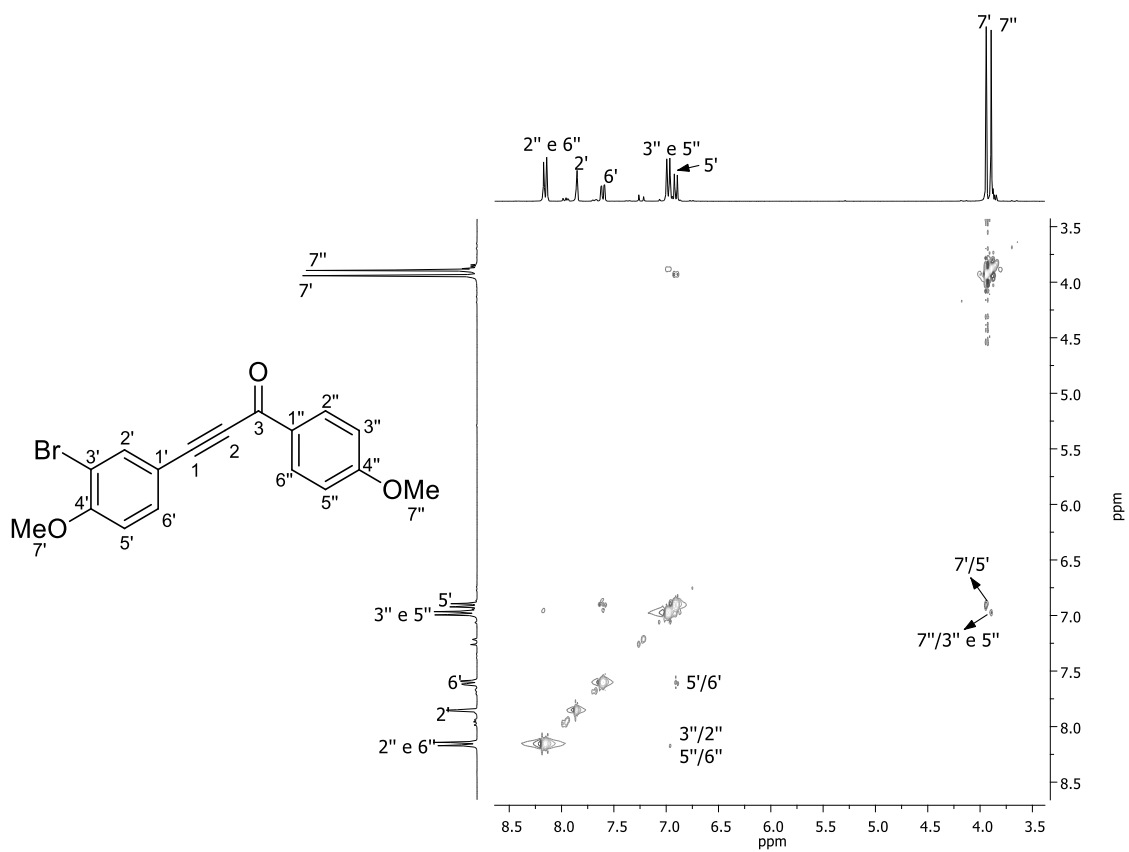


Figura A27 – Mapa de contorno NOESY de **69a**.

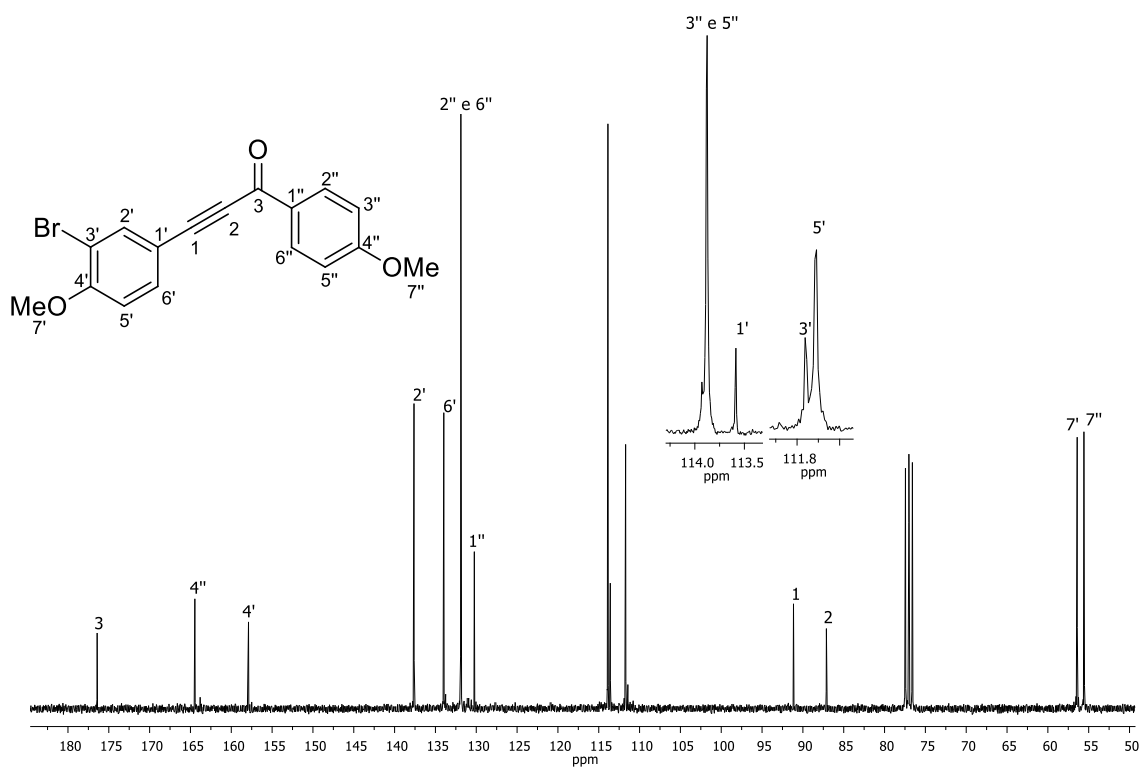


Figura A28 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **69a**.

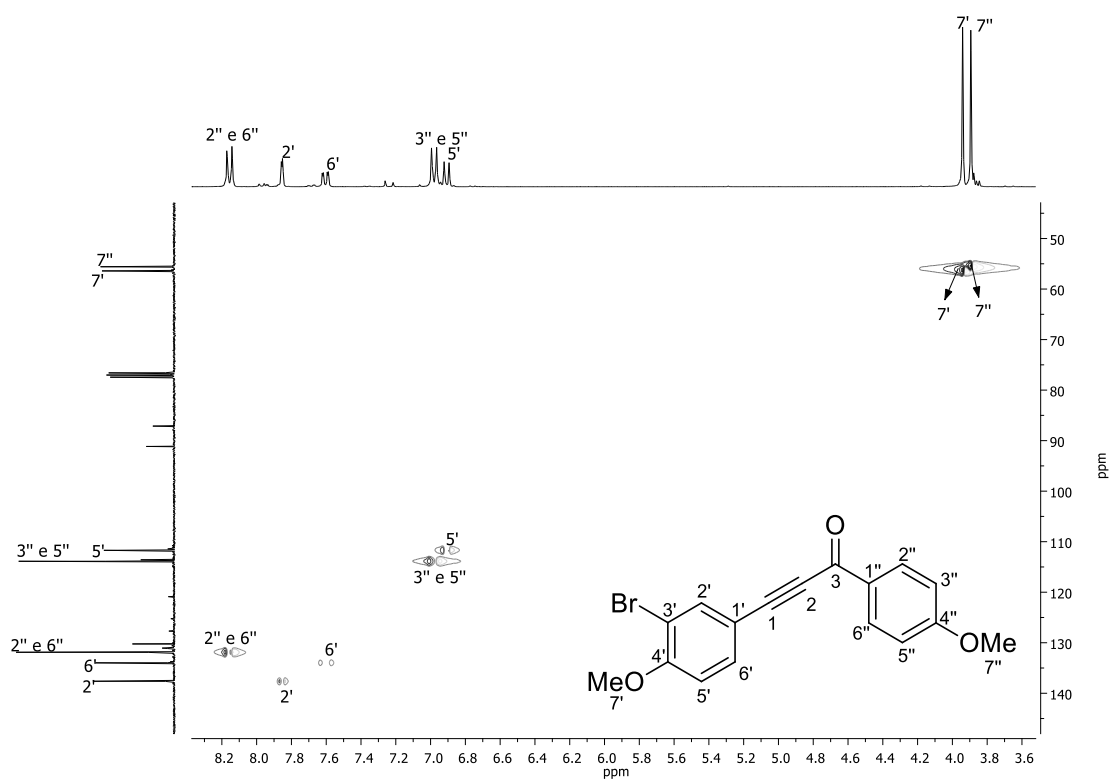


Figura A29 – Mapa de contorno *HSQC* de **69a**.



Figura A30 – Mapa de contorno *HMBC* de **69a**.

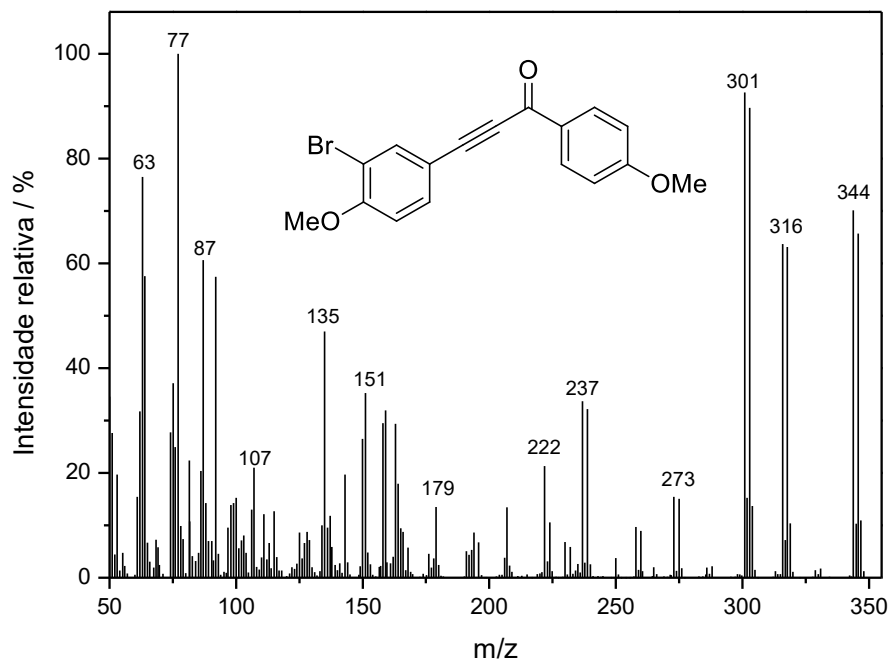


Figura A31 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **69a**.

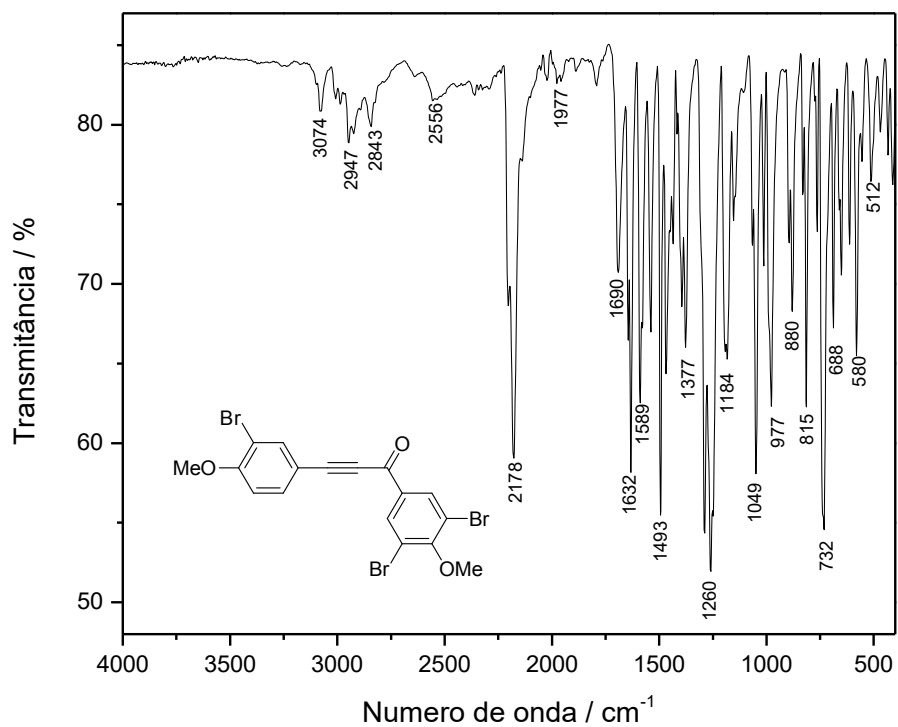


Figura A32 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **69c**.

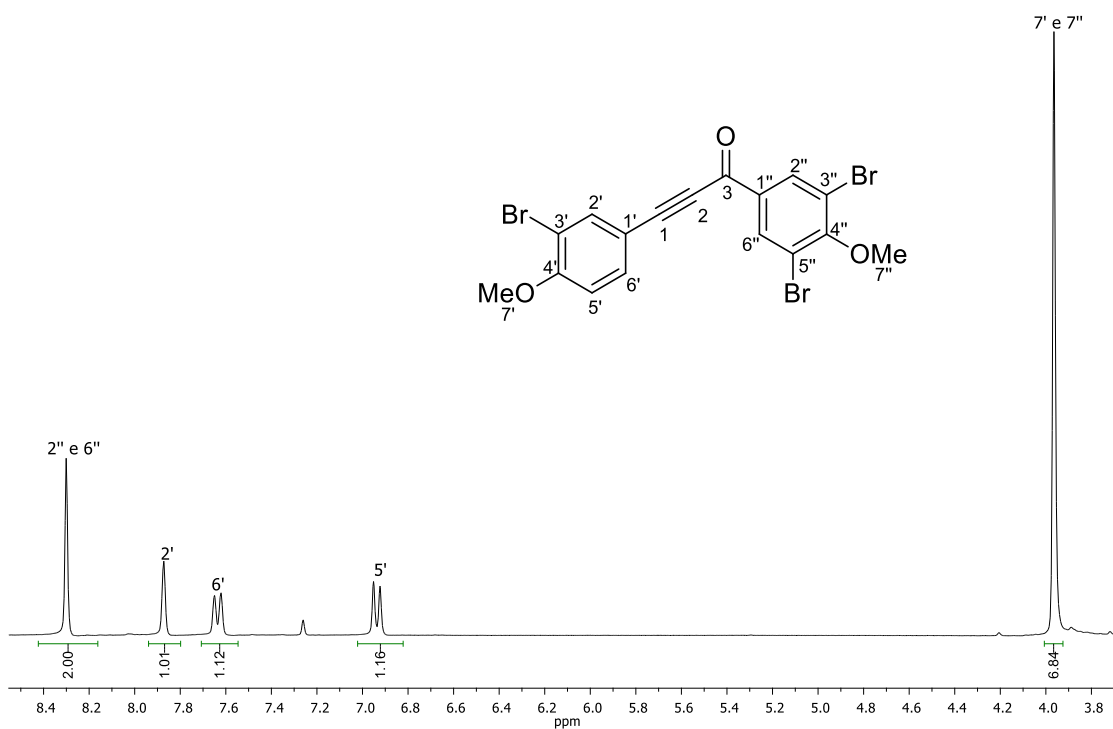


Figura A33 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **69c**.

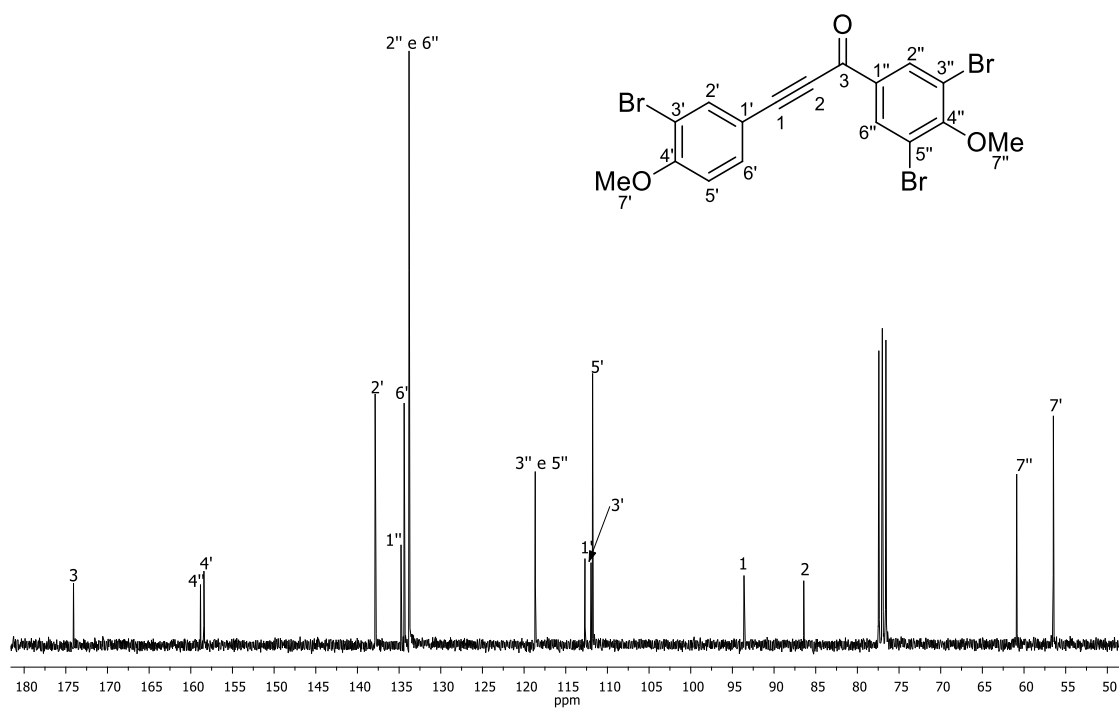


Figura A34 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **69c**.

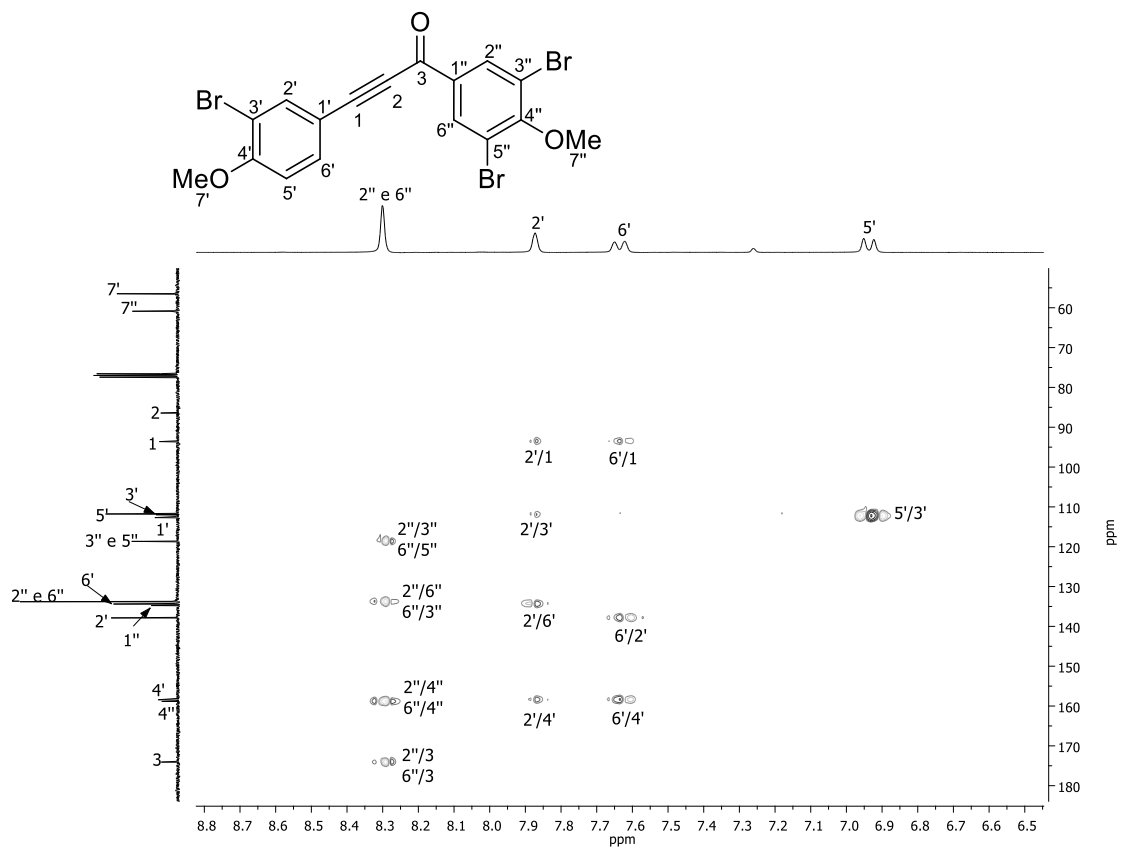


Figura A35 – Mapa de contorno *HMBC* de **69c**.

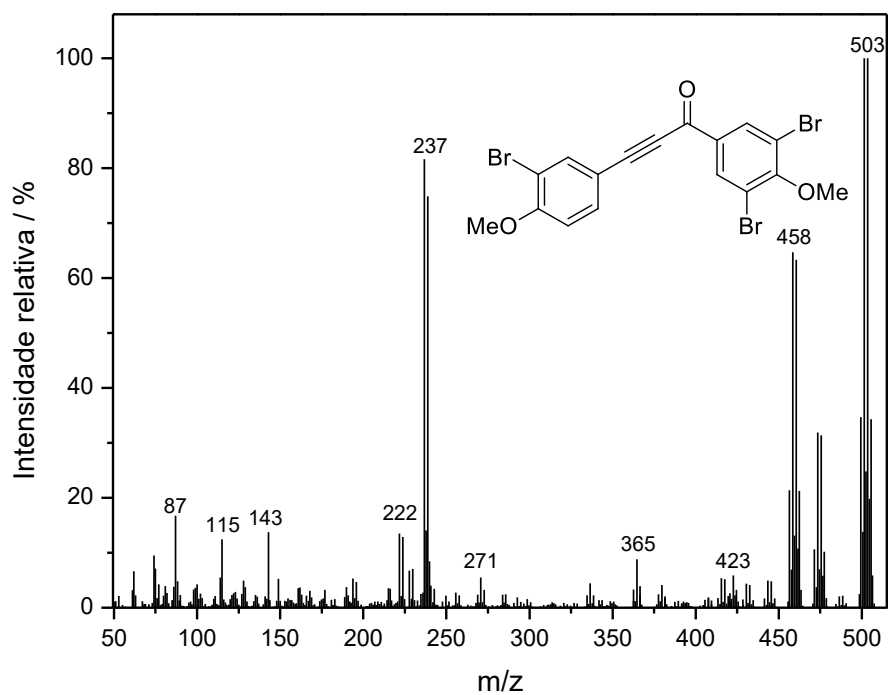


Figura A36 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **69c**.

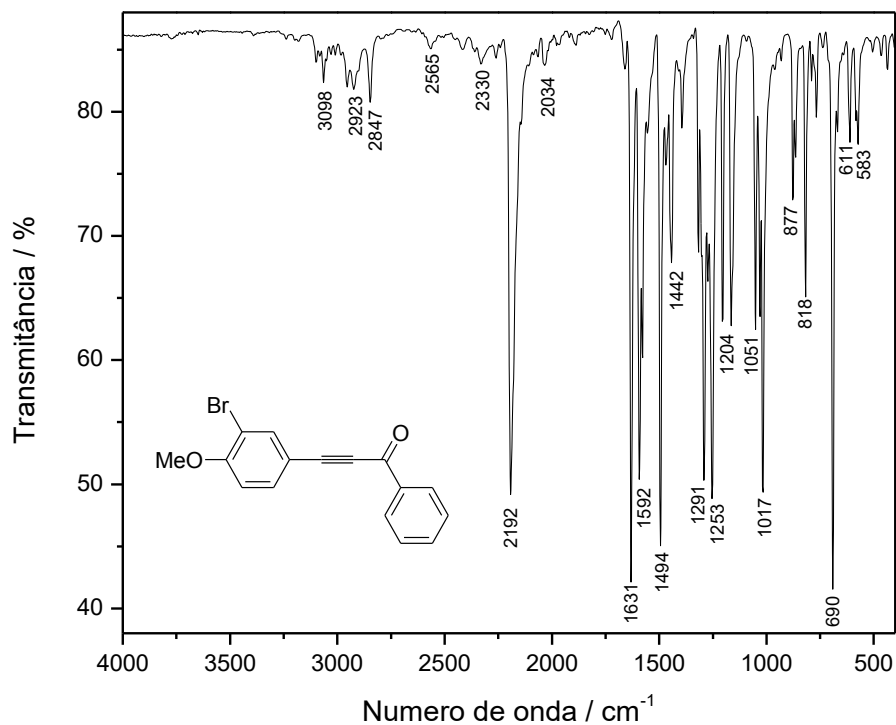


Figura A37 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **69d**.

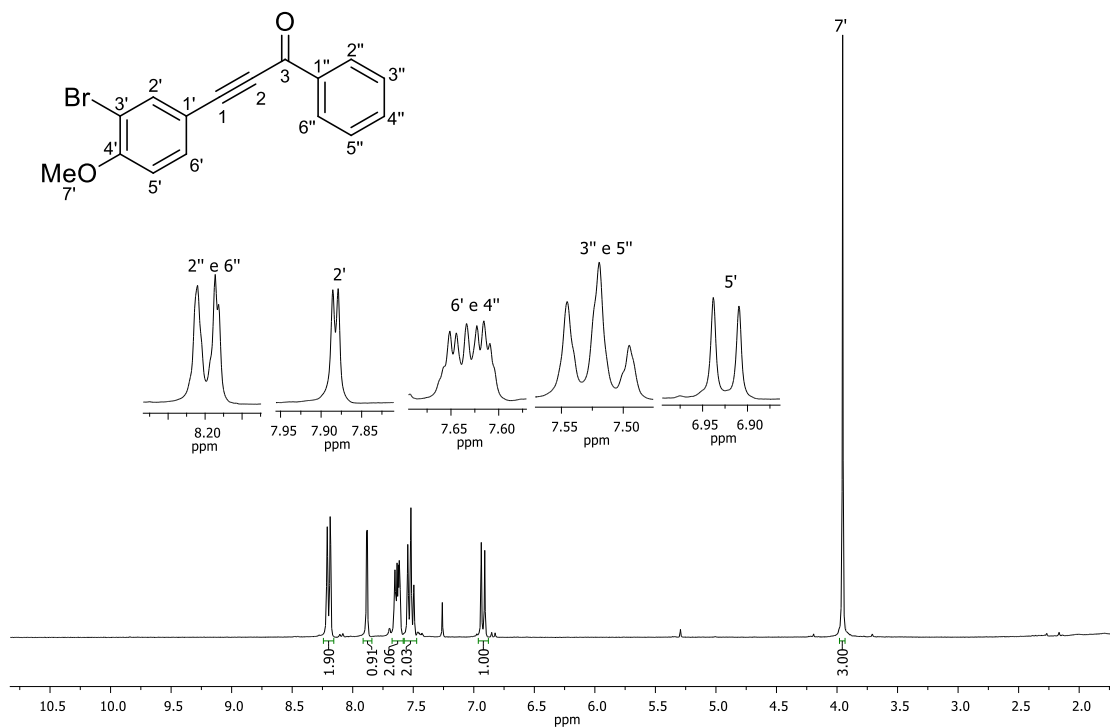


Figura A38 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **69d**.

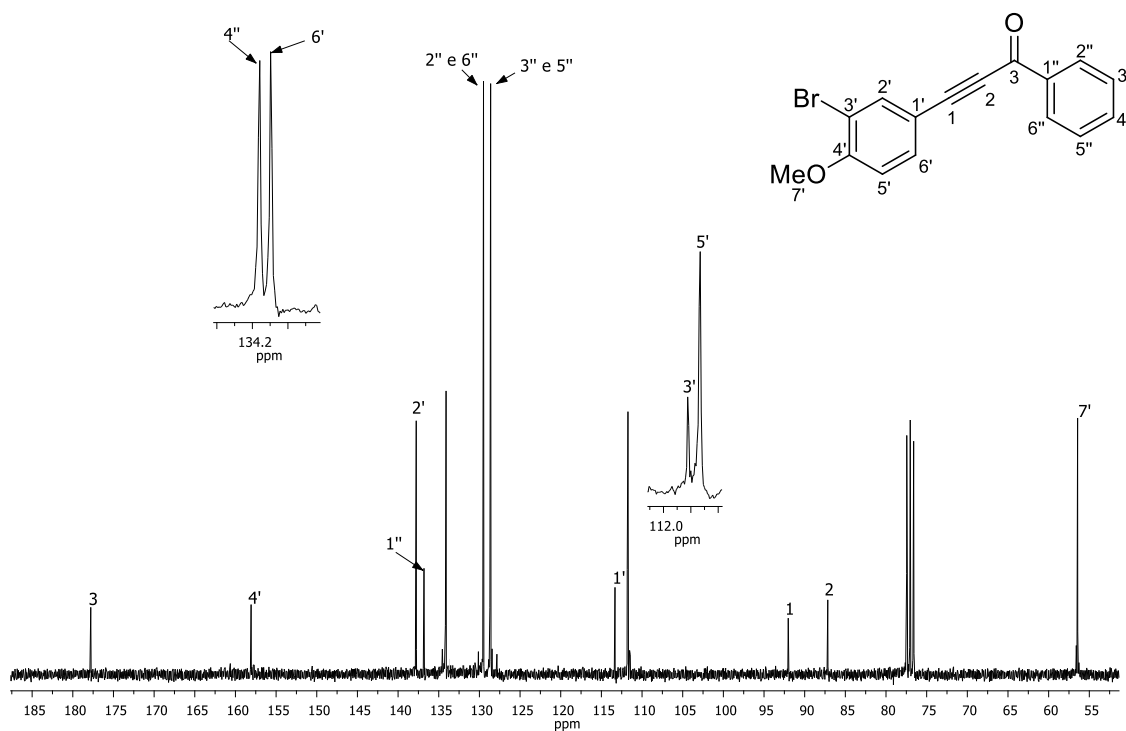


Figura A39 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **69d**.

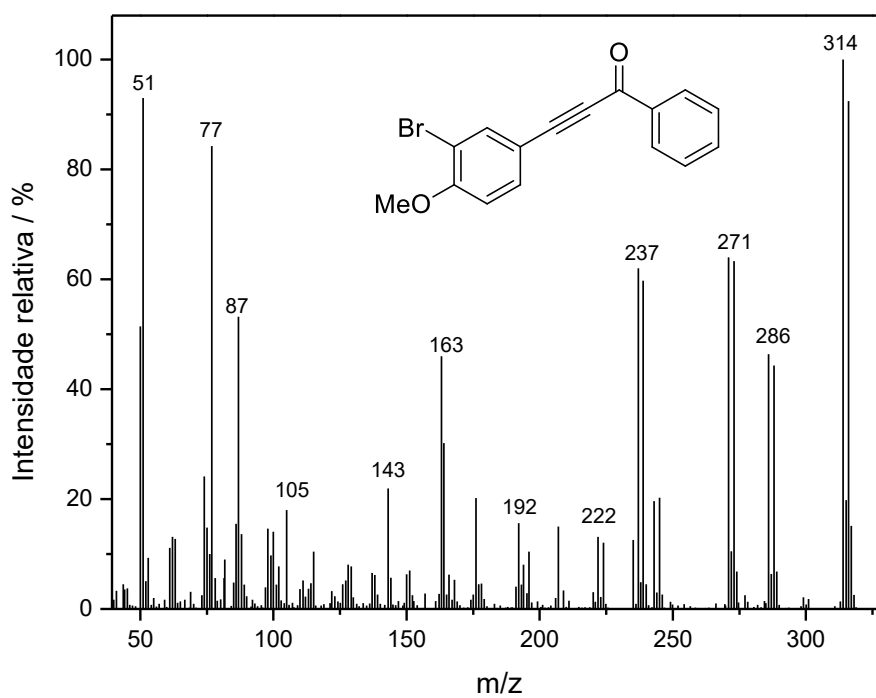


Figura A40 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **69d**.

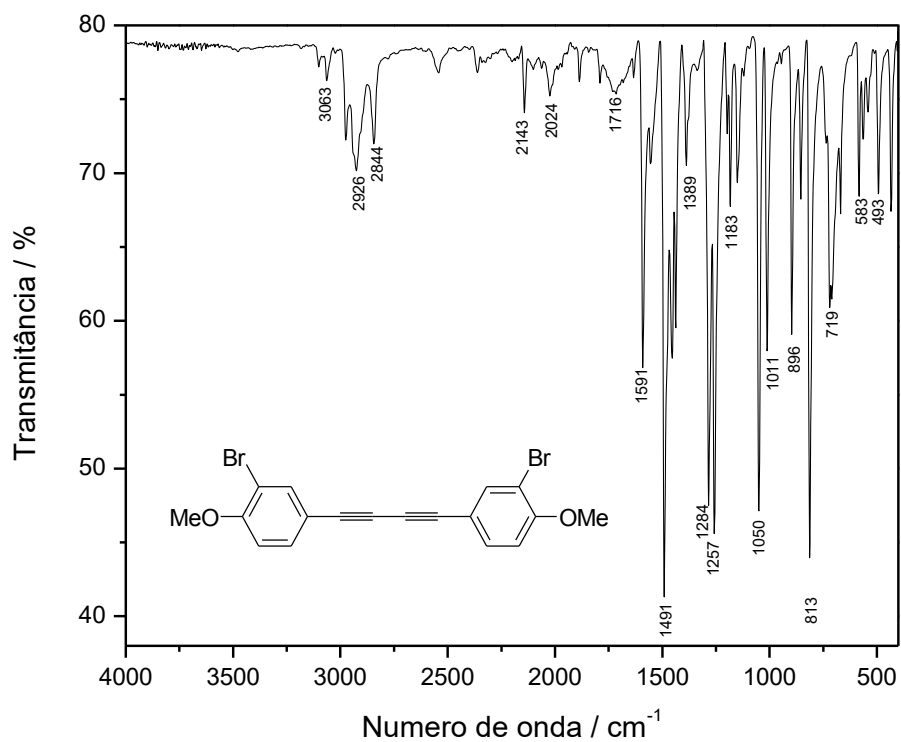


Figura A41 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **70**.

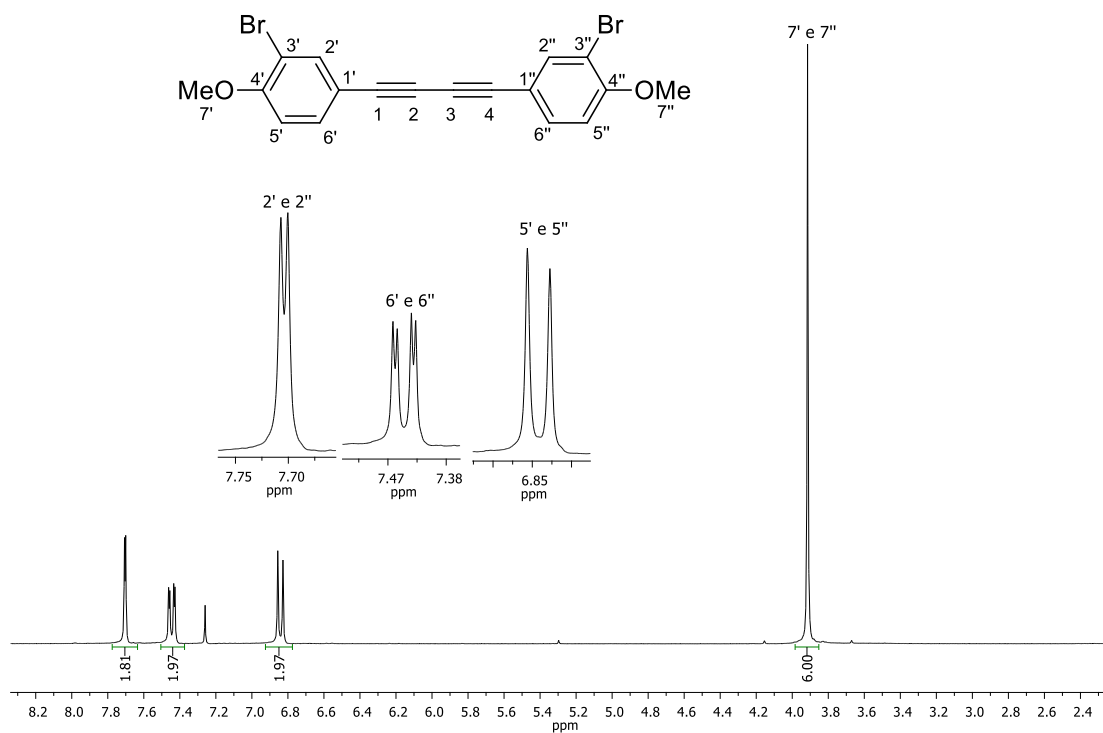


Figura A42 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **70**.

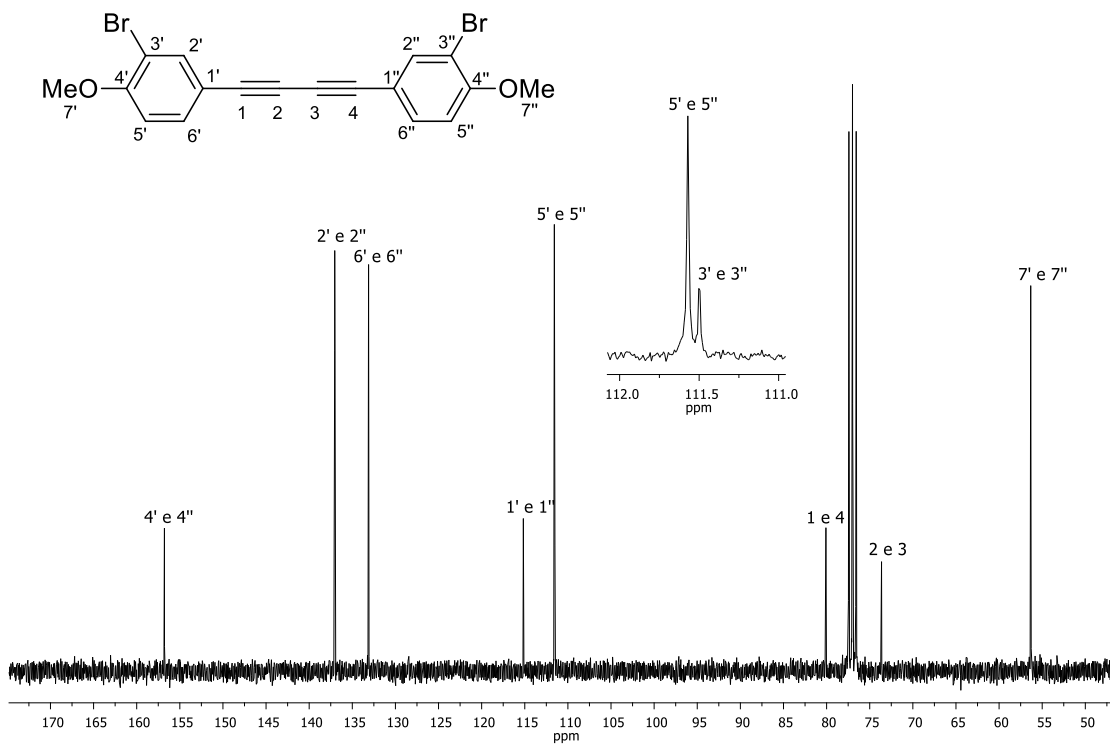


Figura A43 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de **70**.

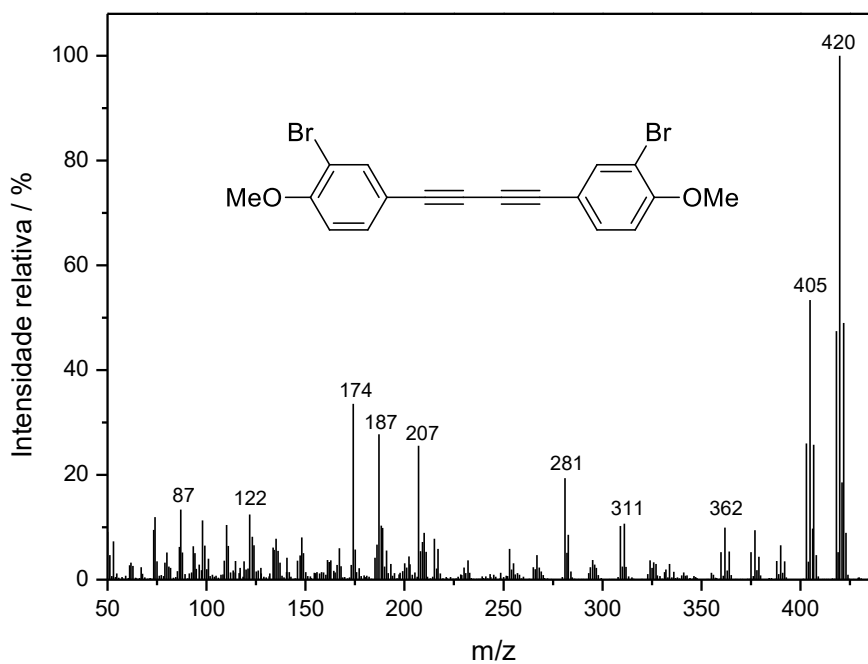


Figura A44 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **70**.

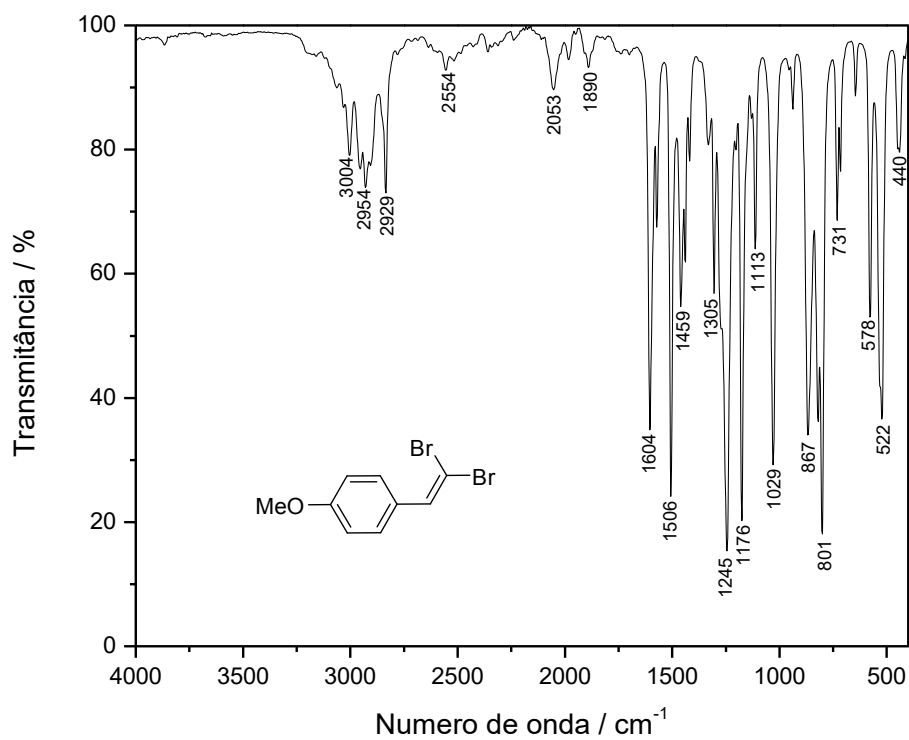


Figura A45 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **71**.

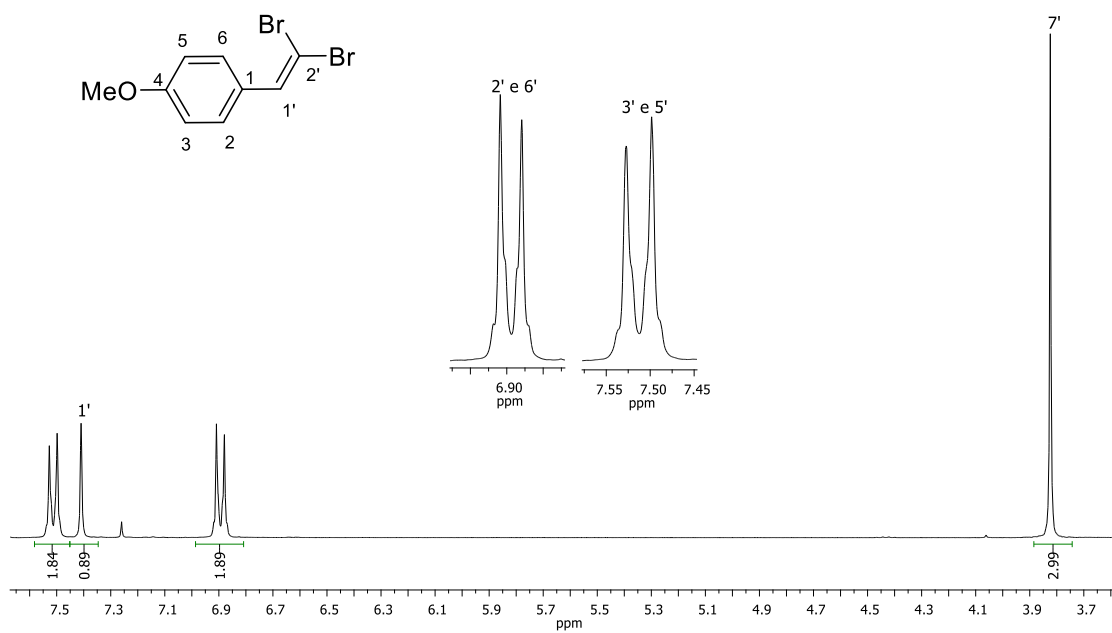


Figura A46 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **71**.

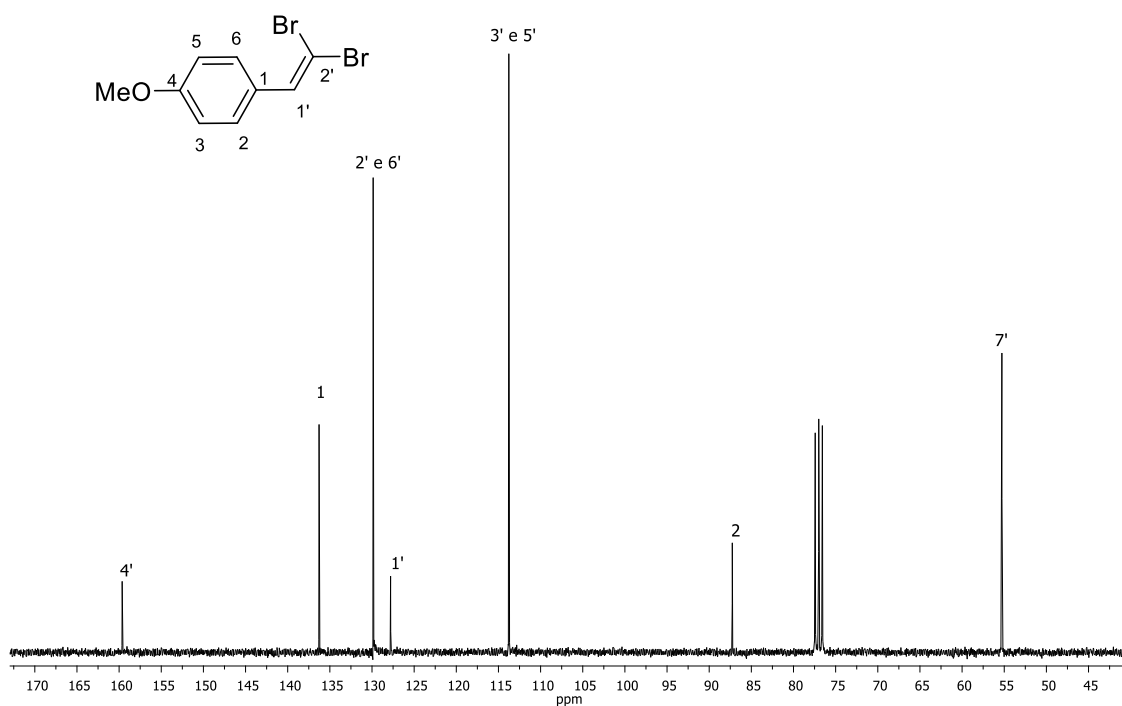


Figura A47 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de 71.

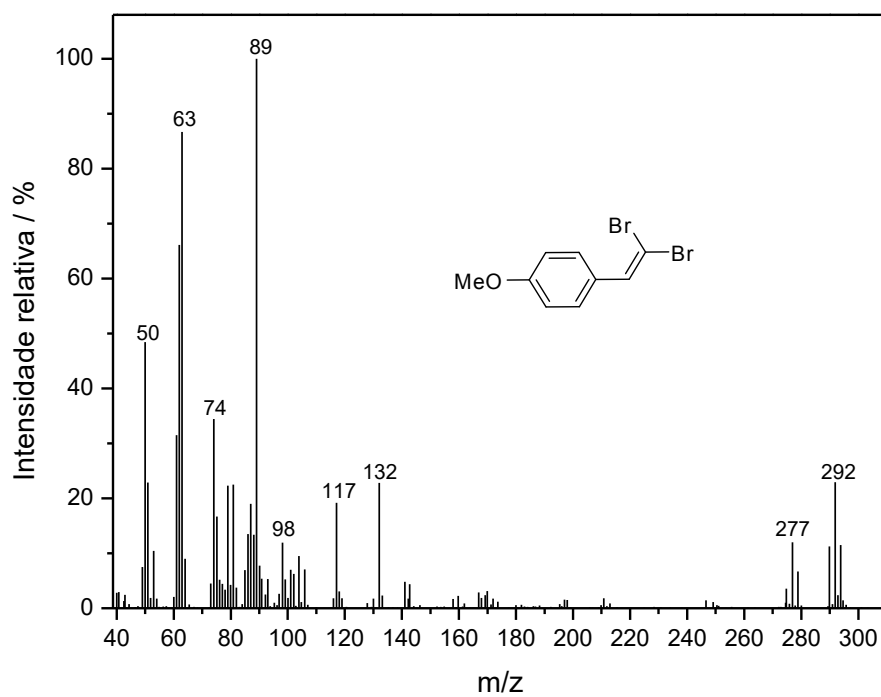


Figura A48 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 71.

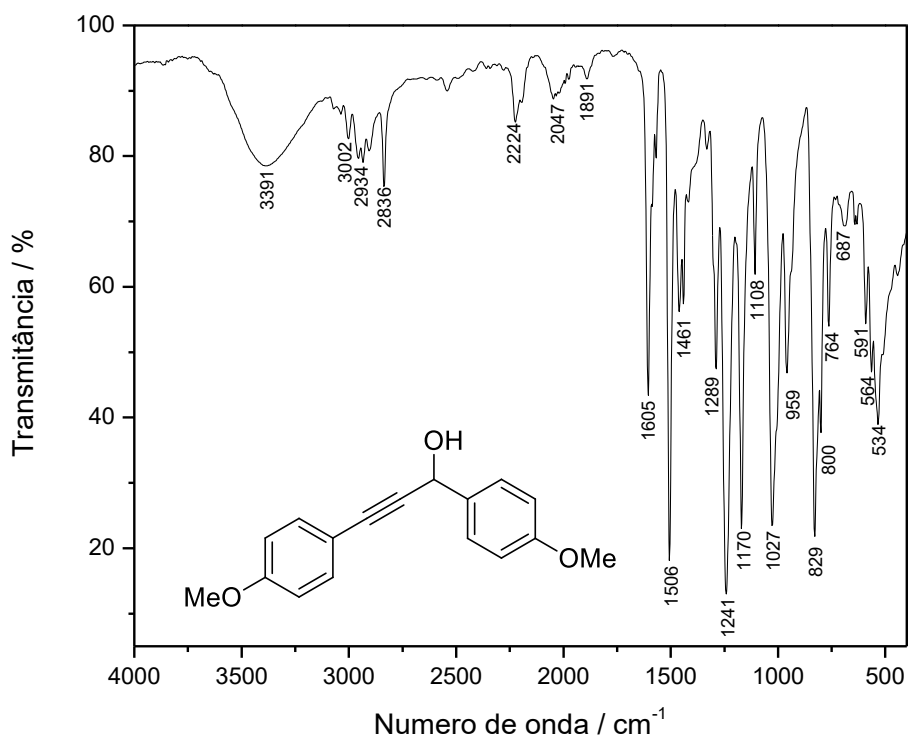


Figura A49 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **72**.

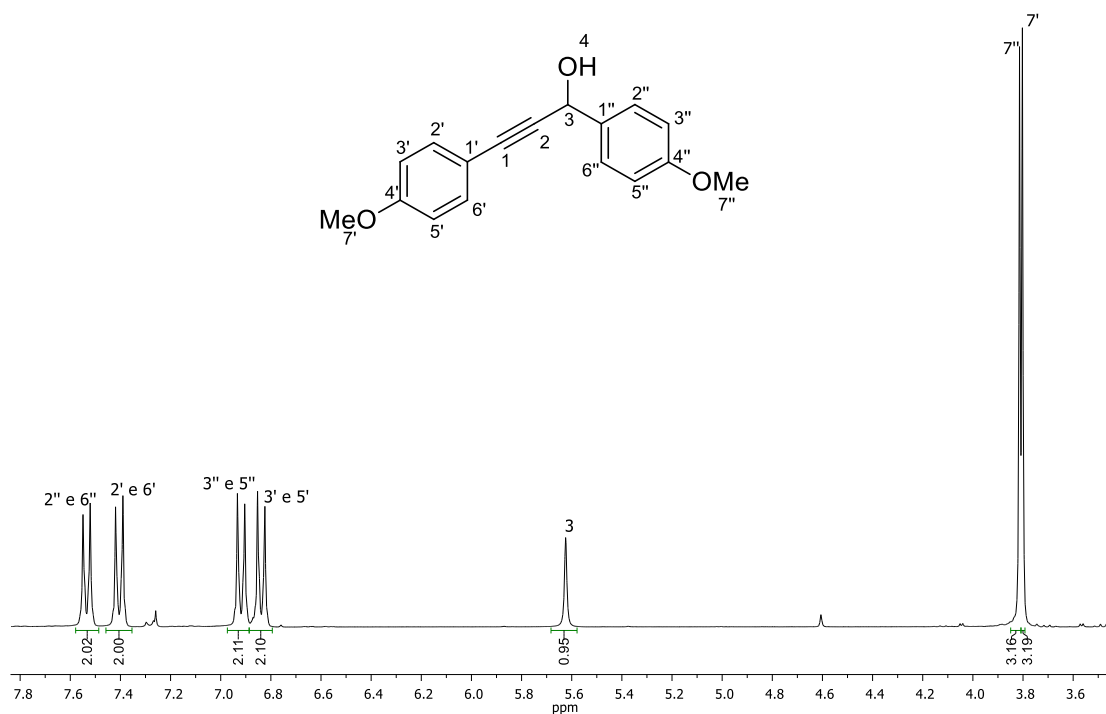


Figura A50 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **72**.

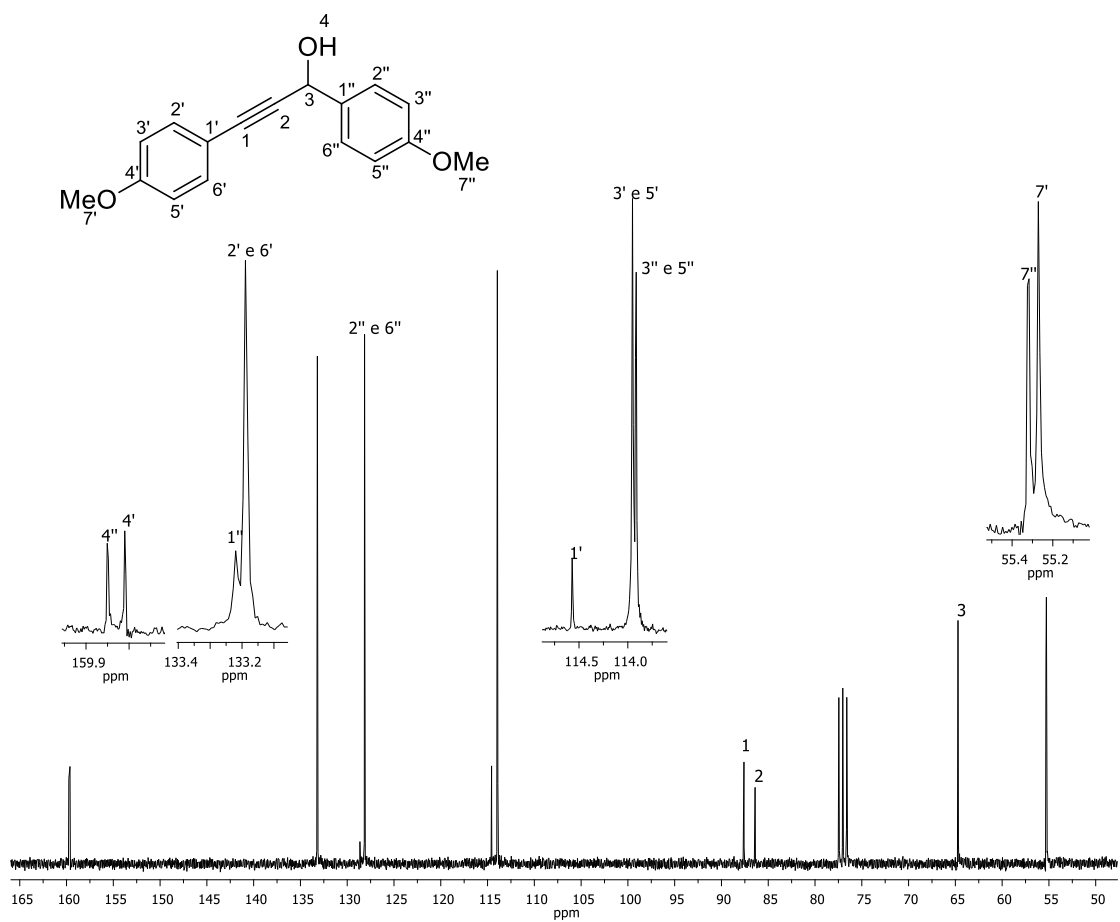


Figura A51 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **72**.

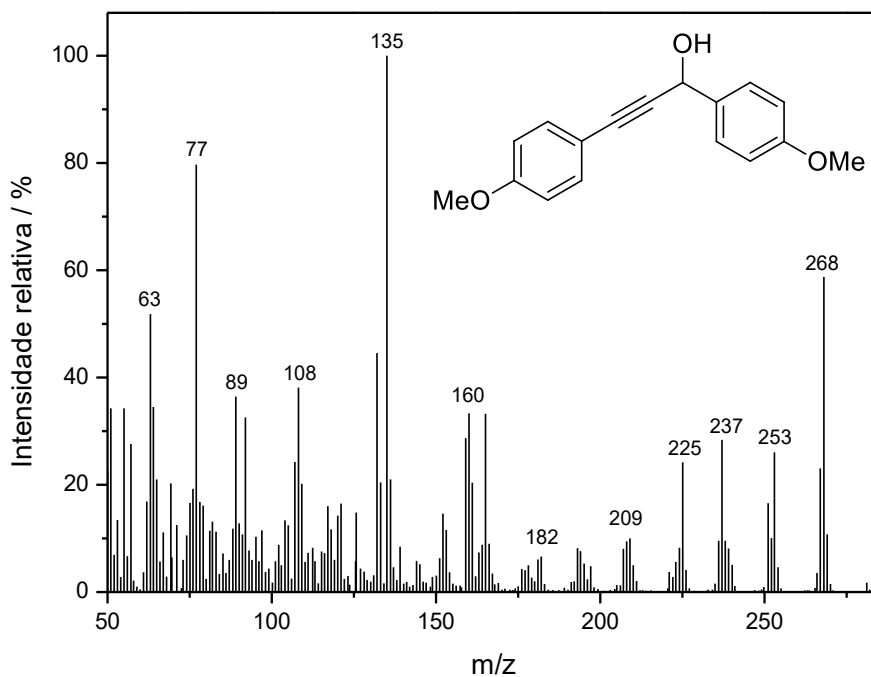


Figura A52 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **72**.

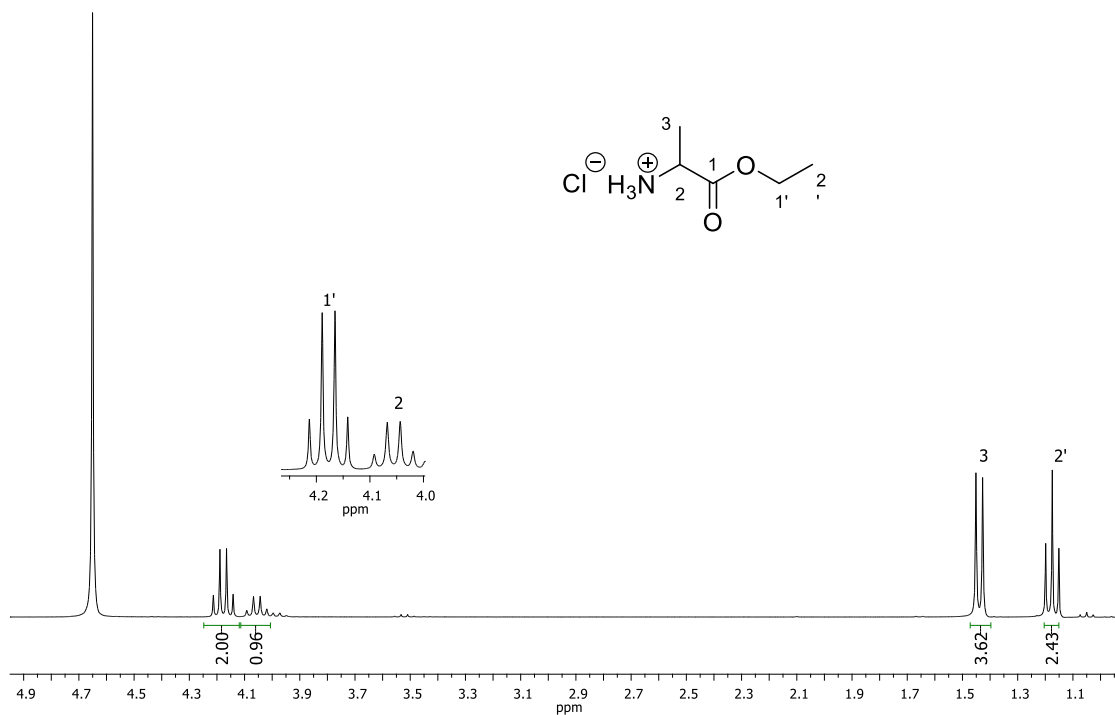


Figura A53 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) de 73.

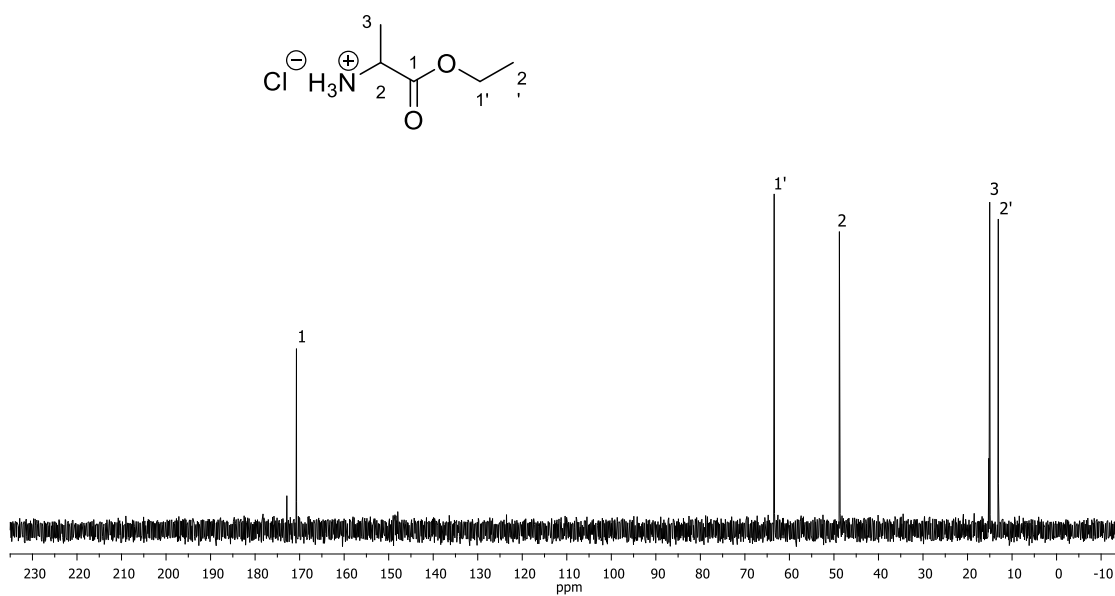


Figura A54 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, D₂O) de 73.

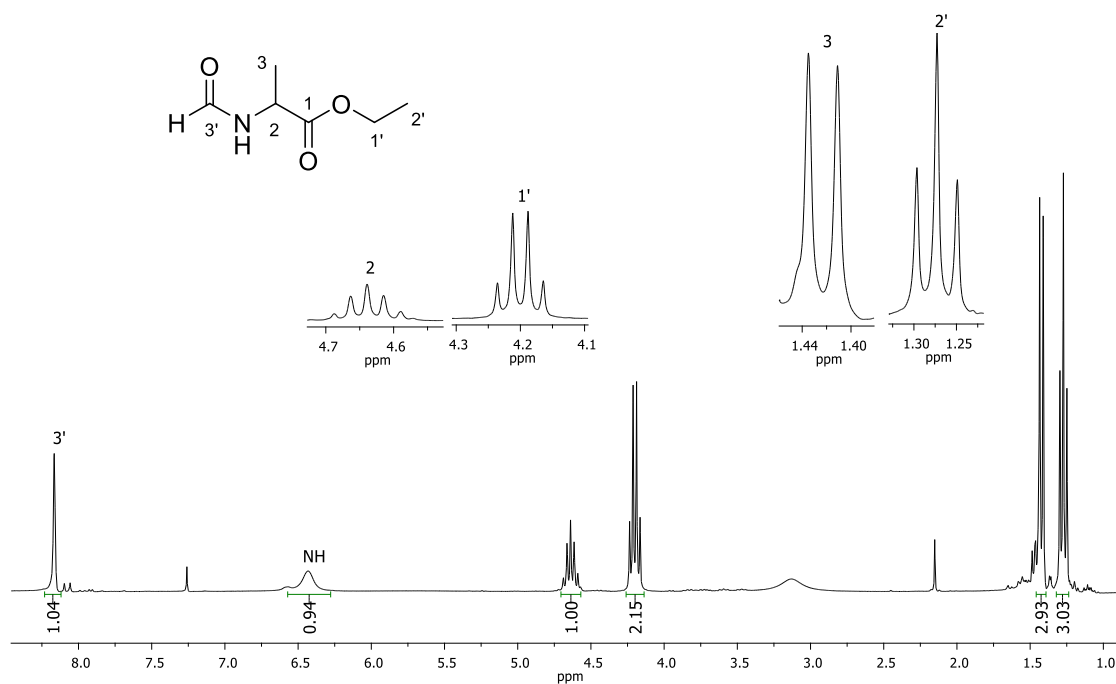


Figura A55 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) de 74.

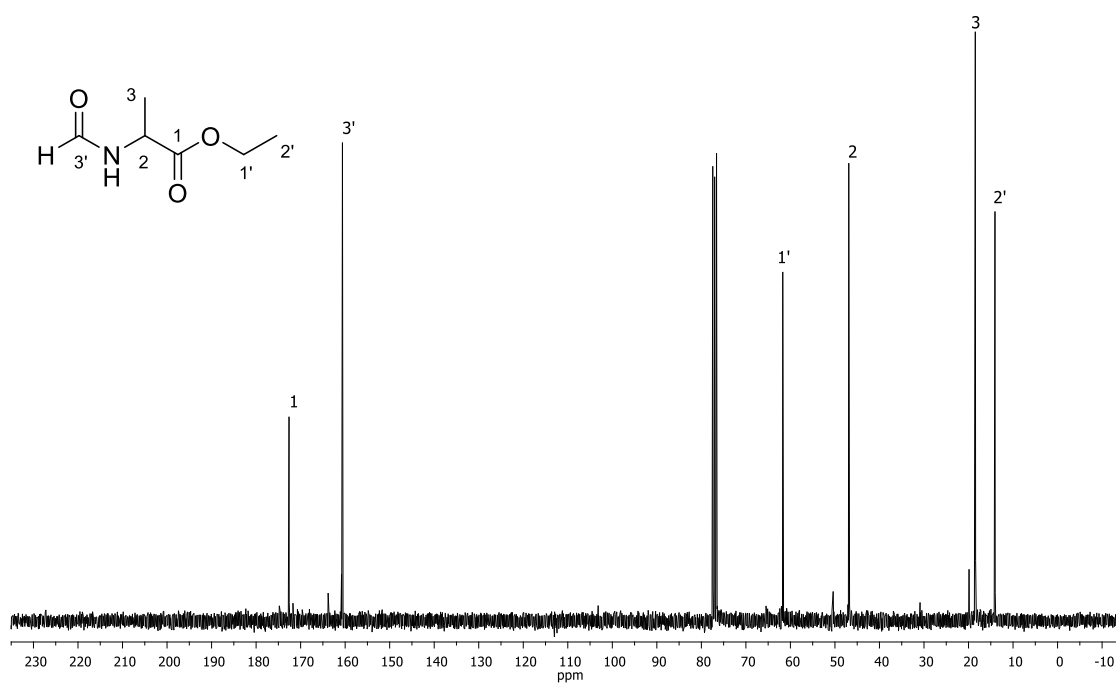


Figura A56 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de 74.

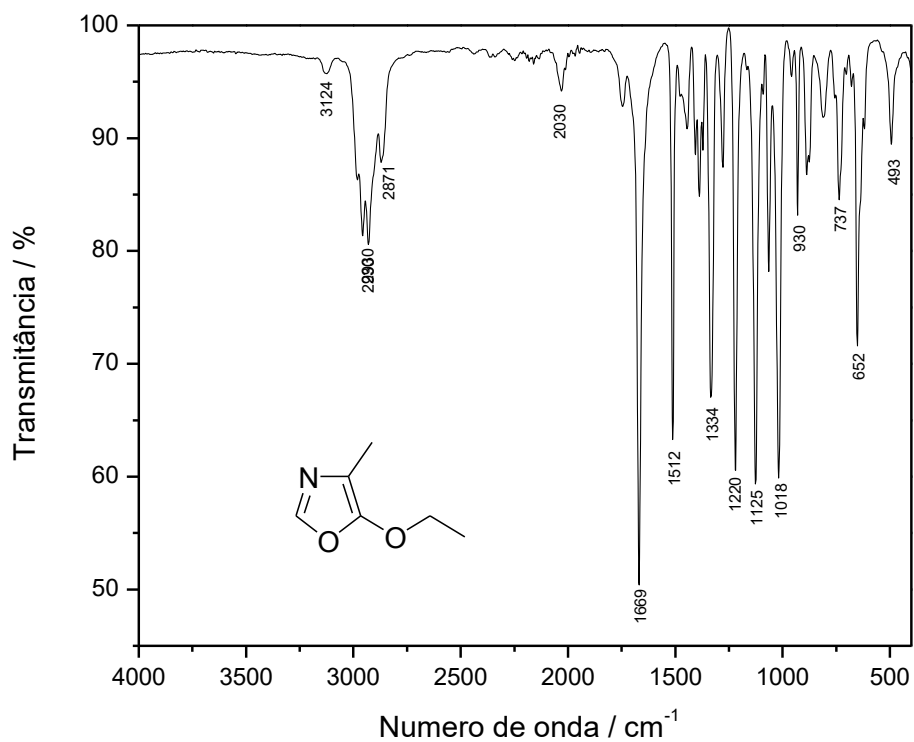


Figura A57 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **75**.

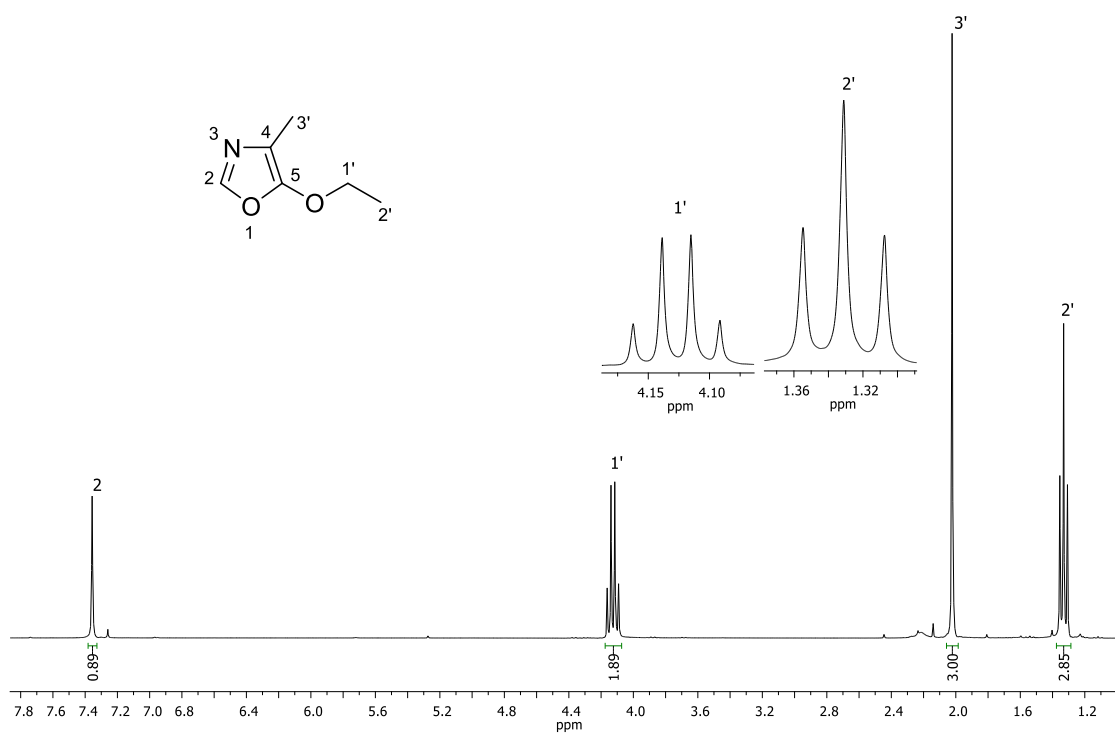


Figura A58 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **75**.

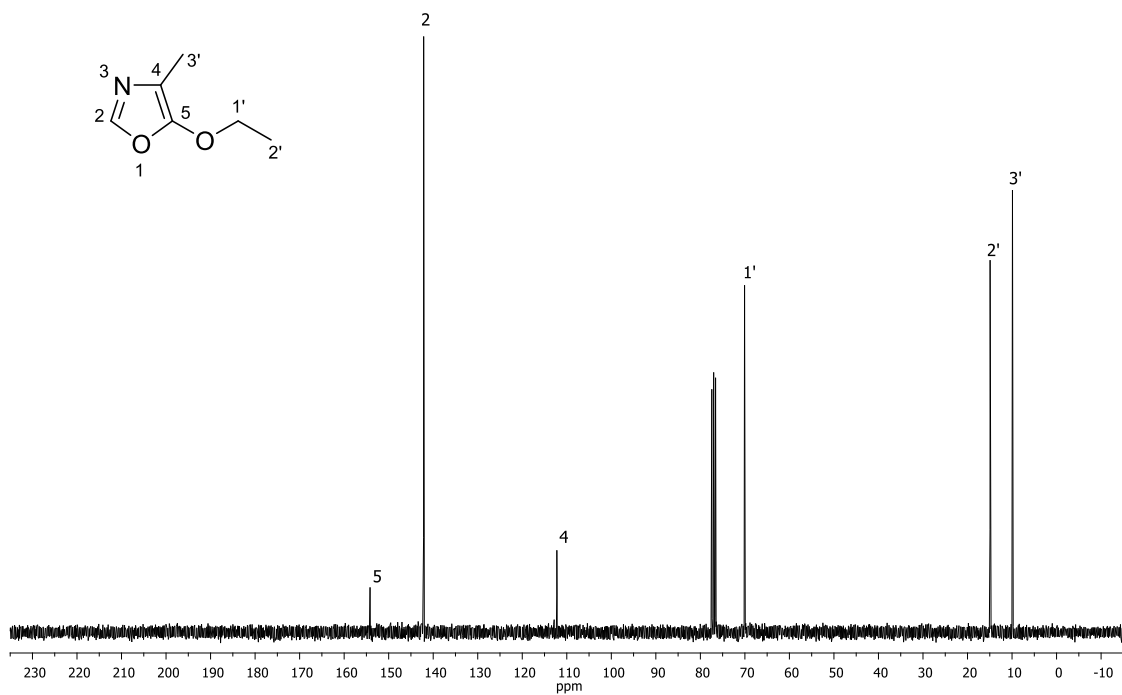


Figura A59 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **75**.

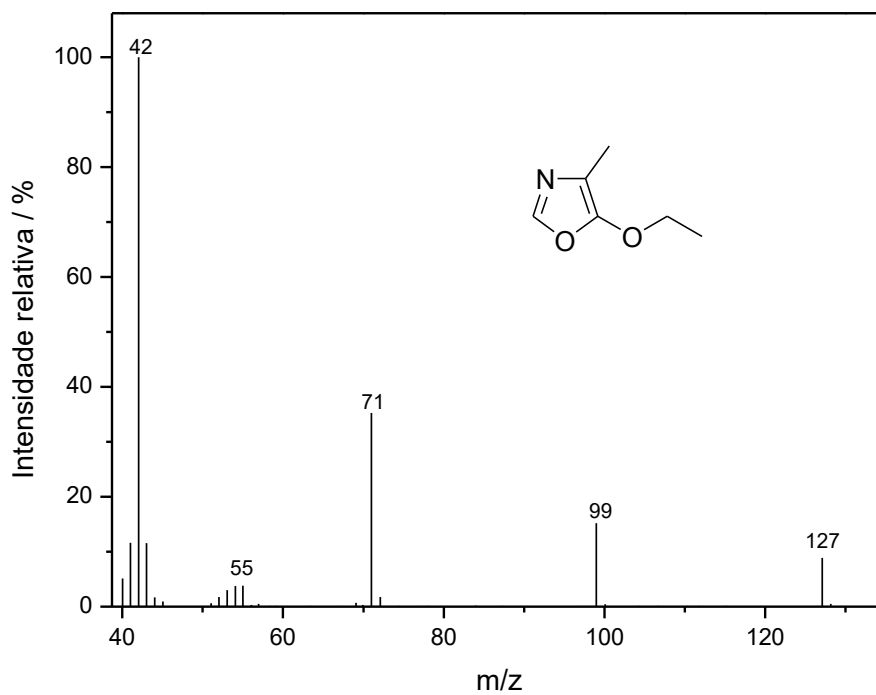


Figura A60 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **75**.

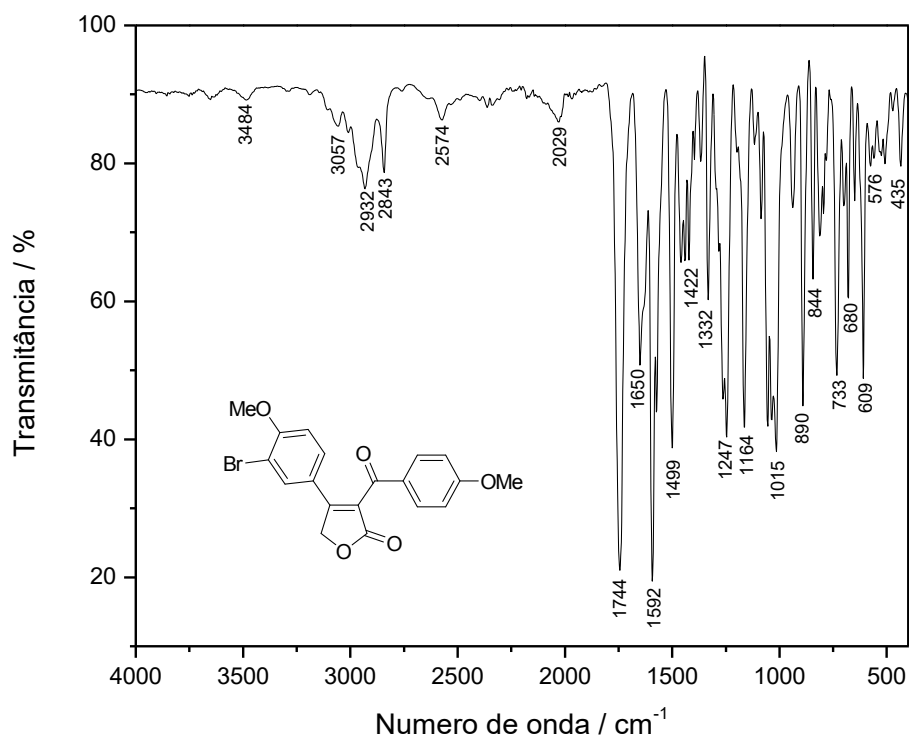


Figura A61 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **79a**.

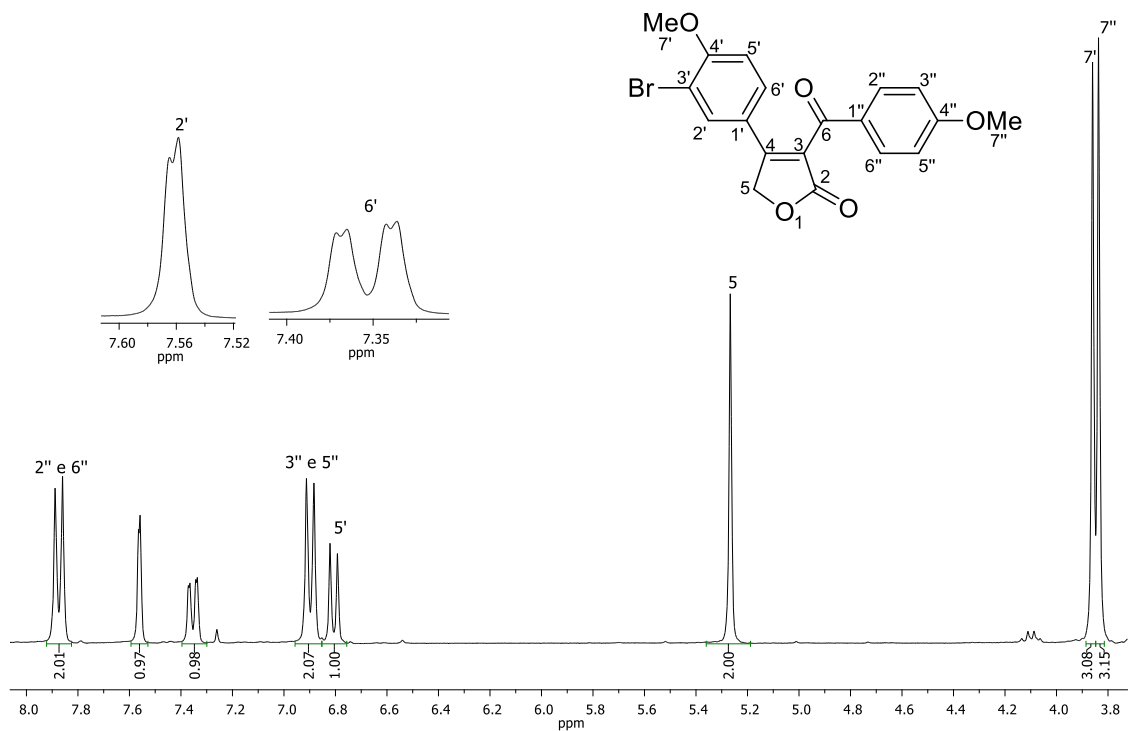


Figura A62 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **79a**.

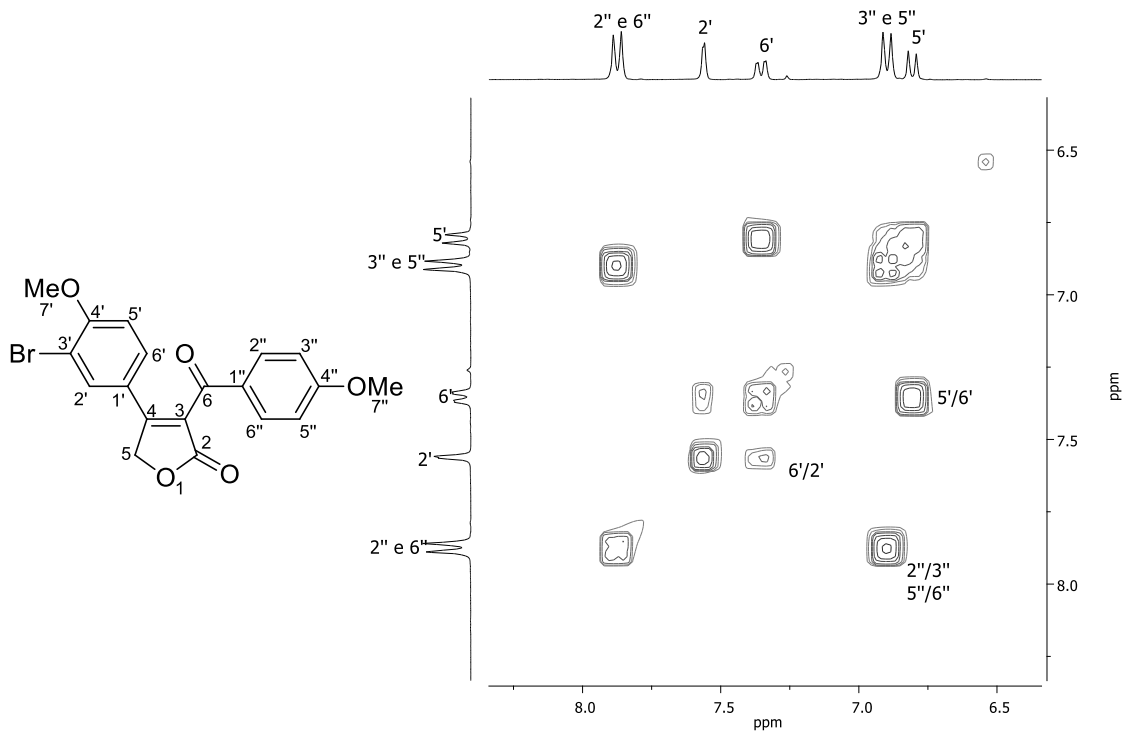


Figura A63 – Mapa de contorno COSY de 79a.

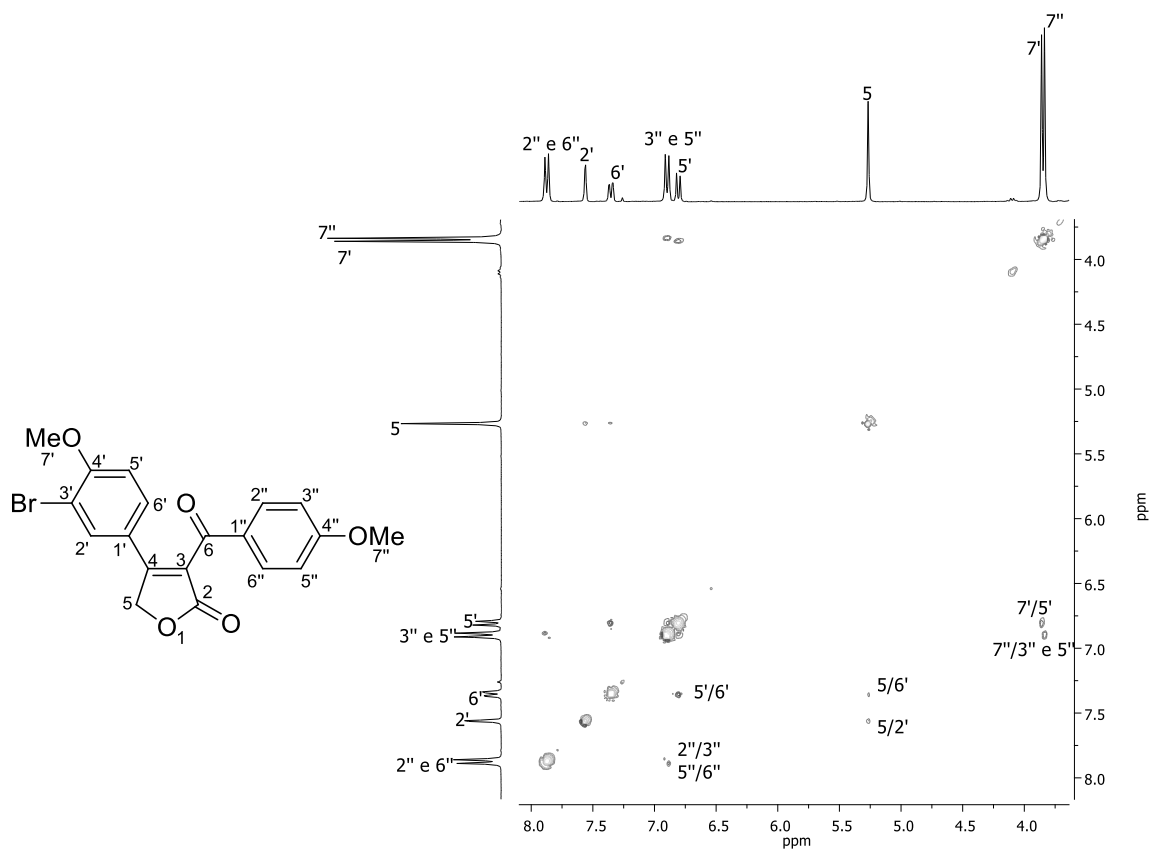


Figura A64 – Mapa de contorno NOESY de 79a.

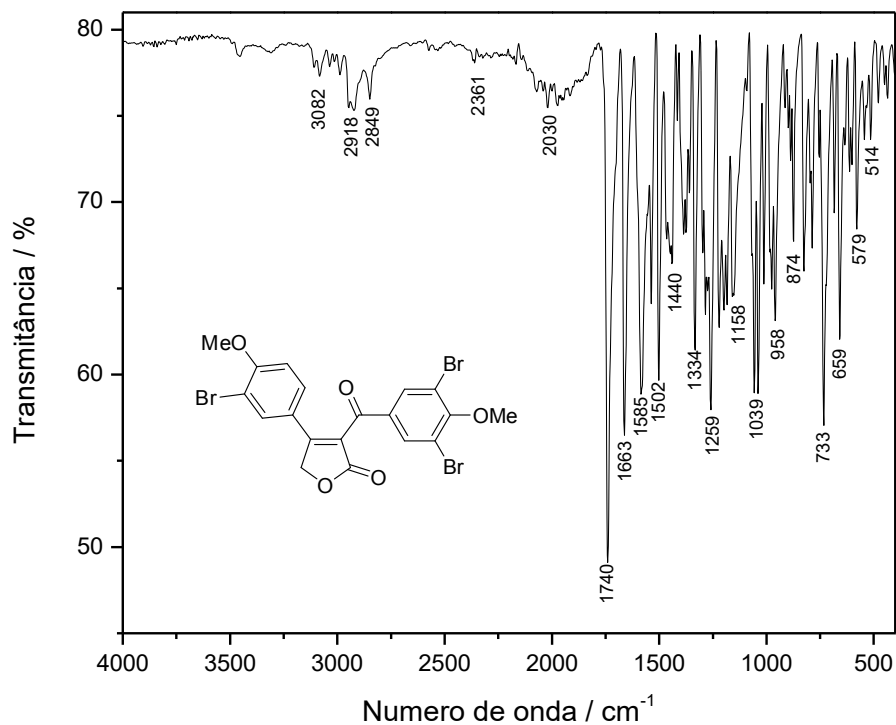


Figura A69 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **79b**.

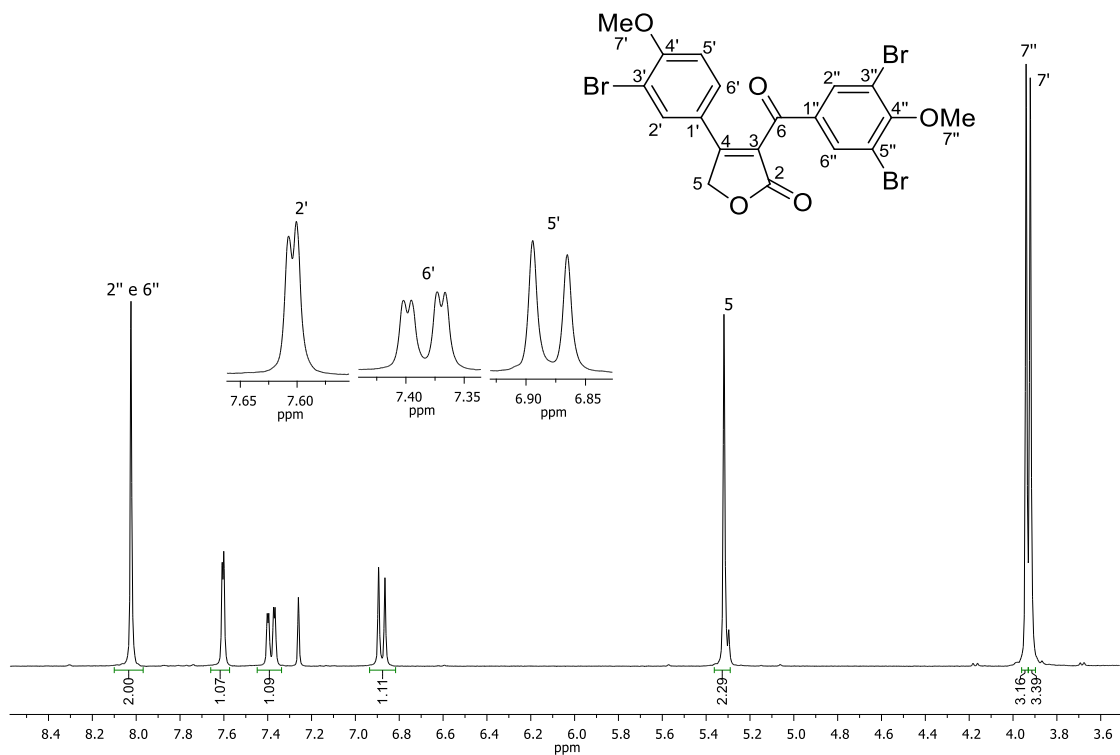


Figura A70 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **79b**.

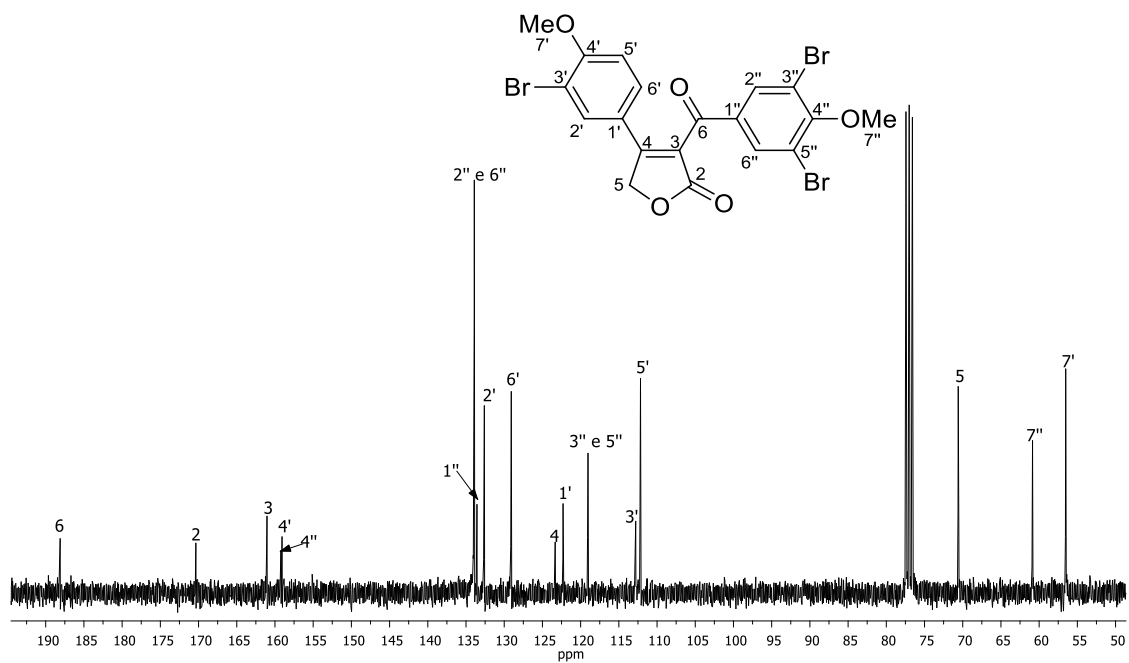


Figura A71 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **79b**.

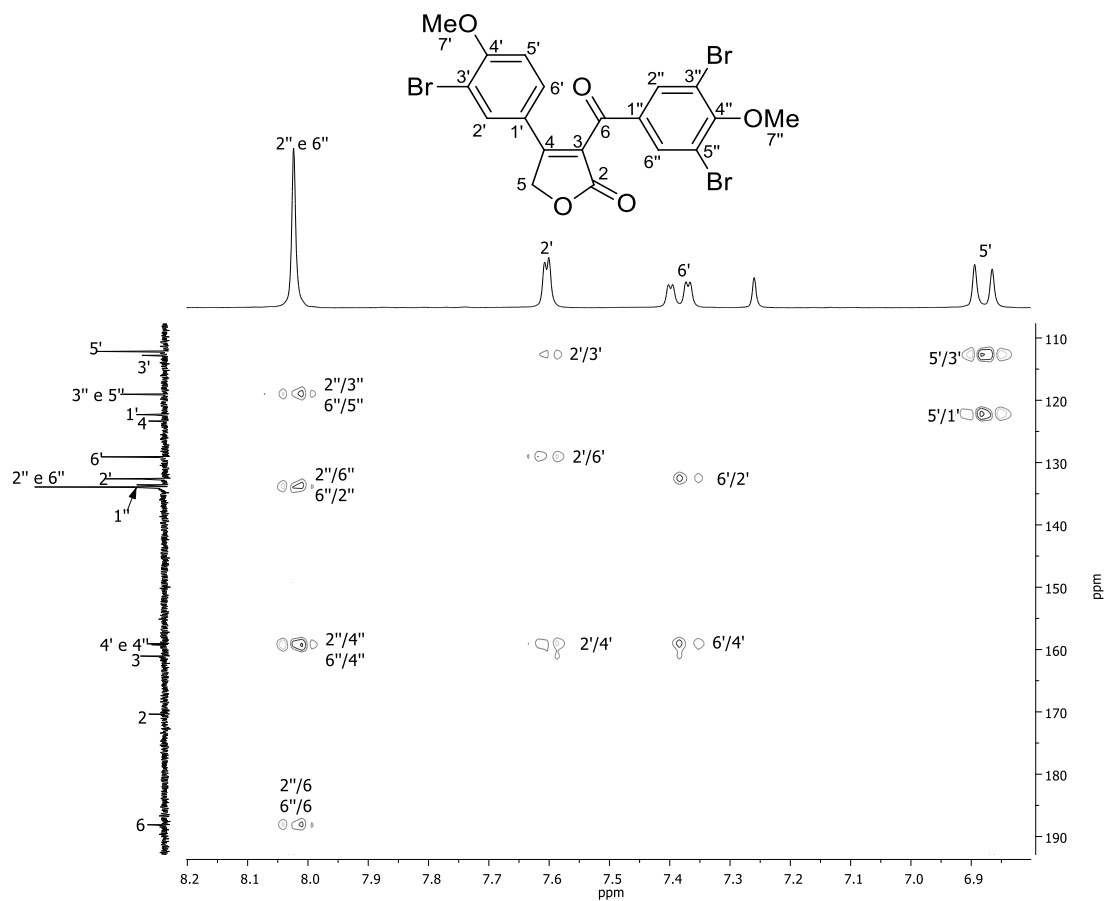


Figura A72 – Mapa de contorno *HMBC* de **79b**.

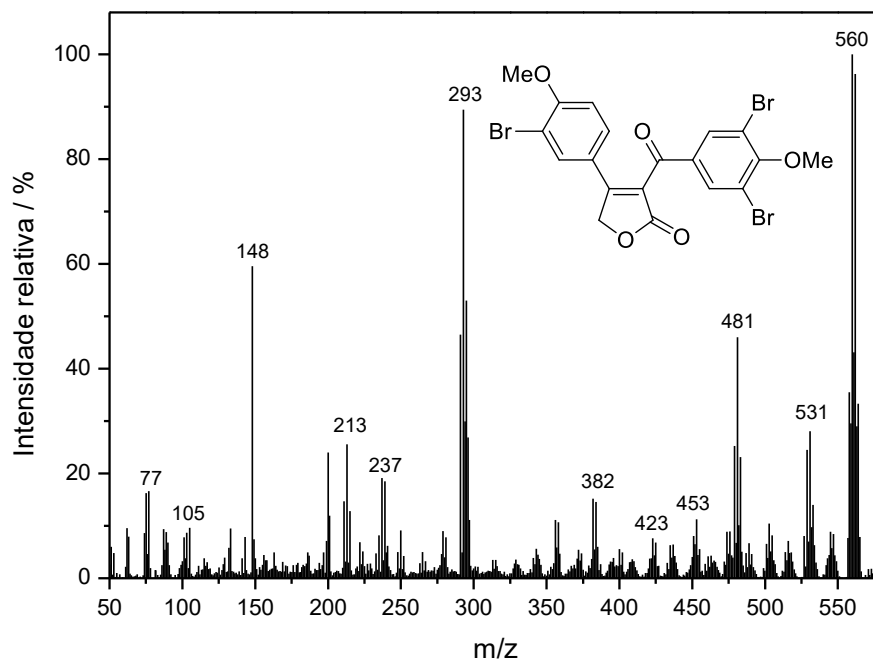


Figura A73 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **79b**.

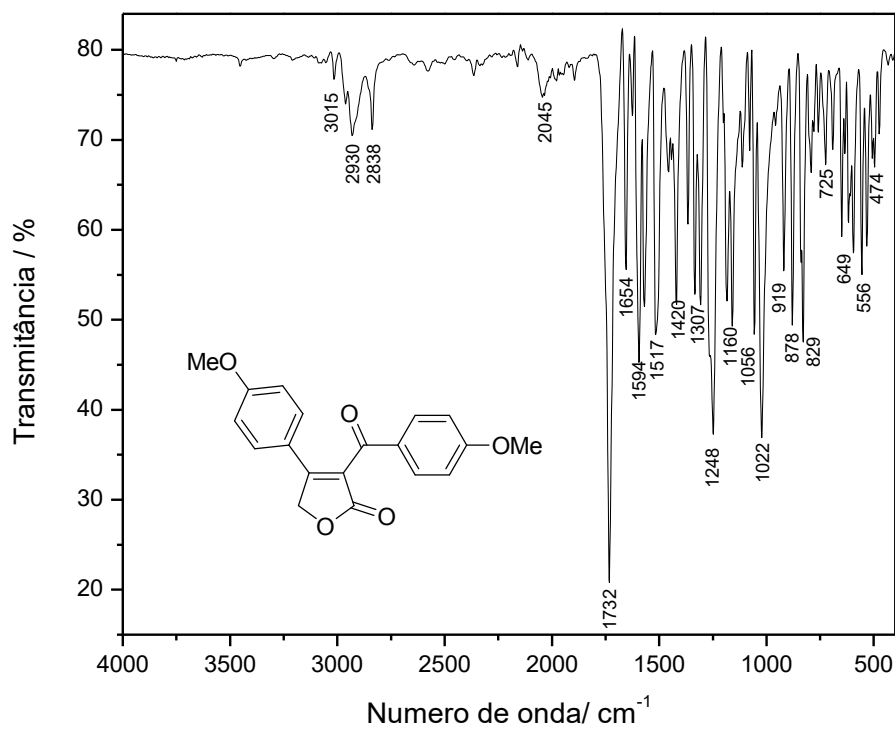


Figura A74 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **79d**.

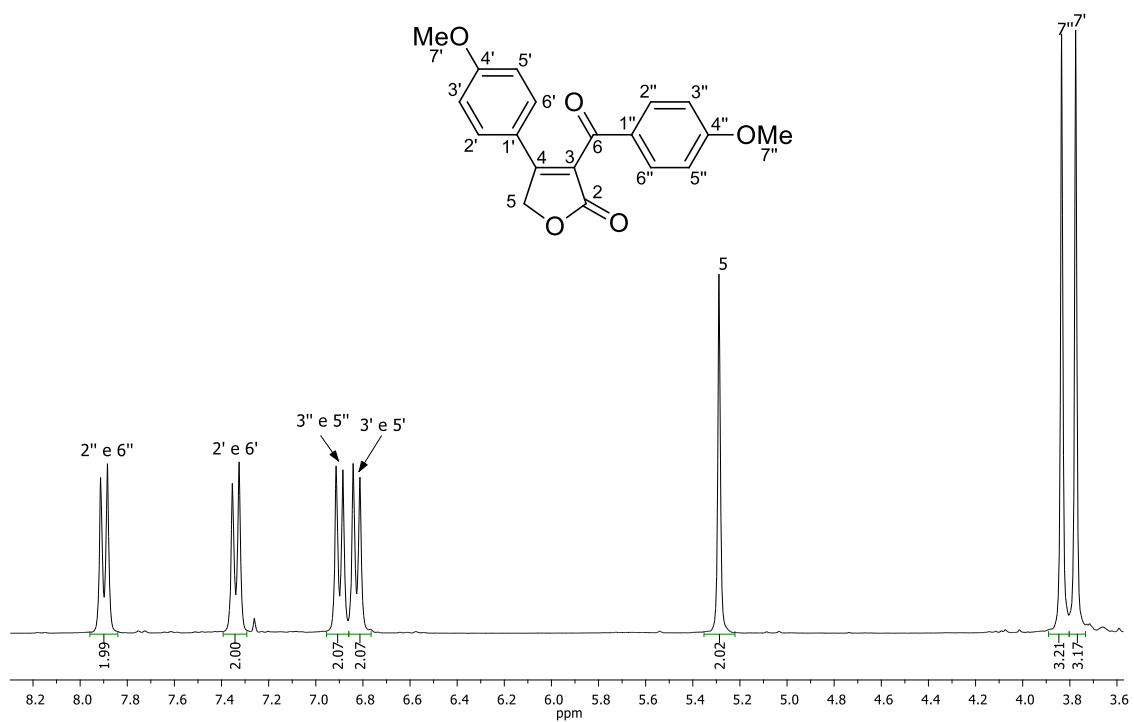


Figura A75 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **79d**.

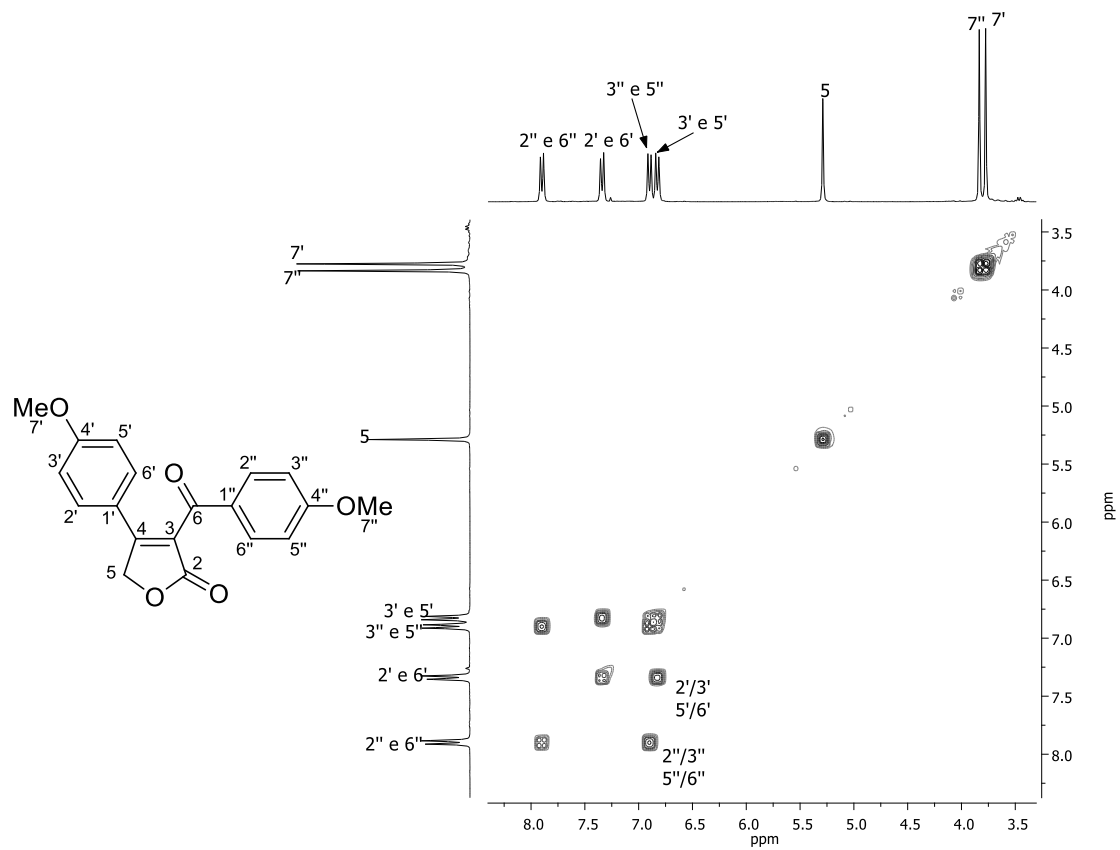


Figura A76 – Mapa de contorno COSY de **79d**.

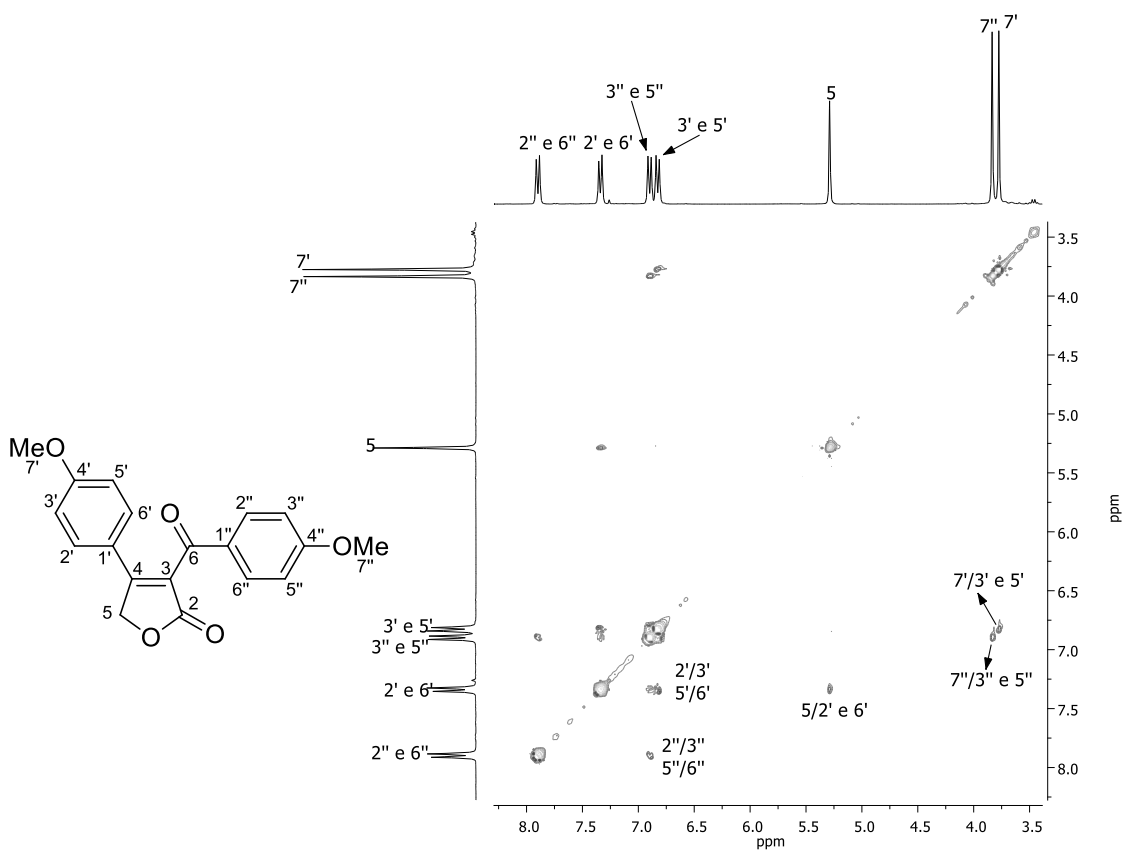


Figura A77 – Mapa de contorno NOESY de **79d**.

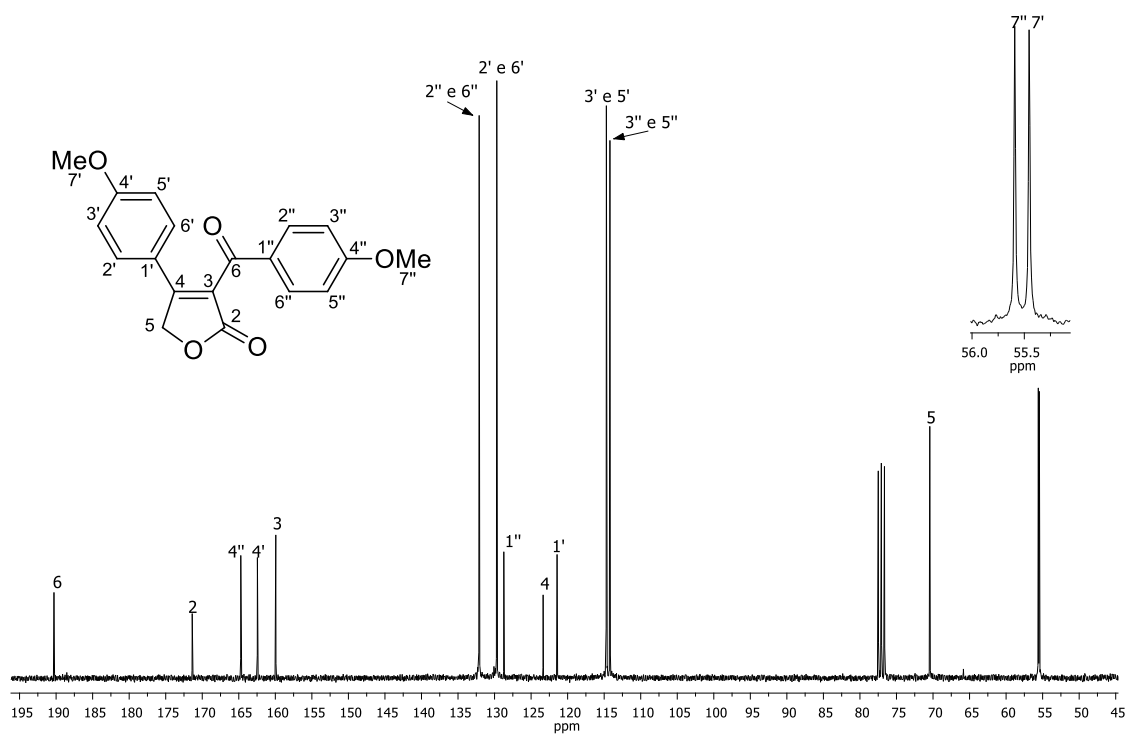


Figura A78 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **79d**.

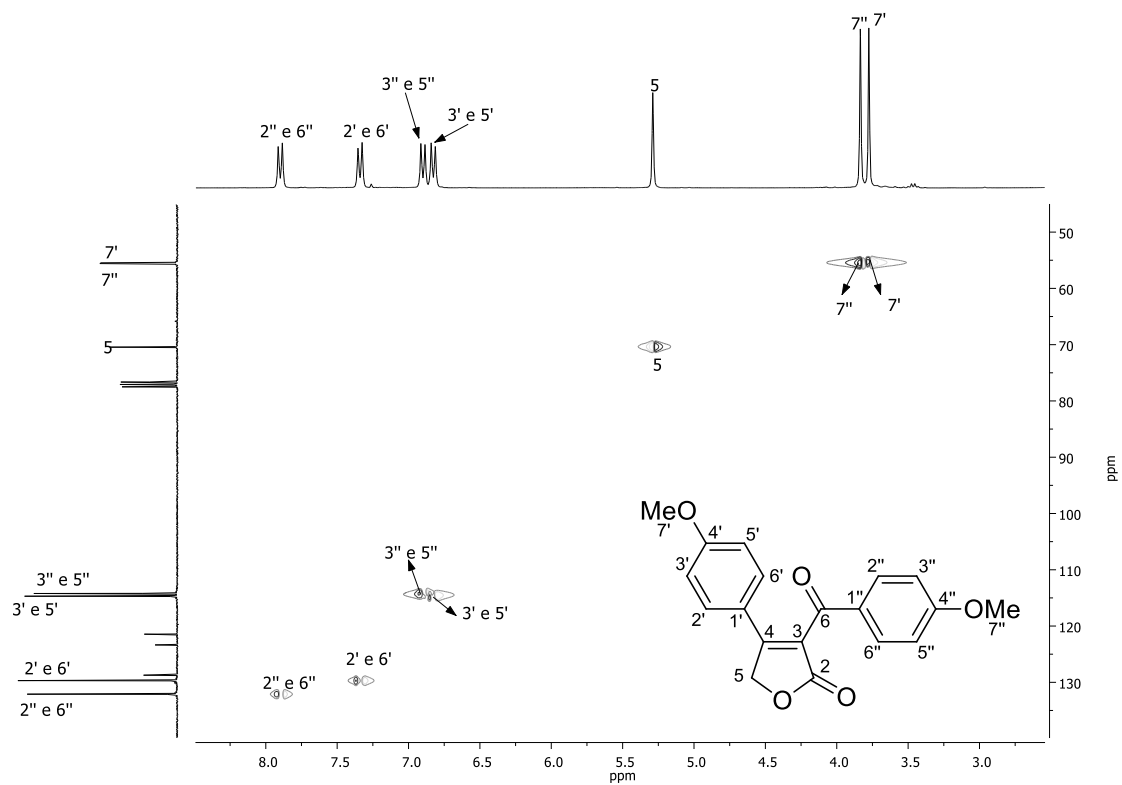


Figura A79 – Mapa de contorno *HSQC* de 79d.

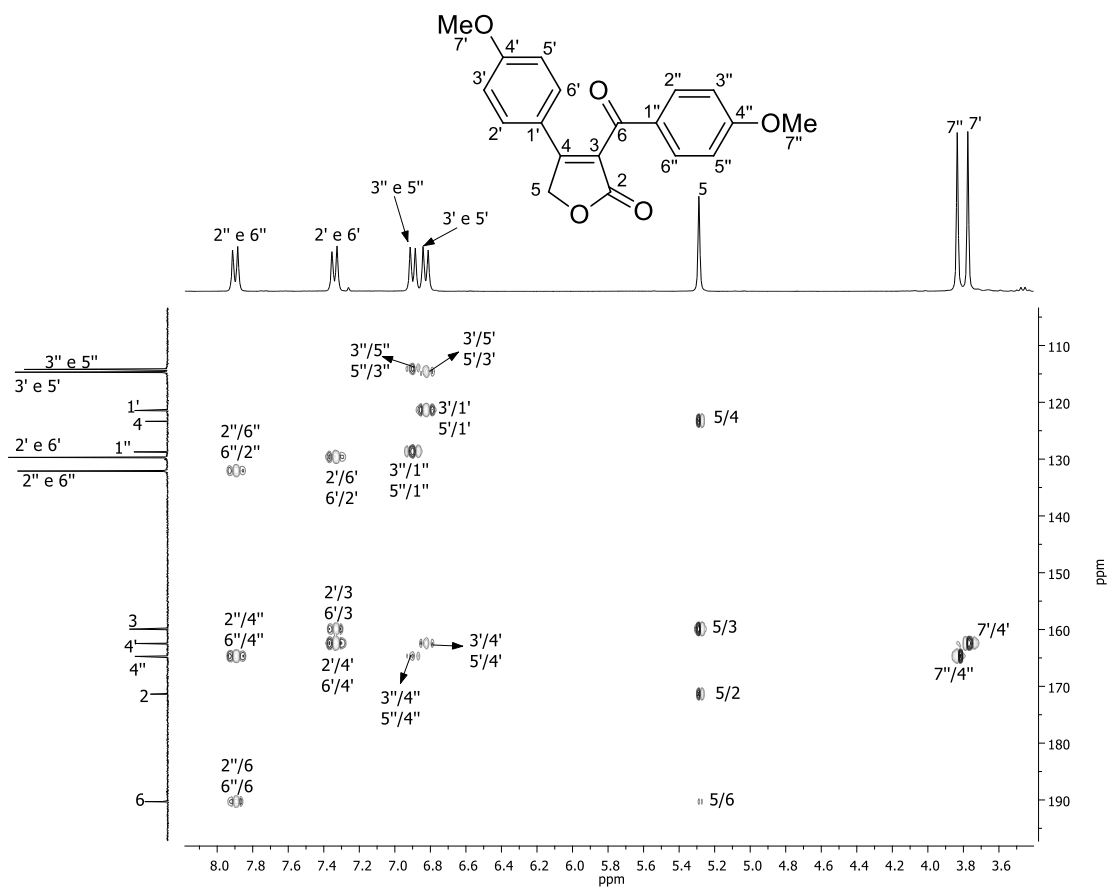


Figura A80 – Mapa de contorno *HMBC* de 79d.

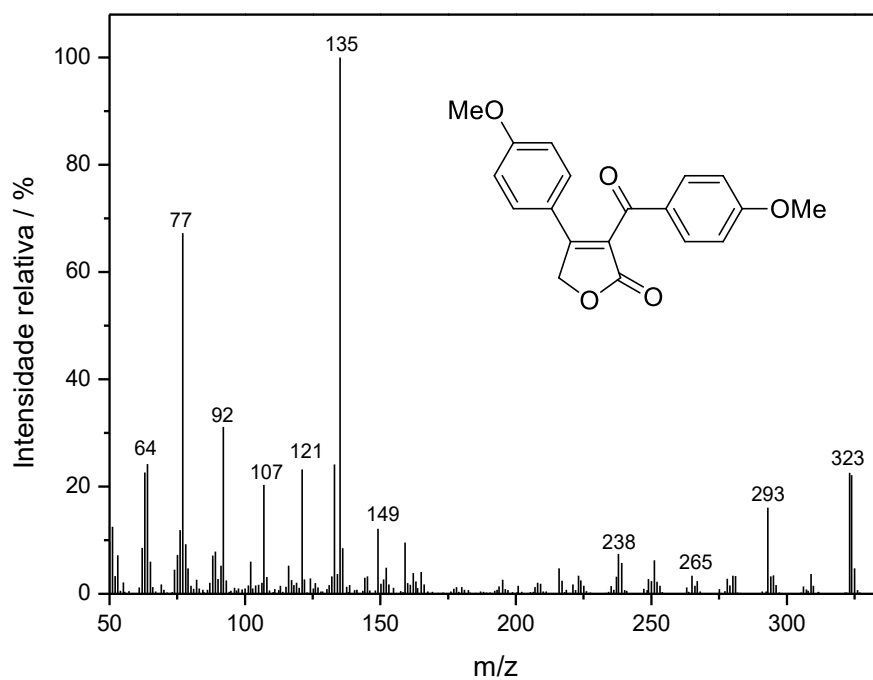


Figura A81 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **79d**.

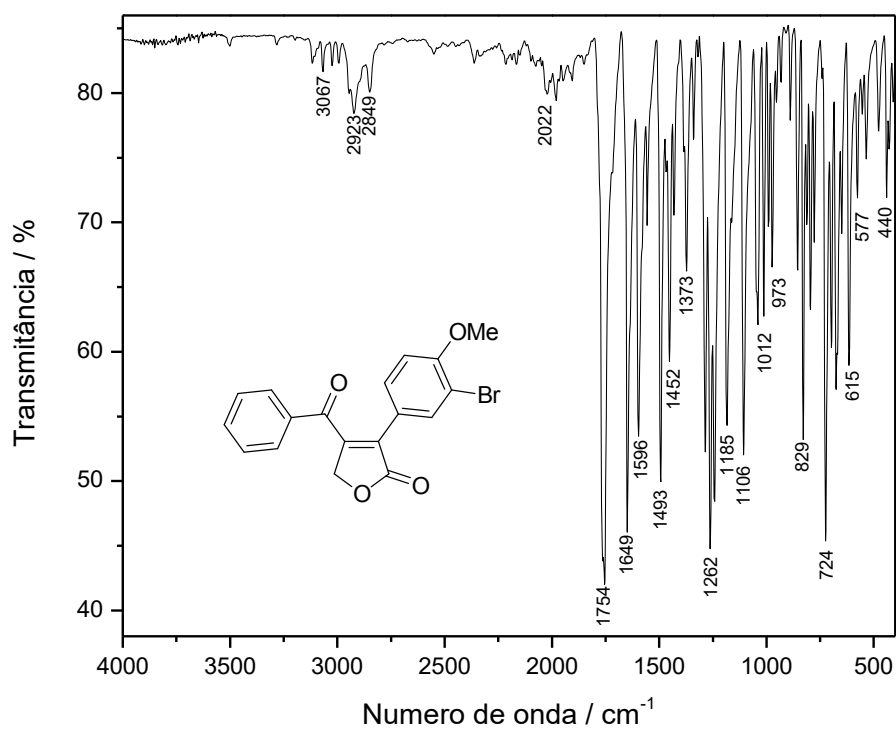


Figura A82 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **80c**.

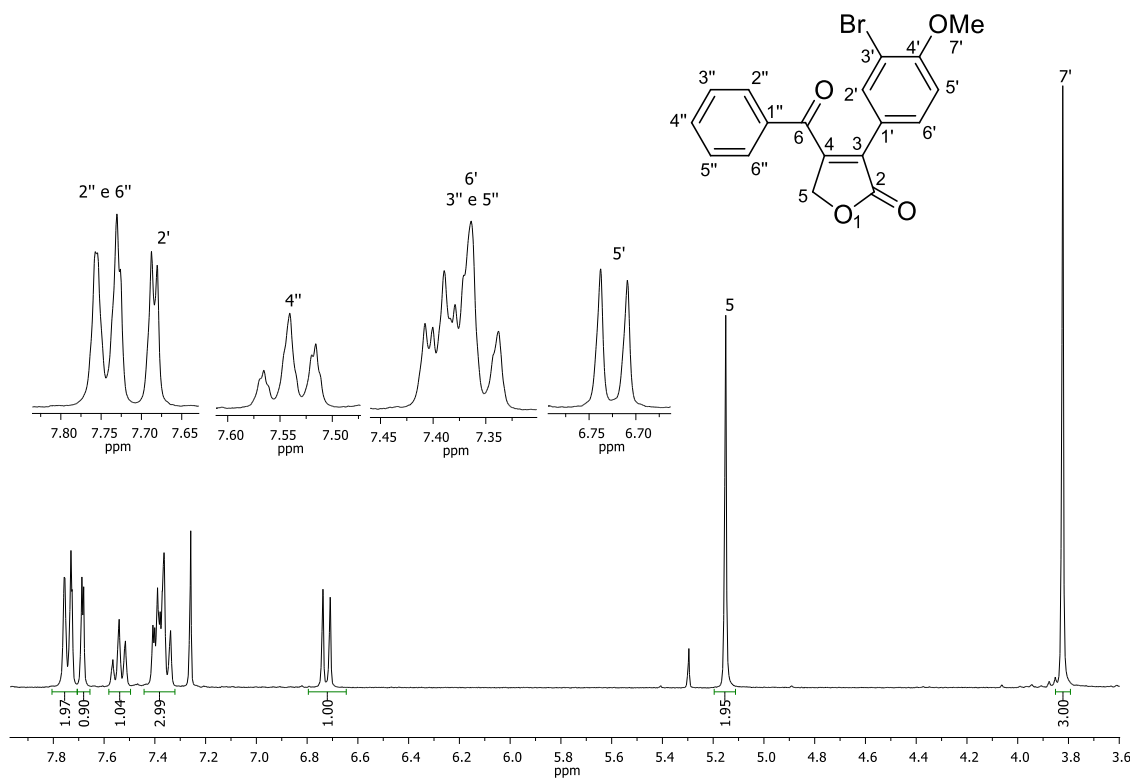


Figura A83 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) de **80c**.

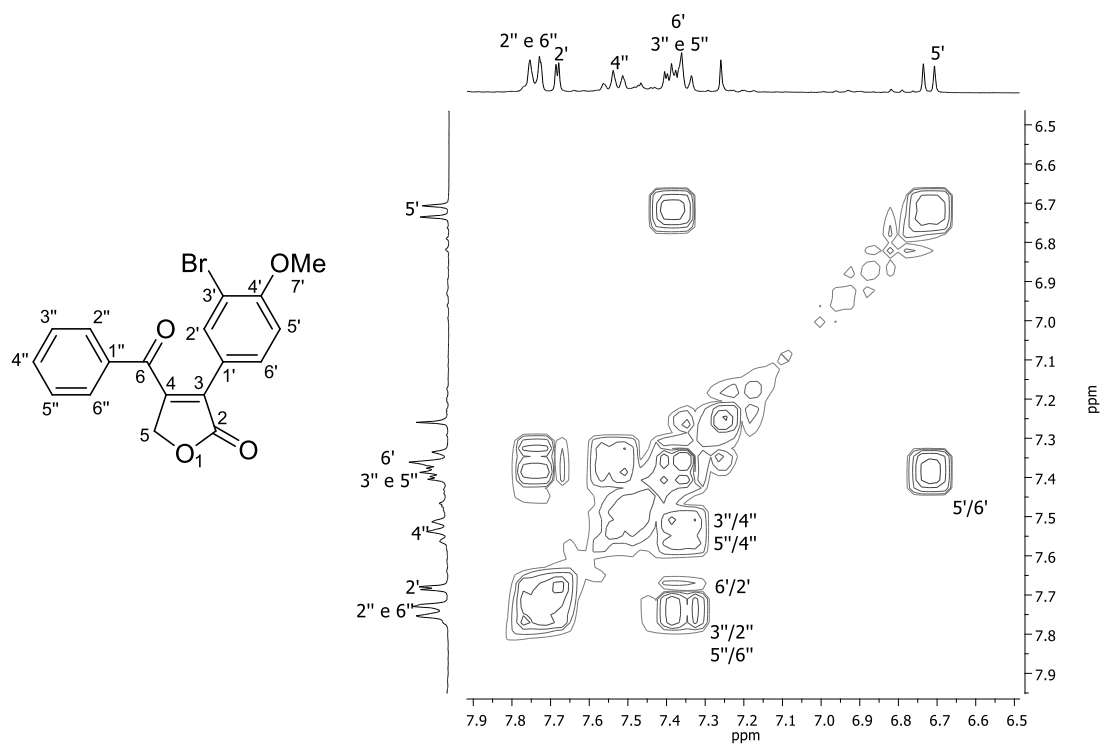


Figura A84 – Mapa de contorno COSY de **80c**.

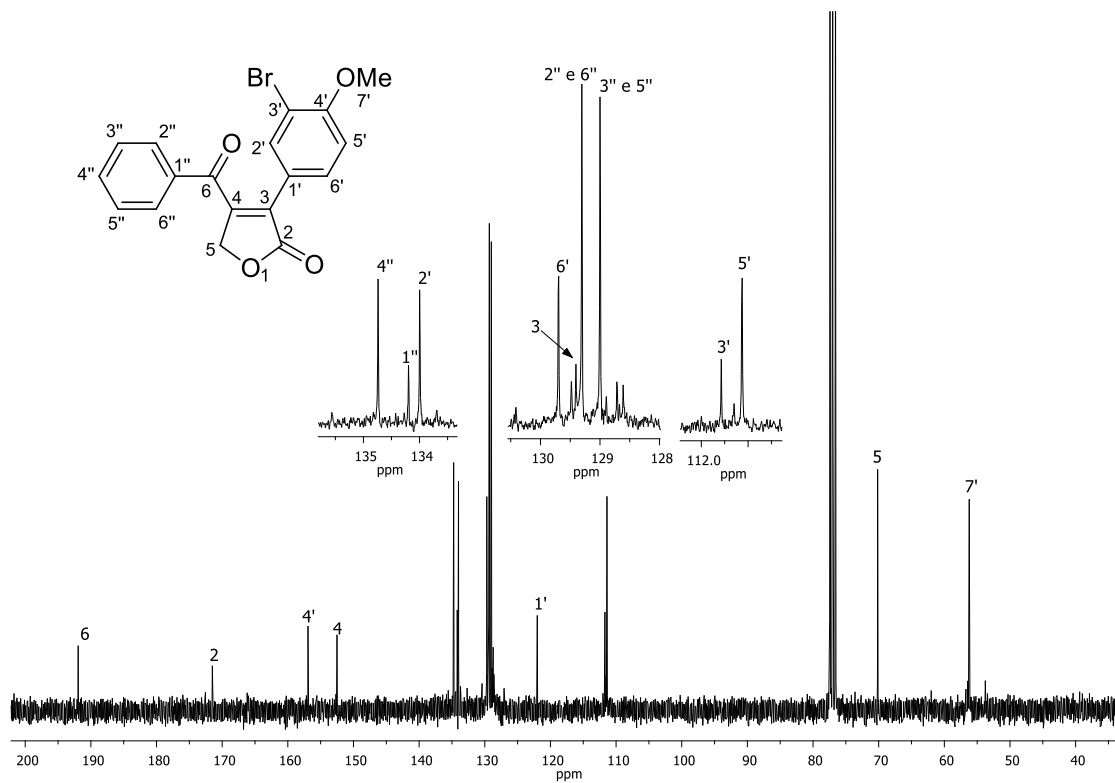


Figura A85 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **80c**.

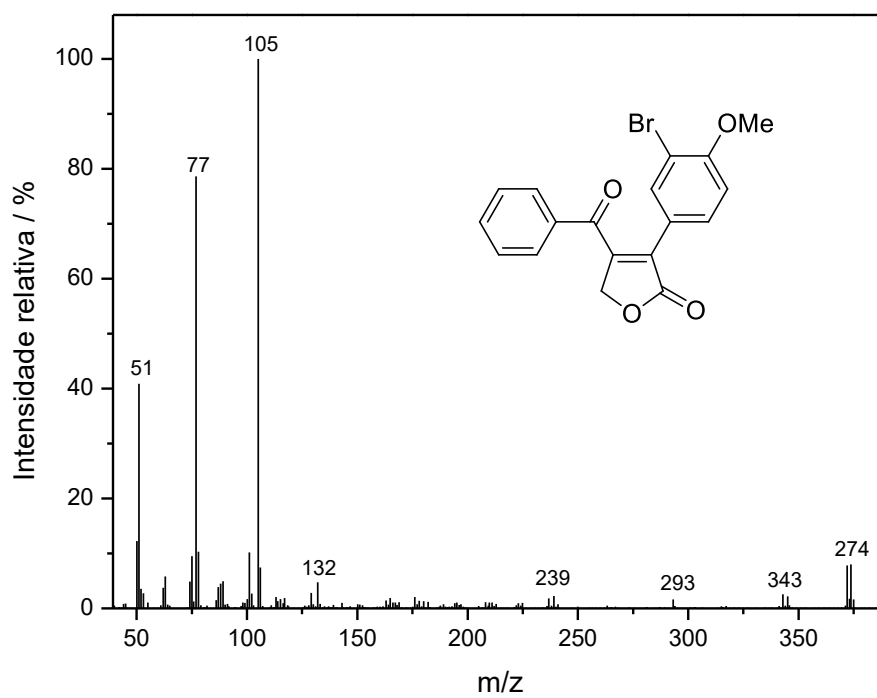


Figura A86 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **80c**.

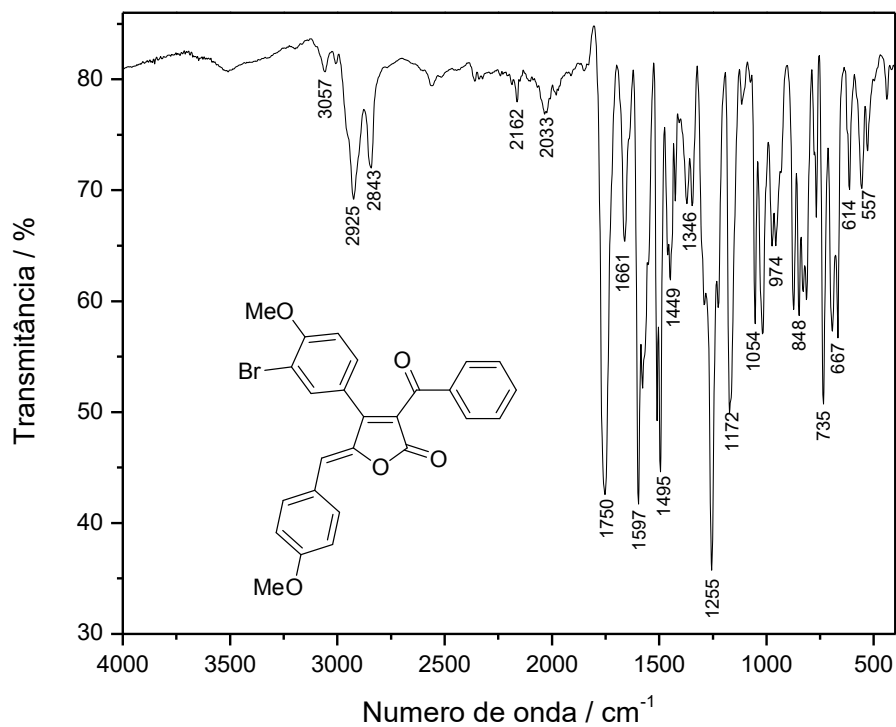


Figura A87 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **81a**.

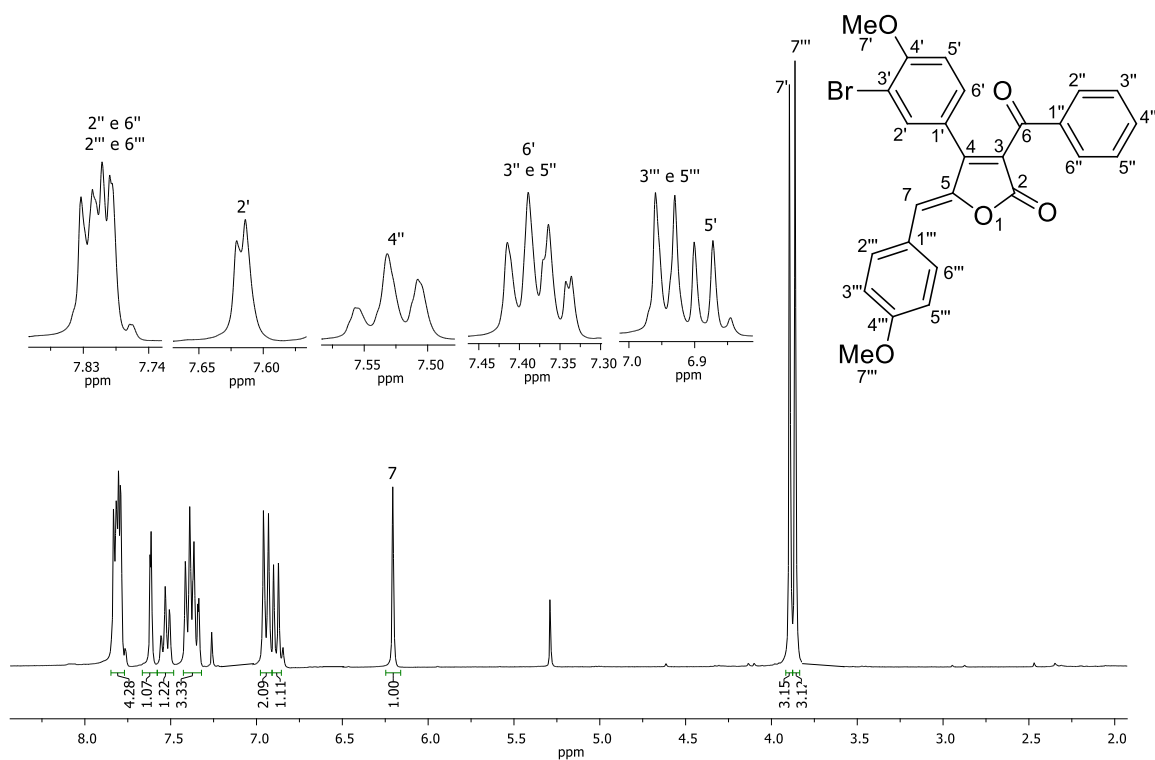


Figura A88 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81a**.

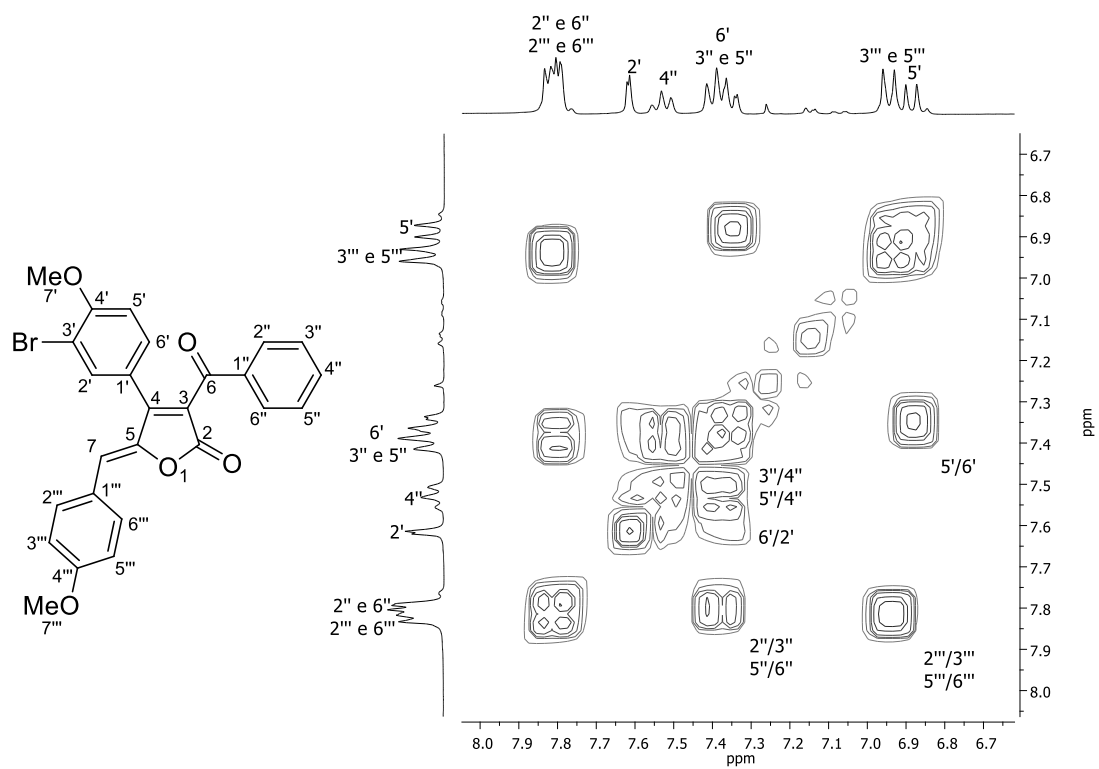


Figura A89 – Mapa de contorno COSY de 81a.

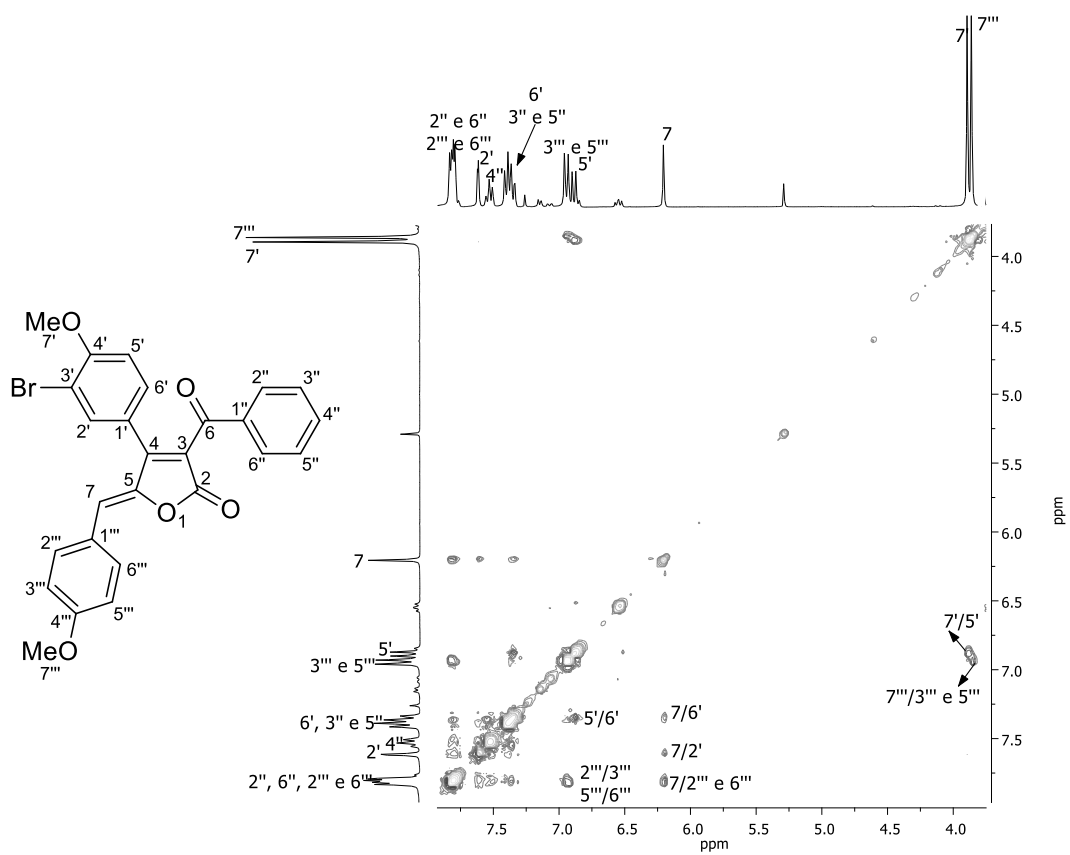


Figura A90 – Mapa de contorno NOESY de 81a.

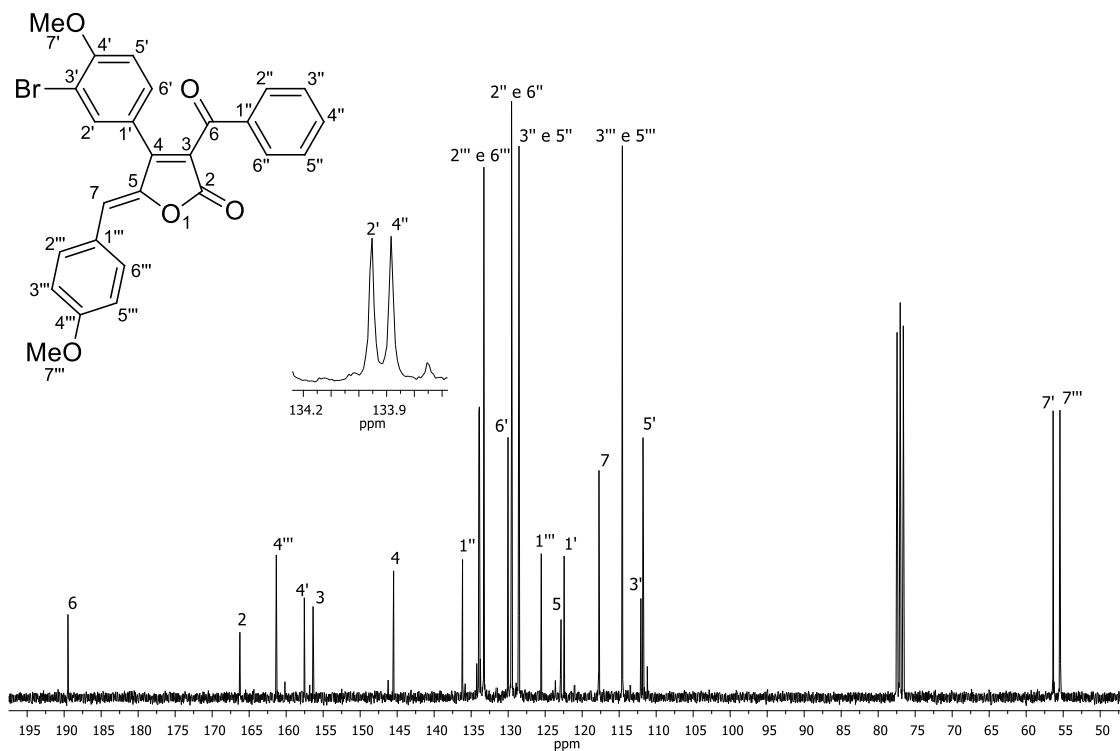


Figura A91 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **81a**.

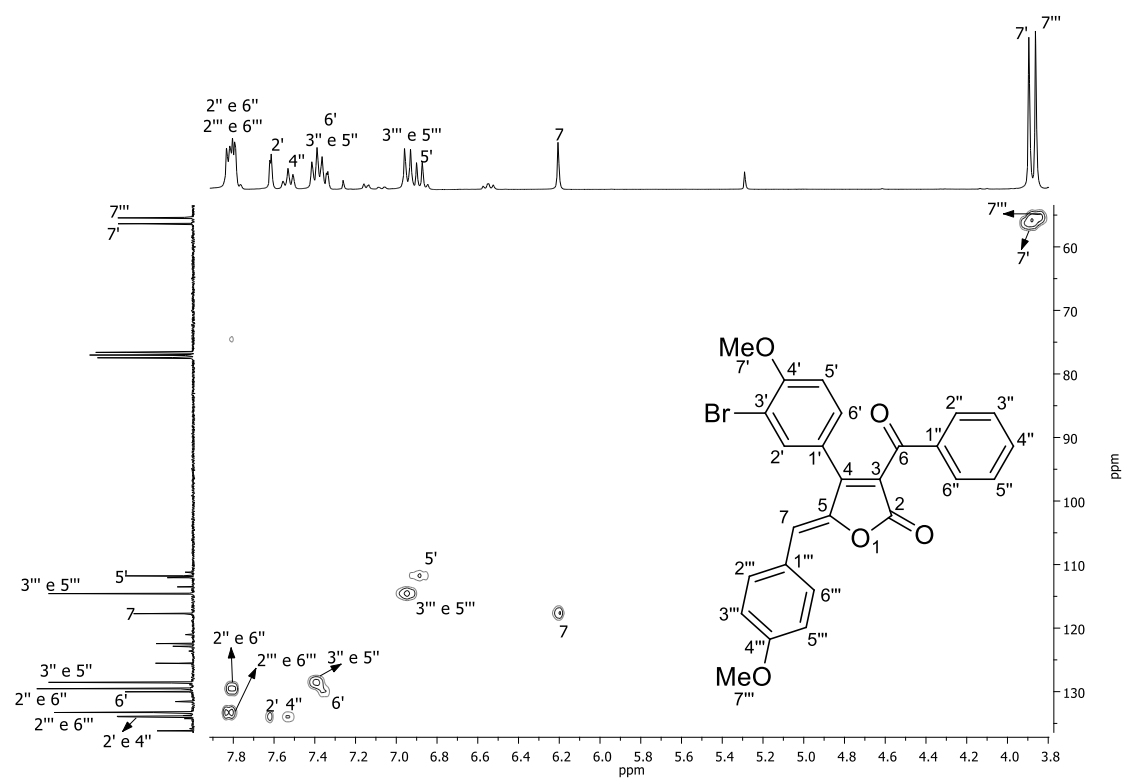


Figura A92 – Mapa de contorno *HSQC* de **81a**.

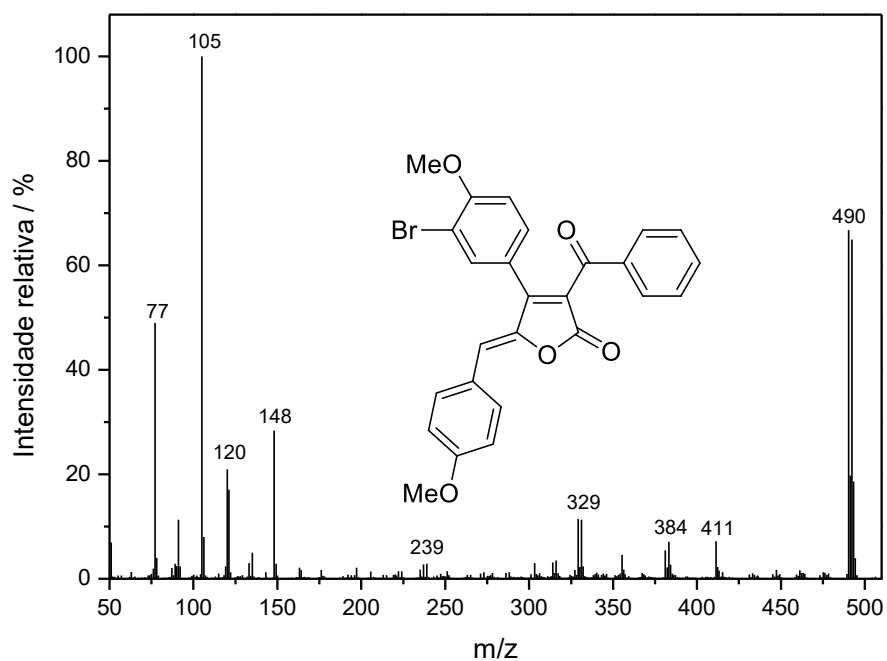


Figura A93 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **81a**.

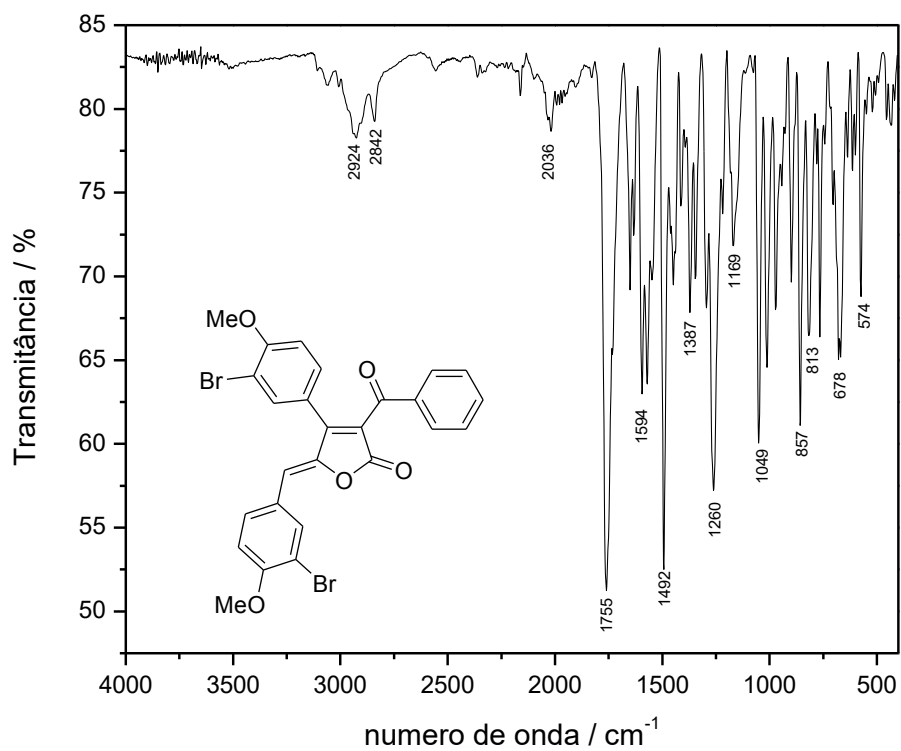


Figura A94 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **81b**.

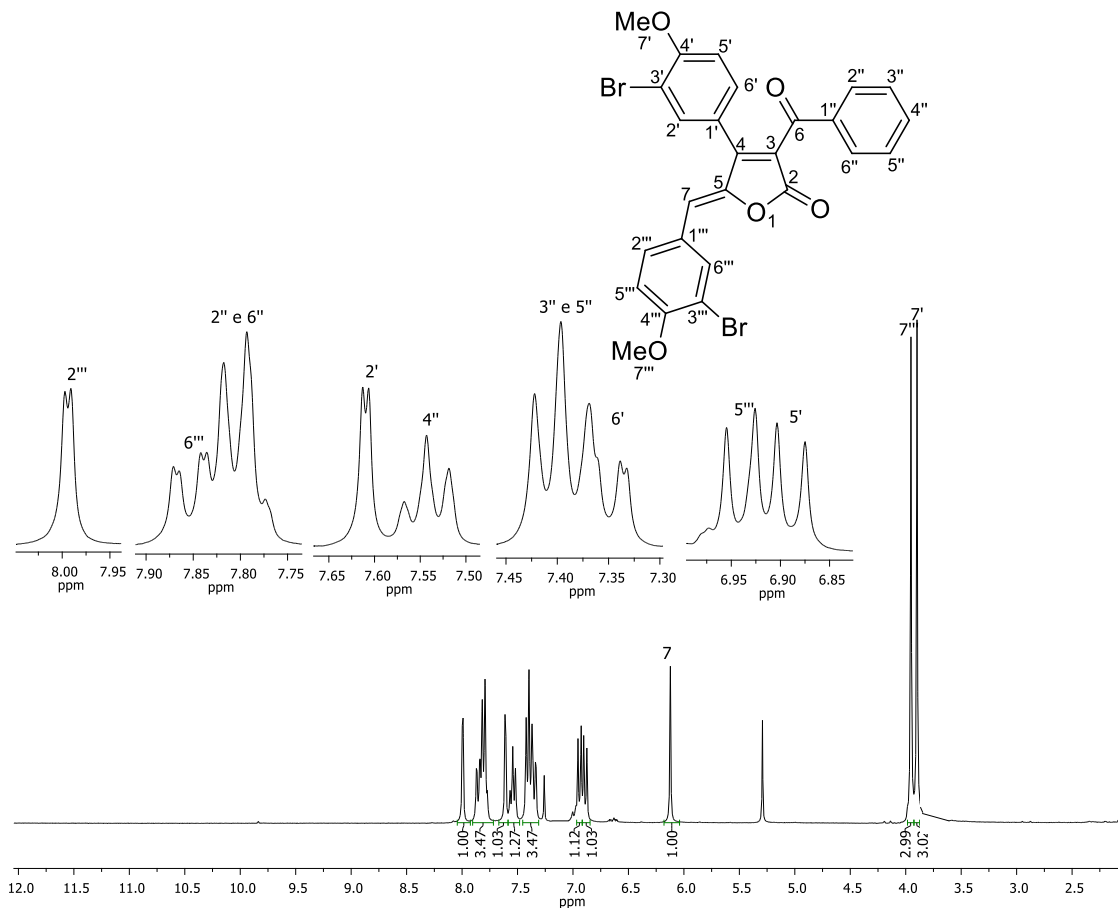


Figura A95 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) de **81b**.

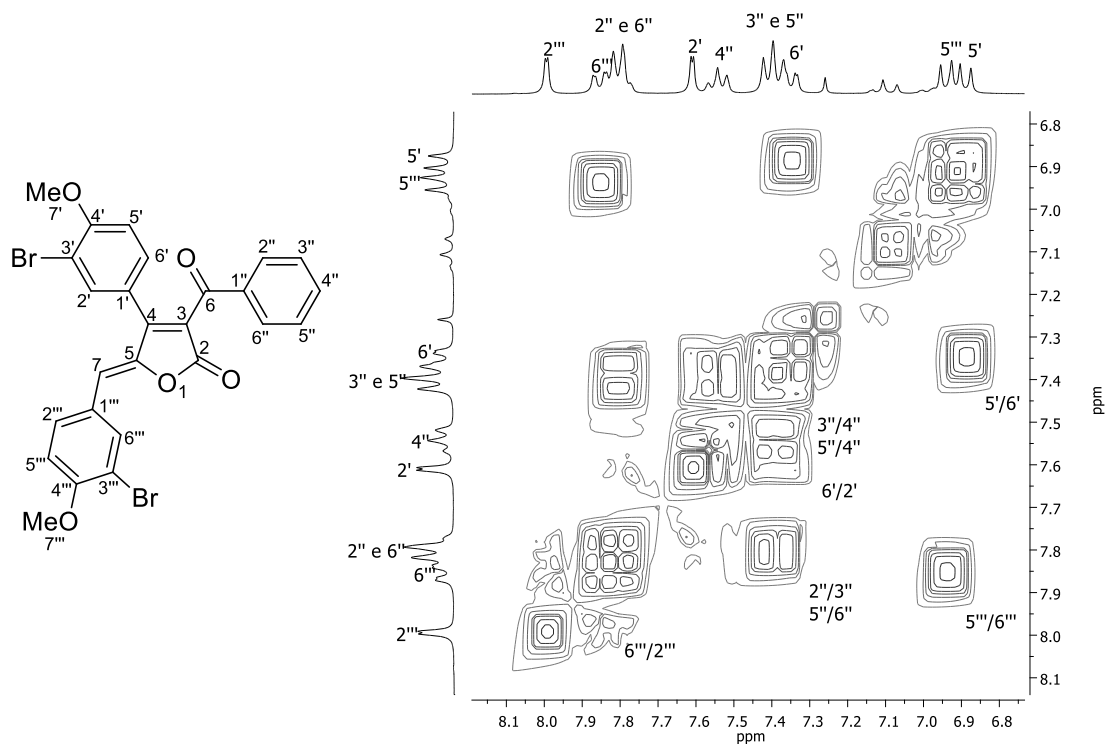


Figura A96 – Mapa de contorno COSY de **81b**.

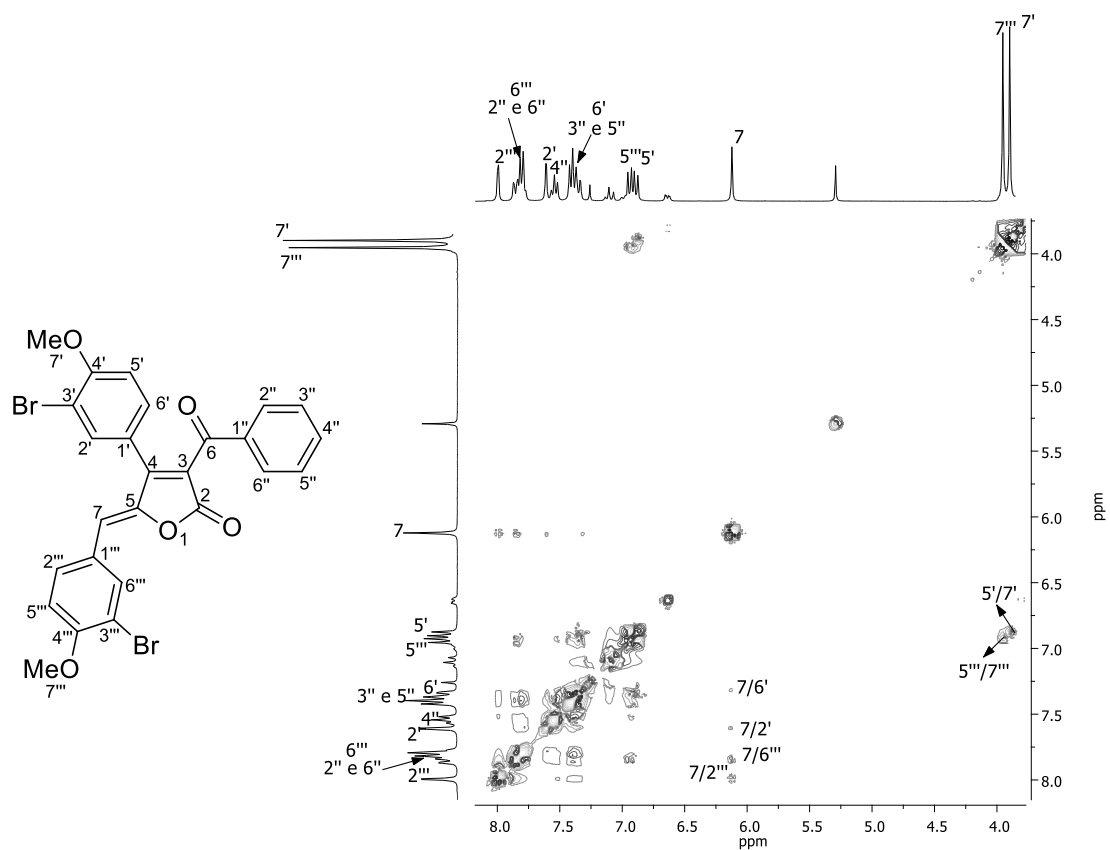


Figura A97 – Mapa de contorno NOESY de **81b**.

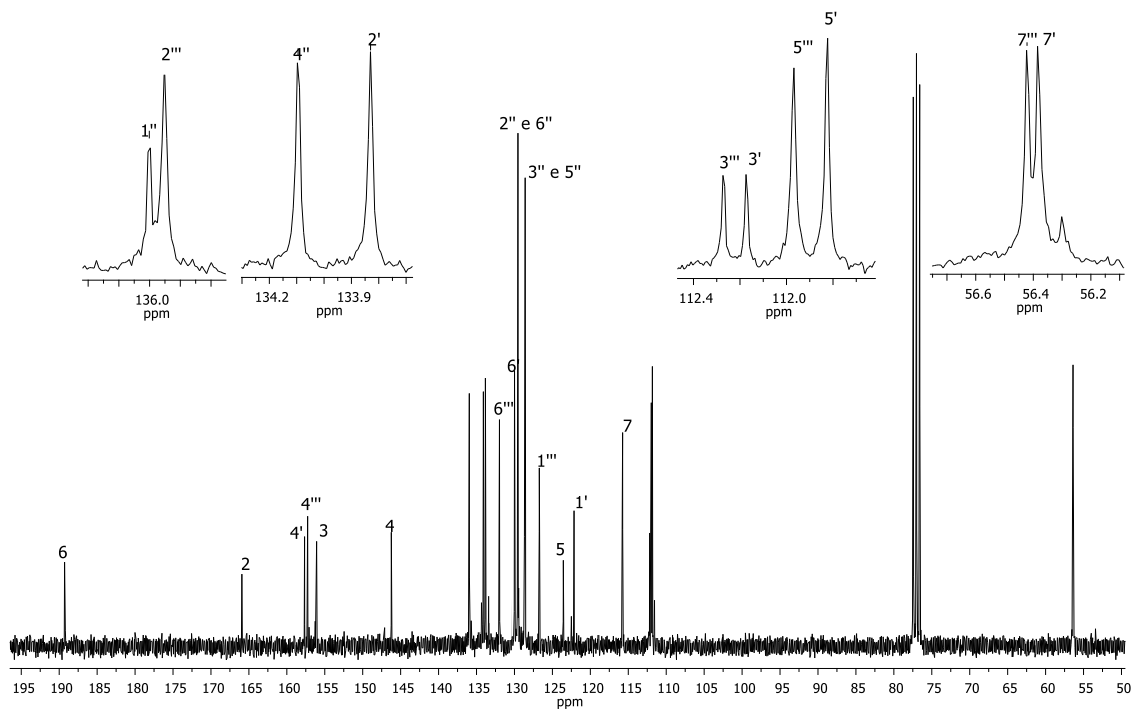


Figura A98 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **81b**.

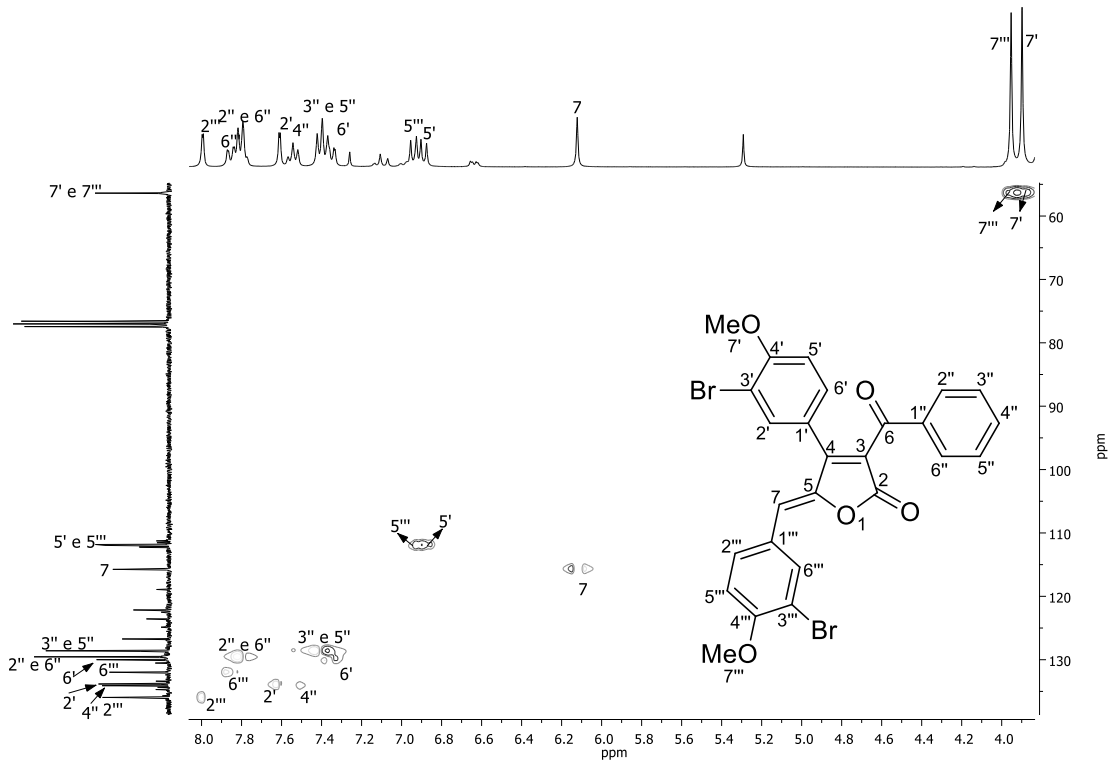


Figura A99 – Mapa de contorno *HSQC* de **81b**.

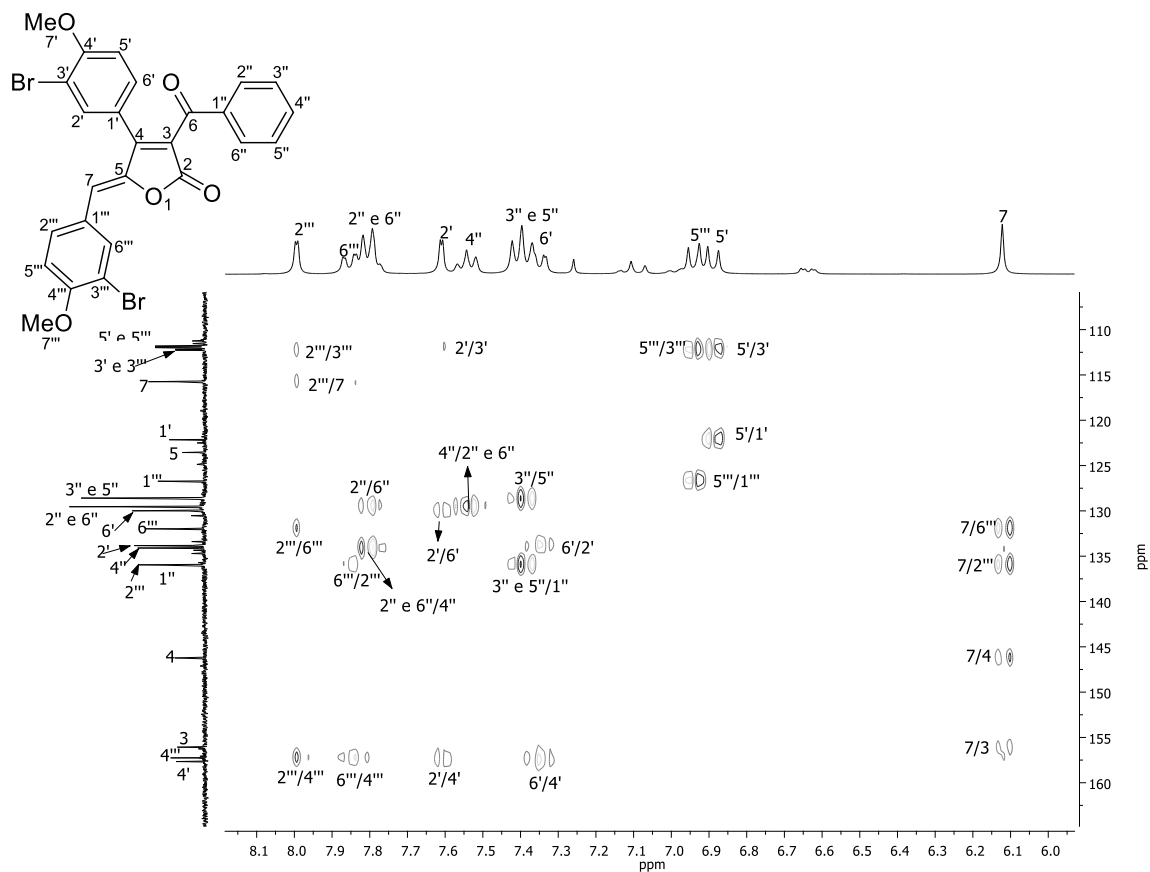


Figura A100 – Mapa de contorno *HMBC* de **81b**.

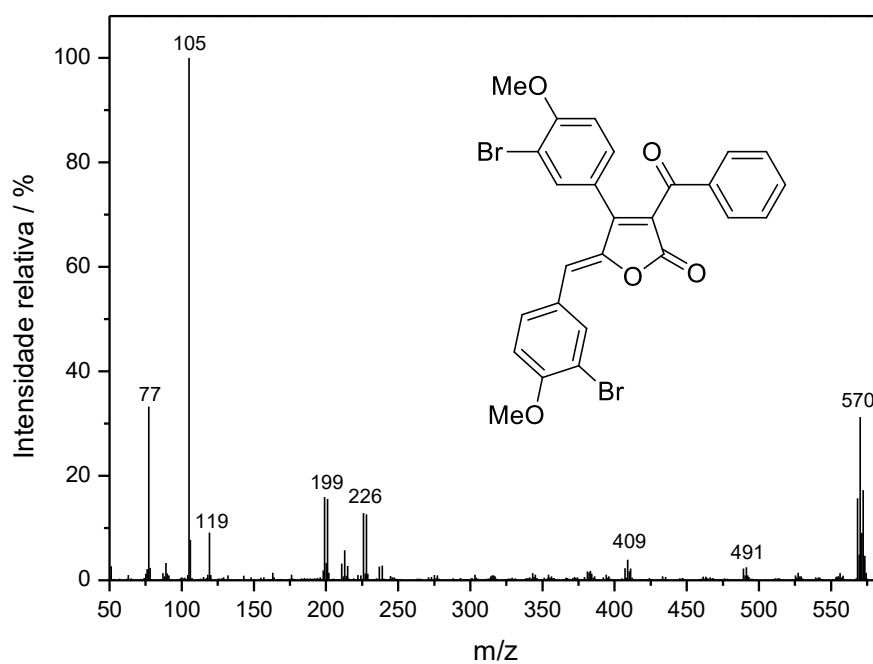


Figura A101 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 81b.

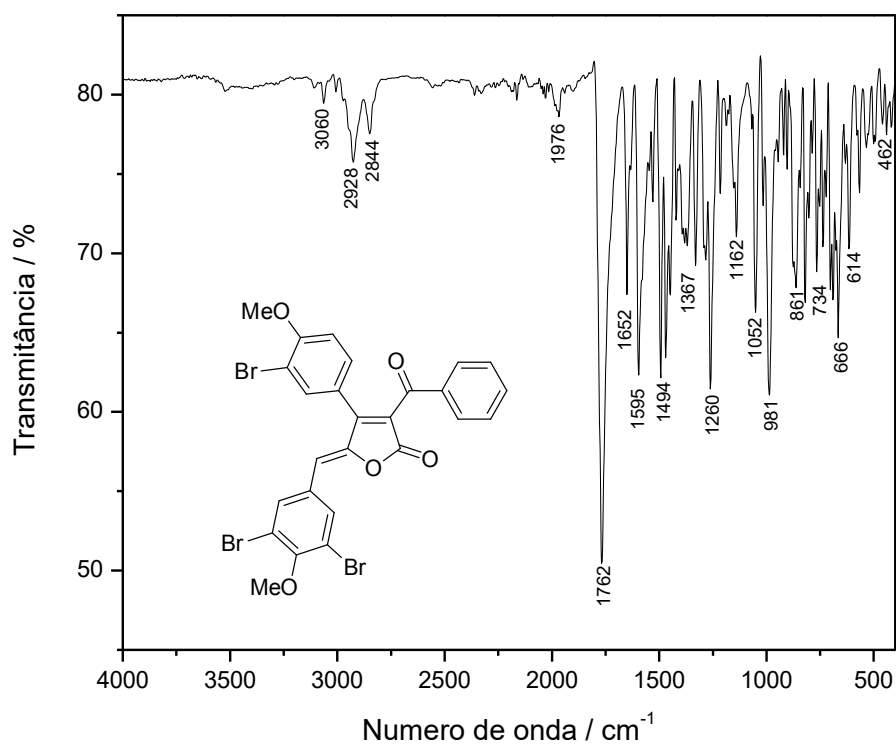


Figura A102 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto 81c.

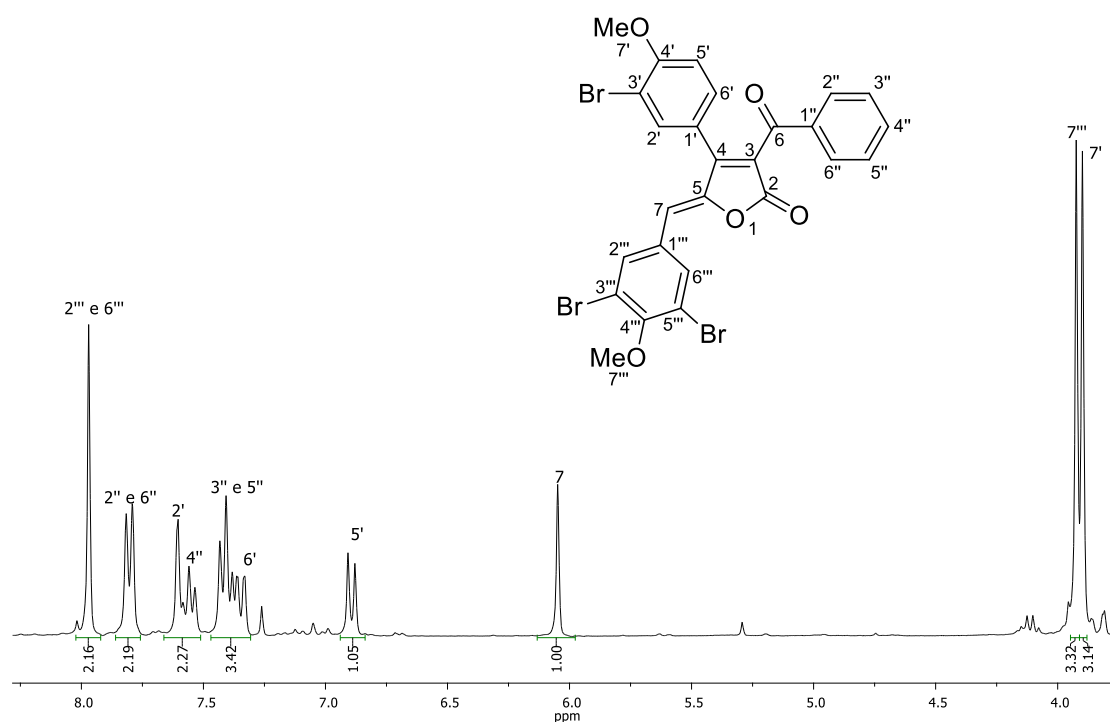


Figura A103 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81c**.

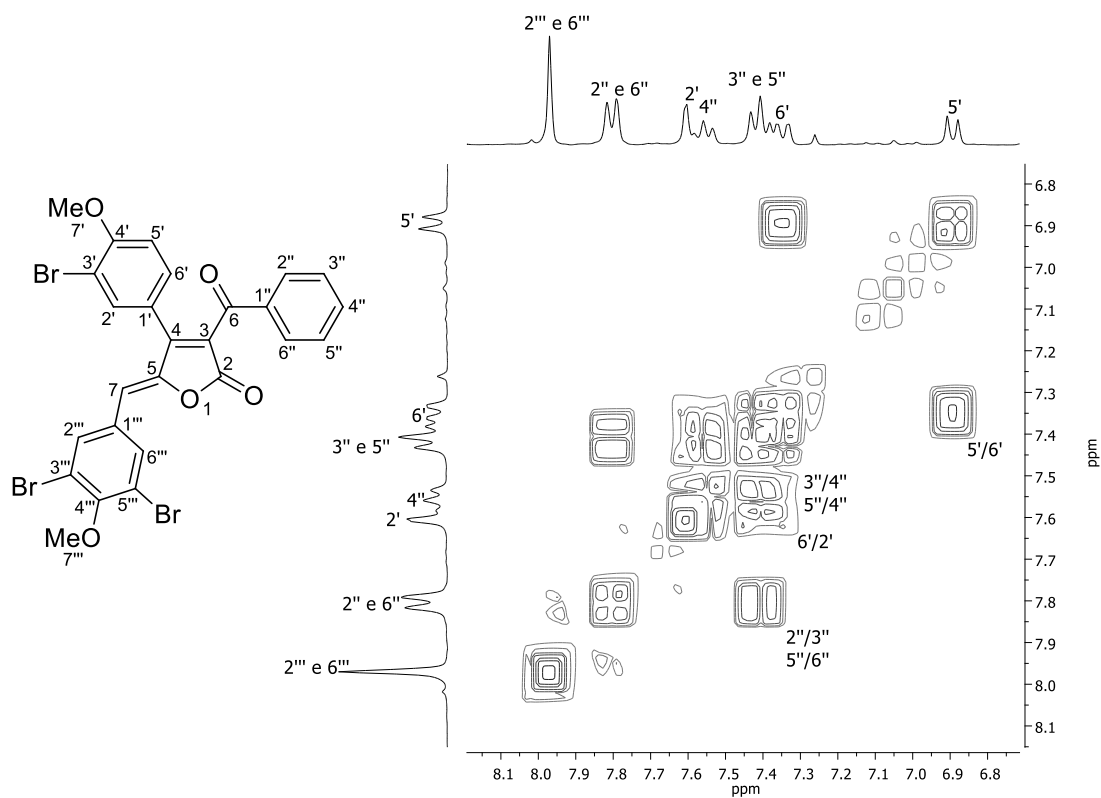


Figura A104 – Mapa de contorno COSY de **81c**.

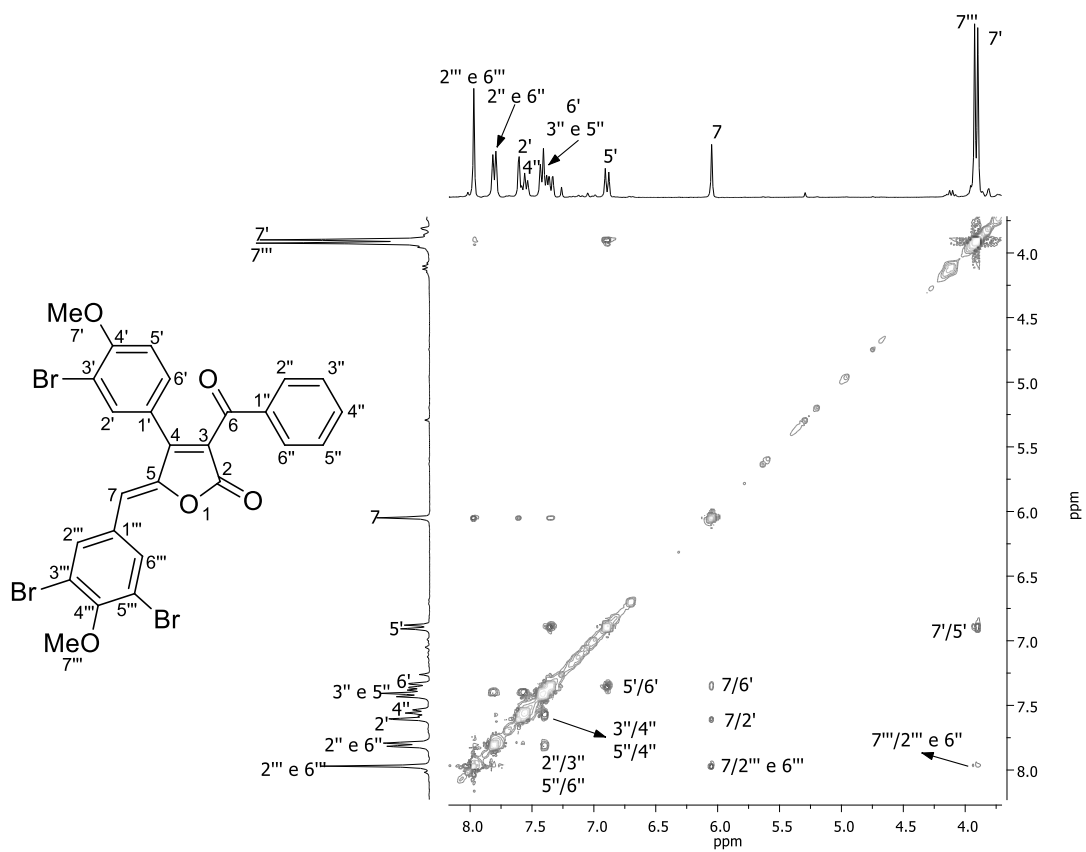


Figura A105 – Mapa de contorno NOESY de **81c**.

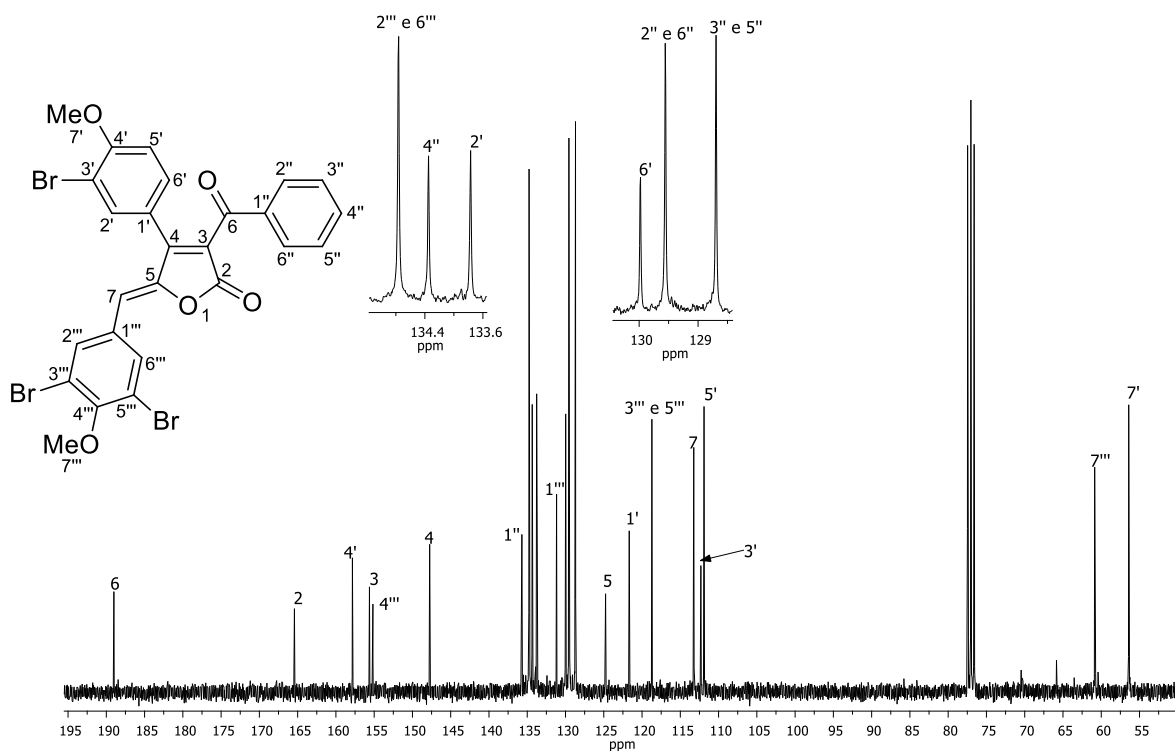


Figura A106 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **81c**.

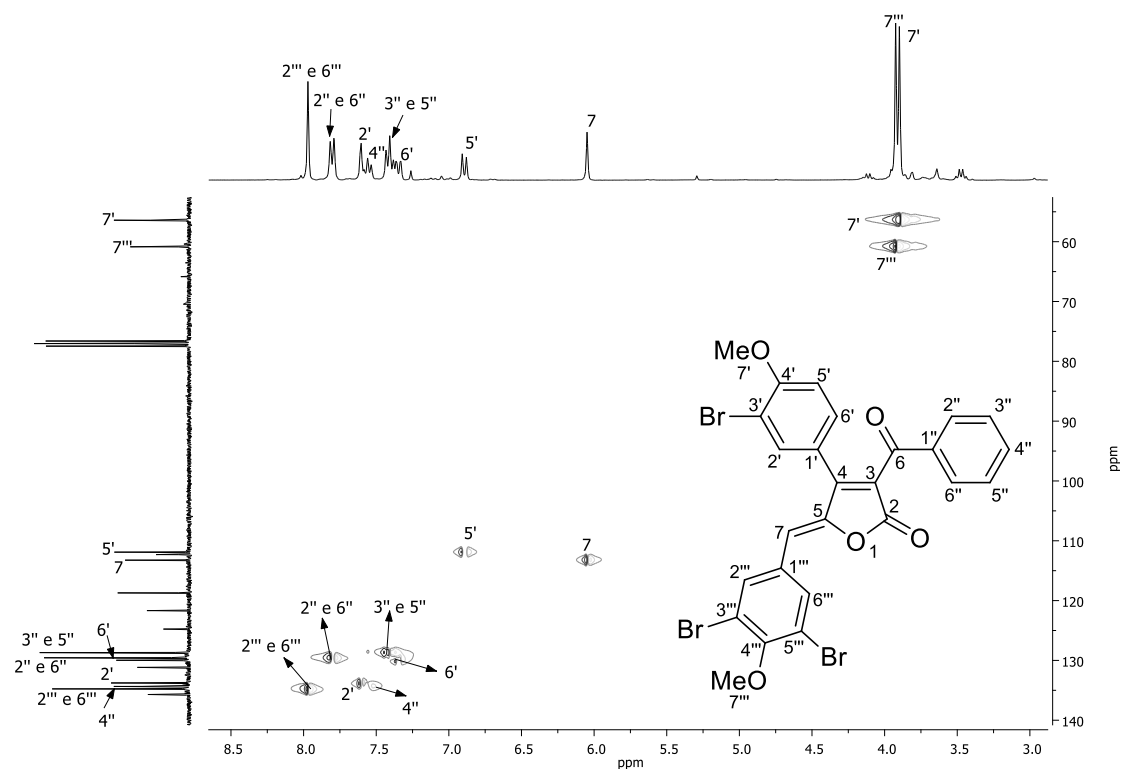


Figura A107 – Mapa de contorno *HSQC* de **81c**.

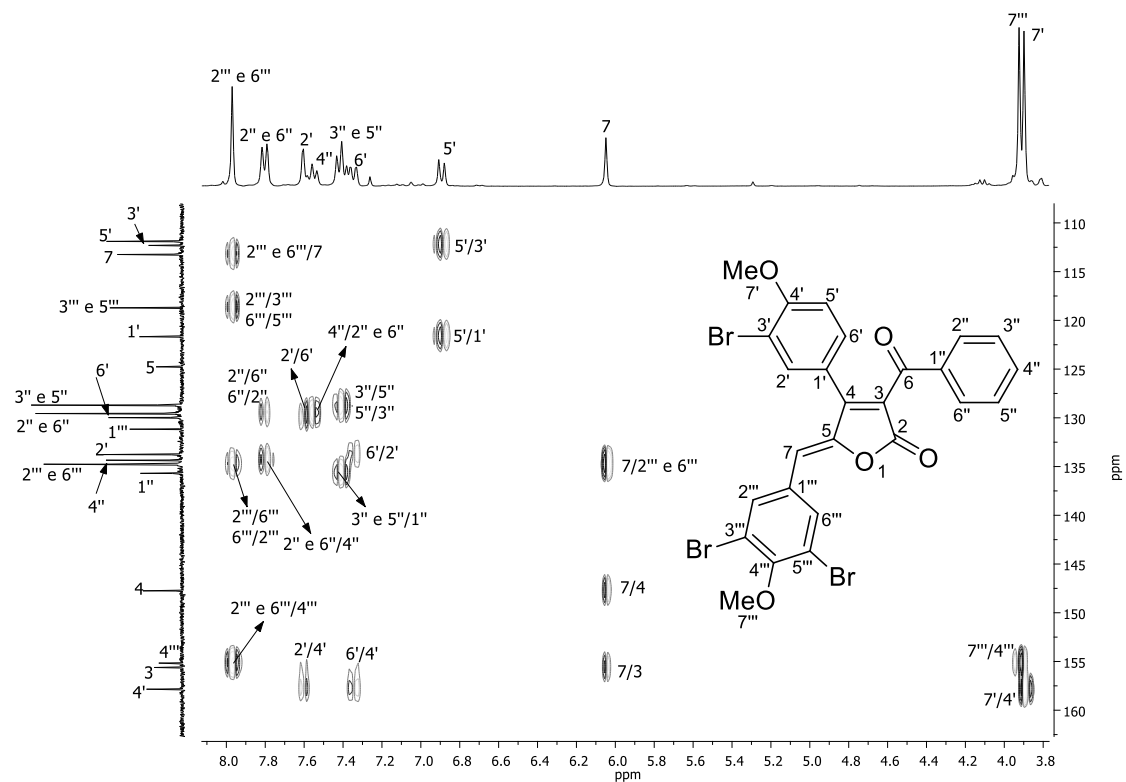


Figura A108 – Mapa de contorno *HMBC* de **81c**.

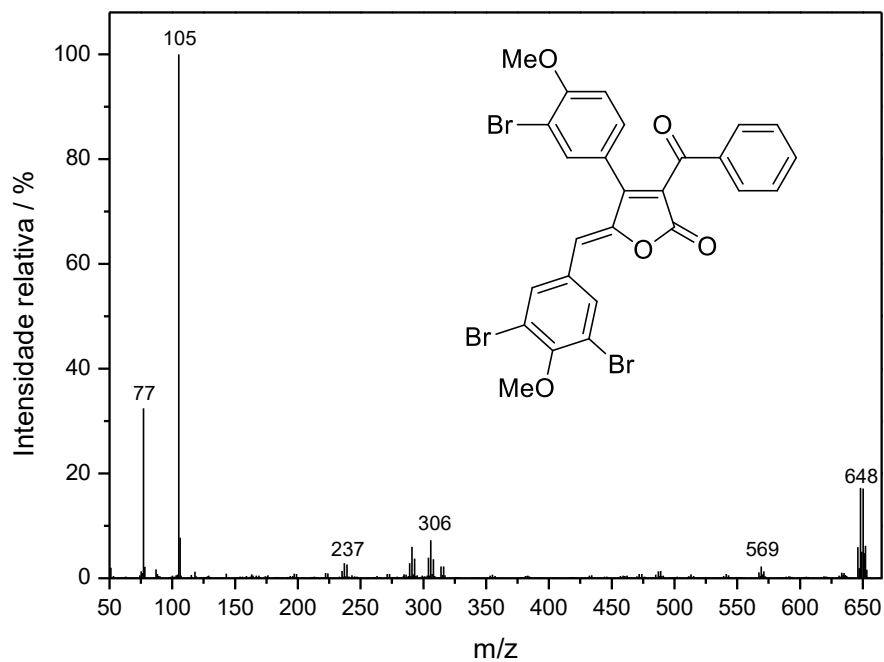


Figura A109 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **81c**.

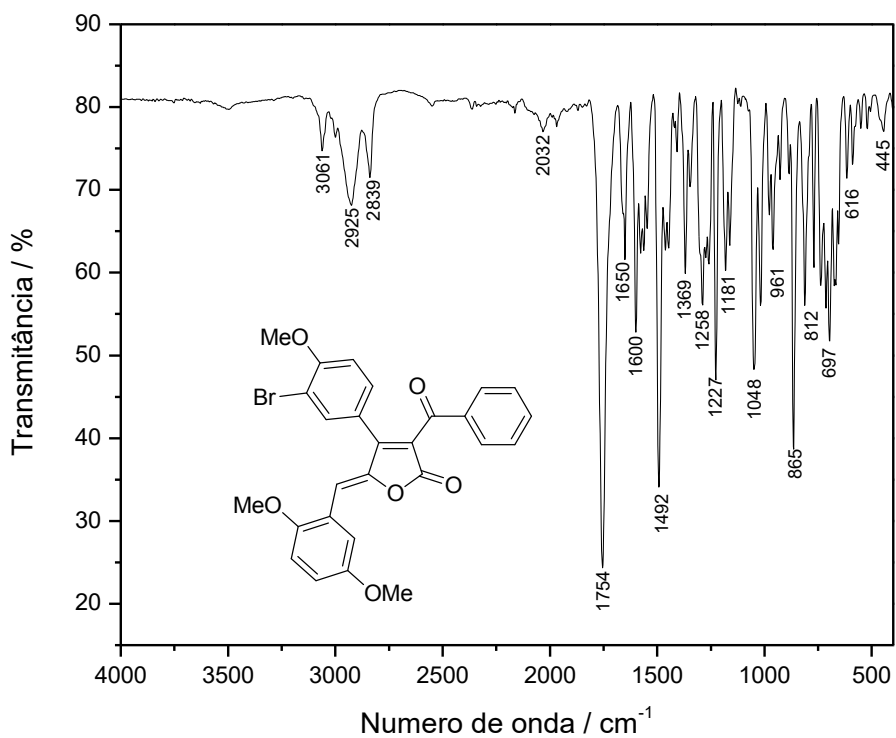


Figura A110 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **81d**.

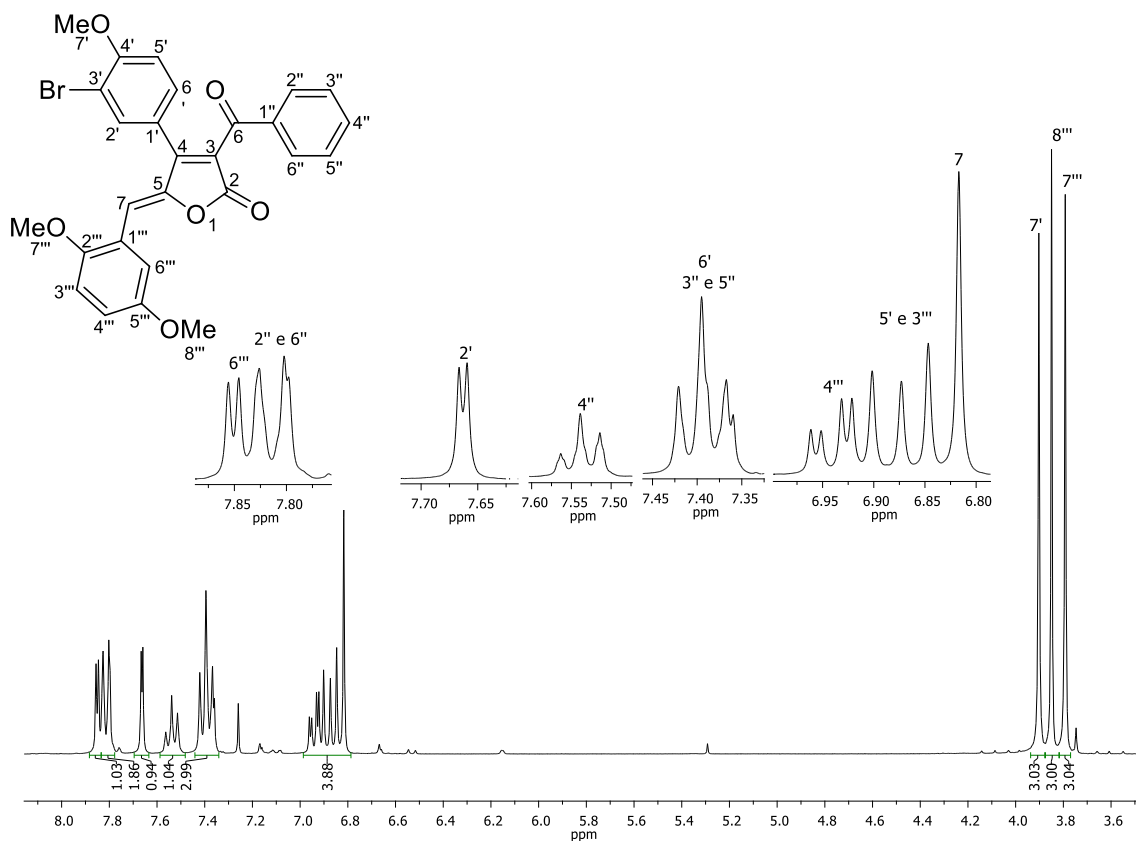


Figura A111 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81d**.

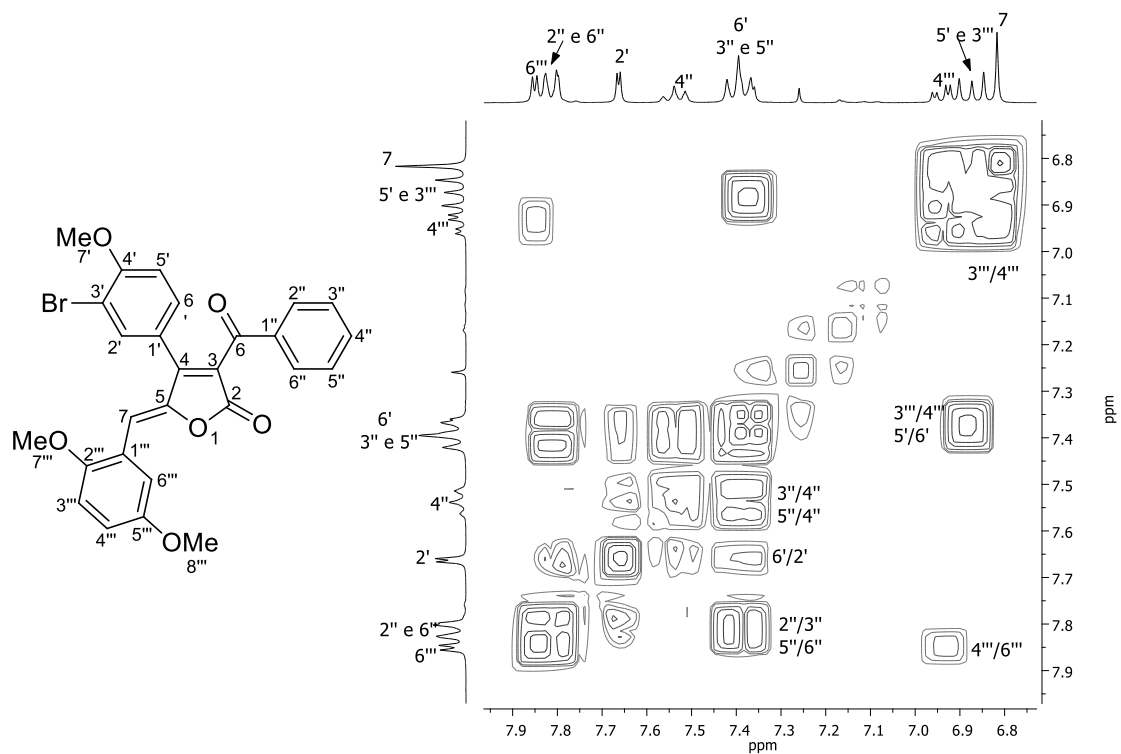


Figura A112 – Mapa de contorno COSY de **81d**.

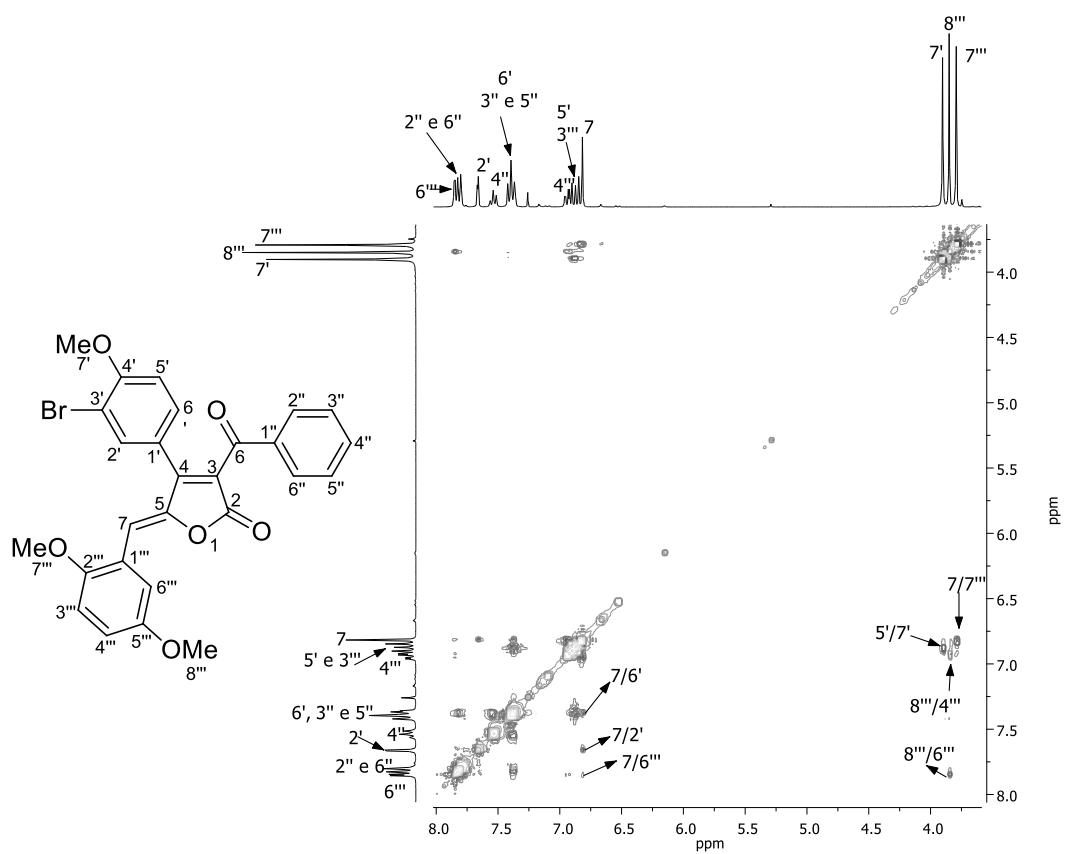


Figura A113 – Mapa de contorno NOESY de 81d.

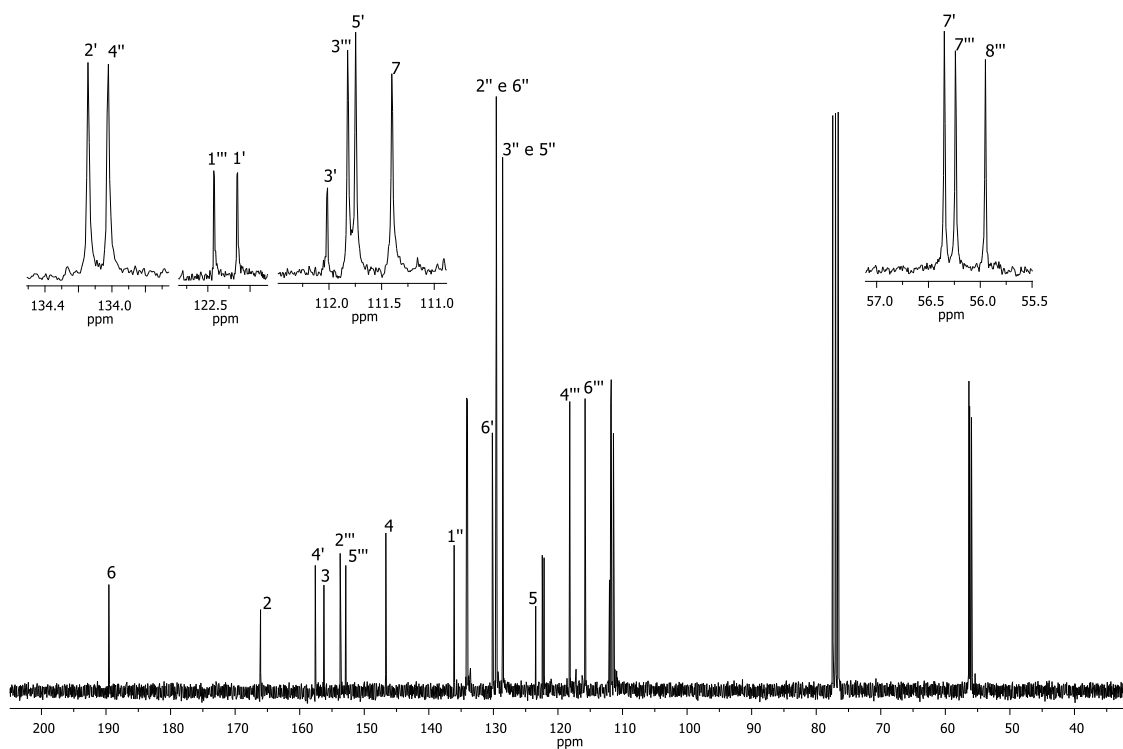


Figura A114 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de 81d.

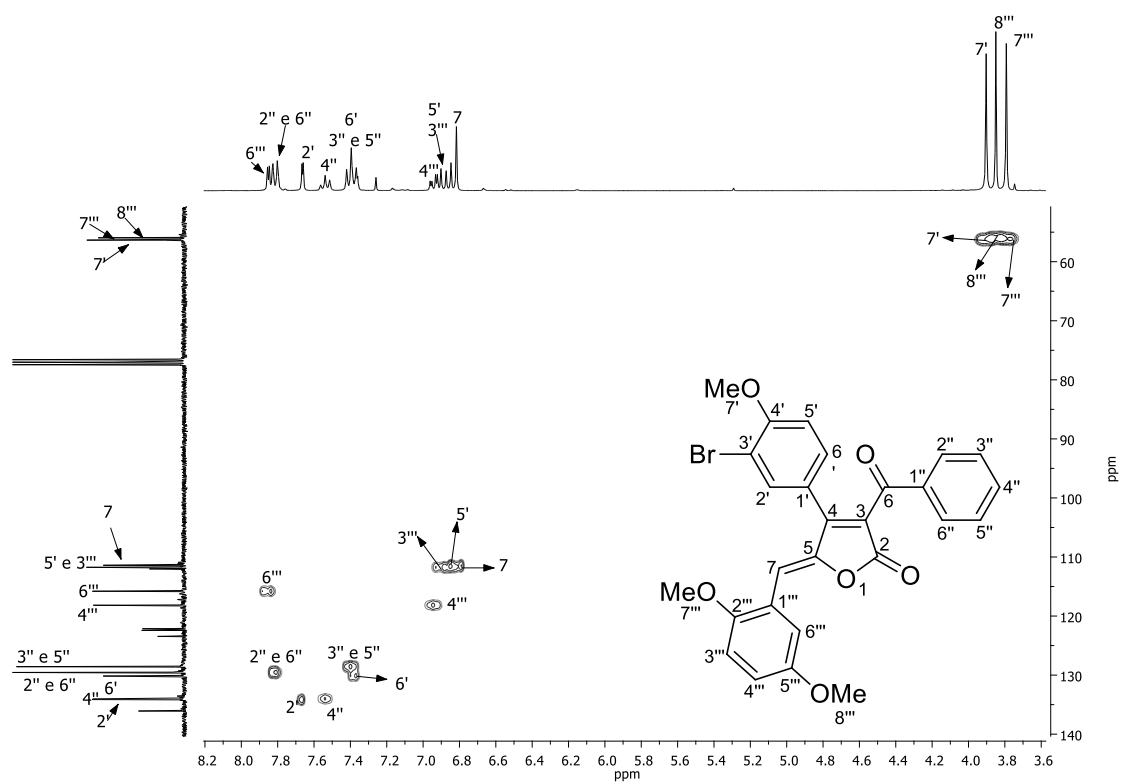


Figura A115 – Mapa de contorno HSQC de 81d.

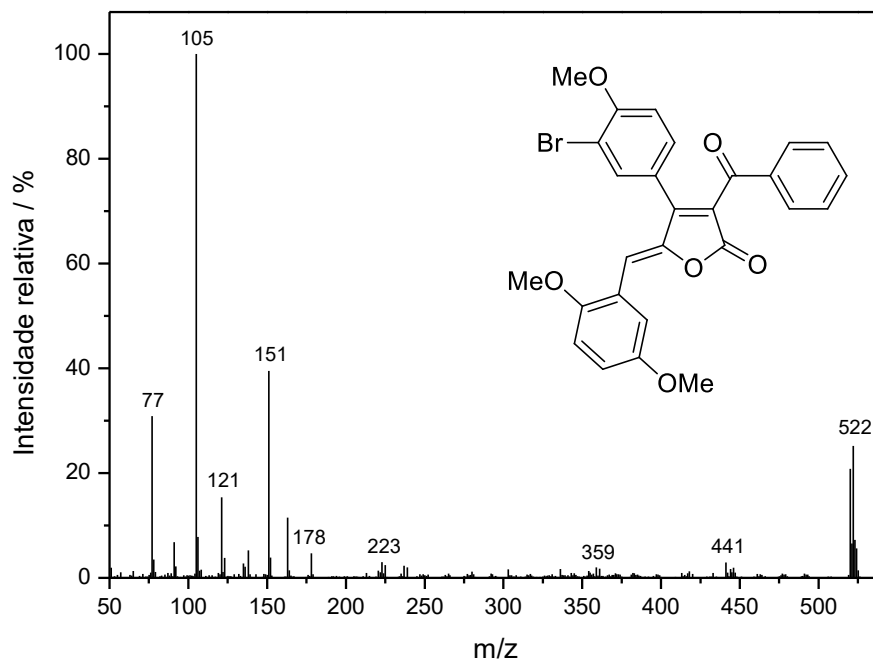


Figura A116 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 81d.

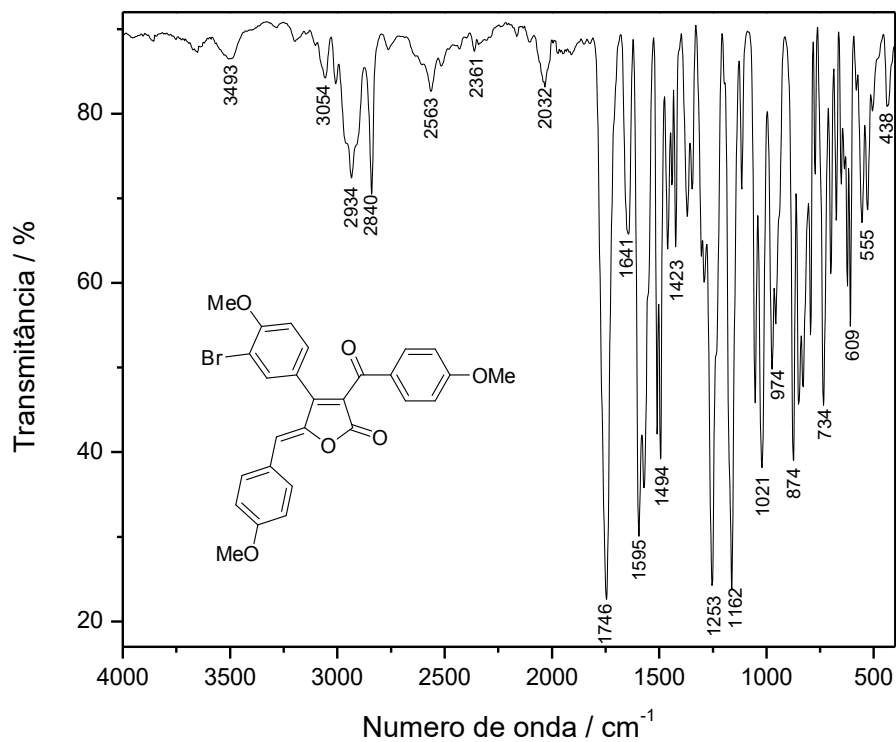


Figura A117 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **81e**.

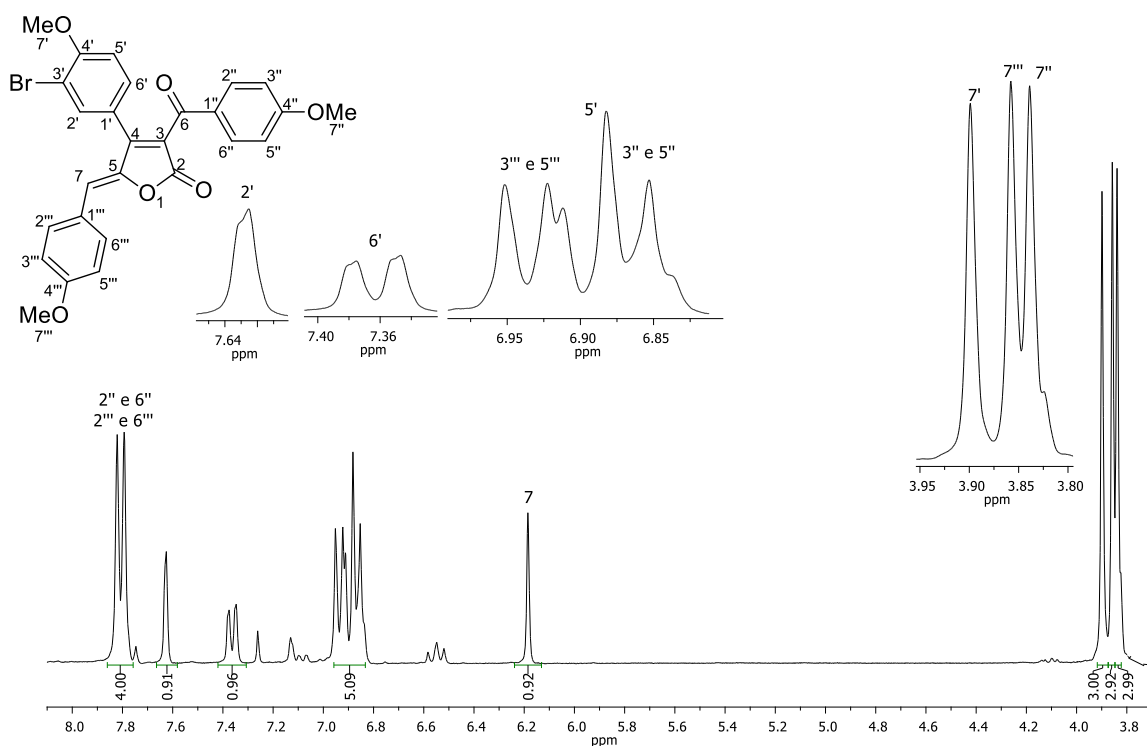


Figura A118 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81e**.

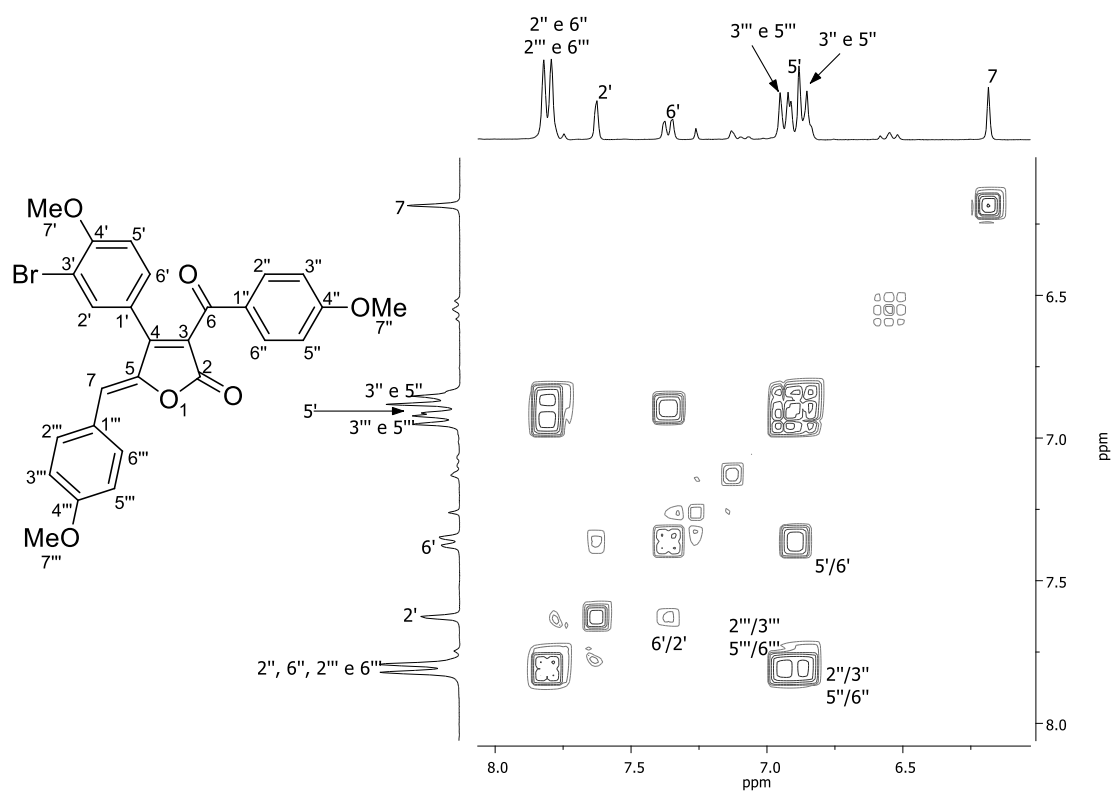


Figura A119 – Mapa de contorno COSY de **81e**.

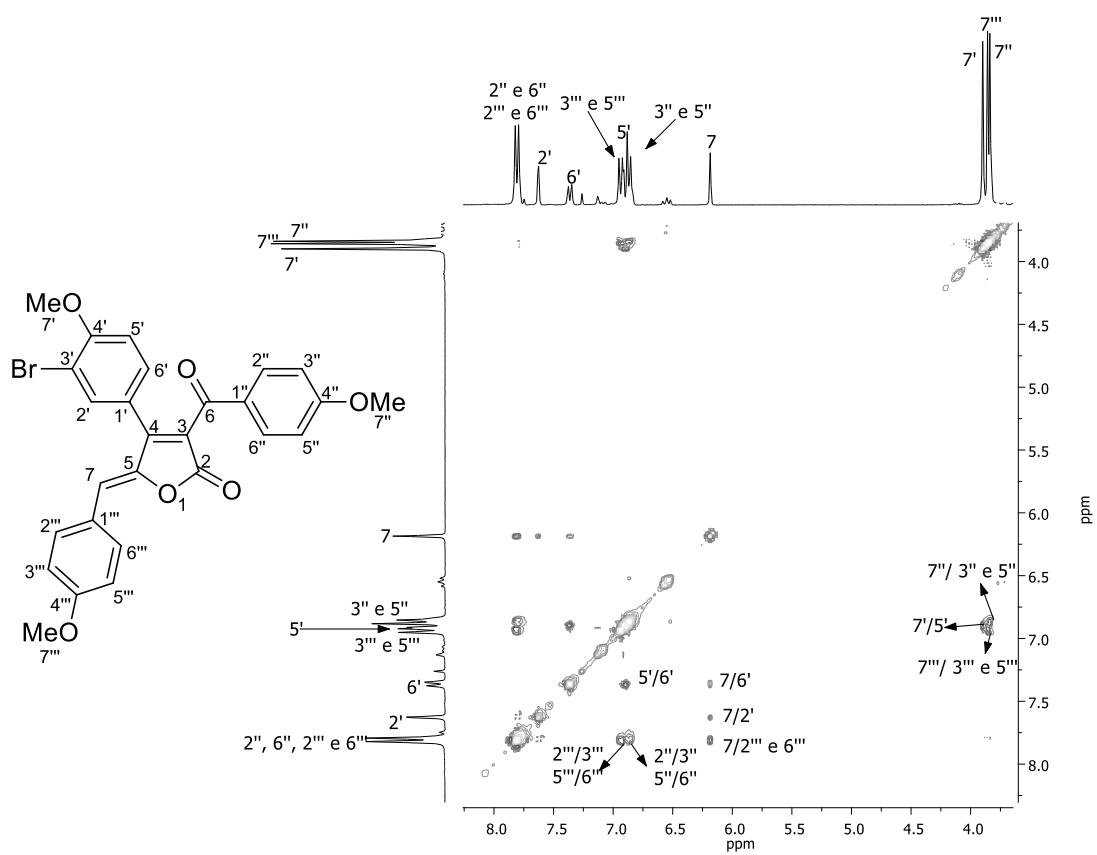


Figura A120 – Mapa de contorno NOESY de **81e**.

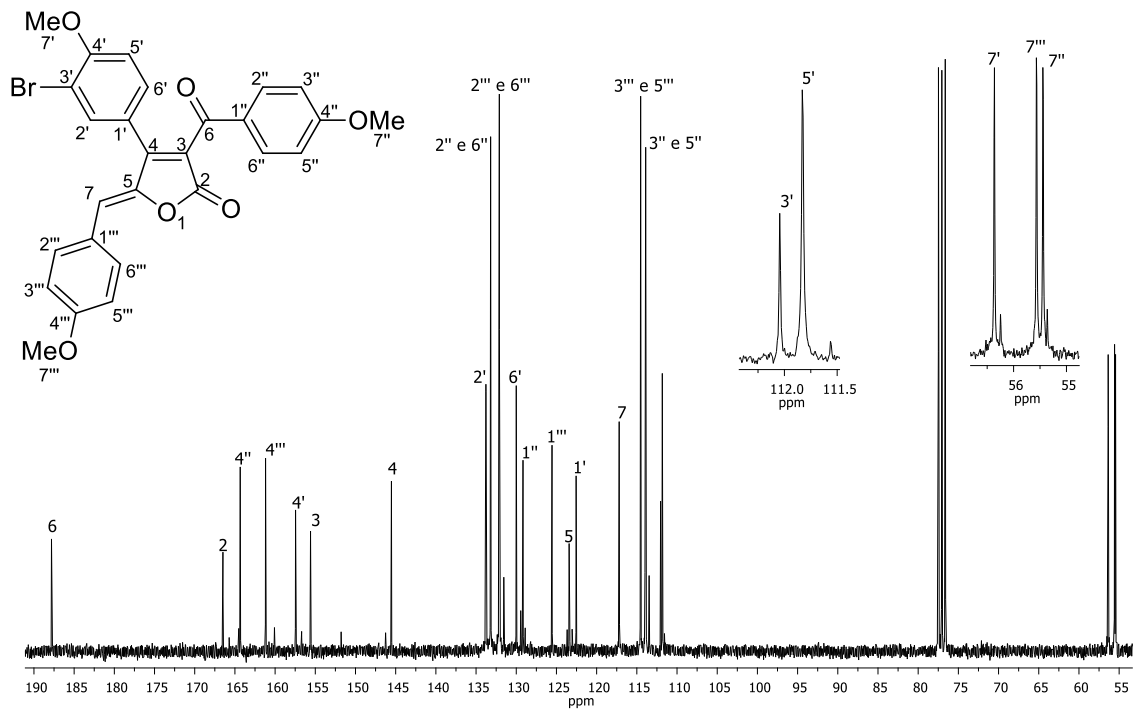


Figura A121 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **81e**.

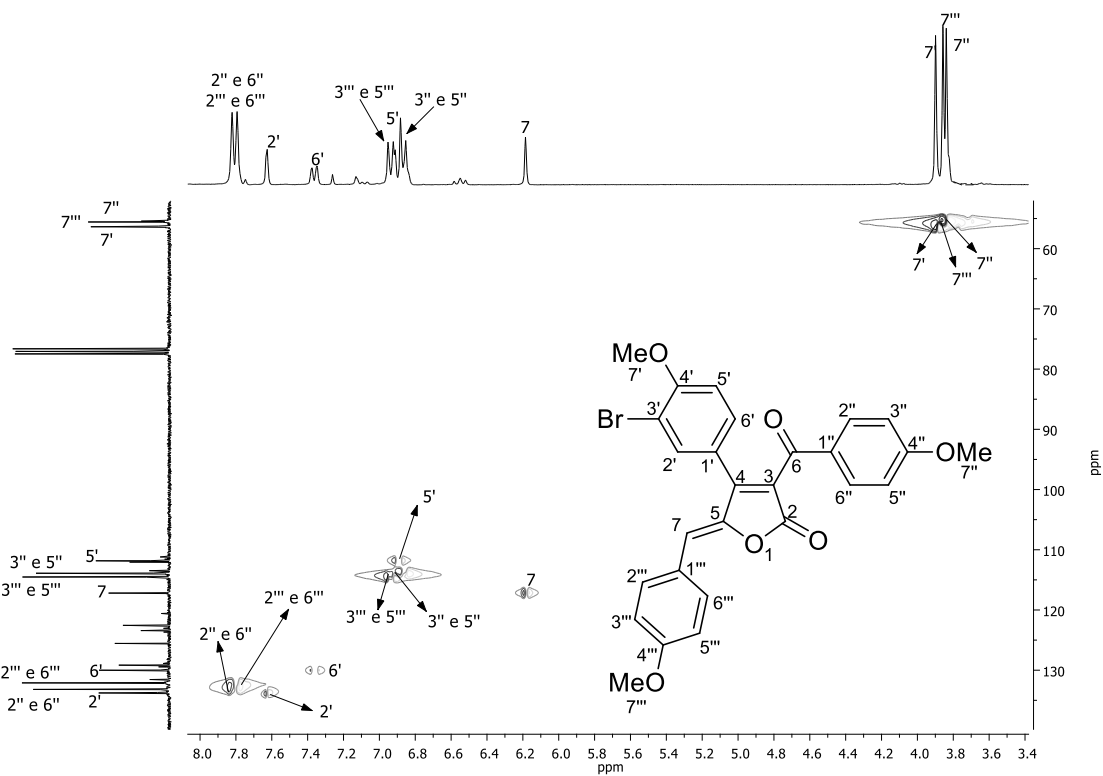


Figura A122 – Mapa de contorno *HSQC* de **81e**.

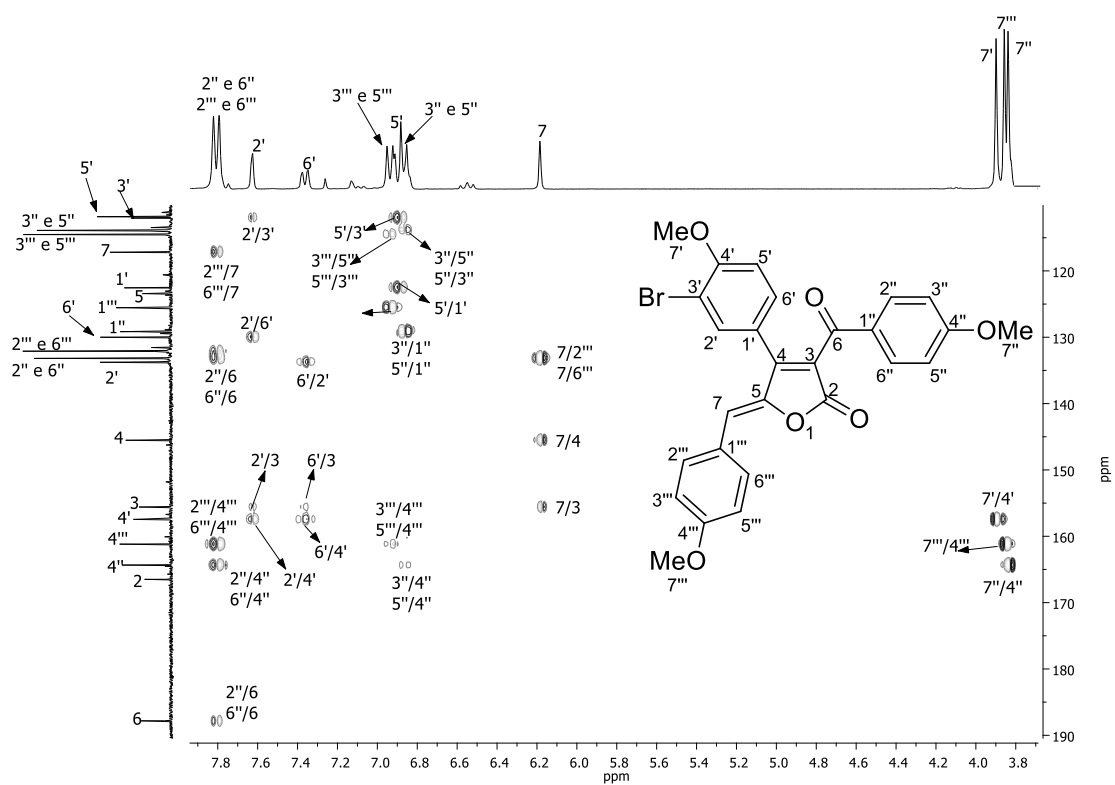


Figura A123 – Mapa de contorno *HMBC* de **81e**.

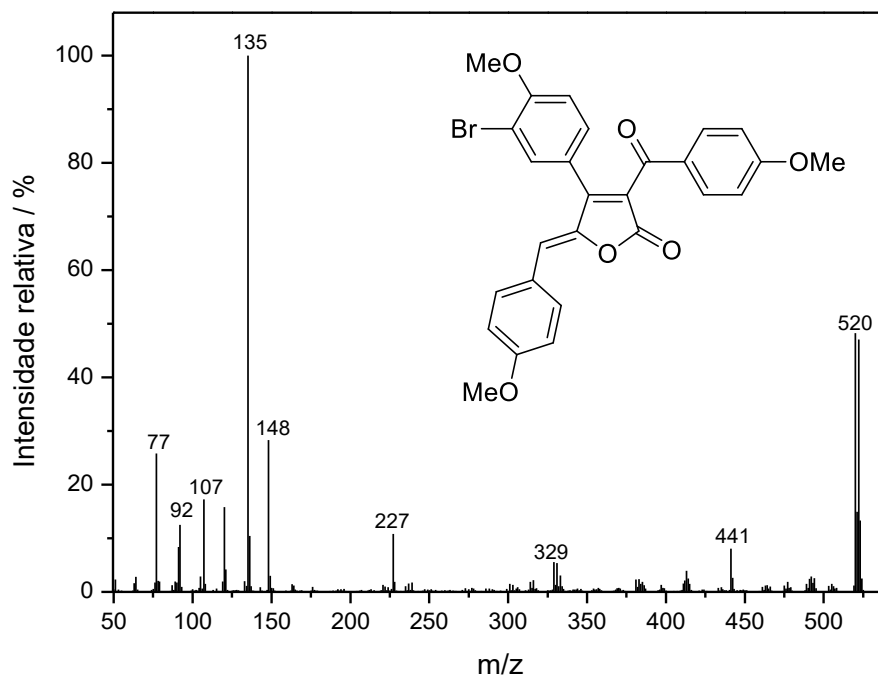


Figura A124 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **81e**.

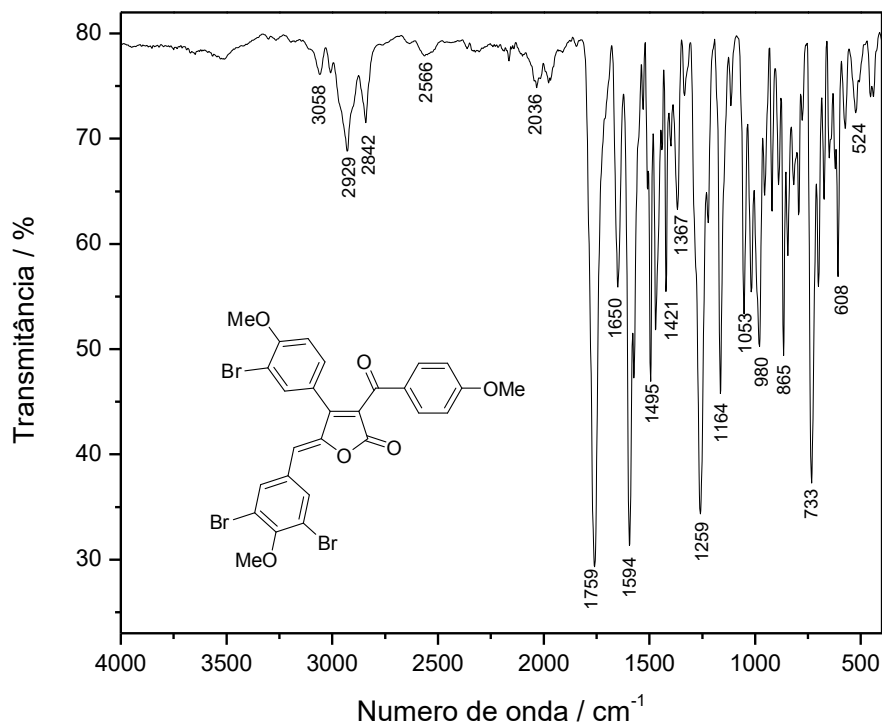


Figura A125 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **81g**.

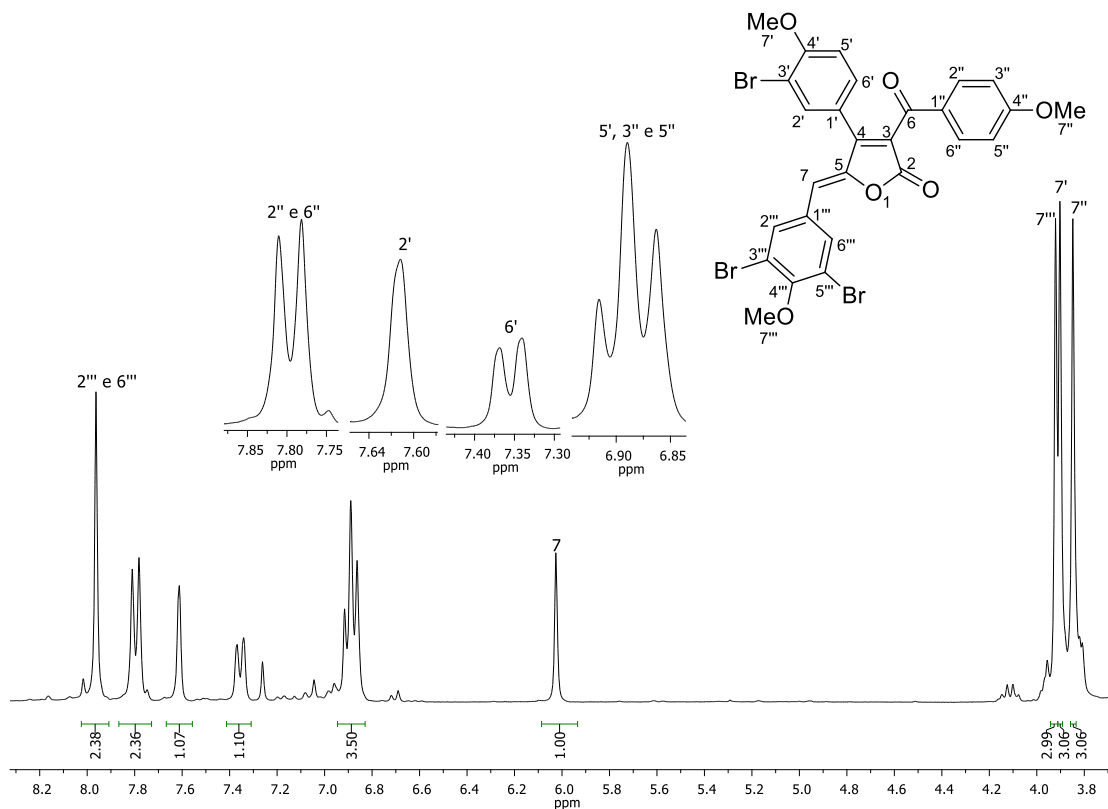


Figura A126 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81g**.

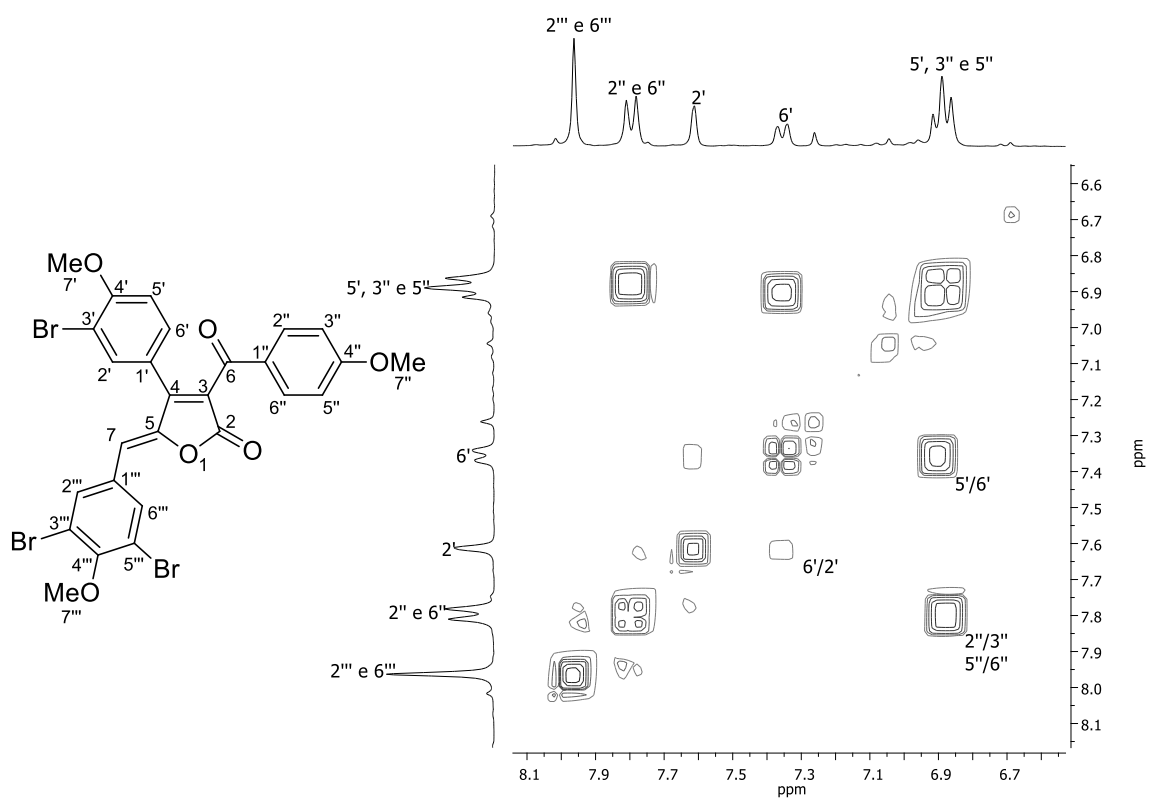


Figura A127 – Mapa de contorno COSY de **81g**.

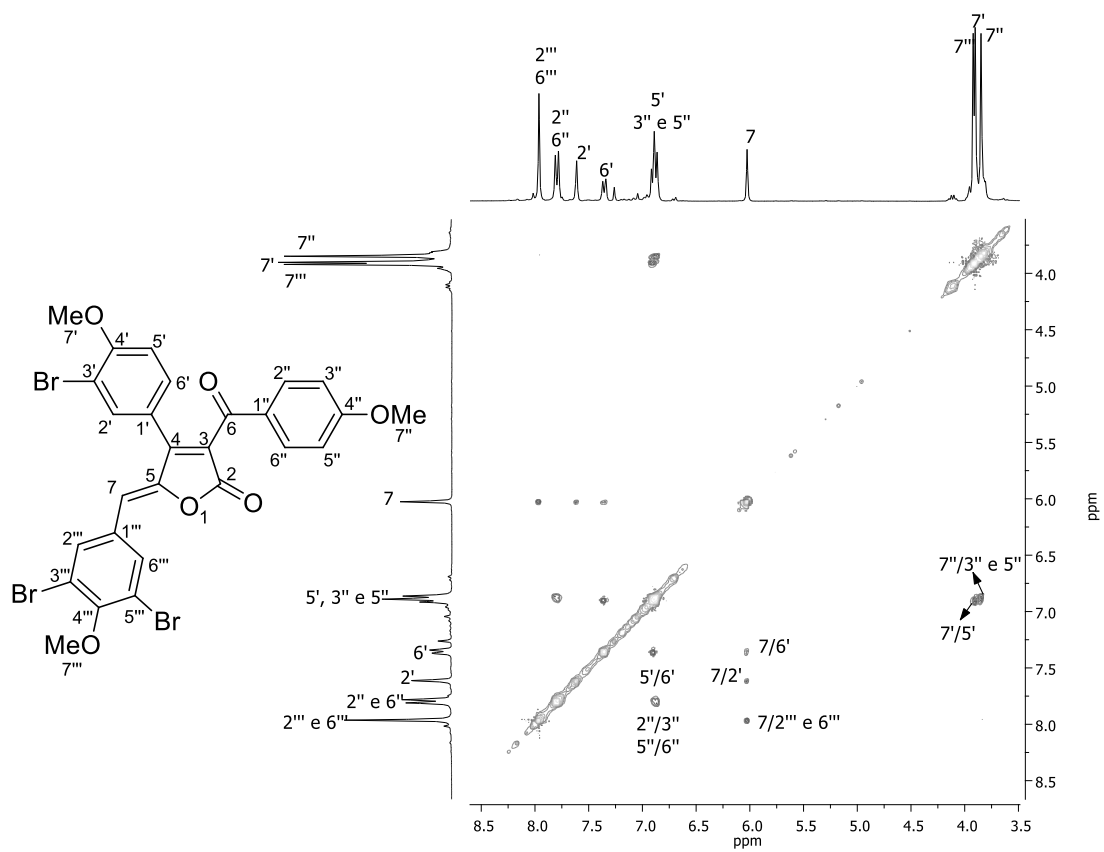


Figura A128 – Mapa de contorno NOESY de **81g**.

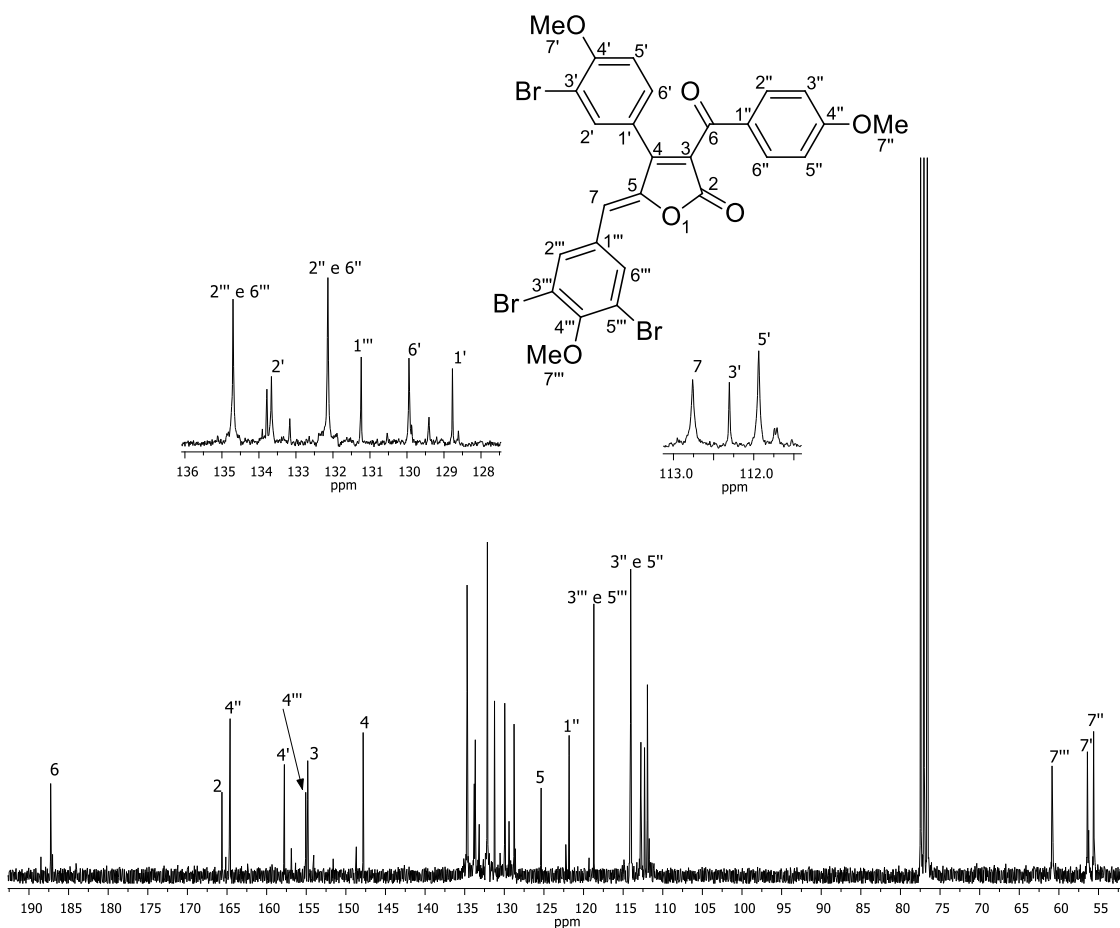


Figura A129 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **81g**.

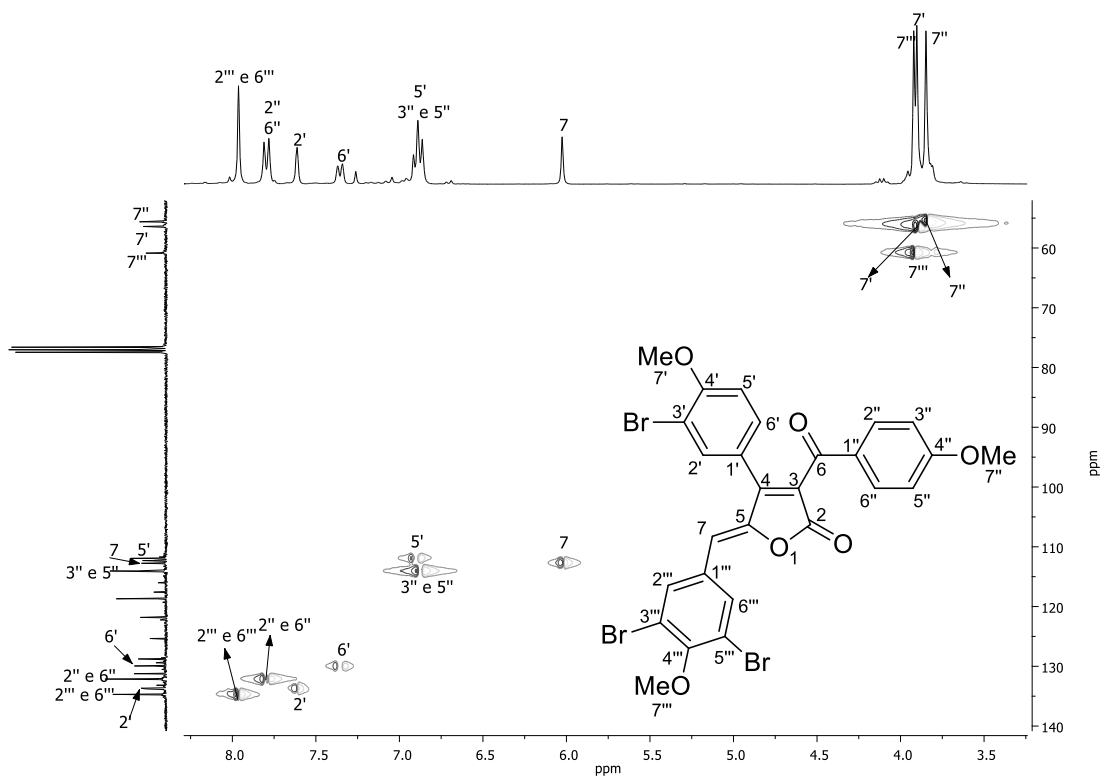


Figura A130 – Mapa de contorno HSQC de **81g**.

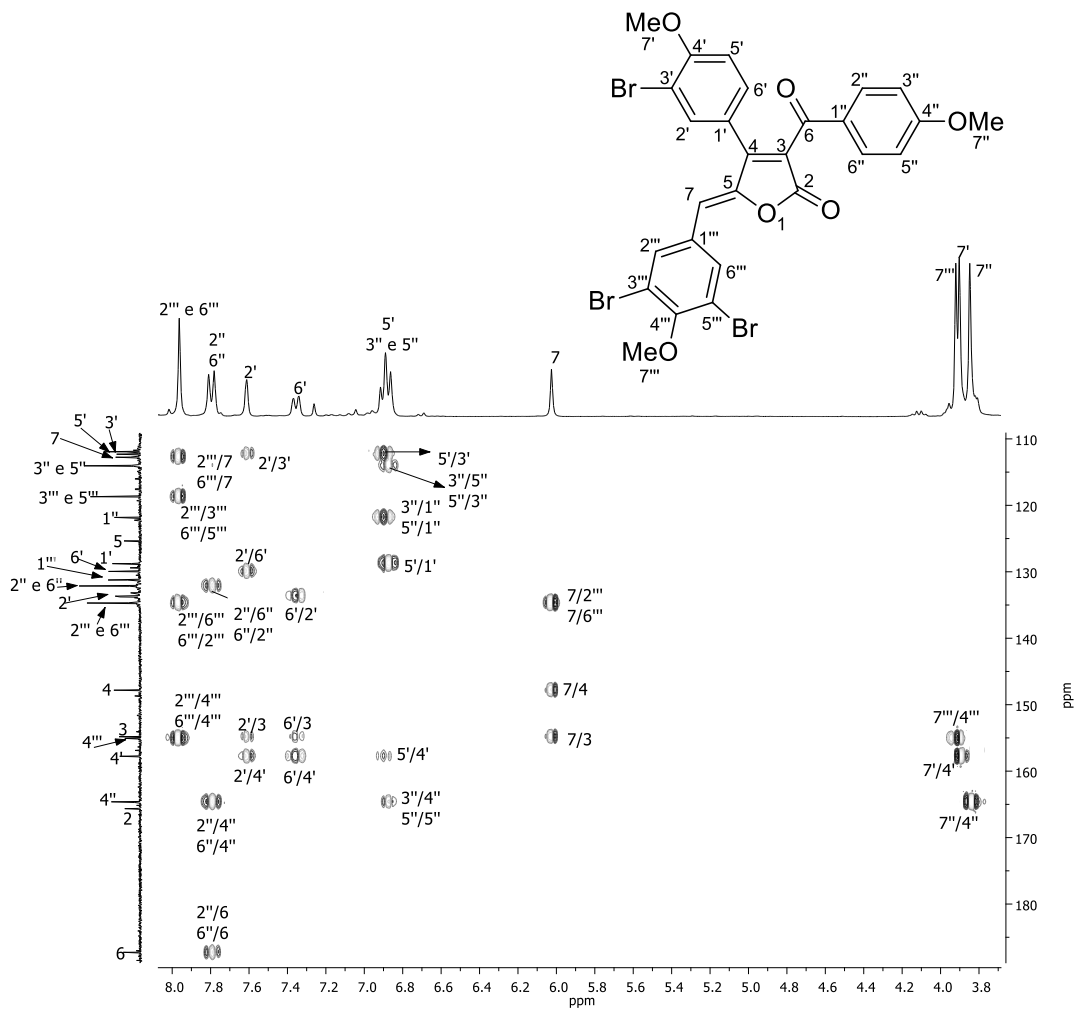


Figura A131 – Mapa de contorno *HMBC* de **81g**.

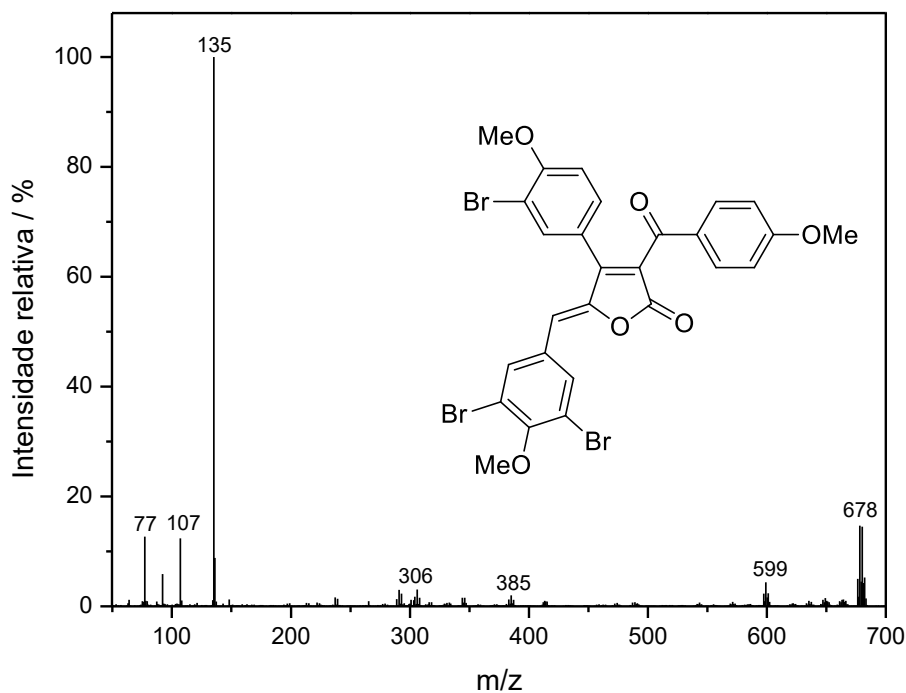


Figura A132 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **81g**.

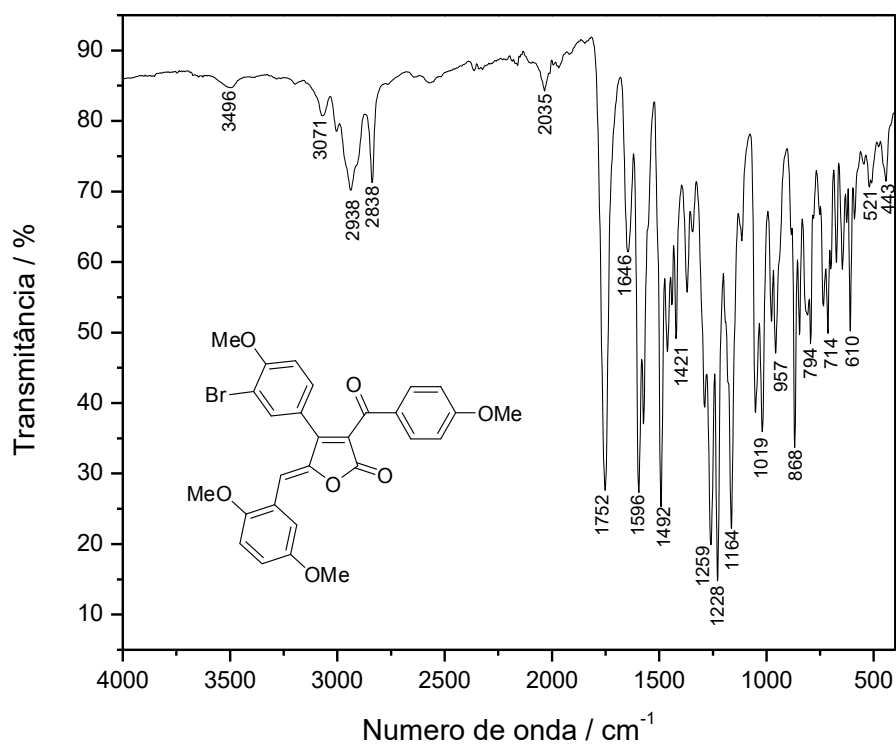


Figura A133 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **81h**.

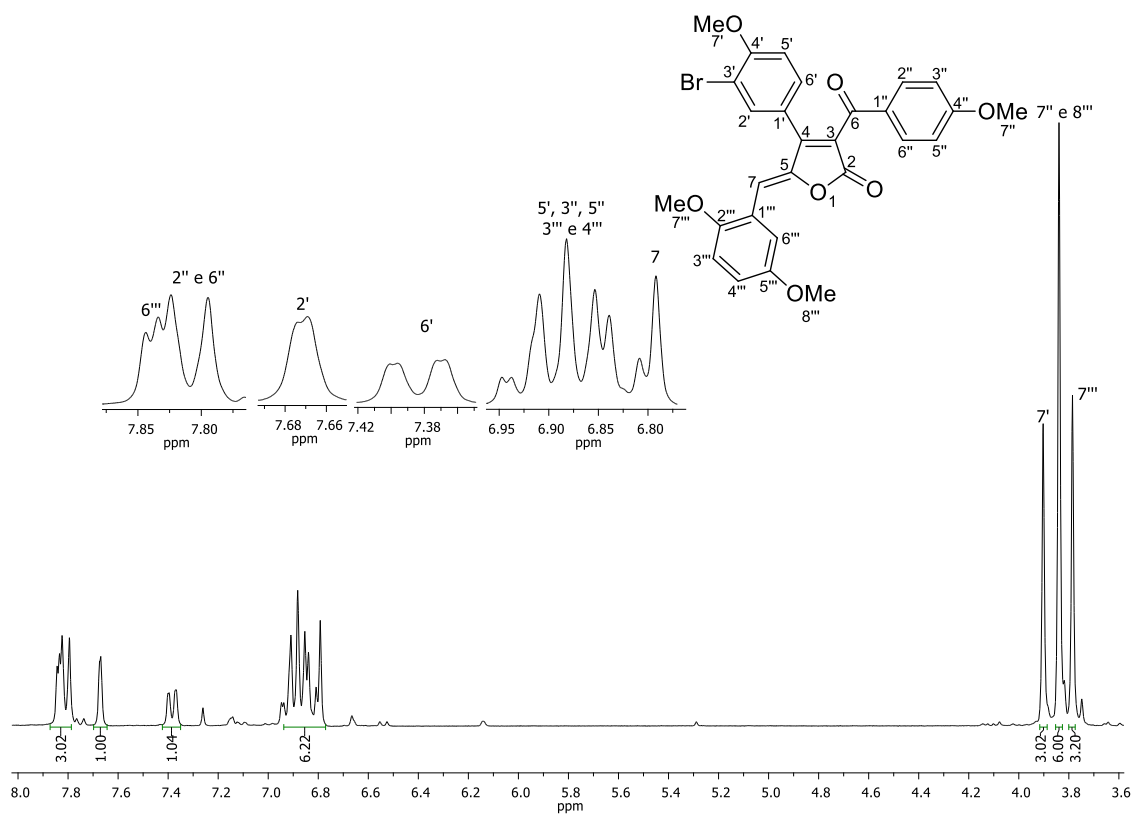
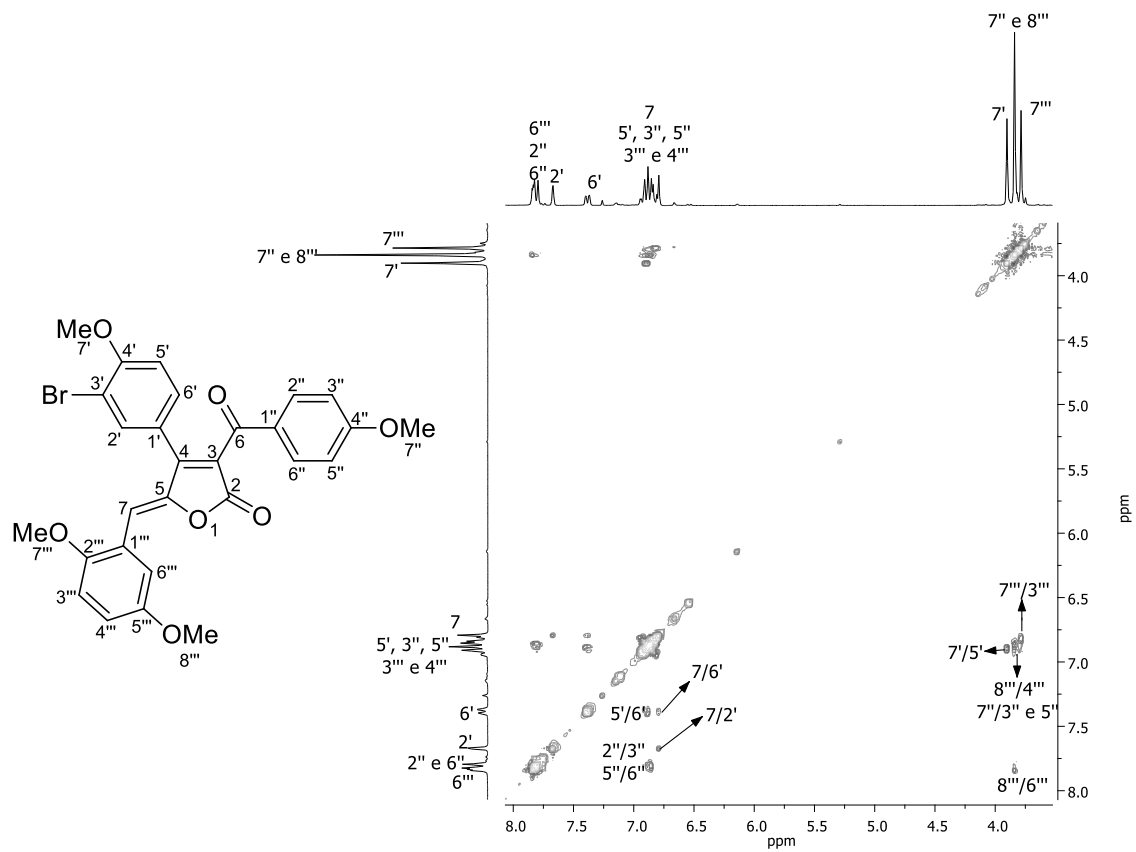
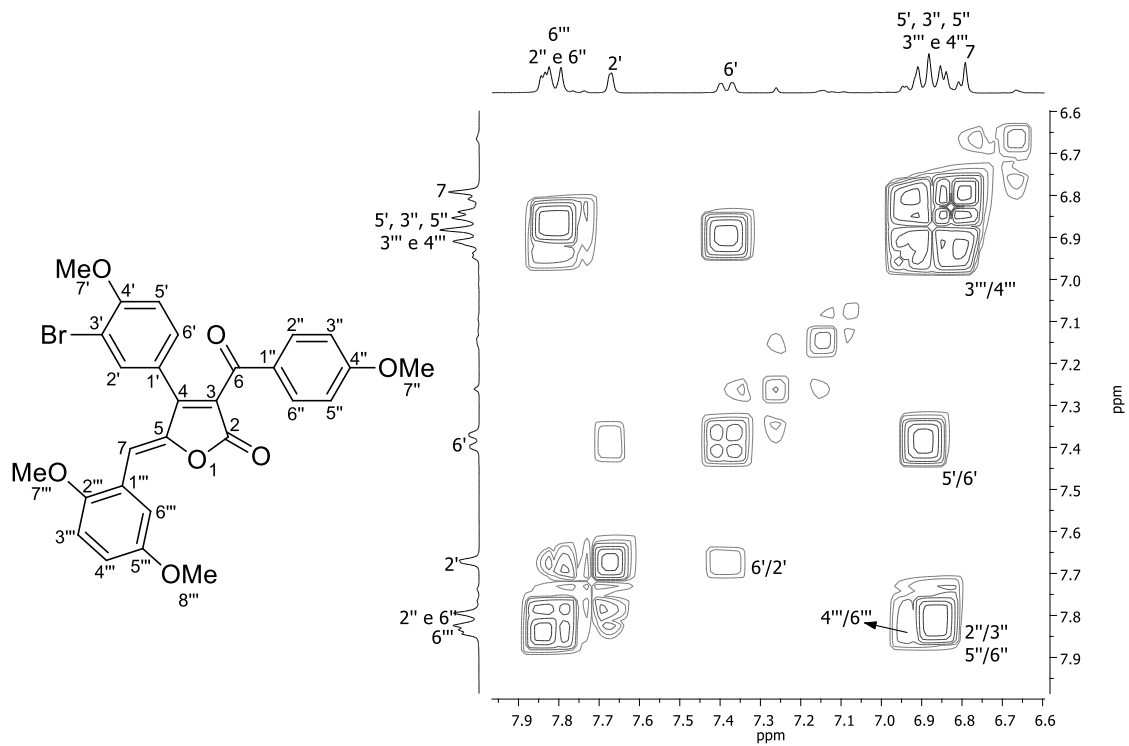


Figura A134 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81h**.



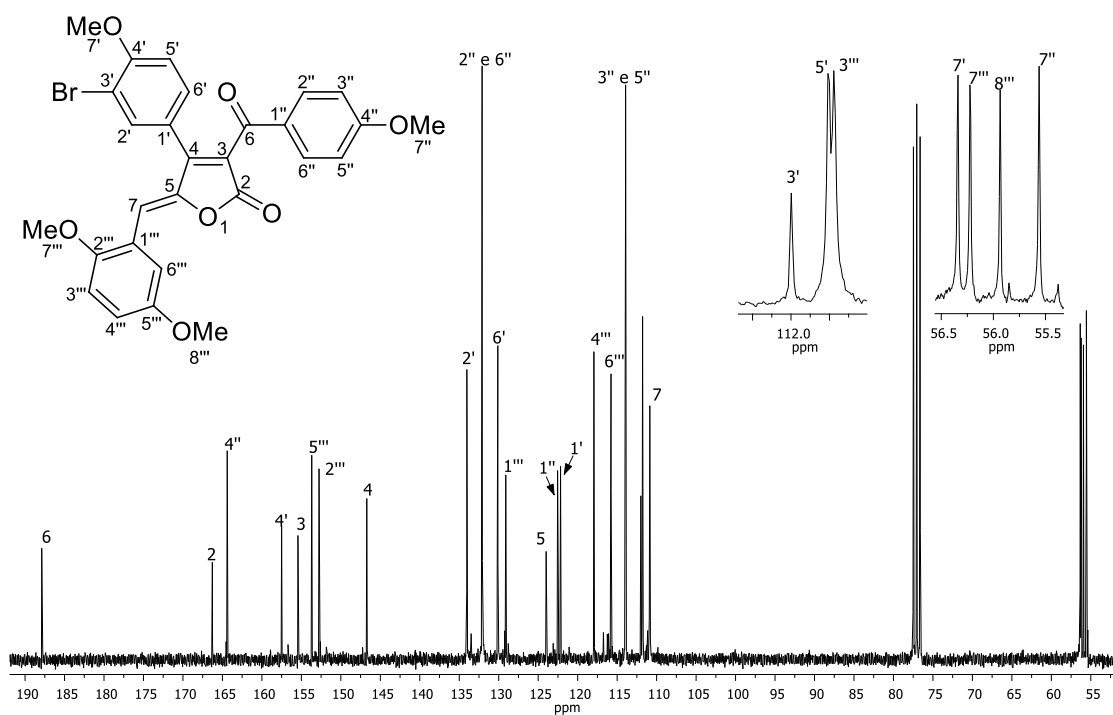


Figura A137 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **81h**.

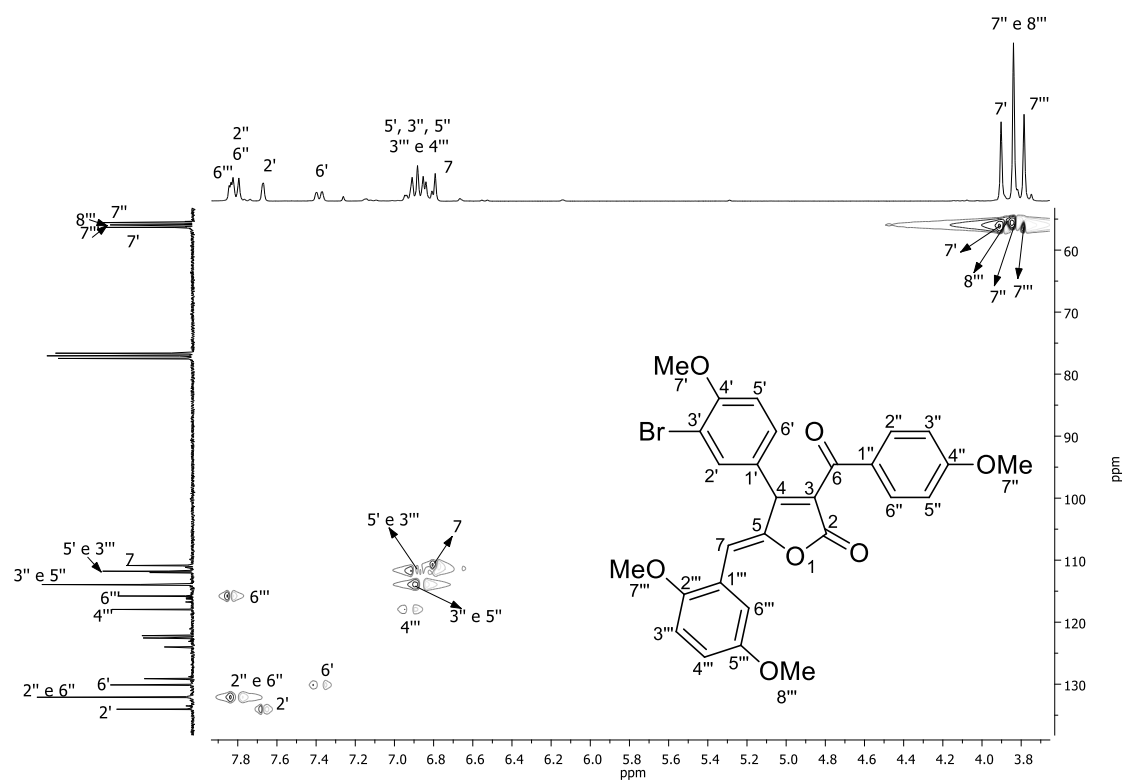


Figura A138 – Mapa de contorno *HSQC* de **81h**.

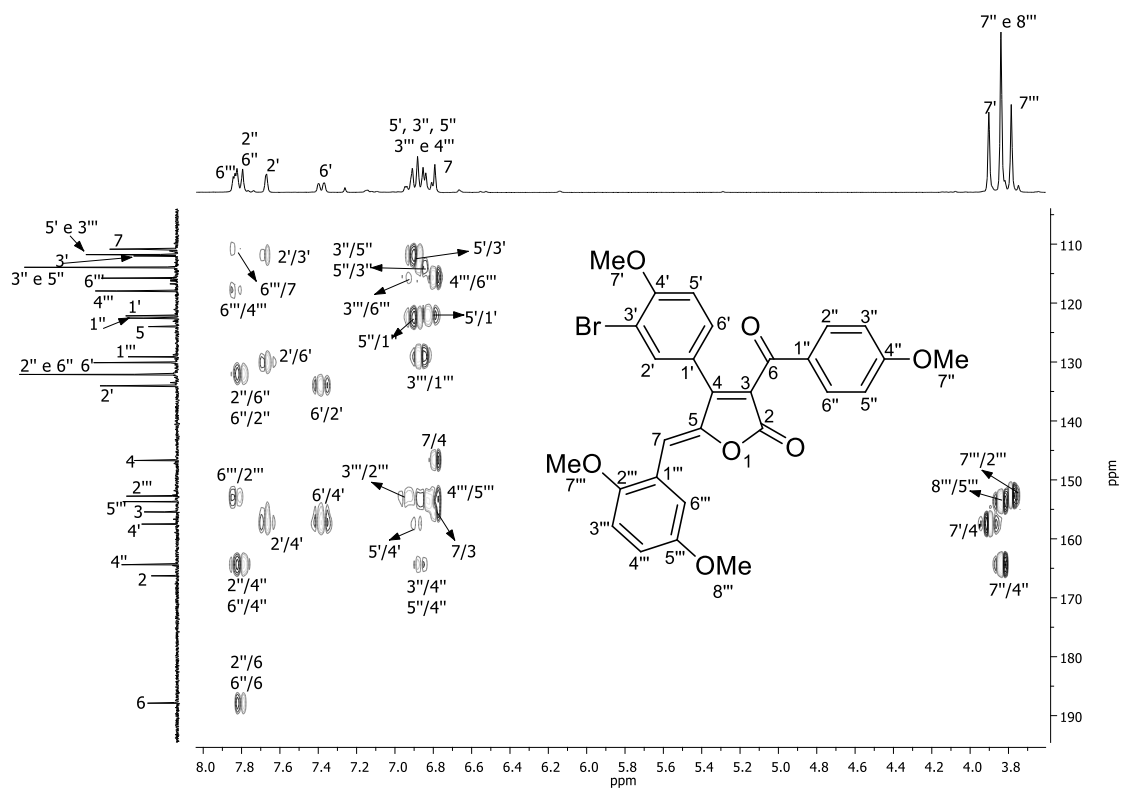


Figura A139 – Mapa de contorno *HMBC* de **81h**.

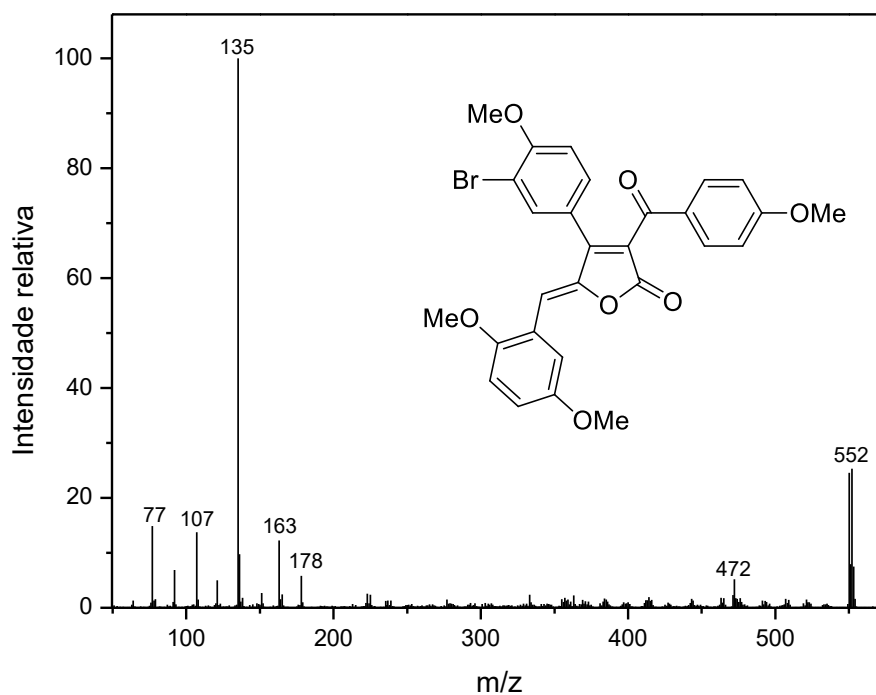


Figura A140 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **81h**.

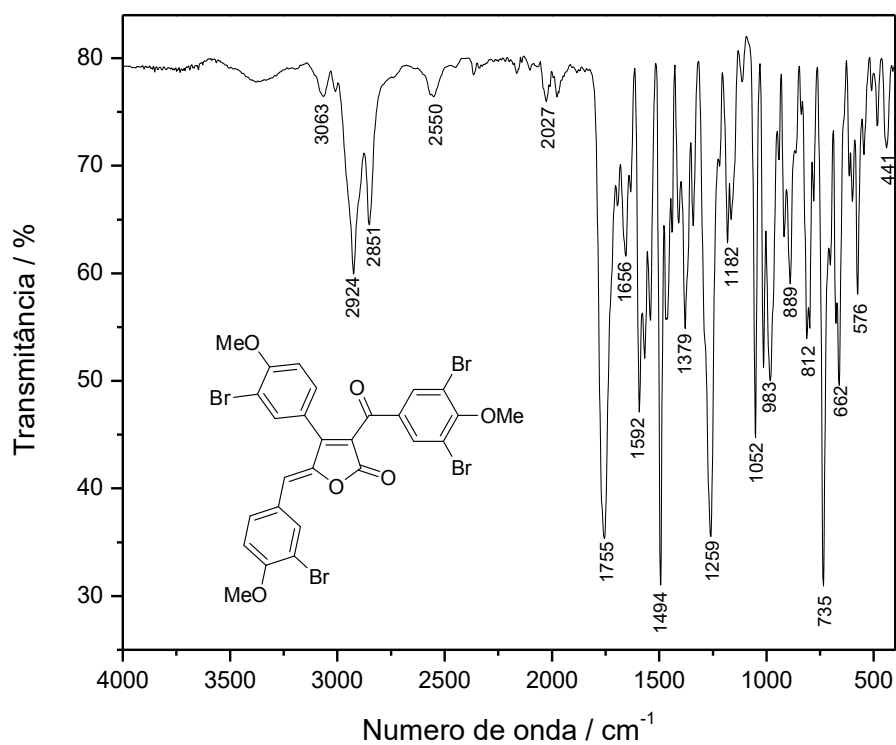


Figura A141 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **81i**.

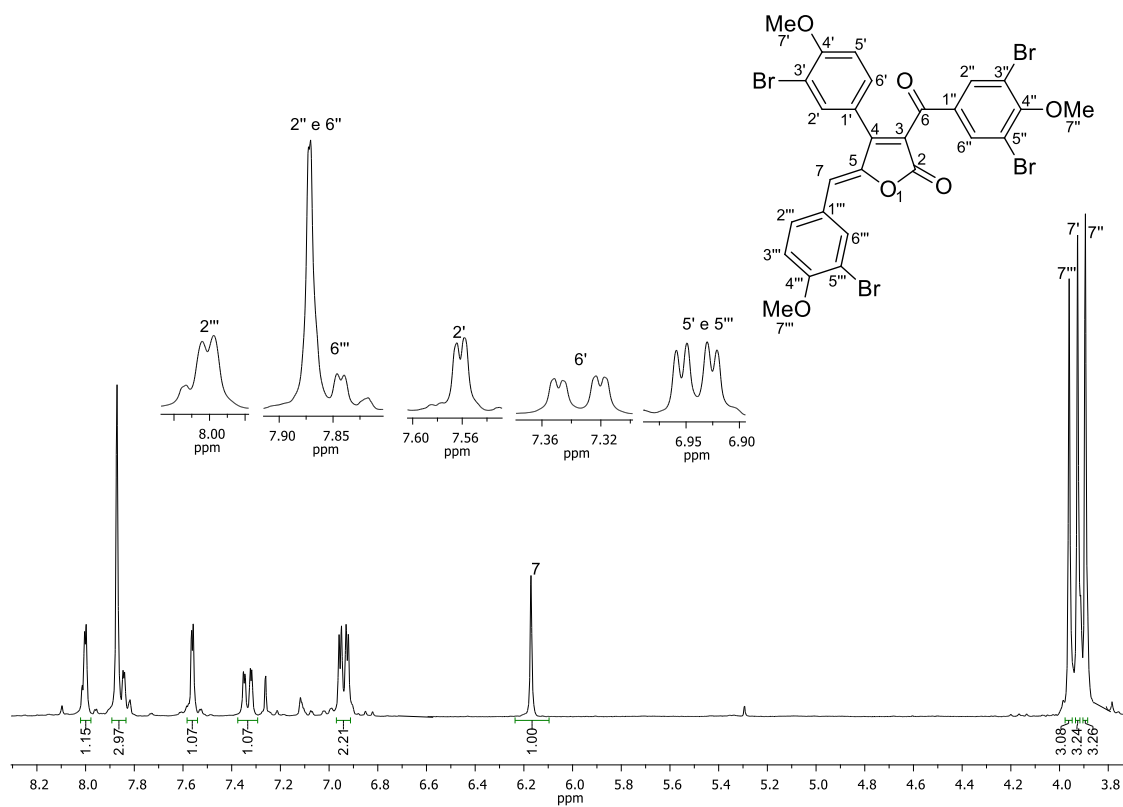


Figura A142 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81i**.

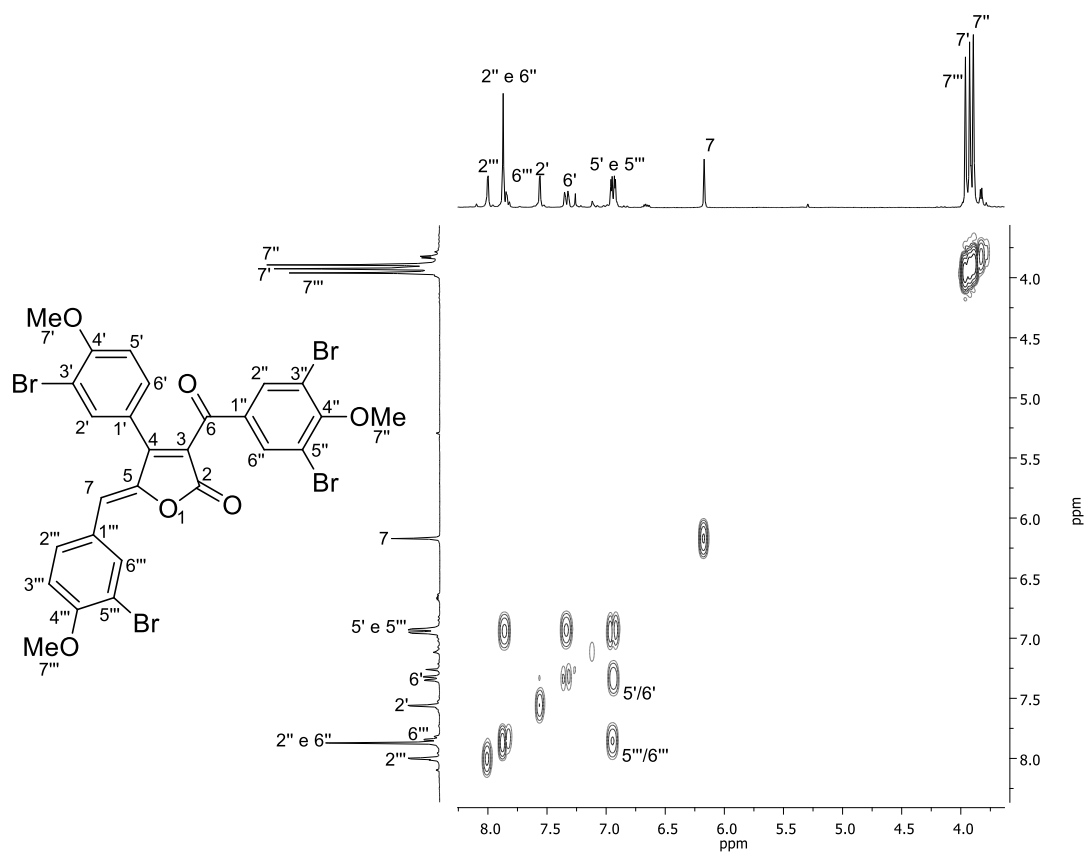


Figura A143 – Mapa de contorno COSY de 81i.

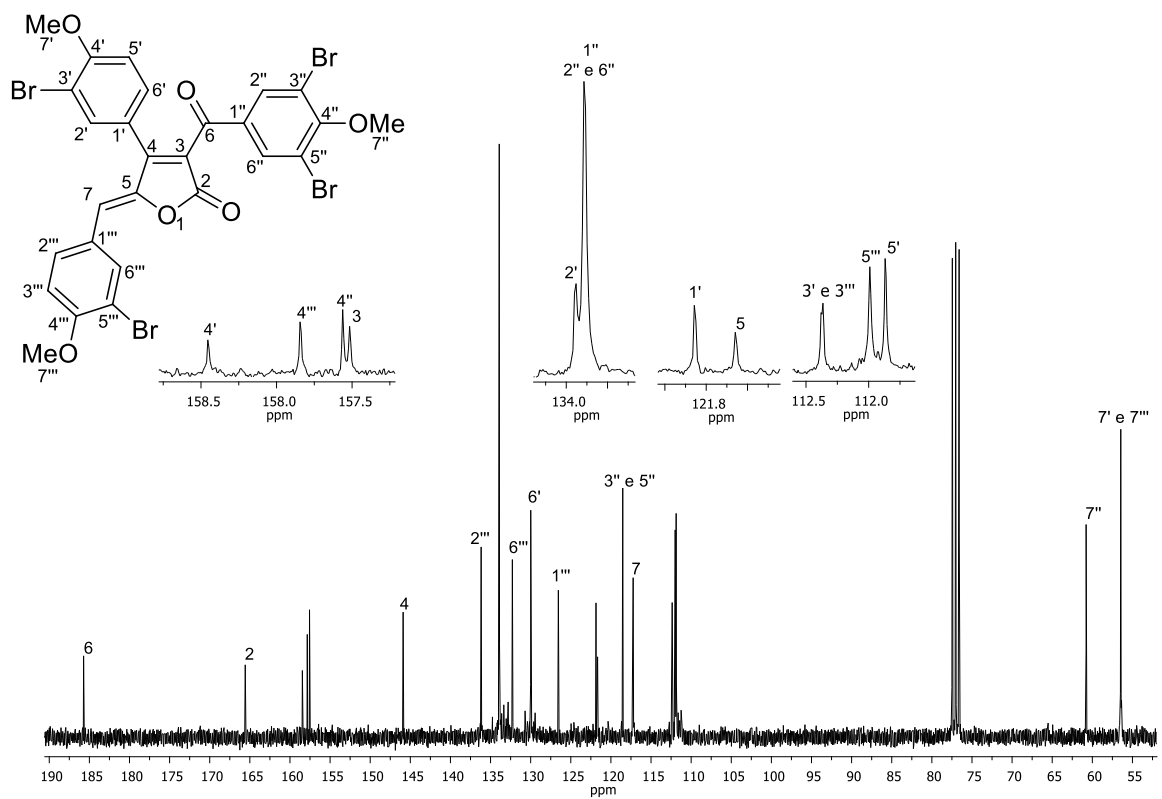


Figura A144 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de 81i.

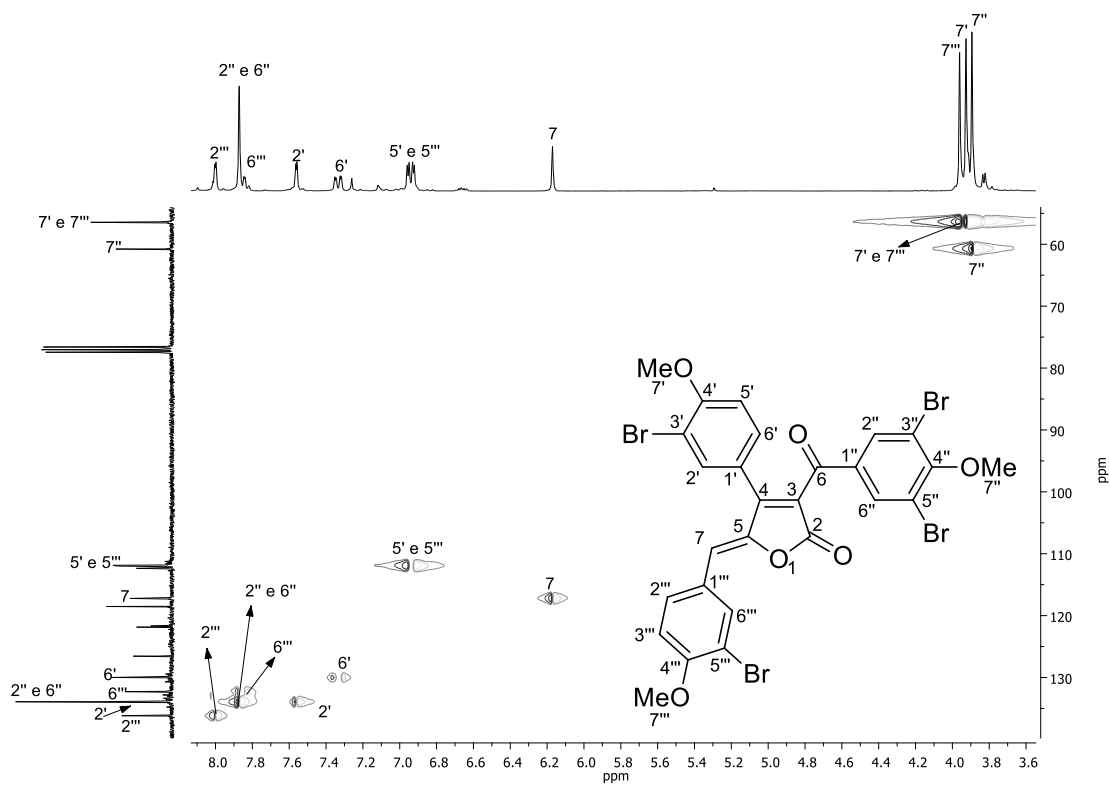


Figura A145 – Mapa de contorno *HSQC* de **81i**.

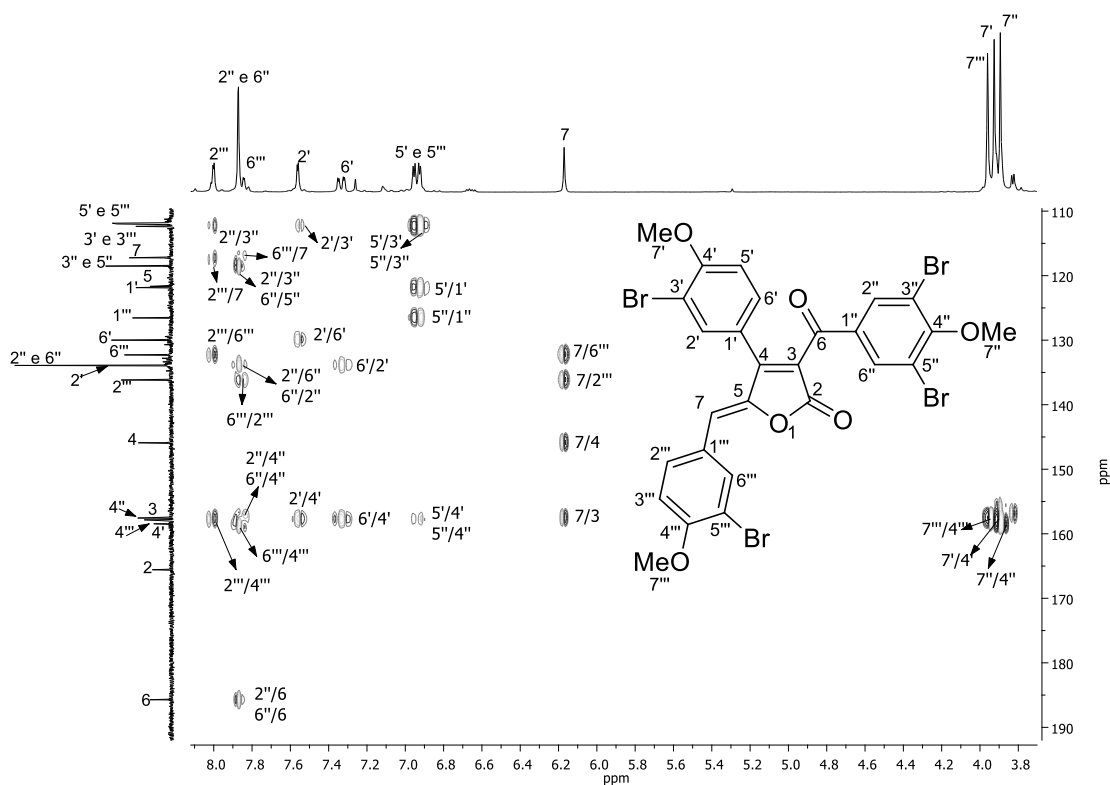


Figura A146 – Mapa de contorno *HMBC* de **81i**.

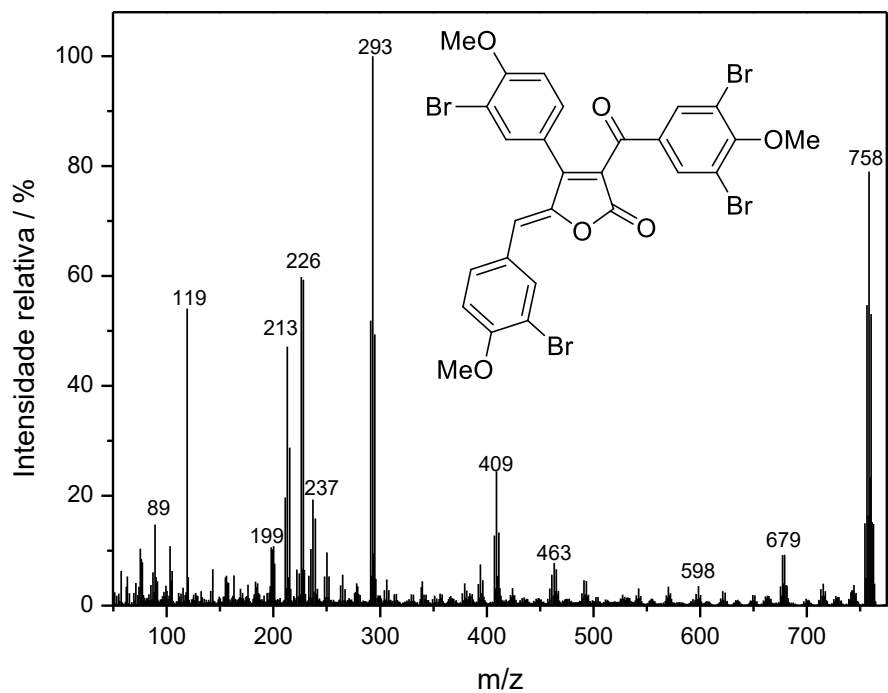


Figura A147 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 81i.

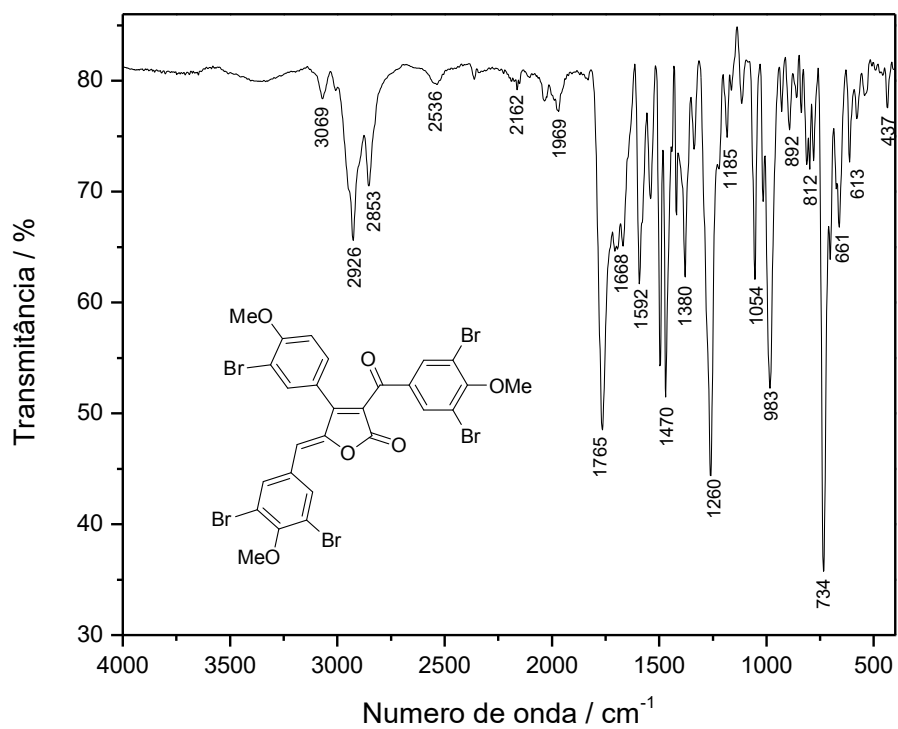


Figura A148 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto 81j.

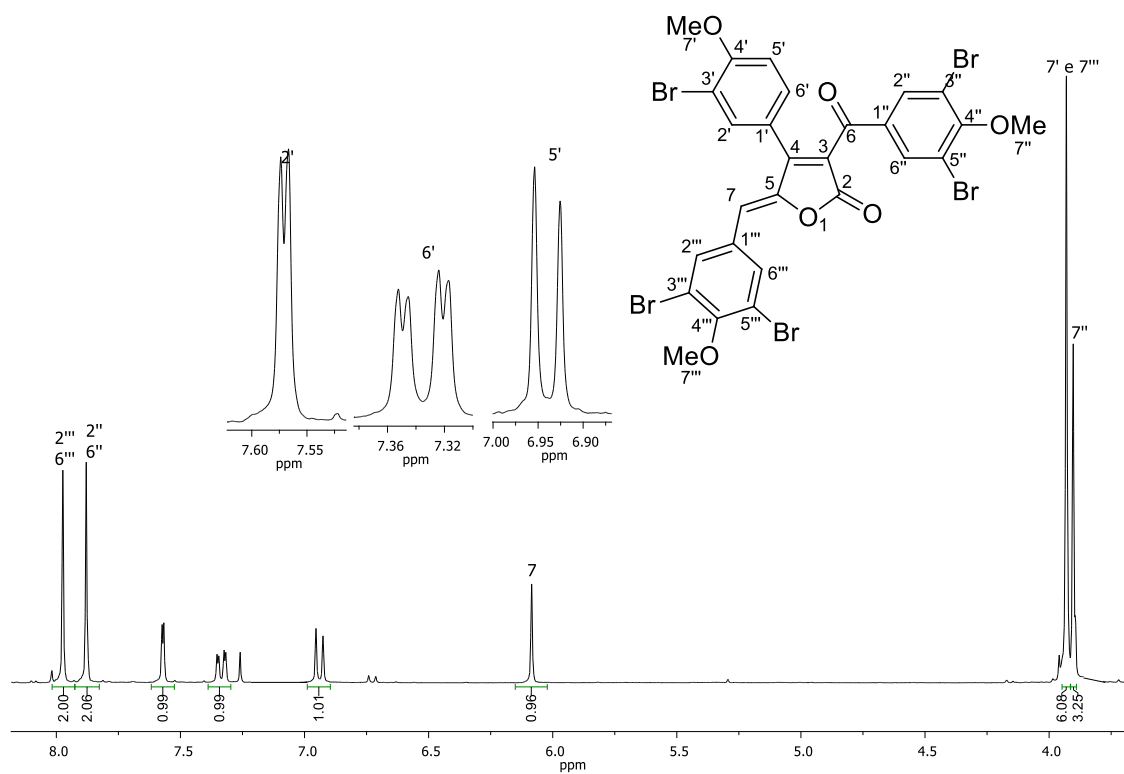


Figura A149 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81j**.

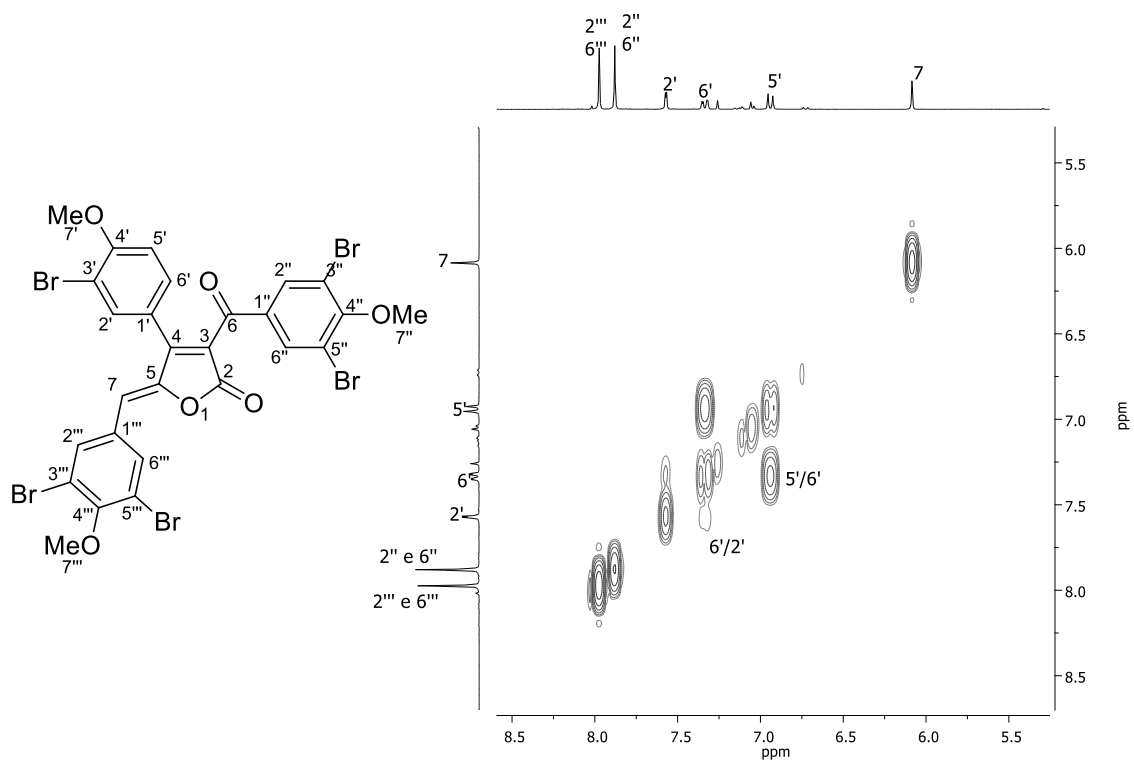


Figura A150 – Mapa de contorno COSY de **81j**.

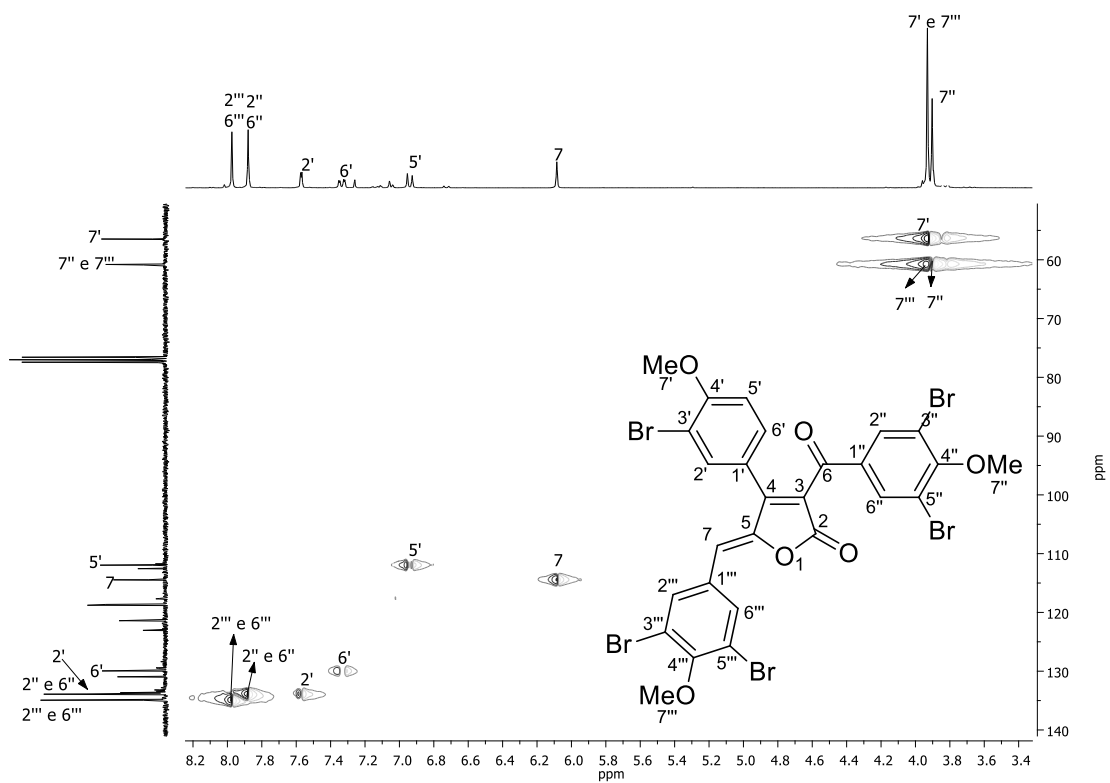


Figura A153 – Mapa de contorno *HSQC* de **81j**.

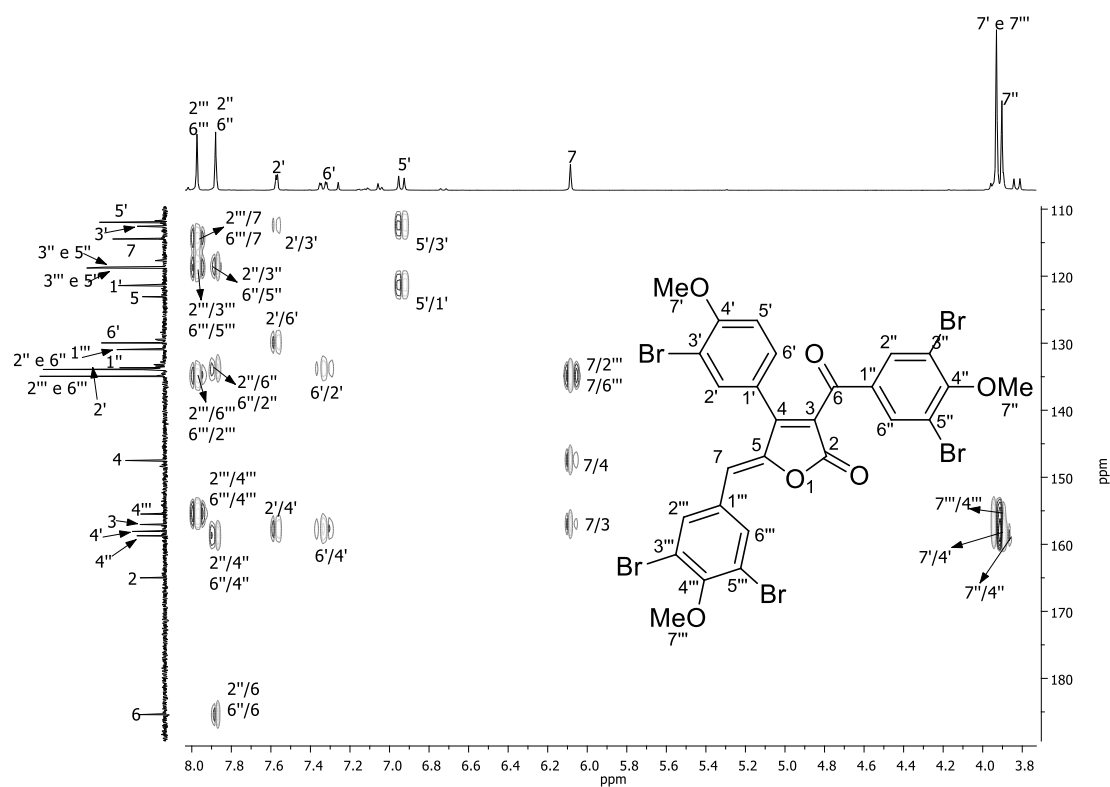


Figura A154 – Mapa de contorno *HMBC* de **81j**.

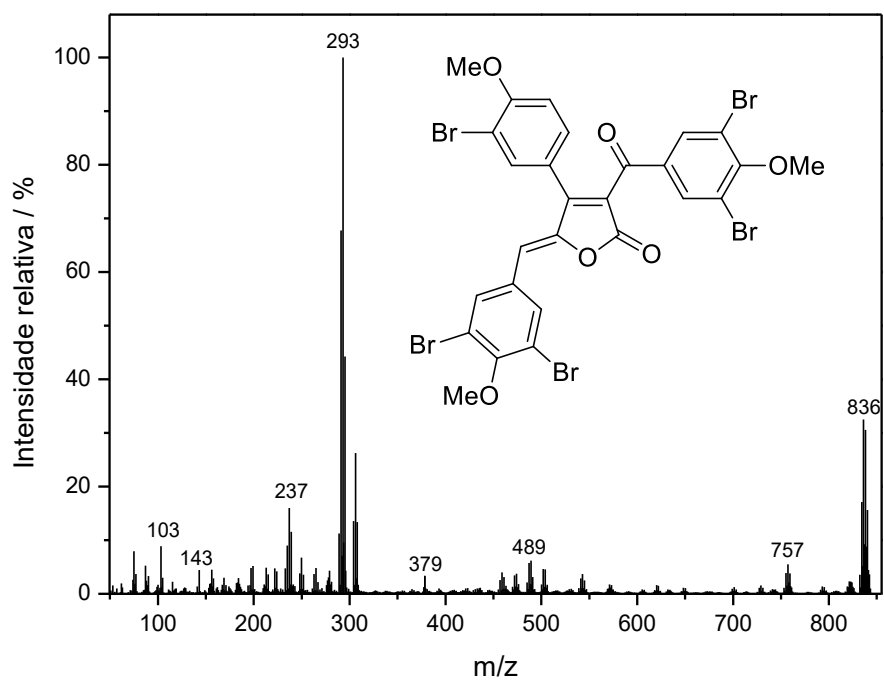


Figura A155 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **81j**.

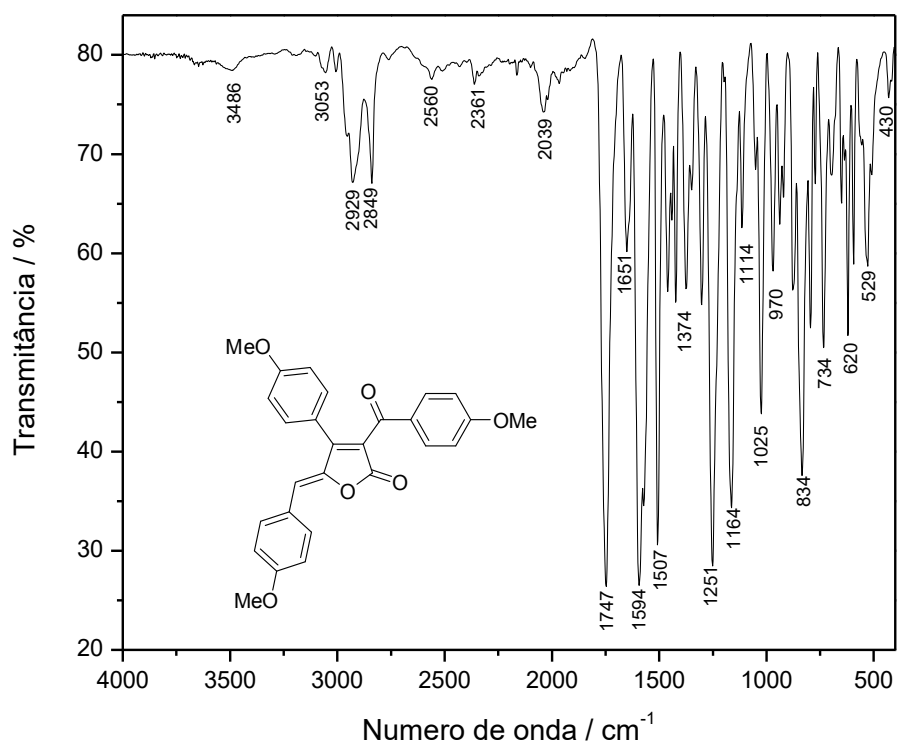


Figura A156 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **81k**.

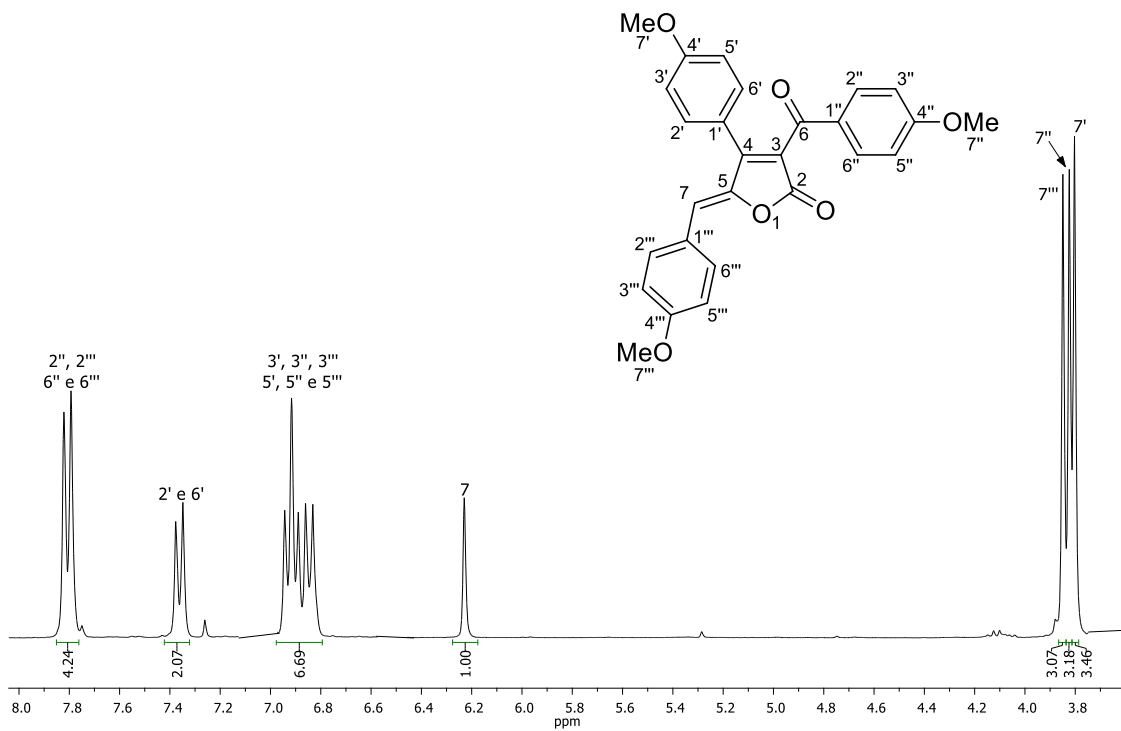


Figura A157 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **81k**.

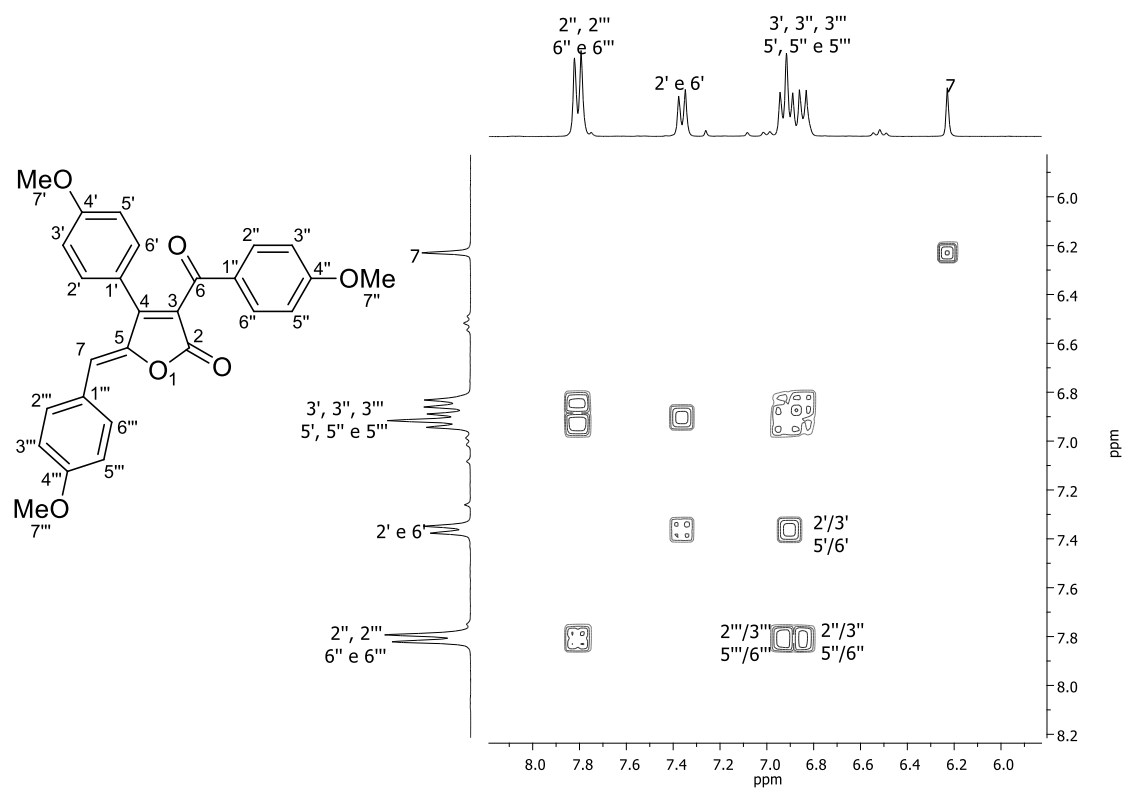


Figura A158 – Mapa de contorno COSY de **81k**.

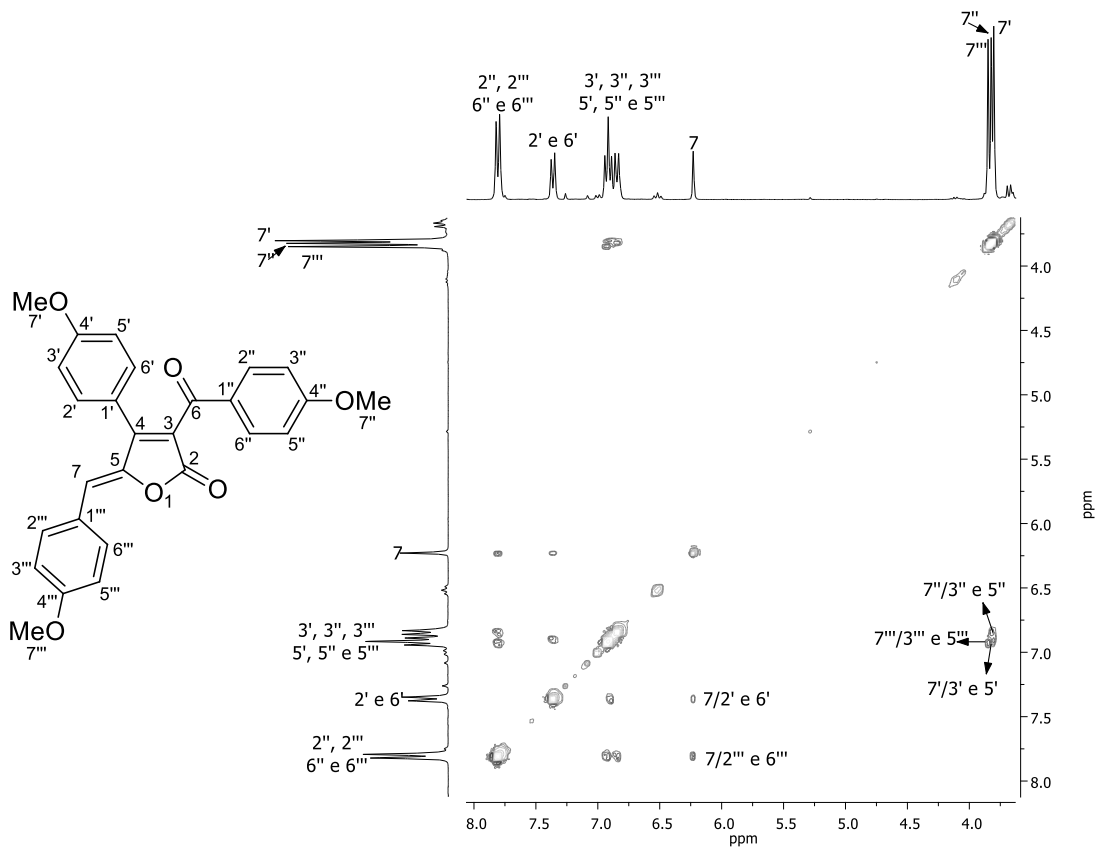


Figura A159 – Mapa de contorno NOESY de **81k**.

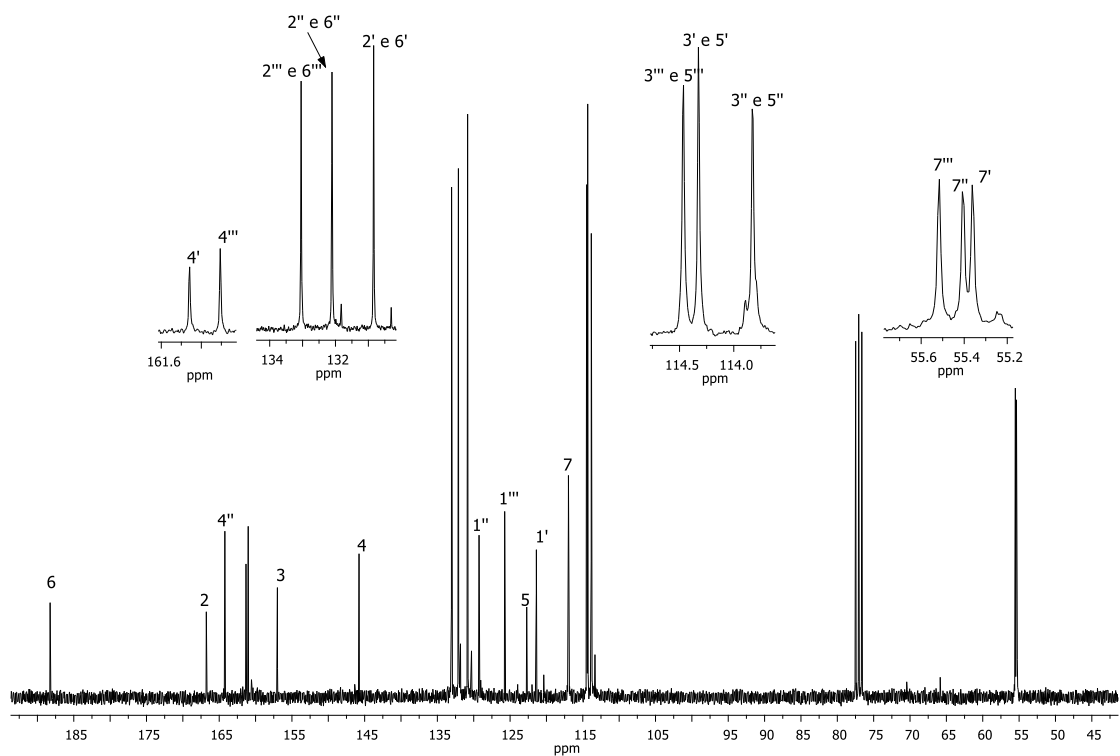


Figura A160 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **81k**.

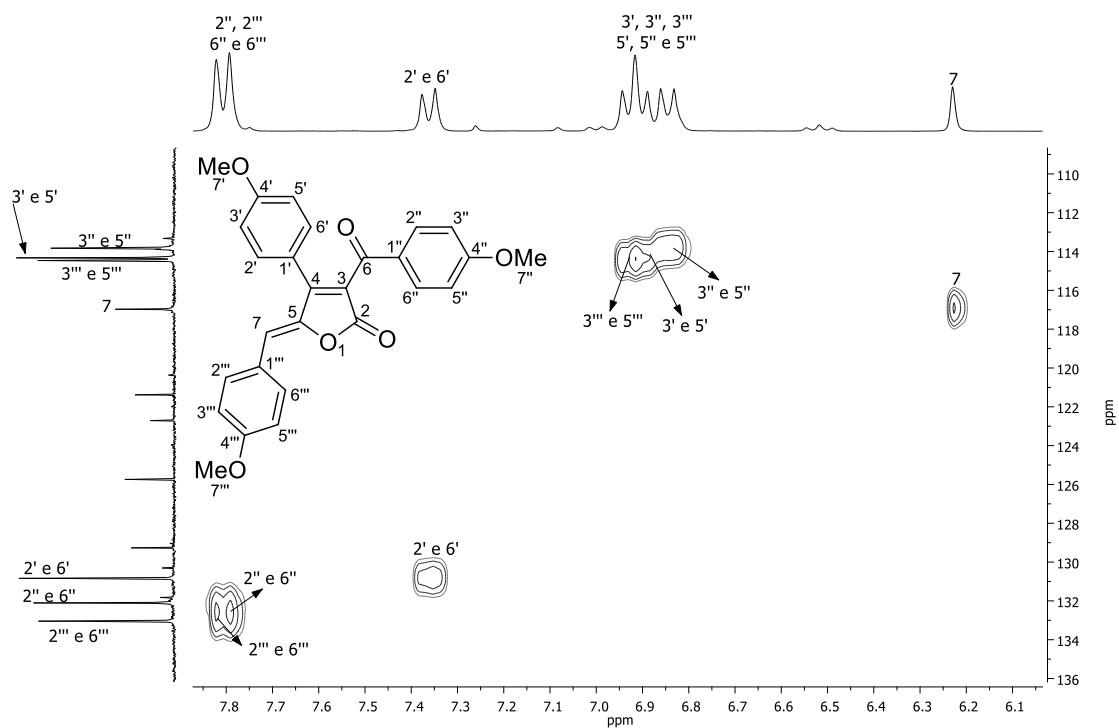


Figura A161 – Mapa de contorno HSQC de 81k.

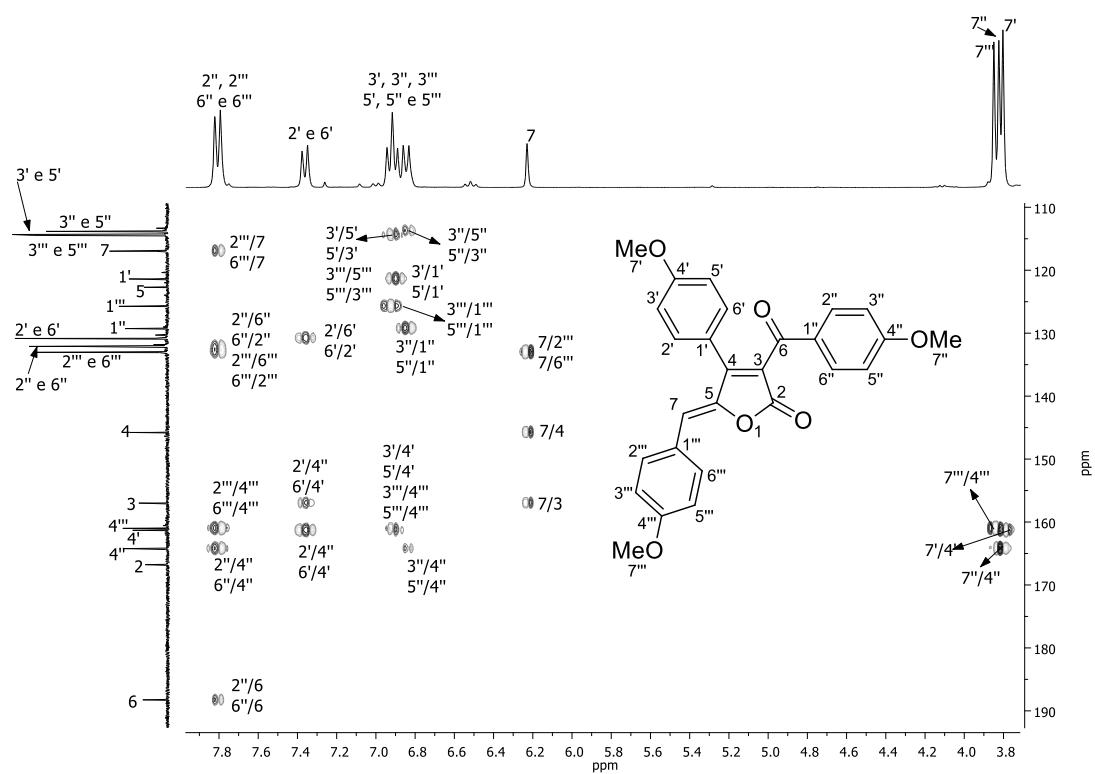


Figura A162 – Mapa de contorno HMBC de 81k.

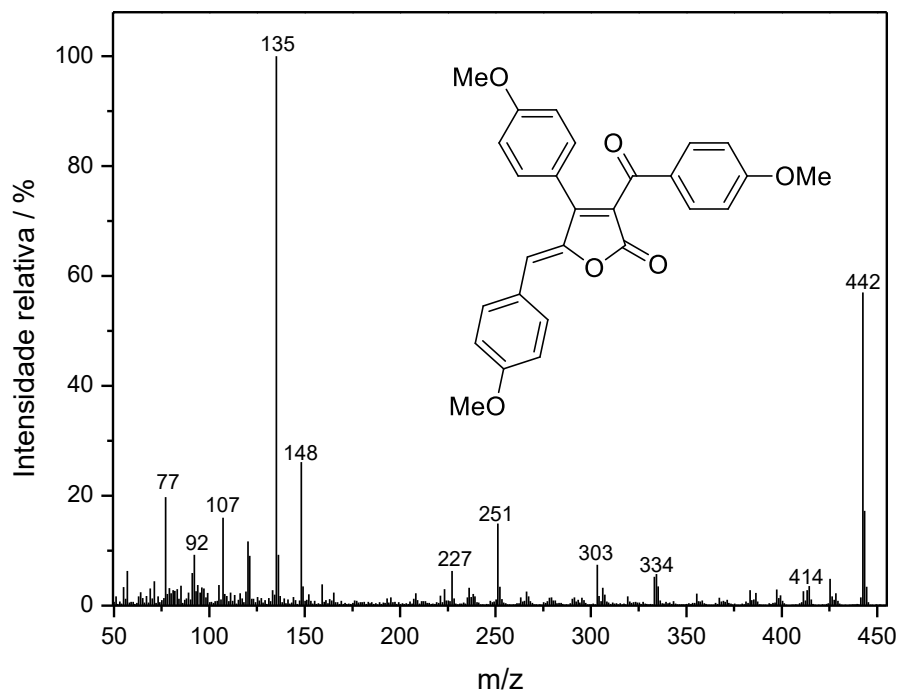


Figura A163 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 81k.

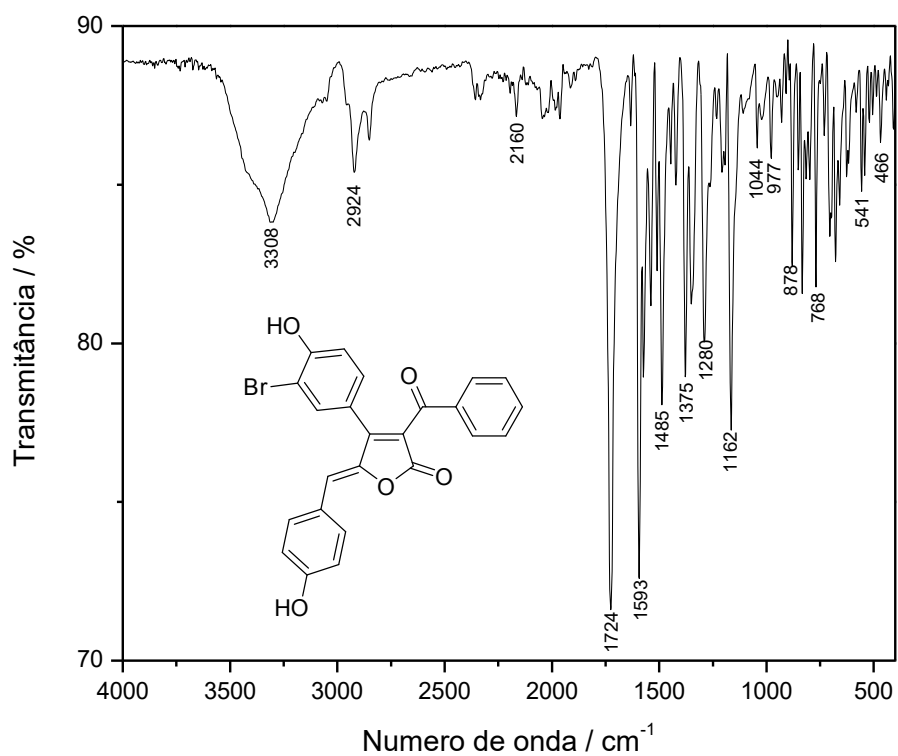


Figura A164 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto 82a.

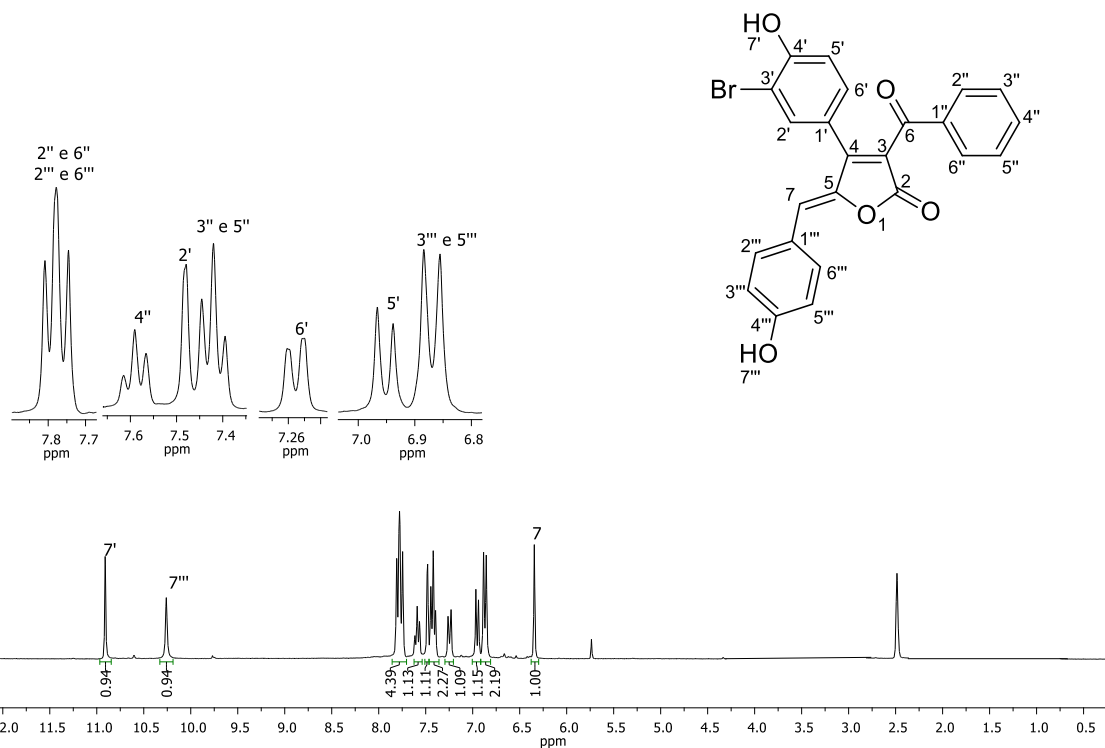


Figura 165 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) de **82a**.

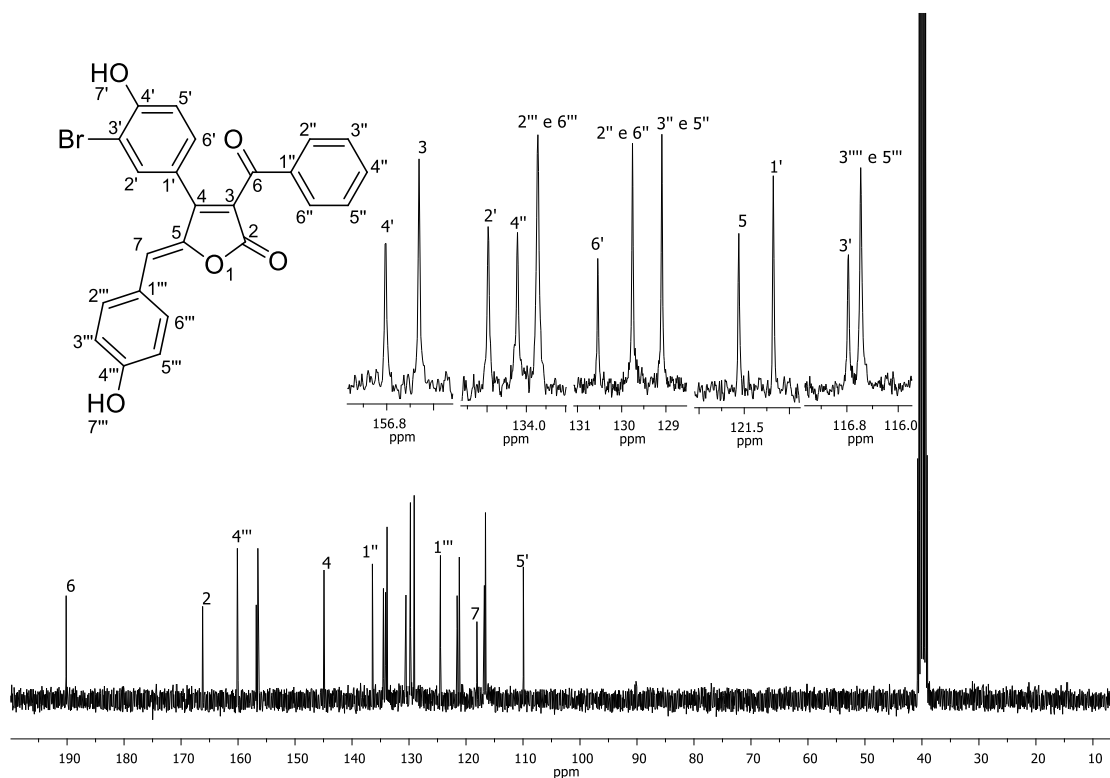


Figura A166 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) de **82a**.

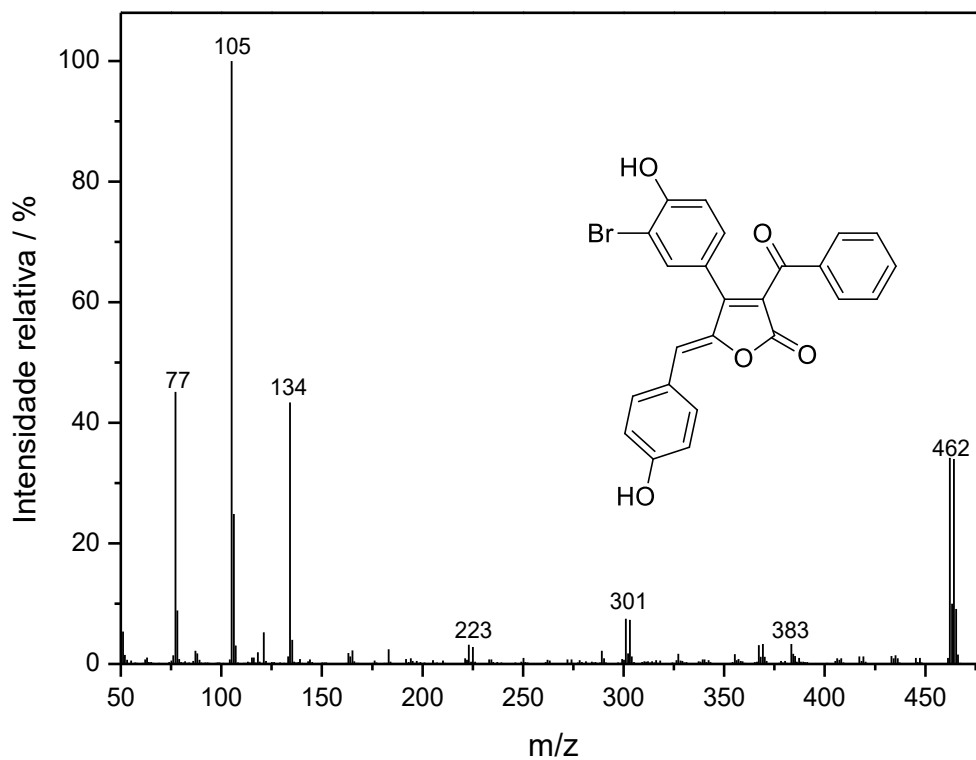


Figura A167 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **82a**.

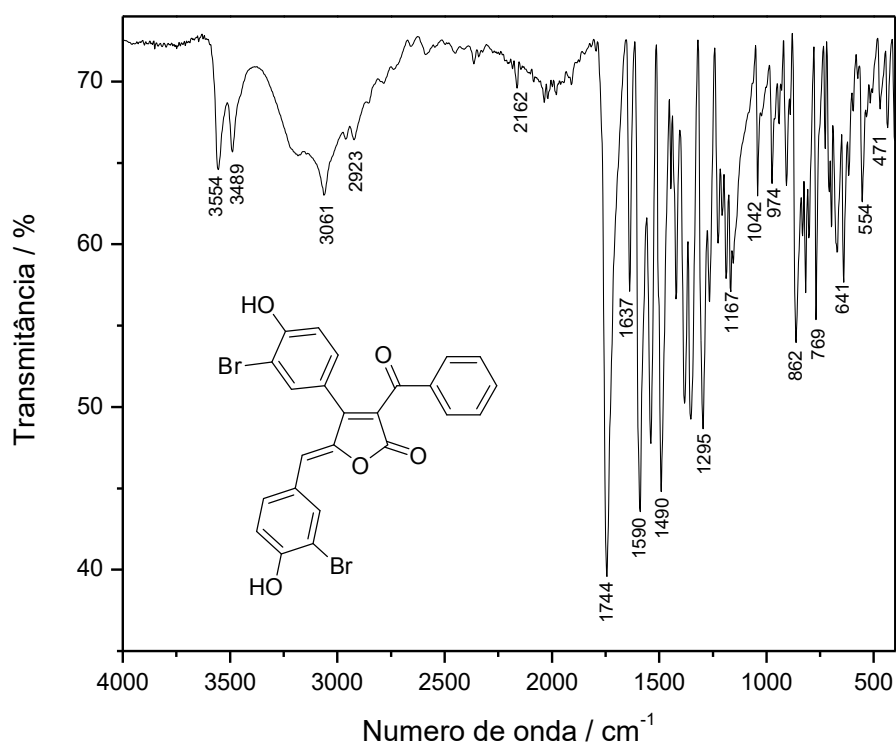


Figura A168 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **82b**.

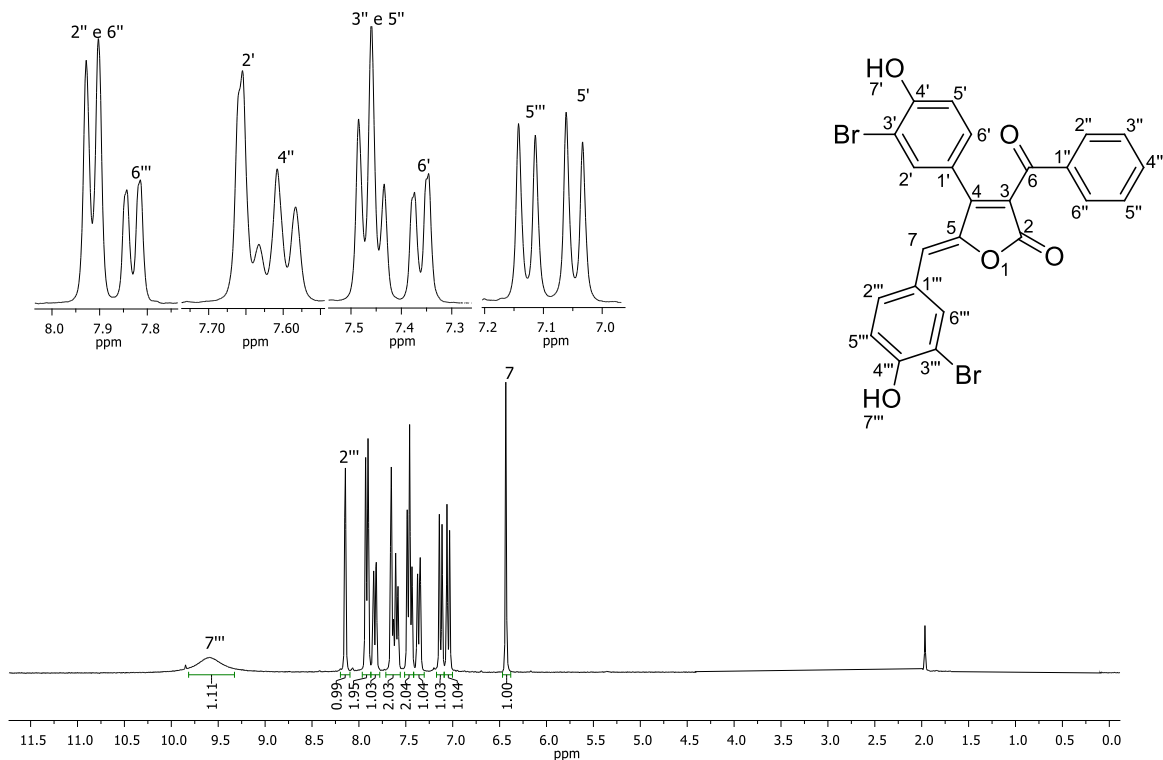


Figura A169 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, Acetona- d_6) de **82b**.

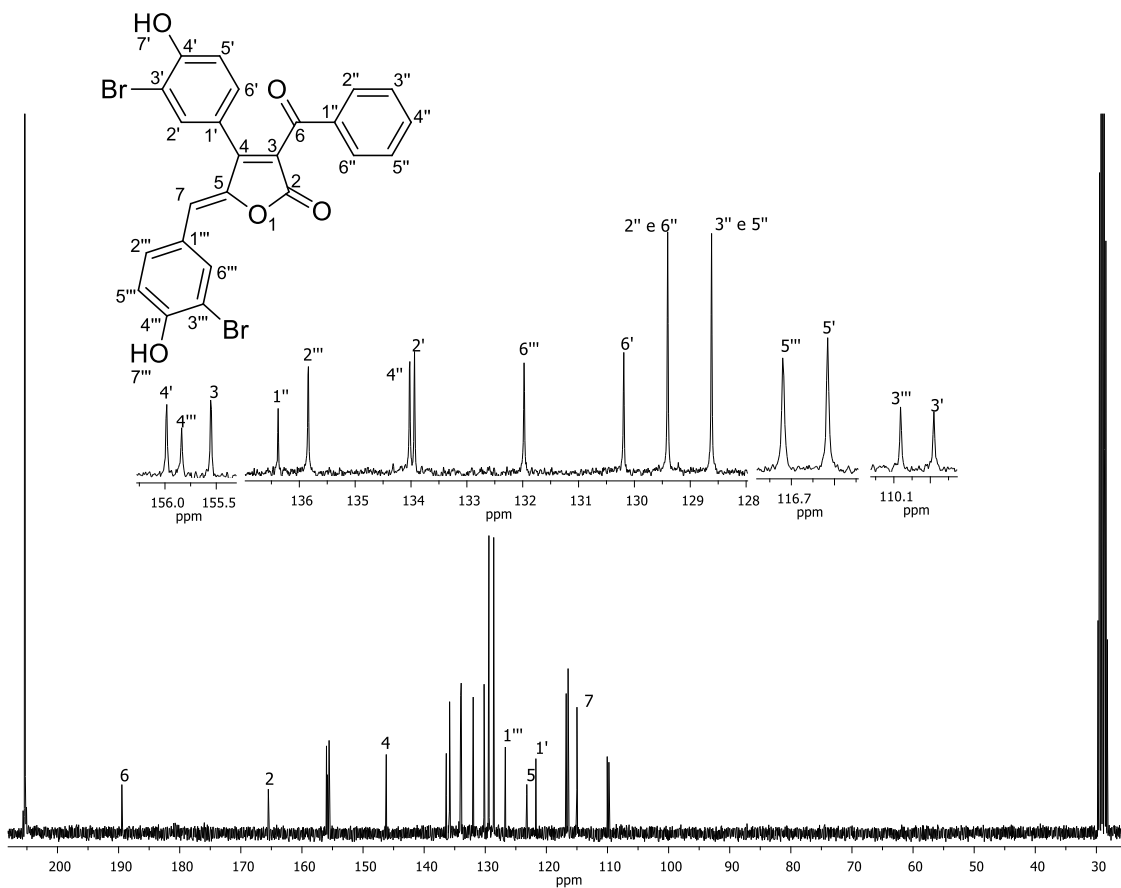


Figura A170 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, Acetona- d_6) de **82b**.

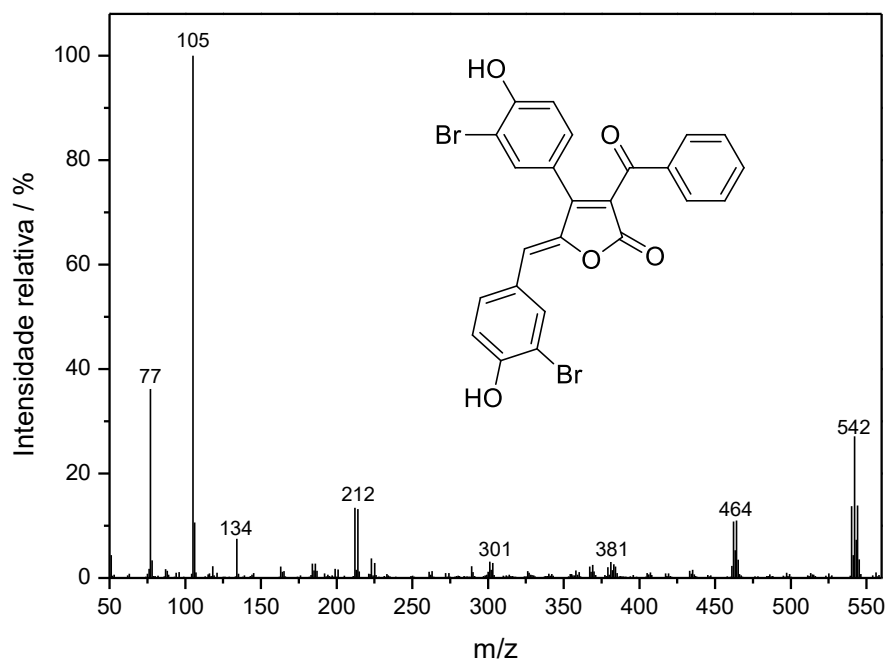


Figura A171 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **82b**.

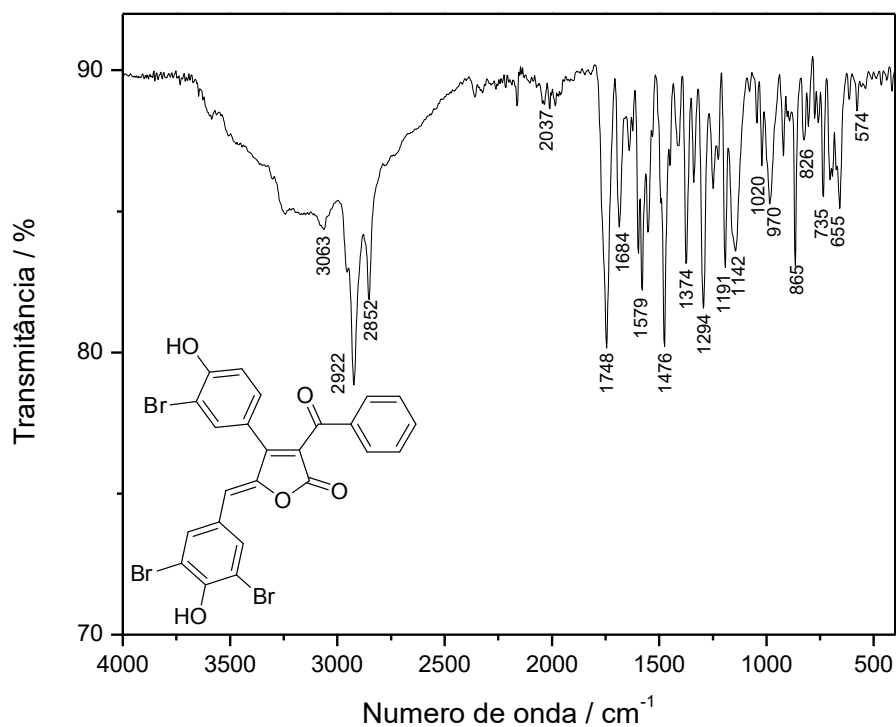


Figura A172 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **82c**.

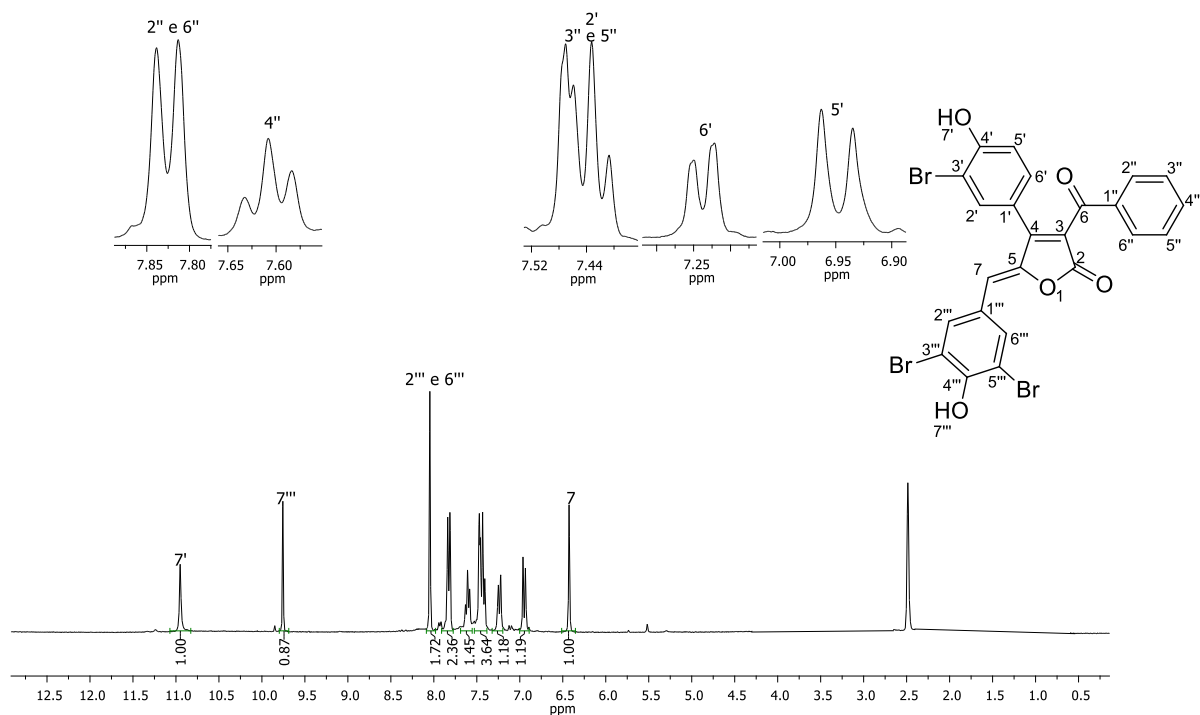


Figura A173 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) de **82c**.

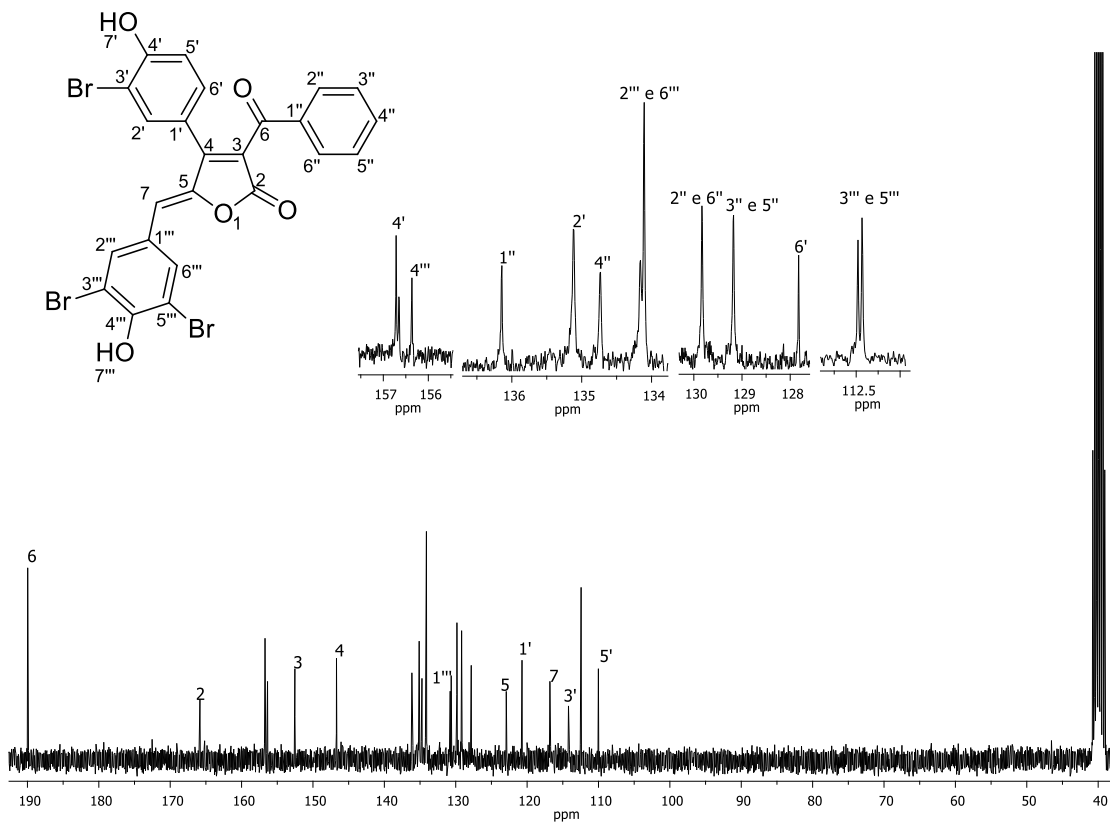


Figura A174 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) de **82c**.

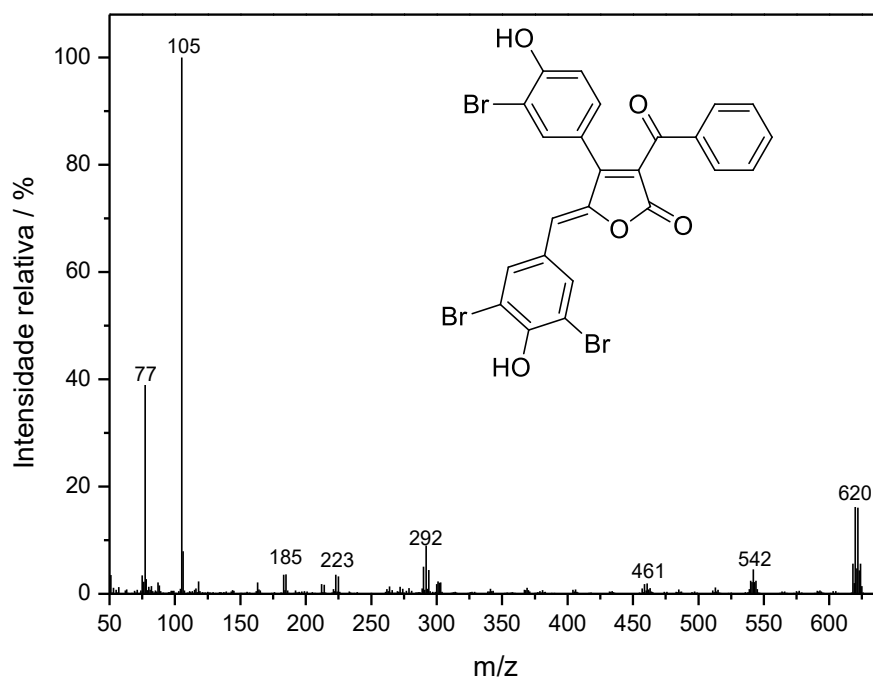


Figura A175 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto 82c.

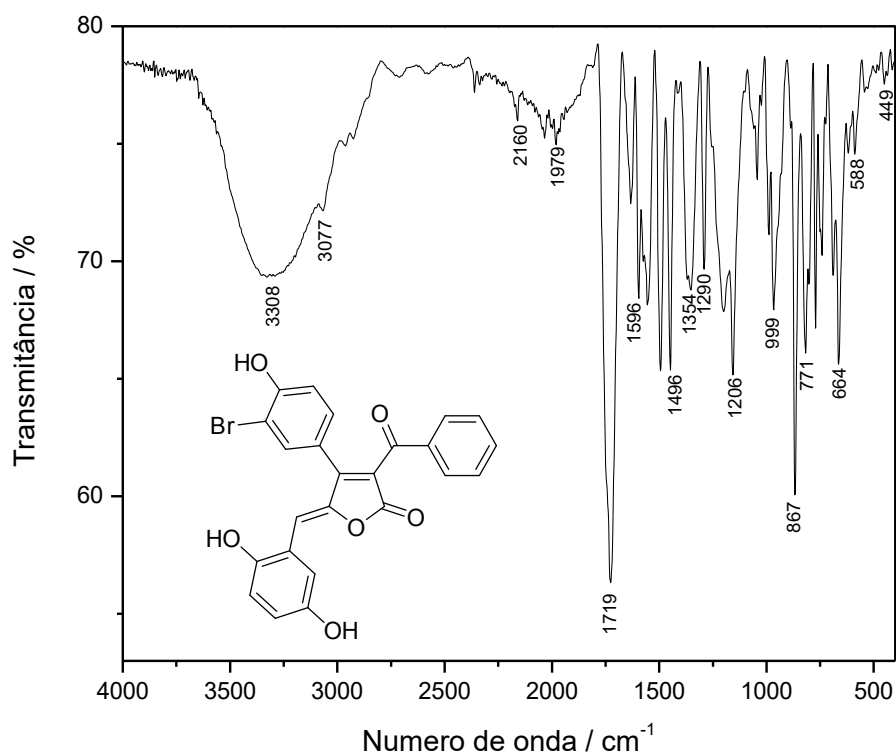


Figura A176 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto 82d.

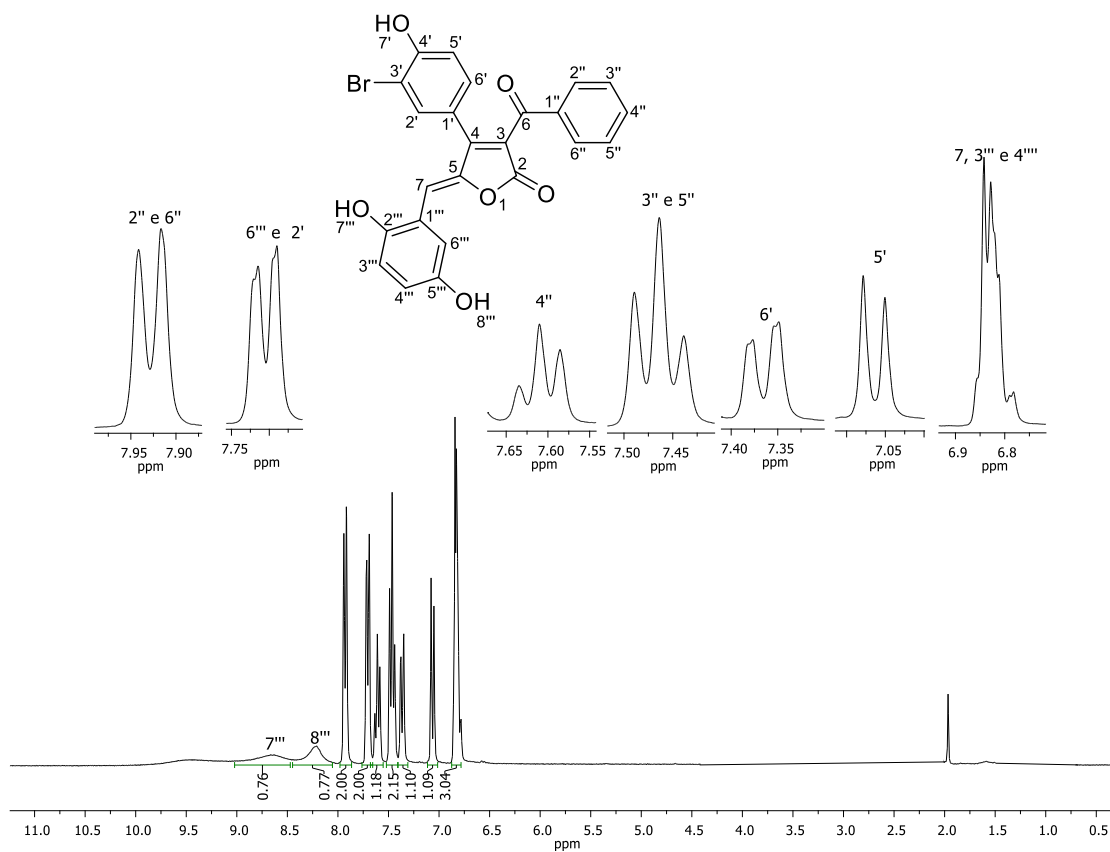


Figura A177 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, Acetona- d_6) de **82d**.

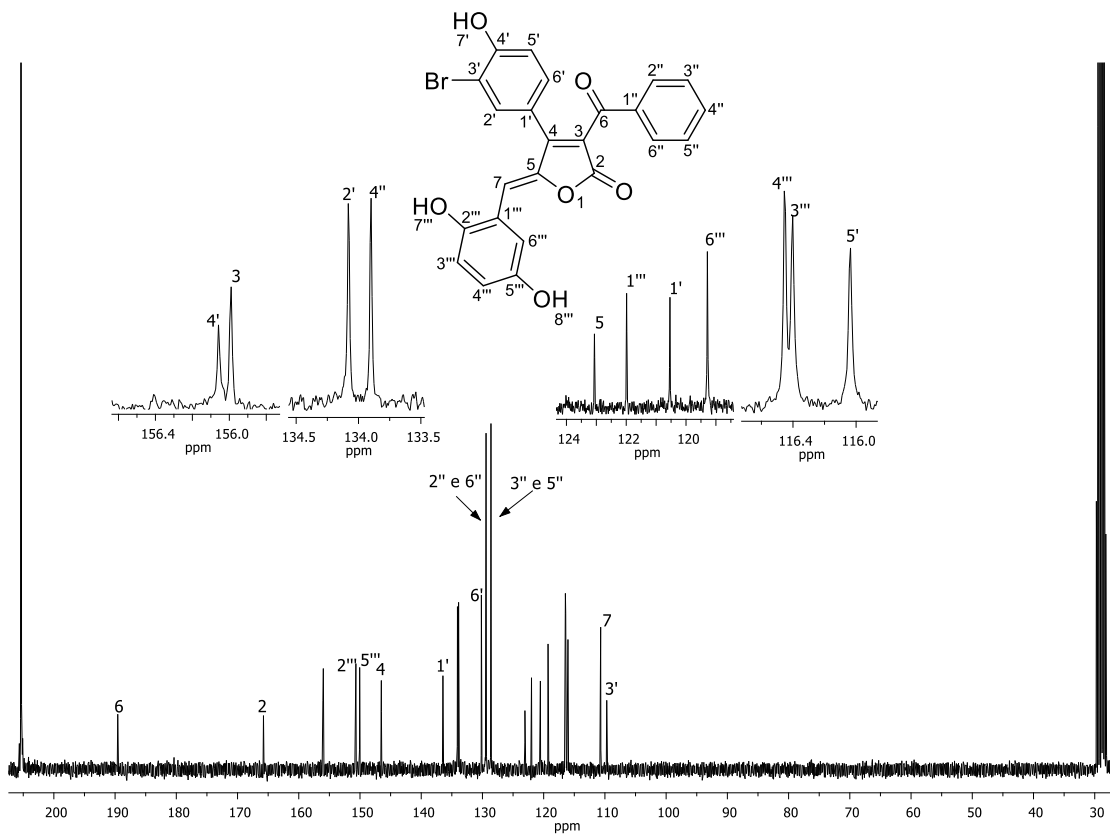


Figura A178 – Espectro de RMN de ^{13}C (300 MHz, Acetona- d_6) de **82d**.

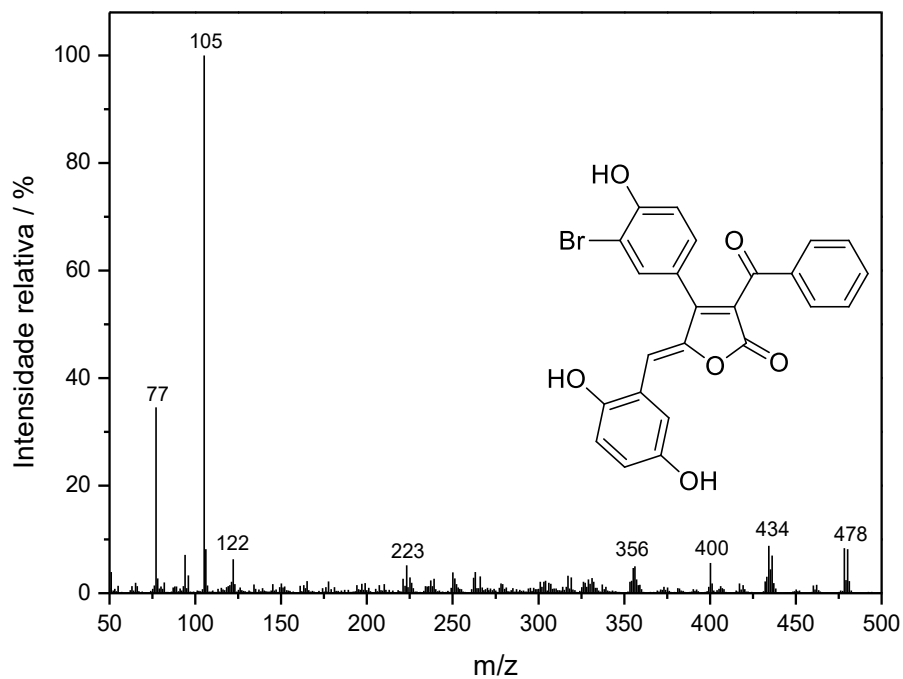


Figura A179 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **82d**.

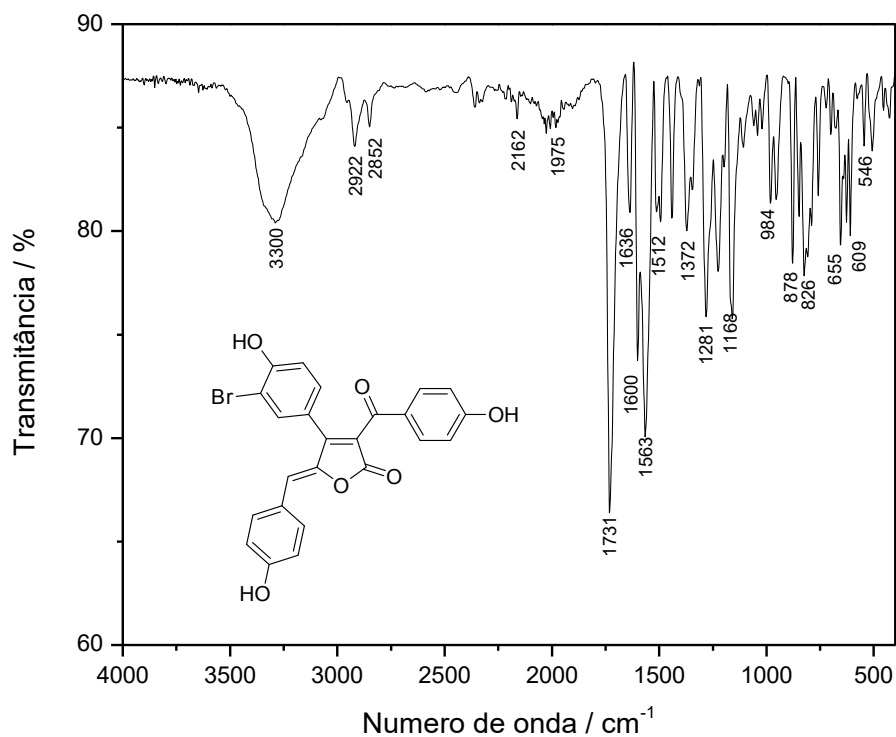


Figura A180 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **82e**.

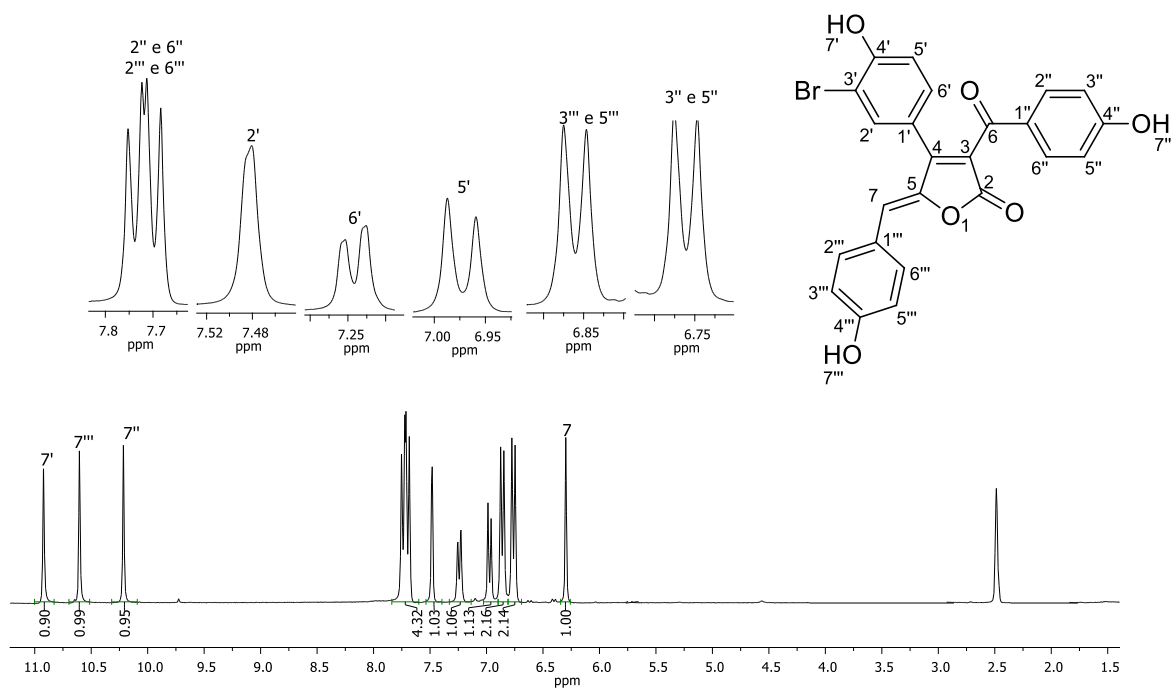


Figura A181 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) de **82e**.

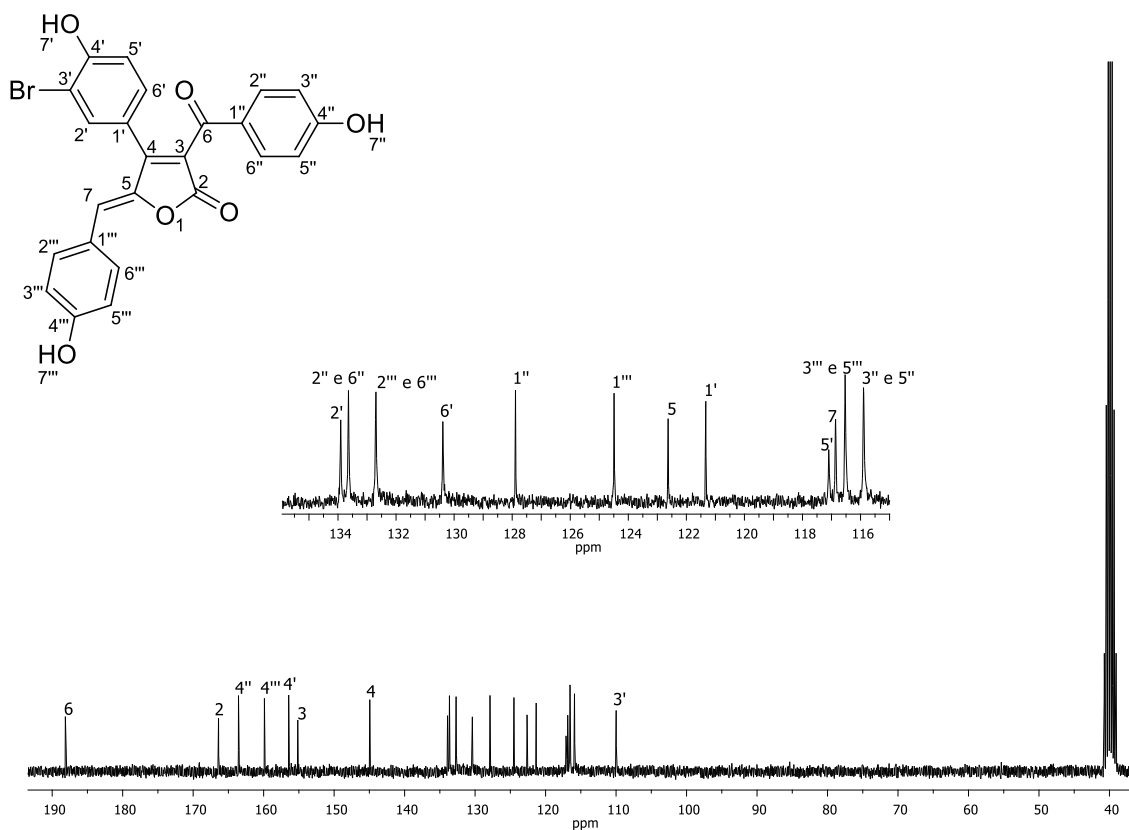


Figura A182 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) de **82e**.

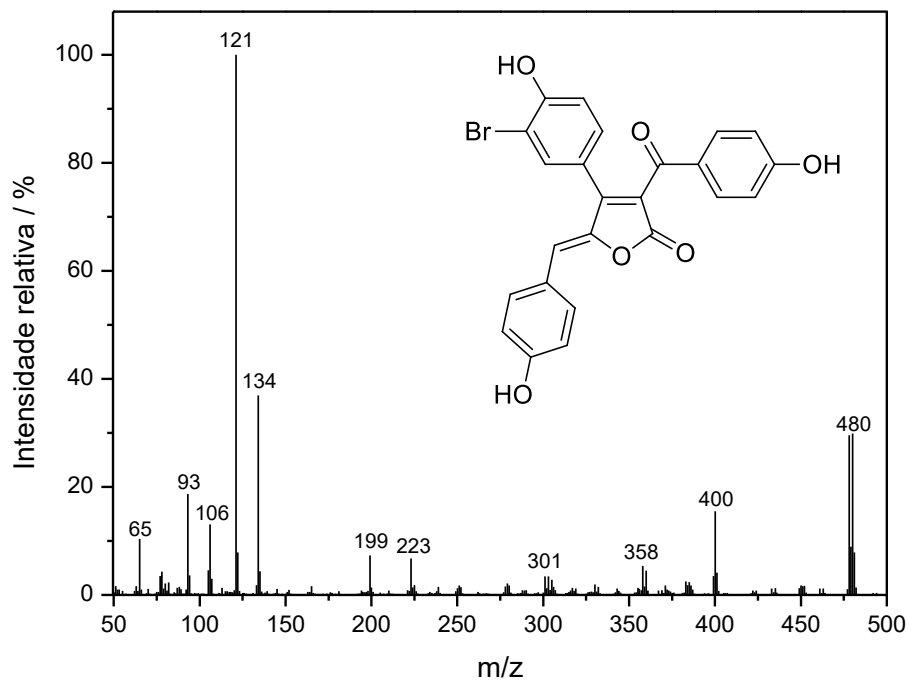


Figura A183 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **82e**.

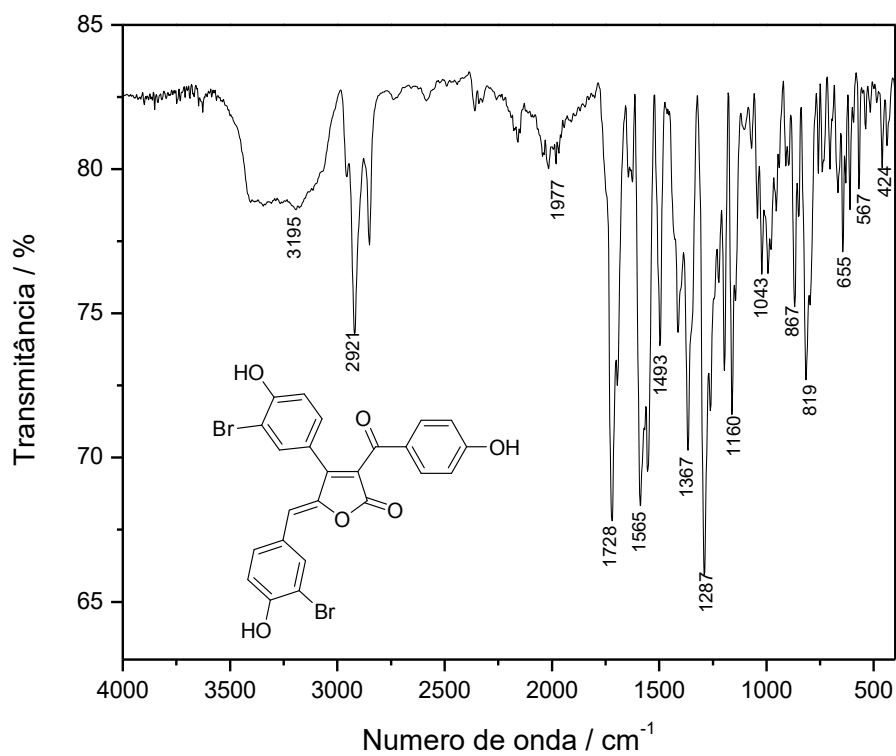


Figura A184 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **82f**.

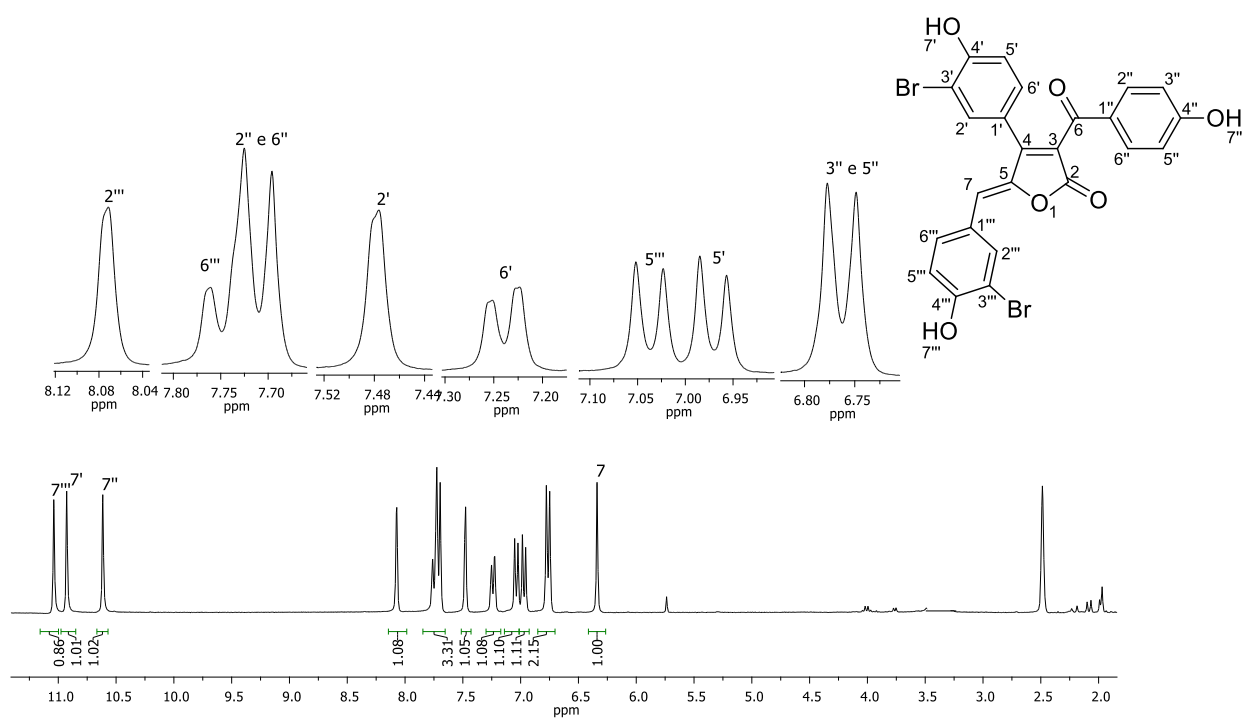


Figura A185 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) de **82f**.

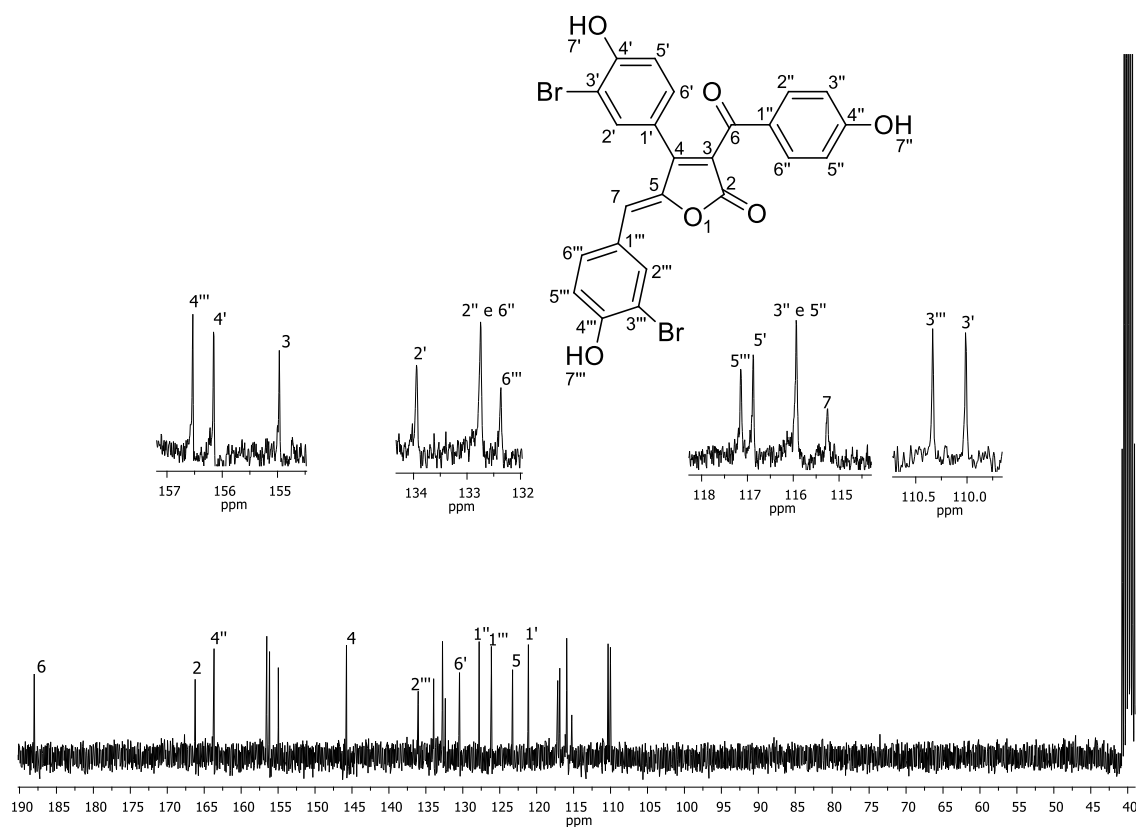


Figura A186 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) de **82f**.

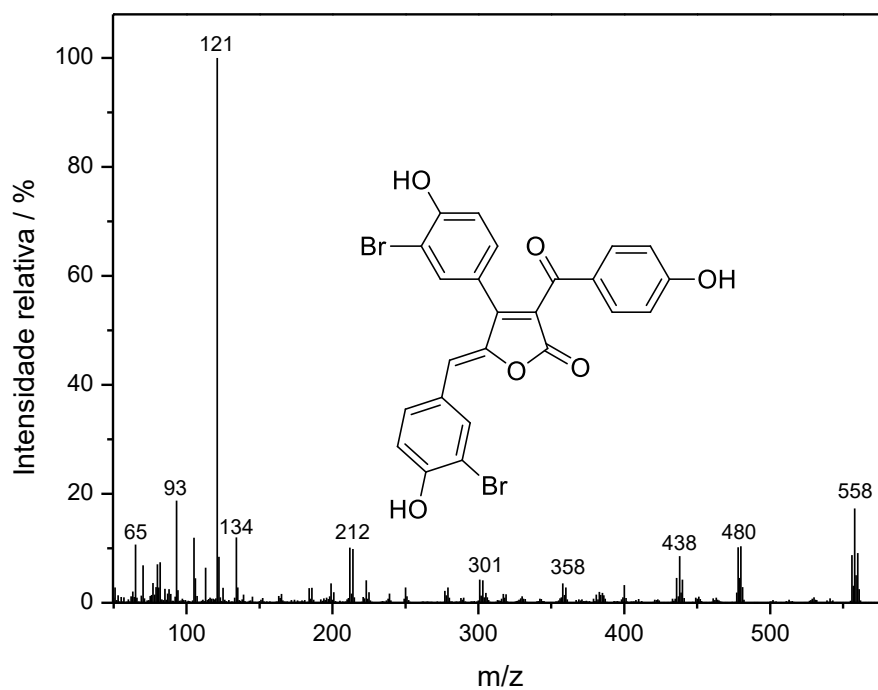


Figura A187 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **82f**.

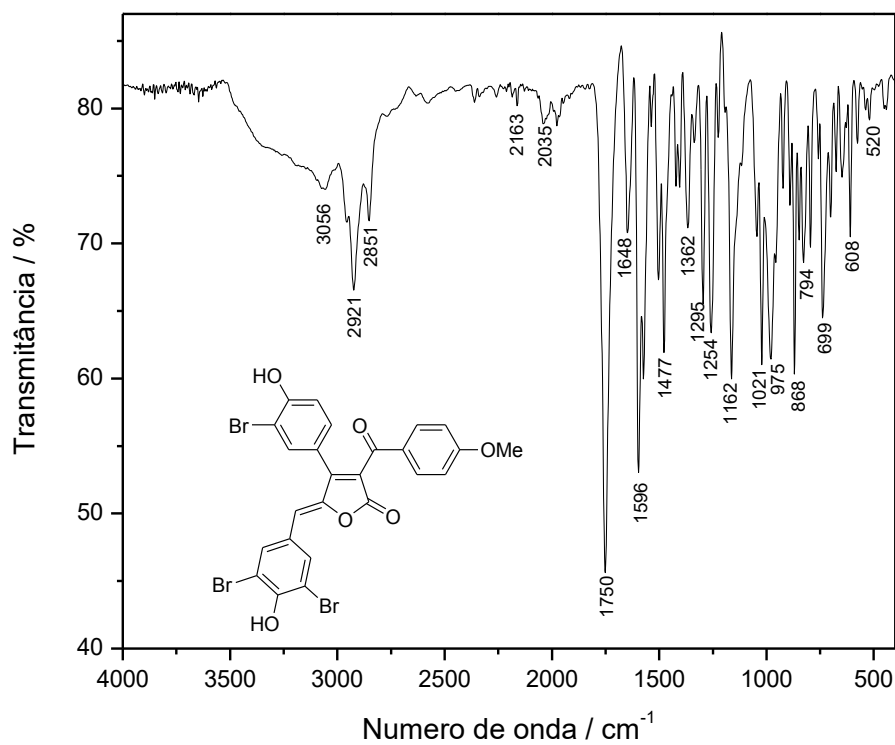


Figura A188 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **82g**.

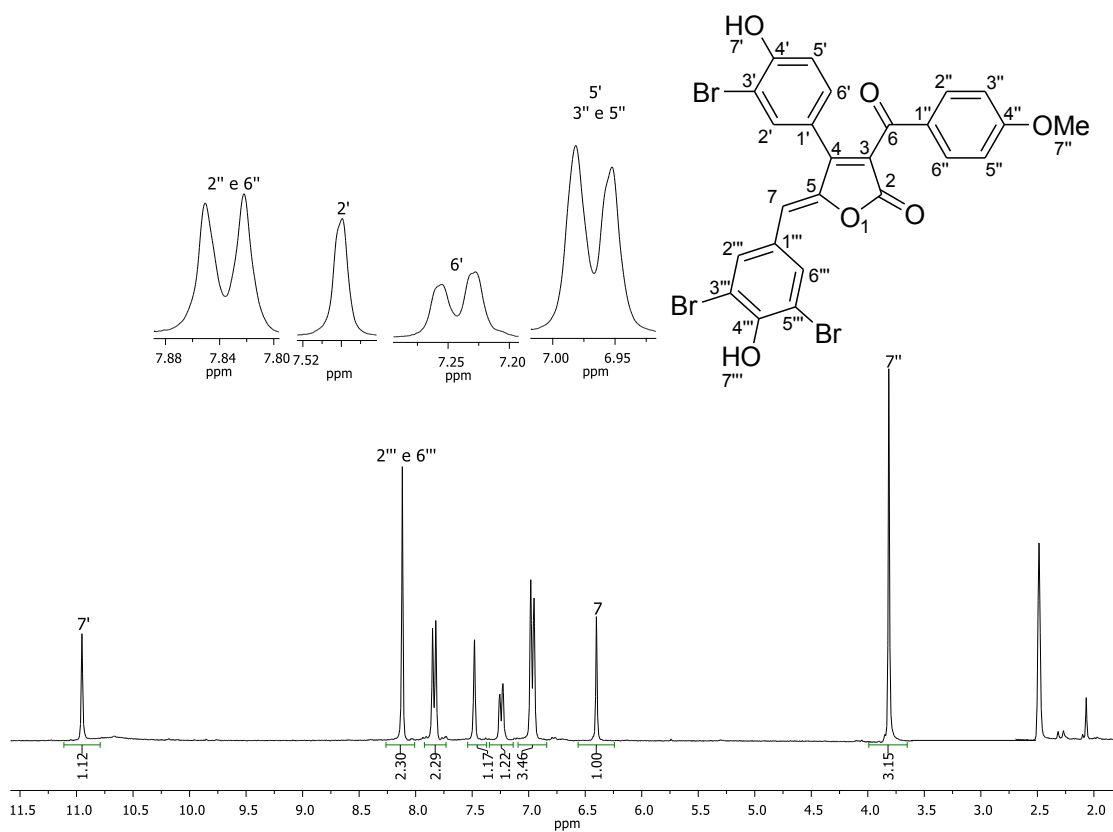


Figura A189 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) de **82g**.

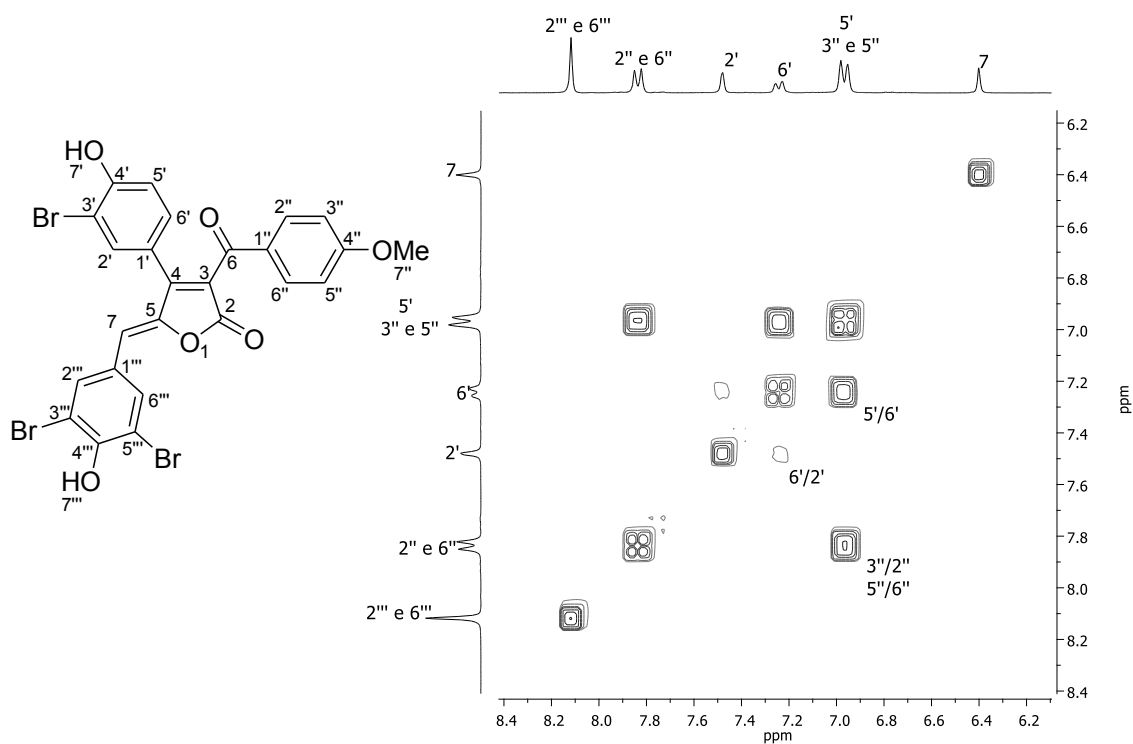


Figura A190 – Mapa de contorno COSY de **82g**.

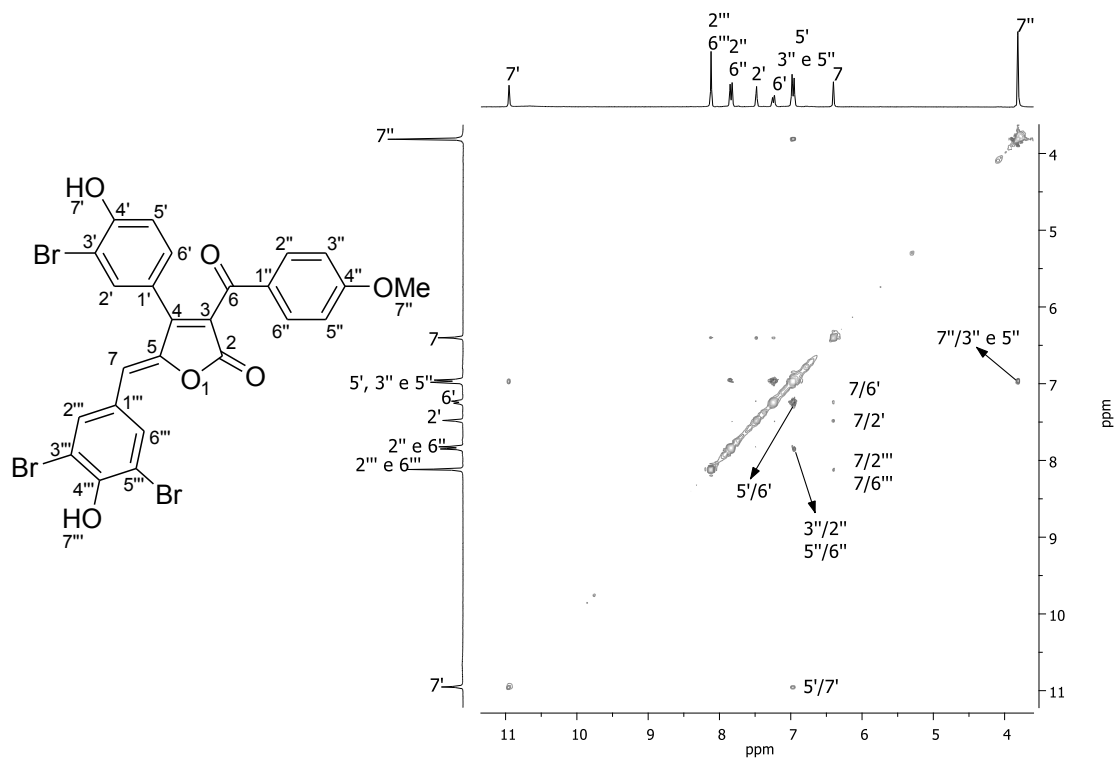


Figura A191 – Mapa de contorno NOESY de **82g**.

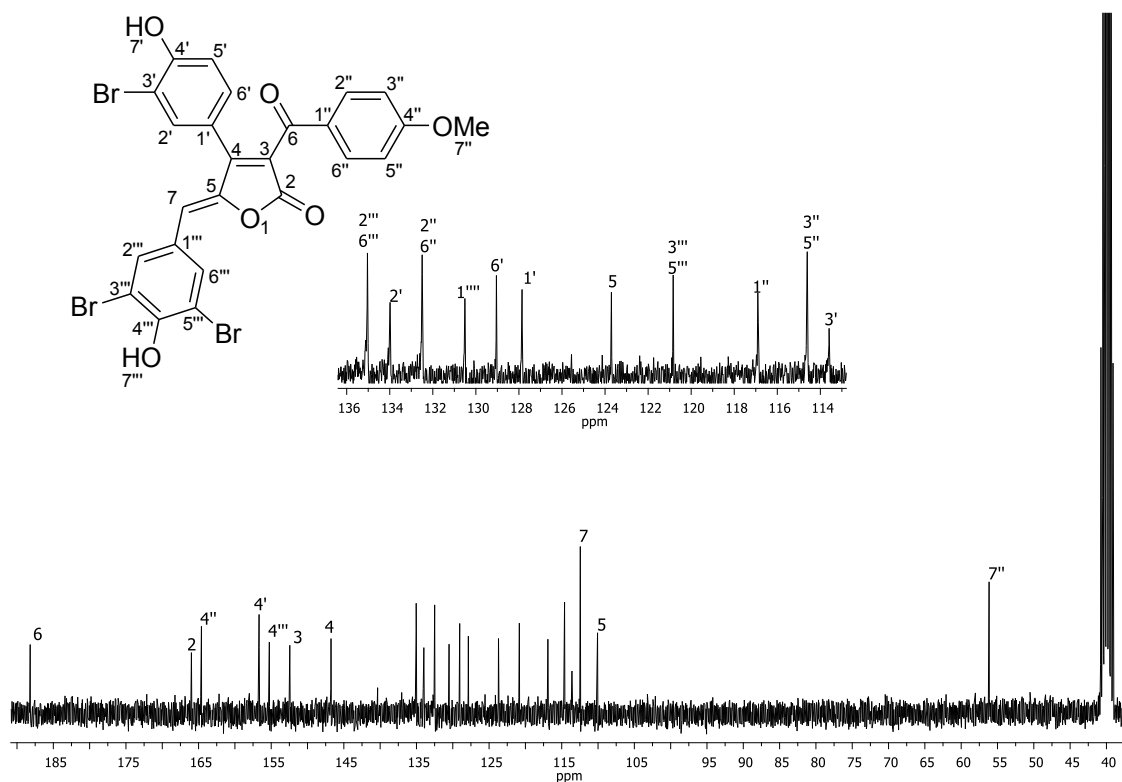


Figura A192 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) de **82g**.

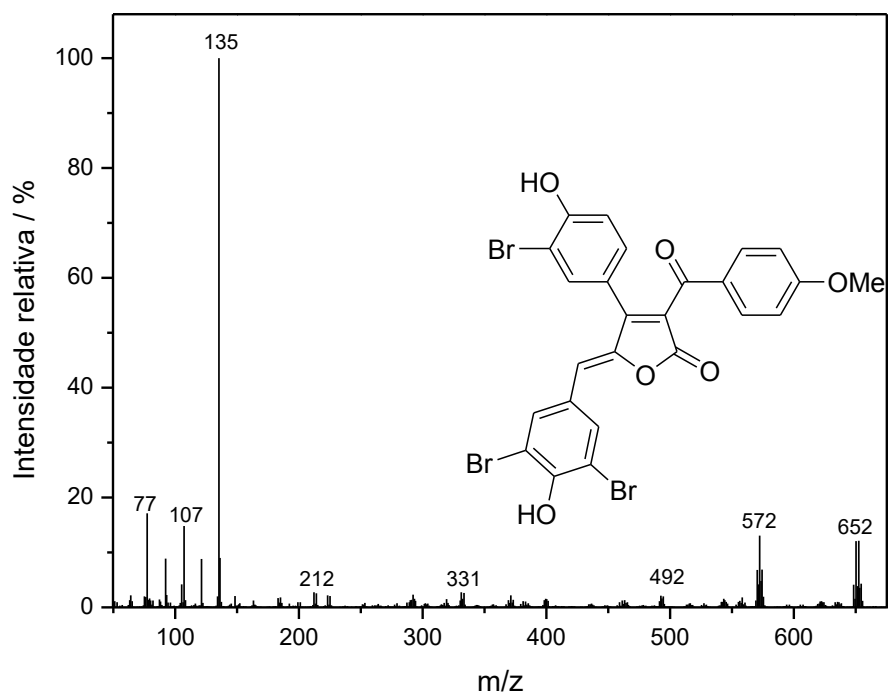


Figura A193 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **82g**.

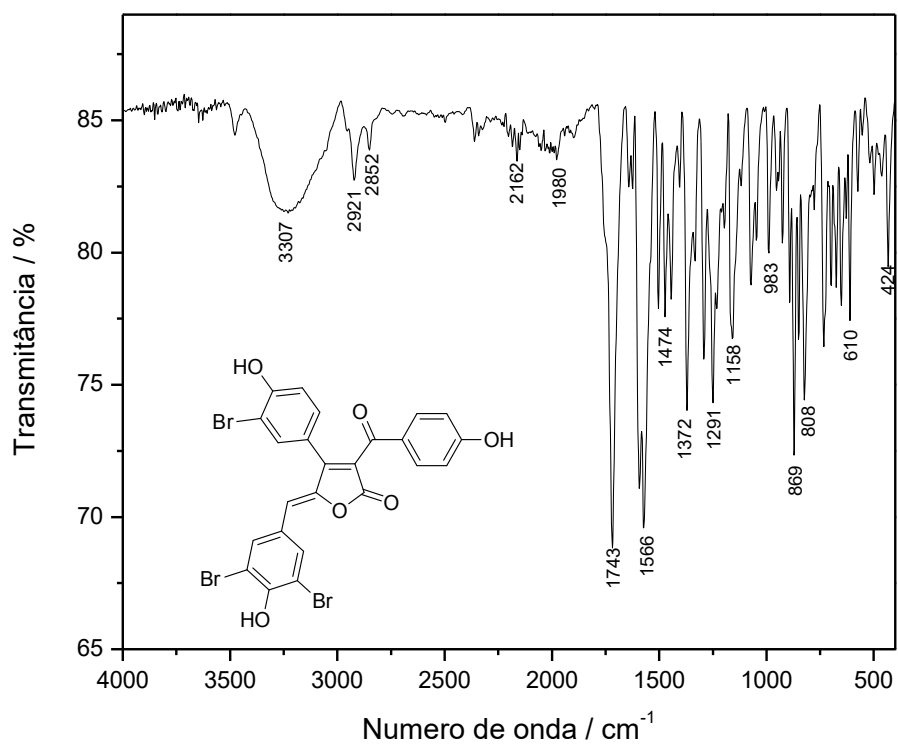


Figura A194 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **82h**.

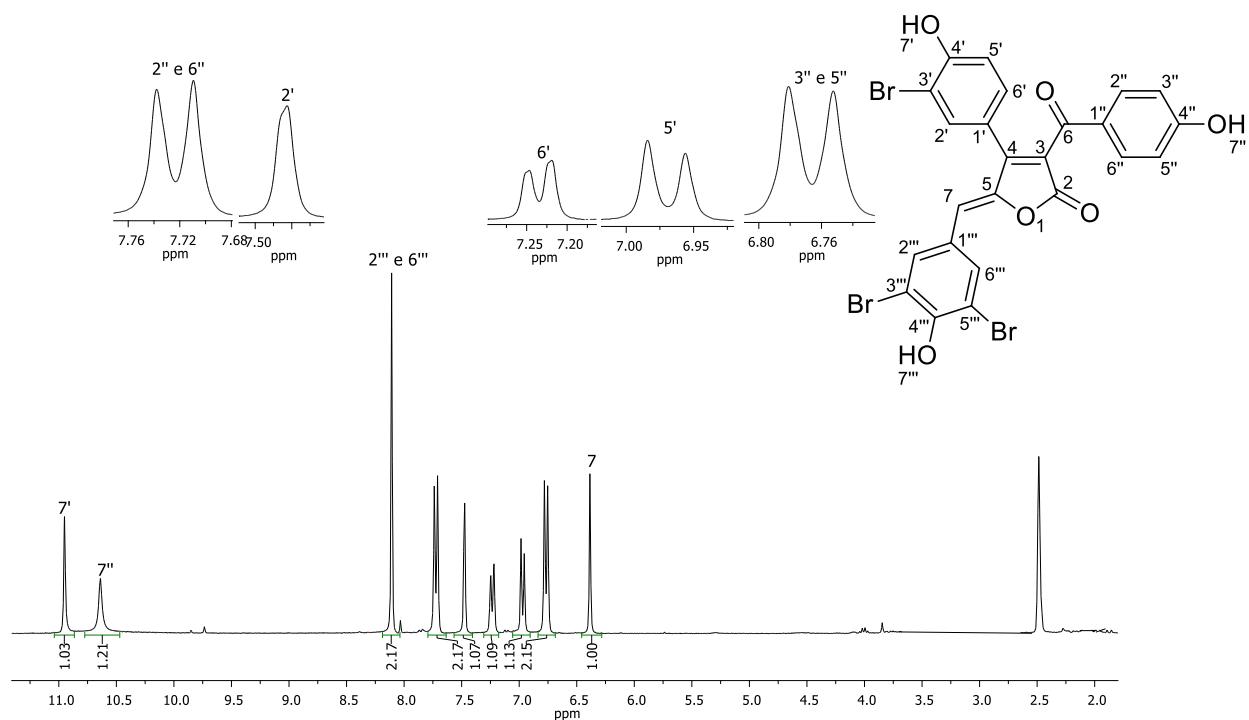


Figura A195 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) de **82h**.

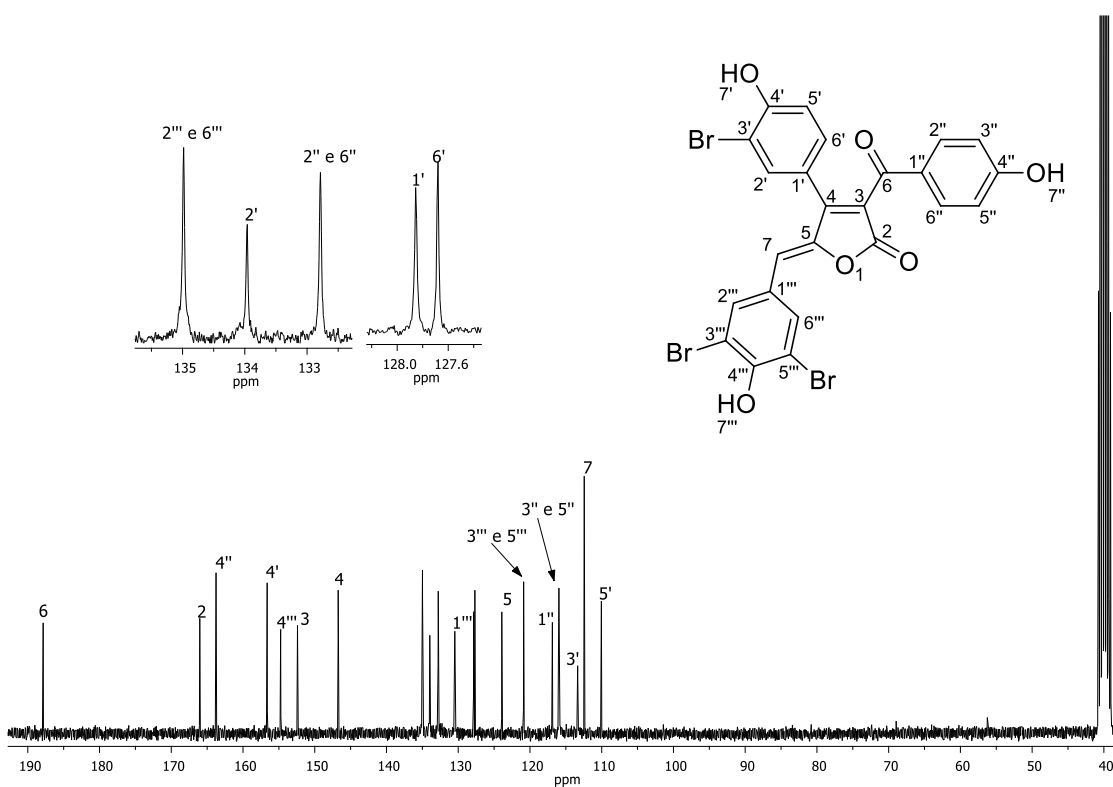


Figura A196 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) de **82h**.

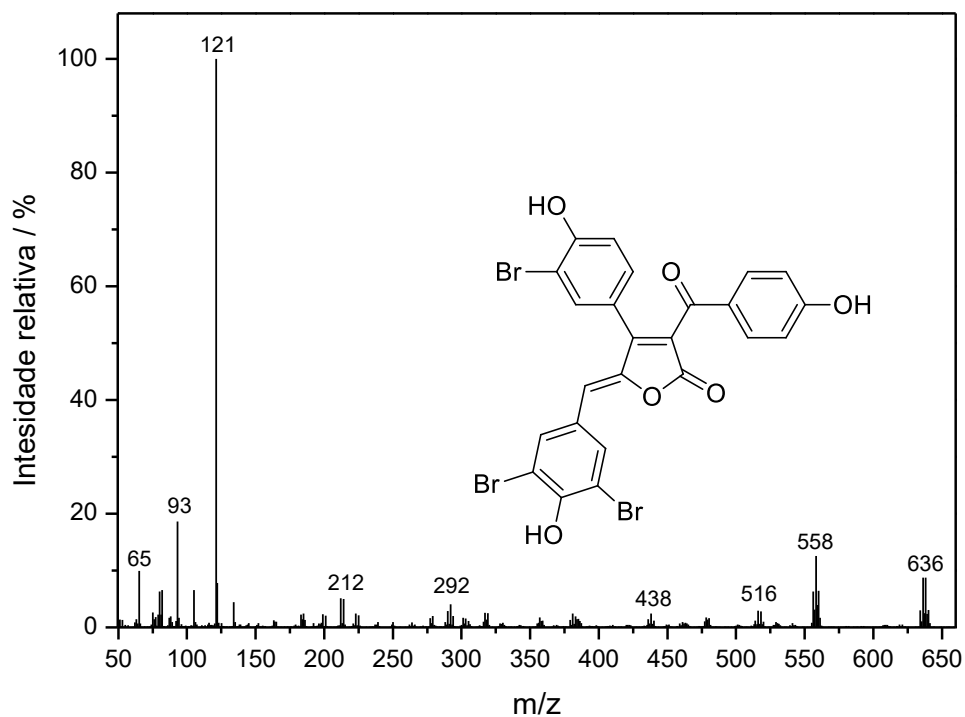


Figura A197 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **82h**.

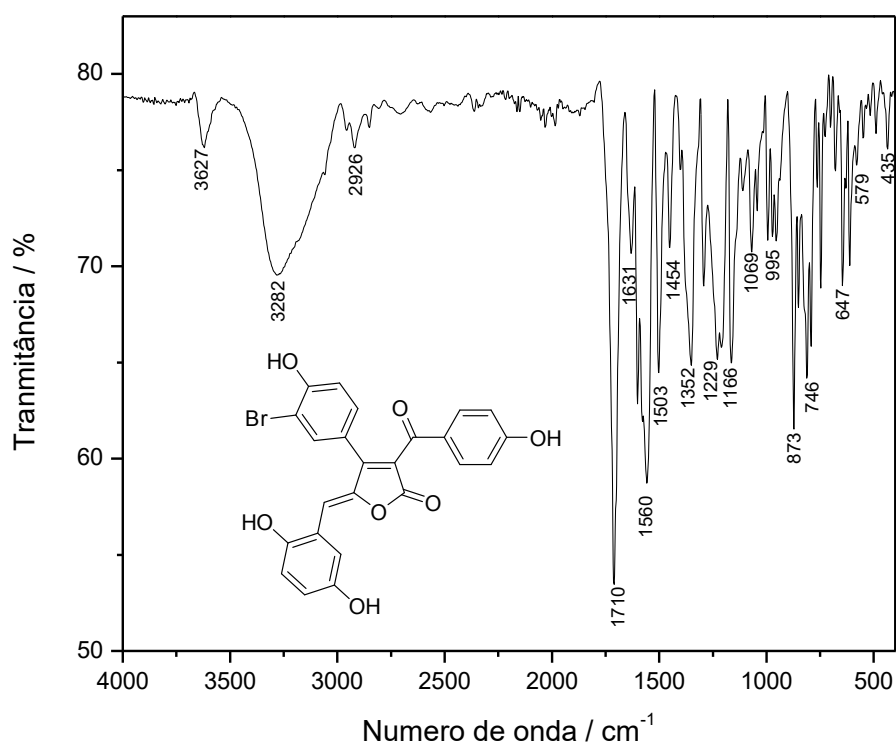


Figura A198 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **82i**.

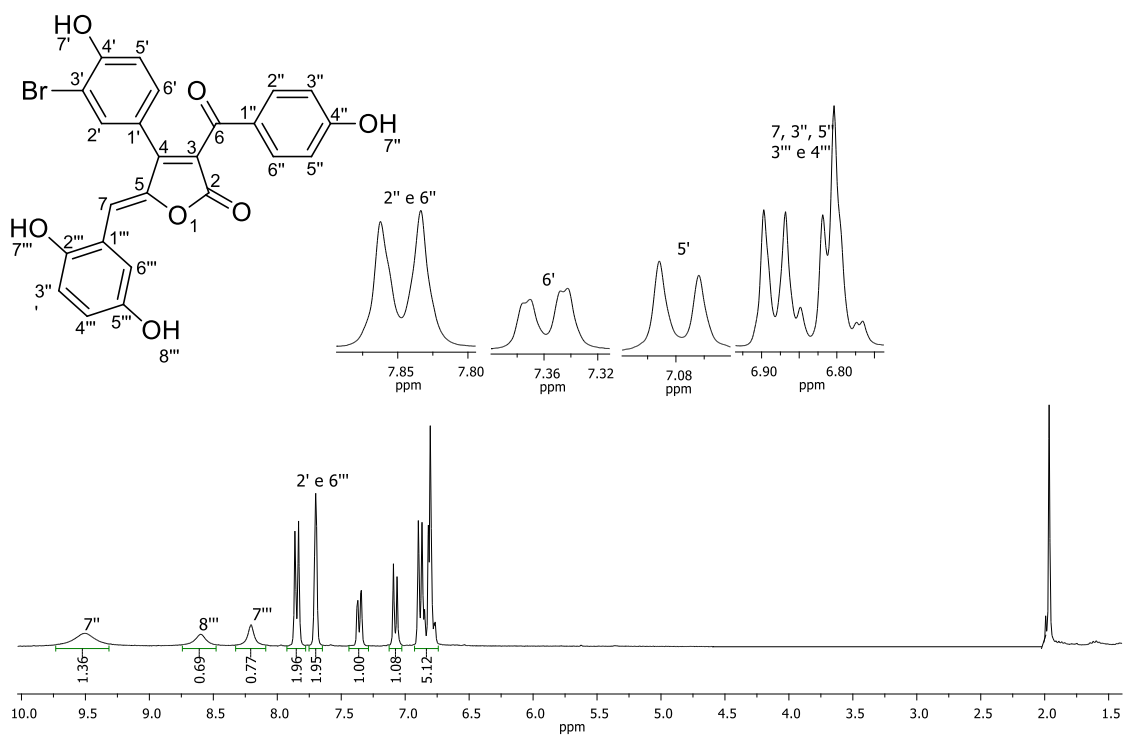


Figura A199 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, Acetona-d₆) de **82i**.

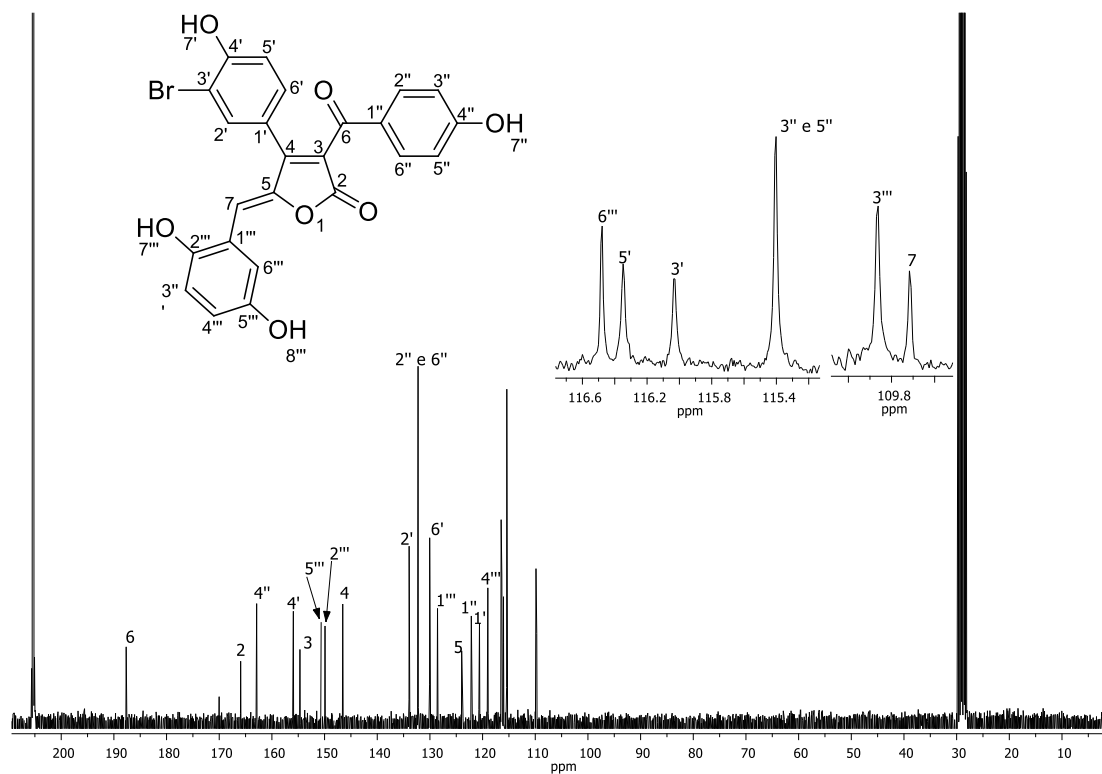


Figura A200 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, Acetona-d₆) de **82i**.

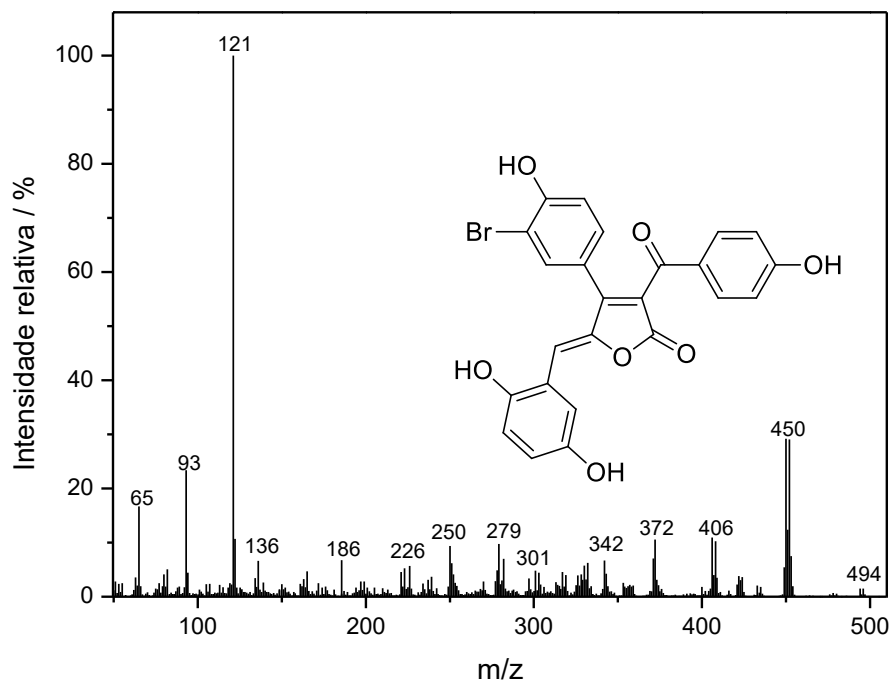


Figura A201 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **82i**.

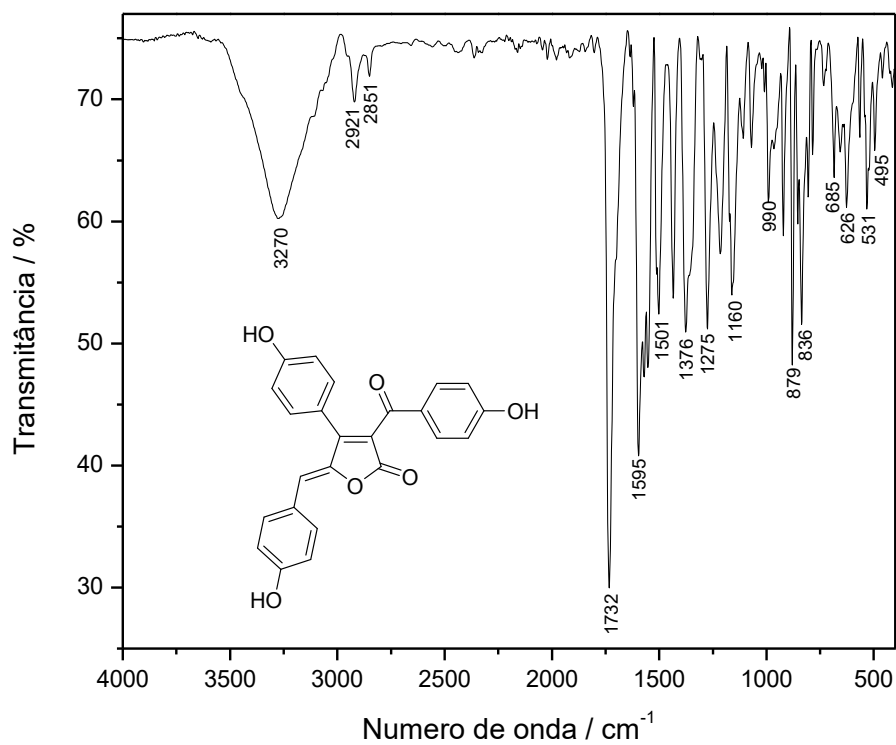


Figura A202 – Espectro no infravermelho (ATR/FTIR) do composto **82j**.

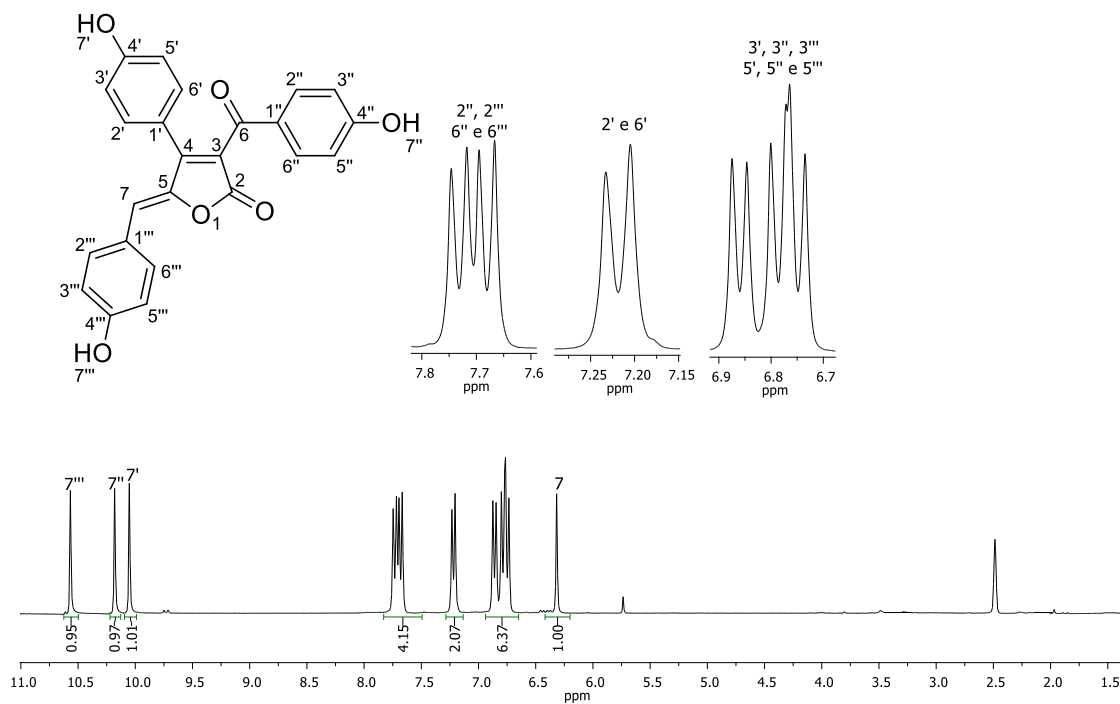


Figura A203 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) de **82j**.

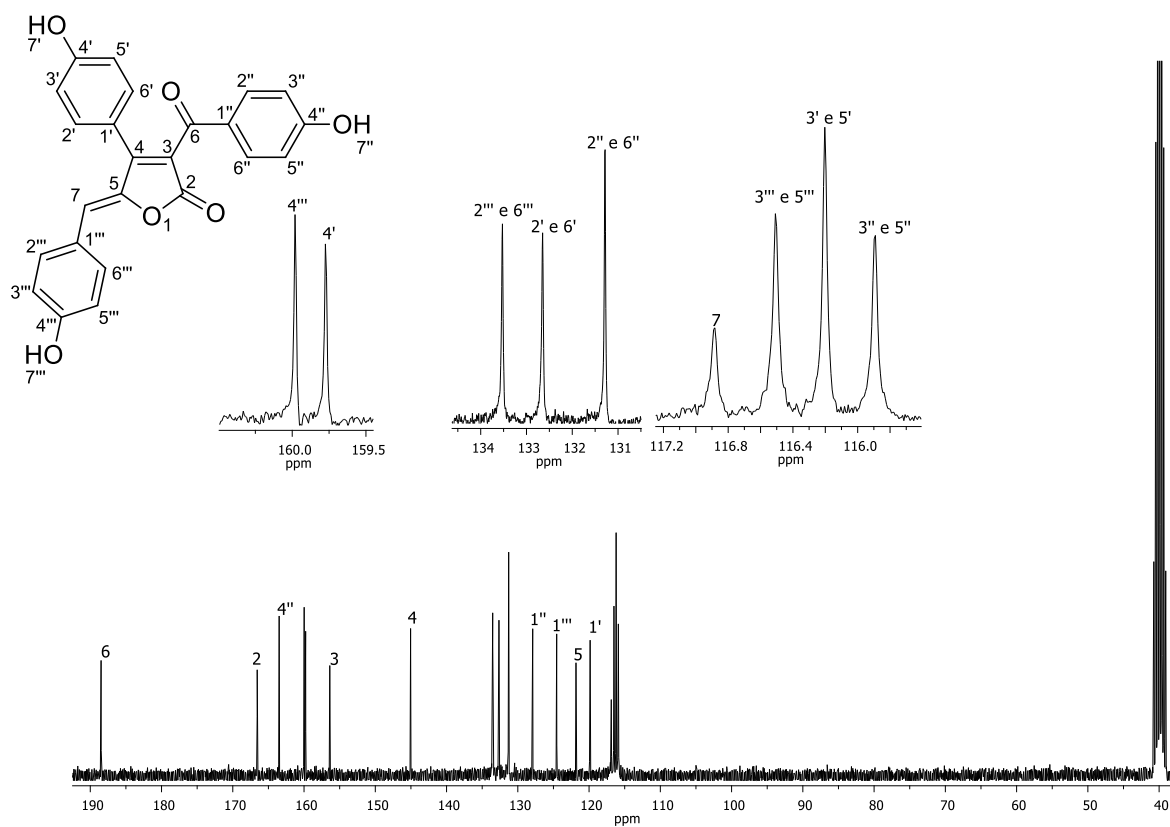


Figura A204 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) de **82j**.

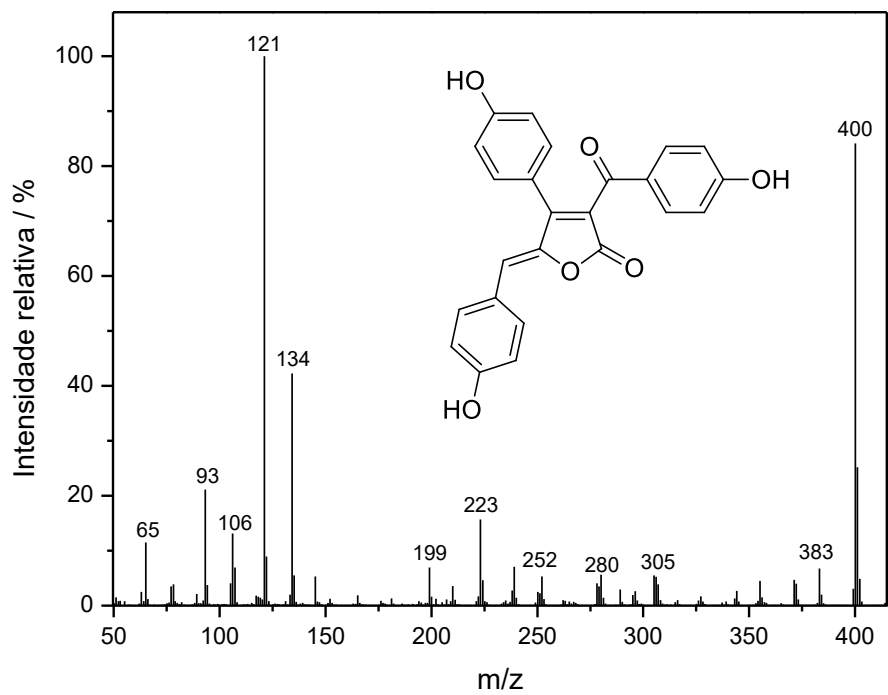


Figura A205 – Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto **82j**.

ANEXO 2

INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO BACTERIANO E INIBIÇÃO DE FORMAÇÃO DE BIOFILME

Tabela A1 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no crescimento bacteriano de *Acinetobacter baumannii*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	101,4	-27,5	-23,6	-23,1	-20,9	-8,7	-15,2	-17,6	-16,6	-18,8
81a	98,9	-20,8	-17,6	-19,4	-17,1	-15,5	-8,6	-13,3	-2,4	-6,7
81b	98,2	-22,8	-18,6	-17,8	-15,7	-15,0	-8,2	-12,7	-17,8	-16,7
81c	95,0	-47,6	-42,4	-38,6	-33,9	-22,8	-20,5	-14,8	-11,3	-13,5
81d	101,3	-12,3	-16,4	-18,9	-18,7	-17,8	-16,3	-17,1	-19,3	-19,3
82a	94,1	-31,8	-22,9	-23,6	-17,7	-11,4	-11,2	-8,5	-1,1	-5,7
82b	92,7	-19,3	-8,1	-5,7	-13,1	-12,3	-14,8	-14,1	-17,8	-16,7
82c	99,9	-2,3	-8,1	-14,0	-3,6	-4,9	-6,9	-0,8	-3,8	-2,1
82d	103,8	18,4	10,7	6,6	-5,7	-13,9	-3,2	-11,0	-2,8	-14,6
DMSO	2,6	1,6	-1,8	1,3	-0,3	-0,7	-0,2	0,6	1,2	-0,7
Ampicilina	93,8	-14,6	-11,8	-2,9	-4,9	-2,3	-1,0	-15,9	-9,6	-9,7

* Os valores negativos referem-se à indução de crescimento bacteriano

Tabela A2 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no crescimento bacteriano de *Escherichia coli*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	16,5	0,5	-7,9	-11,4	-11,6	-19,0	-14,6	-9,7	-17,1	-1,3
81a	13,1	4,5	9,7	-5,3	-7,4	-10,0	-11,3	-5,7	-18,5	-8,7
81b	16,9	7,5	5,0	-3,4	-13,2	-12,9	-17,9	-8,5	-18,3	-10,0
81c	10,6	-1,3	-4,9	-6,0	-14,1	-17,7	-20,6	-18,8	-12,9	-12,3
81d	23,7	11,3	2,6	-0,6	-7,3	-7,1	-7,8	-2,2	-10,6	-1,7
82a	8,2	4,5	5,3	0,1	1,1	-4,3	-7,1	-8,5	-6,1	-9,5
82b	7,7	-17,1	-30,3	-16,4	-14,9	-15,1	-29,1	-17,9	-27,0	-11,8
82c	2,9	-48,4	-31,7	-18,1	-5,5	-14,8	-22,5	-14,6	-20,8	-9,8
82d	13,8	-25,6	-20,8	-14,2	-20,8	-20,5	-14,3	-12,7	-19,2	-7,5
DMSO	3,7	2,7	-1,1	-1,3	1,3	-0,5	0,3	0,1	-1,2	-2,7
Ampicilina	100,4	100,3	99,7	98,7	99,5	101,0	91,0	4,3	7,0	7,3

* Os valores negativos referem-se à indução de crescimento bacteriano

Tabela A3 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no crescimento bacteriano de *Klebsiella pneumoniae*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	-32,5	-6,9	-8,4	-0,6	-7,2	-0,5	-20,2	-2,9	-27,5	-20,3
81a	-27,0	-46,6	-43,9	-49,8	-41,3	-30,6	-18,3	-3,1	-11,8	-20,1
81b	-35,7	-41,7	-42,8	-48,9	-46,0	-40,4	-34,4	-9,0	-17,2	-10,8
81c	-36,1	-43,4	-44,2	-45,2	-45,3	-30,2	-25,1	-22,7	-27,8	-35,1
81d	-29,8	-42,1	-41,3	-43,6	-44,2	-23,9	-41,1	-36,5	-13,0	-6,1
82a	-23,1	-35,9	-44,2	-30,8	-11,7	-12,7	-13,2	-11,8	-28,1	-25,4
82b	-43,6	-23,2	-35,3	-33,8	-58,9	-5,2	-5,4	-12,7	-1,8	-5,0
82c	-42,5	-28,0	-26,6	-38,0	-23,0	-8,4	-7,1	-16,7	-39,4	-6,7
82d	45,9	24,7	13,0	12,8	7,8	7,1	-10,4	-11,5	-18,7	-16,8
DMSO	3,6	2,9	1,8	0,3	-1,3	-1,7	-1,2	-1,6	-1,2	-0,7
Ampicilina	100,8	100,5	100,2	99,8	99,7	101,1	101,0	26,4	-1,0	-10,4

* Os valores negativos referem-se à indução de crescimento bacteriano

Tabela A4 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no crescimento bacteriano de *Enterococcus faecalis*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	39,8	25,0	13,1	0,7	3,5	-0,7	-3,0	-4,1	-1,3	3,7
81a	38,4	19,6	19,8	20,3	13,0	2,3	1,5	0,1	2,1	3,3
81b	24,5	21,9	12,4	6,0	6,5	4,2	1,0	-2,9	-0,4	2,4
81c	-1,1	-12,5	-11,7	-15,9	-20,9	-27,3	-21,9	-12,7	-13,6	-9,5
81d	51,0	29,7	21,4	14,9	17,6	6,7	3,5	3,1	3,7	6,8
82a	48,2	5,4	11,7	8,5	17,8	3,5	-5,4	-0,2	2,3	-0,4
82b	27,4	32,4	24,7	12,1	16,1	13,9	5,0	7,4	6,8	4,0
82c	101,5	96,1	36,0	19,7	12,2	14,4	-9,6	-15,3	-9,3	-4,5
82d	110,5	18,8	11,0	13,3	7,6	-1,0	-1,4	-2,4	-1,6	-0,3
DMSO	0,6	3,6	2,8	0,3	-0,3	-0,8	-0,9	0,2	-1,2	-0,5
Ampicilina	100,4	101,3	99,7	99,7	98,5	100,0	101,0	94,3	97,0	7,3

* Os valores negativos referem-se à indução de crescimento bacteriano

Tabela A5 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no crescimento bacteriano de *Pseudomonas aeruginosa*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	36,6	9,6	5,3	-0,6	2,1	1,0	5,0	5,0	2,8	6,2
81a	30,4	19,3	7,4	-6,9	-4,8	-3,3	-8,6	-0,6	-1,5	-3,4
81b	28,8	19,1	18,2	2,5	7,0	5,7	5,4	6,0	2,1	5,0
81c	22,8	11,4	0,6	2,5	4,2	1,9	7,4	10,6	11,1	2,9
81d	30,4	14,0	10,1	2,4	2,9	2,6	1,9	6,5	1,9	-2,3
82a	28,2	11,7	8,3	9,3	7,8	8,1	11,2	14,0	10,6	6,2
82b	31,4	18,8	3,3	2,7	0,1	2,2	1,3	-3,1	-1,6	0,6
82c	35,7	11,3	-0,9	-0,9	0,7	-0,1	3,0	4,1	2,0	2,6
82d	55,0	25,1	7,9	-1,4	3,7	3,1	2,5	3,7	1,5	-0,2
DMSO	3,1	1,9	1,2	1,0	-0,3	0,7	0,2	0,8	-1,2	-0,6
Ampicilina	-1,6	-2,7	3,8	-7,7	-1,7	-2,9	-2,7	-3,0	-3,3	-2,8

* Os valores negativos referem-se à indução de crescimento bacteriano

Tabela A6 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no crescimento bacteriano de *Staphylococcus aureus*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	30,5	17,1	17,4	34,5	35,7	19,1	16,4	9,5	6,3	10,3
81a	16,9	39,6	26,6	6,5	28,5	17,2	11,0	15,8	12,1	6,3
81b	23,6	15,1	7,5	-2,6	18,2	16,8	13,6	21,0	8,7	8,5
81c	-36,1	-41,7	-4,2	3,0	17,7	-6,9	19,4	-8,6	19,0	13,4
81d	17,9	35,2	24,3	12,2	15,7	17,6	13,3	14,5	13,4	18,7
82a	19,7	35,0	68,8	53,9	50,2	45,4	50,7	40,6	17,6	15,3
82b	77,5	62,0	99,8	97,0	53,9	37,0	13,6	-67,9	-3,8	11,0
82c	97,9	71,8	85,4	65,6	44,2	-1,2	28,1	1,8	14,9	11,5
82d	103,7	57,8	55,8	49,2	44,6	23,8	22,1	25,3	1,9	9,9
DMSO	1,6	0,6	-0,8	-0,3	-0,5	-0,4	-0,9	0,2	1,0	-0,9
Ampicilina	101,4	100,3	99,7	98,7	99,5	101,0	101,0	99,3	99,0	99,3

* Os valores negativos referem-se à indução de crescimento bacteriano

Tabela A7 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, na formação de biofilme de *Acinetobacter baumannii*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	89,0	16,4	8,2	15,8	7,4	6,5	6,1	6,5	8,5	7,1
81a	90,6	1,8	4,2	0,5	0,7	0,5	-0,1	2,7	1,9	1,2
81b	83,4	16,2	-0,5	-2,3	-3,0	-1,7	0,4	-1,5	-1,7	-0,5
81c	85,9	-5,5	7,9	-4,0	-1,2	-0,3	-1,8	0,7	-0,5	0,7
81d	90,6	6,2	-0,8	4,0	-0,8	-4,1	-4,3	-3,6	-3,5	-7,1
82a	78,4	-4,5	-3,9	-4,8	8,7	5,2	7,2	-4,7	-4,6	-10,1
82b	72,6	-11,7	-12,0	-4,5	-12,5	-2,4	-2,8	-2,8	-1,3	-2,1
82c	89,9	-9,3	0,7	-3,2	-7,2	-1,3	-2,2	-3,3	-1,7	-3,8
82d	85,7	10,7	1,7	0,2	3,9	6,1	8,0	7,0	8,5	9,1

* Os valores negativos referem-se à indução de formação de biofilme

Tabela A8 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, na formação de biofilme de *Escherichia coli*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	32,6	32,9	-28,0	59,2	48,0	46,4	60,2	47,2	25,3	36,1
81a	58,5	45,3	36,4	26,4	33,9	31,6	40,2	36,9	35,1	-30,1
81b	34,4	43,3	3,0	11,6	22,0	48,0	46,4	34,8	17,8	1,1
81c	61,2	51,2	14,6	49,7	42,2	24,2	28,0	37,3	33,5	-3,8
81d	78,7	51,6	37,8	23,0	45,4	34,2	39,7	46,1	53,8	38,1
82a	56,4	46,7	48,2	51,4	47,4	51,4	27,6	25,4	55,6	10,4
82b	14,1	48,6	23,3	15,7	-33,1	39,6	55,8	47,0	22,8	11,9
82c	-24,9	-97,6	-59,2	-37,0	60,6	49,9	39,9	15,9	21,4	18,4
82d	-31,4	-54,5	-46,0	-75,1	72,6	23,2	39,8	53,3	37,5	35,6

* Os valores negativos referem-se à indução de formação de biofilme

Tabela A9 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, na formação de biofilme de *Klebsiella pneumoniae*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	34,4	8,4	16,4	14,3	22,4	2,8	10,4	10,6	27,3	20,0
81a	55,4	69,5	59,2	29,2	-5,8	-1,5	0,7	6,8	23,0	17,4
81b	43,6	39,6	58,1	53,3	36,4	33,4	23,1	12,0	5,7	18,0
81c	33,3	3,4	-10,2	-1,0	-2,6	-6,5	-1,7	-1,8	-0,9	1,0
81d	82,3	45,5	56,0	15,7	29,0	5,6	5,8	-4,7	-2,4	0,1
82a	38,8	32,7	30,6	21,1	16,5	-8,4	-8,9	-10,7	-8,4	-5,4
82b	35,9	44,0	35,2	19,5	0,6	-4,4	-5,2	-0,9	4,6	19,4
82c	54,3	35,8	63,2	77,4	13,4	-2,0	-7,1	11,4	-3,1	-1,1
82d	30,4	0,1	-1,6	3,4	6,4	5,1	5,0	5,8	8,9	16,0

* Os valores negativos referem-se à indução de formação de biofilme

Tabela A10 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, na formação de biofilme de *Enterococcus faecalis*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	60,2	65,3	65,6	55,4	54,3	60,3	58,3	52,8	39,5	18,8
81a	60,0	44,4	55,8	65,4	58,0	53,2	52,8	32,2	21,4	21,7
81b	55,8	60,6	45,8	58,3	56,0	51,7	53,4	46,2	27,7	17,4
81c	63,8	68,4	68,7	69,3	60,2	37,0	-18,9	48,7	28,8	27,9
81d	76,2	62,7	55,0	55,9	56,5	46,2	47,3	28,7	39,5	26,9
82a	55,2	57,8	64,1	59,8	60,4	54,0	45,5	29,2	44,0	1,7
82b	28,5	51,5	68,5	66,0	67,6	64,2	55,8	49,3	33,9	27,2
82c	77,6	77,1	69,5	70,8	61,6	48,6	42,9	29,1	11,7	14,9
82d	69,3	31,1	56,8	57,3	61,4	30,9	46,6	60,1	54,3	26,1

* Os valores negativos referem-se à indução de formação de biofilme

Tabela A11 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, na formação de biofilme de *Pseudomonas aeruginosa*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	20,2	20,1	51,0	2,2	-4,2	4,9	-3,3	7,7	28,5	24,9
81a	-0,4	-1,8	-2,5	-1,5	-5,5	0,0	0,6	-4,2	7,5	13,8
81b	-2,5	-2,6	15,1	-6,2	-5,0	-3,1	8,0	-3,1	-6,2	1,7
81c	-1,1	8,8	-3,9	-3,7	-3,1	-5,3	-3,8	-3,1	-3,7	-3,5
81d	-2,9	-3,8	13,1	7,2	-8,3	-2,0	-6,9	-13,7	4,3	43,8
82a	-5,3	2,4	49,4	55,1	-2,2	50,1	33,2	-6,7	-5,0	-18,1
82b	-8,6	43,5	38,9	40,3	45,8	16,9	45,5	20,8	35,9	9,2
82c	23,6	0,1	15,6	10,3	33,5	-16,2	-2,5	6,4	33,6	-11,9
82d	3,8	5,0	9,7	10,0	2,3	3,6	11,0	4,4	51,5	20,9

* Os valores negativos referem-se à indução de formação de biofilme

Tabela A12 – Efeito inibitório (%) dos compostos **79c**, **81a-d** e **81a-d** a 128,0, 64,0, 32,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, na formação de biofilme de *Staphylococcus aureus*

Compostos	Efeito inibitório (%)*									
	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)									
	128,0	64,0	32,0	16,0	8,0	4,0	2,0	1,0	0,50	0,25
79c	76,2	71,5	49,0	76,3	79,4	74,1	67,2	62,9	60,8	16,6
81a	87,5	85,4	83,9	79,2	76,8	79,5	73,8	69,6	62,8	31,4
81b	77,2	37,4	66,3	71,1	79,4	68,0	64,7	63,7	68,4	59,7
81c	79,6	-11,5	84,8	83,9	54,7	59,0	56,1	58,3	59,3	43,9
81d	81,0	77,4	81,6	80,9	75,0	72,4	70,4	53,4	28,5	38,4
82a	77,9	78,4	76,1	75,5	70,4	67,5	61,0	50,0	54,3	51,4
82b	70,7	67,9	78,2	81,5	73,6	49,0	69,0	51,1	60,8	67,0
82c	90,2	88,3	85,6	81,4	81,7	73,4	66,4	65,8	56,7	54,1
82d	85,7	82,4	71,6	79,4	51,8	67,3	64,2	58,0	63,4	50,8

* Os valores negativos referem-se à indução de formação de biofilme